ความหลากหลายทางพันธุกรรมและคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้งในข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงของประเทศไทย

Genetic diversity and physicochemical properties of starch in highland glutinous rice landraces of Thailand

กานต์พิชชา สายคำฟู[1], ศันสนีย์ จำจด[1,2] และ ต่อนภา ผุสดี[1,2*]

Kantpithcha Saicumfu[1], Sansanee Jamjod[1,2] and Tonapa Pusadee[1,2*]

บทคัดย่อ: ข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมือง เป็นแหล่งพันธุกรรมที่มีลักษณะที่เป็นประโยชน์ และมีความสำคัญต่อประชากรในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยสำหรับการบริโภคเป็นอาหารหลัก ปัจจัยสำคัญอันหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพการหุงต้มข้าวคือคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้ง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้งและความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงจำนวน 3 ชื่อพันธุ์ 13 ประชากรจากเกษตรกร 13 ราย โดยวิเคราะห์คุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้ง ความหลากหลายลักษณะทางสัณฐาน และระดับโมเลกุลด้วยเครื่องหมายโมเลกุลแบบ microsatellite จำนวน 12 ตำแหน่ง จากการวิเคราะห์คุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้งข้าวเหนียว พบว่าไม่มีข้าวเจ้าปนพิจารณาจากการติดสีสารละลายไอโอดีนที่ให้ผลการติดสีเป็นสีน้ำตาลทั้งหมด ส่วนการวิเคราะห์การสลายเมล็ดข้าวในด่าง และความคงตัวของแป้งสุกพบว่าข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่เป็นข้าวที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม การประเมินความหลากหลายลักษณะวิทยาสัณฐาน และระดับโมเลกุล พบความหลากหลายทั้งภายในและระหว่างประชากร โดยข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองแต่ละพันธุ์มีเอกลักษณ์ประจำพันธุ์ และมีความหลากหลายภายในประชากรต่ำโดยมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมเฉลี่ย (H_S) เท่ากับ 0.060 แต่มีค่าความแตกต่างระหว่างประชากรทั้งหมดสูง (F_{ST} = 0.871) โครงสร้างประชากรของข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงพบว่าแบ่งตามคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้ง (K=4) ซึ่งโครงสร้างทางพันธุกรรมของข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงที่พบว่ามีความหลากหลายภายในประชากรต่ำ แต่มีความหลากหลายและความแตกต่างระหว่างประชากรสูง และประชากรแบ่งตามคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้งนั้นอาจจะเป็นผลมาจากกระบวนการ genetic drift ที่เกิดจากการจำกัดพื้นที่และปริมาณการปลูก การปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมท้องถิ่น และการคัดเลือก รวมถึงการใช้ประโยชน์อย่างเฉพาะเจาะจงที่แตกต่างกันของเกษตรกร

คำสำคัญ: ข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่สูง, การใช้ประโยชน์, การคัดเลือก, ข้าวเหนียว, การปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมท้องถิ่น

Abstract: Glutinous rice landraces is valuable genetic resources and important to people in North and Northeast of Thailand as they consume glutinous rice as a stable food. One of the important factors that affect rice cooking quality is physicochemical properties of rice starch. Therefore, the objectives of this study were to determine genetic diversity and physicochemical properties of starch in highland glutinous rice landraces consisted of three varieties, totally 13

[1] สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200
Division of Agronomy, Department of Plant Science and Soil Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, 50200 Thailand

[2] ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200
Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, 50200 Thailand

* Corresponding author: Tonapha.p@cmu.ac.th

populations represented 13 farmers. The physicochemical properties of starch were evaluated, morphological traits were characterized and genetic diversity were assessed by using 12 microsatellite loci. The result of physicochemical properties showed that there was not non-glutinous type mixed in the glutinous rice landraces populations in the present study indicated by the iodine test. Alkali test and gel consistency indicated that most of the glutinous rice landraces were soft texture. Morphological characterization and genetic diversity analysis indicated that there were genetic variability within and between the glutinous rice landraces populations. Each glutinous rice landraces variety has unique character and displayed low genetic diversity within populations illustrated by average gene diversity (H_S=0.060) but displayed high level of genetic differentiation among populations. (F_{ST}=0.871). Population structure illustrated that glutinous rice landraces were assigned into 4 groups (K=4) based on physicochemical properties. Taken together, low level of within population genetic diversity, high level of genetic differentiation among populations and structured based on physicochemical properties of the glutinous rice landraces might be the consequence of genetic drift due to limited cultivation and utilization, adaptation to local environments and human selections including specifically utilizations of farmers.

Keywords: Highland rice landrace, Utilization, Selection, Glutinous rice, local adaptation

บทนำ

จุดเริ่มต้นของการเพาะปลูกข้าวเหนียวในประเทศไทย มีการค้นพบหลักฐานว่ามีการเพาะปลูกมาไม่น้อยกว่า 5,500 ปี ใน สปป. ลาวมากกว่า 1,100 ปี และในประเทศจีนมากกว่า 2,000 ปี (Terwiel, 1994) โดยข้าวเหนียวนิยมบริโภคเพียงแค่ประชากรบางกลุ่มเท่านั้น เช่น ประชากรของภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือของประเทศไทย และประชากรของ สปป. ลาว (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554) นอกจากบริโภคเป็นอาหารหลักของกลุ่มประชากรดังกล่าวแล้ว พบว่าข้าวเหนียวถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างจำกัด เช่น สำหรับประกอบพิธีกรรมทางศาสนา แปรรูปสำหรับแป้งทำขนม หรือหมักสำหรับทำสาโท เป็นต้น

เนื่องจากข้าวเหนียวถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างจำกัดดังที่กล่าวไว้ข้างต้น ทำให้ความสนใจในการศึกษาความหลากหลายของข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองมีน้อยและจำกัด เช่น Muto et al. (2016) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม ในข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองทางเหนือของ สปป. ลาว จำนวน 276 ตัวอย่าง (accessions) พบว่าข้าวเหนียวพื้นเมืองมีความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างตัวอย่างสูง ส่วนในประเทศอินเดียจากการศึกษาของ Rathi and Sarma (2012) พบว่าข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 106 ตัวอย่าง มีความหลากหลายระหว่างตัวอย่างสูงเช่นเดียวกับข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองจาก สปป. ลาว จากการศึกษาทั้งสอง แสดงให้เห็นว่าข้าวเหนียวพื้นเมืองยังคงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง นอกจากนั้นยังพบว่าข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองบางพันธุ์มีลักษณะพิเศษที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่นการศึกษาของ Laenoi et al. (2014) รายงานว่าข้าวเหนียวพันธุ์ปะอ้ายคูเพ่เป็นพันธุ์ข้าวที่พบบ่อยที่สุดในหมู่บ้านที่มีดินมีความเป็นกรดสูง เนื่องจากมีความสามารถทนต่อดินที่เป็นกรดอะลูมิเนียม และข้าวพันธุ์นี้ส่วนใหญ่แล้วเกษตรกรนิยมนำมาใช้ผลิตเหล้าและสาโท

คุณสมบัติเคมีกายภาพของข้าวเป็นหนึ่งในปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดคุณภาพการหุงต้มของข้าว เช่น ความคงตัวของแป้งสุก ข้าวที่มีค่าความคงตัวของแป้งสุกแข็ง เมื่อหุงต้มจะได้ข้าวที่แข็งกระด้างมากกว่าข้าวที่มีค่าความคงตัวแป้งสุกอ่อน ซึ่งความแตกต่างของคุณภาพการหุงต้มนั้น เกิดจากความแปรปรวนอันเนื่องมาจากพันธุกรรม ท้องถิ่นหรือสภาพภูมิประเทศที่ปลูก (Brown, 2000) รวมไปถึงการคัดเลือกของเกษตรกรซึ่งส่วนใหญ่จะคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่นิยมบริโภคภายในชุมชนไว้เป็นอันดับแรก นอกจากนั้นการทำเกษตรกรรมในพื้นที่สูงที่มีพื้นที่จำกัดส่งผลให้พืชมีการปรับตัวที่เกี่ยวข้องกับลักษณะสัณฐานที่ตอบสนองต่อการอยู่รอด รวมถึงตอบสนองต่อวัฒนธรรมของเกษตรกรในท้องถิ่น (Roder et al., 1996) ดังนั้นความหลากหลายทางพันธุกรรมและความผันแปรของลักษณะที่ปรากฏจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญ ดังนั้นงาน

วิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้งและความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงของประเทศไทยที่ปลูก คัดเลือกและเก็บรักษาโดยเกษตรกรในท้องถิ่น

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

พันธุ์ข้าว

เก็บรวบรวมข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงในภาคเหนือของประเทศไทยจำนวน 3 ชื่อพันธุ์ จากเกษตรกรจำนวน 13 ราย ได้แก่ พันธุ์ปะอ้ายคูเพ่ เก็บจาก 3 หมู่บ้าน จำนวน 5 ราย พันธุ์ข้าวซิว เก็บจาก 2 หมู่บ้าน จำนวน 3 ราย และพันธุ์ข้าวฮ้าว เก็บจาก 3 หมู่บ้าน จำนวน 5 ราย (**Table 1**) รวมเป็น 13 ประชากรและข้าวเหนียวพันธุ์ปรับปรุงเปรียบเทียบ 2 พันธุ์ได้แก่ เหนียวสันป่าตอง (NSPT) และ กข 4 (RD4) นำเมล็ดส่วนหนึ่งที่ได้จากเกษตรกรมาวิเคราะห์คุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้งและปลูกในกระถาง

Table 1 Passport information on 13 glutinous rice landraces of Thailand and 2 glutinous elite rice varieties in the present study

Rice type	Populations	Sources	Local names	Ethnic groups	Seed shapes	Subspecies types
Rice landraces	PAKP1	Mae Hong Son	Pa Ai Khupe	Karen	Large	*Indica*
	PAKP2	Mae Hong Son	Pa Ai Khupe	Karen	Slender	*Indica*
	PAKP3	Mae Hong Son	Pa Ai Khupe	Karen	Large	*Indica*
	PAKP4	Mae Hong Son	Pa Ai Khupe	Karen	Large	*Indica*
	PAKP5	Mae Hong Son	Pa Ai Khupe	Karen	Bold	*Indica*
	KS1	Chiang Rai	Khaosew	Khamu	Slender	*Indica*
	KS2	Chiang Rai	Khaosew	Khamu	Slender	*Indica*
	KS3	Chiang Rai	Khaosew	Khamu	Slender	*Indica*
	KH1	Mae Hong Son	Khaohao Lhang	Shan	Bold	*Indica*
	KH2	Mae Hong Son	Khaohao	Shan	Slender	*Indica*
	KH3	Mae Hong Son	Khaohao Khao	Shan	Slender	*Indica*
	KH4	Mae Hong Son	Khaohao	Shan	Bold	*Indica*
	KH5	Mae Hong Son	Khaohow	Shan	Bold	*Indica*
Glutinous elite rice	NSPT	DOA*	-	-	Slender	*Indica*
	RD4	DOA*	-	-	Slender	*Indica*

* Department of Agriculture, Thailand

เพื่อประเมินลักษณะวิทยาสัณฐาน และวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

การประเมินคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้ง

การทดสอบชนิดข้าวสาร โดยการทดสอบด้วยสารละลายไอโอดีน (KI/I_2) อัตรา 1 กรัมต่อน้ำกลั่น 100 มล. ตามวิธีการของงามชื่น (2547)

การทดสอบการสลายเมล็ดข้าวในด่าง (Alkaline test) ตามวิธีทดสอบหาปริมาณข้าวเจ้าอื่นที่ไม่ใช่ข้าวหอมมะลิไทยปน (งามชื่น, 2547) จำนวน 3 ซ้ำ สุ่มเมล็ดข้าวจำนวน 100 เมล็ด แล้วแกะเปลือก นำข้าวสารหักครึ่งเมล็ดและวางในจานแก้วใส เติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 1.7 % จานละ 50 มล. ให้ท่วมเมล็ด แล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ขยับเขยื้อนเป็นเวลา 23 ชั่วโมง พิจารณาระดับสลายเมล็ดข้าวในด่าง โดยข้าวที่มีระดับการสลายตัวในด่างระดับ 1-3 มีลักษณะแข็ง ข้าวที่มีระดับการสลายตัวในด่างระดับ 4-5 มีลักษณะแข็งปานกลาง ข้าวที่มีระดับการสลายตัวในด่างระดับ 6-7 มีลักษณะอ่อนนุ่มหลังจากทิ้งไว้ให้เย็นหลังการหุงต้ม

การวิเคราะห์ค่าความคงตัวแป้งสุก (Gel Consistency) ประยุกต์จากวิธีของ Cagampang et al. (1973) โดยใช้ตัวอย่างข้าวขาวที่บดละเอียด ชั่งแป้งข้าว

ปริมาณ 0.10 กรัม จากนั้นเติมไทมอลบลู ปริมาตร 0.2 มล. และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.2 นอร์มัล ปริมาณ 2 มล. แล้วนำไปปั่นให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าสาร เพื่อให้แป้งลอยตัว แล้วต้มหลอดทดลองในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ จนน้ำแป้งในหลอดขึ้นสูง 2/3 ของหลอด จากนั้นนำไปปั่นอีกครั้ง แล้วแช่ในน้ำเย็นจัดที่มีน้ำแข็งนาน 20 นาที นำไปวางในแนวราบบนกระดาษ 30 นาที วัดค่าระยะทางที่แป้งไหลไป โดยใช้พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) (ความคงตัวแป้งสุกอ่อน) เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ และจำแนกประเภทดังนี้ แป้งสุกแข็ง (ระยะทางที่ไหลน้อยกว่า 40 มม.) แป้งสุกปานกลาง (ระยะทาง 40-60 มม.) และแป้งสุกอ่อน (ระยะทางมากกว่า 60 มม.)

การประเมินความหลากหลายโดยอาศัยลักษณะวิทยาสัณฐาน

ปลูกตัวอย่างข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองและข้าวพันธุ์เปรียบเทียบ ณ โรงเรือนทดลอง สาขาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเพาะในแก้วพลาสติก 1 ใบ ต่อ ข้าวพันธุ์พื้นเมือง 1 ประชากร เมื่ออายุครบ 2 สัปดาห์ ย้ายปลูกในกระถางพลาสติกที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 ซม. จำนวน 10 ต้นต่อกระถาง ปลูกประชากรละ 20 ต้น และใส่ปุ๋ย 16-0-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ โดยให้อยู่ในสภาพน้ำขังในกระถางตลอดเวลา เมื่อข้าวถึงระยะแตกกอ เก็บตัวอย่างใบที่มีอายุ 30 วัน แบบแยกต้นในซิลิกาเจล เก็บเป็นตัวอย่างแห้งเพื่อรักษาสภาพดีเอ็นเอ สำหรับนำไปวิเคราะห์ในระดับโมเลกุลต่อไป บันทึกลักษณะทรงกอ การมีขนบนแผ่นใบ สีแผ่นใบ สีกาบใบ รูปร่างลิ้นใบ สีลิ้นใบ สีหูใบ สีข้อ สีปล้อง และสีข้อต่อใบ ระยะออกดอก เมื่อข้าวที่ศึกษาออกดอกประมาณ 50 % บันทึกลักษณะสียอดดอก สียอดเกสรตัวเมีย การยื่นโผล่ของเกสรตัวเมีย ความยาวของเกสรตัวเมีย ความยาวเกสรตัวผู้ สีกลีบรองดอก ลักษณะรวง การโผล่พ้นคอรวง มุมของใบธง และการมีหาง และระยะสุกแก่ สีเปลือก การมีขนบนเปลือก และสีเยื่อหุ้มเมล็ด โดยบันทึกลักษณะตามมาตรฐานต้นข้าวของ IBPGR-IRRI (1980)

การสกัดดีเอ็นเอและการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

นำตัวอย่างใบแห้งที่เก็บไว้ข้างต้นประชากรละ 5 ต้น บดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วจึงนำไปสกัดดีเอ็นเอแบบแยกต้นโดยวิธี CTAB ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Doyle and Doyle (1987) นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยปฏิกิริยา Polymerase chain reactions (PCR) โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบ Microsatellite จำนวน 12 ตำแหน่ง (**Table 2**) โดยความเข้มข้นของ Forward และ Reverse primers 10 ng/µL, 0.2 mM Deoxyribonucleotides (dNTP), 2.5 mM $MgCl_2$ และ 0.5 unit *Taq* DNA polymerase โปรแกรมควบคุมอุณหภูมิของปฏิกิริยา PCR คือ denaturing 94°C ตามด้วย 40 รอบของ 94°C 30 วินาที, 50-55°C 30 วินาที และ 72°C 30 วินาที และ final extension ที่ 72°C 5 นาที แล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก PCR ไปตรวจสอบด้วย 10 % polyacrylamide gel electrophoresis เพื่อนำไปดูแถบดีเอ็นเอ จากการย้อมสี MaestroSafe™ Nucleic Acid Stains (MAESTROGEN, Taiwan) ภายใต้แสงของเครื่อง UV transilluminator บันทึกภาพด้วยกล้องดิจิตอล ให้คะแนนการเกิดแถบดีเอ็นเอตามน้ำหนักโมเลกุล และวิเคราะห์ชนิดย่อย (subspecies types: *indica* หรือ *japonica*) โดยใช้ organelle markers จำนวน 3 ตำแหน่ง ตามวิธีของ Okoshi (2015)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์การสลายเมล็ดข้าวในด่างและค่าความคงตัวแป้งสุก คำนวณความถี่ในการกระจายตัวของประชากร (frequency), ค่าเฉลี่ย (mean), ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV%) วิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐาน โดยใช้ค่าความหลากหลาย Shannon-Weaver Index *H'* (Shannon and Weaver, 1949) และ normalization ค่า *H'* ตามวิธีการของ Pielou (1966)

วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างของประชากร โดยคำนวณค่า average gene diversity (H_S), total gene diversity (H_T) และ genetic differentiation among populations (F_{ST}) โดยโปรแกรม FSTAT version 2.9.3 โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรวิเคราะห์ด้วยวิธี Markov Chain Monte Carlo (MCMC) โดยใช้โปรแกรม STRUCTURE version 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) โดยตั้งค่า parameter set ค่า USEPOPINFO และค่า K ตั้งแต่ 1-10 จำนวน K ละ 5 ซ้ำ ที่ burn-in period จำนวน 500,000 step และ MCMC จำนวน 500,000 step เลือกกลุ่ม (K) ด้วยการประมาณ ad

Table 2 Detail of SSR markers used in the present study

Locus	CL	Repeat Motif	Primer sequence (5'-3')*	size (bp)	n	Ne	I	PIC
RM84	1	(TCT)10	F 5'-TAAGGGTCCATCCACAAGATG-3'	113	4	1.05	0.08	0.15
			R 5'-TTGCAAATGCAGCTAGAGTAC-3'					
RM318	2	(GT)15	F 5'-GTACGGAAAACATGGTAGGAAG-3'	134-154	3	1.04	0.04	0.02
			R 5'-TCGAGGGAAGGATCTGGTC-3'					
RM251	3	(CT)29	F 5'-GAAtGGCAATGGCGCTAG-3'	95-154	3	1.04	0.14	0.76
			R 5'-ATGCGGTTCAAGAATCGATC-3'					
RM241	4	(CT)31	F 5'-GAGCCAAATAAGATCGCTGA-3'	100-160	6	1.12	0.09	0.68
			R 5'-TGAAAGCAGCAGATTTAGTG-3'					
RM122	5	(GA)7A(GA)	F 5'-GAGTCGATGTAATGTCATCAGTGC-3'	227	10	1.04	0.46	0.02
		2A(GA)11	R 5'-GAAGGAGGTATCGCTTTGTTGGAC-3'					
RM584	6	(CT)14	F 5'-AGAAAGTGGATCAGGAAGGC-3'	169	6	1.08	0.58	0.42
			R 5'-GATCCTGCAGGTAACCACAC-3'					
RM481	7	(CAA)12	F 5'-TAGCTAGCCGATTGAATGGC-3'	133-176	4	1.07	0.83	0.53
			R 5'-CTCCACCTCCTATGTTGTTG-3'					
RM477	8	(AATT)5	F 5'-TCTCGCGGTATAGTTTGTGC-3'	218-227	4	1.47	0.50	0.32
			R 5'-ACCACTACCAGCAGCCTCTG-3'					
RM316	9	(GT)8-(TG)	F 5'-CTAGTTGGGCATACGATGGC-3'	152-251	5	2.13	1.92	0.48
		9(TTTG)4(TG)4	R 5'-ACGCTTATATGTTACGTCAAC-3'					
RM258	10	(GA)21(GGA)3	F 5'-TGCTGTATGTAGCTCGCACC-3'	148	8	1.92	0.67	0.48
			R 5'-TGGCCTTTAAAGCTGTCGC-3'					
RM167	11	(GA)16	F 5'-GATCCAGCGTGAGGAACACGT-3'	128	6	1.47	0.69	0.50
			R 5'-AGTCCGACCACAAGGTGCGTTGTC-3'					
RM247	12	(CT)16	F 5'-TAGTGCGCATCGATGTAACG-3'	119-173	5	1.15	0.61	0.57
			R 5'-CATATGGTTTTGACAAAGCG-3'					

* F-forward, R-reverse (www.gramene.org), CL=Chromosome location, n=number of alleles per locus, ne=Effective number of alleles per locus, I=Shannon's information index, PIC=Polymorphism information content

hoc statistic ΔK จากจำนวนกลุ่ม (K) ทั้งหมดที่ได้จากโปรแกรม STRUCTURE ใน structure harvester และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวอย่าง โดยวิธี Cluster analysis ด้วยโปรแกรม POPGENE นำค่าระยะห่างระหว่างพันธุกรรม (genetic distance) มาจัดกลุ่มด้วย Unweightrd Pair Group Method with Arithmetic mean (UPGMA) ด้วยโปรแกรม Powermarker version 3.25 และสร้าง dendrogram โดยใช้โปรแกรม MEGA7

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ลักษณะคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้ง

ข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงที่นำมาศึกษาทั้ง 3 พันธุ์ส่วนใหญ่ (77%) มีระดับการสลายเมล็ดข้าวในด่าง (alkali test) อยู่ที่ระดับ 6 และ 7 แสดงว่ามีลักษณะอ่อนนุ่มหลังจากทิ้งไว้ให้เย็นหลังการหุงต้ม ข้าวชิวทุกประชากรเป็นข้าวที่อ่อนนุ่ม ส่วนข้าว

ปะอ้ายคู่เพ่ และข้าวฮ้าวพบว่าประชากรปะอ้ายคู่เพ่ 5 (PAKP5) และข้าวฮ้าว 4 และ 5 (KH4, KH5) เป็นข้าวแข็ง เนื่องจากมีระดับการสลายเมล็ดข้าวในด่างอยู่ที่ระดับต่ำกว่า 6 (Table 3) เช่นเดียวกับค่าความคงตัวของแป้งสุก (gel consistency) ที่จะบ่งบอกว่าข้าวที่หุงสุกแล้วเมื่อปล่อยให้เย็นลงจะมีลักษณะของแป้งสุกเป็นชนิดแข็งกระด้าง ปานกลาง หรืออ่อนนั้น พบว่าข้าวชิว และข้าวฮ้าวทุกประชากรมีลักษณะของแป้งสุกเป็นชนิดปานกลาง ส่วนข้าวปะอ้ายคู่เพ่นั้นพบว่ามีลักษณะของแป้งสุกเป็นชนิดปานกลาง ยกเว้นประชากร PAKP5 ที่พบว่ามีลักษณะของแป้งสุกเป็นชนิดแข็งกระด้าง (Table 3) ซึ่งความแตกต่างของระดับการสลายเมล็ดข้าวในด่าง และค่าความคงตัวแป้งสุกที่พบข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่ถึงแม้จะมีชื่อเดียวกัน อาจจะเนื่องจากสภาพพื้นที่ สภาพภูมิอากาศ รวมถึงการเพาะปลูกที่แตกต่างกัน ส่งผลทำให้ข้าวมีคุณภาพที่แตกต่างกัน (Chen et al., 2012) นอกจากนี้การเรียกชื่อพันธุ์ข้าวของเกษตรกรนั้นอาจเป็นการตั้งชื่อตามรูปพรรณสัณฐานที่พบ เช่น ข้าวพันธุ์ปะอ้าวคู่เพ่ เป็นภาษากะเหรี่ยง (Table 1) ซึ่งหมายถึงข้าวเหนียวขาวและมีเมล็ดใหญ่ เกษตรกรนิยมนำมาใช้หมักสำหรับทำสาโท ส่วนข้าวฮ้าว เป็นภาษาไทใหญ่ ซึ่งหมายถึงข้าวเหนียวที่มีลักษณะแข็งและมีเมล็ดป้อม ซึ่งการตั้งชื่อพันธุ์ข้าวพื้นเมืองนั้นบางครั้งเกษตรกรจะตั้งชื่อตามลักษณะรูปพรรณสัณฐานที่พบ (ฉวีวรรณ, 2543) จึงทำให้ข้าวที่มีชื่อพันธุ์เดียวกัน จริง ๆ แล้วอาจมีพันธุกรรมที่แตกต่างกันก็เป็นได้ รวมถึงความชอบในการบริโภคข้าวที่แตกต่างกันของเกษตรกรแต่ละราย ทำให้เกษตรกรแต่ละรายคัดเลือก และเก็บรักษาข้าวที่แตกต่างกัน (วราภรณ์ และคณะ, 2558)

ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ให้ผลเช่นเดียวกันกับ วราภรณ์และคณะ (2558) ที่ศึกษาความแปรปรวนของคุณภาพการหุงต้มในข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงรายและแม่ฮ่องสอน พบว่าข้าวพื้นเมืองมีลักษณะของแป้งสุกทั้ง 2 แบบ คือ ชนิดแข็งกระด้างและอ่อน ในจังหวัดเชียงรายมีพันธุ์ข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกแข็ง ส่วนในจังหวัดแม่ฮ่องสอนมีอุณหภูมิแป้งสุกอ่อน ซึ่งความแตกต่างที่เกิดขึ้นนั้นอาจเกิดจากการเก็บและคัดเลือกพันธุ์ของเกษตรกรในพื้นที่ต่างๆ ที่จะคัดเลือกจากลักษณะวิทยาสัณฐานเป็นสำคัญมากกว่าการวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมี ซึ่งรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าในการคัดเลือกพันธุกรรมข้าวจากลักษณะทางสัณฐานของเมล็ดที่เหมือนกันมีชื่อเรียกเหมือนกัน แต่กลับพบว่าเป็นข้าวคนละพันธุ์กัน

Table 3 Alkali test at level 6 and 7, and gel consistency of 13 glutinous rice landraces and 3 check varieties.

Populations	Physicochemical properties of starch			
	Alkali test level 6 and 7 (%)		Gel consistency (mm.)	
PAKP1	89	b	66.67	def
PAKP2	83	bc	77.00	b
PAKP3	89	b	66.00	def
PAKP4	95	a	75.33	bc
PAKP5	15	e	47.33	jk
KS1	87	b	65.00	ef
KS2	82	bc	71.00	cd
KS3	71	de	64.67	ef
KH1	78	de	59.00	hi
KH2	74	de	62.33	fj
KH3	78	de	56.00	hi
KH4	13	ef	54.61	hi
KH5	11	g	52.33	ij
NSPT	76	de	69.00	de
RD4	11	g	42.67	k
KDML105	100	a	88.00	a
LSD 0.05	7.31		5.65	
F-test	*		*	
CV (%)	1.4		1.69	

*significant at P<0.05

ลักษณะวิทยาสัณฐาน

จากการศึกษาลักษณะวิทยาสัณฐานพบว่าข้าวพันธุ์เปรียบเทียบทั้ง 2 พันธุ์ ไม่มีความหลากหลายทั้งภายในและระหว่างประชากร (*H'* = 0) ส่วนข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงที่ศึกษาจำนวน 13 ประชากร 3 ชื่อพันธุ์ พบว่าทุกประชากรมีสีลิ้นใบและสีกลีบรองดอกเป็นสีขาว มีความยาวเกสรตัวเมียประมาณครึ่งดอก และไม่มีหางข้าว แต่พบว่ามี 15 ลักษณะที่มีความหลากหลายทั้งภายในและระหว่างประชากร (**Figure 1**) โดยข้าวฮ้าวพบว่ามีความหลากหลายภายในพันธุ์สูงที่สุด มีลักษณะที่มีความหลากหลายระหว่างประชากรภายในพันธุ์ 13 ลักษณะ (total *H'* = 13.75) รองลงมาได้แก่ข้าวปะอ้ายคู่เพ่ 7 ลักษณะ (total *H'* = 12.43) และข้าวซิวมีความหลากหลายภายในพันธุ์ต่ำที่สุด 9 ลักษณะ (total *H'* = 8.58) (**Figure 1**) ความหลากหลายภายพันธุ์ที่พบในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าข้าวที่มีชื่อพันธุ์เดียวกันอาจจะมีลักษณะวิทยาสัณฐานที่แตกต่างกันไปอาจเกิดจากผสมข้ามและการแลกเปลี่ยนยีน (gene flow) เนื่องจากในพื้นที่เดียวกันและพื้นที่ใกล้เคียงเกษตรกรมีการปลูกข้าวมากกว่าหนึ่งพันธุ์ ซึ่งข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีอัตราการผสมข้าม (~4%) สูงกว่าข้าวพันธุ์ปรับปรุง (~2%) (Amgain, 2005) ส่งผลให้ประชากรในรุ่นลูกมีความหลากหลาย นอกจากนี้อาจเป็นผลที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงในวิวัฒนาการระหว่างการปลูกข้าวภายใต้สภาพแวดล้อมและกิจกรรมของเกษตรกรที่เปลี่ยนไปโดยมีผลกระทบนำไปสู่การคัดเลือกเมล็ดพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป (Wang et al., 2016)

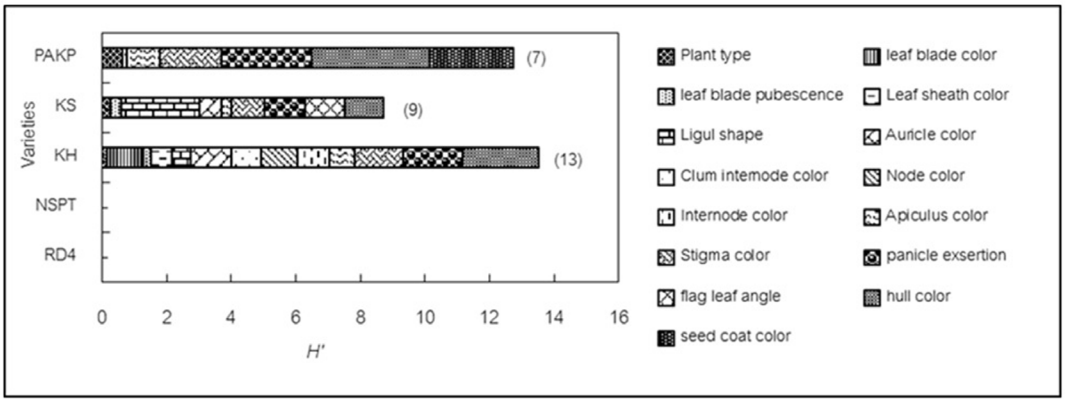

Figure 1 Shannon's index (*H'*) for 15 morphological traits of glutinous landrace rice and 2 glutinous elite rice varieties. Numbers in the parentheses represent number of polymorphic traits.

การแยกชนิดย่อยของข้าว (Subspecies types)

การวิเคราะห์แยกชนิดย่อย (subspecies type) โดยใช้ organelle markers จำนวน 3 ตำแหน่ง พบว่าข้าวเหนียวพื้นเมืองทั้ง 3 พันธุ์มี subspecies type เป็นชนิด *indica* ทั้งหมด (**Table 1**)

ความหลากหลายทางพันธุกรรม

การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบ microsatellite จำนวน 12 ตำแหน่ง พบข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 3 ชื่อพันธุ์มีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมเฉลี่ยภายในพันธุ์ต่ำ (H_S=0.058) แต่มีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมรวมสูง (H_T=0.456) โดยข้าวพันธุ์ปะอ้ายคูเพ่ มีค่าความหลากหลายเฉลี่ยภายในพันธุ์ (H_S) ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.020 แต่มีค่า H_T สูงที่สุดเท่ากับ 0.460 (**Table 4**) ตรงกันข้ามกับข้าวฮ้าวที่มีค่า H_S สูงเท่ากับ 0.110 แต่มีค่า H_T สูงเท่ากับ 0.434 นอกจากนี้ข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 3 ชื่อพันธุ์ยังมีค่าความแตกต่างระหว่างประชากรสูง (F_{ST}=0.871) เช่นเดียวกับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวในยูนนาน (Tu et al., 2007) ที่พบว่าทั้งข้าวพันธุ์พื้นเมืองและข้าวพันธุ์ปรับปรุงทั้งหมด 60 พันธุ์มีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม (H_e) อยู่ในช่วง 0.092-0.696 และมีค่า F_{ST} สูงคือ 0.871 ซึ่งหมายความว่าความแปรปรวนทั้งหมดที่เกิดขึ้นเกิดจากความแปรปรวนภายใน

ประชากรเพียงแค่ 13% แต่เกิดจากความแปรปรวนระหว่างประชากรถึง 87% ทั้งนี้อาจกล่าวได้ว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรต่ำ แต่มีความหลากหลายรวมและความแตกต่างระหว่างประชากรสูง เนื่องจากข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองนั้นมีการปลูกและการใช้ประโยชน์อย่างจำกัด พื้นที่ปลูกน้อยเนื่องจากไม่ต้องการปริมาณข้าวที่มากเนื่องจากส่วนใหญ่ข้าวเหนียวจะถูกใช้ในพิธีกรรม ทำขนม หรือสาโท ทำให้บางจีโนไทป์ (genotypes) ถูกคัดเลือก และปลูกต่อ บางจีโนไทป์ที่ไม่ถูกคัดเลือกก็จะหายไปจากประชากร ทำให้ความหลากหลายภายในประชากรต่ำ ส่วนความหลากหลายรวมที่สูงในข้าวแต่ละพันธุ์อาจเป็นผลมาจากการปรับต่อสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน รวมถึงการคัดเลือกของเกษตรกรแต่ละรายที่มีความชอบข้าวที่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Pusadee et al. (2009) และ Pusadee et al. (2014) ที่ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองพันธุ์บือชอมีและเหมยนอง ตามลำดับ พบว่าข้าวพื้นเมืองส่วนใหญ่ความหลากหลายรวมสูง เนื่องจากผลจากการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมท้องถิ่นที่ต่างกัน และการคัดเลือกตามความความชอบที่แตกต่างกันของเกษตรกร ส่งผลทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างประชากรและพันธุ์สูง

Table 4 Genetic parameters of glutinous rice landraces based on 12 SSR loci

Varieties	N	n	*H'*	H_S	H_T	F_{ST}
PAKP	5	25	12.427	0.020	0.460	0.953
KS	3	15	8.913	0.050	0.457	0.901
KH	5	25	13.757	0.110	0.434	0.758
Total highland glutinous rice landraces	13	75	56.107	0.060	0.456	0.871
Total Glutinous elite rice	2	10	0	0	0.125	1

Number of accession (N), number of individuals (n), Shannon Index for morphological traits (*H'*), average gene diversity (H_S), total gene diversity (H_T), and genetic differentiation (F_{ST})

โครงสร้างทางพันธุกรรม

การจัดกลุ่มโครงสร้างทางพันธุกรรมของข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองสามารถแบ่งกลุ่มข้าวออกเป็น 4 กลุ่ม (K=4) (**Figure 2**) สอดคล้องกับคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้ง ได้แก่ กลุ่มข้าวที่แข็งมาก (RD4 และ PAKP5) กลุ่มข้าวที่ค่อนข้างแข็ง (KH4 และ KH5) กลุ่มข้าวที่มีความเหนียวนุ่มปานกลาง (KH3, KH1, KH2 และ KH3) และกลุ่มข้าวที่มีความเหนียวนุ่มมาก (PAKP1, PAKP2, PAKP3, PAKP4, KS1, KS2 และ NSPT) โดยทุกต้นในแต่ประชากรมีจีโนไทป์ที่เหมือนกันทั้ง 5 ต้น แสดงให้เห็นว่าข้าวเหนียวแต่ละประชากรเป็น Homogenous population นอกจากนี้ข้าวเหนียวพื้นเมืองที่ถูกจัดกลุ่มให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน แสดงว่ามีจีโนไทป์เหมือนกัน ซึ่งทำให้เห็นว่าผลการจัดกลุ่มโครงสร้างทางพันธุกรรมสะท้อนถึงการคัดเลือกของเกษตรกรเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ เช่น คัดเลือกข้าวนุ่ม หรือข้าวแข็ง ส่งผลต่อโครงสร้างทางพันธุกรรม เนื่องจากการคัดเลือกของเกษตรกรส่งผลต่อจีโนไทป์ที่ถูกคัดเลือกหรือคัดทิ้ง ส่วนใหญ่เกษตรกรนิยมนำข้าวเหนียวมาหมักสาโท ทำขนมหรือพิธีกรรมทางศาสนา ซึ่งเกษตรกรจะคัดเลือกข้าวมาใช้ประโยชน์แต่ละชนิดที่แตกต่างกัน รวมถึงการปลูก และการเก็บรักษาพันธุ์ของเกษตรกรแต่ละรายหรือแต่ละชนเผ่า รวมถึงการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมท้องถิ่นที่แตกต่างกัน ซึ่งผลการประเมินที่ได้ในการศึกษาครั้งนี้ให้ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาการคัดเลือกโดยธรรมชาติและการคัดเลือกโดยเกษตรกรในข้าวพันธุ์เหมยนอง พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มโครงสร้างของประชากรข้าวเหมยนองออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มข้าวเจ้าที่เป็นพันธุ์ต้านทานต่อแมลง กลุ่มข้าวเจ้าที่เป็นพันธุ์อ่อนแอต่อแมลง และกลุ่มพันธุ์ที่มีแป้งในเอนโดสเปิร์มเป็นชนิดข้าวเหนียว (Pusadee et al., 2014) เช่นเดียวกันกับการแบ่งกลุ่มโดยใช้แผนผังความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Dendrogram) ที่ใช้ค่าระยะห่างระหว่างพันธุกรรม

จาก Chord (1967) พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มข้าวออกเป็น 4 กลุ่ม โดยจำแนกความสัมพันธ์ตามคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งเช่นกัน (Figure 3)

ในการศึกษาครั้งนี้ความหลากหลายที่พบทั้งในลักษณะวิทยาสัณฐานและระดับดีเอ็นเอนี้น่าจะเป็นผลเนื่องจากการคัดเลือก (selection) และการแลกเปลี่ยนเมล็ดพันธุ์ (seed exchange) ของเกษตรกรทั้งการแลกเปลี่ยนระหว่างหมู่บ้าน และระหว่างชนเผ่า (Pusadee, 2009) และบางครั้งชื่อพันธุ์ต่างกันแต่พบว่าเป็นพันธุ์เดียวกันหรือตรงกันข้ามชื่อพันธุ์เดียวกันอาจจะเป็นคนละพันธุ์ (Watabe, 1967) หรืออาจเกิดจากผสมข้ามและการแลกเปลี่ยนยีน (gene flow) เนื่องจากในพื้นที่เดียวกันและพื้นที่ใกล้เคียงเกษตรกรมีการปลูกข้าวมากกว่าหนึ่งพันธุ์ ส่งผลให้ประชากรในรุ่นลูกมีความหลากหลายที่สูง นอกจากนี้ความแปรปรวนตามสภาพแวดล้อมทำให้ลักษณะวิทยาสัณฐานเปลี่ยนแปลงไป เพราะมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในแต่ละท้องถิ่นได้แตกต่างกันไปในแต่ละพันธุ์ (Harlan, 1992) รวมถึงอาจเป็นผลที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงในวิวัฒนาการระหว่างการปลูกข้าวภายใต้สภาพแวดล้อมและกิจกรรมของเกษตรกรที่เปลี่ยนไปโดยมีผลกระทบนำไปสู่การคัดเลือกเมล็ดพันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป (Wang et al., 2016)

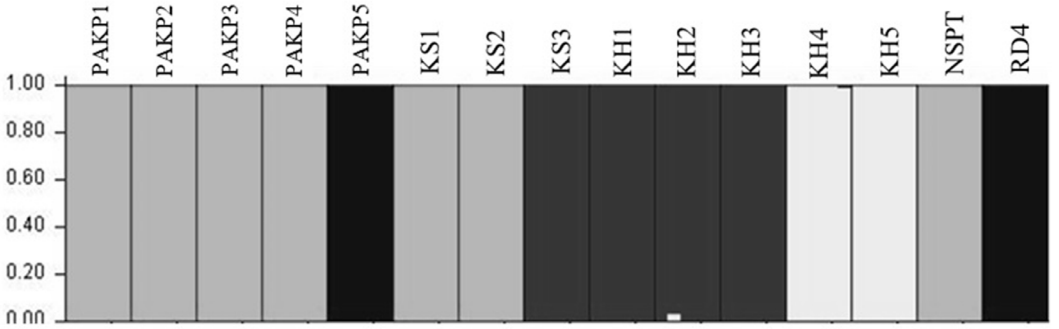

Figure 2 Population assignment using structure analysis of 13 glutinous rice landraces populations and 2 glutinous elite rice varieties based on 12 microsatellite loci. Different colors represent different inferred populations (K=4). Each bar representing each population consists of 5 individuals.

สรุป

ข้าวเหนียวพื้นเมืองทั้ง 3 ชื่อพันธุ์จำนวน 13 ประชากรที่ศึกษา พบความหลากหลายของค่าการสลายเมล็ดข้าวในด่างและค่าความคงตัวของแป้งสุก โดยข้าวเหนียวพันธุ์พื้นพื้นเมืองส่วนใหญ่มีค่าการสลายตัวอยู่ในระดับ 6-7 ซึ่งเมล็ดข้าวจะมีลักษณะอ่อนนุ่มหลังจากทิ้งไว้ให้เย็นหลังการหุงต้มและมีค่าความคงตัวของแป้งสุกสูงซึ่งทำให้มีคุณภาพในการหุงต้มที่ดี

ความหลากหลายทางพันธุกรรม พบว่าข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 13 ประชากร มีความหลากหลายภายในของประชากร (H_S) ต่ำ แต่มีความหลากหลายรวม (H_T) และความแตกต่างระหว่างประชากรทั้งหมดสูง (F_{ST}) ความหลากหลายที่พบในข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 13 ประชากรเกิดจากความแปรปรวนระหว่างประชากรมากกว่าภายในประชากร และความหลากหลายภายในประชากรที่มีชื่อพันธุ์เดียวกัน แสดงให้เห็นว่าข้าวแต่ละประชากรเข้าสู่ homozygosity และเป็น homogenous population แต่อย่างไรก็ตามพบความแตกต่างระหว่างประชากรภายในชื่อพันธุ์เดียวกันสะท้อนให้เห็นถึงผลของ genetic drift ที่เกิดจากการคัดเลือกของเกษตรกรแต่ละรายที่คัดเลือกเก็บเฉพาะบางจีโนไทป์ที่ตนเองชอบ เนื่องจากการนำข้าวเหนียวมาใช้ประโยชน์อย่างจำกัด รวมถึงการปรับต่อสภาพแวดล้อมท้องถิ่นที่แตกต่างกัน

นอกจากนี้ข้าวเหนียวพื้นเมืองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถแบ่งกลุ่มประชากรออกเป็น 4 กลุ่มตามคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้ง โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มข้าวที่แข็งมาก กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มข้าวที่ค่อนข้างแข็ง กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มข้าวที่มีความเหนียวนุ่มปานกลาง

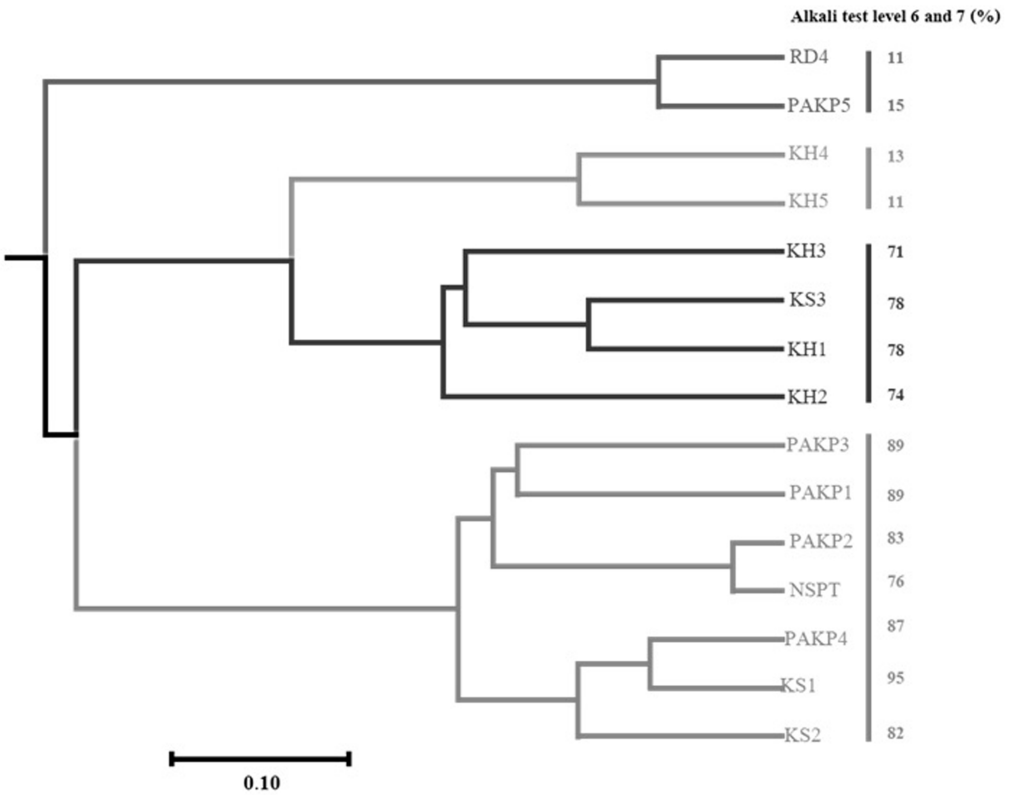

Figure 3 Cluster analysis using NJ method based on Chord (1967) genetic distance of 13 glutinous rice landrace populations and 2 glutinous elite rice varieties based on 12 microsatellite loci. Different colors represent different inferred populations based on STRUCTURE's results associated with alkaline test.

และกลุ่มที่ 4 กลุ่มข้าวที่มีความเหนียวนุ่มมาก ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงทางภาคเหนือของประเทศไทยส่วนใหญ่มีคุณสมบัติเคมีกายภาพของแป้งที่อ่อนนุ่มสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไปในอนาคตได้ และมีความหลากหลายรวมภายในพันธุ์สูง ความแตกต่างระหว่างประชากรภายในพันธุ์สูงและความแตกต่างระหว่างพันธุ์สูง ดังนั้นการกำหนดแนวทางอนุรักษ์ข้าวพันธุ์พื้นเมืองเพื่อรักษาความแตกต่างระหว่างประชากรภายในพันธุ์ควรมุ่งเน้นการอนุรักษ์แบบ *ex situ* ที่ครอบคลุมการกระจายตัวของพันธุ์ข้าวนั้น ๆ อย่างไรก็ตามยังคงต้องมีการอนุรักษ์แบบ on-farm และ *in situ* ในแต่ละพื้นที่สำหรับกระบวนการวิวัฒนาการที่เกิดขึ้นโดยการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมท้องถิ่น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดแม่ฮ่องสอนและเชียงรายที่อนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์สำหรับการทำวิจัย ขอขอบคุณงบประมาณในการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ขอขอบคุณ CMUPN*lab* ที่ให้การสนับสนุนและใช้ห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนวิจัยในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

งามชื่น คงเสรี. 2547. คุณภาพข้าวและการตรวจสอบข้าวหอมมะลิไทย. เอกสารวิชาการกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 124 หน้า.

ฉวีวรรณ วุฒิญาโน. 2543. ข้าวพื้นเมืองไทย. เอกสารวิชาการ ศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติ ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี. สถาบันวิจัยข้าว. กรมวิชาการเกษตร. 215 หน้า.

ภานุวัฒน์ ปัญญะการ. 2556. การประเมินลักษณะและผลผลิตของข้าวพันธุ์พื้นเมืองเหมยนองชนิดข้าวเจ้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

วราภรณ์ กันทะวงค์, ศันสนีย์ จำจด, นริศ ยิ้มแย้ม และ ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย. 2558. ความแปรปรวนของคุณภาพการหุงต้มในข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และแม่ฮ่องสอน. แก่นเกษตร. 43: 687-698.

ศูนย์ไทใหญ่ศึกษา. 2550. พืชพื้นบ้าน. วิทยาลัยชุมชนแม่ฮ่องสอน, แม่ฮ่องสอน.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. สถานการณ์การผลิตข้าว ปี 2553. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กรุงเทพฯ

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Amgain, R.B. 2005. Gene flow assessment among rice (*Oryza sativa* L) landraces. M.S. Thesis. Tribhuwan University, Institute of Agriculture and Animal Science, Rampur, Chitwan, Nepal.

Brown, A.H.D. 2000. The genetic structure of crop landrace and the challenge to conserve them in Situ on farm. In Gene in the flied. On-Farm Conservation of Crop Diversity, Lewis Publishing Co, U.S.A.

Brown, A.H.D., M.T. Clegg, A.L. Kahler, and B.S. Weir. 1990. Plant Population Genetics: Breeding and Genetic Resources. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Cagampang, G.B., C.M. Perez, and B.O. Juliano. 1973. A gel consistency test for eating quality of Rice. J. Science. Food Agric. 24: 1589-1594.

Chen, M., S. Choi, N. Kozukue, H. Kim, and M. Friedman. 2012. Growth-inhibitory effects of pigmented rice bran extracts and three red bran fractions against human cancer cells: Relationships to composition and antioxidative activities. J. Agric. Food Chem. 60: 9151-9161.

Doyle, J.J., and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation Procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Focus. Phytochem. Bull. Bot. Soc. Am. 19: 11-15.

Goodman, M.M. 1972. Distance analysis in biology. Syst. Zool. 21: 174-186.

Harlan, J R. 1992. Crops & Men. 2nd Edition. Madision. Wisconsin, USA. pp. 284.

IBPGR-IRRI Rice Advisory Committee, & International Board for Plant Genetic Resources. 1980. Descriptors for Rice, *Oryza Sativa* L. Int. Rice Res. Inst.

Juliano, B.O. 1985. Criteria and tests for rice grain qualities, pp. 443-524. In: B.O. Juliano. (ed.) Rice: Chemistry and technology, 2nd edition. The American Associstion of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota.

Juliano, B.O., and C.P. Villareal. 1993. Grain Quality Evaluation of World Rice. International Rice Research Institute. Manila, Philippines.

Laenoi, S., N. Phattarakul, S. Jamjod, N. Yimyam, B. Dell, and B. Rerkasem. 2014. Genotypic variation in adaptation to soil acidity in local upland rice varieties. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization 13: 206–212.

Muto, V., M. Jaspar, C. Meyer, C. Kusse, S.L. Chellappa, C. Degueldre, E. Baiteau, A. Shaffii-Le Bourdiec, A. Luxen, B. Middleton, S.N. Archer, C. Phillips, F. Collette, G. Vandewalle, D.J. Dijk, and P. Maquet. 2016. Local modulation of human brain responses by circadian rhythmicity and sleep debt. Science. 353: 687-690.

Oka, H.I. 1988. Origin of Cultivated Rice. Japan Scientific Societies Press, Japan.

Okoshi, M., K. Matsuno, K. Okuno, M. Ogawa, T. Itani, and T. Fujimura. 2015. Genetic diversity in Japanese aromatic rice (*Oryza sativa* L.) as revealed by nuclear and organelle DNA markers. Genet. Resour. Crop Evol. 63: 199-208.

Pielou, E.C. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. Journal of Theoretical Biology. 13: 131-44.

Pritchard, J.K., M. Stephens, and P. Donnelly 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics. 155: 945-959.

Pusadee, T. 2009. Evolutionary dynamics of *Oryza sativa* in Thailand. Ph. D. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai.

Pusadee, T., S. Jamjod, Y.C. Chiang, B. Rerkasem, and B.A. Schaal. 2009. Genetic structure and isolation by distance in a landrace of Thai rice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 106: 13880-13885.

Pusadee, T., P. Oupkaew, B. Rerkasem, S. Jamjod, and B.A. Schaal. 2014. Natural and human-mediated Selection in a landrace of Thai rice (*Oryza sativa*). Annals of Applied Biology. 165: 280-292.

Rathi, S., and R.N. Sarma. 2012. Microsatellite diversity in indigenous glutinous rice landraces of Assam. Indian J. Biotechnol. 11: 23-29

Roder, W., B. Keoboulapha, K. Vannalath, and B. Phouaravanh. 1996. Glutinous rice and its importance for hill farmers in Laos. Econ. Bot. 50: 401-408

Shannon, C.E., and W. Weaver 1949. The Mathematical Theory of Communication. [SI]. Urbana.

Sharma, S. D. 2010. Rice: Origin, Antiquity and History. CRC Press, Boca Raton.

Terwiel, B. J. 1994. The table of the giant rice-kernel and the cursing window. P. 10-23. In: O. Jarich. (Ed.) Text and tales; Study in oral traditions. Leiden, Research School CNWS.

Tu, M., B.R. Lu, Y. Zhu, and Y. Wang 2007. Abundant Within-varietal Genetic Diversity in Rice Germplasm from Yunnan Province of China Revealed by SSR Fingerprints. Biochem. Genet. 45: 789–801.

Wang, Y., Y. Wang, X. Sun, Z. Caiji, J. Yang, D. Cui, and L. Han. 2016. Influence of ethnic traditional cultures on genetic diversity of rice landraces under on-farm conservation in southwest China. J. Ethnobiol. Ethnomed. 12: 51.

Watabe, T. 1967. Glutinous Rice in Northern Thailand. The center for South East Asia Studies, Kyoto University, Japan.