ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองพันธุ์เหมยนอง

ผู้เขียน นางสาวพจนีย์ สุภามงคล

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พืชไร่

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. ดร. ศันสนีย์ จำจด ประธานกรรมการ
ศ. ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม กรรมการ

บทคัดย่อ

ข้าวพื้นเมืองมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงและเป็นแหล่งยีนที่ต้านทานโรคและแมลงที่สำคัญ ข้าวเหมยนองเป็นข้าวเหนียวพื้นเมืองที่สำคัญของประเทศไทย นิยมปลูกกันมากทางภาคเหนือของประเทศโดยเฉพาะแหล่งที่มีปัญหาการระบาดของแมลงบั่ว (rice gall midge) ซึ่งเป็นปัญหาใหญ่ในการเพาะปลูกข้าวของเกษตรกร การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในและระหว่างประชากรของข้าวพื้นเมืองพันธุ์เหมยนองที่มาจากท้องถิ่นเดียวกันและต่างท้องถิ่น และเพื่อประเมินผลผลิตและความต้านทานแมลงบั่วของประชากรข้าวพื้นเมืองพันธุ์เหมยนองในพื้นที่ต่าง ๆ แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง

การทดลองที่ 1 ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมทั้งภายในและระหว่างประชากรข้าวเหมยนองที่ปลูกและคัดเลือกโดยเกษตรกรจาก 8 ท้องที่ ได้แก่ อ.แม่วาง อ.แม่ริม อ.เชียงดาว อ.ไชยปราการ อ.แม่แจ่ม จ. เชียงใหม่ อ.ปาย จ.แม่ฮ่องสอน และ อ.บ่อเกลือ จ.น่าน จำนวน 82 ตัวอย่างและข้าวพันธุ์เหมยนอง 62M ซึ่งเป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์ (pure line) ของทางราชการ 1 ตัวอย่างเป็นพันธุ์เปรียบเทียบ ทดลองที่ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ แบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย ในการทดลองที่ 1.1 ประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณภาพของเมล็ดที่ได้จากเกษตรกร โดยสุ่มเมล็ดของเกษตรกรตัวอย่างละ 100 เมล็ด นำมาวัดขนาดและประเภทของเมล็ด บันทึก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สีเปลือก และแกะเปลือกเพื่อบันทึกสีเยื่อหุ้มเมล็ด จากนั้นนำเมล็ดข้าวไปสีและขัดขาว เพื่อประเมินการปนของข้าวเจ้า และวัดความอ่อนนุ่มของข้าว การทดลองที่ 1.2 ประเมินความหลากหลายในรุ่นลูก (progeny test) โดยนำเมล็ดพันธุ์แต่ละตัวอย่างปลูกในกระถาง รวม 20 ต้นต่อตัวอย่าง เมื่อต้นข้าวเจริญถึงระยะแตกกอเก็บตัวอย่างใบเพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับโมเลกุล บันทึกลักษณะทางคุณภาพจำนวน 14 ลักษณะในระยะออกดอกและเก็บเกี่ยว และลักษณะทางปริมาณ 2 ลักษณะ คืออายุวันออกดอกและความสูงต้น จากนั้นสุ่มตัวอย่างใบแห้งที่ถูกเก็บไว้ในซิลิกาเจล ท้องที่ละ 1-3 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 18 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 10 ต้น นำวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค microsatellite markers ใช้ microsatellite locus 5 ตำแหน่ง ค่าความหลากหลาย Shannon-Weaver index (*H'*) ใช้ในการประเมินความหลากหลายของลักษณะสัณฐานวิทยา ส่วนการประเมินในระดับโมเลกุลนำข้อมูลการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวอย่าง และสร้าง dendrogram โดยวิธีการ UPGMA

