

บทที่ 3

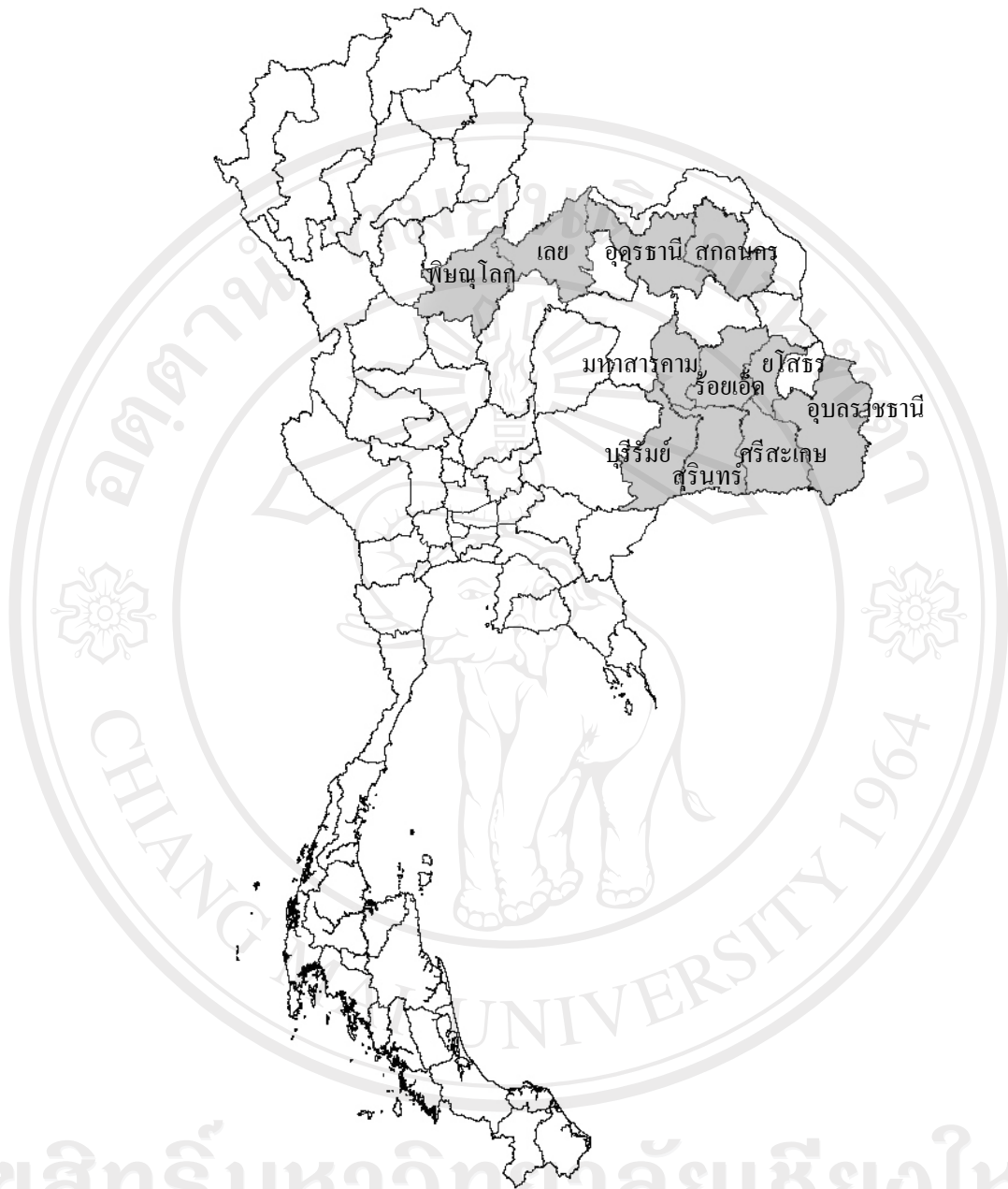
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษานี้ประกอบด้วยขั้นตอนหลัก 2 ขั้นตอน แบ่งเป็นการสำรวจและเก็บตัวอย่างข้าวป่าสามัญในแหล่งปลูกข้าวในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ขั้นตอนที่ 2 เป็นการประเมินลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอในห้องปฏิบัติการ และปลูกขยายพันธุ์เพื่อประเมินลักษณะทางสัณฐานและการเจริญเติบโตในแปลงทดลอง ดำเนินการที่ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนธันวาคม 2550 โดยมีรายละเอียดดังนี้

