การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่า และการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

Analysis of Genetic Diversity in Wild Rice and Gene Flow between Cultivated and Wild Rices by Microsatellite Markers

ทิวาพร ทินกร

Tivaporn Thinnakorn

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 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่า และการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

ผู้เขียน นางสาวทิวาพร ทินกร

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.สนธิชัย จันทร์เปรม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่า และการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์
ผู้เขียน	นางสาวทิวาพร ทินกร
สาขาวิชา	พืชศาสตร์
ปีการศึกษา	2552

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อวิเคราะห์การถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในบางพื้นที่ทางภาคใต้ของประเทศไทย แบ่งการศึกษาออกเป็น 4 หัวข้อ เริ่มจาก 1) การศึกษาความหลากหลายของข้าวป่าในภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ จากตัวอย่างข้าวป่าจำนวน 47 ตัวอย่างในเขต อำเภอสทิงพระ อำเภอกระแสสินธุ์ จังหวัดสงขลา อำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช และ อำเภอท่าฉาง จังหวัดสุราษฎร์ธานี ใช้คู่ไพรเมอร์ 3 คู่ พบว่าฐานพันธุกรรมของข้าวป่าในพื้นที่ดังกล่าวค่อนข้างกว้าง สามารถจัดกลุ่มข้าวป่าได้ 5 กลุ่มโดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่าง 0.231-1.000 2) ศึกษาความหลากหลายของข้าวป่าชั่วลูกจากลักษณะสัณฐานวิทยา โดยสุ่มเมล็ดจากต้นข้าวป่าจำนวน 24 ต้น เพาะเมล็ดในกระถาง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design: CRD) จำนวน 2 ซ้ำ ปลูกกระถางละ 3 ต้น 1 กระถาง/ซ้ำ บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาโดยแบ่งเป็นลักษณะคุณภาพ 13 ลักษณะ และลักษณะปริมาณ 10 ลักษณะ ประเมินความหลากหลายของลักษณะต่างๆ โดยใช้ดัชนีความหลากหลาย Shannon-Weaver index (H') จากผลการศึกษาพบความหลากหลายในแต่ละประชากรทั้งหมด 11 ลักษณะ โดยสีกาบใบมีความหลากหลายสูงที่สุด (H'=1.145) รองลงมาคือ สียอดดอก (H'=1.118) ลักษณะที่มีความหลากหลายต่ำที่สุดคือสีกลีบรองดอก((H'=0.270) 3) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เก็บตัวอย่างเมล็ดจากต้นข้าวป่าและข้าวปลูกที่ขึ้นปะปนกันในแปลงนาของเกษตรกรในพื้นที่ อำเภอสทิงพระ อำเภอกระแสสินธุ์ จังหวัดสงขลา อำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช และ อำเภอท่าฉางจังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 37 ประชากร ใช้คู่ไพรเมอร์ 8 คู่ พบว่าแถบดีเอ็นเอหรือจำนวนอัลลีลเฉลี่ย 4 อัลลีลต่อคู่ไพรเมอร์ และพบอัลลีลที่มีความจำเพาะเจาะจงกับข้าวป่าหางสีแดงที่เก็บจากตำบลเขาพังไกร จังหวัดนครศรีธรรมราช (ขนาด 400 คู่เบส จากไพรเมอร์เมอร์ RM21) เมื่อคำนวณค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม และสร้างเดนโดรแกรมพบว่าสามารถจัดกลุ่มข้าวป่าและข้าวปลูกที่ศึกษาได้เป็น 3 กลุ่มโดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.355-1.000

4) ศึกษาความสามารถในการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก โดยทำการช่วยผสมเกสรระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกจำนวน 10 คู่ผสม โดยใช้ข้าวป่า 3 พันธุ์ และข้าวปลูก 2 พันธุ์ (พันธุ์ชัยนาท และเฉี้ยงพัทลุง) พบว่าความสำเร็จในการผสมข้ามตั้งแต่ 7.69-50% การใช้ข้าวป่าเป็นต้นพ่อประสบความสำเร็จในการผสมข้ามสูงกว่าการใช้ข้าวปลูกเป็นต้นพ่อ สำหรับเปอร์เซ็นต์ความงอกของลูกผสมมีค่าเฉลี่ย 71 % จากข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการทดลองวิเคราะห์การถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกโดยธรรมชาติในแปลงนาของเกษตรกร โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ จากการวิเคราะห์การปรากฏของอัลลีลที่แตกต่างกันในข้าวแต่ละชนิด พบว่ามีการถ่ายเทยีนทั้ง 2 ทิศทางคือทั้งจากข้าวปลูกสู่ข้าวป่าและจากข้าวป่าสู่ข้าวปลูก โดยการถ่ายเทยีนจากข้าวป่าสู่ข้าวปลูก 39% สูงกว่าข้าวปลูกสู่ข้าวป่า (23%)

Thesis Title	Analysis of Genetic Diversity in Wild Rice and Gene Flow between Cultivated and Wild Rices by Microsatellite Markers
Author	Miss Tivaporn Thinnakorn
Major Program	Plant Science
Academic Year	2009

Abstract

This study aimed to evaluate gene flow between wild and cultivated rices from different areas in southern of Thailand. The study consisted of four experiments. 1) The first experiment was carried out to study the diversity of wild rice in southern of Thailand by microsatellite markers. Three primers (RM9, RM21 and RM211) were chosen for genetic analysis in 47 accessions collected from paddy field in Sathing Phra, Krasae Sin of Songkhla Province, Hua Sai, Khao Phang Krai of Nakhon Si Thammarat and Tha Chang of Surat Thani province. The results revealed high genetic diversity of wild rices. From dendrogram, five clusters could be separated with similarity coefficients ranging from 0.231 – 1.000. 2) The diversity of wild rice progenies was evaluated by morphological characters. Seeds were collected randomly from 24 plants and were grown in the pots with two replications in completely randomized design (CRD), three plants/pot and one pot/replication. Morphological characteristics consisted of 13 qualitative and 10 quantitative characters. The qualitative characters were evaluated via Shannon-Weaver index (H'). Results indicated that the high variation was found in 11 characters and the highest diversity was found in leaf sheath color (H' = 1.145), followed by apiculus color (H = 1.118), while the lowest diversity was found in sterile lemma color (H' = 0.270). 3) Study of genetic variation in progenies of wild and cultivated rice by microsatellite markers. In this study, progeny seeds were collected from the field where cultivated and wild rice co-exist. Thirty-seven populations were collected from Sathing Phra, Krasae Sin of Songkhla Province, Hua Sai, Khao Phang Krai of Nakhon Si Thammarat and Tha Chang of Surat Thani province and 8 primer pairs of microsatellite marker were used to assess genetic variation. An average of 4 alleles per primer was obtained. A specific allele (400 bp from primer RM21) was found in red tail rice at Kho Phang Krai. Genetic differentiation and the relationships among wild rice and cultivated rice

populations were analysed using cluster analysis (UPGMA) and a dendrogram was constructed, based on polymorphic fragments. From dendrogram, three clusters could be separated with similarity coefficients ranging from 0.355 – 1.000. 4) Interspecific hybridization between cultivated and wild rices was studied. Hand pollination was made between 3 accessions of wild rice and 2 cultivated rice include Chainat and Chany Pattalung. Ten crosses were obtained from this experiment. Cultivated rice can be crossed with wild rice and set seed at different rates (7.69-50%). More successfull of interspecific hybridization was recorded when wild rice was used as a male plant. An average of germination percentage in F_1 hybrid was 71%. Based on data obtained from all experiments, gene flow between wild and cultivated rices in the field was analyzed by microsatellite markers. Two - way direction of both cultivated to wild and wild to cultivated gene flow were demonstrated by the presence of different alleles in rice population. In conclusion, the average frequency of wild rice alleles in cultivated was 39% higher than that of cultivated to wild rice (23%).

กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ศาสตราจารย์ไพศาล เหล่าสุวรรณ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำแนะนำในการดำเนินการ ให้คำปรึกษา ข้อคิดเห็น และคำแนะนำ ตลอดจนการแก้ไขปัญหา ตรวจทาน และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมปอง เตชะโต ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร.สนธิชัย จันทร์เปรม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ ที่ได้กรุณาถ่ายทอดความรู้ แนวคิด ประสบการณ์ และบุคลากรคณะทรัพยากรธรรมชาติที่ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในด้านต่างๆ ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษา และวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการ การอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนเงินทุนในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง คุณเลิศเกียติ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่อำนวยความสะดวก และให้ความช่วยเหลือ ตลอดจนให้คำแนะนำในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณ พี่ เพื่อน และน้องทุกคน ที่ให้การช่วยเหลือในด้านต่างๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณทุกคนในครอบครัวสำหรับกำลังใจที่สำคัญยิ่ง และให้การสนับสนุนผู้เขียนในทุก ๆ ด้านมาโดยตลอดจนประสบความสำเร็จในการศึกษา

ทิวาพร ทินกร

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
บทที่	
1 บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	14
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	15
วัสดุ และอุปกรณ์	15
วิธีการ	19
3. ผล	32
7. วิจารณ์	67
5. สรุป	74
เอกสารอ้างอิง	75
ภาคผนวก	87
ประวัติผู้เขียน	92

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนต้น และสถานที่ที่เก็บตัวอย่างข้าวป่าที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม	19
2	ชนิด จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกจากแปลงเกษตรกร เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์	25
3	แสดงรายชื่อคู่ผสมระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า	27
4	แสดงรายชื่อพันธุ์ข้าวปลูกและข้าวป่าในแปลงเกษตรกร	30
5	ลักษณะคุณภาพ 13 ลักษณะ และค่าดัชนีความหลากหลาย (H')ของตัวอย่างข้าวป่าที่เก็บจากแปลงเกษตรกรบางพื้นที่ในภาคใต้จำนวน 24 ประชากร	38
6	ลักษณะทางปริมาณ 10 ลักษณะของตัวอย่างข้าวป่าชั่วลูกที่เก็บจากแปลงเกษตรกรจำนวน 24 ประชากร	44
7	ชนิดของคู่ไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน จากการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ ในประชากรข้าวป่าชั่วลูก	46
8	อัตราการผสมติดของการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก	53
9	เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าวป่า ข้าวปลูก และลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 10 คู่	54
10	แถบดีเอ็นเอหรืออัลลีลที่ปรากฏในต้นข้าวปลูก และข้าวป่าชั่วลูกในแปลงที่ศึกษา	59
11	ความถี่อัลลีลของกลุ่มประชากรข้าวปลูกและข้าวป่าชั่วลูกโดยเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ 3 ตำแหน่ง (RM9, RM21, RM211)	60
12	สรุปเปอร์เซ็นต์ความถี่อัลลีลของกลุ่มประชากรข้าวปลูกชั่วลูกในพื้นที่ปลูกข้าว 7 แหล่ง	61
13	สรุปเปอร์เซ็นต์ความถี่อัลลีลของกลุ่มประชากรข้าวป่าชั่วลูกในพื้นที่ปลูกข้าว 7 แหล่ง	62
14	ความถี่ของจีโนไทป์ที่จำเพาะกับข้าวปลูกและข้าวป่าชั่วลูกในแปลงปลูกของเกษตรกร	63
15	เปอร์เซ็นต์การถ่ายเทยีนระหว่างกลุ่มประชากรข้าวปลูกและข้าวป่าวิเคราะห์โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตแทลไลต์ จำนวน 3 คู่ไพรเมอร์	66

รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	แหล่งพันธุกรรมข้าวปลูกเอเชีย (*Oryza sativa* L.)	4
2	แสดงวิถีแห่งการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการจากข้าวป่าเป็นข้าวปลูก	7
3	การถ่ายเทยีนจากพืชปลูก - พืชปลูก และ พืชปลูก – พืชป่า	8
4	พื้นที่นาข้าวที่มีข้าวป่าขึ้นปะปนกับข้าวปลูกในแปลงเดียวกัน ต.ดีหลวง จ.สงขลา	15
5	ขั้นตอนการกำจัดเกสรตัวผู้ และเตรียมต้นแม่พันธุ์	28
6	การเตรียมต้นพ่อพันธุ์และกระบวนการผสมพันธุ์ข้าว	29
7	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของตัวแทนประชากรข้าวป่าในภาคใต้ จำนวน 47 ประชากร จากการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ ด้วยคู่ไพรเมอร์จำนวน 3 คู่	33
8	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสีเกสรตัวเมีย สีกลีบรองดอกและสีหางข้าวป่า	35
9	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นใบและสีปล้องข้าวป่า	35
10	ตัวอย่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมล็ดข้าวป่าต้นแม่	40
11	ตัวอย่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมล็ดข้าวป่าชั่วลูก	41
12	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกในภาคใต้โดยใช้ RM9	47
13	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM21	47
14	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM44	48
15	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM211	48
16	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM219	49
17	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM241	49
18	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM280	50
19	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM166	50
20	เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของประชากรข้าวป่า และข้าวปลูกชั่วลูกจากแปลงเกษตรกร จำนวน 25 และ 12 ประชากร ตามลำดับ จากการใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ ด้วยคู่ไพรเมอร์จำนวน 8 คู่	52
21	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอพันธุ์พ่อแม่ (P_1,P_2) เปรียบเทียบกับลูกผสมชั่วที่1 (F_1) RM9	55
22	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอพันธุ์พ่อแม่ (P_1,P_2) เปรียบเทียบกับลูกผสมชั่วที่1 (F_1) RM21	56
23	ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอพันธุ์พ่อแม่ (P_1,P_2) เปรียบเทียบกับลูกผสมชั่วที่1 (F_1) RM211	56

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชอาหารหลักที่สำคัญของมนุษย์ มากกว่า 50%ของประชากรโลกนิยมบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก สำหรับประเทศไทย ข้าวเป็นพืชที่มีความสำคัญต่อวิถีชีวิตและเป็นพืชเศรษฐกิจที่สร้างรายได้ให้กับประเทศไทยมาเป็นระยะเวลานาน ปัจจุบันประเทศไทยเป็นประเทศที่ส่งออกข้าวเป็นอันดับ 1 ของโลก นอกจากนี้ยังเป็นศูนย์กลางความหลากหลายของพันธุกรรมข้าว ทั้งพันธุ์ข้าวป่าและข้าวปลูก โดยเฉพาะข้าวป่าพบแพร่กระจายในประเทศไทยถึง 5 ชนิด ที่สำคัญได้แก่ ข้าวป่าสามัญ (*O. rufipogon* Grigg และ *O. nivara* Sharma et Shastry) ซึ่งเป็นบรรพบุรุษของข้าวปลูก พบกระจายอยู่ทั่วไปตามคูคลองข้างถนน และคูคลองใกล้แปลงนาหรือในแปลงนาของเกษตรกร ข้าวป่าทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับข้าวปลูกคือมีชุดโครโมโซมชนิด AA เหมือนกัน อย่างไรก็ตามข้าวป่าสามัญส่วนใหญ่จะเป็นพืชผสมข้าม และมีอัตราการผสมข้ามอยู่ระหว่าง 7 - 55 % (Barbier, 1989) ขณะที่ข้าวปลูก (cultivated rice) เป็นพืชผสมตัวเอง แต่ก็สามารถผสมข้ามได้ ถึงแม้ว่าจะมีอัตราการผสมต่ำเพียง 0 - 1 % (Robert *et al*., 1961) ผลของการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ทำให้เกิดเป็นข้าวลูกผสม (spontanea form) ซึ่งทำให้มีการกระจายตัวและเกิดความแปรปรวนสูงหลากหลายลักษณะ (สงกรานต์, 2545) จากการศึกษาและสำรวจข้อมูลในธรรมชาติพบว่ามีการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่าในหลายพื้นที่ แสดงว่าข้าวปลูกและข้าวป่ามีความสามารถผสมข้ามและเข้ากันได้สูง (Song *et al*., 2004a)

การผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าว 2 ชนิดนี้ ทำให้เกิดการถ่ายเทยีนหรือการแลกเปลี่ยนยีน (gene flow) โดยมีการถ่ายเทอัลลีล หรือยีนจากประชากรหนึ่งไปสู่ประชากรอื่น ๆ Oka และ Chang (1961) รายงานการศึกษาในประเทศไทย พบว่ามีการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในสภาพธรรมชาติ โดยพบ waxy gene ในประชากรข้าวป่าสามัญทั้งที่โดยปกติข้าวป่าไม่ได้มียีนดังกล่าวนี้ แสดงว่าในสภาพธรรมชาติจะมีทิศทางการไหลของยีนจากข้าวปลูกไปยังข้าวป่า ทำให้พบยีนของข้าวปลูกในประชากรข้าวป่าสามัญเพิ่มมากขึ้น (ศันสนีย์, 2548) Chen *et al*.(2004) รายงานว่า การถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่ามีความแตกต่างกันไปตั้งแต่ 1.21 - 2.19% ในขณะที่การผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวปลูกและข้าววัชพืชมีประมาณ 1 - 52%

(Langevin *et al*., 1990) อัตราการถ่ายเทยีนขึ้นอยู่กับลักษณะของข้าวป่า และช่วงเวลาการออกดอกของข้าวทั้งสองชนิด อย่างไรก็ตามการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า ส่งผลกระทบต่อแหล่งพันธุกรรมของพืชทั้ง 2 ชนิด นอกจากนั้นการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม การสร้างถนน การเปลี่ยนแปลงระบบการปลูก ก็ส่งผลกระทบต่อการสูญหายของความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวป่าในประเทศไทย ทำให้ประชากรข้าวป่ามีความเสื่อมถอยทางพันธุกรรม (genetic erosion) ความแปรปรวนของยีนลดลง (Akimoto *et al*., 1999) หรือก่อให้เกิดการแพร่ระบาดของข้าววัชพืชเพิ่มมากขึ้น ดังรายงานของ จรรยาและศันสนีย์ (2548) ที่พบการระบาดของข้าววัชพืชทั้งข้าวหาง ข้าวแดง และข้าวดีดในหลายพื้นที่ ซึ่งกำลังเป็นปัญหากลายเป็นวัชพืชร้ายแรงในนาข้าวของประเทศไทย โดยถูกพบกระจายทั่วไปในพื้นที่การปลูกข้าว อภิญญา (2548) พบว่าในปัจจุบันพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือตอนล่าง ประสบกับปัญหาวัชพืชชนิดใหม่คือ ข้าววัชพืช ที่มีการแพร่ระบาดรุนแรงตั้งแต่ปี 2544 ที่ จ.กาญจนบุรี จากผลที่มีเมล็ดวัชพืชปะปนอยู่ในกระบวนการผลิต เป็นสาเหตุสำคัญทำให้ผลผลิตข้าวลดลง 10 - 100% เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ สมศักดิ์ และคณะ (2539) ที่พบว่าเมล็ดข้าวแดงซึ่งจัดเป็นวัชพืชร้ายแรงมีการปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวปลูกในพื้นที่ปลูกข้าวทุกภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวจากทางภาคใต้พบว่ามีข้าวแดงปะปนมากที่สุด ส่งผลให้ผลผลิตข้าวเสียหายทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ

จากข้อมูลและสภาพปัญหาที่กล่าวมานั้น ค่อนข้างซับซ้อนผูกพันกับระบบพันธุกรรมของข้าวปลูก (*O. sativa*) และ ข้าวป่า (*O. rufipogon*) ดังนั้นการแก้ปัญหาจึงจำเป็นต้องอาศัยความรู้พื้นฐานเรื่องการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า จะช่วยเพิ่มความเข้าใจเรื่องความหลากหลายทางพันธุกรรม และความสามารถในการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมข้าวป่าให้มากขึ้น และการศึกษาเกี่ยวกับการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าภายใต้สภาพธรรมชาตินั้นยังมีไม่มาก อีกทั้งการศึกษาวิจัยนี้ยังช่วยในการคัดเลือกข้าวป่าที่จะนำมาใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อการวางแผนการจัดการเพาะปลูกโดยเลือกเพาะปลูกข้าวพันธุ์ที่ไม่สามารถเข้ากันได้กับข้าวป่า หรือความสามารถในการผสมข้ามพันธุ์กับข้าวปลูกต่ำ ซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดข้าววัชพืชได้อีกด้วย

ตรวจเอกสาร

1. ความสำคัญและการจำแนก *Oryza* Species

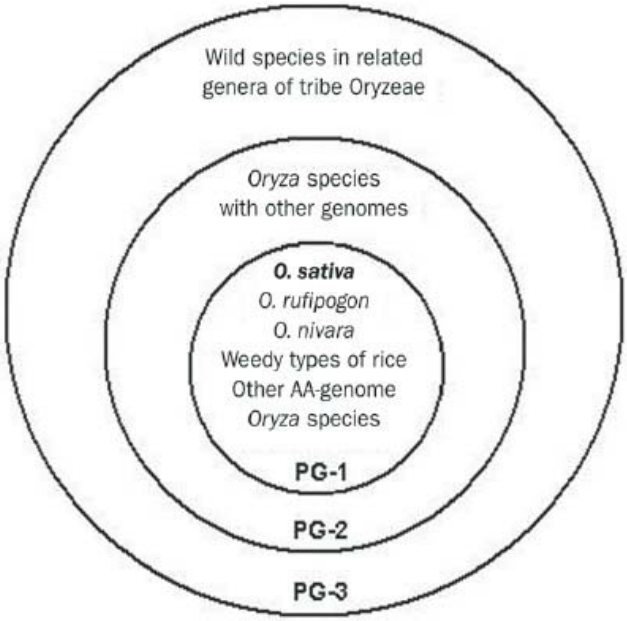
ข้าวเป็นพืชล้มลุกตระกูลหญ้า จัดอยู่ใน Family Poaceae สกุล *Oryza* มีความหลากหลายทางนิเวศ พบการแพร่กระจายพันธุ์อย่างกว้างขวางทั่วโลก สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อน และเขตอบอุ่น ตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 53 องศาเหนือ ถึง 35 องศาใต้ และสามารถเจริญเติบโตได้ตั้งแต่ระดับน้ำทะเล จนถึงความสูง 2500 เมตร (สงกรานต์, 2543) เป็นพืชที่มีความสำคัญต่อวิถีชีวิตและเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยประเทศไทยมีเนื้อที่ปลูกข้าวประมาณ 69 ล้านไร่ ให้ผลผลิตเฉลี่ย 474 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2551) ในปี พ.ศ. 2551 ประเทศไทยสามารถส่งออกข้าวไปยังตลาดโลกได้ประมาณ 9.4 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่า 118,873 ล้านบาท (สถิติสินค้าส่งออก, 2551) ประเทศไทยจึงเป็นประเทศที่ส่งออกข้าวเป็นอันดับ 1 ของโลก และสามารถผลิตข้าวได้มากเป็นอันดับที่ 6 รองจาก จีน อินเดีย อินโดนีเซีย บังคลาเทศ และเวียดนาม (สุนทรีย์, 2549) ข้าวจัดว่าเป็นพืชที่มีความหลากหลายของพันธุ์สูง ซึ่งอาจมีมากถึง 120, 000 สายพันธุ์ (สงกรานต์, 2543) อย่างไรก็ตามจากการจำแนกพืชสกุลนี้จากทั้งหมด 23 ชนิด พบว่าเป็นชนิดข้าวปลูก (cultivated rice) เพื่อบริโภคเพียง 2 ชนิด คือ *O. glabberrima* ที่มีการปลูกเฉพาะบริเวณพื้นที่ทางตะวันตกของทวีปอัฟริกา และ *O. sativa* มีปลูกแพร่หลายเกือบทั่วโลก โดยเฉพาะในทวีปเอเชีย กลุ่ม *O. sativa* สามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ 1) *indica* นิยมปลูกในเขตร้อน เช่น ประเทศไทย อินเดีย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย และศรีลังกา เป็นต้น 2) *japonica* นิยมปลูกทั่วไปในเขตอบอุ่น เช่น ประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี และ 3) *javanica* มีการปลูกอยู่เฉพาะในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น

นอกเหนือจาก *O. sativa* และ *O. glabberrima* ที่เหลืออีก 21 ชนิด เป็นข้าวป่า มีลักษณะเป็นวัชพืชที่มีการเจริญเติบโตตามธรรมชาติ สามารถพบตามบริเวณหนอง บึง ในเขตร้อนชื้น และเป็นพันธุ์ข้าวที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี จึงเป็นแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญของยีนที่เป็นประโยชน์ในด้านต้านทานโรค แมลง ทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ (กาญจนา, 2536) จากการศึกษาด้านพันธุกรรม พบว่าข้าวในสกุล *Oryza* มีชุดโครโมโซม 2 แบบ คือ ดิพลอยด์ (2n = 2x = 24) และเตตระพลอยด์ (2n = 4x = 48) และมีชนิดของจีโนมที่แตกต่างกัน 10 แบบ คือ AA, BB, CC, BBCC, CCDD, EE, FF, GG, JJHH และ JJKK (Vaughan, 1994) จากรายงานของ Harlan และ de Wet (1971) พบว่า แหล่งพันธุกรรมของข้าวปลูก สามารถแบ่งออกเป็น 3 ระดับ (รูปที่1) ดังนี้คือ

1. Primary gene pool (PG - 1) ได้แก่ ข้าวปลูกเอเชีย ข้าววัชพืช ซึ่งเป็นลูกผสมที่เกิดจากข้าวป่าผสมข้ามกับข้าวปลูก (*O. sativa* f. *spontanea*) บรรพบุรุษข้าวป่า (*O. rufipogon* and *O. nivara*) และข้าวสกุล *Oryza* ที่มีจีโนมเป็น AA

2. Secondary gene pool (PG - 2) ประกอบด้วยข้าวป่า ที่มีจีโนมชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ AA จีโนม แต่อยู่ในสกุล *Oryza*

3. Tertiary gene pool (PG - 3) ประกอบด้วย สกุลอื่นๆ จำพวก Oryzeae ในวงศ์ Poaceae



รูปที่ 1 แหล่งพันธุกรรมข้าวปลูกเอเชีย (*Oryza sativa* L.)
ที่มา : Lu และ Snow (2005)

2. ความหลากหลายของข้าวป่าและการแพร่กระจายของข้าวป่า

ข้าวป่า คือ ข้าวที่เกิดขึ้น และเจริญเติบโตตามธรรมชาติ ซึ่งมีลักษณะนิเวศที่หลากหลาย มีคุณลักษณะต้านทานโรคและแมลง สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้เป็นอย่างดี จึงมีความเป็นไปได้ที่จะพบข้าวป่าขึ้นอยู่ทั่วไป ไม่ว่าจะเป็น หนอง บึง ที่โล่งแจ้ง บริเวณร่มเงา หรือใกล้ๆบริเวณน้ำตก ในเขตร้อนชื้น ข้าวป่าสามารถแยกได้เป็น 2 กลุ่มตามลักษณะการเจริญเติบโต คือ ข้าวป่าปีเดียว (annual) และข้าวป่าข้ามปี (perennial) (Koroda *et al*., 2006) ซึ่งพบว่า ข้าวป่าปีเดียวจะเจริญเติบโตได้ดีบริเวณที่แห้ง ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ส่วนข้าวป่าข้ามปีจะเจริญเติบโตได้ดีบริเวณที่มีน้ำขัง แอ่งน้ำ หรือท้องร่อง มีอัตราการสร้างเมล็ดน้อย ขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ด้วยการแตกกอ (Oka, 1988) แต่ข้าวป่าพันธุ์หนึ่ง ๆ อาจจะมีลักษณะการเจริญเติบโตทั้งสองแบบร่วมกัน (Morishima and Gadrinab, 1987) จากการศึกษาการแพร่กระจายของข้าวป่า พบว่า

ข้าวป่าสามัญชนิดข้ามปี (*O. rufipogon*) และข้าววัชพืช มีความแตกต่างทางลักษณะที่สามารถจำแนกได้เป็น 3 ลักษณะ คือ ข้าวหาง (เมล็ดมีหางยาวและร่วง) ข้าวดีด (เมล็ดไม่มีหางและร่วง) และข้าวแดง (เมล็ดไม่มีหางและไม่ร่วง) พบการกระจายตัวสูงในแถบเอเชีย บริเวณทางตอนใต้ของจีน ทางตอนใต้และตะวันออกเฉียงใต้ของเอเชียลงไปถึงทางตอนเหนือของออสเตรเลีย และมักจะพบเจริญเติบโตอยู่ในบริเวณทะเลสาบ บ่อ คูน้ำ ตามริมน้ำ และตามขอบคันนา (Vaughan, 1994) ส่วนข้าววัชพืชจะพบขึ้นปะปนในพื้นที่มีการปลูกข้าว จัดเป็นวัชพืชในนาข้าว พบมากในเขตที่มีระบบการปลูกข้าวแบบนาหว่านมากกว่านาดำ (Suh *et al*., 1997) และเป็นปัญหาที่สำคัญทำให้ผลผลิตและคุณภาพของข้าวลดลง (Chen *et al*., 2004)

เนื่องจากการที่ประเทศไทยมีทำเลที่ตั้ง อยู่ในเขตศูนย์กลางของการผันแปรของข้าว จึงก่อให้เกิดความหลากหลายของสายพันธุ์ข้าว (ทั้งข้าวป่าและข้าวปลูก) โดยเฉพาะการแพร่กระจายและความหลากหลายของข้าวป่าในประเทศไทย ซึ่งพบว่า “ข้าวป่า” เป็นคำที่ใช้เรียกแทนข้าวป่าทุกๆ ชนิด และยังมีชื่อเรียกที่แตกต่างกันออกไปตามท้องถิ่นต่างๆ เช่น ในภาคกลางของประเทศไทยจะเรียกว่า ข้าวละมาน หญ้าละมาน หรือหญ้าสะแหง ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เรียกว่า ข้าวป่า ข้าวนก ส่วนทางภาคใต้เรียกว่า ข้าวผี เป็นต้น จากการศึกษาของ สงกรานต์ และคณะ (2538) พบว่าข้าวป่ามีการแพร่กระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ โดยพบการกระจายตัวของ *O. rufipogon O. nivara* และ spontanea form ทุกภาคเหมือนกัน แต่ *O. rufipogon* พบค่อนข้างมากกว่าชนิดอื่น การจำแนกและการแพร่กระจาย ข้าวป่าของประเทศไทยสามารถจำแนกได้เป็น 5 ชนิดดังนี้ (สงกรานต์, 2542)