จากการทดลองพบความหลากหลายทางพันธุกรรมทั้งภายในและระหว่างประชากร โดยการทดลองที่ 1 .1 พบความหลากหลายในลักษณะรูปร่างเมล็ด (0 - 15%) สีเยื่อหุ้มเมล็ด (0 - 30%) ชนิดข้าวสาร (0 - 60%) ซึ่งสาเหตุความหลากหลายนั้นมีทั้งความหลากหลายภายในพันธุ์และการปนของเมล็ดพันธุ์ของเกษตรกร โดยเฉพาะเมล็ดเรียวและข้าวเจ้า จากนั้นนำเมล็ดมาปลูกทดสอบในรุ่นลูก การทดลองที่ 1.2 พบความหลากหลายทั้งภายในและระหว่างประชากรตั้งแต่ลักษณะทางสัณฐานวิทยาไปจนถึงระดับโมเลกุล โดยความหลากหลายระหว่างประชากรจากลักษณะสัณฐานวิทยาทั้ง 14 ลักษณะนำมาจัดกลุ่ม พบว่าสามารถจัดกลุ่มของชนิดลักษณะได้ทั้งหมด 53 ชนิด ซึ่งแต่ละประชากรข้าวเหมยนองพื้นเมืองพบตั้งแต่ 2-31 ชนิด ในระดับโมเลกุลพบว่ามีค่าความหลากหลายระหว่างประชากร (G_{ST}) เท่ากับ 0.227 โดยมีความแตกต่างทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นเกิดจากความแตกต่างระหว่างต้นภายในประชากร (77.3%) ส่วนความหลากหลายภายในประชากร พบว่าลักษณะสัณฐานวิทยาทั้ง 14 ลักษณะมีความแตกต่างทั้งหมด 10 ลักษณะ และมีค่าความหลากหลาย Shannon-Weaver index (*H'*) รวมของแต่ละประชากรตั้งแต่ 0.1192 - 4.1569 ในระดับโมเลกุลพบความหลากหลายจากการจำแนก polymorphic alleles ได้ทั้งหมด 26 alleles คิดเป็น 5.2 alleles/ locus และค่า heterozygosity (h) เท่ากับ 0.112

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 ประเมินผลผลิตและความต้านทานแมลงบั่วของประชากรข้าวพื้นเมืองพันธุ์เหมยนอง โดยใช้เชื้อพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในแต่ละท้องที่ 7 ประชากร เหมยนอง 62M ที่เป็นพันธุ์บริสุทธิ์ 1 ประชากร และ ข้าวพันธุ์ปรับปรุง 2 ประชากร (กข 6 และสันป่าตอง 1) เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองย่อย การทดลองที่ 2.1 ปลูกทดสอบในปี 2547 โดยปลูกใน 3 พื้นที่ คือ บ้านแม่มูต อ.แม่วาง บ้านนาเรือนและบ้านแม่มิงค์ อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่ การทดลองที่ 2.2 ปลูกทดสอบในปี 2548 โดยปลูก 5 พื้นที่ คือ บ้านแม่มูต อ.แม่วาง บ้านเมืองคอง อ.เชียงดาว บ้านนาเรือน และบ้านแม่มิงค์ อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่ และชุมชนสมัครสรรพากร อ.แม่สอด จ.ตาก วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) ปลูกจำนวน 2 ซ้ำต่อตัวอย่าง จากการทดลองที่ 2.1 พบว่าข้าวเหมยนองในแต่ละท้องที่จะต้านทานแมลงบั่วได้ดีและให้ผลผลิตสูง การเกิดหลอดบั่วเมื่อนำไปหาเปอร์เซ็นต์หลอดบั่วพบว่า ข้าวเหมยนองที่ได้จากแต่ละท้องที่มีค่าน้อยกว่าเหมยนองพันธุ์บริสุทธิ์และข้าวพันธุ์ปรับปรุง โดยข้าวเหมยนองจากสะเมิงและแม่มูต ไม่พบการเข้าทำลายของแมลงบั่ว (%หลอดบั่วเท่ากับศูนย์) และข้าวพันธุ์เหมยนองพื้นเมืองจะให้ผลผลิตสูงกว่าข้าวพันธุ์ปรับปรุงโดยข้าวเหมยนองจากสะเมิงให้ผลผลิตสูงสุด (1,026 กิโลกรัมต่อไร่) และการทดลองที่ 2.2 พบว่าข้าวเหมยนองมีเปอร์เซ็นต์หลอดบั่วน้อยกว่าข้าวพันธุ์ปรับปรุง (สันป่าตอง 1 และกข 6) โดยข้าวเหมยนองจากสะเมิงมีเปอร์เซ็นต์หลอดบั่วน้อยที่สุด (2%) ทั้งระยะ 80 และ 60 วันหลังปักดำ ส่วนผลผลิตพบว่าเหมยนองพื้นเมืองให้ผลผลิตสูงกว่าข้าวเหมยนองพันธุ์บริสุทธิ์และข้าวพันธุ์ปรับปรุง โดยข้าวเหมยนองจากแม่มูต1 และ 3 ให้ผลผลิตสูงที่สุด (1,013 กิโลกรัมต่อไร่)

จากการศึกษานี้สรุปได้ว่าการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองพันธุ์เหมยนองมีความหลากหลายทั้งภายในและระหว่างประชากร เมื่อทดสอบข้าวเหมยนองโดยการปลูกในสภาพที่แมลงบั่วเป็นตัวจำกัดผลผลิต ข้าวพื้นเมืองพันธุ์เหมยนองที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมีความต้านทางแมลงบั่วได้ดีกว่าและให้ผลผลิตสูงกว่าข้าวพันธุ์ปรับปรุงที่เป็นพันธุ์แท้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Genetic Diversity of Local Rice *cv.* Muey Nawng

Author Miss Pojjanee Supamongkol

Degree Master of Science (Agriculture) Agronomy

Thesis Advisory Committee Assoc. Prof. Dr. Sansanee Jamjod Chairperson

Prof. Dr. Benjavan Rerkasem Member

Abstract

Local rice (*Oryza sativa* L.) generally carry high genetic variation and it is important as genetic resources for disease and insect resistance gene. Muey Nawng (MN) is local glutinous rice that is the most popular in northern Thailand where there is a serious problem with insect pest, rice gall midge (*Orseolia oryzae* Wood-Mason). The objectives of this study were to determine genetic diversity of MN populations and to evaluate yield and resistance to rice gall midge in locations where the rice gall midge damages occur regularly. Two experiments were conducted in this study.

The first experiment was to determine genetic diversity within and among populations of MN collected from different regions in the northern Thailand. Eighty-two seed lots were collected from farmers in Mae Wang, Mae Rim, Chiang Dao, Chaipragarn of Chiang Mai Province, Pai of Mae Hong Son Province and Bor Glua of Nan. The seed lots were evaluated at Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. In experiment 1.1, morphological characteristics in farmers' seed lot were determined. For each seed lot, determination was made on 100 seed size, shape, hull color, pericarp color, iodine staining and gelatination temperature (with alkali spreading test) of the endosperm (milled rice). In experiment 1.2, progeny testing was conducted by sowing 83

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

individual seed lots in pots, 20 plants per seed lot. At tillering, leaves were collected for DNA analysis. Leaf samples were collected randomly from 10 individual plants per seed lot, 18 seed lots for DNA analysis using 5 microsatellite markers. Plants were measured for 14 morphological characters at flowering and maturity. Morphological variation within population was assessed using Shannon-Weaver index (*H'*). Molecular diversity was determined and dendrogram was constructed by UPGMA method.

Morphological variation between and within populations were found in local MN populations. In the experiment 1.1, the variation was found within and among seed lots, there were seed shape (0-15%), pericarp color (0-30%), and non-glutinous rice (0–60%). These variations occurred due to diversity within the variety and contamination in farmers' seed lot, especially slender seed shape and non-glutinous rice. Progeny testing in experiment 1.2 showed variation within and between populations both in morphological characters and molecular level. Fourteen morphological variation characters classified populations into 53 types. Each local MN contained 2 to 31 types within population. For molecular analysis, genetic differentiation among populations (G_{ST}) was 0.227 indicated that three quarters of total genetic differentiation (77.3%) was genetic differentiation within population and only one quarter was distributed among populations. Considering genetic diversity within local MN populations, ten morphological characters showed high variation with Shannon-Weaver index (*H'*) were in rage of 0.1192 to 4.1569. Twenty-six polymorphic alleles (5.2 alleles per locus) and heterozygosity (h) = 0.112 were detected by DNA analysis.

The second experiment was to determine grain yield and resistance ability of local MN to rice gall midge in farmers' field. Seven populations of local MN collected from different location. Three improved varieties, Muey Nawng 62M (rice gall midge resistant variety selected by Sanpatong Rice Research Institute), RD6 and Sanpatong1 (rice gall midge susceptible variety) were included as standard checks. Experiment 2.1 was field experiment in 2004, ten rice populations were grown in three villages 1) Ban Maemoot, Mae Wang, 2) Ban Nareun and 3) Ban Maeming, Mae Chaem, Chiang Mai province. Experiment 2.2 was field experiment in 2005, ten rice populations were grown

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

in five villages 1) Ban Maemoot, Mae Wang, 2) Ban Nareun and 3) Ban Maeming, Mae Chaem 4) Ban Meungkong, Chiang Dao, Chiang Mai province and 5) Samaksanpakorn, Mae Sod, Tak province. The experiments were in Randomized Complete Block (RCB).

In the experiment 2.1, all 7 local MN populations produced less silver shoot, indicator of rice gall midge infection, and had higher grain yield than check varieties. Local MN from Samerng and Maemoot showed no percentage of silver shoots per plant and the highest yield was found in MN from Samerng (1,026 kg/rai). The experiment 2.2 showed that MN populations produced less silver shoot and produced higher yield than Sanpatong1 and RD 6. Local MN from Samerng showed the least percentage of silver shoots per plant. Local MN from Maemoot #1 and 3 produced the highest yield (1,013 kg/rai)

These studies were concluded that high genetic diversity between and within populations existed in local MN populations collected from 8 locations. In addition, locally, genetically diverse MN populations had lower level of gall midge infestation and higher yield than purified, improved varieties when grown in areas where rice gall midge is a limiting factor.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved