ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรข้าวป่า

ผู้เขียน

นายเทอดศักดิ์ อนากาศ

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พืชไร่

กณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. คร. ศันสนีย์ จำจด

ประธานกรรมการ

ศ.คร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม

กรรมการ

คร. จรรยา มณีโชติ

กรรมการ

บทกัดยอ

ข้าวป่า (Oryza rufipogon Griff:) เป็นข้าวที่เป็นบรรพบุรุษของข้าวที่ใกล้เคียงกับข้าวปลูก (O. sativa L.) มากที่สุด มักพบขึ้นเองตามธรรมชาติ จะพบเห็นในลำคลองข้างทาง ในแอ่งน้ำใกล้ กับแปลงปลูกข้าวหรือในแปลงปลูก การทดลองนี้ศึกษาตัวอย่างรวงข้าววัชพืชที่มีลักษณะเด่นของข้าวป่าที่มีลักษณะแตกต่างกันที่พบในแปลงปลูกข้าวของเกษตรกรในจังหวัดกาญจนบุรี โดยแยก เป็นข้าววัชพืชที่มีลักษณะข้าวป่า (WS) 14 ตัวอย่าง ข้าวแดง (RS) จำนวน 4 ตัวอย่าง โดยจะประเมิน ลักษณะและความหลากหลายทางพันธุกรรมของตัวอย่างข้าวและปลูกเปรียบเทียบกับตัวอย่างข้าว ป่าจากธนาการพันธุ์ข้าว (No. 5503) ตัวอย่างข้าวป่าตามธรรมชาติเก็บจากจังหวัดลำพูน (LP) และเชียงใหม่ (CM) และพันธุ์ข้าวปลูกสุพรรณบุรี 1 (SPR1) ทดลองที่ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2544 ถึง เดือนกรกฎาคม 2546 โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง โดยการทดลองแรกเป็นการเปรียบเทียบความหลากหลายภายในตัวอย่างและระหว่าง ตัวอย่าง ส่วนการทดลองที่ 2 เป็นการทดสอบรุ่นลูก

จากการทดลองที่ 1 พบว่า ข้าวป่าจากธนาคารพันธุ์ข้าว (No. 5503) ลักษณะทางคุณภาพไม่ มีความหลากหลายในตัวอย่าง ตัวอย่างทุกต้นมีลักษณะเหมือนกันหมดแต่มีความหลากหลายใน ลักษณะทางปริมาณความสูงต้นและอายุวันออกดอก ส่วนข้าวป่าจากลำพูน (LP) และเชียงใหม่ (CM) พบความหลากหลายภายในตัวอย่าง โดยในลักษณะคุณภาพพบในลักษณะสีเกสรตัวเมีย (H' เท่ากับ 0.3145 และ 0.6931 ตามลำดับ) สียอดดอก (H' เท่ากับ 0.3145 และ 0.6931 ตามลำดับ) สีหาง (H' เท่ากับ 0.6365 และ 0.6931 ตามลำดับ) และในลักษณะทางปริมาณ คือ อายุออกดอก ข้าววัชพืช ที่มีลักษณะข้าวป่า (WS) พบความหลากหลายระหว่างตัวอย่างโดยพบว่าความยาวหางเมล็ด สี

เปลือกหุ้มเมล็ด ความสูงถึงคอรวงและอายุวันออกดอกในบางตัวอย่างจะแตกต่างกัน ส่วนทรงกอ สี แผ่นใบ สีกาบใบ สีเขี้ยวใบ สีลิ้นใบ รูปร่างลิ้นใบ สีข้อ สีปล้อง สีข้อต่อ สีเกสรตัวเมีย การ โผล่ของ เกสรตัวเมีย สียอดดอกและสีเยื่อหุ้มเมล็ดจะไม่แตกต่างกันในบางตัวอย่าง สำหรับข้าวแดง (RS) พบ ความหลากหลายระหว่างตัวอย่าง โดยพบในลักษณะสีเปลือกหุ้มเมล็ด ความสูงถึงคอรวงและอายุ วันออกดอกส่วนลักษณะอื่นๆ จะไม่แตกต่างกัน

ส่วนการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุลอาศัยการวิเคราะห์ลาย พิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD และ Microsattellite โดยใช้ไพรเมอร์ จำนวน 6 ตัว และใช้ข้าวป่าสภาพธรรมชาติเก็บจากจังหวัดกาญจนบุรี (106 และ 107) ข้าวพันธุ์ปลูก สุพรรณบุรี (SPRI) ชัยนาท1 (CNTI) เป็นตัวเปรียบเทียบ พบความหลากหลายทางพันธุกรรมใน ตัวอย่างข้าวที่นำมาศึกษาโดยพบแถบดีเอ็นเอที่เป็น polymorphic band ทั้งหมด 90 แถบ และเป็น monomorphic band เพียง 2 แถบ เมื่อคำนวณค่าระยะห่างระหว่างพันธุกรรม (genetic distance) และ นำค่าระยะห่างระหว่างพันธุกรรมที่ใค้มาจัดกลุ่ม โดยวิธี UPGMA พบว่าข้าวทั้ง 4 ชนิดสามารถแยก กลุ่มออกจากกันได้อย่างชัดเจนที่ระยะห่างระหว่างพันธุกรรมเท่ากับ 0.08 โดยจะพบว่าข้าว RS และ WS มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมต่อกันมากที่สุดและทั้ง 2 ชนิดนี้ มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมต่อ ข้าวพันธุ์ปลูก SPR1 และ CNT1 มากกว่าข้าวพันธุ์ป่า ซึ่งสอดคล้องกับการจำแนกกลุ่มโดยวิธี Principle Component Analysis ของลักษณะทางคุณภาพทั้ง 17 ลักษณะ

สำหรับการทดลองที่ 2 เป็นการทดสอบการกระจายตัวของตัวอย่างข้าว WS และ RS โดย ใช้เมล็ดจากฤดูปลูกแรกนำมาปลูกในแปลงปลูกแบบรวงต่อแลว พบว่าลักษณะทางกุณภาพหรือ สัณฐานวิทยาของข้าวในฤดูปลูก 2 นี้จะมีลักษณะที่เหมือนกับฤดูปลูก 1 ทุกประการแสดงว่าไม่มี การกระจายตัวในลักษณะทางกุณภาพ ดั้นพ่อแม่ที่คัดเลือกมาปลูกทดสอบมีพันธุกรรมของลักษณะ ดังกล่าวคงตัว (homozygous genotype) แต่พบความแตกต่างระหว่างแลว แสคงว่าในตัวอย่างที่ นำมาศึกษาน่าจะประกอบด้วยชนิดที่มีพันธุกรรมในลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นแบบพันธุ์แท้ หลายชนิดรวมกันอยู่ภายในตัวอย่าง สำหรับลักษณะทางปริมาณทุกลักษณะที่วัด พบความแตกต่าง ระหว่างแลวและพบการกระจายตัวภายในแลวแสคงว่าในตัวอย่างที่ศึกษาประกอบด้วยพันธุกรรมที่ ไม่คงตัว (heterozygous genotype) หลายชนิดและอาจมีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย

จากการศึกษาพบความแตกต่างภายในตัวอย่างและระหว่างตัวอย่างในลักษณะที่ศึกษาโดย ข้าวป่าจากสภาพธรรมชาติที่มีความหลากหลายภายในตัวอย่างสูงกว่าตัวอย่างชนิดอื่น ได้แก่ ตัวอย่างจากเชียงใหม่ (CM) ข้าววัชพืชที่มีลักษณะข้าวป่า (WS) มีความหลากหลายระหว่างตัวอย่าง สูงกว่าข้าวชนิดอื่น (ข้าวป่าและข้าวแดง) ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบในการศึกษาครั้ง นี้อาจเป็นแหล่งของความหลากหลายที่สามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว และทำให้ สามารถเข้าใจถึงความหลากหลายของข้าววัชพืชซึ่งสามารถที่จะนำไปเป็นแนวทางในการวาง แผนการควบคุมกำจัดวัชพืชได้



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright[©] by Chiang Mai University All rights reserved

Thesis Title

Genetic Diversity in Wild Rice Populations

Author

Mr. Therdsak Anakat

Degree

Master of Science (Agriculture) Agronomy

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Sansanee Jamjod

Chairperson

Prof. Dr. Benjavan Rerkasem

Member

Dr. Chanya Maneechote

Member

Abstract

Wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) is the closest ancestor of *Oryza sativa* L. They are usually found in deep swamps, in ditches near rice fields sometime also in the rice fields. The objectives of this study were to determine genetic diversity of wild rice and weedy rice with wild characteristics found in the rice field. Eighteen weedy rice samples with different panicle characters were collected from a farmer's field in Kanchanaburi province. The samples were 14 panicles of weedy rice with awn (WS) and four panicles of weedy rice without awn or red rice (RS). They were compared with wild rice from the gene bank (No. 5503), wild rice found in natural habitats from Lamphun (LP) and Chiang Mai provinces (CM) and cultivated rice (SPR1). Two experiments were conducted at Agronomy department, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University from August 2001 to July 2003. The first experiment was set out to study genetic diversity within and between samples using morphological characteristics and molecular markers. Samples were harvested separately and progeny tested in the second experiment.

In the first experiment, no variation in morphological characters was found within sample of the wild rice from gene bank (No. 5503) but there was variation in culm length and days to heading. Wild rice from Lamphun and Chiang Mai were found to vary in days to heading, color of stigma (H'=0.3145 and 0.6931), apiculus (H'=0.3145 and 0.6931) and awn (H'=0.6365 and 0.6931). Weedy rice with awn (WS) were found to vary between samples in awn length, hull color, culm length and days to heading but no variation within sample in plant type (culm angle),

ligule shape, stigma exsertion, color of leaf blade, basal leaf sheath, auricle, ligule, node, internode, collar, stigma, apiculus and pericarp. Red rice (RS) expressed variation between samples in hull color, culm length and days to heading but no variation in other characters was found.

Molecular level analysis was carried out using High Annealing Temperature-Random Amplified Polymorphic DNA (HAT-RAPD) and microsatellite markers with 6 primers, 4 decamers and 2 microsatellite primer pairs to evaluate genetic diversity within each sample. High genetic variation within samples at the molecular level was found. Of 92 DNA bands, 90 were polymorphic and only two were monomorphic. Cluster analysis using genetic distance based on UPGMA method distinctly separated samples in to four groups at genetic distance of 0.08 units. The weedy rice WS and RS showed the highest genetic similarity and were more closely related to cultivated rice (SPR1 and CNT1) than wild rice. This was consistent with the classification using Principle Component Analysis method of 17 qualitative characters.

The second experiment was conducted to study the segregation of WS and RS samples using seeds from the first experiment to grow by panicle to row. It was found that morphological characteristics of each sample were similar to all of the characters which were found in the first experiment that indicated no segregation and the selected parent, use in this test were homozygous genotype. However, there was variation between the rows, indicating that the samples were genetically heterogeneous. For quantitative characters, difference between row and segregation within row were found, indicates that the parent population consisted of heterozygous genotypes and the effect of environmental variation.

The weedy rice with awn and red rice studied were found to be more closely related to cultivated rice than to wild rice. This suggests that crossing may have occurred between wild and cultivated rice. Genetic variation found in this study may be useful as a source of genetic variation in rice breeding program. Understanding diversity of weedy rice will be useful in planning for weed management strategies.