

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในเชื้อพันธุ์ข้าว
สุวรรณบุรี 1 ของเกษตรกร

ผู้เขียน

นายรณชิต จินดาหลวง

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พืชไร่

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. ศันสนีย์ จำจด	ประธานกรรมการ
ศ.ดร. เบนจวรรณ ฤกษ์เกษม	กรรมการ
ดร. จรรยา มณีโชติ	กรรมการ

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีรายงานการระบาดของข้าววัชพืชในแปลงปลูกข้าวของเกษตรกรแพร่หลายในพื้นที่ทำนาภาคกลาง การปนเปื้อนของพันธุกรรมข้าวป่าลงไปในเชื้อพันธุ์ข้าวที่เกษตรกรใช้ปลูกอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปัญหาการแพร่ระบาดกว้างขวางและรุนแรงมากขึ้น งานทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดและศึกษาลักษณะความหลากหลายในรุ่นลูกของเชื้อพันธุ์ข้าวพันธุ์ปลูกชนิดพันธุ์บริสุทธิ์ (pure line varieties) ของเกษตรกรที่มีประชากรของข้าววัชพืชที่มีลักษณะเด่นของข้าวป่าขึ้นในนา ทดลองที่ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร และภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือนสิงหาคม 2544 ถึงเดือนกรกฎาคม 2547 การศึกษาประกอบด้วย 3 การทดลอง

การทดลองที่ 1 เพื่อวัดปริมาณความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นในลักษณะทางสรีระและสัณฐานวิทยาจำนวน 20 ลักษณะในประชากรรุ่นลูกของเชื้อพันธุ์ข้าวสุวรรณบุรี 1 ของเกษตรกรหนึ่งราย แบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย ในการทดลองที่ 1.1 นำเมล็ดพันธุ์ข้าวมาเพาะแล้วสุ่มเก็บตัวอย่างใบจากต้นกล้าแยกต้นจำนวน 20 ต้น นำมาวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล Microsatellite marker ส่วนต้นกล้าที่เหลือย้ายปักดำในแปลงนา โดยการสุ่มเป็นพื้นที่ขนาด 1 x 1.25 ม. จำนวนทั้งหมด 13 จุด แต่ละจุดจะมีต้นข้าว 20 ต้น โดยมีข้าวพันธุ์คัดเป็นพันธุ์ตรวจสอบ ในการทดลองที่ 1.2 เพื่อทดสอบรุ่นลูก (progeny test) ของสายพันธุ์ข้าวจากการทดลองที่ 1.1 โดยสุ่มเมล็ดพันธุ์ข้าวที่เก็บเกี่ยวแยกเมล็ดแต่ละต้นจากแต่ละจุดในงานทดลองที่ 1.1 จำนวน 103 ตัวอย่าง มาปลูกแบบต้นต่อแถว โดยเฉพาะแยกเมล็ดจากแต่ละต้น แล้วย้ายปักดำในแปลง ต้น

กล้าจากต้นพ่อแม่แต่ละต้นจะปักดำแบบ 1 ต้นต่อหลุม จำนวน 1 แถว แถวละ 15 ต้น จำนวน 2 ซ้ำ โดยมีข้าวพันธุ์คัดเป็นพันธุ์ตรวจสอบ ทั้งสองการทดลองบันทึกลักษณะทางสรีระและสัณฐานวิทยา จำนวน 20 ลักษณะ นำไปวิเคราะห์หาช่วงของการกระจายตัว ค่าเฉลี่ย ค่าความแปรปรวน ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละตัวอย่างกับพันธุ์ตรวจสอบ โดยวิธี t-test พิจารณาความหลากหลายในประชากร โดยใช้ค่าดัชนีความหลากหลายของ Shannon's index (H') ในการทดลองที่ 1.1 พบความหลากหลายทั้งภายใน และระหว่างประชากร ในระดับที่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ตรวจสอบ พบลักษณะที่แตกต่างไปจากพันธุ์ตรวจสอบ ได้แก่ เมล็ดมีหาง (11%) มีสีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นน้ำตาลอ่อน ไปจนถึงสีแดง (2%) บางต้นออกดอกเร็ว (1%) บางต้นออกดอกช้า (72%) บางต้นเตี้ย (31%) บางต้นสูง (1%) เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดลดลง (4%) น้ำหนัก 100 เมล็ดลดลง (6%) และเพิ่มขึ้น (3%) และเมล็ดมีลักษณะป้อม (4%) และจากการตรวจสอบในระดับโมเลกุล พบว่า มีการปนของเมล็ดข้าวพันธุ์ชยันต 1 (15%) และต้นที่มีลักษณะพันธุกรรมเป็นแบบลูกผสมระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกอยู่ 5% เมื่อนำเมล็ดไปปลูกทดสอบรุ่นลูกในการทดลองที่ 1.2 พบว่ามีความแตกต่างระหว่างแถวในประชากรรุ่นลูก แสดงว่าความแตกต่างนั้นเป็นผลมาจากความแตกต่างของพันธุกรรม (genotype) และในประชากรรุ่นพ่อแม่มีการกระจายตัวทั้งแบบ heterogeneus homozygous population (แถวรุ่นลูกไม่มีการกระจายตัว) และ heterogeneus heterozygous population (แถวรุ่นลูกมีการกระจายตัว)

การทดลองที่ 2 เป็นการวัดปริมาณความหลากหลายในเชื้อพันธุ์ข้าวของเกษตรกรรายอื่น ที่ปลูกข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 และชยันต 1 และมีประชากรข้าววัชพืชระบาดในแปลง จากจังหวัดกาญจนบุรี ในฤดูนาปี 2545 และนาปรัง 2545/46 จำนวน 16 ตัวอย่าง ปลูกทดสอบจำนวน 100 ต้น ต่อตัวอย่าง โดยมีพันธุ์ข้าวชยันต 1 และสุพรรณบุรี 1 พันธุ์คัดเป็นพันธุ์ตรวจสอบ บันทึกลักษณะอายุออกดอก ความสูงถึงคอรวงที่ระยะเก็บเกี่ยว สีเปลือกเมล็ด สีเยื่อหุ้มเมล็ด และการมีหางข้าว แล้ววิเคราะห์เช่นเดียวกับงานทดลองแรก พบว่า ตัวอย่างข้าวที่นำมาศึกษาครั้งนี้เก็บจากเกษตรกรที่ปลูกข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 หรือ ชยันต 1 ถึงแม้จะเป็นชื่อพันธุ์เดียวกันแต่พบระดับความหลากหลายทั้งภายใน และระหว่างประชากร ในระดับที่แตกต่างกัน ในลักษณะทางสรีระและสัณฐานวิทยาของทั้ง 16 ตัวอย่าง พบลักษณะที่แตกต่างไปจากพันธุ์ตรวจสอบ ได้แก่ เมล็ดมีหางมีค่าตั้งแต่ 0 - 5% มีเปลือกเมล็ดเป็นสีฟางขี้น้ำตาล ไปจนถึงสีดำมีค่าตั้งแต่ 0 - 5% เยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีน้ำตาลอ่อน ไปจนถึงสีแดงมีค่าตั้งแต่ 0 - 13% บางต้นออกดอกเร็วมีค่าตั้งแต่ 0 - 15% บางต้นออกดอกช้ามีค่าตั้งแต่ 0 - 7% และต้นสูงมีค่าตั้งแต่ 0 - 14%

การทดลองที่ 3 เพื่อตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมระดับ โมเลกุลของข้าวชนิดต่างๆ ที่พบภายในแปลงของเกษตรกรหนึ่งรายจากจังหวัดกาญจนบุรี โดยใช้เมล็ดพันธุ์ที่เก็บจากต้นข้าวในแปลง จำแนกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ มีลักษณะภายนอกเหมือนข้าวปลูก ข้าวชนิดรวงมีหางเหมือนข้าวป่าแต่เมล็ดไม่ร่วง ข้าวชนิดรวงมีหางเหมือนข้าวป่าและเมล็ดร่วง และข้าวแดง แยกปลูกแต่ละประเภทแล้วสุ่มเก็บตัวอย่างไปจากต้นกล้าแยกต้น ประเภทที่มีลักษณะเหมือนข้าวปลูกเก็บจำนวน 57 ต้น ส่วนข้าวประเภทอื่นเก็บประเภทละ 7 ต้น นำมาวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล Microsatellite marker โดยใช้ไพรเมอร์ RM 1 พบว่า ต้นที่ปลูกจากเมล็ดที่มีลักษณะภายนอกเหมือนข้าวปลูกทุกประการมีส่วนต้นที่มีลักษณะพันธุกรรมเป็นแบบลูกผสมระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกสูงถึง 14% นอกจากนี้ยังมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนข้าวปลูก ข้าวชนิดรวงมีหางเหมือนข้าวป่าแต่เมล็ดไม่ร่วงและข้าวชนิดรวงมีหางเหมือนข้าวป่าและเมล็ดร่วงพบทั้งที่มีลักษณะพันธุกรรมเหมือนข้าวปลูกและเป็นลูกผสมระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก ส่วนชนิดที่เป็นข้าวแดงพบทั้งที่มีลักษณะพันธุกรรมเหมือนข้าวปลูก ลูกผสมระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก และมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนข้าวป่า

โดยสรุปเชื้อพันธุ์ข้าวพันธุ์ปรับปรุงของเกษตรกรที่ศึกษาพบทั้งชนิดพันธุกรรมของข้าวปลูกพันธุ์อื่น ข้าวป่า และลูกผสมระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก อยู่ภายในประชากร การพบลูกผสมแสดงว่าเกิดการแลกเปลี่ยนยีน (gene flow) โดยการผสมข้ามระหว่างข้าวพันธุ์ปลูกและข้าวพันธุ์ป่า ดังนั้นหากภายในท้องถิ่นมีข้าวป่าและข้าวปลูกขึ้นร่วมใกล้เคียงกัน มีโอกาสสูงในการเกิดการผสมข้าม มีการแลกเปลี่ยนยีนและให้ลูกผสมที่มีลักษณะที่ไม่ต้องการ ในแปลงปลูกและอาจแพร่ขยายเป็นวัชพืชร้ายแรงได้ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อทั้งในด้านปริมาณ และคุณภาพของผลผลิตข้าวปลูก

Thesis Title	Genetic Diversity within Farmer's Seedlots of Supanburi 1 Rice	
Author	Mr. Ronnachit Jindalouang	
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

The problem of weedy rice invasion in the farmer's field has spread to many areas in central Thailand. Contamination of wild rice's gene into farmer's seedlots may cause the spread and more of invasive weedy rice. The objective of this study is to detect and measure variation in the progeny of farmer's seedlots, containing weedy rice with dominant in wild characteristic grow in the field. Three experiments were conducted at Agronomy Department and Multiple Cropping Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University on August 2001 to July 2004.

The first set of experiments was designed to measure genetic variation in twenty morphological and physiological characters in progeny of Supanburi 1 (SPR1) seedlots collected from one farmer. Experiment 1.1, leaf samples were collected randomly from 20 plants in the seedbed for DNA analysis using microsatellite markers. Transplanting was done in paddy field with 20 plants per sample in 13, 1 x 1.5 m² plots and was also done with breeder seed. Experiment 1.2, progeny testing was conducted by sowing seeds from 103 individual plants from experiment 1.1, one plant to one row, 15 plants per row, in 2 replications compared with breeder seed. Twenty morphological and physiological characters were recorded and analyzed for range of distribution, mean, variance, standard deviation, coefficient of variation and compared degree of differentiation between means of each samples and breeder seed by t-test. Variation within population was assessed using the Shannon-weaver diversity index (H'). In the experiment 1.1,

variation was found within and among samples in different degrees. The different characteristics when compared with breeder seed were seed awning (11%), pericarp color ranging from light brown to red (2%), early heading date (1%), late heading date (72%), shorter plant (31%), taller plant (1%), percent seed set decreasing (4%), 100 seed weight decreasing (6%), 100 seed weight increasing (3%) and round seed shape (4%). Molecular level analysis using microsatellite markers indicated that there was 15% of Chainat 1 (CNT1) variety contamination and 5% of hybrid between wild and cultivated rice in farmer's seedlots. Progeny testing in experiment 1.2 showed variation between rows indicated that genetic structure of parents populations were heterogeneous homozygous population (no distribution within progeny row) and heterogeneous heterozygous population (there was distribution within progeny row).

The second experiment was conducted to measure the variation in cultivated rice varieties SPR1 and CNT1 from 16 farmer's seedlots with the invasive weedy rice in the field in Kanchanaburi province in wet season 2002 and dry season 2002/2003. One hundred individual plants per sample were grown and compared with breeder seed varieties SPR1 or CNT1. Heading date, plant height, pericarp color, hull color and seed awning were recorded then analyzed as described in the first experiment. The results although, indicated that seedlots collected from 16 farmers were generally the varieties SPR1 and CNT1 but showed different degree of variation within and among seedlots. Variation of morphological and physiological characters in 16 populations compared with breeder seed were seed awning (0 - 5%), pericarp color (0-5%), hull color range from light brown to red (0-13%), early heading date (0-15%), late heading date (0-7%) and high plant height (0-14%).

The third experiment assessed genetic variation of rice growing in the farmer's field in Kanchanaburi province using molecular analysis. Four phenotypes of rice collected from farmer's field were used in this experiment: (1) apparent cultivated rice type (2) rice with seed awning but non-shattering type (3) rice with seed awning and shattering type (4) red rice type. Seed collected from each type were grown separately and leaf samples were randomly collected, 57 individuals with apparent cultivated rice type and 7 from the other types for molecular analysis. DNA were analyzed by microsatellite markers, RM1 primer. The results indicated that cultivated rice-like type contained the mixture of hybrid DNA pattern between wild and cultivated rice as high as 14%. For rice with seed awning but non-shattered type and rice with

seed awning and shattering type had the mixture of DNA patterns the same as cultivated rice and hybrid between wild and cultivated rice. Red rice type contained all three genetic patterns i.e., the same as cultivated rice, hybrid between wild and cultivated rice and wild rice pattern.

In conclusion, farmer's seedlots of an improved rice variety in this study were contaminated with another improved rice variety, wild rice and hybrid between wild and cultivated rice. The presence of hybrid genetic patterns indicated gene flow resulting from hybridization between cultivated and wild rice. This has serious implications to rice production. If there is wild rice growing together with cultivated rice in the same habitat, the chance of out-crossing will increase the rate of gene flow and produce hybrids that may become noxious weedy rice. Without suitable management, the yield and quality of the rice harvest will be adversely affected.