3.1 สำรวจประชากรข้าวป่าสามัญจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

สำรวจประชากรข้าวป่าสามัญใน 10 จังหวัด จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และ 1 จังหวัดจากภาคเหนือ (จังหวัดพิษณุโลก ซึ่งมีอาณาเขตติดกับจังหวัดเลย ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) (ภาพ 3.1 และตาราง 3.1) ในช่วงระหว่างเดือนตุลาคม ถึงเดือนพฤศจิกายน 2548 และเดือนตุลาคม ถึงเดือนพฤศจิกายน 2549 โดยสำรวจบริเวณทุ่งน้ำข้างถนน ริมคลอง หรือบริเวณใกล้แปลงปลูกข้าวบันทึกข้อมูล ดังนี้

1. วัน เดือน ปี ที่เก็บ
2. แหล่งที่เก็บ
3. พิกัด
4. ระดับความสูงจากน้ำทะเล
5. ชนิดข้าว เช่น ข้าวป่าชนิดปีเดียว intermediate ข้ามปี และข้าววัชพืช (ภาพ 3.2 และตาราง 3.2)
6. สภาพถิ่นอาศัย เช่น ในนา ในทุ่งน้ำ หนองน้ำ
7. ขนาดพื้นที่ที่พบแพร่กระจาย
8. ระยะห่างจากแปลงข้าวปลูก
9. ลักษณะทรงกอ สีเกสรตัวเมีย สีหางข้าว



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 3.1 ตำแหน่งของประชากรชาวป่าสามัญที่ใช้ในการศึกษาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 10 จังหวัด และภาคเหนือ 1 จังหวัด

ตาราง 3.1 สัญลักษณ์ วันที่เก็บตัวอย่าง แหล่งที่มา พิกัด และระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลของตัวอย่างข้าวป่าสามัญที่ใช้ในการศึกษา