1. *O. rufipogon* Griff หรือ *O. perennis* Moench. มีโครโมโซมชุด AA จำนวน 24 โครโมโซม (2n = 2x = 24) เป็นข้าวป่าอายุข้ามปี ต้นสูงกว่า 1 เมตร กอแผ่-เลื้อย ติดเมล็ดน้อย เมล็ดเมื่อสุกสีดำ ร่วงง่าย อับละอองเกสรยาวเกือบเท่าเมล็ด มีหางยาวค่อนข้างอ่อน ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดหรือข้อ มีการแตกหน่อหรือกอตามข้อจึงมีอายุข้ามปี ผสมข้ามกับข้าวปลูกได้เองตามธรรมชาติ พบตามบริเวณที่โล่งแจ้ง ทุกภาคของประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคกลางและภาคใต้

2. *O. nivara* Sharma *et* Shastry มีโครโมโซมชุด AA จำนวน 24 โครโมโซม (2n = 2x = 24) เป็นข้าวป่าอายุปีเดียว ต้นสูงประมาณ 50 - 160 เซนติเมตร ทรงกอตั้ง - แผ่ ติดเมล็ดน้อยถึงปานกลาง เมล็ดเมื่อสุกสีดำ และร่วงง่าย มีหางยาว ค่อนข้างแข็ง ขยายพันธุ์ได้ทั้งเมล็ดและแตกหน่อตามข้อ ผสมข้ามกับข้าวปลูกได้เองตามธรรมชาติ พบทุกภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาคกลาง และตะวันออกเฉียงเหนือตามบริเวณที่โล่งแจ้ง ชื้น น้ำขัง - ตื้น

3. *O. officinalis* Wall *ex* Watt มีโครโมโซมชุด CC จำนวน 24 โครโมโซม (2n = 2x = 24) เป็นข้าวป่าอายุข้ามปี ทรงกอตั้ง - เอน ออกดอกตลอดปีเมล็ดเล็ก ป้อม เมื่อสุกมีสี

น้ำตาลหรือดำ ติดเมล็ดมาก ร่วงง่าย ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด พบบริเวณร่มเงา เช่น ในสวนทุเรียน หรือบริเวณน้ำตก จังหวัดที่พบคือ กรุงเทพมหานครฯ นนทบุรี ชุมพร สระบุรี และเชียงราย

4. *O. ridleyi* Hook มีโครโมโซมชุด HHJJ จำนวน 48 โครโมโซม (2n = 4x = 48) ต้นสูงประมาณ 30 - 100 เซนติเมตร กอตั้งตรง - แผ่ ใบหนา สีเขียวเข้ม เกสรเพศเมียสีม่วง - กำมะหยี่ กลีบรองดอกยาวมีหางแต่สั้นเมล็ดยาวเรียว เมื่อสุกสีดำ ติดเมล็ดน้อยและร่วงง่าย ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด พบตามบริเวณที่ร่มเงา หรือใกล้บริเวณน้ำตก มีแหล่งแพร่กระจายน้อยมาก พบในจังหวัดนนทบุรี สระบุรี สงขลา และกรุงเทพมหานครฯ

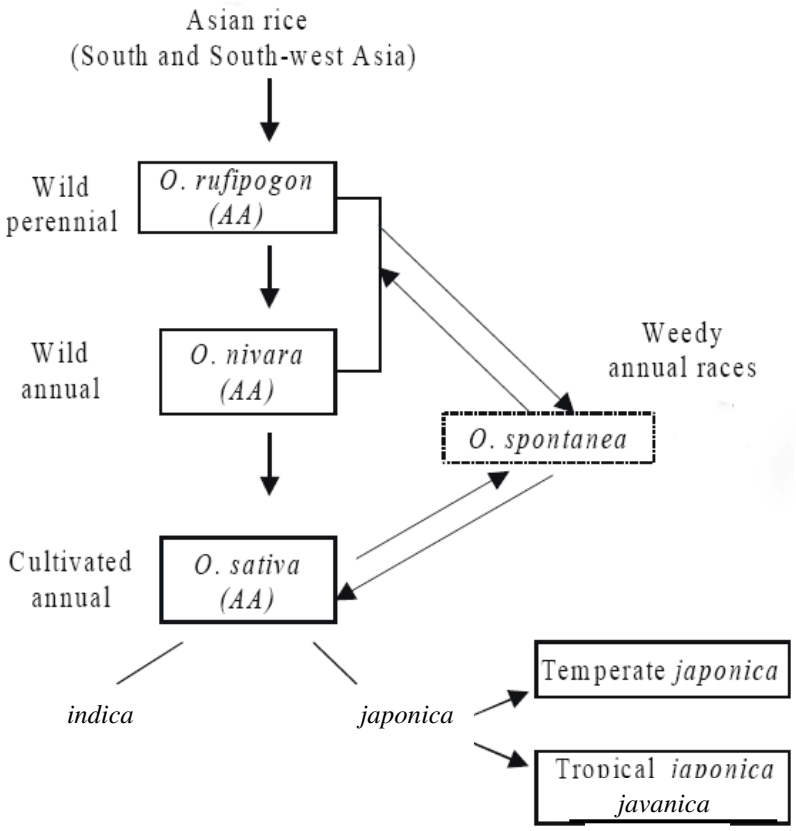
5. *O. granulata* Nees et Arn. *ex* Watt มีโครโมโซมชุด GG จำนวน 24 โครโมโซม (2n = 2x = 24) ลำต้นเล็กใบคล้ายใบไผ่ กอตั้งตรง - แผ่ สูงประมาณ 80 เซนติเมตร รวงไม่แตกระแง้ เกสรเพศเมียสีขาว ติดเมล็ดน้อยมาก เมล็ดสุกสีดำ ร่วงง่าย ไม่มีหาง พบในที่ร่มเงา - ทึบ หรือใกล้ ๆ บริเวณน้ำตก พบในภาคเหนือ เช่น พิษณุโลก เชียงใหม่ น่าน ลำปาง สำหรับภาคกลาง พบที่สระบุรีเท่านั้น

นอกจากข้าวป่าที่กล่าวมาแล้ว ยังพบข้าวป่าที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างข้าวป่ากับข้าวปลูก หรือระหว่างข้าวป่าที่เป็นบรรพบุรุษข้าวปลูกด้วยกัน ข้าวป่าประเภทนี้ มีการกระจายตัวหรือแปรปรวนสูง ไม่สามารถจัดเป็นอีกชนิดได้ จึงเรียกว่า spontanea forms มีลักษณะกึ่งข้าวป่าและข้าวปลูก (สงกรานต์, 2542) IRRI (1990) รายงานว่ามีข้าวป่าทั้งหมด 7 ชนิดในประเทศไทย ได้แก่ *O. rufipogon, O. nivara*, *O. officinalis, O. granulata, O. minuta, O. ridleyi* และ *O. spontanea* เป็นลักษณะที่ก้ำกึ่งระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก โดยมีชุดโครโมโซมและ จีโนมแตกต่างกันคือ AA BB CC GG BBCC HHJJ และไม่ทราบแน่นอน ตามลำดับ (Ge *et al*., 1999)

3. ความสัมพันธ์ระหว่างข้าวปลูก ข้าวป่า และข้าววัชพืช

ข้าวป่า และข้าวปลูก มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมสูงมาก เนื่องจากข้าวปลูกมีวิวัฒนาการมาจากข้าวป่าเป็นเวลานานกว่า 7,000 ปี (รูปที่2) ซึ่งเป็นผลมาจากวิวัฒนาการตามธรรมชาติ และขั้นตอนกระบวนการคัดเลือกโดยมนุษย์อีกด้วย จากการศึกษาข้าวป่า *O. perennis* และ *O. sativa* f. *spontanea* ที่พบตามแหล่งธรรมชาติเท่านั้น พบว่ามีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับข้าวปลูก (Oka and Chang, 1961) ทำให้สันนิษฐานได้ว่าข้าวปลูกน่าจะมาจากการวิวัฒนาการของข้าวป่าข้ามปี มาเป็นข้าวป่าปีเดียว และข้าวปลูกปีเดียว ตามลำดับ ปรีชา และวิสุทธิ์ (2545) ศึกษายีนที่ควบคุมการสร้างแป้งอไมโลส หรือที่เรียกว่า waxy gene โดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) การปรากฏหรือสูญหายของ p-SINE1-r2 พบว่าข้าวปลูกและข้าวป่าชนิด *O. nivara* มี p-SINE1-r2 แต่ไม่พบในข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* เมื่อวิเคราะห์อย่าง

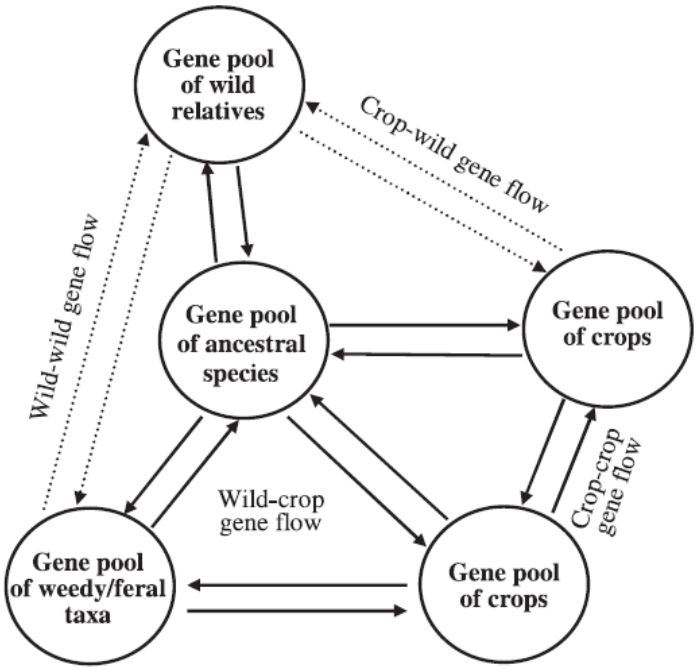
ละเอียด พบว่าข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* มีนิวคลีโอไทด์ขาดหายไปทั้งสิ้น 125 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งนิวคลีโอไทด์ที่ขาดหายไปนั้นก็คือ p-SINE1-r2 ถือได้ว่าข้าวปลูกนั้นน่าจะมาจากข้าวป่าชนิด *O. nivara* เพราะมี p-SINE1-r2 เหมือนกัน และยังเชื่อกันว่า ข้าวทั้ง 3 ชนิด คือ *O. nivara*, *O. rufipogon* และ *O. sativa* ถือว่ามีความสัมพันธ์กัน เพราะเป็นแหล่งยีนปฐมภูมิของข้าว (Morishima *et al*., 1992) สอดคล้องกับการศึกษาของ ศันสนีย์ (2548) ที่พบว่าข้าวทั้ง 3 ชนิดมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน คือ 24 และมีโครโมโซมเป็นชุด AA เหมือนกัน ซึ่งสามารถผสมพันธุ์และแลกเปลี่ยนยีนกันได้เป็นปกติ การแลกเปลี่ยนยีนภายในแหล่งยีนปฐมภูมินี้เป็นสิ่งสำคัญ เพราะเป็นส่วนหนึ่งของวิวัฒนาการของข้าวปลูก (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 แสดงวิถีแห่งการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการจากข้าวป่าเป็นข้าวปลูก
ที่มา : Glaszmann (1987)

4. การถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าในสภาพธรรมชาติ

การถ่ายเทยีน หรือการแลกเปลี่ยนยีน (gene flow) ที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ ทำให้เกิดการถ่ายเทอัลลีลหรือยีนจากประชากรหนึ่งไปสู่ประชากรหนึ่ง (Schaal, 2003) เป็นกระบวนการทางชีววิทยาตามธรรมชาติ เกิดจากการแพร่กระจายของละอองเกสร และเมล็ด ในสภาพธรรมชาติการถ่ายเทยีนมี 2 ทิศทาง คือ จากพันธุ์ปลูกไปสู่พันธุ์ปลูก (crop - to - crop) ซึ่งมักจะเกิดขึ้นในพืชสกุลเดียวกันแต่คนละชนิด และอีกทางหนึ่งคือ จากพืชปลูกไปสู่วัชพืชหรือพืชป่าที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม หรือในทิศทางตรงกันข้าม (crop - to - wild) และ(wild - to - crop) (Lu, 2003) ซึ่งการถ่ายเทยีนออกหรือเข้าในประชากรหนึ่ง ๆ อาจทำให้ความถี่ของอัลลีลเกิดการเปลี่ยนแปลง ส่งผลต่อวิวัฒนาการของพืช (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 การถ่ายเทยีนจากพืชปลูก - พืชปลูก และ พืชปลูก - พืชป่า
ที่มา : Lu (2003)

มีการศึกษาการผสมข้ามตามธรรมชาติหรือการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก แสดงให้เห็นว่า การถ่ายเทยีนสามารถเกิดได้กับข้าวปลูก เช่น ข้าวปลูกแอฟริกัน *O. grabberima* กับข้าวป่า *O. braviligula* ข้าวปลูกเอเชีย *O. sativa* กับ *O. perrennis* (Oka and Chang, 1959) ระหว่างข้าวป่า *O. rufipogon* หรือข้าวปลูก *O. sativa* และข้าววัชพืช (Oka and

Chang, 1959; Kiang *et al*., 1979; Langevin *et al*., 1990; Akimoto *et al*., 1999; Song *et al*., 2003b) ในประเทศไทยข้าวปลูกและข้าวป่าจะเจริญเติบโตในบริเวณใกล้เคียงกัน และสามารถผสมข้ามกันได้ มีหลักฐานการถ่ายเทยีนตามธรรมชาติตั้งแต่ ปี 1961 โดยพบว่าบริเวณที่มีข้าวป่าขึ้นร่วมในแปลงปลูกข้าวเหนียว มี waxy gene ในประชากรข้าวป่าเกิดขึ้น ลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกจะเป็นพันธุ์ทาง โดยลูกผสมจะมีการแลกเปลี่ยนยีนผ่านทางละอองเรณู (pollen flow) ในสภาพธรรมชาติพบว่า การถ่ายเทของยีนผ่านทางละอองเรณูเกือบทั้งหมดจะมีทิศทางจากข้าวปลูกไปยังข้าวป่า (Pratheppha, 2009) จากการทดลองในประเทศจีน Oka และ Chang (1961) รายงานว่า ทิศทางการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่ามีความถี่ของยีนมากกว่าจากข้าวป่าไปสู่ข้าวปลูก นอกจากนี้ ศันสนีย์ (2548) รายงานว่าข้าวป่ามีเปอร์เซ็นต์การผสมข้ามสูง เนื่องจากมีเกสรตัวเมียที่มีขนาดใหญ่กว่าข้าวปลูกมาก เกสรตัวเมียยื่นออกมานอกกลีบดอก ทำให้ง่ายต่อการที่จะรับการผสม

Kuroda และคณะ (2005) ศึกษาวิวัฒนาการและความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวป่าในเวียงจันทร์ ประเทศลาว และความสามารถในการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวฤดูเดียวกับข้าวหลายฤดู โดยใช้ข้าวปลูก (*O. sativa*) และข้าวป่าทั้ง 2 ชนิด คือ ข้าวป่าฤดูเดียว (*O. nivara)* และข้าวป่าหลายฤดู (*O. rufipogon*) พบว่ามีการถ่ายเทยีนอย่างอิสระภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในข้าวกลุ่ม *O. sativa* กับ *O. rufipogon* ประมาณ 10% และระหว่าง *O. sativa* กับ *O. nivara* ประมาณ 14% แต่มีรายงานว่าโดยทั่วไป ข้าวปลูกเป็นพืชผสมตัวเอง มีอัตราการผสมข้ามเพียง 0 - 1% เท่านั้น (Robert *et al*., 1961) ส่วนข้าวป่า (*O. rufipogon*) เป็นพืชผสมข้าม มีอัตราการผสมข้ามถึง 7 - 55% (Barbier, 1989; Langevin *et al*, 1990) Oka (1988) รายงานว่า เปอร์เซ็นต์การผสมข้ามของข้าวปลูก มีค่า 0 - 5% และเปอร์เซ็นต์การผสมข้ามของ ข้าวป่า *O. rufipogon* และ *O. nivara* มีค่า 30 - 50% และ 5 - 25% ตามลำดับ ดังนั้นการถ่ายเทยีนจึงมีความเป็นไปได้เมื่อข้าวป่าขึ้นร่วมในแปลงข้าวปลูก แต่ไม่พบรายงานการแลกเปลี่ยนของยีนระหว่างข้าวป่า *O. nivara* และ *O. rufipogon* ในสภาพธรรมชาติ (Oka and Chang, 1959) Chen และคณะ (2004) ทดลองการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก และข้าวป่าพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การผสมข้ามประมาณ 1.21 - 2.19% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของข้าวปลูกและข้าวป่าที่ใช้ในการศึกษา อัตราการถ่ายเทยีนขึ้นอยู่กับพันธุกรรม และระยะออกดอก การถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่าสามารถเพิ่มยีนใหม่ไปสู่ประชากรข้าวป่า โดยการรวมกันทีละน้อย อาจจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางพันธุกรรมภายในประชากรข้าวป่า และเปลี่ยนแปลงรูปแบบความหลากหลายของแหล่งประชากรข้าวป่า ส่งผลต่อวิวัฒนาการของข้าวป่าได้อีก

ในอีกด้านหนึ่งหากข้าวปลูกได้รับการผสมข้ามจากข้าวป่าทำให้ยากแก่การควบคุมและกำจัด เนื่องจากยังมีลักษณะบางอย่างแตกต่างจากข้าวปลูก เช่น เมล็ดหลุดร่วงง่าย เมล็ดมีขนาดเล็ก หางยาว ข้าวกล้องมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง เมล็ดมีระยะพักตัวนาน ซึ่งลักษณะเหล่านี้หากปนเข้าไปในผลผลิตของข้าวปลูกจะทำให้เกิดปัญหาทางด้านคุณภาพและปริมาณของข้าวได้ โดยประเทศไทยมีการระบาดของข้าววัชพืชตั้งแต่ปี 2002 ทำให้ผลผลิตลดลง 10 - 100% ขึ้นอยู่กับระดับการระบาดของข้าววัชพืช ส่วนการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าโดยการช่วยผสมเกสรจะเป็นวิธีหนึ่งในการนำลักษณะที่ดีจากข้าวป่ามาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ (ธีรศักดิ์, 2547) มีรายงานความสำเร็จในการใช้ข้าวป่าเป็นแหล่งพันธุกรรมความต้านทานต่อโรค และแมลง เช่น การต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (บวรพนธ์, 2544) สุรเดช และคณะ (2548) รายงานการปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยผสมข้ามระหว่างข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง Rathu Heenati/ขาวดอกมะลิ105 (KDML105) และข้าวพันธุ์ชัยนาท1 กับพันธุ์ข้าวป่าที่มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และทำการตรวจสอบยีนดังกล่าวโดยเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ในลูกผสม ประพาส และ บุญหงษ์ (2533) พบว่าข้าวป่า *O. rufipogon* สามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมเพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานไส้เดือนฝอยรากปม อย่างไรก็ตามการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกหากเกิดขึ้นในสภาพธรรมชาติจะนำไปสู่วิวัฒนาการของพืช ซึ่งสถานการณ์ปัจจุบันพบว่าอาจเป็นประโยชน์หรือโทษก็ได้ ขึ้นอยู่กับทิศทางการคัดเลือกในธรรมชาติและในแปลงปลูก รวมถึงการจัดการของเกษตรกร สำหรับการถ่ายเทยีนนั้นสามารถประเมินได้โดยใช้วิธีทางตรงหรือทางอ้อม ข้าวเป็นพืชดอก จะมีปัจจัยในการถ่ายเทยีน คือ ละอองเกสร และเมล็ด ซึ่งวิธีทางตรงนั้นสามารถประเมินค่าการถ่ายเทยีนโดยสังเกตการณ์การถ่ายละอองเกสรหรือการกระจายของเมล็ด (Nilsson *et al*., 1992) นอกจากนี้ การศึกษาการถ่ายเทยีนจะใช้วิธีการตรวจสอบทางอ้อม โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุล เช่น โปรตีน หรือ ดีเอ็นเอ และศึกษาความแตกต่างของความถี่ของอัลลีลในตัวอย่างพืช (Snow and Parker, 1998)

.การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมพืช

ได้มีการใช้เครื่องหมายระดับโมเลกุล (molecular marker) ใช้สำหรับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชมาหลายทศวรรษแล้ว ในระยะแรกเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้คือ ไอโซไซม์ (isozyme) แต่พบว่ามีข้อจำกัดอยู่มาก โดยมีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมและระยะการเจริญเติบโตของพืชเข้ามาเกี่ยวข้องทำให้ประสิทธิภาพลดลง (Claros *et al*., 2000; Degani *et al*., 2001) ต่อมามีการพัฒนาเทคนิค RFLP (restriction fragment length polymorphism) อาศัยหลักการที่เกิดจากความแตกต่างของลำดับเบสที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ความ

แตกต่างของลำดับเบสนี้เป็นคุณสมบัติทั่วไปที่พบในสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนไทป์ต่างกัน อย่างไรก็ตาม เทคนิคนี้ยังมีข้อเสีย คือ ต้องใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจำนวนมาก และต้องมีคุณภาพดี อีกทั้งยังมีขั้นตอนยุ่งยาก และค่าใช้จ่ายสูง (Saiki *et al*., 1987; Kaundun *et al*., 2000) ต่อมามีการพัฒนาวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR: polymerase chain reaction) ซึ่งง่ายและรวดเร็ว สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายได้ปริมาณมากในระยะเวลาสั้น หลังจากนั้นได้มีการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลอื่น ๆ เพิ่มขึ้น เช่น เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD: random amplified polymorphic DNA) เอเอฟแอลพี (AFLP: amplification fragment length polymorphism) และไมโครแซตเทล-ไลต์ (microsatellite) หรือ SSR (simple sequence repeat) ซึ่งการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาจำแนกกลุ่มและชนิดพืช มีความแม่นยำสูง สะดวกและรวดเร็ว สามารถคัดเลือกได้ครั้งละหลาย ๆ ลักษณะ ใช้จำแนกพืชที่มียีนต่างชนิดหรือต่างตำแหน่งซึ่งควบคุมลักษณะเดียวกัน สามารถกระทำได้ในทุกระยะการเจริญเติบโตของต้นพืช ไม่ทำลายต้นพืชและสามารถจำแนกลักษณะพันธุกรรมของยีนที่สนใจได้ (กัลยา และกรรณิการ์, 2544) มีเครื่องหมายโมเลกุลหลายชนิดที่ใช้ในการศึกษาความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว ประกอบด้วย RFLP (Botstein *et al*., 1980) RAPD (Welsh and McClelland, 1990) AFLP (Vos *et al*., 1995) และ SSR (Tautz, 1989) McCouch และคณะ (1997) รายงานว่า เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ให้ความหลากหลายของแถบดีเอ็นเอหรืออัลลีลมากกว่าเครื่องหมายโมเลกุลอื่น เมื่อเปรียบเทียบเครื่องหมาย RFLP กับ ไมโครแซตเทลไลต์ พบว่า เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ ให้ความหลากหลายของรูปแบบดีเอ็นเอมากที่สุดในข้าว (Wu and Tanksley, 1993) และมีประโยชน์ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างข้าวที่มีความใกล้ชิดกัน

.1 เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เป็นการอาศัยความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้เนื่องจากจำนวนชุดซ้ำที่มีในไมโครแซตเทลไลต์ที่ตำแหน่งเดียวกันในตัวอย่างแต่ละตัวอย่างที่ไม่เท่ากัน ซึ่งจะตรวจสอบได้ทันทีเมื่อนำมาแยกขนาดโดยใช้ denaturing polyacrylamide gel electrophoresis ขนาดของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันอาจมีเพียง 1 ชุดซ้ำ คือ 2 คู่เบส ซึ่งไมโครแซตเทลไลต์เป็นดีเอ็นเอที่มีขนาดของชุดซ้ำสั้นมากเพียง 1 - 4 คู่เบส หรือไม่เกิน 10 คู่เบส เนื่องจากไมโครแซตเทลไลต์ดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นเบสซ้ำขนาดสั้นๆ ไม่ซับซ้อนจึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า SSR (simple sequence repeat) หรือ STR (short tandem repeat) โดยทั่วไปพืชส่วนใหญ่จะพบ เบสซ้ำสองเบส ที่เรียกว่า dinucleotide เช่น $(AT/TA)_n$ และ $(GA/CT)_n$ (Song, 2003a)

เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ สามารถนำไปใช้ได้ง่าย เนื่องจากเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้การเพิ่มปริมาณโดยพีซีอาร์ จึงต้องการดีเอ็นเอต้นแบบปริมาณน้อย และชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบก็มีขนาดสั้น ไม่จำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอตัวอย่างที่มีคุณภาพดีมากนัก ผลการตรวจสอบมีความแม่นยำ (สุรินทร์, 2545) สามารถส่งข้อมูลลำดับเบสของคู่ไพรเมอร์ เพื่อนำไปใช้ที่ห้องปฏิบัติการใดก็ได้ มีโพลิมอร์ฟิซึมสูง เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงจำนวนชุดซ้ำได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีการข่มแบบ co - dominance จึงสามารถแยกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกต และเฮเทอโรไซโกตได้ และมีการกระจายตัวทั้งจีโนม จึงส่งผลให้ปัจจุบันใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์กันมาก (Roa *et al*., 2000) เช่น การทำแผนที่ของจีโนม แยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตโดยวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ตรวจสอบเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต ตรวจสอบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และการถ่ายเทยีนระหว่างประชากร (Chase *et al*., 1996; Innan *et al*., 1997) มีการใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ในพืชหลายชนิด เช่น ข้าว (Wu and Tanksley, 1993) ข้าวบาร์เลย์ (Becker and Heun, 1995) องุ่น (Thomas and Scott, 1993) เป็นต้น ตัวอย่างการประยุกต์ใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ในการศึกษาพันธุกรรมของข้าวมีดังนี้ Gao and Hong (2000) ศึกษาความหลากหลายของข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* โดยใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ และไอโซไซม์ พบว่าการวิเคราะห์โดยไมโครแซตเทลไลต์ ให้ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าไอโซไซม์ Yu และคณะ (2005) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าววัชพืชโดยเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์และ RAPD พบว่า เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ให้ polymorphism สูงกว่า เทคนิค RAPD

ในการใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์เพื่อศึกษาการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่านั้น Zhou และคณะ (2003) ศึกษาการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่า *O. rufipogon* และอัตราการแลกเปลี่ยนยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า จนสามารถนำไปใช้ศึกษาวิวัฒนาการของข้าวปลูกได้ Chen และคณะ (2004) ศึกษาความสัมพันธ์ของการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูก (*O. sativa* L.) สู่ข้าววัชพืช (*O. sativa* f. *spontanea*) และข้าวป่า (*O. rufipogon* Griff.) เพื่อประเมินขอบเขตการถ่ายเทยีนจากข้าวดัดแปลงพันธุกรรมไปสู่ข้าววัชพืชและข้าวป่า โดยทำการทดลองในประเทศเกาหลีและประเทศจีน พบว่าการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกดัดแปลงพันธุกรรมไปสู่ข้าววัชพืชมีความถี่ประมาณ 0.011 – 0.046 % และจากข้าวปลูกดัดแปลงพันธุกรรมไปสู่ข้าวป่าประมาณ 1.21 – 2.19% จากผลการศึกษาดังกล่าวนี้อาจเป็นปัญหาที่สำคัญของระบบนิเวศวิทยาในอนาคต เมื่อมีการอนุญาตให้ปลูกข้าวดัดแปลงพันธุกรรม ดังนั้นควรมีวิธีการในการป้องกันการถ่ายเทยีนที่อาจเกิดขึ้นได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Lu (2003) ที่ประยุกต์ใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ ในการศึกษาการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ Minghui-63 ไปสู่ข้าวป่า O. *rufipogon* โดยปล่อยให้มีการผสม

ข้ามตามธรรมชาติ และใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เพื่อประเมินลูกผสมระหว่างข้าวทั้ง 2 โดยเลือกคู่ไพรเมอร์ที่สามารถแสดงแถบจำเพาะของข้าวทั้ง 2 ชนิด ซึ่งง่ายต่อการแยกในอิเล็กโตรโฟริซิส โดยพบแถบดีเอ็นเอ F ใน *O. rufipogon* ส่วน Minghui-63 พบแถบดีเอ็นเอ S และในลูกผสมระหว่างข้าวทั้ง 2 ชนิด พบแถบดีเอ็นเอ 2 แถบคือ F และ S เปอร์เซ็นต์การถ่ายเทยีนประมาณ 1.21 - 2.94% จากผลดังกล่าวทำให้สามารถวางแผนการจัดการแปลงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์ข้าวป่าในสภาพธรรมชาติได้ Cao และคณะ (2006) ใช้คู่ไพรเมอร์ 20 คู่ไพรเมอร์ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและแหล่งกำเนิดของข้าววัชพืชที่พบทางตะวันออกเฉียงเหนือของจีน พบว่า คู่ไพรเมอร์ RM21 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอหรือจำนวนอัลลีลสูงที่สุด (10 อัลลีล) และคู่ไพรเมอร์ที่ให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงที่สุด คือ RM219 (H_e = 0.723) Song และคณะ (2006) ศึกษาการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกสู่ข้าวป่าในประเทศจีน โดยใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ เพื่อประเมินความถี่ของยีนและความแปรปรวนทางพันธุกรรมในข้าวป่าและข้าวปลูก โดยใช้ข้าวทั้งหมด 139 พันธุ์ เป็นข้าว *indica* 86 พันธุ์ *japonica* 53 พันธุ์ และข้าวป่า *O. rufipogon* 11 พันธุ์ ทำการทดสอบโดยใช้คู่ไพรเมอร์ทั้งหมด 17 คู่ไพรเมอร์ และประเมินการรวมพันธุกรรมระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าโดยโปรแกรม STRUCTURE สามารถแบ่งข้าวป่าออกเป็น 4 กลุ่ม คือ DX-P1, DX-P2, GZ-P2 และ HL-P โดยพบว่ากลุ่มประชากรข้าวป่า *O. rufipogon* จะกระจัดกระจายในระหว่างข้าวปลูกในกลุ่มที่ศึกษาและมีความใกล้ชิดเกี่ยวเนื่องกับข้าวปลูกมากกว่าข้าวป่าชนิดอื่น ๆ

นอกจากนี้ยังมีการนำเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์มาใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น Liang และคณะ (2004) ใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ในการคัดเลือกลูกผสมระหว่างข้าวปลูก (*O. sativa*) กับข้าวป่า (*O. rufipogon*) ชั่วที่ 2 - 4 ที่มียีนเพิ่มผลผลิต คือ (*yld*1.1 และ *yld*2.1) ซึ่งอยู่บนโครโมโซมแท่งที่ 1 และ 2 ของข้าวป่า พบว่า คู่ไพรเมอร์ที่มีประสิทธิภาพในการคัดเลือก คือ คู่ไพรเมอร์ RM9, RM24, RM5, RM306, RM166 และ RM208 Linghe และคณะ (2004) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวที่สามารถทนเค็มได้ จากข้าว 33 จีโนไทป์ที่มีระดับความสามารถในการทนเค็มแตกต่างกัน โดยใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ทดสอบกับคู่ไพรเมอร์ 25 ชนิด จากผลการทดสอบสามารถแบ่งกลุ่มข้าวชนิด *japonica* ได้ 3 กลุ่ม และชนิด *indica* สามารถจัดกลุ่มได้ 2 กลุ่ม เพื่อสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ สุรเดช และคณะ (2548) ใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ ตรวจสอบยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph*3 และติดตามการถ่ายทอดยีนต้านทานดังกล่าวในข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง Rathu Heenati/ขาวดอกมะลิ105 (KDML105) และข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 คู่ไพรเมอร์ที่ใช้ประกอบด้วย RM170, RM190, RM586, RM587, RM588, RM589 และ RM597 ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอที่ใกล้กับตำแหน่งที่ตั้งของยีนต้านทาน

ชนิด *Bph*3 พบว่า มีเพียง 3 คู่ไพรเมอร์ที่ให้ผลการทดลองที่ชัดเจน คือ RM170, RM190 และ RM586 ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันประมาณ 10 - 15 คู่เบสระหว่างข้าวพันธุ์เป้าหมายทั้งสองสายพันธุ์ และมีความชัดเจนเพียงพอสำหรับการนำมาใช้ติดตามตรวจสอบการถ่ายทอดยีนควบคุมลักษณะความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph*3 ได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่า และประชากรข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกในบางพื้นที่ทางภาคใต้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์
2. เพื่อทดสอบการผสมข้ามชนิดพันธุ์ระหว่างประชากรข้าวป่าและข้าวปลูก และตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์
3. เพื่อศึกษาการถ่ายเทยีนในกลุ่มประชากรข้าวปลูก และข้าวป่าจากแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญในภาคใต้ของประเทศไทย โดยอาศัยเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ และอุปกรณ์

1. วัสดุ

1.1 วัสดุพืช

เก็บตัวอย่างต้น และเมล็ดจากต้นข้าวป่าและข้าวปลูกในแปลงนาข้าวของเกษตรกรบางพื้นที่ในภาคใต้ของประเทศไทย (รูปที่ 4) จากสถานที่ต่างๆ ดังนี้

- แปลงข้าวเกษตรกร ตำบลดีหลวง อำเภอสทิงพระ จังหวัดสงขลา
- แปลงข้าวเกษตรกร ตำบลคลองรี อำเภอสทิงพระ จังหวัดสงขลา
- แปลงข้าวเกษตรกร ตำบลชุมพล อำเภอสทิงพระ จังหวัดสงขลา
- แปลงข้าวเกษตรกร ตำบลเกาะใหญ่ อำเภอกระแสสินธุ์ จังหวัดสงขลา
- แปลงข้าวเกษตร ตำบลเขาพังไกร อำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช
- แปลงข้าวเกษตร ตำบลหัวไทร อำเภอหัวไทร จังหวัดนครศรีธรรมราช
- แปลงข้าวเกษตรกร ตำบลท่าเคย อำเภอท่าฉาง จังหวัดสุราษฎร์ธานี

รูปที่ 4 พื้นที่นาข้าวที่มีข้าวป่าขึ้นปะปนกับข้าวปลูกในแปลงเดียวกัน ต.ดีหลวง จ.สงขลา

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

- CTAB (hexadecyltrimethyammonium bromide)
- β - mercaptoethanol
- Polyvinyl pyrrolidone (PVP-40)
- Sodium chloride (NaCl)
- Disodium ethylene diaminetetraacetate (Na_2EDTA)
- Tris-HCI pH 8.0
- Chloroform
- Isopropanol
- TE buffer (Tris-HCl pH 7.5)
- Ethanol

1.2.2 สารเคมีสำหรับใช้ทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

- LE agarose (FMC Bioproduct, USA)
- Glacial acetic acid
- Boric acid
- Tris-base
- Ethidium bromide
- Loading buffer
- Lamda DNA (λ DNA)
- 100 bp และ 500 bp DNA Ladder (Operon, USA)
- Acrylamide : bis-acrylamide solution (29:1)
- Bind silane
- Repel silane
- Formamide
- 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, RM280
- $MgCl_2$
- 10X *Taq* buffer (Promega, USA)
- *Taq* DNA Polymerase B (Promega, USA)

2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างใบ และเมล็ดข้าว

- ถุงพลาสติก
- กรรไกร
- กล่องโฟม
- ปากกาเขียนเครื่องแก้ว

2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ การทำอิเล็กโทรโฟรีซิส และการทำพีซีอาร์

- ตู้เย็นและตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ - 30 องศาเซลเซียส
- เครื่องไมโครเซนตริฟิวก์
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง
- เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ
- แท่งแม่เหล็ก
- ปิเปตปรับปริมาตร
- เครื่องเขย่า
- หม้อนึ่งความดันไอ
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า
- เครื่องอิเล็กโตรโฟรีซีส
- เครื่องพีซีอาร์
- โกร่งบดตัวอย่าง
- หลอดเอฟเพนดอร์ฟ
- ตู้ไมโครเวฟ
- ตู้ดูดควัน
- UV transilluminator
- Tip pipet
- Gel Document
- น้ำแข็ง และ กระติกน้ำแข็ง
- เครื่องแก้ว กระบอกตวง และขวดต่างๆ

วิธีการ

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่าในบางพื้นที่ทางภาคใต้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดและเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบ และเมล็ดจากต้นข้าวป่า และข้าววัชพืชที่ขึ้นปะปนกับข้าวปลูกในแปลงเกษตรกรทางภาคใต้ของประเทศไทยใน 3 จังหวัดทางภาคใต้ ดังนี้ อ.สทิงพระ อ.กระแสสินธุ์ จ. สงขลา อ.หัวไทร นครศรีธรรมราช และ อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี (ตารางที่ 1) ในช่วงระหว่างเดือนมกราคม ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2551 สุ่มตัวอย่างโดยอาศัยความแตกต่างของ สีหางของเมล็ดเป็นหลัก เพื่อเป็นตัวแทนในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม

ตารางที่ 1 จำนวนต้น และสถานที่ที่เก็บตัวอย่างข้าวป่าที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม

No.	สัญลักษณ์	สถานที่เก็บ	สีหาง
จังหวัดสงขลา			
1	CP1	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ	สีเขียว
2	CP2	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ	สีแดง
3	CP3	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ	สีแดง
4	CP4	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ	สีแดง
5	CP5	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ	สีแดง
6	CP6	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ	สีแดง
7	CP7	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ	สีแดง
8	CP8	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ	สีแดง
9	CP9	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ	สีแดง
10	DL1	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
11	DL2	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
12	DL3	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
13	DL4	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
14	DL5	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
15	DL6	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง

ตารางที่ 1 (ต่อ) จำนวนต้น และสถานที่ที่เก็บตัวอย่างข้าวป่าที่ใช้ในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม

No.	สัญลักษณ์	สถานที่เก็บ	สีหาง
16	DL7	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
17	DL8	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
18	DL9	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
19	DL10	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
20	DL11	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
21	DL12	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
22	DL13	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียว
23	DL14	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
24	DL15	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
25	DL16	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
26	DL17	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
27	DL18	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
28	DL19	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
29	KR1	ต.คลองรี อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
30	KR2	ต.คลองรี อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
31	KR3	ต.คลองรี อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
32	KR4	ต.คลองรี อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
33	KR5	ต.คลองรี อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
34	KR6	ต.คลองรี อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
35	KR7	ต.คลองรี อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
36	KR8	ต.คลองรี อ.สทิงพระ	สีเขียวปนแดง
37	KR9	ต.คลองรี อ.สทิงพระ	สีเขียว
จังหวัดนครศรีธรรมราช			
38	HS1	ต.หัวไทร อ.หัวไทร	สีแดง
39	HS2	ต.หัวไทร อ.หัวไทร	สีเขียว

ตารางที่ 1 (ต่อ) จำนวนต้น และสถานที่ที่เก็บตัวอย่างข้าวป่าที่ใช้ในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม

No.	สัญลักษณ์	สถานที่เก็บ	สีหาง
40	HS3	ต.หัวไทร อ.หัวไทร	สีเขียวปนแดง
41	HS4	ต.หัวไทร อ.หัวไทร	สีเขียวปนแดง
42	KK1	ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร	สีเขียวปนแดง
43	KK2	ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร	สีแดง
44	KK3	ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร	สีเขียวปนแดง
45	KK4	ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร	สีแดง
จังหวัดสุราษฎร์ธานี			
46	SU	ต.ท่าเคย อ.ท่าฉาง	สีเขียวปนแดง
47	SU1	ต.ท่าเคย อ.ท่าฉาง	สีเขียวปนแดง

1.1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่าในบางพื้นที่ทางภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

1.1.1 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบข้าวป่าที่สุ่มเก็บมา โดยใช้สารละลาย CTAB ดัดแปลงจากวิธีการของ Dellporta และคณะ (1983) ใช้ตัวอย่างใบข้าวประมาณ 200 มิลลิกรัมน้ำหนักสด ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในโกร่งที่แช่เย็น บดให้ละเอียดโดยใช้ไนโตรเจนเหลวจนตัวอย่างพืชละเอียดเป็นผง นำมาใส่หลอดเอฟเพนดอร์ฟขนาด 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย CTAB buffer (ซึ่งประกอบด้วย PVP-40 เข้มข้น 1%, NaCl เข้มข้น 1.4 มิลลิโมลาร์, Na_2EDTA เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ pH 8.0, CTAB เข้มข้น 2%) ร่วมกับ β - Mercaptoethanol เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 600 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำมาเติม potassium acetate (KOAc) เข้มข้น 5 โมลาร์ ปริมาตร 300 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยงใช้ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ดูดสารละลายใสส่วนบนใส่หลอดใหม่ เติม chloroform : isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร เขย่าเป็นเวลา 20 นาที ปั่นเหวี่ยงใช้ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 นาที ดูดสารละลายใสส่วนบนใส่หลอดใหม่ เติม absolute ethanol ปริมาตร 750 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ เมื่อเห็นสายดีเอ็นเอนำไปแช่เย็นเป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย ethanol แช่เย็น ความ

เข้มข้น 70% 2 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เก็บรักษาสารละลายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

1.1.2 การตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (แลมดาดีเอ็นเอ) โดยการทำอิเล็คโตรโฟรีซิสบนอะกาโรส (LE Agarose, Promega, USA) เข้มข้น 0.75% แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE บัฟเฟอร์ (Tris Base, Glacial acetic acid, EDTA 0.5 โมลาร์, pH 8.0) เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วย ethidium bromide แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel document

1.1.3 การทดสอบคู่ไพรเมอร์

ทดสอบคู่ไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการทำไมโครแซตเทลไลต์ในประชากรข้าวป่า จากคู่ไพรเมอร์ที่มีผู้ศึกษามาก่อน ประกอบด้วย 3 คู่ไพรเมอร์ ซึ่งเป็นคู่ไพรเมอร์จากการศึกษาของ Cao และคณะ (2006) ได้แก่ RM21, RM211 และจากการศึกษาของ Liang (2004) คือ RM9 นำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ จากปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 20 นาโนกรัม คู่ไพรเมอร์แต่ละชนิดเข้มข้น 0.2 ไมโครโมลาร์ เอ็นไซม์ *Taq* polymerase เข้มข้น 0.7 ยูนิต 10X *Taq* บัฟเฟอร์ 2 ไมโครลิตร dNTP เข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ ใช้อุณหภูมิในแต่ละคู่ไพรเมอร์ดังนี้

คู่ไพรเมอร์ RM21, RM211 ตั้งอุณหภูมิเป็น 3 ระดับ คือ อุณหภูมิที่ใช้เริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที ตามด้วยอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 40 วินาที 55 องศาเซลเซียส 30 วินาที และ 72 องศาเซลเซียส 40 วินาที จำนวน 36 รอบ และ 72 องศาเซลเซียส อีก 10 นาที

คู่ไพรเมอร์ RM9 ตั้งอุณหภูมิเป็น 3 ระดับ คือ อุณหภูมิที่ใช้เริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที ตามด้วยอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 1 นาที 60 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวน 32 รอบ และ 72 องศาเซลเซียส อีก 5 นาที

หลังทำพีซีอาร์ นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ โดยนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่จะนำไปวิเคราะห์มาทำให้เสียสภาพก่อน เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการเสียสภาพธรรมชาติในเวลาต่างกันเมื่ออยู่ในเจล โดยผสมกับ formamide 95% ซึ่งเป็นส่วนประกอบใน loading buffer นำไปเพิ่มอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส แล้วนำไปแช่น้ำแข็งทันที จากนั้นนำมาแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในตัวกลางเจลอะคริลาไมด์ความเข้มข้น 6% และย้อมแถบดีเอ็นเอโดยใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท นำแผ่นเจลมาแช่ในสารละลาย fixative (acetic acid 10%) นาน 20 นาที เขย่าเบา ๆ เมื่อครบเวลานำไปล้างในน้ำกลั่น 15 นาที เปลี่ยนน้ำล้างใหม่แล้วล้างต่ออีก 5 นาที นำแผ่นเจลใส่ลงในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท 0.2% เพื่อ

ย้อมเจลเป็นเวลา 30 นาที เขย่าอย่างสม่ำเสมอ หลังจากนั้นนำแผ่นเจลจุ่มน้ำกลั่นอย่างรวดเร็วเพื่อล้างซิลเวอร์ไนเตรทที่มากเกินพอ ไม่ควรเกิน 5 วินาที แล้วนำแผ่นเจลใส่ในสารละลาย developer (sodium carbonate 25%, formaldehyde 40%, sodium thiosulfate 50 mg/ml) ที่เตรียมใหม่ และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เขย่าสม่ำเสมอ จนกว่าจะเห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจน หยุดปฏิกิริยาโดยแช่ในสารละลายกรดอะซิติก (stop solution) นาน 3-5 นาที นำแผ่นเจลมาจุ่มลงในน้ำกลั่น แล้วผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

ศึกษารูปแบบของดีเอ็นเอที่ได้ หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์ผล แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอข้าวป่าทั้งหมดที่เก็บตัวอย่างศึกษา

1.1.4 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวป่า

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของข้าวป่า โดยแปลงข้อมูลจากแถบดีเอ็นเอที่ได้เป็นแบบ binary คือให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอ มีค่าเท่ากับ 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)

2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรข้าวป่าชั่วลูกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

2.1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรข้าวป่าชั่วลูกโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยา

นำเมล็ดข้าวที่สุ่มเก็บจากแปลงเกษตรกรในเขต 3 จังหวัดภาคใต้ที่เป็นแหล่งปลูกข้าวและมีการระบาดของข้าวป่า โดยสุ่มเลือกข้าวป่าจากการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมมา 24 ประชากร (ตารางที่ 2) นำมาเพาะใน Petri dish เมื่อข้าวงอกแล้ว จึงย้ายปลูกในกระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร โดยปลูกตัวอย่างละ 3 ต้น/กระถาง จำนวน 2 ซ้ำ (1 กระถาง/ซ้ำ) บันทึกลักษณะต่าง ๆ ของข้าวทุกต้นตามแบบบันทึกลักษณะประจำพันธุ์ข้าว ศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติในระยะต่าง ๆ ตามวิธีการของสำเริง (2550) ดังนี้คือ

- ระยะแตกกอ บันทึกลักษณะสีของแผ่นใบ สีของกาบใบ สีของลิ้นใบ รูปร่างของลิ้นใบ ความยาวของลิ้นใบ สีของหูใบ สีของข้อต่อใบ

- ระยะออกรวง 50% เมื่อข้าวป่าออกรวงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ในแต่ละประชากร บันทึกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (มม.) สีของปล้อง ทรงกอ สีของยอดเกสรตัวเมีย สีของยอดดอก สีกลีบรองดอก หางข้าว สีของหางข้าว

- ระยะออกรวงแล้ว 20 - 25 วัน บันทึกลักษณะความยาวของลำต้น (ซม.) ความยาวของแผ่นใบ (ซม.) ความกว้างของแผ่นใบ (ซม.) จำนวนรวง

- ระยะเก็บเกี่ยว บันทึกลักษณะความยาวของรวง (ซม.)

- ระยะหลังเก็บเกี่ยว บันทึกลักษณะ ความยาวของเมล็ดข้าวเปลือก (มม.) ความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือก (มม.)

การวิเคราะห์ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยวิเคราะห์ความหลากหลายของลักษณะคุณภาพ และปริมาณภายในและระหว่างประชากรโดยใช้ค่าดัชนีความหลากหลายตามวิธีของ Shannon-Weaver (Power and McSorley, 2000) โดยคำนวณจากสูตรดังนี้

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

โดย H' คือ ดัชนีความหลากหลาย

S คือ จำนวนชนิดที่พบ

pi คือ อัตราส่วนของชนิดนั้นต่อจำนวนทั้งหมด

หากพบว่าค่าดัชนีความหลากหลาย (H') เท่ากับศูนย์ แสดงว่าทุกต้นในตัวอย่างเหมือนกันหมด เมื่อค่า H' มีค่าสูงขึ้น แสดงว่า มีความหลากหลายมากขึ้น ส่วนลักษณะทางปริมาณนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Least significant differences (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99% วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design)

2.2. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรข้าวป่าชั่วลูกโดยอาศัยเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

วิธีการดำเนินงานทำเช่นเดียวกับหัวข้อ 1.2 โดยการทดสอบคู่ไพรเมอร์จะเพิ่มคู่ไพรเมอร์อีก 6 คู่ ซึ่งเป็นคู่ไพรเมอร์ RM44, RM180, RM219, RM280 (Cao *et al*., 2006) RM241 (Shishido, 2006) และ RM166 (Liang *et al*., 2004) โดยคู่ไพรเมอร์ 5 คู่แรก ตั้งอุณหภูมิเช่นเดียวกับคู่ไพรเมอร์ RM21 และ RM211 ส่วน RM166 ตั้งอุณหภูมิเช่นเดียวกับคู่ไพรเมอร์ RM9

สำหรับการศึกษาส่วนนี้ได้เก็บเมล็ดชั่วลูกของประชากรข้าวปลูกร่วมทดสอบด้วย จำนวน 4 พันธุ์ (ตารางที่ 2) คือ ข้าวพันธุ์ชัยนาท เฉี้ยงพัทลุง กาบดำ และ กข 25 ซึ่งเป็นพันธุ์ในแปลงปลูกของเกษตรกรที่มีข้าวป่าขึ้นปะปน เป็นพันธุ์เปรียบเทียบด้วย

ตารางที่ 2 ชนิด จำนวนตัวอย่าง และสถานที่เก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกจากแปลงเกษตรกร เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

No.	ชนิด	สถานที่เก็บ
1	ข้าวป่า CP1F1	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา
2	ข้าวป่า DL1F1	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา
3	ข้าวป่า DL2F1	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา
4	ข้าวป่า DL3F1	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา
5	ข้าวป่า DL4F1	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา
6	ข้าวป่า DL5F1	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา
7	ข้าวป่า DL6F1	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา
8	ข้าวป่า DL7F1	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา
9	ข้าวป่า KR1F1	ต.คลองรี อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา
10	ข้าวป่า KR2F1	ต.คลองรี อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา
11	ข้าวป่า HS1F1	ต.หัวไทร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช
12	ข้าวป่า HS2F1	ต.หัวไทร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช
13	ข้าวป่า HS3F11*	ต.หัวไทร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช
14	ข้าวป่า HS3F12*	ต.หัวไทร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช
15	ข้าวป่า HS4F1	ต.หัวไทร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช
16	ข้าวป่า KK1F1	ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช
17	ข้าวป่า KK2F1	ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช
18	ข้าวป่า KK3F1	ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช
19	ข้าวป่า KK4F1	ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช
20	ข้าวป่า SUF1	ตำบลท่าเคย อำเภอท่าฉาง จังหวัดสุราษฎร์ธานี
21	ข้าวป่า KS1F1	ตำบลเกาะใหญ่ อำเภอกระแสสินธุ์ จังหวัดสงขลา

ตารางที่ 2 (ต่อ) ชนิด จำนวนตัวอย่าง สถานที่เก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกจากแปลงเกษตรกร เพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์

No.	ชนิด	สถานที่เก็บ
22	ข้าวป่า KS2F1	ตำบลเกาะใหญ่ อำเภอกระแสสินธุ์ จังหวัดสงขลา
23	ข้าวป่า KS3F1	ตำบลเกาะใหญ่ อำเภอกระแสสินธุ์ จังหวัดสงขลา
24	ข้าวป่า KS4F1	ตำบลเกาะใหญ่ อำเภอกระแสสินธุ์ จังหวัดสงขลา
25	ข้าวป่า KS5F1	ตำบลเกาะใหญ่ อำเภอกระแสสินธุ์ จังหวัดสงขลา
26	ข้าวปลูก CPPT1	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา พันธุ์เฉี้ยงพัทลุง
27	ข้าวปลูก CPPT2	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา พันธุ์เฉี้ยงพัทลุง
28	ข้าวปลูก CNSP1	ต.ชุมพล อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา พันธุ์ชัยนาท
29	ข้าวปลูก KDSP5	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา พันธุ์กาบดำ
30	ข้าวปลูก KDSP6	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา พันธุ์กาบดำ
31	ข้าวปลูก KKSP3	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา พันธุ์ กข 25
32	ข้าวปลูก KKSP4	ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา พันธุ์ กข 25
33	ข้าวปลูก CNSP2	ต.คลองรี อ.สทิงพระ จังหวัดสงขลา พันธุ์ชัยนาท
34	ข้าวปลูก CPKS1	ต.เกาะใหญ่ อ.กระแสสินธ์ จังหวัดสงขลา พันธุ์เฉี้ยงพัทลุง
35	ข้าวปลูก CPKS2	ต.เกาะใหญ่ อ.กระแสสินธ์ จังหวัดสงขลา พันธุ์เฉี้ยงพัทลุง
36	ข้าวปลูก CNKS3	ต.เกาะใหญ่ อ.กระแสสินธ์ จังหวัดสงขลา พันธุ์ชัยนาท
37	ข้าวปลูก CPHS1	ต.หัวไทร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช พันธุ์เฉี้ยงพัทลุง

หมายเหตุ ชนิดข้าวป่าที่ตามด้วย F1 คือ ประชากรชั่วลูกที่เก็บจากพันธุ์เดิมที่ใช้ในการศึกษาความแปรปรวนของข้าวป่า

* เมล็ดได้จากต้นแม่เดียวกันแต่มีลักษณะสัณฐานของเมล็ดแตกต่างกัน (มีและไม่มีหาง)

3. การศึกษาการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในบางพื้นทางภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

3.1 การผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก

ทำการทดลองผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกที่เกษตรกรปลูกในแปลง 2 พันธุ์คือ พันธุ์ชัยนาท และพันธุ์เฉี้ยงพัทลุงกับข้าวป่าที่คัดเลือกจำนวน 3 พันธุ์คือ SP, KK และ KS (ตารางที่ 3) ปลูกเมล็ดข้าวลงในกระถางบรรจุดินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร พันธุ์ละ

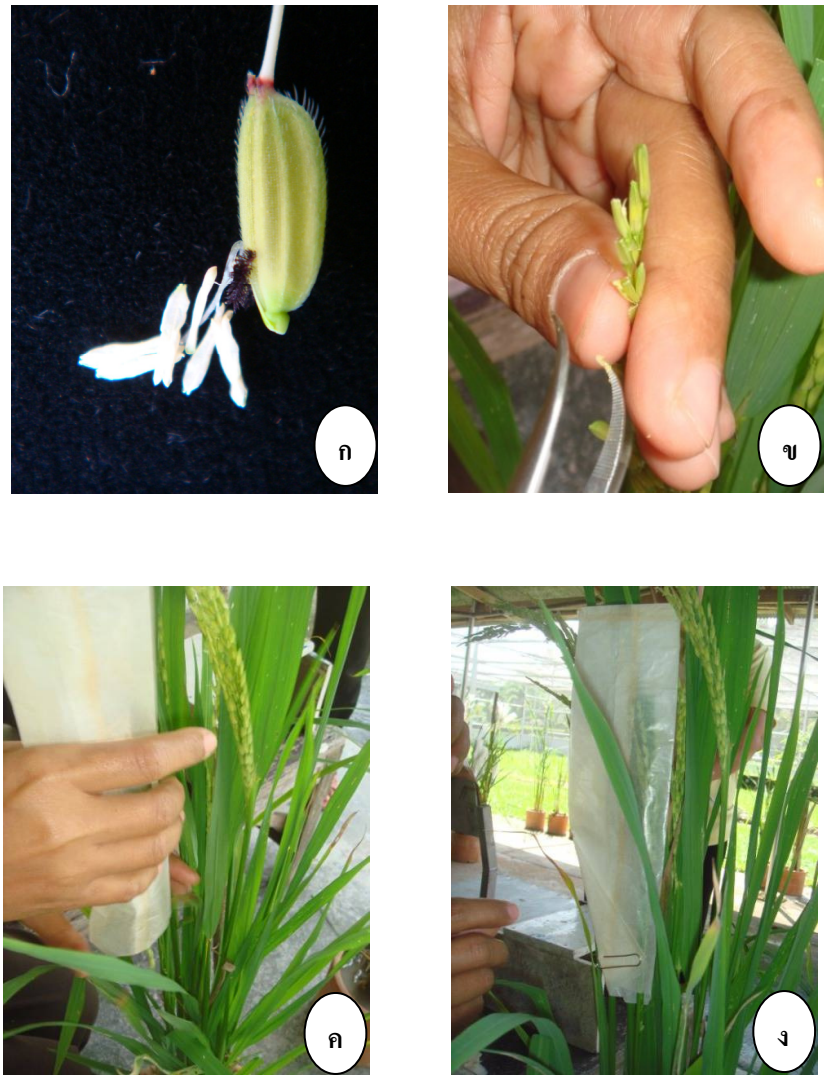
5 กระถาง แต่ละพันธุ์มีวันปลูกต่างกัน 4 ช่วงปลูก แต่ละช่วงปลูกห่างกัน 10 วัน เพื่อให้ข้าวมีช่วงเวลาออกดอกพร้อมกัน ก่อนการผสมพันธุ์ข้าวจะต้องทำการกำจัดเกสรตัวผู้ในต้นแม่ และทำการช่วยผสมเกสรระหว่างพันธุ์ที่ต้องการ

ตารางที่ 3 แสดงรายชื่อคู่ผสมระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า

คู่ผสม	พันธุ์พ่อ	พันธุ์แม่
1	ชัยนาท (CNT1)	ข้าวป่า KK6/1
2	ชัยนาท (CNT1)	ข้าวป่า SP3/4
3	ชัยนาท (CNT1)	ข้าวป่า KK6/4
4	ชัยนาท (CNT1)	ข้าวป่า SP1/2
5	เฉี้ยงพัทลุง (CHP)	ข้าวป่า SP1/2
6	ข้าวป่า KKP	ชัยนาท (CNT1)
7	ข้าวป่า SP2/1	ชัยนาท (CNT1)
8	ข้าวป่า KK6/3	ชัยนาท (CNT1)
9	ข้าวป่า KS7/4	ชัยนาท (CNT1)
10	ข้าวป่า KS7/4	เฉี้ยงพัทลุง (CHP)

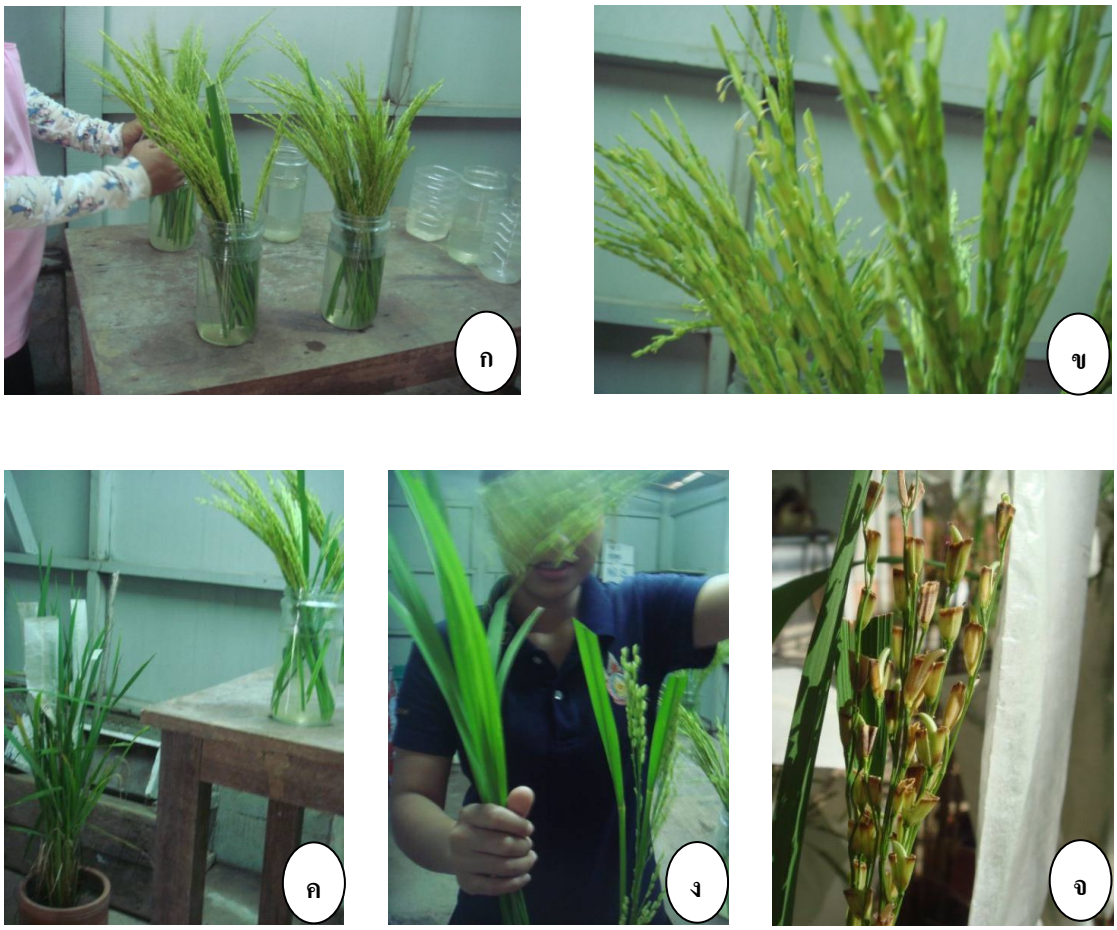
เลือกรวงที่โผล่พ้นใบธงประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ตัดดอกข้าวที่จะบานในวันรุ่งขึ้น โดยใช้กรรไกรตัดดอกประมาณ 1 ใน 3 ส่วนของเมล็ด จากนั้นใช้ปากคีบ เขี่ยเกสรตัวผู้ทั้ง 6 อันออกให้หมดใน 1 รวงเลือกตอนดอกประมาณ 20-30 ดอก หลังตอนเสร็จใช้ถุงกระดาษแก้วคลุมรวงไว้และใช้คลิปหนีบถุงอีกครั้ง (รูปที่ 5)

ขั้นตอนต่อมาคือการเตรียมต้นพ่อ โดยตัดช่อดอกพ่อพันธุ์ใส่ขวดแช่น้ำเตรียมรอไว้ โดยใช้โคมไฟช่วยให้ดอกบาน (รูปที่ 6ก และ 6ข) เมื่อดอกข้าวเริ่มบานเกสรตัวผู้ทั้ง 6 อันจะเริ่มโผล่ชูอับละอองเกสร สังเกตได้โดยจะเห็นผงฝุ่นละอองสีเหลือง จากนั้นเปิดถุงคลุมรวงต้นแม่พันธุ์ออก แล้วนำช่อดอกตัวผู้มาเคาะละอองเกสรบนดอกต้นแม่พันธุ์ที่กำจัดอับละอองเกสรออกหมดแล้ว หลังจากนั้นใช้ถุงกระดาษครอบรวงไว้เหมือนเดิม หากผสมติด เมล็ดก็จะเริ่มพัฒนา(รูปที่ 6ค-6จ) ติดป้ายชื่อ พ่อแม่พันธุ์คู่ผสม วัน เดือน ปี ที่ทำการผสม เมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บเมล็ดที่ผสมพันธุ์ทุกเมล็ด นับจำนวนดอกที่ทำการผสม และจำนวนดอกที่ผสมติด คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความสำเร็จของการผสมข้าม



รูปที่ 5 ขั้นตอนการกำจัดเกสรตัวผู้ และเตรียมต้นแม่พันธุ์

ลักษณะเกสรตัวผู้ของดอกข้าว (ก) การกำจัดเกสรตัวผู้ (ข) การคลุมช่อดอก (ค,ง)



รูปที่ 6 การเตรียมต้นพ่อพันธุ์และกระบวนการผสมพันธุ์ข้าว
การเตรียมพ่อพันธุ์ (ก) ลักษณะดอกที่บาน (ข) การเตรียมต้นพ่อพันธุ์ – แม่พันธุ์
(ค) การผสมพันธุ์ (ง) ลักษณะเมล็ดข้าวลูกผสมที่สมบูรณ์ (จ)

3.1.1 การวิเคราะห์การถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกจากการช่วยผสม

นำเมล็ดลูกผสมระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่ามาเพาะ เมื่องอกเป็นต้นกล้า อายุ 21 วัน เก็บรวบรวมใบและสกัดดีเอ็นเอจากใบต้นกล้าลูกผสม ศึกษาแถบดีเอ็นเอของลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่โดยใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ คัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์พ่อและแม่จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่าในเบื้องต้น (RM9 RM21 และ RM211) วิเคราะห์การถ่ายเทยีน จากรูปแบบดีเอ็นเอของลูกผสมซึ่งจะให้แถบดีเอ็นเอของพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่รวมกัน หรือ ปรากฏแถบดีเอ็นเอของพันธุ์พ่อเพียงอย่างเดียว นับจำนวนต้นและคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต้นที่ได้รับการถ่ายเทยีน

3.2 การศึกษาการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในสภาพธรรมชาติในแปลงปลูกของเกษตรกร

วิเคราะห์การถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในแปลงเกษตรกรโดยเลือกแปลงที่จะศึกษาจำนวน 7 แปลง (ตารางที่ 4) คือ แปลง อ. สทิงพระ จำนวน 4 แปลง อ.หัวไทร 2 แปลง และอ.กระแสสินธุ์ 1 แปลง เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอของต้นกล้าที่เพาะจากเมล็ดชั่วลูกของต้นข้าวป่าและข้าวปลูกที่ขึ้นปะปนในแปลงเดียวกัน โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ เลือกใช้คู่ไพรเมอร์ 3 คู่ไพรเมอร์คือ RM9 RM21 และ RM 211

ตารางที่ 4 แสดงรายชื่อพันธุ์ข้าวปลูกและข้าวป่าในแปลงเกษตรกร

แปลง/สถานที่	**พันธุ์ป่า**	**พันธุ์ปลูก**
อ.สทิงพระ		
แปลงที่ 1 (ST1)	DL2, DL11	กาบดำ
แปลงที่ 2 (ST2)	DL14,DL17, DL7,DL12,DL4,DL18,DL13,DL19	กข 25
แปลงที่ 3 (ST3)	KR1, KR7,KR8	กาบดำ
แปลงที่ 4 (ST4)	CP1,CP2,CP3	เฉี้ยงพัทลุง
อ.หัวไทร		
แปลงที่ 1 (HS1)	HS1, HS2,HS3, HS4	ชัยนาท
แปลงที่ 2 (HS2)	KK2,KK3	กข 25
อ.กระแสสินธุ์		
แปลงที่ 1 (KS)	KS1,KS2	ชัยนาท

DL = ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ CP = ต.ชุมพล อ.สทิงพระ HS = ต.หัวไทร อ.หัวไทร

KR = ต.คลองรี อ.สทิงพระ KK = ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร KS = ต.กระแสสินธุ์ อ.กระแสสินธุ์

การวิเคราะห์การถ่ายเทยีน

การหาความถี่อัลลีลในกลุ่มประชากรข้าวปลูกและข้าวป่าในแปลงปลูกของเกษตรกร โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ความถี่อัลลีล (allelic frequency ; AF)} = \frac{n}{N}$$

โดยที่ n คือ จำนวนต้นที่มีจีโนไทป์ที่ต้องการคำนวณ (ต้นที่มีการถ่ายเทยีน)

N คือ จำนวนจีโนไทป์ทั้งหมด

การหาความถี่จีโนไทป์ในกลุ่มประชากรข้าวปลูกและข้าวป่าในแปลงปลูกของเกษตรกร โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ความถี่จีโนไทป์ (genotype frequency; GF)} = \frac{n^{\text{homozygote}} + n^{\text{heterozygote}}}{N}$$

โดยที่ $n^{\text{homozygote}}$ คือ จำนวนต้นที่มีจีโนไทป์เป็น homozygote

$n^{\text{heterozygote}}$ คือ จำนวนต้นที่มีจีโนไทป์เป็น heterozygote

N คือ จำนวนอัลลีลทั้งหมด

บทที่ 3

ผล

1. ผลของความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่าในบางพื้นที่ทางภาคใต้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด และเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

จากต้นข้าวป่าที่เก็บจากแปลงนาของเกษตรกร จำนวน 47 ตัวอย่าง โดยอาศัยลักษณะความแตกต่างของสีหางเมล็ดข้าวเป็นหลัก พบว่ามีความแตกต่างใน ลักษณะความยาวหาง สีเปลือกหุ้มเมล็ด สีเยื่อหุ้มเมล็ด ทำการสกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างใบและนำมาศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ ทดสอบเบื้องต้นโดยใช้คู่ไพรเมอร์ 3 คู่ คือ RM9, RM21 และ RM211 จากการทดลองพบว่า คู่ไพรเมอร์ทั้ง 3 นั้นสามารถแยกความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่าได้ โดยพบว่า คู่ไพรเมอร์ RM9 และ RM21 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันมากที่สุด 5 แถบ และ RM211 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุดจำนวน 3 แถบ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมข้าวป่าทั้ง 47 ตัวอย่าง พบว่า ข้าวป่าที่เก็บมามีความแปรปรวนทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.231 – 1.000 และมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.708 และเมื่อพิจารณาจากเดนโดรแกรมสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้เป็น 5 กลุ่ม (รูปที่ 7) ดังนี้

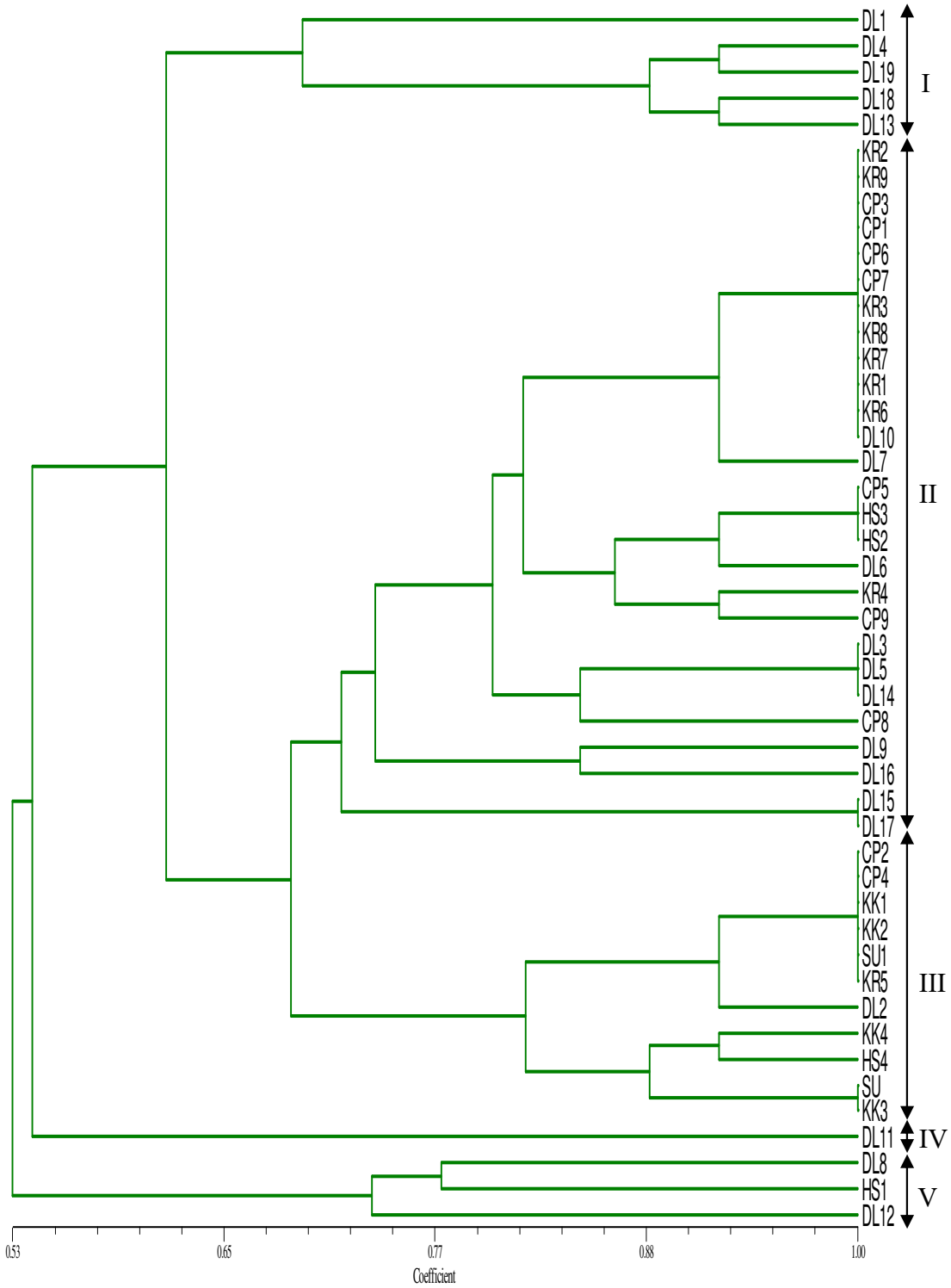
กลุ่มที่ 1 กลุ่มประชากรข้าวป่า DL1, DL4, DL19, DL18 และ DL13 รวม 5 พันธุ์

กลุ่มที่ 2 กลุ่มประชากรข้าวป่า KR2, KR9, CP3, CP1, CP6, CP7, KR3, KR8, KR7, KR1, KR6, DL10, DL7, CP5, HS3, HS2, DL6, KR4, CP9, DL3, DL5, DL14, CP8, DL9, DL16, DL15 และ DL17 รวม 27 พันธุ์

กลุ่มที่ 3 กลุ่มประชากรข้าวป่า CP2, CP4, KK1, KK2, SU1, KR5, DL2, KK4, HS4, SU และ KK3 รวม 11 พันธุ์

กลุ่มที่ 4 กลุ่มประชากรข้าวป่า DL11 จำนวน 1 พันธุ์

กลุ่มที่ 5 กลุ่มประชากรข้าวป่า DL8, HS1 และ DL12 รวม 3 พันธุ์



รูปที่ 7 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของตัวแทนประชากรข้าวป่าในภาคใต้ จำนวน 47 ประชากร จากการใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ ด้วยคู่ไพรเมอร์จำนวน 3 คู่

2. ผลความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรข้าวป่าชั่วลูกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

2.1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรข้าวป่าชั่วลูกโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยา

จากการนำเมล็ดข้าวป่าที่พบขึ้นในแปลงนาของเกษตรกรจำนวน 24 ประชากร มาปลูกทดสอบและมีการบันทึกลักษณะต่าง ๆ ทั้งลักษณะคุณภาพและลักษณะปริมาณและคำนวณหาดัชนีความหลากหลาย Shannon – Weaver (H') ให้ผลดังต่อไปนี้

2.1.1 ลักษณะทางคุณภาพ

ก. สีของหางข้าว และการมีหางข้าว

สีของหางข้าวพบว่า ประชากรข้าวป่าที่พบมีสีหางสีเขียว สีเขียวปนแดง และสีแดง (H' = 0.905) โดยพบว่าข้าวป่าจาก อ.สทิงพระ และ อ.กระแสสินธุ์ มีสีของหางข้าวสีเขียว และสีเขียวปนแดง มีค่า H' เท่ากับ 0.637 และ 0.500 ตามลำดับ ส่วนประชากรข้าวป่าจาก อ.หัวไทร มีสีเขียว สีเขียวปนแดง สีแดง มีค่า H' เท่ากับ 1.089 เมื่อสังเกตข้าวป่าที่เก็บจาก อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานีนั้น พบว่า มีสีของหางสีเขียวปนแดงทุกต้น (H' = 0) (รูปที่ 8 ง – ฉ) ข้าวป่าทุกประชากรเมล็ดข้าวมีหางทั้งหมด (H' = 0) (ตารางที่ 5)

ข. สีแผ่นใบ

พบว่าประชากรข้าวป่าที่พบมีสีแผ่นใบสีเขียวอ่อน เขียว และสีเขียวเข้ม มีค่าดัชนีความหลากหลาย (H') รวมทุกประชากร เท่ากับ 0.955 โดยข้าวป่าจาก อ.สทิงพระ อ.หัวไทร อ.กระแสสินธุ์ มีสีแผ่นใบสีเขียวจาง เขียว และสีเขียวเข้ม มีค่า H' เท่ากับ 0.975, 0.882, 0.802 ตามลำดับ ส่วนข้าวป่าจาก อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี มีแผ่นใบสีเขียวเข้ม (H' = 0) (ตารางที่ 5)

ค. สีกาบใบ

ลักษณะของสีกาบใบ พบว่า ในประชากรข้าวป่าที่เก็บมีสีของกาบใบตั้งแต่ สีเขียว สีเขียวเส้นม่วง สีม่วงอ่อน สีม่วง ไปจนถึงสีม่วงดำ (H' = 1.145) โดยประชากรข้าวป่าที่เก็บมาจาก อ.หัวไทร และ อ.กระแสสินธุ์ พบต้นที่มีสีกาบใบสีเขียว เขียวเส้นม่วง ม่วงอ่อน และม่วง ซึ่งแต่ละประชากรมีค่า H' เท่ากับ 1.188 และ 0.674 ตามลำดับ ในขณะที่ประชากรข้าวป่าจาก อ.สทิงพระ พบประชากรข้าวป่ามีกาบใบสีเขียว เขียวเส้นม่วง ม่วงอ่อน ม่วง และม่วงดำ ซึ่งมีค่า H' เท่ากับ 1.089 ส่วนข้าวป่าที่เก็บจาก อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี พบว่ามีกาบใบสีม่วงทุกต้น (H' = 0) (ตารางที่ 5 รูปที่ 9)

รูปที่ 8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสีเกสรตัวเมีย สีกลีบรองดอกและสีหางข้าวป่า
ก) สีขาว ข) สีม่วงดำ ค) สีกลีบรองดอก จ) หางสีเขียวปนแดง ง) สีเขียว จ) สีแดง

รูปที่ 9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลิ้นใบและสีปล้องข้าวป่า
ก) รูปร่างลิ้นใบและสีลิ้นใบ ข) ปล้องสีเขียว ค) ปล้องสีม่วง

ง. สีของลิ้นใบ และรูปร่างของลิ้นใบ

ประชากรข้าวป่าที่พบมีสีขาว เส้นม่วง และสีม่วง (0.531) ข้าวป่าจาก อ.สทิงพระ และ อ.หัวไทร มีลิ้นใบสีขาว และสีเส้นม่วง ส่วนข้าวป่าจาก อ.กระแสสินธุ์ มีลิ้นใบสีขาวทุกต้น (H' = 0) แต่ประชากรข้าวป่าจาก อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี ลิ้นใบสีม่วง (H' = 0) ส่วนลักษณะรูปร่างลิ้นใบ พบว่าประชากรข้าวป่าทุกประชากรมีรูปร่างลิ้นใบ 2 แฉก (H' = 0) (ตารางที่ 5 รูปที่ 9ก)

จ. สีของข้อต่อใบ

ประชากรข้าวป่าที่เก็บมามีทั้ง สีเขียวอ่อน สีเขียว และสีม่วง มีค่าดัชนีความหลากหลาย (H') รวมทุกประชากร เท่ากับ 1.054 ประชากรจาก อ.สทิงพระ อ.กระแสสินธุ์ และ อ.หัวไทร มีสีข้อต่อใบสีเขียวอ่อน สีเขียว และสีม่วง ซึ่งมีค่า H' เท่ากับ 1.069, 0.802 และ0.803 ตามลำดับ ส่วนประชากรจาก อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี มีสีข้อต่อใบสีม่วงทุกต้น (H' = 0) (ตารางที่ 5)

ฉ. สีของหูใบ

ประชากรข้าวป่าที่พบมีสีเขียว สีม่วง (H' = 0.319) ประชากรจาก อ.สทิงพระ และ อ.หัวไทร มีสีของหูใบสีเขียว และสีม่วง มีค่าดัชนีความหลากหลาย (H') 0.325, 0.173 ตามลำดับ ส่วนข้าวป่าจาก อ.กระแสสินธุ์ มีลักษณะสีของหูใบสีเดียวคือ สีเขียว (H' = 0) และ อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี มีหูใบสีม่วง (H' = 0) (ตารางที่ 6)

ช. ทรงกอ

พบทรงกอมีลักษณะตั้งแต่กอแบะไปจนถึงแผ่เป็นแนวนอน มีค่าดัชนีความหลากหลาย (H') รวมทุกประชากร 0.892 ประชากรข้าวป่าที่เก็บมาจาก อ.สทิงพระ และ อ.หัวไทร มีลักษณะทรงกอแบบกอแบะ กอแผ่ ไปจนถึงกอแผ่มาก มีค่าดัชนีความหลากหลาย (H') 0.780 และ 0.934 ตามลำดับ ประชากรข้าวป่าจาก อ.กระแสสินธุ์ มีลักษณะกอแผ่มากทั้งหมด ส่วนประชากรที่เก็บจาก อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี มีลักษณะทรงกอแผ่เป็นแนวนอนทุกต้น มีค่าดัชนีความหลากหลาย (H' = 0) (ตารางที่ 6)

ซ. สีปล้อง

ประชากรข้าวป่าที่เก็บมีสีปล้องสีเขียว สีเหลืองอ่อน สีเขียวมีเส้นม่วง สีม่วง (H' = 0.733) โดยประชากรข้าวป่าที่เก็บจาก อ.สทิงพระ และ อ.กระแสสินธุ์ มีสีปล้องสีเขียว สีเหลืองอ่อน (H' = 0.596 และ 0.543) ส่วนข้าวป่าจาก อ.หัวไทร มีปล้องสีเขียว สีเหลืองอ่อน สีเขียวมีเส้นม่วง สีม่วง มีค่า H'เท่ากับ 0.503 ส่วนข้าวป่าจาก อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี พบว่ามีสีปล้องสีม่วงทุกต้น (H' = 0) (ตารางที่ 6 รูปที่ 9ข 9ค)

ฌ. สียอดดอก

พบว่าประชากรข้าวป่าส่วนใหญ่มีสียอดดอกที่หลากหลาย ได้แก่ สีฟาง แดง ม่วง และดำ (H’ = 1.118) โดยข้าวป่าที่เก็บจาก อ.สทิงพระ มีสียอดดอกสีฟาง แดง และม่วง มีค่า H’ เท่ากับ 0.840 ประชากรที่เก็บจาก อ.หัวไทร มีสียอดดอกสีฟาง แดง ม่วง และดำ มีค่า H’ เท่ากับ 1.332 ประชากรจาก อ.กระแสสินธุ์ มีสียอดดอกสีฟางและแดง ค่า H’ เท่ากับ 0.500 ส่วนข้าวป่าจาก อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานีนั้นมีสียอดดอกสีม่วงทุกดอก (H’ = 0) (ตารางที่ 6)

ญ. สีเกสรตัวเมีย

ลักษณะสีของเกสรตัวเมียในข้าวป่าที่เก็บพบว่ามีสีเหลือง สีม่วงดำ (H’ = 0.715) ประชากรจาก อ.สทิงพระ อ.กระแสสินธุ์ และ อ.หัวไทร พบว่ามีเกสรตัวเมียสีเหลือง ม่วงดำ มีค่า H’เท่ากับ 0.637, 0.500 และ 0.769 ตามลำดับ ส่วนข้าวป่าจาก อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี พบเกสรตัวเมียสีม่วงดำทุกต้น (H’ = 0) (ตารางที่ 6 รูปที่ 8ก 8ข)

ฏ. สีกลีบรองดอก

สีกลีบรองดอก พบว่า ข้าวป่าที่พบมีสีกลีบรองดอก 2 สี คือ สีฟาง และสีแดง (H’ = 0.270) พบเพียงแหล่งเดียวที่มีความหลากหลายของสีกลีบรองดอก คือ อ.หัวไทร มีสีกลีบรองดอกสีฟาง และสีแดง ค่า H’ เท่ากับ 0.538 ส่วนประชากรข้าวป่าที่เก็บจาก อ.สทิงพระ อ.กระแสินธุ์ และ อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี มีสีกลีบรองดอกสีฟางทุกต้น ค่า H’ เท่ากับ 0 (ตารางที่ 6 รูปที่ 8ค)

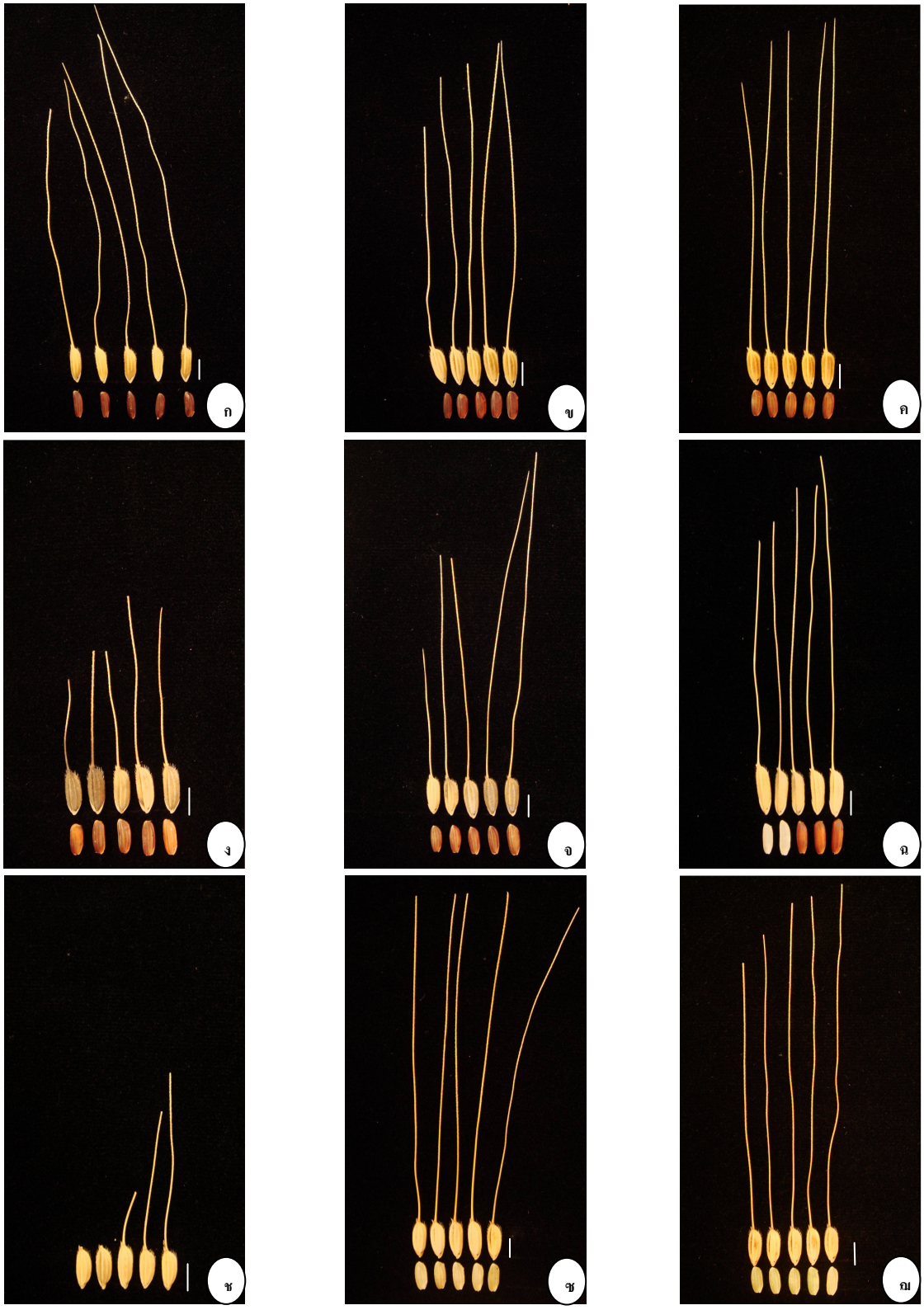
ลักษณะทางคุณภาพทั้งหมด 13 ลักษณะ ของข้าวป่าทั้งหมด 24 ประชากรนั้นพบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างทั้งหมด 11 ลักษณะ โดยลักษณะที่มีค่าดัชนีความหลากหลาย (H’) สูงที่สุด คือ สีของกาบใบ (H’ = 1.145) รองลงมาคือ สียอดดอก (H’ = 1.118) สีข้อต่อใบ (H = 1.054) สีของแผ่นใบ (H’ = 0.955) สีของหางข้าว (H’ = 0.905) ทรงกอ (H’ = 0.892) สีปล้อง (H’ = 0.733) สีของยอดเกสรตัวเมีย (H’ = 0.715) สีของลิ้นใบ (H’ = 0.531) สีของหูใบ (H’ = 0.319) และต่ำที่สุดพบในส่วนลักษณะของสีกลีบรองดอก (H’ = 0.270) นอกจากลักษณะคุณภาพทั้ง 13 ลักษณะแล้วยังได้บันทึกภาพ โดยเปรียบเทียบกับเมล็ดของต้นแม่ด้วย พบว่า การมีขนบนเปลือก ความยาวกลีบรองดอกของเมล็ดข้าวป่าที่เก็บจากแปลงเกษตรกร กับเมล็ดข้าวป่าชั่วลูกไม่มีความแตกต่างกัน แต่จะมีความแตกต่างในลักษณะสีเปลือกเมล็ด สีเปลือกข้าวกล้อง รูปร่างเมล็ด ความยาวหาง และสีหางของเมล็ด (รูปที่ 10 11)

ตารางที่ 5 ลักษณะคุณภาพ 13 ลักษณะ และค่าดัชนีความหลากหลาย (H') ของตัวอย่างข้าวป่าที่เก็บจากแปลงเกษตรกรบางพื้นที่ในภาคใต้จำนวน 24 ประชากร

ลักษณะ	รวมทุกประชากร	อ.สทิงพระ	อ.หัวไทร	อ.กระแสสินธุ์	อ.ท่าฉาง
สีของหางข้าว	เขียว/เขียวปนแดง/แดง	เขียว/เขียวปนแดง	เขียว/เขียวปนแดง/แดง	เขียว/เขียวปนแดง	เขียวปนแดง
	0.905	0.637	1.089	0.5	0
การมีหางข้าว	มี	มี	มี	มี	มี
	0	0	0	0	0
สีของแผ่นใบ	เขียวจาง/เขียว/ เขียวเข้ม	เขียวจาง/เขียว/ เขียวเข้ม	เขียวจาง/เขียว/ เขียวเข้ม	เขียวจาง/เขียว/ เขียวเข้ม	เขียวเข้ม
	0.955	0.975	0.882	0.802	0
สีของกาบใบ	เขียว/เขียวเส้นม่วง/ ม่วงอ่อน/ม่วง/ม่วงดำ	เขียว/เขียวเส้นม่วง/ ม่วงอ่อน/ม่วง/ม่วงดำ	เขียว/เขียวเส้นม่วง/ม่วงอ่อน/ม่วง	เขียว/เขียวเส้นม่วง/ ม่วงอ่อน/ม่วง	ม่วง
	1.145	1.089	1.188	0.674	0
สีของลิ้นใบ	ขาว/เส้นม่วง/ม่วง	ขาว/เส้นม่วง	ขาว/เส้นม่วง	ขาว	ม่วง
	0.531	0.562	0.173	0	0
รูปร่างลิ้นใบ	2 แฉก	2 แฉก	2 แฉก	2 แฉก	2 แฉก
	0	0	0	0	0
สีของข้อต่อใบ	เขียวอ่อน/เขียว/ม่วง	เขียวอ่อน/เขียว/ม่วง	เขียวอ่อน/เขียว/ม่วง	เขียวอ่อน/เขียว/ม่วง	ม่วง
	1.054	1.069	0.803	0.802	0

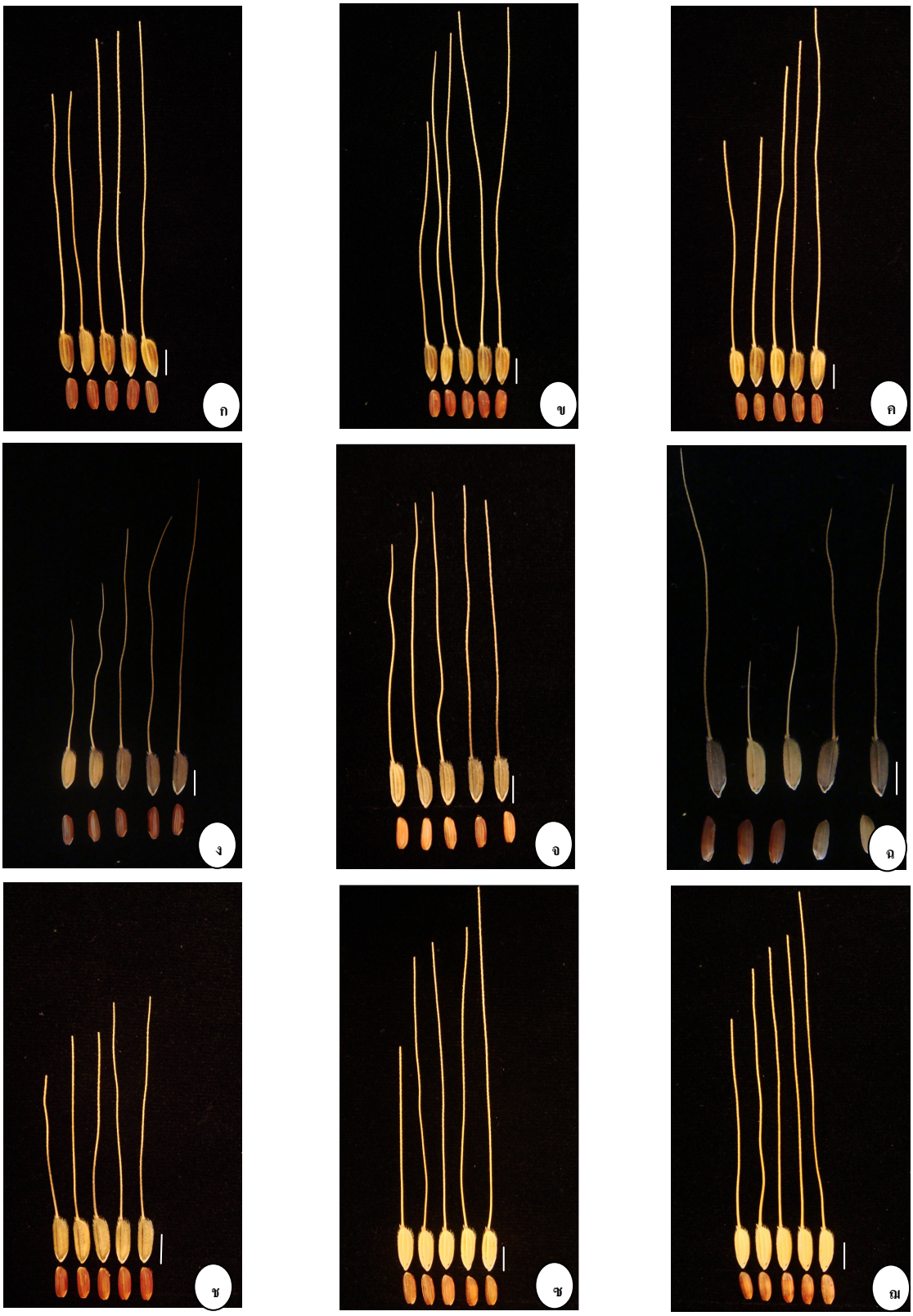
ตารางที่ 5 (ต่อ) ลักษณะคุณภาพ 13 ลักษณะ และค่าดัชนีความหลากหลาย (H') ของตัวอย่างข้าวป่าที่เก็บจากแปลงเกษตรกรบางพื้นในภาคใต้จำนวน 24 ประชากร

ลักษณะ	รวมทุกประชากร	อ.สทิงพระ	อ.หัวไทร	อ.กระแสสินธุ์	อ.ท่าฉาง
สีของหูใบ	เขียว/ม่วง	เขียว/ม่วง	เขียวอ่อน/ม่วง	เขียว	ม่วง
	0.319	0.325	0.173	0	0
ทรงกอ	กอแบะ/กอแผ่/กอแผ่มาก/แผ่เป็นแนวนอน	กอแบะ/กอแผ่ กอแผ่มาก	กอแบะ/กอแผ่ กอแผ่มาก	กอแผ่มาก	แผ่เป็นแนวนอน
	0.892	0.78	0.934	0	0
สีปล้อง	เขียว/เหลืองอ่อน/เขียวมีเส้นม่วง/ม่วง	เขียว/เหลืองอ่อน	เขียว/เหลืองอ่อน/เขียวมีเส้นม่วง/ม่วง	เขียว/เหลืองอ่อน	ม่วง
	0.733	0.596	0.503	0.543	0
สียอดดอก	ฟาง/แดง/ม่วง/ดำ	ฟาง/แดง/ม่วง	ฟาง/แดง/ม่วง/ดำ	ฟาง/แดง	ม่วง
	1.118	0.84	1.332	0.5	0
สีเกสรตัวเมีย	เหลือง/ม่วงดำ	เหลือง/ม่วงดำ	เหลือง/ม่วงดำ	เหลือง/ม่วงดำ	ม่วงดำ
	0.715	0.637	0.769	0.5	0
สีกลีบรองดอก	ฟาง/แดง	ฟาง	ฟาง/แดง	ฟาง	ฟาง
	0.27	0	0.538	0	0



รูปที่ 10 ตัวอย่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมล็ดข้าวป่าต้นแม่ (บาร์ เท่ากับ 5 มม.)

ก) DL3F1 ข) DL2F1 ค) CP1F1 ง) KK3F1 จ) DL7F1 ฉ) DL1F1 ช) HS3F1 ซ) KK4F1 ฌ) KK2F1



รูปที่ 11 ตัวอย่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมล็ดข้าวป่าชั่วลูก (บาร์ เท่ากับ 5 มม.)

ก) DL3F1 ข) DL2F1 ค) CP1F1 ง) KK3F1 จ) DL7F1 ฉ) DL1F1 ช) HS3F1 ซ) KK4F1 ฌ) KK2F1

2.1.2 ลักษณะทางปริมาณ

ก. ความยาวแผ่นใบ

ประชากรข้าวป่าทั้งหมดมีความยาวแผ่นใบอยู่ในช่วง 35.32 - 67.08 ซม. โดยประชากรจาก HS1F1 มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด (67.08 ซม.) และประชากรข้าวป่าจาก CP1F1 มีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด (35.32 ซม.)

ข. ความกว้างแผ่นใบ

ประชากรข้าวป่าทั้งหมดมีความกว้างแผ่นใบอยู่ในช่วง 1.27 - 2.10 โดยประชากรจาก KK1F1 มีความกว้างแผ่นใบเฉลี่ยมากที่สุด (2.10 ซม.) และประชากรข้าวป่าจาก HS1F1 มีความกว้างเฉลี่ยน้อยที่สุด (1.27 ซม.)

ค. ความยาวลิ้นใบ

ประชากรข้าวป่าทั้งหมดมีความยาวลิ้นใบอยู่ในช่วง 21.73 - 40.30 มม.โดยประชากรจาก KK1F1 มีความยาวลิ้นใบเฉลี่ยมากที่สุด (40.30 มม.) และประชากรข้าวป่าจาก KS4F1 มีความยาวลิ้นใบเฉลี่ยน้อยที่สุด (21.73 มม.)

ง. ความสูงของลำต้น

ประชากรข้าวป่าทั้งหมดที่พบมีความสูงอยู่ในช่วงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 80.56 - 149.53 ซม. โดยประชากรจาก HS2F1 มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด (149.53 ซม.) และประชากรข้าวป่าจาก KR2F1 มีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด (80.56 ซม.)

จ. เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น

ประชากรข้าวป่าทั้งหมดมีเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นอยู่ในช่วง 4.58 - 7.70 ซม. โดยประชากรจาก KS3F1 มีความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางมากที่สุด (7.70 ซม.) และประชากรข้าวป่าจาก KR1F1 มีความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยที่สุด (4.58 ซม.)

ฉ. ความยาวช่อดอก

ประชากรข้าวป่าทั้งหมดมีความยาวช่อดอกอยู่ในช่วง 15.68 - 29.18 ซม. โดยประชากรจาก KR1F1 มีความยาวช่อดอกมากที่สุด (15.68 ซม.) และประชากรข้าวป่าจาก SUF1 มีความยาวช่อดอกน้อยที่สุด (29.18 ซม.)

ช. จำนวนช่อดอก

ประชากรข้าวป่าทั้งหมดมีจำนวนช่อดอกอยู่ในช่วง 13 - 103 ช่อ โดยประชากรจาก KR1F1 มีจำนวนช่อดอกมากที่สุด (103 ช่อ) และประชากรข้าวป่าจาก HS1F1 มีจำนวนช่อดอกน้อยที่สุด (13 ช่อ)

ซ. ความยาวเมล็ด

พบประชากรข้าวป่าทั้งหมดมีความยาวเมล็ดอยู่ในช่วง 7.27 - 9.43 มม. โดยประชากรจาก KS4F1 มีความยาวเมล็ดมากที่สุด (9.43 มม.) และประชากรข้าวป่าจาก HS1F1 มีความยาวเมล็ดน้อยที่สุด (7.27 มม.)

ฌ. ความกว้างเมล็ด

ประชากรข้าวป่าที่พบมีความกว้างเมล็ดอยู่ในช่วง 2.13 - 2.98 มม. โดยประชากรจาก DL6F1 มีความกว้างเมล็ดมากที่สุด (2.98 มม.) และประชากรข้าวป่าจาก SUF1 มีความกว้างเมล็ดน้อยที่สุด (2.13 มม.)

ญ. ความยาวหางเมล็ด

ประชากรข้าวป่าที่พบทั้งหมดมีความยาวหางแตกต่างกันออกไปโดยความยาวหางของเมล็ดที่พบอยู่ในช่วง 3.24 - 11.44 ซม. โดยประชากรข้าวป่าจาก KK2F1 มีความยาวหางมากที่สุด (11.44 ซม.) ส่วนประชากรข้าวป่าจาก CP1F1 มีความยาวหางน้อยที่สุด (3.24 ซม.)

จากการศึกษาลักษณะทางปริมาณทั้ง 10 ลักษณะ จำนวน 24 ประชากร พบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง 8 ลักษณะ คือ ความยาวแผ่นใบ ความกว้างแผ่นใบ ความยาวลิ้นใบ เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ความยาวช่อดอก ความยาวเมล็ด ความกว้างเมล็ด ความยาวหาง ส่วนลักษณะความสูงต้น และจำนวนช่อดอก พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ลักษณะทางปริมาณ 10 ลักษณะของตัวอย่างข้าวป่าชั่วลูกที่เก็บจากแปลงเกษตรกร จำนวน 24 ประชากร

ประชากรชั่วลูก	ความยาวใบ (ซม.)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวลิ้นใบ (มม.)	ความสูงต้น (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (มม.)	ความยาวช่อดอก (ซม.)	จำนวนช่อดอก ช่อ	ความยาวเมล็ด (มม.)	ความกว้างเมล็ด (มม.)	ความยาวหาง (ซม.)
CP1F1	35.32	1.37	31.7	92.83	5.30	18.37	70.75	8.38	2.72	3.24
DL1F1	56.47	1.83	23.1	97.22	6.86	21.95	48.00	9.33	2.50	9.28
DL2F1	59.05	1.47	23.9	101.72	6.42	23.25	28.50	8.25	2.77	10.12
DL3F1	47.94	1.43	25.16	106.64	5.72	23.26	70.75	7.41	2.32	8.66
DL4F1	50.72	1.62	29.56	108.17	6.47	17.99	51.25	8.34	2.89	9.42
DL5F1	58.02	1.33	22.5	97.42	5.73	18.35	43.75	8.33	2.94	9.80
DL6F1	59.94	1.81	25.00	96.67	6.33	19.14	41.50	8.73	2.98	6.14
DL7F1	54.77	1.65	27.30	128.17	6.17	21.73	45.25	8.58	2.91	8.60
KR1F1	38.28	1.38	24.03	87.17	4.58	15.68	103.00	8.70	2.72	8.88
KR2F1	45.07	1.63	29.33	80.56	5.30	20.11	69.75	8.41	2.78	9.40
HS1F1	67.08	1.27	27.50	130.06	6.27	19.14	13.00	7.27	2.67	7.70
HS2F1	57.11	1.38	23.50	149.53	5.98	19.86	38.25	8.34	2.76	8.04
HS3F12	56.52	1.86	36.83	110.54	6.80	20.89	63.25	8.57	2.94	7.14
HS4F1	55.47	1.56	34.73	107.93	6.23	20.25	61.00	8.51	2.77	9.48
KK1F1	65.19	2.06	40.30	107.28	6.35	21.99	62.50	8.70	2.75	10.26
KK2F1	59.42	1.72	37.90	104.11	7.36	24.05	41.25	9.10	2.94	11.44
KK3F1	58.18	1.97	23.00	103.42	6.80	23.26	28.25	8.97	2.92	7.40
KK4F1	59.71	1.70	35.60	96.44	6.85	23.28	41.00	8.57	2.89	9.96
KS1F1	51.83	1.59	25.66	103.47	5.98	21.33	64.00	8.45	2.80	11.00
KS2F1	52.63	1.43	33.96	113.83	6.23	21.12	55.25	7.57	2.74	5.68
KS3F1	52.19	1.30	27.86	121.75	7.70	20.79	39.25	8.14	2.67	3.76
KS4F1	50.80	1.73	21.73	102.69	5.96	21.48	44.75	9.43	2.60	8.78
KS5F1	48.41	2.10	28.36	111.83	6.34	22.22	53.00	9.41	2.56	9.74
SUF1	48.13	1.54	36.16	102.28	5.30	29.18	59.00	7.74	2.13	4.66
F-test	**	**	**	ns	**	**	ns	**	**	**
C.V. (%)	12.56	19.58	22.26	46.93	9.97	10.27	74.8	15.27	6	13.4
LSD 0.01	0.17	9.07	4.3	43.22	0.53	2.6	73.08	2.09	0.27	1.84

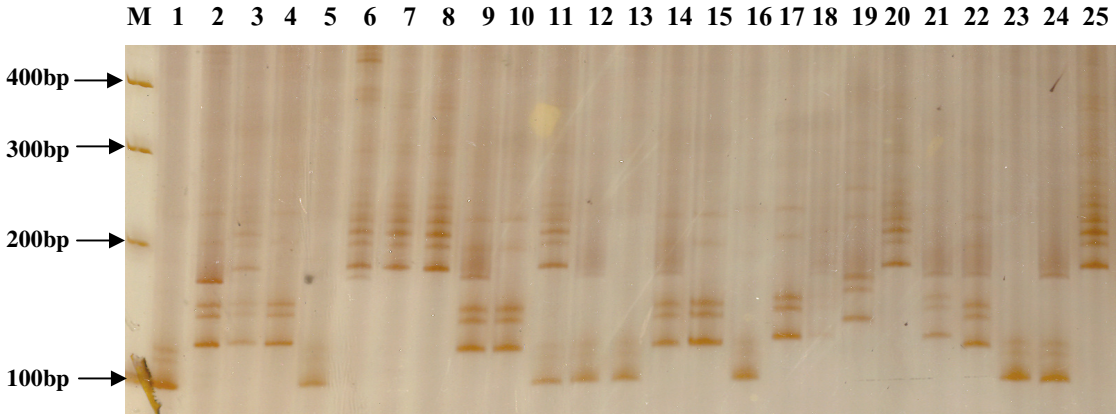
2.2. ผลความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรข้าวป่าชั่วลูกโดยอาศัยเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

2.2.1 การคัดเลือกคู่ไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มประชากรข้าวป่าในภาคใต้โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์

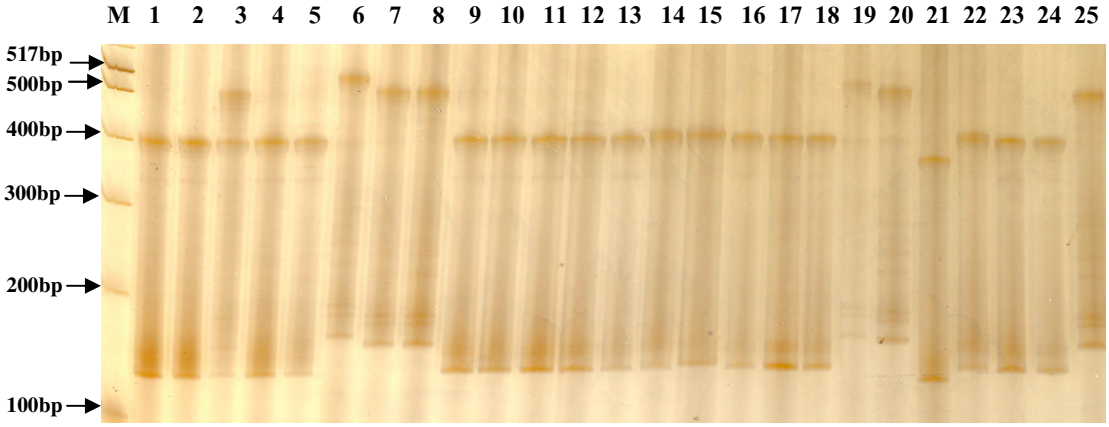
ผลจากการทดสอบใช้คู่ไพรเมอร์สำหรับเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ จำนวน 9 คู่ไพรเมอร์ ซึ่งเป็นคู่ไพรเมอร์จากการศึกษาของ Cao และคณะ (2006) คือ RM21, RM44, RM180, RM211, RM219, RM280 RM9, RM166 (Liang, 2004) และ RM241 (Shishido, 2006) นำมาทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของข้าวป่าจากแหล่งปลูกข้าวทางภาคใต้ของประเทศไทยจำนวน 25 ต้น เปรียบเทียบกับข้าวปลูก 12 ต้น พบว่า มีจำนวน 8 คู่ไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนและมีความแตกต่างในตัวอย่างที่ทดสอบ โดยให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 32 แถบ เฉลี่ย 4 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างจำนวน 31 แถบ (96.88%) และอีก 1 แถบ (3.12%) เป็นแถบที่ไม่มีความแตกต่างกัน โดยคู่ไพรเมอร์ RM9 และ RM21 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุด จำนวน 6 แถบ รองลงมาคือ คู่ไพรเมอร์ RM219 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอ 5 แถบ และ RM44, RM166, RM211, RM241 และ RM280 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด จำนวน 3 แถบ และคู่ไพรเมอร์ RM166 ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันน้อยที่สุด 2 แถบ (ตารางที่ 7) และพบแถบดีเอ็นเอขนาด 400 คู่เบส จากคู่ไพรเมอร์ RM21 ที่พบเฉพาะในข้าวป่าที่มีหางสีแดงตลอดทั้งหาง (รูปที่ 13)โดยแถบดีเอ็นเอส่วนใหญ่มีความแตกต่างกัน ตัวอย่างรูปแบบของแถบดีเอ็นเอดังแสดงใน รูปที่ 12 – 19

ตารางที่ 7 ชนิดของคู่ไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน จากการใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ ในประชากรข้าวป่าชั่วลูก

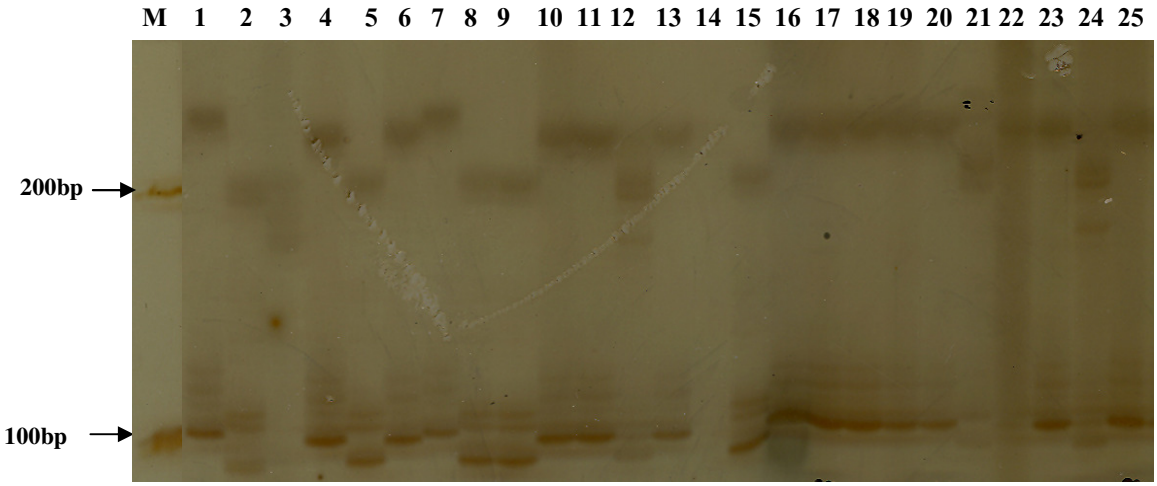
Primer	sequences (5' to 3')	Amplified fragments	Polymorphic fragments	Polymorphic %
RM9	(F) GGTGCCATTGTCGTCCTC	6	6	100
	(R) ACGGCCCTCATCACCTTC			
RM21	(F) ACAGTATTCCGTAGGCACGG	6	6	100
	(R) GCTCCATGAGGGTGGTAGAG			
RM44	(F) ACGGGCAATCCGAACAACC	3	3	100
	(R) TCGGGAAAACCTACCCTACC			
RM211	(F) CCGATCTCATCAACCAACTG	3	3	100
	(R) CTTCACGAGGATCTCAAAGG			
RM219	(F) CGTCGGATGATGTAAAGCCT	5	5	100
	(R) CATATCGGCATTCGCCTG			
RM241	(F) GAGCCAAATAAGATCGCTGA	3	3	100
	(R) TGCAAGCAGCAGATTTAGTG			
RM280	(F) ACACGATCCACTTTGCGC	3	3	100
	(R) TGTGTCTTGAGCAGCCAGG			
RM166	(F) GGTCCTGGGTCAATAATTGG	3	2	66.67
	(R) GTTACCTTGCTGCATGATCCTAAACCGG			
Total		32	31	
Polymorphism(%)				96.88



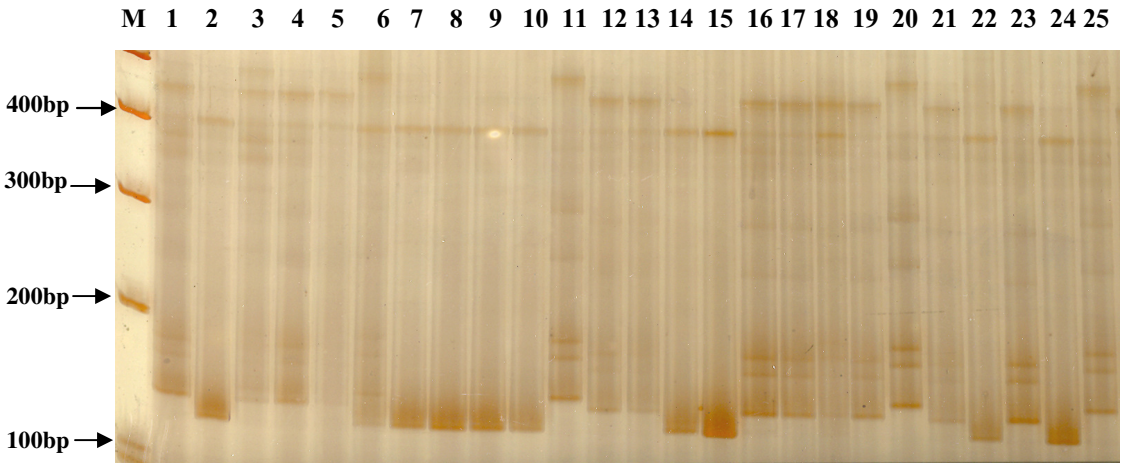
รูปที่ 12 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM9 (lane1-25) ได้แก่ KS1F1, KS2F1, KS3F1, KS4F1, KS5F1, SUF1, DL4F7, HS1F1, KK1F1, DL1F1, DL5F1, KR1F1, CP1F1, KK2F1, KK3F1, DL2F1, DL3F1, DL6F1, KR2F1, KK4F1, HS2F1, HS3F12, HS3F11, CPKS1 และ CNSP1 จากเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM9 M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



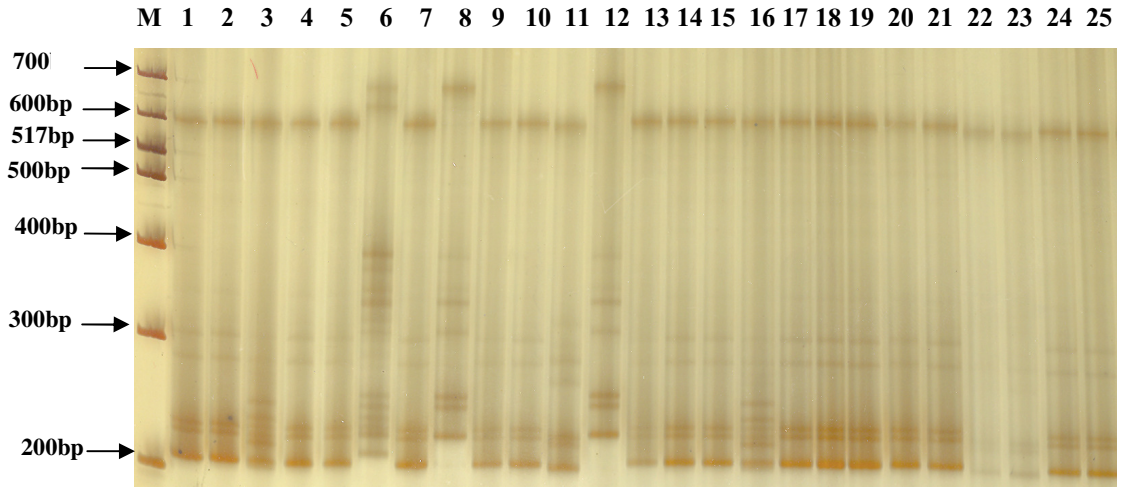
รูปที่ 13 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM21 (lane1-25) ได้แก่ KS1F1, KS2F1, KS3F1, KS4F1, KS5F1, SUF1, DL4F7, HS1F1, KK1F1, DL1F1, DL5F1, KR1F1, CP1F1, KK2F1, KK3F1, DL2F1, DL3F1, DL6F1, KR2F1, KK4F1, HS2F1, HS3F12, HS3F11, CPKS1 และ CNSP1 จากเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM21 M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



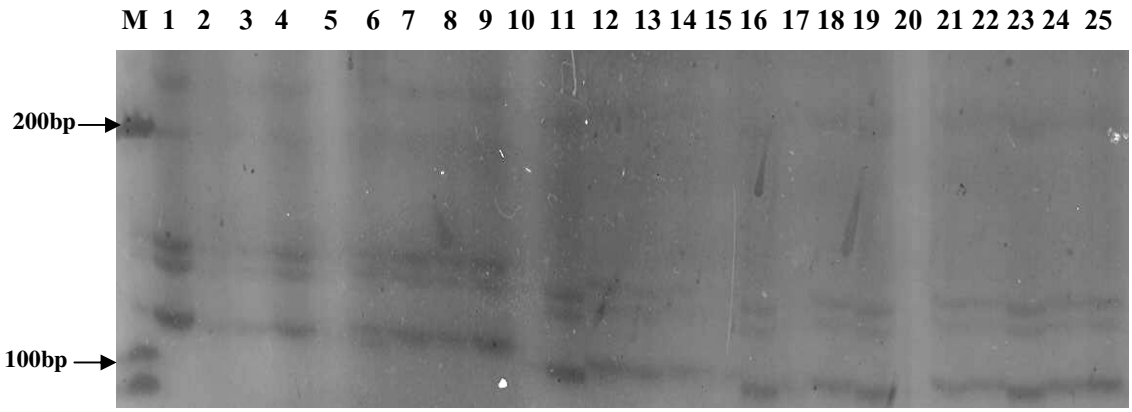
รูปที่ 14 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM44 (lane1-25) ได้แก่ KS1F1, KS2F1, KS3F1, KS4F1, KS5F1, SUF1, DL4F7, HS1F1, KK1F1, DL1F1, DL5F1, KR1F1, CP1F1, KK2F1, KK3F1, DL2F1, DL3F1, DL6F1, KR2F1, KK4F1, HS2F1, HS3F12, HS3F11, CPKS1 และ CNSP1 จากเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM44 M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



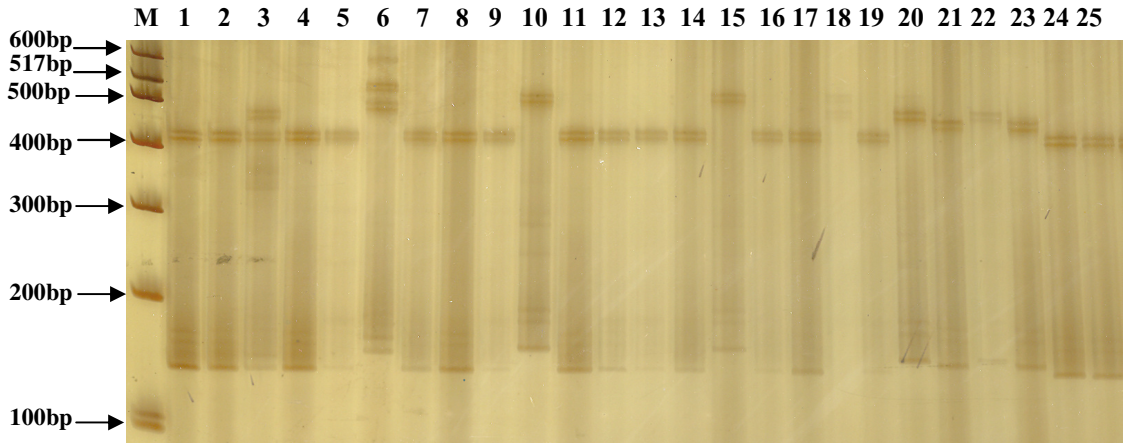
รูปที่ 15 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM211 (lane1-25) ได้แก่ KS1F1, KS2F1, KS3F1, KS4F1, KS5F1, SUF1, DL4F7, HS1F1, KK1F1, DL1F1, DL5F1, KR1F1, CP1F1, KK2F1, KK3F1, DL2F1, DL3F1, DL6F1, KR2F1, KK4F1, HS2F1, HS3F12, HS3F11, CPKS1 และ CNSP1 จากเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM211 M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



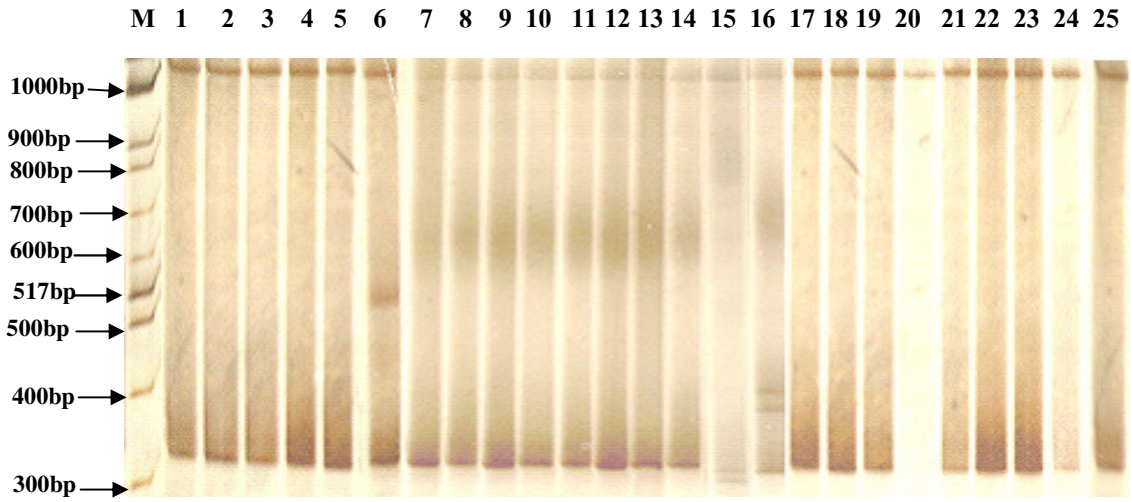
รูปที่ 16 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM219 (lane1-25) ได้แก่ KS1F1, KS2F1, KS3F1, KS4F1, KS5F1, SUF1, DL4F7, HS1F1, KK1F1, DL1F1, DL5F1, KR1F1, CP1F1, KK2F1, KK3F1, DL2F1, DL3F1, DL6F1, KR2F1, KK4F1, HS2F1, HS3F12, HS3F11, CPKS1 และ CNSP1 จากเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM219 M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 17 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM241 (lane1-25) ได้แก่ KS1F1, KS2F1, KS3F1, KS4F1, KS5F1, SUF1, DL4F7, HS1F1, KK1F1, DL1F1, DL5F1, KR1F1, CP1F1, KK2F1, KK3F1, DL2F1, DL3F1, DL6F1, KR2F1, KK4F1, HS2F1, HS3F12, HS3F11, CPKS1 และ CNSP1 จากเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM241 M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 18 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM280 (lane1-25) ได้แก่ KS1F1, KS2F1, KS3F1, KS4F1, KS5F1, SUF1, DL4F7, HS1F1, KK1F1, DL1F1, DL5F1, KR1F1, CP1F1, KK2F1, KK3F1, DL2F1, DL3F1, DL6F1, KR2F1, KK4F1, HS2F1, HS3F12, HS3F11, CPKS1 และ CNSP1 จากเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM280 M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 19 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูกโดยใช้ RM166 (lane1-25) ได้แก่ KS1F1, KS2F1, KS3F1, KS4F1, KS5F1, SUF1, DL4F7, HS1F1, KK1F1, DL1F1, DL5F1, KR1F1, CP1F1, KK2F1, KK3F1, DL2F1, DL3F1, DL6F1, KR2F1, KK4F1, HS2F1, HS3F12, HS3F11, CPKS1 และ CNSP1 จากเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ RM166 M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

2.2.2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของข้าวป่าและข้าวปลูกบางพื้นที่ในภาคใต้ จากการใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

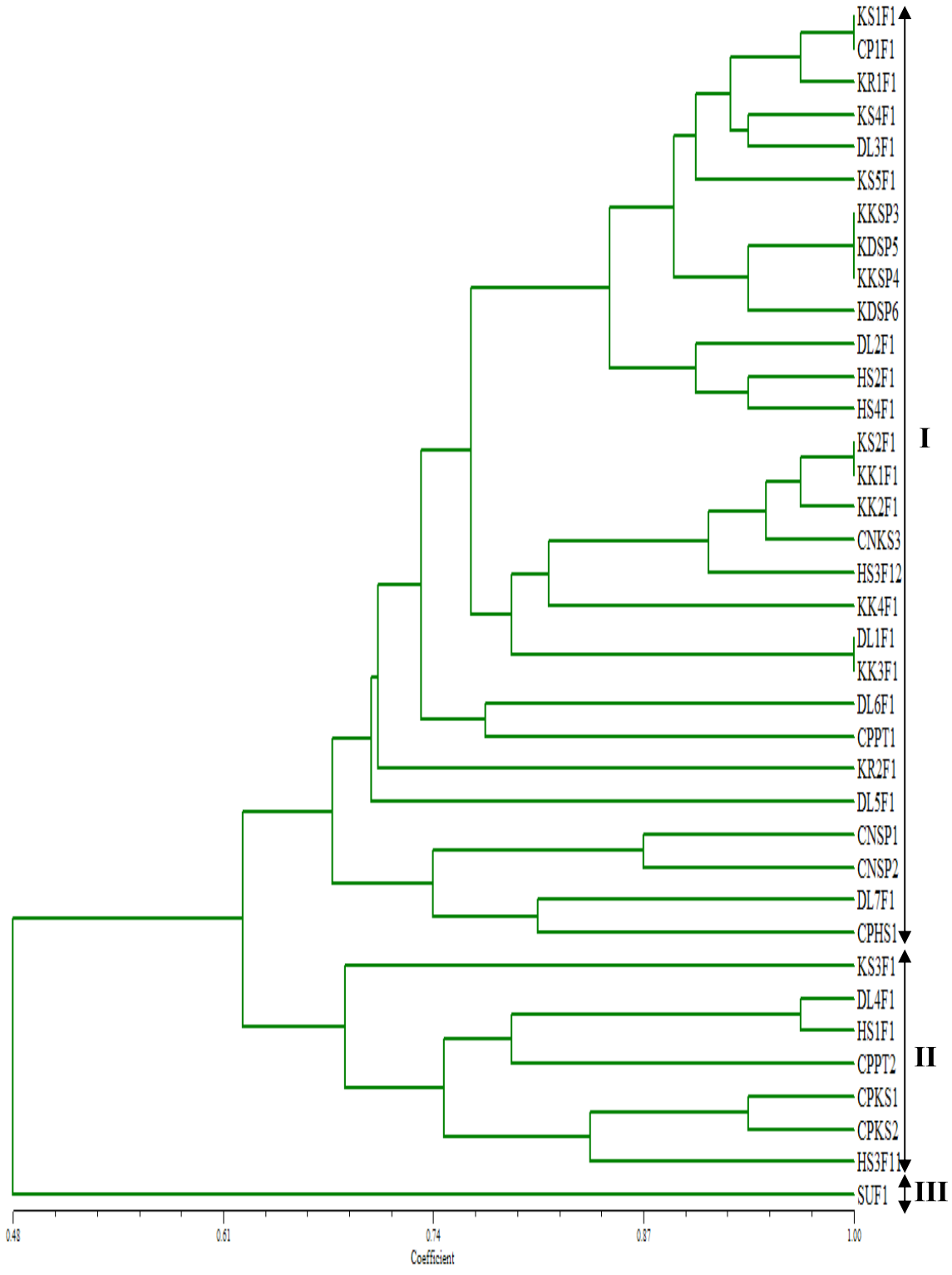
ผลจากการวิเคราะห์หาดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ของประชากรข้าวป่าในภาคใต้ จำนวน 25 ประชากร เปรียบเทียบกับข้าวปลูก 12 พันธุ์ จาก อ.สทิงพระ อ.กระแสสินธุ์ จ. สงขลา ต.หัวไทร ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช และ อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี จากเดนโดรแกรมสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้เป็น 3 กลุ่ม (รูปที่ 20) คือ

กลุ่มที่ 1 กลุ่มประชากรข้าวป่าและข้าวปลูก KS1F1, CP1F1, KR1F1, KS4F1, DL3F1, KS5F1, KKSP3, KDSP5, KKSP4, KDSP6, DL2F1, HS2F1, HS4F1, KS2F1, KK1F1, KK2F1, CNKS3, HS3F12, KK4F1, DL1F1, KK3F1, DL6F1, CPPT1, KR2F1, DL5F1, CNSP1, CNSP2, DL7F1 และ CPHS1 รวม 29 พันธุ์

กลุ่มที่ 2 กลุ่มประชากรข้าวป่าและข้าวปลูก KS3F1, DL4F1, HS1F1, CPPT2, CPKS1, CPKS2 และ HS3F11 รวม 7 พันธุ์

กลุ่มที่ 3 กลุ่มประชากรข้าวป่า SUF1 จำนวน 1 พันธุ์

ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.355 - 1.000 โดยมีค่าเฉลี่ย 0.707 คู่ที่มีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุดคือ ข้าวป่า KS3F1 กับข้าวป่า SUF1 และมี 4 กลุ่มที่มีพันธุกรรมเหมือนกัน (ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม = 1) คือ กลุ่มที่ 1 ข้าวป่า CP1F1, KS1F1 กลุ่มที่ 2 ข้าวปลูก KKSP3, KKSP4, KDSP5 กลุ่มที่ 3 ข้าวป่า KK1F1, KS2F1 และกลุ่มที่ 4 DL1F1, KK3F1



รูปที่ 20 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ของประชากรข้าวป่า และข้าวปลูกชั่วลูกจากแปลงเกษตรกร จำนวน 25 และ 12 ประชากร ตามลำดับ จากการใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ ด้วยคู่ไพรเมอร์จำนวน 8 คู่

3. ผลการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในบางพื้นทางภาคใต้โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

3.1 การผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก

3.1.1 ความสามารถในการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกโดยวิธีช่วยผสมเกสร

จากผลการทดสอบความสามารถในการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกทั้งหมด 10 คู่ผสม คือ1) ชัยนาท x ข้าวป่า KK6/1, 2) ชัยนาท x ข้าวป่า SP3/4, 3) ชัยนาท x ข้าวป่า KK6/4, 4) ชัยนาท x ข้าวป่า SP1/2, 5) เฉี้ยงพัทลุง x ข้าวป่า SP1/2, 6) ข้าวป่า KKP x ชัยนาท, 7) ข้าวป่า SP2/1 x ชัยนาท, 8) ข้าวป่า KK6/3 x ชัยนาท, 9) ข้าวป่า KS7/4 x ชัยนาท,10) ข้าวป่า KS7/4 x เฉี้ยงพัทลุง พบว่าคู่ผสมระหว่าง ชัยนาท และข้าวป่า KK6/4 ให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดสูงที่สุด 50% ตามด้วยคู่ผสม เฉี้ยงพัทลุง x ข้าวป่า SP1/2 32.26% ส่วนคู่ผสมระหว่าง ข้าวป่า KS7/4 x เฉี้ยงพัทลุง ให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำที่สุด 7.69% (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 อัตราการผสมติดของการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก

คู่ผสม	จำนวนดอกที่ทำการผสม	จำนวนเมล็ดที่ได้	% การผสมติด
1. ชัยนาท x ข้าวป่า KK6/1	70	7	10
2. ชัยนาท x ข้าวป่า SP3/4	34	6	17.65
3. ชัยนาท x ข้าวป่า KK6/4	18	9	50
4. ชัยนาท x ข้าวป่า SP1/2	14	4	28.57
5. เฉี้ยงพัทลุง x ข้าวป่า SP1/2	31	10	32.26
6. ข้าวป่า KKP x ชัยนาท	35	3	8.57
7. ข้าวป่า SP2/1 x ชัยนาท	28	4	14.29
8. ข้าวป่า KK6/3 x ชัยนาท	112	9	8.04
9. ข้าวป่า KS7/4 x ชัยนาท	73	8	10.96
10. ข้าวป่า KS7/4 x เฉี้ยงพัทลุง	39	3	7.69

3.1.2 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1

เมื่อเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 แก่จึงนำเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 ของแต่ละคู่ผสมไปเพาะ พบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดลูกผสมค่อนข้างต่ำ คือ อยู่ในช่วง 50 - 100% โดยพบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 ของ (คู่ผสมข้าวป่า SP2/1 x ชัยนาท) ให้เปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำสุด คือ 50% ส่วน

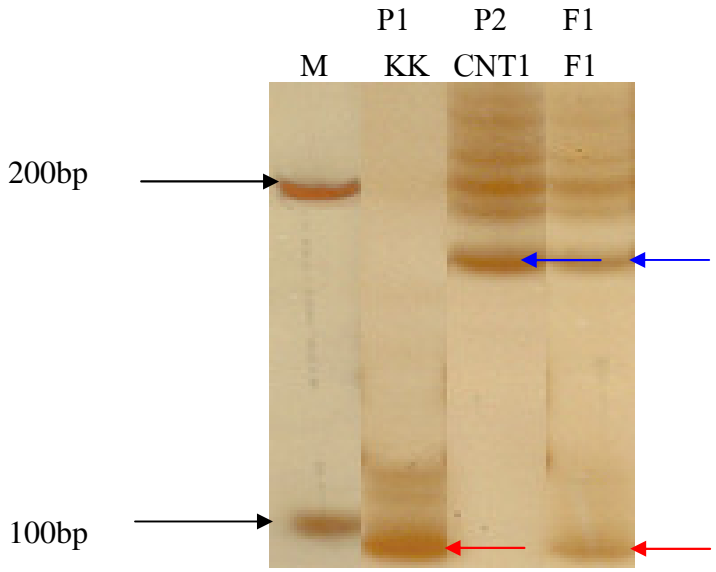
ลูกผสมระหว่าง (ข้าวป่า KKP x ชัยนาท) ให้เปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุด (100%) สำหรับพันธุ์พ่อแม่ทั้งข้าวป่าและข้าวปลูกมีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดอยู่ระหว่าง 80 - 100% (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าวป่า ข้าวปลูก และลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 10 คู่

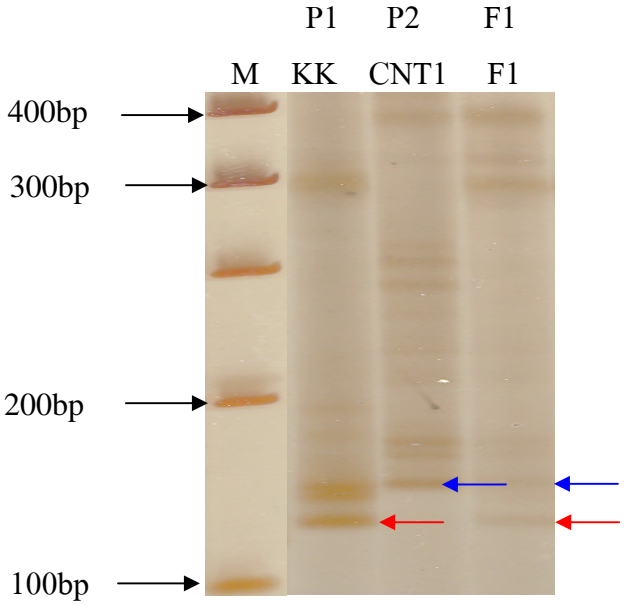
พันธุ์	จำนวนเมล็ดที่เพาะ	เมล็ดที่งอก	
		จำนวน	%
ข้าวปลูก			
ชัยนาท	20	20	100
เฉี้ยงพัทลุง	20	20	100
ข้าวป่า			
KK6/1	20	19	95
KKP	20	17	85
SP3/4	20	18	90
SP2/1	20	18	90
KK6/4	20	18	90
KK6/3	20	16	80
SP1/2	20	19	95
KS7/4	20	20	100
ลูกผสม			
ชัยนาท x ข้าวป่า KK6/1	7	5	71.43
ชัยนาท x ข้าวป่า SP3/4	6	4	70
ชัยนาท x ข้าวป่า KK6/4	9	6	66.67
ชัยนาท x ข้าวป่า SP1/2	4	3	75
เฉี้ยงพัทลุง x ข้าวป่า SP1/2	10	7	70
ข้าวป่า KKP x ชัยนาท	3	3	100
ข้าวป่า SP2/1 x ชัยนาท	4	2	50
ข้าวป่า KK6/3 x ชัยนาท	9	7	77.78
ข้าวป่า KS7/4 x ชัยนาท	8	5	62.5
ข้าวป่า KS7/4 x เฉี้ยงพัทลุง	3	2	66.67

3.1.3 การถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกโดยทดสอบกับลูกผสมที่ได้จากการผสมข้าม โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

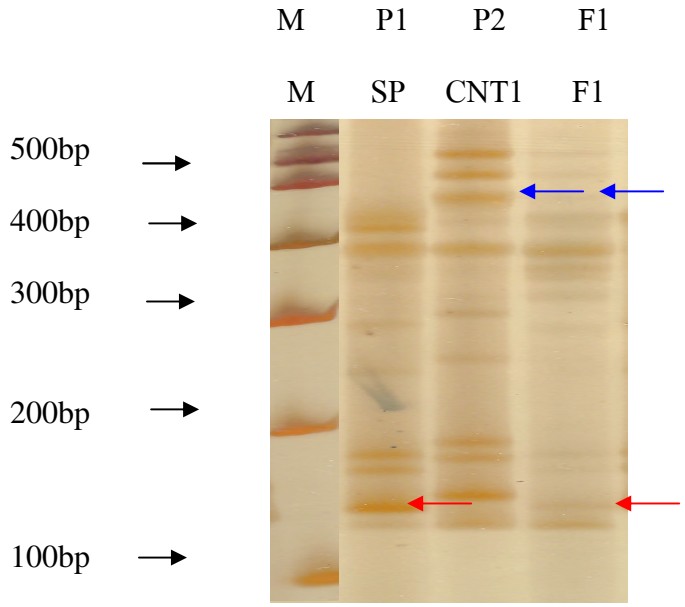
ทำการทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาคู่ไพรเมอร์ที่สามารถตรวจสอบลูกผสมระหว่างข้าวป่า และข้าวปลูก (ชัยนาท เฉี้ยงพัทลุง) เพื่อทดสอบการถ่ายเทยีนในลูกผสมทั้ง 10 คู่ผสม โดยทดสอบกับคู่ไพรเมอร์จำนวน 9 คู่ไพรเมอร์ พบว่าคู่ไพรเมอร์ที่สามารถตรวจสอบการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกได้ มี 3 คู่ไพรเมอร์ ได้แก่ RM9 RM21 และRM211 โดยพบว่า ข้าวปลูกและข้าวป่ามีการปรากฏของแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน ส่วนลูกผสมชั่วที่ 1 ปรากฏแถบดีเอ็นเอ 2 แถบที่เหมือนกับต้นพ่อและแม่ พบว่า ลูกผสมจากทุกคู่ผสมปรากฏแถบดีเอ็นเอ 2 แถบจากพ่อและแม่ ยกเว้น คู่ผสมคู่ที่ 5 (เฉี้ยงพัทลุง x ข้าวป่า SP1/2) จำนวน 1 ต้นที่ไม่พบแถบดีเอ็นเอจากต้นพ่อแสดงว่า อาจจะไม่ใช่ลูกผสมที่แท้จริง ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พ่อแม่และลูกผสมดังแสดงในรูปที่ 21, 22 และ 23



รูปที่ 21 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอพันธุ์พ่อแม่ (P_1,P_2) เปรียบเทียบกับลูกผสมชั่วที่1 (F_1) RM9
lane 1 - 3 คือ คู่ผสมระหว่าง CNT1 x KK จากเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส P1 = พ่อพันธุ์ P2 = แม่พันธุ์ F1 = ลูกผสม



รูปที่ 22 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอพันธุ์พ่อแม่ (P_1,P_2) เปรียบเทียบกับลูกผสมชั่วที่1 (F_1) RM21
lane 1 - 3 คือ คู่ผสมระหว่าง CNT1 x KK จากเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์
M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส P1 = พ่อพันธุ์ P2 = แม่พันธุ์ F1 = ลูกผสม



รูปที่ 23 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอพันธุ์พ่อแม่ (P_1,P_2) เปรียบเทียบกับลูกผสมชั่วที่1 (F_1) RM211
lane 1 - 3 คือ คู่ผสมระหว่าง KK x CNT1 lane 4 – 6 คือ คู่ผสมระหว่าง SP x CNT1 จาก
เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ เมื่อใช้ M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส
P1 = พ่อพันธุ์ P2 = แม่พันธุ์ F1 = ลูกผสม

3.2 การศึกษาการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในสภาพธรรมชาติในแปลงปลูกของเกษตรกร

3.2.1 การวิเคราะห์ความถี่อัลลีลกลุ่มประชากรข้าวปลูกและข้าวป่า

นำคู่ไพรเมอร์ทั้ง 3 คู่ คือ RM21, RM211 และRM9 มาตรวจสอบการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกจากตัวอย่างต้นกล้าที่ได้จากการเก็บเมล็ดชั่วลูกของต้นข้าวป่าและข้าวปลูกในแปลงเกษตรกร (เลือกบางแปลง) ที่มีข้าวทั้ง 2 ชนิด ขึ้นปะปนกัน โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ จากการศึกษาความถี่ของอัลลีล (แถบดีเอ็นที่ปรากฏ) จากคู่ไพรเมอร์ทั้ง 3 คู่ หรือ 3 ตำแหน่ง พบว่า คู่ไพรเมอร์ RM9 และ RM21 ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 5 อัลลีล (A - E) ส่วนคู่ไพรเมอร์ RM211 ให้จำนวนอัลลีลทั้งหมด 3 อัลลีล (A - C) โดยพบว่า คู่ไพรเมอร์ RM9 อัลลีลที่พบในพันธุ์ชัยนาท และก.ข.25 คือ อัลลีล E พันธุ์ข้าวกาบดำ คือ อัลลีล B และพันธุ์เฉี้ยงพัทลุง คือ อัลลีล C คู่ไพรเมอร์ RM21 อัลลีลที่พบในข้าวปลูกทุกสายพันธุ์ คือ อัลลีล C คู่ไพรเมอร์ RM211 อัลลีลที่พบในพันธุ์ชัยนาท ก.ข.25 และเฉี้ยงพัทลุง คือ อัลลีล C พันธุ์กาบดำ คือ B สำหรับพันธุ์ป่าจะพบอัลลีลแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ดังแสดงในตารางที่ 10 และ11 ในต้นข้าวปลูกพบ อัลลีลของข้าวป่าเฉลี่ย 27.92 % โดยพบมากที่สุดใน แปลงที่ 2 อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช (55.70%) และต่ำที่สุดในแปลง อ.กระแสสินธุ์ (14.00%) (ตารางที่ 12) ส่วนในประชากรข้าวป่าพบอัลลีลของข้าวปลูกเฉลี่ย 18.90%โดยพบมากที่สุดในแปลง 1 อ.สทิงพระ จ.สงขลา (37.67%) ต่ำที่สุดพบใน อ.กระแสสินธ์ จ.สงขลา (12.67%) และไม่พบอัลลีลของข้าวปลูกในประชากรข้าวป่าเลยในแปลงที่ 1 อ.หัวไทร (ตารางที่ 13)

3.2.2 การวิเคราะห์ความถี่จีโนไทป์กลุ่มประชากรข้าวปลูกและข้าวป่า

จากการศึกษาโดยใช้คู่ไพรเมอร์ทั้ง 3 คู่พบจีโนไทป์ทั้ง homozygous และ heterozygous โดยพบว่าความถี่ของจีโนไทป์มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 14) โดยพบว่าในประชากรข้าวปลูกนั้นมีทั้งจีโนไทป์แบบ homozygous ของข้าวปลูกเอง และจีโนไทป์แบบ homozygous ของข้าวป่าโดยพบในอัตรา 0.08 - 0.33 และมีทั้งอัลลีลที่จำเพาะของทั้งข้าวป่าและข้าวปลูก แบบ heterozygous 0.09 - 0.29 เช่นเดียวกับประชากรข้าวป่า พบจีโนไทป์ของข้าวปลูกในอัตรา 0.06 - 0.42 และจีโนไทป์แบบ heterozygous 0.04 - 0.12 ในคู่ไพรเมอร์ RM9 คู่ไพรเมอร์ RM21 พบจีโนไทป์ของข้าวป่าในข้าวปลูก 0.07 - 0.67 พบจีโนไทป์แบบ heterozygous คือ 0.08 - 0.18 และพบจีโนไทป์ข้าวปลูกในข้าวป่าแบบ homozygous 0.13 - 0.19 และพบแบบ heterozygous 0.12 - 0.20 และคู่ไพรเมอร์ RM211 พบจีโนไทป์ของข้าวป่าในข้าวปลูกแบบ homozygous 0.08 - 0.50 และแบบ heterozygous 0.08 - 0.25 และในประชากรข้าวป่าพบจีโนไทป์ของข้าวปลูกแบบ homozygous 0.05 - 0.69 ส่วนแบบ heterozygous พบ 0.08 - 0.19

3.2.3 การประเมินการถ่ายเทยีน

จากการศึกษาพบว่า การถ่ายเทยีนจะพบทั้ง 2 ทิศทางคือ จากข้าวป่าไปสู่ข้าวปลูก และจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่า โดยการถ่ายเทยีนจากข้าวป่าไปสู่ข้าวปลูกมี 39% ส่วนการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่า 23% โดยพบว่าการถ่ายเทยีนจากข้าวป่าไปสู่ข้าวปลูกพบมากที่สุดในแปลงที่ 2 อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช (67%) และพบน้อยที่สุดในแปลงที่ 1 อ.สทิงพระ และ ต.ชุมพล (30%) ส่วนการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่าพบว่ามีอัตราสูงในแปลงที่ 1 อ.สทิงพระ (38%) และต่ำที่สุดในแปลงที่ 1 อ.กระแสสินธุ์ และแปลงที่ 1 อ.หัวไทร (13%) (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 10 แถบดีเอ็นเอหรืออัลลีลที่ปรากฏในต้นข้าวปลูก และข้าวป่าชั่วลูกในแปลงที่ศึกษา

Locus/allele	ข้าวปลูก				ข้าวป่า						
	กาบดำ	กข 25	เฉี้ยง	ชัยนาท	DL2,DL11	DL12-14	KR1,KR7	CP1-CP3	KS1-2	HS1-4	KK2-3
RM 9											
Allele A					✓	✓	✓	✓	✓		✓
Allele B	✓					✓			✓	✓	✓
Allele C			✓		✓		✓		✓		
Allele D											
Allele E		✓		✓							
RM 21											
Allele A						✓			✓		
Allele B					✓	✓	✓	✓		✓	✓
Allele C	✓	✓	✓	✓							
Allele D											
Allele E											
RM 211											
Allele A					✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Allele B	✓					✓		✓		✓	✓
Allele C		✓	✓	✓							

ตารางที่ 11 ความถี่อัลลีลของกลุ่มประชากรข้าวปลูกและข้าวป่าชั่วลูกโดยเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ 3 ตำแหน่ง (RM9, RM21, RM211)

Locus/allele	แปลง/ข้าวปลูกชั่วลูก							แปลง/ข้าวป่าชั่วลูก						
	ST1	ST2	ST3	ST4	KS	HS1	HS2	ST1	ST2	ST3	ST4	KS	HS1	HS2
	กาบดำ	กข 25	กาบดำ	เฉี้ยง	ชัยนาท	ชัยนาท	ก.ข.25	←			พันธุ์ข้าวป่า			→
	N=10	N=11	N=10	N=12	N=14	N=8	N=6	N=16	N=26	N=16	N=12	N=13	N=5	N=21
RM 9														
Allele A		0.09	0.1	0.08			0.17	0.44	0.19	0.69	0.42	0.31		0.14
Allele B	0.2	0.09	0.5		0.14		0.33	0.31	0.42	0.06		0.23	1	0.62
Allele C	0.2		0.3	0.17		0.12	0.33	0.13	0.04	0.19	0.5	0.38		
Allele D								0.06				0.08		
Allele E	0.6	0.82	0.1	0.75	0.86	0.88	0.17	0.06	0.35	0.06	0.08			0.24
RM 21														
Allele A	0.1		0.4	0.08	0.07	0.125	0.67		0.62			0.23		
Allele B		0.09	0.1	0.17				0.75	0.15	0.81	0.92	0.54	1	0.76
Allele C	0.3	0.73	0.5	0.75	0.14	0.75	0.33	0.125	0.15	0.19		0.15		0.19
Allele D									0.08		0.08			0.05
Allele E	0.6	0.18			0.79	0.125		0.125				0.08		
RM 211														
Allele A	0.2	0.27	0.5	0.33	0.21	0.125	0.17	0.31	0.15	0.06	0.17	0.38	0.8	0.76
Allele B	0.8	0.09	0.5	0.08		0.125	0.33	0.69	0.85	0.81	0.83	0.62	0.2	0.19
Allele C		0.64		0.58	0.79	0.75	0.5			0.13				0.05

ตารางที่ 12 สรุปเปอร์เซ็นต์ความถี่อัลลีลของกลุ่มประชากรข้าวปลูกชั่วลูกในพื้นที่ปลูกข้าว 7 แหล่ง

Primer	allele	ST1	allele	ST2	allele	ST3	allele	ST4	allele	KS	allele	HS1	allele	HS2
RM 9														
ชัยนาท									E	86	E	88		
เฉี้ยง							C	17						
กข25			E	82									E	17
กาบดำ	B	20			B	50								
ข้าวป่า	C	20	A,B	18	A,C	40	A	8	B	14	C	12	A,B	50
อื่นๆ	E	60			E	10	E	75					C	33
RM 21														
ชัยนาท									C	14	C	75		
เฉี้ยง							C	75						
กข25			C	73									C	33
กาบดำ	C	30			C	50								
ข้าวป่า	A	10	B	9	A,B	50	A,B	25	A	7	A	13	A	67
อื่นๆ	E	60	E	18					E	79	E	13		
RM 211														
ชัยนาท									C	79	C	75		
เฉี้ยง							C	58						
กข25			C	64									C	50
กาบดำ	B	80			B	50								
ข้าวป่า	A	20	A,B	36	A	50	A,B	41	A	21	A,B	25	A,B	50
อื่นๆ														
% อัลลีลของข้าวป่า ตรวจสอบโดยคู่ไพรเมอร์ต่าง ๆ														
RM9		20		18		40		8		14		12		50
RM21		10		9		50		25		7		13		67
RM211		20		36		50		41		21		25		50
Average		16.7		21		46.7		24.7		14		16.7		55.7

ตารางที่ 13 สรุปเปอร์เซ็นต์ความถี่อัลลีลของกลุ่มประชากรข้าวป่าชั่วลูกในพื้นที่ปลูกข้าว 7 แหล่ง

Primer	allele	ST1	allele	ST2	allele	ST3	allele	ST4	allele	KS	allele	HS1	allele	HS2
RM 9														
ชัยนาท									E	-				
เฉี้ยง							C	50						
กข25			E	35									E	24
กาบดำ	B	31			B	6								
ข้าวป่า	A,C	57	A,B	61	A,C	88	A	42	A,B,C	92	B	100	A,B	76
อื่นๆ	D,E	12	C	4	E	6	D	8	D	8				
RM 21														
ชัยนาท									C	15				
เฉี้ยง							C	-						
กข25			C	15									C	19
กาบดำ	C	13			C	19								
ข้าวป่า	B	75	A,B	77	B	81	B	92	A	23	B	100	A	76
อื่นๆ	E	12	D	8			D	8	B,E	62			D	5
RM 211														
ชัยนาท									C	23	C	-		
เฉี้ยง							C	-						
กข25			C	-									C	5
กาบดำ	B	69			B	81								
ข้าวป่า	A	31	A,B	100	A	6	A,B	100	A	31	A,B	100	A,B	95
อื่นๆ					C	13			B	46				

% อัลลีลของข้าวปลูก ตรวจสอบโดยคู่ไพรเมอร์ต่าง ๆ

RM9		31		35		6		42		-		-		24
RM21		13		15		19		-		15		-		19
RM211		69		-		81		-		23		-		5
Average		37.7		16.7		35.3		14		12.7		-		16

ตารางที่ 14 ความถี่ของจีโนไทป์ที่จำเพาะกับข้าวปลูกและข้าวป่าชั่วลูกในแปลงปลูกของเกษตรกร

Locus	แปลง/พันธุ์ข้าวปลูก							แปลง/พันธุ์ข้าวป่า						
	ST1	ST2	ST3	ST4	KS	HS1	HS2	ST1	ST2	ST3	ST4	KS	HS1	HS2
	กาบดำ	ก.ข.25	กาบดำ	เฉี้ยง	ชัยนาท	ชัยนาท	ก.ข.25	← พันธุ์ข้าวป่า* →						
	N=10	N=11	N=10	N=12	N=14	N=8	N=6	N=16	N=26	N=16	N=12	N=13	N=5	N=21
RM 9														
AA	0	0.09	0.1	0.08	0	0	0.17	0.31	0.08	0.69	0.42	0.23	0	0.14
BB	0.2	0.09	0.5	0	0.14	0	0.33	0.19	0.31	0.06	0	0.15	0.8	0.57
CC	0	0	0.3	0.17	0	0.13	0.33	0.13	0.04	0.19	0.42	0.31	0	0
DD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.08	0	0
EE	0.3	0.73	0	0.58	0.57	0.62	0.17	0.06	0.35	0.06	0	0	0	0.24
AC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.08	0.08	0	0
ACD	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0	0	0	0	0	0.05
ADE	0	0	0	0	0	0	0	0	0.04	0	0	0	0	0
AE	0	0.09	0	0	0	0.13	0	0.06	0.08	0	0	0	0	0
BC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2	0
BD	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0	0	0	0.08	0	0
BE	0	0	0	0.08	0	0	0	0.06	0.12	0	0.08	0	0	0
CD	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.08	0	0
CE	0	0	0.1	0	0.29	0.13	0	0	0	0	0	0	0	0
DE	0.2	0	0	0.08	0	0	0	0.06	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 14 (ต่อ) ความถี่ของจีโนไทป์ที่จำเพาะกับข้าวปลูกและข้าวป่าชั่วลูกในแปลงปลูกของเกษตรกร

Locus	แปลง/พันธุ์ข้าวปลูก							แปลง/พันธุ์ข้าวป่า						
	ST1	ST2	ST3	ST4	KS	HS1	HS2	ST1	ST2	ST3	ST4	KS	HS1	HS2
	กาบดำ	ก.ข.25	กาบดำ	เฉี้ยง	ชัยนาท	ชัยนาท	ก.ข.25	← พันธุ์ข้าวป่า* →						
	N=10	N=11	N=10	N=12	N=14	N=8	N=6	N=16	N=26	N=16	N=12	N=13	N=5	N=21
RM9														
CDE	0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RM 21														
AA	0.1	0	0.4	0.08	0.07	0.13	0.67	0	0.35	0	0	0	0	0
BB	0	0.09	0.1	0.17	0	0	0	0.63	0.15	0.81	0.92	0.46	0.8	0.76
CC	0.2	0.45	0.4	0.67	0.14	0.63	0.33	0.13	0.15	0.19	0	0.15	0	0.19
DD	0	0	0	0	0	0	0	0	0.08	0	0.08	0	0	0.05
EE	0.6	0.09	0	0	0.71	0.13	0	0.13	0	0	0	0.08	0	0
AB	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0.04	0	0	0.08	0	0
AC	0.1	0.18	0.1	0.08	0	1	0	0	0.12	0	0	0	0	0
AE	0	0.09	0	0	0.07	0	0	0	0.12	0	0	0.23	0	0
BC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2	0
BE	0	0	0	0	0	0	0	0.06	0	0	0	0	0	0
CE	0	0.09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 14 (ต่อ) ความถี่ของจีโนไทป์ที่จำเพาะกับข้าวปลูกและข้าวป่าชั่วลูกในแปลงปลูกของเกษตรกร

Locus	แปลง/พันธุ์ข้าวปลูก							แปลง/พันธุ์ข้าวป่า						
	ST1	ST2	ST3	ST4	KS	HS1	HS2	ST1	ST2	ST3	ST4	KS	HS1	HS2
	กาบดำ	ก.ข25.	กาบดำ	เฉี้ยง	ชัยนาท	ชัยนาท	ก.ข25.	← พันธุ์ข้าวป่า* →						
	N=10	N=11	N=10	N=12	N=14	N=8	N=6	N=16	N=26	N=16	N=12	N=13	N=5	N=21
RM211														
AA	0.2	0.09	0.5	0.33	0.21	0	0.17	0.25	0.15	0.06	0.08	0.31	0.6	0.76
BB	0.6	0.09	0.5	0.08	0	0.13	0.33	0.44	0.69	0.69	0.67	0.46	0.2	0.19
CC	0	0.64	0	0.5	0.64	0.5	0.17	0	0	0.13	0	0	0	0.05
AB	0.2	0.18	0	0	0	0.13	0	0.19	0.15	0.13	0.17	0	0	0
AC	0	0	0	0	0.14	0.25	0.17	0.06	0	0	0.08	0.08	0.2	0
BC	0	0	0	0.08	0	0	0.17	0.06	0	0	0	0.15	0	0

หมายเหตุ

ST1 คือ แปลงที่ 1 ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ

ST2 คือ แปลงที่ 2 ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ

ST3 คือ แปลงที่ 3 ต.คลองรี อ.สทิงพระ

ST4 คือ แปลงที่ 4 ต.ชุมพล อ.สทิงพระ

KS คือ แปลงที่ 1.อ.กระแสสินธุ์

HS1 คือ แปลงที่ 1 อ.หัวไทร

HS2 คือ แปลงที่ 2 อ.หัวไทร

* พันธุ์ข้าวป่าดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์การถ่ายเทยีนระหว่างกลุ่มประชากรข้าวปลูกและข้าวป่าวิเคราะห์โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตแทลไลต์ จำนวน 3 คู่ไพรเมอร์

Locus/allele	แปลง/พันธุ์ข้าวปลูก							แปลง/พันธุ์ข้าวป่า						
	ST1	ST2	ST3	ST4	KS	HS1	HS2	ST1	ST2	ST3	ST4	KS	HS1	HS2
	กาบดำ	ก.ข.25	กาบดำ	เฉี้ยง	ชัยนาท	ชัยนาท	ก.ข.25	← พันธุ์ข้าวป่า* →						
	N=10	N=11	N=10	N=12	N=14	N=8	N=6	N=16	N=26	N=16	N=12	N=13	N=5	N=21
RM 9	30	27	50	8	43	25	50	31	58	6	50	0	0	24
RM 21	20	36	60	33	36	25	67	13	27	19	0	15	20	19
RM 211	40	36	50	50	14	50	83	69	0	81	8	23	20	5
Average	30	33	53	30	31	33	67	38	28	35	19	13	13	16

หมายเหตุ

ST1 คือ แปลงที่ 1 ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ

ST2 คือ แปลงที่ 2 ต.ดีหลวง อ.สทิงพระ

ST3 คือ แปลงที่ 3 ต.คลองรี อ.สทิงพระ

ST4 คือ แปลงที่ 4 ต.ชุมพล อ.สทิงพระ

KS คือ แปลงที่ 1.อ.กระแสสินธุ์

HS1 คือ แปลงที่ 1 อ.หัวไทร

HS2 คือ แปลงที่ 2 อ.หัวไทร

* พันธุ์ข้าวป่าดังแสดงในตารางที่ 4

บทที่ 4

วิจารณ์

มีรายงานการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในหลายพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวทั่วโลก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์ของข้าวทั้งสองชนิดด้วย สำหรับพื้นที่ที่ศึกษาเป็นพื้นที่ภาคใต้ที่มีการปลูกข้าวหลายพันธุ์ ได้แก่ ชัยนาท เฉี้ยงพัทลุง กาบดำ และพันธุ์ กข 25 และมีข้าวป่าขึ้นปะปนก่อนที่จะมีการศึกษาการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตแทลไลต์ มีความจำเป็นที่จะต้องทราบถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่าที่พบในพื้นที่ และหาเครื่องหมายไมโครแซตแทลไลต์ ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์การถ่ายเทยีนระหว่างพืชทั้งสองกลุ่ม

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่า และประชากรชั่วลูกข้าวป่าและข้าวปลูกในบางพื้นที่ทางภาคใต้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมประชากรข้าวป่าในบางพื้นที่ทางภาคใต้ พบว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดมีความแตกต่างกันในลักษณะความยาวหาง สีหาง สีเยื่อหุ้มเมล็ด และสีเปลือกหุ้มเมล็ด รูปร่างเมล็ด โดยสาเหตุอาจเนื่องมาจากเกิดการผสมข้ามกับข้าวปลูกในธรรมชาติ ทำให้พบความแตกต่างในหลายลักษณะ สอดคล้องกับการศึกษาของ สงกรานต์ (2532) ที่รายงานว่าพบ ความแปรปรวนของสีเปลือกหุ้มเมล็ดของข้าวป่าจากตัวอย่างเดียวกัน สำหรับการศึกษาครั้งนี้เมื่อนำประชากรข้าวป่าชั่วลูกมาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเพิ่มเติม พบความหลากหลายในหลายลักษณะ ยกเว้น การมีหางข้าวและรูปร่างลิ้นใบ ลักษณะที่มีความหลากหลายสูงที่สุดคือ สีของกาบใบ (H’ = 1.145) และลักษณะที่มีความหลากหลายต่ำที่สุด คือ สีกลีบรองดอก (H’ = 0.270) ส่วนลักษณะทางปริมาณ พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งใน 8 ลักษณะที่ศึกษา ยกเว้น จำนวนช่อดอก และความสูงต้น ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาของ ธีรศักดิ์ (2547) ที่พบว่าลักษณะที่มีความหลากหลายมากที่สุดในข้าวปลูกและข้าวป่าในภาคเหนือ คือ สีของยอดเกสรตัวเมีย และลักษณะที่มีความหลากหลายน้อยที่สุด คือ สีกาบใบ ความแตกต่างนี้อาจเกิดขึ้นเนื่องมาจากพันธุกรรมของข้าวป่าในภาคใต้และภาคเหนือมีความแตกต่างกัน หรืออาจจะเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน Akihama and Watabe (1970) ทำการบันทึกลักษณะสัณฐานวิทยา 19 ลักษณะ พบว่าข้าวป่าที่มาจากแต่ละแหล่งในประเทศไทยโดยเฉพาะภาคเหนือ และภาค

ตะวันออกเฉียงเหนือ มีความแปรปรวนสูง ซึ่งความแปรปรวนน่าจะเกิดจากการผสมข้ามในแปลงที่มีข้าวป่าและข้าวปลูกขึ้นปะปนกัน หรือระหว่างข้าวป่าด้วยกันเองในแต่ละฤดูปลูกเป็นระยะเวลาหลายปี ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวนั้นไม่เพียงพอที่จะแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมได้อย่างชัดเจน เนื่องจากมีลักษณะที่ใกล้เคียงกัน สงกรานต์ และคณะ (2538) รายงานว่าจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถแยกความแตกต่างของข้าวป่าที่มีชุดโครโมโซม AA ออกจากชุดโครโมโซม CC ได้ แต่ไม่สามารถแยกข้าวป่า *O. rufipogon*, *O. nivara* และ spontanea form ออกจากกันได้ จึงจำเป็นต้องอาศัยเครื่องหมายโมเลกุลเข้ามาช่วยในการจำแนก เช่นเดียวกับ Bajracharya และคณะ (2006) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวในพื้นที่สูงประเทศเนปาล โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาเปรียบเทียบกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุล พบว่าให้ผลที่แตกต่างกัน โดยความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับแถบดีเอ็นเอของเครื่องหมายโมเลกุล SSR แต่เครื่องหมาย SSR มีประสิทธิภาพสูงในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว เมื่อนำข้าวป่าจากแปลงเกษตรกรมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ สามารถแบ่งกลุ่มข้าวป่าได้เป็น 5 กลุ่ม โดยมีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.231 – 1.000 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.708 แตกต่างจากข้าวป่าและข้าวปลูกชั่วลูก มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.355 – 1.000 (ค่านี้สูงกว่าข้าวป่าต้นแม่เล็กน้อย) และมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.707 แสดงให้เห็นว่าข้าวป่าชั่วลูกที่นำมาศึกษายังคงมีฐานพันธุกรรมค่อนข้างกว้าง เมื่อพิจารณาจากการใช้ไพรเมอร์ 9 คู่ พบว่ามีเพียง 8 คู่ที่ให้แถบดีเอ็นเอหรืออัลลีลที่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ไพรเมอร์ส่วนใหญ่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน 100% (RM9 RM21 RM44 RM211 RM219 RM241 RM280) ยกเว้น RM166 ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างน้อยกว่า (66.67%) ซึ่งเมื่อพิจารณาการซ้ำของลำดับเบสจากการออกแบบคู่ไพรเมอร์ดังกล่าว พบว่าตำแหน่งที่ศึกษามีลำดับเบสซ้ำเป็น GA ทั้งหมด ยกเว้น RM180 มีลำดับเบสซ้ำเป็น ATT จึงให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่ชัดเจน ไม่สามารถนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้ สอดคล้องกับ Chen และคณะ (1997) รายงานว่าจีโนมข้าวมีลำดับเบสซ้ำแบบ GA มากที่สุด ดังนั้นจึงทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอ (อัลลีล) ที่มีความแตกต่างกันมาก และแสดงความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ไพรเมอร์ RM9 และ RM21 ให้จำนวนอัลลีลสูงสุด จำนวน 6 อัลลีล สอดคล้องกับการศึกษาของ Ni และคณะ (2002) ที่รายงานว่า โครโมโซมแท่งที่ 11 ของข้าว indica และ japonica แสดงความแปรปรวนทางพันธุกรรมทั้งจำนวนของอัลลีลและมีค่า PIC (Polymorphism Index Content) สูง และตำแหน่งของเครื่องหมาย RM21 อยู่บนโครโมโซมแท่งดังกล่าวด้วยเช่นกัน จึงอาจทำให้แสดงจำนวนอัลลีลที่มีความแตกต่างกันมากที่สุด ทำนองเดียวกับรายงานของ Ming-Yu และคณะ (2004) ศึกษาข้าวพื้นเมือง ที่เก็บจากแคว้นยูนาน ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน โดยใช้คู่ไพรเมอร์ทั้งหมด 19 คู่

ในข้าวพันธุ์พื้นเมือง 85 พันธุ์ พบว่า คู่ไพรเมอร์ RM21 ให้จำนวนอัลลีลสูงสุด 7 อัลลีล Sarla และคณะ (2003) มีการวิเคราะห์ลำดับซ้ำ AG และ GA โดยใช้เครื่องหมาย SSR ในข้าวป่า *O. nivara* จำนวน 24 พันธุ์ พบว่า คู่ไพรเมอร์ RM9 ให้จำนวนอัลลีลสูงที่สุด 9 อัลลีล ส่วนไพรเมอร์ที่ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอรองลงมาคือ RM219 ให้จำนวนอัลลีล 5 อัลลีล แตกต่างจากการศึกษาของ Cao และคณะ (2006) ในการทดสอบคู่ไพรเมอร์จำนวน 20 คู่ พบว่าคู่ไพรเมอร์ที่ให้อัลลีลที่แตกต่างกันในกลุ่มประชากรข้าวป่าทางภาคเหนือของจีนมากที่สุด คือ RM219 (H_e=0.723) และ RM21 ให้จำนวนอัลลีลมากที่สุด 10 อัลลีล ผลอาจเป็นเพราะพันธุกรรมข้าวป่าที่ใช้ในการศึกษามีความแตกต่างกัน นอกจากนี้แล้ว ความแตกต่างของแต่ละอัลลีลจะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของพืชที่ศึกษาด้วย เช่น ข้าวป่ามีเปอร์เซ็นต์การผสมข้ามสูง จึงมีความแตกต่างของอัลลีลมากกว่าข้าวปลูกที่เป็นพืชผสมตัวเอง เมื่อทำการวิเคราะห์อัลลีลของข้าวป่าในแต่ละแหล่ง พบว่า คู่ไพรเมอร์ RM21 ให้แถบอัลลีลขนาด 400 คู่เบส ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับข้าวป่าหางสีแดง จาก ต.เขาพังไกร อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช เพียงประชากรเดียว ทำให้สามารถจำแนกข้าวป่าหางสีแดง ต .เขาพังไกร ออกจากข้าวป่าชนิดอื่นได้ ส่วนในข้าวป่าอื่น ๆ ไม่มีอัลลีลใดที่มีความจำเพาะเจาะจง

เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมพบว่า มี 4 ชุดที่มีพันธุกรรมเหมือนกัน (ค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม = 1) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 คือ ข้าวป่า CP1F1, KS1F1 กลุ่มที่ 2 คือ ข้าวปลูก KKSP3, KKSP4, KDSP5 กลุ่มที่ 3 คือ ข้าวป่า KK1F1, KS2F1 และกลุ่มที่ 4 คือ DL1F1, KK3F1 ในพันธุ์ปลูกที่มีพันธุกรรมเหมือนกัน 2 พันธุ์จะเป็นกาบดำ และ กข 25 ซึ่งในความเป็นจริงไม่ควรจะเหมือนกัน แต่การที่พบว่าไม่มีความแตกต่างอาจเนื่องมาจากต้นที่ทำการสุ่มเก็บมาศึกษานั้น มีการปลอมปนของพันธุ์เกิดขึ้น ผลจากเดนโดรแกรมสามารถจัดกลุ่มตามความสัมพันธ์และความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ โดยพบว่า ข้าวป่าจาก อ.สทิงพระ อ.กระแสสินธุ์ และอ.หัวไทร มีการกระจายตัวอยู่ในกลุ่มที่ 1 และ 2 มาก และข้าวปลูกที่นำมาเปรียบเทียบนั้นก็มีการกระจายตัวอยู่ทั้งกลุ่มที่ 1 และ 2 อย่างกระจัดกระจาย โดยการจัดกลุ่มดังกล่าว ไม่ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของข้าวป่าด้วย อย่างไรก็ตามจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าข้าวป่าในภาคใต้นั้นมีความหลากหลายสูง ซึ่งความหลากหลายที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากสาเหตุต่าง ๆ เช่น การปนของเมล็ดพันธุ์ข้าว การกลายพันธุ์ การเก็บเมล็ดพันธุ์เดิมในแปลงที่มีข้าวป่าระบาดมาเป็นเมล็ดพันธุ์เพื่อปลูกใหม่ในรอบถัดไป หรือการผสมข้ามพันธุ์ข้าว เนื่องมาจากข้าวป่า เป็นข้าวที่มีการผสมเกสรแบบผสมข้าม (Morishima *et al*., 1992) โดยมีรายงานว่าในประเทศไทยมีอัตราการผสมข้ามของข้าวป่าในสภาพธรรมชาติสูงถึง 50% ในข้าวป่าชนิดข้ามปี และ 7% ในข้าวป่าชนิดปีเดียว (Barbier, 1989) โดยข้าวป่า *spontanea* form เกิดจากการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าในสภาพธรรมชาติ (*O. rufipogon*) กับข้าวปลูกซึ่งมีการกระจายตัวของลูกหลานเป็นหลายลักษณะแตกต่างกันออกไป

ทำให้ความแปรปรวนทางลักษณะต่าง ๆ สูง (Oka, 1988) เรียกว่าเป็น ข้าววัชพืช ซึ่งอัตราการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าจากสภาพธรรมชาติและข้าวพันธุ์ปลูกจะอยู่ระหว่าง 2-3% และอัตราการผสมข้ามระหว่างข้าวพันธุ์ปลูกและข้าววัชพืช 0.01-0.03% (จรรยา, 2547)

ทดสอบการผสมข้ามชนิดพันธุ์ระหว่างประชากรข้าวป่าและข้าวปลูกและตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

จากการศึกษาความสามารถในการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก ยืนยันได้ว่าข้าวป่าและข้าวปลูกทั้งหมด 10 คู่ผสม ผสมกันได้ มีการผลิตเมล็ดในอัตราและปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางพันธุกรรมของข้าวที่ใช้เป็นคู่ผสม ผลจากการผสมข้ามระหว่างข้าวป่า และ ข้าวปลูก 2 พันธุ์ คือ ชัยนาท และเฉี้ยงพัทลุง โดยทุกคู่ผสมมีอัตราผสมติดเมล็ดอยู่ระหว่าง 7.69 - 50% ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ ชูศักดิ์ และ ชัยฤกษ์ (2539) ที่ทำการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวป่า *O. minuta* (BBCC: 2n=48) กับข้าวปลูก *O. sativa* (AA: 2n=24) 3 พันธุ์ คือ ขาวดอกมะลิ105 นางมลเอส4 และกข 58 คู่ผสมทั้ง 3 มีอัตราการผสมข้ามและติดเมล็ดระหว่าง 15.52% - 25.30% ซึ่งอัตราการผสมติดน้อยกว่า อาจเนื่องมาจากคู่ผสมที่ทำการทดลองมีชุดโครโมโซมแตกต่างกัน คือ BBCC กับ AA อย่างไรก็ตาม Sitch (1990) ทำการผสมระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกที่มีชุดโครโมโซม AA เหมือนกัน และพบว่ามีอัตราการผสมติดเพียง 9.1 - 16.9% ความแตกต่างของความสำเร็จในการผสมข้ามอาจมาจากความแตกต่างของพันธุ์ข้าวปลูกกับประชากรข้าวป่าที่เป็นคู่ผสม เช่น ข้าวปลูกพันธุ์ IR36 กับ *O. nivara* Acc.101973 ผสมติดพียง 9.1% แต่เมื่อนำพันธุ์ IR36 ผสมกับ *O. nivara* Acc.103826 อัตราการผสมติดสูงถึง 62.2% เป็นต้น สอดคล้องกับรายงานของ Jamjod และคณะ (2003) รายงานความสามารถในการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก พบว่ามีอัตราการสร้างเมล็ดระหว่าง 6 - 62% ซึ่งอัตราการสร้างเมล็ดต่ำในคู่ผสมสันป่าตองและข้าวป่าจากลำพูน กาญจนบุรี และนครนายก อัตราการสร้างเมล็ดสูงที่สุดพบในคู่ผสม สุพรรณบุรี 1 และ ข้าวป่าจากที่ราบภาคกลาง ความแตกต่างของอัตราการผสมติดนั้น อาจเนื่องมาจากอัตราการงอกของท่อละอองเกสรที่ตกบนยอดเกสรตัวเมีย และการเจริญของท่อละอองเกสรไปผสมกับไข่ในแต่ละคู่ผสมแตกต่างกัน ทำให้โอกาสที่ผสมข้ามแล้วติดเมล็ดในแต่ละคู่ผสมจึงต่างกัน (Sitch, 1990) สำหรับการศึกษาในครั้งนี้พบว่า เมื่อใช้ข้าวป่าเป็นพันธุ์พ่ออัตราการติดเมล็ดจะสูงกว่าใช้ข้าวปลูกเป็นพันธุ์พ่อ จากการสังเกตพบว่า เมื่อใช้ข้าวปลูกเป็นพันธุ์พ่อ หลังจากการผสมเพียง 5 - 7 วัน เมล็ดลูกผสมจะร่วงทันที มีเพียงบางส่วนเท่านั้นที่เมล็ดสามารถพัฒนาได้อย่างสมบูรณ์ เช่นเดียวกับการศึกษาของวิไลลักษณ์ (2548) ที่รายงานว่า เมื่อใช้พันธุ์ป่าเป็นพันธุ์พ่อ

พบว่าไม่มีการร่วงของเมล็ดลูกผสม สอดคล้องกับ Nezu และคณะ (1960) รายงานว่า การผสมข้ามชนิดระหว่าง ข้าวปลูกเป็นพันธุ์แม่ ผสมกับข้าวป่า (*O. minuta*) เป็นพันธ์พ่อ เกิดการติดเมล็ด 21.3% แต่ถ้าผสมสลับพ่อแม่เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดจะลดลง ผลจากการศึกษาครั้งนี้ยืนยันได้ชัดเจนว่า ข้าวปลูกและข้าวป่ามีโอกาสผสมข้ามและให้เมล็ดลูกผสมที่เป็นปกติ เมื่อเปรียบเทียบความงอกของเมล็ดลูกผสมและพันธุ์พ่อแม่ พบว่าพันธุ์พ่อแม่มีอัตราความงอกอยู่ในช่วง 80 - 100% ในขณะที่เมล็ดลูกผสมทั้ง 10 คู่ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกระหว่าง 50 - 100% ทั้งนี้อาจเนื่องจากเมล็ดข้าวป่ามีระยะพักตัวนานกว่าข้าวปลูก ประนอม (2543) รายงานว่า ระยะพักตัวของเมล็ดข้าวป่าแตกต่างกัน โดยข้าวป่าจากบราซิลมีระยะพักตัวนาน 20 วัน จากสระบุรี 130 วัน ส่วนข้าวป่าจาก อินเดีย มาเลเซีย พม่า ศรีลังกา มานอส และ อ.เชียรใหญ่ จ. นครศรีธรรมราชมีระยะพักตัว 170 วัน การผสมข้ามพันธุ์นั้นทำให้เกิดการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกภายใต้สภาพธรรมชาติ (Song *et al*., 2003b) หากเกิดการผสมข้ามตามธรรมชาติอาจก่อให้เกิดลักษณะที่ไม่ต้องการโดยเกิดเป็นข้าววัชพืชได้ ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อการผลิตข้าวได้ เช่น ทำให้ระยะเวลาการออกดอกของข้าวป่าเปลี่ยนแปลงไป (Oka and Chang, 1961)

เมื่อนำลูกผสมมาวิเคราะห์โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์ สามารถยืนยันได้ว่า มีการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในแปลงปลูกเดียวกัน โดยไพรเมอร์ที่สามารถตรวจสอบได้มี 3 ไพรเมอร์ คือ RM9 RM21 และ RM211 โดยพบว่าลูกผสมจะ ปรากฏอัลลีลของทั้งข้าวปลูกและข้าวป่า แต่มีลูกผสมจำนวนหนึ่งที่มีอัลลีลเหมือนต้นพ่อเพียงอย่างเดียว รณชิต และคณะ (2548) รายงานว่า พบยีนของข้าวป่าและข้าวปลูกอยู่ร่วมกันในเมล็ดข้าว จากแปลงข้าวปรับปรุงสุพรรณบุรี 1 ลักษณะสำคัญในกลุ่มประชากร แตกต่างกัน คือ บางต้นเมล็ดร่วงแต่ไม่มีหาง บางต้นเมล็ดร่วงมีหาง และเป็นข้าวแดง ผลการทดลองพบความถี่อัลลีลของข้าวป่า 14 – 55.7% ในต้นข้าวปลูก และความถี่อัลลีลของข้าวปลูกในประชากรข้าวป่า 12.67 – 37.67% จากการทดลองชี้ให้เห็นว่าข้าวป่าสามารถผสมข้ามกับข้าวปลูกได้ง่าย โดยข้าวป่านั้นเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าเป็นแหล่งพันธุกรรมของความต้านทานโรค และแมลงต่าง ๆ ความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ลักษณะเพศผู้เป็นหมัน ซึ่งลักษณะเหล่านี้ล้วนสามารถปรับปรุงพันธุ์ข้าวได้ จึงควรที่จะนำข้าวป่าในพื้นที่เหล่านี้ไปทำการวิเคราะห์เพื่อหาลักษณะที่ดีต่อไป เพื่อที่จะนำมาใช้ในการผสมข้ามเพื่อนำลักษณะที่ดีนั้นไปสู่ข้าวปลูกได้

ศึกษาการถ่ายเทยีนในกลุ่มประชากรข้าวปลูก และข้าวป่าจากแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญในภาคใต้ของประเทศไทย โดยอาศัยเครื่องหมายไมโครแซตเทลไลต์

จากการศึกษาการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูก และข้าวป่าเมื่อวิเคราะห์ความถี่จีโนไทป์ พบว่า จีโนไทป์ที่พบมีทั้งแบบ homozygous และ heterozygous และพบอัลลีลแปลกปลอมที่ไม่เหมือนทั้งต้นพ่อต้นแม่ปะปนด้วย ทั้งนี้อาจอธิบายได้ว่าเกิดการถ่ายเทยีนหรือได้รับการผสมเกสรจากพันธุ์ป่าหรือพันธุ์ปลูกพันธุ์อื่น ๆ ในบริเวณใกล้เคียงกัน เนื่องจากมีรายงานว่า ระยะทางที่ไกลที่สุดที่ละอองเกสรของข้าวสามารถแพร่กระจายไปประมาณ 100 เมตร (Song *et al*., 2004b) ในขณะที่ Song และคณะ (2003b) รายงานว่า ระยะห่างที่ 43.2 เมตร เป็นระยะทางที่ไกลที่สุดที่พบการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่า ผลจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การถ่ายเทยีนจะมีทิศทางจากข้าวป่ามาสู่ข้าวปลูกมากกว่าข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่า โดยเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการถ่ายเทยีนจากข้าวป่าสู่ข้าวปลูกเฉลี่ย 39% ส่วนการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกสู่ข้าวป่าเฉลี่ย 23% ซึ่งต่างจากรายงานวิจัยที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหน้านี้ว่า การถ่ายเทยีนจะมีทิศทางจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่า (Oka and Chang, 1961) เพราะลักษณะดอกข้าวป่าจะเอื้อต่อการผสมข้ามมากกว่า เนื่องจากขนาดของเกสรตัวผู้และตัวเมียใหญ่กว่าข้าวปลูก 2 - 3 เท่า (Oka and Chang, 1961) เมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การถ่ายเทยีนพบว่า ค่อนข้างสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการวิจัยในต่างประเทศ Chen และคณะ (2004) ศึกษาการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกดัดแปลงพันธุกรรมและข้าววัชพืชโดยติดตามยีน *bar* ซึ่งเป็นยีนต้านทานยาปราบศัตรูพืช มีการถ่ายเทยีนดังกล่าวจาก ข้าวปลูกไปสู่ข้าววัชพืช 0.011 – 0.046% และจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่า 1.21 – 2.19% Song และคณะ (2003b) รายงาน ความถี่ของการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่ามีค่าสูงที่สุด 2.94% Kuroda และคณะ (2005) พบว่ามีการถ่ายเทยีนอย่างอิสระภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในข้าวกลุ่ม *O. sativa* กับ *O. rufipogon* ประมาณ 10% และระหว่าง *O. sativa* กับ *O. nivara* ประมาณ 14% ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเป็นเพราะ เกษตรกรส่วนใหญ่ในประเทศไทยมักเก็บเมล็ดพันธุ์ข้าวไว้ปลูกเองในปีถัดไป และพื้นที่ปลูกมีการระบาดของข้าวป่าทุกปี ส่งผลให้ข้าวปลูกได้รับการถ่ายยีนจากข้าวป่ามาเป็นระยะ ๆ ทำให้การผสมข้ามง่ายขึ้น ซึ่งต่างกับการปลูกข้าวในต่างประเทศที่เกษตรกรส่วนใหญ่มักซื้อเมล็ดพันธุ์จากหน่วยงานของรัฐ หรือบริษัทเอกชนมาปลูก จึงทำให้เกิดการถ่ายเทยีนน้อยกว่า งานทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับ Niruntrayakul และคณะ (2551) ศึกษาการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่า ข้าววัชพืช และข้าวปลูก พบอัลลีลของข้าวป่าในข้าวปลูกระหว่าง 5.4-11.7% และพบอัลลีลของข้าวปลูกในข้าวป่า และในข้าววัชพืช คือ 1.6-7.8% และ 70.9% ตามลำดับ จากการทดลองของ Song และคณะ (2006) พบว่ามีการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่าในประเทศจีน โดยการถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก

นั้นเกิดในช่วง 2000 ปี ร่วมกับกระบวนการวิวัฒนาการของข้าว (Lu *et al*., 2003) และมีหลักฐานว่าข้าวปลูกปัจจุบัน (*O. sativa*) มีวิวัฒนาการมาจากข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* (ปรีชา และวิสุทธิ์, 2545) การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและเป็นแบบสะสม โดยเฉพาะประชากรในท้องถิ่นนั้น ๆ (Qian *et al*., 2006)

จากการศึกษาในครั้งนี้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และไมโครแซตเทลไลต์ สามารถนำมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่าได้ แต่เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ มีประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา อย่างไรก็ตามต้องอาศัยลักษณะทางสัณฐานในเบื้องต้น แล้วจึงใช้เทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ศึกษาในขั้นตอนต่อไป ผลจากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในกรณีของการป้องกันการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า เนื่องจากเกษตรกรมักเก็บพันธุ์ข้าวปลูกไว้ใช้เอง หากไม่มีการป้องกันที่ถูกต้องจะทำให้ไม่สามารถรักษาพันธุ์ไว้ได้ เกิดการกลายพันธุ์ซึ่งมีผลต่อคุณภาพของข้าว ดังนั้นจึงต้องมีการกำจัดข้าวป่าในแปลงปลูกก่อนที่จะออกดอก เพื่อป้องกันการผสมข้าม ในทางกลับกันแม้ข้าวป่าจะมีคุณสมบัติในการหุงต้มไม่ดี แต่อาจมีลักษณะที่ดีอื่น ๆ แฝงอยู่ ดังนั้น จึงต้องมีการรักษาพันธุกรรมของข้าวป่ามิให้สูญหายควบคู่ไปด้วย โดยเก็บรวบรวมพันธุ์ ศึกษาลักษณะที่ดีเพื่อนำมาใช้ประโยชน์เป็นฐานพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวในอนาคต นอกจากนี้แล้วข้อมูลที่ได้ จะเป็นพื้นฐานในการป้องกันและเฝ้าระวังการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกและข้าวดัดแปลงพันธุกรรมที่อาจจะมีการพัฒนาขึ้นมาใช้ในอนาคตข้างหน้า

บทที่ 5

สรุป

การวิเคราะห์พันธุกรรมของข้าวป่า โดยใช้สัณฐานวิทยา และไมโครแซตเทลไลต์ ในการศึกษาครั้งนี้ สามารถสรุปผลได้ดังนี้

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดแตกต่างกัน ในลักษณะความยาวหาง สีเปลือกหุ้มเมล็ด สีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวกล้อง และจากเทคนิคไมโครแซตเทลไลต์ สามารถแบ่งกลุ่มข้าวป่า จำนวน 47 ประชากรได้เป็น 5 กลุ่ม มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.231 – 1.000 และมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.708

2. ข้าวป่าชั่วลูกจากแปลงนาของของเกษตรกร พบว่ามีความหลากหลาย ในลักษณะสีของแผ่นใบ สีของกาบใบ สีของลิ้นใบ สีของข้อต่อใบ สีของหูใบ ทรงกอ สีปล้อง หางข้าว สีของหางข้าว สียอดดอก สีเกสรตัวเมีย สีกลีบรองดอก และไม่มีความแตกต่างกันในลักษณะการมีหางข้าวและรูปร่างลิ้นใบ ส่วนลักษณะทางปริมาณพบว่ามีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ คือ ความยาวลิ้นใบ ความกว้างและความยาวแผ่นใบ ความกว้างและความยาวเมล็ด เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความยาวช่อดอก ความสูงต้น และความยาวหาง ส่วนจำนวนช่อดอก และความสูงต้น ไม่แตกต่างทางสถิติ จากการใช้ไมโครแซตเทลไลต์สามารถจัดกลุ่มได้ 3 กลุ่ม มีค่าดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.355 – 1.000 โดยมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.707 และพบแถบดีเอ็นเอหรืออัลลีลที่มีความจำเพาะกับข้าวป่าหางสีแดงที่เก็บจาก ต.เขาพังไกร ในคู่ไพรเมอร์ RM21 มีขนาด 400 คู่เบส

3. ข้าวปลูก (*O. sativa*) สามารถผสมข้ามกับข้าวป่า และติดเมล็ดได้เป็นปกติ มีอัตราการผสมติดเมล็ดระหว่าง 7.69 - 50% และลูกผสมมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 50 - 100% เมื่อทำการตรวจสอบพันธุกรรมของพ่อแม่พันธุ์และลูกผสม พบว่ามีการถ่ายเทยีนเกิดขึ้น

4. การถ่ายเทยีนระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในแปลงเกษตรกร สามารถพบได้ทั้ง 2 ทิศทาง คือ จากข้าวป่าไปสู่ข้าวปลูกประมาณ 39% และจากข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่าประมาณ 23%

เอกสารอ้างอิง

กัลยา ประพาน และ กรรณิการ์ ธีระวัฒนสุข. 2544. การใช้เทคโนโลยีชีวภาพในการเพิ่มประสิทธิภาพการปรับปรุงพันธุ์ยาง. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการยางพารา ครั้งที่1 ประจำปี 2544. สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร ณ โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่. วันที่ 20 - 22 กุมภาพันธ์ 2544. หน้า 38 - 54.

กาญจนา กล้าแข็ง. 2536. ข้าวป่าแหล่งปลูกต้านทานแมลงข้าวปลูก. ว. กสิกร 155: 89-93.

จรรยา มณีโชติ. 2547. ข้าวหาง ข้าวแดง ข้าวดีด ภัยคุกคามของชาวนา. ว. กสิกร 77: 6-19.

จรรยา มณีโชติ และ ศันสนีย์ จำจด. 2548. สถานการณ์การระบาดของข้าววัชพืชในประเทศไทย. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการเรื่อง ข้าววัชพืช ณ โรงแรมรามาการ์เด้นส์ กรุงเทพ. วันที่ 21 ตุลาคม 2548 หน้า 1-14.

ชูศักดิ์ จอมพุก และชัยฤกษ์ มณีพงษ์. 2539. เทคนิคการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก (*Oryza sativa*) กับข้าวป่า (*O. minuta*). ว. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์ 30: 1-7.

เทอดศักดิ์ อนากาศ. 2547. ความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรข้าวป่า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ธีรศักดิ์ สินธุเขียว. 2547. การผสมพันธุ์ข้ามชนิดระหว่างข้าวพันธุ์ปลูกและข้าวพันธุ์ป่า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

บวรพนธ์ ชลนิพัทธ์. 2544. การใช้แหล่งพันธุกรรมจากข้าวป่า (*Oryza officinalis* Wall ex Watt) ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวปลูก (*Oryza sativa* L.) ให้ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อนร่วมกับการชักนำโดยสารโคลชิซีน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประนอม มงคลบรรจง. 2543. การศึกษาลักษณะทางการเกษตรและระยะพักตัวของเมล็ดข้าวป่า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประพาส วีระแพทย์ และบุญหงษ์ จงคิด. 2533. ข้าวป่า, *O. rufipogon*, เชื้อพันธุ์พืชต้านทานไส้เดือนฝอยรากปมในข้าว. ว. วิชาการเกษตร 8: 90-94.

ปรีชา ประเทพา และวิสุทธิ์ ใบไม้. 2545. วิวัฒนาการทางพันธุกรรมจากข้าวป่ามาเป็นข้าวปลูก. ว.วิทยาศาสตร์สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ 56: 296-306.

รณชิต จินดาหลวง, จรรยา มณีโชติ, เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม และ ศันสนีย์ จำจด. 2548 การปนเปื้อนของข้าววัชพืชในเชื้อพันธุ์ข้าวของเกษตรกรจากจังหวัดกาญจนบุรี *ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการเรื่อง ข้าววัชพืช ณ โรงแรมรามาการ์เด้นส์ กรุงเทพ.วันที่ 21 ตุลาคม 2548 หน้า 49-56

วิไลลักษณ์ สมมุติ. 2548. การผสมข้ามชนิดระหว่างข้าวป่ากับข้าวปลูก. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการเรื่อง ข้าววัชพืช ณ โรงแรมรามาการ์เด้นส์ กรุงเทพ. วันที่ 21 ตุลาคม 2548 หน้า 15-24.

ศันสนีย์ จำจด, จรรยา มณีโชติ และเบญจวรรณ ฤกษ์เกษม. 2548. บทบาทการแลกเปลี่ยนยีนต่อการแพร่กระจายของข้าววัชพืช.*ใน* เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ “ข้าววัชพืช” ณ โรงแรมรามาการ์เด้นส์ กรุงเทพ. วันที่ 21 ตุลาคม 2548 หน้า 63-72.

สงกรานต์ จิตรากร, ฉวีวรรณ วุฒิญาโณ, ผกาวรรณ ภู่สุวรรณ และกัมปนาท มุขดี. 2538. การบันทึกลักษณะและวิเคราะห์ลักษณะข้าวป่าในประเทศไทย. ว.วิชาการเกษตร 13: 197-218.

สงกรานต์ จิตรากร. 2542. การอนุรักษ์ทรัพยากรข้าวป่าในสภาพถิ่นเดิม (*in situ* conservation of wild rice). จุลสารพันธุศาสตร์ 19: 1-3.

สงกรานต์ จิตรากร. 2543. ความหลากหลายทางชีวภาพของข้าวป่าในประเทศไทย.*ใน* เอกสารประกอบการบรรยายในงานสัมมนาวิชาการข้าวแห่งชาติ: การวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวด้วยเทคโนโลยีชีวภาพ ณ โรงแรมสีดารีสอร์ท จ.นครนายก 31 สิงหาคม–1 กันยายน 2543 หน้า 26-38.

สงกรานต์ จิตรากร. 2545. *ใน* ทรัพยากรพันธุกรรมข้าว. 40 ปี ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยข้าว ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก.

สถิติสินค้าส่งออก Department of Foreign Trade. ปริมาณการส่งออกข้าวของไทย ปี 2548-2551 (ม.ค.-พ.ย.) Available protocol :http://dft.moc.go.th/level4Frame.asp?sPage=the_files/$$8/level4/Yc46.htm&level4=21.

สมศักดิ์ ทองดีแท้, กรรณิการ์ พรหมพันธุ์ใจ, สุภาพร จันทร์บัวทอง, ลือชัย อารยะรังสฤษฎ์ และสมคิด ดิสถาพร. 2539. สิ่งเจือปนและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวของเกษตรกรในภาคต่าง ๆ . ว. วิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 4: 22-25.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2551. สถิติการปลูกข้าวทั่วราชอาณาจักร ปีเพาะปลูก 2542-2551. Available protocol : http://service.nso.go.th/nso/nsopublish/BaseStat/basestat.html

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

สุนทรีย์ เกตุคง. 2549. ข้าว วิถี...วัฒนธรรม...การค้า. ว. สถาบันอาหาร 79: 33-47.

สุรเดช ปาละวิสุทธิ์, วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ, ศิริพร กออินทร์ศักดิ์ และธานี ศรีวงศ์ชัย. 2548. การคัดเลือกดีเอ็นเอเครื่องหมายแบบ SSR ของยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph*3 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.

อภิญญา นันทะโสภา. 2548. ข้าววัชพืช ... มหันตภัยร้ายในนาข้าว. ว. เคหเกษตร 5: 239-244.

Akihama, T. and Watabe, T. 1970. Geographical distribution and ecotypic differentiation of wild rice in Thailand. Tonan Ajia Kenkyu (The Southeast Asian Studies) 8:337-346.

Akimoto, M., Shimamoto, Y. and Morishima, H. 1999. The extinction of genetic resources of Asian wild rice, *Oryza rufipogon* Griff.: A case study in Thailand. Genetic Resources and Crop Evolution 46: 419-425.

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

Barbier, P. 1989. Genetic variation and ecotypic differentiation in the wild rice species *Oryza rufipogon*. I. Population differentiation in life-history traits and isozymic loci. The Japanese Journal of Genetics 64: 259-271.

Becker, J. and Heun, M. 1995. Barley microsatellites: allele variation and mapping. Plant Molecular Biology 27: 835-845.

Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. and Davis, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics 32: 314-331.

Cao, Q., Lu, B.R., Xia, H., Rong, 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 (SSR) markers. Annals of Botany 98: 1241-1252.

Chase, M.R., Moller, C., Kessell, R. and Bawa, K.S. 1996. Distant gene flow in tropical trees. Nature 383: 398–399.

Chen, X., Temnykh, S., Xu, Y., Cho, Y.G. and McCouch, S.R. 1997. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics 95: 553-567.

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

Claros, M. G., Crespillo, R., 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.

Dellporta, S.L., Wood, J. and Hicks, J.B. 1983. A plant DNA minipreparation: Version II. Plant Molecular Biology Reporter 1: 19-21.

Degani, C., Rowland, 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, RAPDs and pedigree data. Euphytica 117: 1-12.

Gao, L.Z. and Hong, S.G. 2000. Allozyme variation and population genetic structure of common wild rice *Oryza rufipogon* Griff. in China. Theoretical and Applied Genetics 101: 494-502.

Ge, S., Sang, T., Lu, B. and Hong, D. 1999. Phylogeny of rice genomes with emphasis on origins of allotetraploid species. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 96: 14400-14405.

Glaszmann, J.C. 1987. Isozymes and classification of asian rice varieties. Theoretical and Applied Genetics 74: 21-30.

Harlan, J.R. and de Wet, J.M. 1971. Toward a rational classification of cultivated plants. TAXON 20: 509-517.

Innan, H., Terauchi, R. and Miyashita, N.T. 1997. Microsatellite polymorphism in natural populations of the wild plant *Arabidopsis thaliana*. Genetics 146:1441-1452.

IRRI. 1990. Program Report for 1989. P.O. Box933 Manila, Philippines.

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

Jamjod, S., Maneechote, C. and Rerkasem, B. 2003. Genetic diversity and gene flow in rice. "Thai Rice Germplasm: Using and Conserving Our National Heritage. Chiang Mai University, 29 July 2003.

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

Kiang, Y.T., Antonovies, J. and Wu, L. 1979. The extinction of wild rice. (*Oryza perennis formosana*) in Taiwan. Japanese Journal of Ecology 1: 1-9.

Kuroda, Y., Sato, Y., Bounphanousay, C., Kono, Y. and Tanaka, K. 2005. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa* L.) to wild *Oryza* species (*O. rufipogon* Griff. and *O.nivara* Sharma and Shastry) on the Vientiane plain of Laos. Euphytica 142: 75-83.

Koroda, Y., Rao, S., Bounphanousay, C., Kongphanh, K., Iwata, A., Tanaka, K. and Sato, Y. 2006. Diversity of wild and weedy rice in Laos *In* Rice in Laos (eds. J.M. Schiller, M.B. Chanphengxay, B. Linquist and S. Apparoa) pp. 11-20. Los Banos. International Rice Research Institute.

Langevin, S.A., Clay, K. and Grace, J.B. 1990. The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed red rice (*Oryza sativa* L.). Evolution 44: 1000-1008.

Liang, F., Dend, Q., Wang, Y., Xiong, Y., Jin, D., Li, J. and Wang, B. 2004. Molecular marker-assisted selection for yield-enhancing genes in the progeny of "9311x *O.rofipogon*" using SSR. Euphytica 139: 159-164.

Linghe, Z., Taek-Ryoum, K., Xuan, L., Clyde, W., Catherine, M.G. and Glenn, B.G. 2004. Genetic diversity analyzed by microsaellite markers among rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different adaptations to saline soils. Plant Science 166: 1275-1285.

Lu, B.R. 2003. Transgene containment by molecular means – is it possible and cost effective ?. Environmental Biosafety Research 2: 3-8.

Lu, B.R., Song, Z.P. and Chen, J.K. 2003. Can transgenic rice cause ecological risks through transgene escape? Progress in Natural Science 13: 17-24.

Lu, B.R and Snow, A.A. 2005. Gene flow from genetically modified rice and its environmental consequences. BioScience 55: 669-677.

McCouch, S.R., Chen, X., Panaud, O., Temnykh, S., Xu, Y., Cho, Y.G., Huang, N., Ishii, T. and Blair, M. 1997. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. Plant Molecular Biology 35: 89-99.

Ming-Yu, Z., Yun-Yue, W., You-Yong, Z. and Bao-Rong, L. 2004. Estimating genetic diversity of rice landraces from Yunnan by SSR assay and its implication for conservation. Acta Botanica Sinica 46: 1458-1467.

Morishima H. and Gadrinab L.U. 1987. Are the Asian common wild rice differentiated into the *indica* and *japonica* types. *In* Crop Exploration and Utilization of Genetic Resources. (ed. S. C. Hxieh) pp 11-20. Changhua. Taiwan Provincial Taichug District Agricultural Improvement Station.

Morishima, H., Sano, Y and Oka, H.I. 1992. Evolutionary studies in cultivated rice and its wild relative. Oxford Surveys in Evolutionary Biology 8: 135-184.

Nezu, M., Katayama, T.C. and Kihara, H. 1960. Genetic study of Oryza. I. Crossability and chromosomal affinity among 17 species. Seiken Ziho 11: 1-11.

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.

Nilsson, L.A., Rabakonandrianina, E. and Pettersson, B. 1992. Exact tracking of pollen transfer and mating in plants. Nature 360: 666-668.

Niruntrayakul, S. 2008. Gene flow between cultivated and wild rice. Ph.D. Dissertation. University of Chiang Mai.

Oka, H.I. and Chang, W.T. 1959. The impact of cultivation on populations of wild rice, *Oryza sativa* f. *spontanea*. Evolution 13: 105-117.

Oka, H.I. and Chang, W.T. 1961. Hybrid swarms between wild and cultivated rice species, *Oryza perrennis* and *O. sativa.* Evolution 15: 418-430.

Oka, H.I. 1988. Origin of cultivated rice. Japan Scientific Societies Press. National Institute of Genetics, Japan.

Power, L.E. and McSorley, R. 2000. Ecological Principles of Agriculture. Delmar: Thomson Learning.

Pratheppha, P. 2009. Seed morphological traits and genotypic diversity of weedy rice (*Oryza sativa* f. *spontanea*) populations found in Thai Hom Mali rice fields of Northeastern Thailand. Weed Biology and Management 9: 1-9.

Qian, W., Ge, S. and Hong, D.Y. 2006. Genetic diversity in accessions of wild rice *Oryza granulate* from South and Southeast Asia. Genetic Resources and Crop Evolution 53: 197-204.

Roa, A.C., Chavarriaga-Aguirre, P., Duque, M.C., Maya, M.M., Bonierbale, M.W., Iglesias, C. and Tohme, J. 2000. Cross-species amplification of cassava (*Manihot esculenta*) (Euphorbiaceae) microsatellites: allelic polymorphism and degree of relationship. American Journal of Botany 87: 1647-1655.

Robert, E.H., Craufurd, R.Q. and Le Cochet, F. 1961. Estimation of percentage natural cross-pollination : Experiments on Rice. Nature 190: 1084-1085.

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

Saiki, R.K., Gekfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higucchi, R., Horn, J.T., Mullis, K.B. and Erlich, H.A. 1987. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a themostable DNA polymerase. Science 239: 487-491.

Sarla, N., Bobba, S. and Siddiq, E.A. 2003. ISSR and SSR markers based on AG and GA repeats delineate geographically diverse *Oryza nivara* accessions and reveal rare alleles. Current Sciences 84: 683 - 690.

Schaal, B. 2003. Molecular studies of gene flow. "Thai Rice Germplasm: Using and Conserving Our National Heritage. Chiang Mai University, 29 July 2003.

Shishido, R., Kikuchi, M., Nomura, K. and Ikehashi. 2006. Evaluation of genetic diversity of wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in Myanmar using simple sequence repeats (SSRs). Genetic Resources and Crop Evolution 53: 179-186.

Snow, A.A. and Parker, P.G. 1998. Molecular techniques in ecology. Ecology 79: 358-425.

Song, Z.P., Xu, X., Wang, B., Chen, J.K. and Lu, B.R. 2003a. Genetic diversity in the northernmost *Oryza rufipogon* populations estimated by SSR markers. Theoretical and Applied Genetics 107: 1492-1499.

Song, Z.P., Lu, B.R. Zhu, Y.G. and Chen, J.K. 2003b. Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions. New Phytologist 157: 657-665.

Song, Z.P., Lu, B.R., Wang, B. and Chen, J.K. 2004a. Fitness estimation through performance comparison of F_1 hybrids with their parental species *Oryza rufipogon* and *O. sativa*. Annals of Botany 93: 311-316.

Song, Z.P., Lu, B.R. and Chen, J.K. 2004b. Pollen flow of cultivated rice measured under experimental conditions. Biodiversity and Conservation 13: 579-590.

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

Sitch, L.A. 1990. Incompatibility barriers operating in crosses of *Oryza sativa* with related species and genera, pp. 77-93. *In* J.P. Gustafson (ed.). Gene manipulation in crop improvement. Plenum Press, New York.

Suh, H.S., Back, J.H. and Ha, W.G. 1997. Weedy rice occurrence and position in transplanted and direct-seeded farmer's fields. Korean Journal of Crop Science 42: 352–356.

Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. Nucleic Acids Research 17: 6463-6471.

Thomas, M.R. and Scott, N.S. 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analysed as sequence-tagged sites (STSs). Theoretical and Applied Genetics 86: 986-990.

Vaughan, D.A. 1994. The wild relative of rice: a genetic resources guide book. Los Banos: International Rice Research Institute.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Fritjers, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23: 4407-4414.

Welsh, J. and McClelland**,** M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Research 18: 7213-7218.

Wu, K.S. and Tanksley, S.D. 1993. Genetic and physical mapping of telomeres and macrosatellites of rice. Plant Molecular Biology 22: 861-872.

Yu, G.Q., Shi, C.Q. and Ge, S. 2005. Genetic diversity and population differentiation of Liaoning weedy rice detected by RAPD and SSR marker. Biochemical Genetics 43: 261-270.

Zhou. H. F., Xie, Z. W. and Ge, S. 2003. Microsatellite analysis of genetic diversity and population genetic structure of wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in China. Theoretical and Applied Genetics 107: 332-339.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

แบบบันทึกลักษณะประจำพันธุ์ข้าว (สำเริง, 2550)

ระยะแตกกอเต็มที่

1. สีของแผ่นใบ : 1 = เขียวจาง 2 = เขียว 3 = เขียวเข้ม 4 = ม่วงที่ปลาย 5 = ม่วงที่ริม 6 = ม่วงผสมเขียว 7 = ม่วงทั้งใบ x = สีอื่นๆ
2. สีของกาบใบ : 1 = เขียว 2 = เขียวเส้นม่วง 3 = ม่วงอ่อน 4 = ม่วง x = สีอื่นๆ
3. สีของลิ้นใบ : 1 = ขาว 2 = เส้นม่วง 3 = ม่วง x = สีอื่นๆ
4. รูปร่างของลิ้นใบ : 1 = แหลม 2 = มี 2 ยอด 3 = ไม่แหลม
5. ความยาวของลิ้นใบ (มม.) N = 5
6. สีของหูใบ: 1 = เขียว 2 = เส้นม่วง 3 = ม่วง x = สีอื่นๆ
7. สีของข้อต่อใบ : 1 = เขียวอ่อน 2 = เขียว 3 = สีอื่นๆ

ระยะออกรวง 50%

8. เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (กึ่งกลางลำต้น) (มม.) N = 3
9. สีของปล้อง : 1 = เขียว 2 = เหลืองอ่อน 3 = เขียวมีเส้นม่วง 4 = ม่วง x = สีอื่นๆ
10. ทรงกอ : 1 = กอตั้ง 3 = กอแบะ 5 = กอแผ่ 7 = กอแผ่มาก 9 = แผ่เป็นแนวนอน
11. สีของยอดเกสรตัวเมีย : 1 = ขาว 2 = เขียวอ่อน 3 = เหลือง 4 = ม่วงอ่อน 5 = ม่วงดำ x = สีอื่นๆ
12. สีของยอดดอก : 1 = ขาว 2 = ฟาง 3 = น้ำตาลหรือเหลืองเข้ม 4 = แดง 5 = ชมพู 6 = ม่วง 7 = ดำ x = สีอื่นๆ
13. สีกลีบรองดอก : 1 = ฟาง 2 = เหลือง 3 = แดง 4 = ม่วงดำ 5 = น้ำตาล x = สีอื่นๆ
14. หางข้าว : 0 = ไม่มี 1 = บางเมล็ดหางสั้น (< 1 ซม.) 5 = สั้น (ทุกเมล็ด) 7 = บางเมล็ดหางยาว (> 1 ซม.) 9 = ทุกเมล็ดหางยาว
15. สีของหางข้าว : 1 = ฟาง 2 = เหลือง 3 = น้ำตาล 4 = แดง 5 = ม่วง 6 = ดำ x = สีอื่นๆ

ระยะออกรวงแล้ว 20 – 25 วัน

16. ความยาวของลำต้น (ซม.) N = 5

17. ความยาวของแผ่นใบ (ซม.) N = 5

18. ความกว้างของแผ่นใบ (ซม.) N = 5

19. จำนวนรวง N = 5

ระยะเก็บเกี่ยว

20. ความยาวของรวง (ซม.) N = 5

ระยะหลังเก็บเกี่ยว

21. ความยาวของเมล็ดข้าวเปลือก (มม.) N = 10

22. ความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือก (ซม.) N = 5

23. ความยาวของหางเมล็ดข้าวเปลือก (ซม.) N = 5

สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอจากพืช

1) CTAB บัฟเฟอร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

PVP-40	1.0	กรัม
NaCl	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% 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 แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

ก่อนนำมาใช้

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

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวทิวาพร ทินกร

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5010620055

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2549

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

ทุนสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักงานพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ตีพิมพ์ในวารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 28 ฉบับที่ 2 (พฤษภาคม – สิงหาคม 2553) เรื่อง ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวป่าและข้าววัชพืชในภาคใต้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์