Thesis Title Genetic Diversity of Local Rice Varieties in Luang Prabang, Lao PDR

Author Mr. Khamla Phanthaboun

Degree Master of Science (Agriculture) Agronomy

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

Prof. Dr. Benjavan Rerkasem Member

ABSTRACT

Local rice varieties are maintained by farmers for specific need and condition of individual farming systems. They make up an important genetic resource for useful traits such as resistance to pests, diseases and abiotic stresses, so providing farmers with alternatives in the areas where modern varieties are not adapted. The objectives of this study are to examine local rice germplasm grown in selected area in Luang Prabang and to evaluate genetic diversity of the local rice varieties, and to examine how farmers manage and use them. The study was carried out in two parts, the field survey and the evaluation of genetic diversity.

The field survey was conducted in March 2007 during the off-season of rice production. Assessment of rice diversity was undertaken in four villages, Ban Ladthahae (LTH) and Ban Houyleung (HL) in Pakou (PO) district and Ban Houyman (HM) and Ban Thapho (TP) in Phonxay (PX) district of Luang Prabang province, northern Laos. The survey was conducted in 112 households and open meeting with the farmers to identify local varieties grown in each village.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

High level of varietal diversity at village and household levels were found. A total of 63 samples representing 47 cultivar names were collected during the survey. Number of varieties grown ranged from 13 to 17 varieties per village. Most of the varieties were glutinous type and upland varieties. Average number of varieties grown per households was 2 to 3 varieties every season, with 36, 35 and 29% of the area planted to early, medium and late varieties, respectively. Different patterns of variety used were found between districts. In PO district, the most popular variety was Phae Pee (PP), it was grown by 71% of farmers in the village of LTH and 48% in HL. For PX district, most farmers of HM village preferred Mak Khuea Yai (MKY) (59%), Do Deng (DD) (52%) and Mai Hok (MH) (48%) whereas TP village preferred Kao Chuk (KCH) (52%) and Luem Phouw (LP) (48%). Although, rice seed is kept from season to season, most farmers undertook seed selection every year from their fields while some farmers selected seed every two or three years. There was a large level of varietal seed exchange within village covered 69% and between villages at 31% in four villages.

Morphological characteristics of sixty-three samples representing 47 different cultivar names were evaluated. For each sample, 100 seed per sample were determined for seed size, shape, husk color, pericarp color and endosperm type. Progeny testing was conducted by sowing 63 individual samples in pots, 20 plants per sample at the Agronomy Division, Department of Plant Science and Natural Resource Faculty of Agriculture, Chiang Mai University on 29 June 2007. Plants were measured for 20 morphological and physiological characters at tillering, flowering and maturity stage. Morphological variation within sample was assessed using Shannon-Weaver index (*H'*).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

The rice varieties grown in the study villages had some common characteristics. Most seed samples were of large grain type, with only three samples having the slender grain type. The husk color ranged from straw, brown to reddish brown with or without darker color stripes. Variation in husk color was found within some seed samples as well as between samples (*H'* = 0-1.02). Most of the samples had endosperm with white pericarp, one fifth of which contained some red rice grains. However, every village had one or two varieties with pigment pericarp, in red or purple. Most samples were of glutinous rice type which one or two varieties of non-glutinous grain type in each village. Some 30% of the glutinous rice samples contained non-glutinous grain, ranging from 1% to 16%. One sample from HL in PO district was 70% non-glutinous and 30% glutinous.

Progeny testing found individual plants within each sample to be visually uniform. No variation within samples was found in the color of leaf blade, basal leaf sheath, auricle, ligule, collar, ligule shape, stigma color, leaf blade pubescence, awning, and husk pubescence in most samples. However, there were variation in color of apiculus, husk, pericarp and days to flowering within and between samples within village. Average days to flowering for samples varied from 74 to 105 days. Variation within samples in flowering time was also found, ranging from 5-6 days to more than 3 weeks.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

For DNA analysis, five varieties with multiple samples from different villages (2-4 samples per variety, total 12 samples) were examined for genetic diversity using 6 microsatellite markers. All five rice varieties were genetically variable at all six microsatellite loci. A total of 19 alleles were detected. The highest number of alleles per locus, 4 alleles, was detected in RM164, RM259 and RM316. All 12 samples

were genetically diverse with the highest diverse (h) was found in KD-TP (0.337) and the lowest in PD-HL (0.03). Level of genetic diversity between samples with the same names were varied. Genetic diversity (h) within each variety name ranged from 0.09 in PD to 0.446 in PP. Genetic differentiation among samples with the same names was between 0.111 to 0.734, indicating they were differed genetically. The overall genetic differentiation among samples (F_{ST}) were 0.665 suggested that approximately 66% of the total variation were the differentiation between samples and the remaining 34% was the difference within sample.

This study has found that large number of local rice varieties were grown in the study area. The differentiation between and within samples of local rice varieties were demonstrated in morphological, physiological characteristics and DNA analysis indicated that local rice varieties maintain high genetic variation. These large pool of genetic variation found in local rice germplasm appear to be the good sources of genes for plant breeding and adaptation to the local conditions.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมืองในหลวงพระบาง สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว

ผู้เขียน นาย คำหล้า พันธบูรณ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พืชไร่

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. ดร. ศันสนีย์ จำจด ประธานกรรมการ

ศ. ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม กรรมการ

บทคัดย่อ

ข้าวพันธุ์พื้นเมืองเป็นแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญของการทนทานต่อแมลงศัตรูพืช โรคพืช และสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (abiotic stress) เป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรในพื้นที่ที่ไม่สามารถปลูกข้าวพันธุ์ปรับปรุงหรือพันธุ์สมัยใหม่ได้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเชื้อพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกอยู่ในพื้นที่ศึกษา และประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมือง โดยแบ่งการศึกษาออกเป็นสองส่วน คือการสำรวจข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกในแปลงเกษตรกรและการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมือง

สำหรับงานสำรวจข้าวพันธุ์พื้นเมืองของเกษตรกร ได้สำรวจในเดือนมีนาคม 2550 ช่วงนอกฤดูการเพาะปลูกใน 4 หมู่บ้าน ได้แก่ บ้านลาดท่าแฮ่ (LTH) และบ้านห้วยเหลือง (HL) ในอำเภอปากอู (PO) บ้านห้วยมัน (HM) และบ้านท่าโพ (TP) ในอำเภอโพนไซ (PX) จังหวัด หลวงพระบาง ทางภาคเหนือของลาว โดยการสัมภาษณ์ครัวเรือนตัวอย่าง หมู่บ้านละ 27 ถึง 31 ครัวเรือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รวม 112 ครัวเรือนและจัดประชุมเกษตรกรในกลุ่ม กลุ่มละ 10 ถึง 20 คน ข้อมูลที่สำรวจประกอบด้วย ชื่อและจำนวนเชื้อพันธุ์ข้าวพันธุ์พื้นเมือง ชนิดแป้ง ลักษณะการเพาะปลูก รวมถึงการแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์ข้าว

ในพื้นที่ศึกษา 4 หมู่บ้านใน 2 อำเภอ พบตัวอย่างทั้งหมด 63 ตัวอย่าง 47 ชื่อพันธุ์ จำนวนพันธุ์ข้าวเฉลี่ยที่ปลูกต่อหมู่บ้านอยู่ระหว่าง 13-17 พันธุ์ ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวและข้าวไร่ แต่ละครัวเรือนจะปลูกข้าวเฉลี่ย 2-3 พันธุ์ต่อฤดูปลูก โดยจะปลูกข้าวพันธุ์เบา 36% ข้าวพันธุ์กลาง 35% และข้าวพันธุ์หนัก 29% แบบแผนการใช้พันธุ์ข้าวแตกต่างกันระหว่างหมู่บ้าน โดยในอำเภอปากอู พบว่าพันธุ์ข้าวที่นิยมที่สุดคือพันธุ์แพปี (PP) ที่ปลูกโดยเกษตรกรถึง 71% ที่บ้านลาดท่าแฮ่ และ 48% ที่บ้านห้วยเหลือง ส่วนในอำเภอโพนไซ พันธุ์ยอดนิยมที่บ้านห้วยมันได้แก่พันธุ์มะเขือใหญ่ (MKY) ซึ่งปลูกโดยเกษตรกร 59% พันธุ์ดอแดง (DD) ซึ่งปลูกโดยเกษตรกร 52% และพันธุ์ไม้หก (MH) ซึ่งปลูกโดยเกษตรกร 48% พันธุ์ข้าวที่นิยมปลูกที่สุดที่หมู่บ้านท่าโพได้แก่ ข้าวพันธุ์ลืมผัว (LP) และพันธุ์ข้าวจุก (KCH) ปลูกโดยเกษตรกร 48-52% แม้ว่าเกษตรกรจะเก็บเมล็ดพันธุ์ข้าวฤดูต่อฤดู แต่เกษตรกรส่วนใหญ่จะคัดเลือกเมล็ดพันธุ์จากแปลงเกษตรกรด้วยกันเองทุกๆ ปี ในขณะที่เกษตรกรบางรายจะคัดเลือกทุกๆ 2 หรือ 3 ปี มีการแลกเปลี่ยนเมล็ดพันธุ์ระหว่างเกษตรกรภายในหมู่บ้านสูงถึง 69%และระหว่างหมู่บ้าน 31%

นำตัวอย่างข้าวทั้ง 63 ตัวอย่าง 47 ชื่อพันธุ์ ตัวอย่างละ 100 เมล็ดมาประเมินลักษณะของเมล็ด ได้แก่ ขนาดเมล็ด รูปร่างเมล็ด สีเปลือกเมล็ด สีเยื่อหุ้มเมล็ด และชนิดของแป้ง (endosperm) จากนั้นนำตัวอย่างข้าวทั้ง 63 ตัวอย่างมาปลูกทดสอบรุ่นลูก (Progeny testing) ในกระถาง ตัวอย่างละ 20 ต้น ปลูกที่สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ ในวันที่ 29 มิถุนายน 2550 ประเมินลักษณะทางสัณฐานและสรีระ จำนวน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

20 ลักษณะ ที่ระยะแตกกอ (tillering) ระยะออกดอก (flowering) และระยะเก็บเกี่ยว (maturity) ประเมินความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายในและระหว่างตัวอย่างโดยใช้ค่าดัชนีความหลากหลายของ Shanon-Weaver index (H′)

พบว่าทั้ง 4 หมู่บ้านมีการใช้พันธุ์ข้าวพื้นเมืองภายในหมู่บ้านที่มีลักษณะคล้ายกัน โดยข้าวส่วนใหญ่จะเป็นข้าวเมล็ดใหญ่ มีเพียง 3 ตัวอย่างเท่านั้นที่เป็นข้าวเมล็ดเรียว สีเปลือกมีตั้งแต่สีฟางสีน้ำตาลจนถึงสีน้ำตาลแดง ทั้งที่มีหรือไม่มีสีเข้มสลับ พบความหลากหลายสูงในลักษณะสีเปลือกเมล็ด (H′ = 0-1.02) สีเยื่อหุ้มเมล็ดส่วนใหญ่จะมีสีขาว หนึ่งในห้าของตัวอย่างมีเมล็ดสีแดง อย่างไรก็ตามพบว่าในทุกหมู่บ้านมีหนึ่งหรือสองพันธุ์ที่เยื่อหุ้มเมล็ดมีสีแดงหรือม่วง ตัวอย่างส่วนมากเป็นข้าวเหนียว พบเพียง 1-2 ตัวอย่างจากแต่ละหมู่บ้านที่เป็นข้าวเจ้า จากตัวอย่างข้าวเหนียว 30% จะมีข้าวจ้าวปน 1-16% หนึ่งตัวอย่างจากหมู่บ้านห้วยเหลืองในอำเภอปากอู มีข้าวจ้าว 70% และข้าวเหนียว 30%