ลำดับ	สัญลักษณ์	วันที่	แหล่งที่มา	พิกัด		ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล (เมตร)
				N	E	
1	NKT	16/10/2549	ต.หนองกระเทียม อ.นครไทย จ.พิษณุโลก	17.07133	100.81639	207
2	NR	22/10/2548	อ.นางรอง จ.บุรีรัมย์	14.65276	102.85075	182
3	PKC, PKCwe	25/10/2548	กม.ที่ 120 อีกร 19 กม. ถึงประโคนชัย จ.บุรีรัมย์	14.62856	103.2428	169
4	KS, KSwe	20/10/2549	ต.บ้านปรือ อ.กระสัง จ.บุรีรัมย์	14.87909	103.30641	155
5	BRL	20/10/2549	ต.บ้านยาง อ.เมือง จ.บุรีรัมย์	15.01835	103.14497	148
6	ST	20/10/2549	บ้านกระเบื้อง อ.สะตึก จ.บุรีรัมย์	15.34627	103.27923	131
7	KSP	23/10/2548	อ.โกสัมพีสัย จ.มหาสารคาม	16.25317	103.03255	149
8	NK	17/10/2549	ต.หนองกง อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม	15.71499	103.07142	164
9	BB	17/10/2549	ต.หนองโก อ.บรบือ จ.มหาสารคาม	16.08323	103.16775	170
10	MHC	18/10/2549	ต.ปากเรือ อ.มหาชนะชัย จ.ยโสธร	15.55164	104.28797	123
11	KKK, KKKwe	24/10/2548	ต.ย่อ อ.คำเขื่อนแก้ว จ.ยโสธร	15.7218	104.24088	119
12	KSW	17/10/2549	ต.เกษตรวิสัย อ.เกษตรวิสัย จ.ร้อยเอ็ด	15.68875	103.58458	139
13	PNP	18/10/2549	ต.นาหวาด อ.พนมไพร จ.ร้อยเอ็ด	15.66168	104.13103	126
14	TV	18/10/2549	ต.เมืองน้อย อ.วัชรบุรี จ.ร้อยเอ็ด	15.97346	103.75948	136
15	ASM	18/10/2549	ต.หนองอ. อ.อาจสามารถ จ.ร้อยเอ็ด	15.80604	103.93804	130
16	JTP	17/10/2549	ต.จตุรพักตรพิมาน อ.จตุรพักตรพิมาน จ.ร้อยเอ็ด	15.865	103.5867	161
17	LA	24/10/2548	บริเวณสี่แยก จ.ร้อยเอ็ด ทางไปกาฬสินธุ์ (48กม.) จ.ร้อยเอ็ด	16.07418	103.61746	161
18	CK	26/10/2549	ต.เชียงคาน อ.เชียงคาน จ.เลย	17.89567	101.7028	229
19	NH	23/10/2548	อ.หนองหาร จ.สกลนคร	17.36042	102.96401	185
20	SUR	25/10/2548	5 กม. ก่อนแยก บ้านคำคาน จ.สุรินทร์	14.62291	103.89379	168
21	JP	19/10/2549	ต.จอมพระ อ.จอมพระ จ.สุรินทร์	15.12645	103.61632	134
22	SNR, SNRwe	19/10/2549	ต.ตรวจ กิ่งอ.ศรีณรงค์ จ.สุรินทร์	14.78988	103.83912	149
23	SKP	19/10/2549	ต.แมตล อ.ศีขรภูมิ จ.สุรินทร์	15.03565	103.73683	160
24	CPB	17/10/2549	ต.เมืองบัว อ.ชุมพลบุรี จ.สุรินทร์	15.37344	103.26794	120
25	LD	19/10/2549	ต.ลำควนสุรินทร์ อ.ลำควน จ.สุรินทร์	14.71498	103.6894	153
26	SN	19/10/2549	ต.สนม อ.สนม จ.สุรินทร์	15.19891	103.77784	145
27	SK	19/10/2549	ต.สังขะ อ.สังขะ จ.สุรินทร์	14.67401	103.86654	167
28	SSK	19/10/2549	ต.จาน อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ	14.9844	104.38591	143

ตาราง (ต่อ)

ลำดับ	สัญลักษณ์	วันที่	แหล่งที่มา	พิกัด		ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล (เมตร)
				N	E	
29	PY	19/10/2549	ต.พยุห์ อ.พยุห์ จ.ศรีสะเกษ	14.9091	104.41262	132
30	KTR	19/10/2549	ต.เมืองน้อย อ.กันทรารมย์ จ.ศรีสะเกษ	15.2044	104.57152	124
31	NG	19/10/2549	ต.รุ่งระวี อ.น้ำเกลี้ยง จ.ศรีสะเกษ	14.88874	104.52992	139
32	RSSR	19/10/2549	ต.สัมปอช อ.ราษีไศล จ.ศรีสะเกษ	15.27694	104.2556	144
33	SS, SSwe	25/10/2548	ตรงข้ามการไฟฟ้า อ.วังหิน จ.ศรีสะเกษ	14.95359	104.20601	120
34	DKM	25/10/2548	บ้านดอนกำเม็ด อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ	14.75418	104.19988	165
35	KPV	23/10/2548	อ.กุ่มกาวปี จ.อุครธานี	17.11528	103.02895	168
36	WR	18/10/2549	ต.โนนโพน อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี	15.12073	104.83675	138
37	KN	18/10/2549	ต.ยางซึ้ง อ.เขื่องใน จ.อุบลราชธานี	15.46882	104.50538	131

ตาราง 3.2 ลักษณะที่สำคัญของข้าวป่าสามัญเพื่อใช้ในการจำแนกชนิด

ชนิดข้าวป่า	ลักษณะที่สำคัญ
ชนิดขำปี (a)	พบในพื้นที่น้ำลึก (ระดับน้ำสูงกว่า 50 เซนติเมตร) ทรงกอมีขนาดใหญ่ ลำต้นสูงประมาณ 2 เมตร ใบกว้างและยาว รวงข้าวใหญ่และแผ่ ออก เมล็ดลึบมาก
ชนิดปีเดียว (b)	พบในพื้นที่น้ำตื้นหรือแห้ง ทรงกอมีขนาดเล็ก ลำต้นเล็กและเตี้ย ใบเล็กและสั้น รวงข้าวไม่แผ่ มีจำนวนรวงข้าว (เมล็ด) มาก
ชนิด intermediate (c)	พบในพื้นที่ทั้งที่น้ำลึกและที่น้ำตื้น ปรากฏลักษณะที่อยู่ระหว่างข้าวป่าชนิดปีเดียวและขำปี เช่น ทรงกอและลำต้นมีขนาดไม่ใหญ่มาก
ข้าววัชพืช (d)	พบบริเวณขอบหรือในแปลงข้าวปลูก ปรากฏลักษณะที่คล้ายข้าวปลูก เช่น ทรงกอตั้งตรง รวงข้าวจับกันแน่น เมล็ดสีน้ำตาลหรือฟาง หางยาวสีขาวหรือแดง



(a)



(b)



(c)



(d)

ภาพ 3.2 ลักษณะที่สำคัญของข้าวป่าสามัญเพื่อใช้ในการจำแนกชนิด (a) ข้าวป่าชนิดข้ามปี (b) ข้าวป่าชนิดปีเดียว (c) ข้าวป่าชนิด intermediate และ (d) ข้าววัชพืช

การเก็บตัวอย่างลำต้น ตัดบริเวณข้อปล้องของลำต้นข้าวป่าที่มีรากติด เก็บแยกต้นจำนวน ประชากรละ 10-20 ต้น เพื่อนำไปปลูกและบันทึกลักษณะในหัวข้อ 3.2

เก็บตัวอย่างใบเพื่อนำไปวิเคราะห์การปนเปื้อนอินทรีย์ระหว่างข้าวปลูกไปสู่ข้าวป่าโดยใช้ เครื่องหมายโมเลกุล microsatellite ในหัวข้อ 3.3 เก็บตัวอย่างใบแยกต้นๆ ละ 2-3 ใบ จำนวน ประชากรละ 10-20 ต้น พับใส่ถุงกระดาษเก็บตัวอย่าง ทำให้ตัวอย่างใบข้าวแห้ง โดยนำถุงเก็บ ตัวอย่างที่บรรจุตัวอย่างใบข้าวใส่ในภาชนะปิดที่มี silica gel เป็นตัวดูดความชื้น หลังจากแห้งแล้ว เก็บตัวอย่างใบในถุงปิดผนึกและเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$)

3.2 ประเมินบางลักษณะสำคัญต่อการเพาะปลูกและสัณฐานของประชากรข้าวป่าสามัญชนิดข้ามปี ในสภาพแปลงทดลอง

ปลูกตัวอย่างลำต้นข้าวป่าชนิดข้ามปีจาก 3.1 ระหว่าง เดือนพฤศจิกายน 2548 ถึงเดือน ธันวาคม 2550 ที่แปลงทดลองภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปลูก ตัวอย่างในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตรใส่ดินนาให้เกือบเต็มถึง ปลูกจำนวน 1 ต้น ต่อกระถางประชากรละ 10-20 ต้น แต่ละประชากร บันทึกลักษณะข้าวป่าทุกต้น โดยบันทึก ลักษณะข้าวป่าในระยะต่างๆ 3 ระยะ (สงกรานต์ 2537) ดังนี้

ระยะแตกกอ บันทึกลักษณะทรงกอ จำนวนหน่อต่อต้น สีแผ่นใบ เขียวใบ และลิ้นใบ

ระยะออกดอก เมื่อข้าวป่าออกดอกประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ในแต่ละประชากร บันทึกวันออกดอก สี ปล้อง สียอดดอก สีของหาง สีเกสรตัวเมีย และความยาวเกสรตัวผู้จากทุกต้น หลังจากบันทึก ลักษณะเรียบร้อยแล้วใช้ถุงกระดาษใส่สีขาวคลุมรวงต้นละ 5 รวง

ระยะเก็บเกี่ยว วัดความสูงที่ระยะเก็บเกี่ยว โดยวัดจากระดับผิวดินจนถึงคอรวง เก็บรวงที่คลุมถุงไว้ มาวัดความยาวรวง ความยาวหาง นับจำนวนระแง้ต่อรวง จำนวนดอกต่อรวง การติดเมล็ด การร่วง ของเมล็ด สีเปลือกเมล็ด และสีเยื่อหุ้มเมล็ด หลังจากนั้นนำเมล็ดมารวมกันแล้วสุ่มเมล็ดข้าวป่ามา ประชากรละ 10 เมล็ด เพื่อทดสอบความสามารถในการพักตัว โดยการทดสอบความงอกจากการใช้ กระดาษเพาะความงอกที่ระยะเวลา 1 ถึง 12 เดือนหลังจากเก็บ

3.3 ประเมินการปนเปื้อนยีนจากข้าวปลูกในประชากรข้าวป่าสามัญโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซเทลไลท์

นำตัวอย่างใบข้าวป่าทั้งหมดที่แห้งแล้วจาก 3.1 มาบดให้ละเอียด โดยแยกแต่ละตัวอย่างตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ บดด้วยไนโตรเจนเหลว จากนั้นนำไปสกัดดีเอ็นเอโดยวิธี CTAB (Panaud *et al.*, 1996) ดังนี้

การสกัดดีเอ็นเอ

นำใบข้าวที่บดแล้วใส่ eppendorf tube จากนั้นใส่ extraction buffer ประกอบไปด้วย deionized water, 4% CTAB, 100 mM Tris-HCl (pH 8), 20mM EDTA (pH 8), 1.4 M NaCl และ 0.4% β -mercaptoethanol นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาละลายด้วย TE buffer และทดสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วย agarose gel electrophoresis 1.2% เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20°C

การทำ PCR (Polymerase Chain Reaction) โดยอาศัยเทคนิค microsatellite markers

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR (Panaud *et al.*, 1996) โดยใช้ microsatellite primers จำนวน 5 ตำแหน่ง ซึ่ง primer ที่ใช้มีการรายงานว่ามี polymorphism ในข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* และสามารถแยกข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* และข้าวปลูก *O. sativa* ได้ แต่ละ primers มีลำดับเบสดังนี้ (www.gramene.org)

ตาราง 3.3 รายละเอียดที่สำคัญของ primers ที่ใช้ในการศึกษา

Primer	ชุดซ้ำ	อุณหภูมิ annealing	chromosome no.	ลำดับเบส
RM20	(ATT)14	55	12	F: TGTATGCACAGCTGCTCTACTCC R: GCACGACCAGAAATTAACAAGG
RM164	(GT)16TT(GT)4	58	5	F: CTTGCCCGTCACTGCAGATATCC R: CAGCCCTAATGCTACAATTCTTC
RM225	(CT)18	55	6	F: TGCCCATATGGTCTGGATG R: GAAAGTGGATCAGGAAGGC
RM341	(CTT)20	55	2	F: CAAGAAACCTCAATCCGAGC R: CTCCTCCCCTCCCAATC
RM588	(TGC)9	55	6	F: TTGCTCTGCCTCACTCTTG R: AACGAGCCAACGAAGCAG

F; Forward Primer R; Reverse Primer

เติมสารผสมปริมาตร 20 ไมโครลิตร (μl) ต่อ 1 หลอด ซึ่งประกอบไปด้วย deionized water 16 μl , 10X buffer 2 μl , 50 mM MgCl_2 1 μl , 25 mM dNTP 0.16 μl , primer 0.2 μl , 5

unit Taq DNA Polymerases 0.1 μ l, DNA template 1 μ l ลงในหลอด eppendorf tube ขนาด 2 มิลลิลิตร (ml) นำเข้าเครื่อง PCR

การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอจากปฏิกิริยา PCR

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR ไปตรวจสอบด้วย 10% polyacrylamide gel electrophoresis นำแผ่นเจลที่ได้ย้อมด้วยสาร Ethidium bromide เพื่อนำไปดูการเกิดลายพิมพ์ดีเอ็นเอภายใต้แสงยูวีของเครื่อง UV transilluminator แล้วบันทึกภาพด้วยกล้อง digital เพื่อนำไปวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ใช้ข้าวปลูก 5 พันธุ์ คือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) กข 6 (RD6) กข 15 (RD15) ชัยนาท 1 (CNT1) และสุพรรณบุรี 1 (SPR1) นำมาจากเมล็ดพันธุ์หลัก และข้าวป่าอนุรักษ์จังหวัดปราจีนบุรี (PC) และข้าวป่าจังหวัดเชียงใหม่ (CM) เป็นพันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบ

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

ลักษณะทางคุณภาพ

วัดสัดส่วนของแต่ละลักษณะ โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของแต่ละลักษณะที่ปรากฏ และวัดความหลากหลายภายในประชากรโดยใช้ค่าดัชนีความหลากหลายของ Shannon's Index (H') โดยคำนวณจากสูตร (Shannon and Weaver, 1949 อ้างโดย Coffey, 2002)

$$H' = -\sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$$

s = จำนวนชนิดที่พบ

p_i = สัดส่วนของชนิดนั้นต่อจำนวนทั้งหมด

ในการพิจารณาหากพบค่าดัชนีความหลากหลาย $H'=0$ หมายถึงไม่มีความหลากหลายภายในประชากร และค่า H' สูงหมายถึงมีความหลากหลายภายในประชากรสูง

ลักษณะทางปริมาณ

แต่ละตัวอย่างนำมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าขอบเขตค่าเฉลี่ย (range) ของแต่ละต้นภายในตัวอย่าง ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (sd) และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV, %)

ข้อมูลระดับโมเลกุล

วิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยการตรวจนับแถบที่ปรากฏในน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) เดียวกัน ถ้าหากมีแถบให้เป็น 1 และไม่มีแถบให้เป็น 0 คำนวณค่า genetic parameters โดยใช้โปรแกรม POPGEN เวอร์ชัน 3.2 (population genetic analysis version 3.2) และโปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 2

ค่าที่ใช้ประเมิน genetic parameters

นำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของประชากรข้าวป่ามาตรวจนับแถบที่ปรากฏในน้ำหนักโมเลกุล เพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าต่างๆ ต่อไปนี้

1. ความถี่อัลลีล (allele frequency) และความถี่ของจีโนไทป์ (genotypic frequency) ของข้าวปลูกในประชากรข้าวป่าสามัญ และ %heterozygote
2. โครงสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรข้าวป่าสามัญในระดับโมเลกุล (genetic structure) (Nei *et al.*, 2000)

2.1 Average Gene Diversity หรือ heterozygosity (h)

$$h = 1 - \sum P_i^2$$

$$P_i = \text{ความถี่อัลลีล } i$$

ค่า $h=0$ แสดงว่าโครงสร้างทางพันธุกรรมไม่เป็นแบบ heterozygosity ยิ่งค่า h สูงแสดงว่าโครงสร้างทางพันธุกรรมเป็นแบบ heterozygosity สูง

2.2 Effective number of alleles (A_e)

$$A_e = \frac{1}{(1-h)} = \frac{1}{\sum P_i^2}$$

$$p_i = \text{ความถี่อัลลีล } i \text{ ในหนึ่ง locus}$$

$$h = \text{heterozygosity ในหนึ่ง locus}$$

เป็นจำนวนของอัลลีลที่สามารถปรากฏในหนึ่งประชากร บอกค่าคาดหมายของจำนวนอัลลีลในหนึ่ง locus ในแต่ละประชากร

2.3 Average number of alleles per locus (N_a)

$$N_a = \left(\frac{1}{k}\right) \sum_{i=1}^k n_i$$

K = จำนวน loci

n_i = จำนวนอัลลีลทั้งหมดที่พบต่อ locus

เป็นผลรวมของอัลลีลทั้งหมดที่พบในแต่ละ locus แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยใน loci ทั้งหมด

2.4 Average gene diversity for all population (H_T)

เป็นการคำนวณ average heterozygosity ระหว่าง พื้นที่ที่ศึกษาทั้งหมดมีสัญลักษณ์เป็น H_T หากมีค่าต่ำ แสดงว่ามี heterozygosity ระหว่างพื้นที่ศึกษาทั้งหมดต่ำ

$$H_T = H_S + D_{ST}$$

$$D_{ST} = H_T - H_S$$

2.5 Average gene diversity within population (H_S)

เป็นการคำนวณ average heterozygosity ระหว่าง subpopulation มีสัญลักษณ์เป็น H_S หากมีค่าต่ำ แสดงว่ามี heterozygosity ระหว่าง subpopulation ต่ำ

2.6 Gene differentiation among population (F_{ST})

$$F_{ST} = \frac{D_{ST}}{H_T}$$

พิจารณาความแตกต่างระหว่างประชากรหากค่า F_{ST} มีค่าเท่ากับ 0 แสดงว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างประชากร และหากความแตกต่างระหว่างประชากร F_{ST} มีค่าสูง แสดงว่ามีความแตกต่างระหว่างประชากรสูง หรือค่าที่บอกความแปรปรวนที่เกิดจากความแปรปรวนระหว่างประชากร (คิดเป็น %)

2.7 อัตราการผสมข้าม (out crossing rate; t)

$$t = \frac{(1 - F_{ST})}{(1 + F_{ST})}$$

ประเมินอัตราการผสมข้ามระหว่างประชากรในสภาพธรรมชาติ ซึ่งจะมีค่าแปรผกผันกับค่า F_{ST} ถ้า t มีค่าสูงแสดงว่าพืชในประชากรนั้นเป็นพืชชนิดผสมข้ามเป็นส่วนใหญ่ (คิดเป็น %)

2.8 Expected heterozygosity (H_e)

เป็นส่วนสำคัญของ heterozygous genotype ของประชากรที่มีการผสมพันธุ์แบบอิสระ (Hardy-Weinberg Equilibrium) ค่า heterozygosity จะเท่ากับ $2pq$ มีสัญลักษณ์เป็น H_e หากมีค่าต่ำแสดงว่ามี heterozygous genotype ในประชากรต่ำ

2.9 Observed heterozygosity (H_o)

เป็นค่าสังเกตของ heterozygosity ที่ประเมินจากแต่ละประชากรย่อย มีสัญลักษณ์เป็น H_o

2.10 Inbreeding coefficient (F_{IS})

เป็นการวัดสัดส่วนการลด heterozygosity ของ inbred subpopulations เทียบกับประชากรที่มีการผสมพันธุ์แบบอิสระ (random mating) มีสัญลักษณ์เป็น F_{IS} หากมีค่าต่ำแสดงว่ามี heterozygous genotype ในประชากรต่ำ เนื่องจากเกิดการผสมตัวเองในประชากรสูง

ค่า H_S H_T H_e และ H_o ได้จากโปรแกรม POPGEN เวอร์ชัน 3.2 (population genetic analysis version 3.2) และค่า F_{IS} ได้จากโปรแกรม MEGA เวอร์ชัน 2