ผลการปลูกทดสอบในรุ่นลูก (Progeny testing) พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่มีความสม่ำเสมอและสามารถจำแนกพันธุ์ได้ ไม่พบความแปรปรวนภายในตัวอย่างในลักษณะสีเกสรตัวเมีย สีแผ่นใบ สีกาบใบ สีเขี้ยวใบ สีลิ้นใบ สีข้อต่อ รูปร่างลิ้นใบ การมีขนที่แผ่นใบ การมีหาง และขนที่เปลือกเมล็ด แต่พบเพียงบางตัวอย่างที่มีความหลากหลายของลักษณะดังกล่าว พบความแปรปรวนสูงทั้งภายในและระหว่างตัวอย่างข้าวจากภายในหมู่บ้านเดียวกันในลักษณะสีของยอดดอก สีเปลือกเมล็ด สีเยื่อหุ้มเมล็ด และวันออกดอก จำนวนวันที่ดอกบานของตัวอย่างอยู่ในช่วง 74-105 วัน นอกจากนี้ยังมีระยะเวลาที่ดอกบานแตกต่างกันในแต่ละต้น บางต้นในตัวอย่างเดียวกันจะมีระยะเวลาที่ดอกบาน 5-6 วัน ในขณะที่บางต้นในตัวอย่างอื่นมีระยะเวลาที่ดอกบานมากกว่าสามสัปดาห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำตัวอย่างข้าวที่มีชื่อพันธุ์เดียวกันจำนวนห้าพันธุ์ พันธุ์ละ 2-4 ตัวอย่าง รวม 12 ตัวอย่าง มาวิเคราะห์ในระดับดีเอ็นเอ เพื่อตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล microsatellite จำนวน 6 ตำแหน่ง คำนวณค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยอาศัยข้อมูลจาก microsatellite

พบว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมใน microsatellite ทั้ง 6 ตำแหน่ง โดยพบจำนวน allele ทั้งหมด 19 alleles โดยที่ตำแหน่ง RM164 RM259 และ RM316 พบมีค่าจำนวน allele ต่อตำแหน่งสูงที่สุดเท่ากับ 4 allele ต่อตำแหน่ง ในข้าวทั้ง 12 ตัวอย่าง พบความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (h) สูงสุดในข้าวพันธุ์ข้าวแดง (KD) จากบ้าน ท่าโพ (h =0.337) และที่ต่ำสุดในข้าวพันธุ์แพรดอ (PD) จากบ้านห้วยเหลือง (h=0.03) พบความแตกต่างของระดับความหลากหลายระหว่างตัวอย่างที่มีชื่อพันธุ์เหมือนกัน โดยค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (h) จะอยู่ระหว่าง 0.09 ในพันธุ์แพร่ดอถึง 0.446 ในพันธุ์แพปี ค่าดัชนีความแตกต่างระหว่างตัวอย่าง (F_{ST}) ที่มีชื่อเดียวกัน เท่ากับ0.111 to 0.734 0.111 ถึง 0.734 แสดงว่าถึงแม้ว่าข้าวมีชื่อพันธุ์เหมือนกันแต่มีพันธุกรรมแตกต่างกัน เมื่อพิจารณาในระดับหมู่บ้าน พบว่า ตัวอย่างจากหมู่บ้านห้วยเหลืองแสดงค่าความแตกต่างภายในหมู่บ้านสูงสุดเท่ากับ 0.742

จากการศึกษาครั้งนี้พบความหลากหลายของข้าวพันธุ์พื้นเมืองในสี่หมู่บ้าน จากจังหวัดหลวงพระบาง ประเทศลาว ทั้งในระดับสัณฐาน สรีระ และดีเอ็นเอ โดยมีความหลากหลายระหว่างและภายในตัวอย่างที่มีชื่อเดียวกันสูง แสดงว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก ดังนั้นความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีอยู่มากในข้าวพันธุ์พื้นเมืองสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมที่เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์และปรับตัวให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved