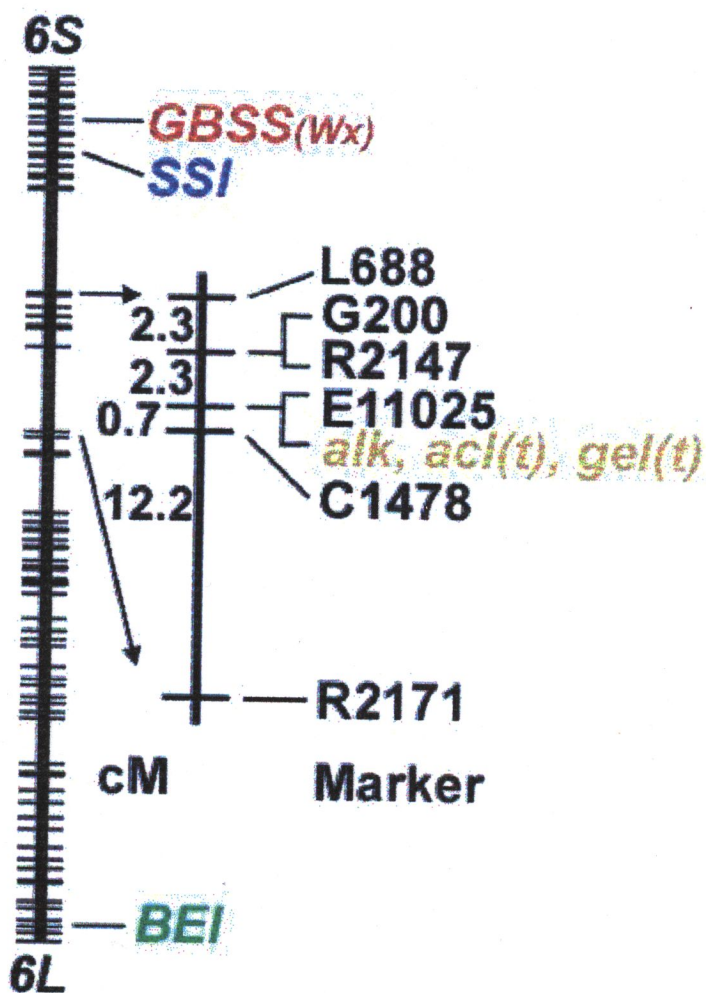


รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การศึกษาเชิงประวัติศาสตร์เกี่ยวกับวิวัฒนาการของข้าวปลูกของไทยโดยใช้ข้อมูลจาก
การวิเคราะห์ดีเอ็นเอ: การกระจายและลักษณะโมเลกุลของรีโทรทรานสโพซอนที่อยู่ในยีน
ควบคุมการสร้างแป้งอะไมโลสในประชากรข้าวปลูกและข้าวป่า



โดย

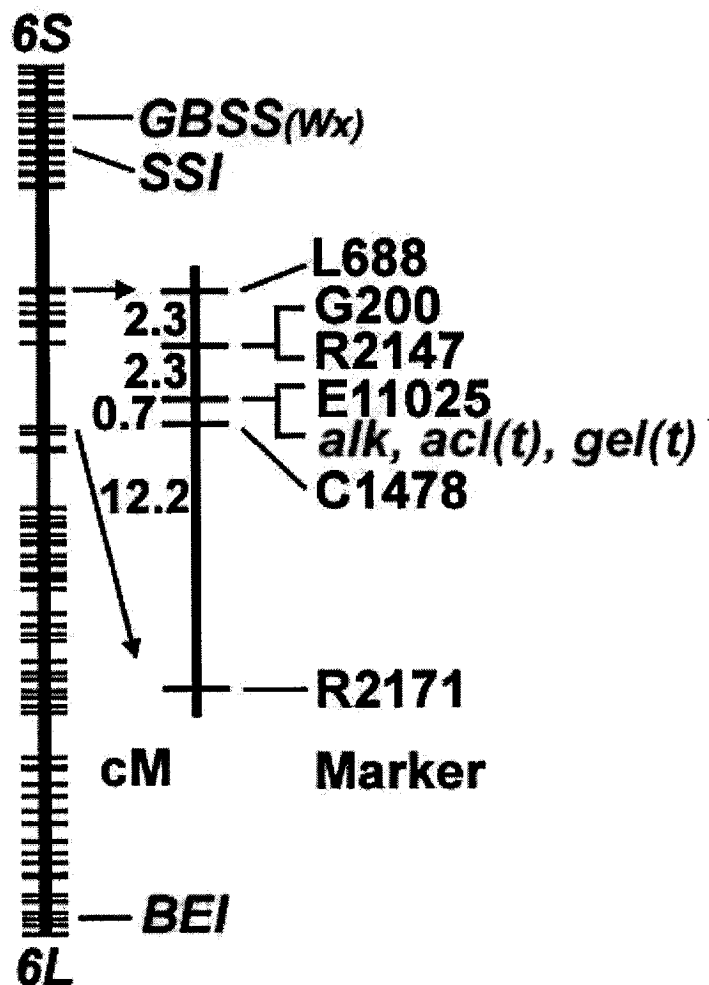
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ประเทพา
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1 กุมภาพันธ์ 2546

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การศึกษาเชิงประวัติศาสตร์เกี่ยวกับวิวัฒนาการของข้าวปลูกของไทยโดยใช้ข้อมูลจาก
การวิเคราะห์ดีเอ็นเอ: การกระจายและลักษณะโมเลกุลของรีโทรทรานสโพซอนที่อยู่ในยีน
ควบคุมการสร้างแป้งอะไมโลสในประชากรข้าวปลูกและข้าวป่า



โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ประเทพา
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1 กุมภาพันธ์ 2546

(ก)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้เป็นโครงการวิจัยที่ได้ดำเนินการศึกษาพันธุศาสตร์ของข้าวไทยในเชิงประชากร เพื่อใช้ข้อมูลที่ได้อธิบายถึงพลวัตของการเปลี่ยนแปลงจากอดีตมาจนถึงปัจจุบันด้านพันธุกรรมที่ได้ใช้ยีนแวกซี (Waxy gene) ที่มีตำแหน่งบนแขนสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 6 ของข้าว (*Oryza*) เป็นดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ถูกเลือกใช้ในการวิจัย ยีนแวกซีรับผิดชอบในกระบวนการสร้างแป้งชนิดอมิโลส ยีนนี้ได้บรรจุข้อมูลนิวคลีโอไทด์ขนาดประมาณ 5.6 คู่เบส บางบริเวณของดีเอ็นเอของยีนมีความหลากหลายมาก ซึ่งสามารถใช้ข้อมูลของความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีอยู่ในประชากรข้าวเหล่านี้ นำไปศึกษาในแง่มุมต่างๆได้ตามที่ผู้วิจัยสนใจ การวิจัยที่เน้นการศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างแป้งชนิดอมิโลเพกทินคือ SBE (Starch Branching Enzyme) ในข้าวไทยและข้าวในภูมิภาคอินโดจีนและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้คาดว่าจะเริ่มต้นศึกษาข้อมูลเบื้องต้นด้านเทคนิคที่ใช้สำหรับการศึกษาในห้องปฏิบัติการและพร้อมๆกับการสำรวจและเก็บตัวอย่างข้าวพื้นบ้านเหล่านี้มาใช้เป็นตัวแทนในการศึกษา ซึ่งการศึกษานี้จะศึกษาพันธุศาสตร์ในเชิงประชากรเพื่อสร้างและสะสมข้อมูลของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างแป้ง 2 ชนิดนี้ในประชากรข้าวของสองภูมิภาคนี้และนักวิจัยที่สนใจในข้อมูลอาจใช้ข้อมูลเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ขอขอบคุณโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (BRT) ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยอย่างต่อเนื่อง ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร. วิสุทธิ ไบไม้ ที่ได้ให้แนวคิดในดำเนินการวิจัยทำให้งานวิจัยนี้บรรลุเป้าหมายที่ตั้งไว้รวมทั้งการเป็นนักวิจัยที่ดีและการมีจรรยาบรรณของนักวิจัย ขอขอบคุณคุณเสถียร จันทะ ศูนย์วิจัยข้าวสกลนคร (คุณสมมิตร ทับทิม) และสถานีทดลองข้าวสันป่าตองที่ได้กรุณาให้ตัวอย่างข้าวใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ขอขอบคุณคุณรังสิมา ดันทเลขา ฝ่ายเลขานุการโครงการ BRT ที่ได้กรุณาได้ให้ข้อเสนอแนะและเป็นผู้ประสานงานด้านต่างๆที่เกี่ยวข้องจนทำให้โครงการวิจัยนี้ได้บรรลุตามเป้าหมายที่ตั้งไว้ทุกประการ และขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้ประเมินโครงการและได้ให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์มากในการวางแผนการทดลองในภาพรวมของการศึกษาพันธุศาสตร์ของข้าวเพื่อค้นหาคำตอบที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินการวิจัยและก่อให้เกิดโจทย์ใหม่ๆที่ต้องแสวงหาคำตอบต่อไป

บทคัดย่อ

ยีนแควซีของข้าวมีขนาดของยีนประมาณ 5.5 kb ประกอบด้วย 14 เอ็กซอนและ 14 อินทรอน ยีนแควซีจะควบคุมการสร้างเอนไซม์ granule-bound starch synthase (GBSS) ที่จำเป็นต่อการสร้างแป้งชนิดอมิโลสในเอนโดสเปิร์มของเมล็ดข้าว ปริมาณแป้งอมิโลสในข้าวเจ้าเป็นสิ่งบ่งชี้ถึงคุณภาพการหุงต้ม ยีนนี้จะเกี่ยวข้องโดยตรงกับปริมาณอมิโลสที่สะสมอยู่ในเมล็ดข้าว งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกระจายของรีโทรทรานสโพสเบิล อีเลเมนต์ (retrotransposable element) ชนิดหนึ่งคือ p-SINE1-r2 ที่พบในยีนอมของข้าว โดยมีตำแหน่งอยู่ที่อินทรอน 10 ของยีนแควซี โดยศึกษาการกระจายของอีเลเมนต์ชนิดนี้ในประชากรข้าวปลูก (*O. sativa*) และประชากรข้าวป่า 2 ชนิดซึ่งมียีนอม AA (*O. nivara* และ *O. rufipogon*) และศึกษาลักษณะของโมเลกุลของอีเลเมนต์ชนิดนี้และใช้การวิเคราะห์ความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide diversity analysis) เพื่ออธิบายวิวัฒนาการของข้าวเหนียวและข้าวเจ้า

ผลของการศึกษาการกระจายของอีเลเมนต์นี้ในประชากรข้าวสรุปได้ว่าในข้าวปลูกที่ศึกษาจำนวน 106 พันธุ์ซึ่งเป็นข้าวที่มีอายุขัยปีเดียว (annual form) ในประชากรข้าวชนิดนี้จะปรากฏอีเลเมนต์นี้ในยีนอมที่บริเวณอินทรอน 10 ของแควซียีนทุกพันธุ์ ส่วนในประชากรข้าวป่าชนิด *O. nivara* ซึ่งมีอายุขัยปีเดียวเช่นกันพบว่าอีเลเมนต์นี้ในประชากรเป็นส่วนใหญ่ มีจำนวนเล็กน้อยที่ไม่พบอีเลเมนต์นี้ในยีนอมและรวมทั้งหมดพบว่ามีเพียง 1 สายพันธุ์เท่านั้นที่พบว่าเป็นเฮเทอโรไซโกต ในประชากรข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* ที่ศึกษาจากตัวอย่างจำนวน 112 สายพันธุ์พบว่าส่วนมากจะไม่พบอีเลเมนต์ชนิดนี้ (96/112) ถ้าจะพบอีเลเมนต์นี้จะพบในสภาพเฮเทอโรไซกัส (43/112) และไม่พบว่าอีเลเมนต์ชนิดนี้ปรากฏในมวลสมาชิกของข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* ในแบบฮอโมไซกัส

ลักษณะของอีเลเมนต์นี้ที่พบในตัวอย่างข้าวที่ศึกษาจำนวน 48 ตัวอย่าง(ข้าวเหนียวและข้าวเจ้า) มีขนาดโมเลกุล 125 คู่เบสและปลายทั้งสองด้านล้อมรอบด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกัน (direct repeats) 14 คู่เบส ลำดับนิวคลีโอไทด์ของอีเลเมนต์นี้พบว่าการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบส (base substitution) ทำให้ได้จำนวนของ haplotype จำนวน 29 haplotypes และผลจากการเปลี่ยนแปลงของเบสสามารถใช้เป็นดีเอ็นเอเครื่องหมายในการจัดจำแนกพันธุ์ข้าวได้ ผลจากการวิเคราะห์ข้อมูลในบริบทของพันธุศาสตร์ประชากรโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของอีเลเมนต์นี้เป็นข้อมูลในการวิเคราะห์ พบว่า ความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ในกลุ่มข้าวเจ้าจะสูงกว่าในข้าวเหนียวซึ่งผลการวิเคราะห์นี้สนับสนุนสมมติฐานที่ตั้งไว้โดยนักวิทยาศาสตร์ว่าข้าวเหนียวมีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการมาจากข้าวเจ้า และผลจากการวิเคราะห์ phylogeny ที่ได้จากการสร้างโดยใช้วิธี NJ พบว่าข้าวพื้นบ้านทางภาคเหนือแยกจากข้าวพื้นบ้านทางภาคใต้ได้อย่างชัดเจน

Abstract

The rice waxy gene encodes a granule-bound starch synthase (GBSS) for synthesis of amylose in endosperm tissue. The level of GBSS gene expression is directly correlated with the apparent amylose content in endosperm tissues. The apparent amylose content is a key determinant of the cooking and processing quality of rice (*Oryza sativa*). Nucleotide length of the waxy gene is about 5.6 kilobase (kb), consisting of 14 exons and 14 introns. Previously, a short interspersed element (SINE), named p-SINE1-r2, is present in intron 10 of the waxy gene of *O. sativa*. Rice scientists have suggested that p-SINE1 members in rice genome are inactive p-SINE1, which is not transcribed by RNA polymerase III. Thus, some of the p-SINE1 members would be useful for classifying rice strains and/or studying evolution of rice species with the AA genome. In this study, prevalence and geographical distribution and variation of this element in both cultivated and wild rice samples with the AA genome were investigated in rice population from Thailand. The data revealed that all 106 strains of cultivated rice found p-SINE1-r2, while most strains of *O. nivara* harbored p-SINE1-r2. In addition, almost Thai *O. rufipogon* lacked this element, whereas high proportion of the strains examined were heterozygotes. Based on the sequences, the elements were about 125 bp and flanked by identical direct repeats of a 14 bp sequence. The DNA sequence analysis of 48 rice strains from Thailand and neighboring populations (China, Laos and Japan) provided 29 different haplotypes caused by base substitutions. These base substitutions might be useful in marker-assisted breeding program. Glutinous and nonglutinous strains showed a marked difference in levels of nucleotide diversity of this element. Nonglutinous rice showed a much higher nucleotide diversity than that of glutinous rice. According to the pattern of nucleotide diversity measures suggest that glutinous rice have been arisen from nonglutinous progenitor.

(ง)

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่ตั้งอยู่บนพื้นที่หลักของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ หลักฐานทางโบราณคดีชี้ให้เห็นว่าประเทศไทยมีวัฒนธรรมการปลูกข้าวมาแล้วไม่น้อยกว่า 4,000 ปี ดังนั้นพื้นที่แห่งนี้นักวิชาการเชื่อว่าเป็นศูนย์กลางของความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าว (หรือ center of diversity) หลักฐานที่บ่งชี้ถึงสิ่งนี้นักวิชาการเชื่อคือคือจำนวนสายพันธุ์ข้าวปลูกที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองคาดว่าไม่น้อยกว่า 50,000 สายพันธุ์ การศึกษาวิจัยพื้นฐานด้านพันธุกรรมข้าว นับว่ามีความจำเป็นเพื่อความเข้าใจถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของข้าวและนำไปสู่การนำไปประยุกต์ใช้ในการเกษตรเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ที่สำคัญคือข้อมูลที่แสดงถึงการเกิดวิวัฒนาการของข้าวปลูกจากอดีตถึงปัจจุบันโดยใช้การวิเคราะห์สารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคทางโมเลกุลต่างๆ นอกจากนี้การเกิดวิวัฒนาการของข้าวในบริบททางชีววิทยานั้นอาจเชื่อมโยงกับวิวัฒนาการของวัฒนธรรมข้าวในชุมชนจากยุคโบราณและมีวิวัฒนาการมาจนถึงปัจจุบัน

การวิจัยนี้ได้สร้างองค์ความรู้ใหม่ที่น่าสนใจคือ ผลของการสำรวจ p-SINE1 ในประชากรข้าวปลูกและข้าวป่าของไทยที่ได้ถูกตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (IRRN) เป็นข้อมูลที่ยังไม่มีใครศึกษามาก่อน และลักษณะของโมเลกุลของ p-SINE1 ที่พบในสายพันธุ์ข้าวที่ศึกษาทั้งชาวไทยและประเทศเพื่อนบ้านได้รายงานผลเป็นครั้งแรกซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการศึกษานี้ทั้งหมดถูกส่งเป็นเก็บไว้เป็นฐานข้อมูลทางพันธุกรรมที่ GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ภายใต้รหัสที่สามารถสืบค้นได้คือ AY222747-222794 สายพันธุ์ข้าวพื้นบ้านที่ปลูกในประเทศไทยทั้งชุมชนเมืองและชน กลุ่มน้อยทางภาคเหนือทั้งในประเทศไทยและชนกลุ่มน้อยในประเทศเพื่อนบ้านในแถบลุ่มน้ำโขงยังไม่พบรายงานผลการศึกษาทางพันธุกรรมของยีนที่ควบคุมการสร้างแป้งอมิโลส (Waxy gene) และ อมิโลเพกติน (SSE และ SBE gene) ดังนั้นผลจากการศึกษานี้สะท้อนให้เห็นถึงการริเริ่มศึกษาความเป็นท้องถิ่นหรือความเป็นภูมิภาคอันแสดงความเป็นเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมในข้าวในพื้นที่ลุ่มน้ำโขง ที่อาจจะมีการวิวัฒนาการของสายพันธุ์ข้าวปลูกของตนเองแตกต่างไปจากสายวิวัฒนาการของข้าวปลูกในจีนหรือญี่ปุ่น ข้อเสนอแนะนี้จะได้รับการสนับสนุนให้มีการวิจัยต่อไปอีกในวงกว้างที่ครอบคลุมพื้นที่ในแถบลุ่มน้ำโขงเพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่ในแวดวงวิชาการด้านข้าวที่เกิดขึ้นจากนักวิทยาศาสตร์ไทย

Executive Summary

Rice starch is composed of amylose and amylopectin. Amylose content is an important determinant of cooking quality. Amylose synthesis is primarily controlled by the Waxy gene.

This study concerns the surveying and characterizing a retrotransposon, p-SINE1-r2, that located in the intron 10 of the rice Waxy gene, in cultivated and wild rice with the AA genome. For Thai rice, the data obtained from this study have been first published in International Rice Research Note (IRRN) and also have been accumulated the DNA sequences in GenBank (<http://ncbi.nlm.nih.gov/>) with accession nos. AY222747-222794. In addition, these data provided a supporting data for molecular evolution of rice in Asia. However, the other genes that responsible for starch synthesis, Soluble Branching Enzyme (SBE) and Soluble Starch Enzyme (SSE), are still needed to investigated for their diversity. With respect to this perspective, a basic research in terms of DNA analysis should be further made in large scale of samples and deeper DNA examined of these strains are necessary to investigate for accumulating a new knowledge in context of rice molecular evolution in Indochina and Southeast Asia.

(จ)
สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	ง
บทนำ	1
วัตถุประสงค์และวิธีการศึกษา	8
ผลการศึกษา	11
สรุปและวิจารณ์	14
เอกสารอ้างอิง	16
ภาคผนวก	34

(ช)

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 การกระจายของ p-SINE1-r2 ในประชากรข้าวปลูกและข้าวป่าของไทย ที่มียีนแบบ AA	11
ตารางที่ 2 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาลักษณะโมเลกุลของ p-SINE1	18
ตารางที่ 3 การกระจายของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนแควซีตาม สภาพภูมิศาสตร์	20
ตารางที่ 4 ดัชนีทางพันธุกรรมที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ p-SINE1 ในกลุ่มข้าวเหนียวและข้าวเจ้า	21

(ฉ)

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ประชากรที่เก็บตัวอย่างข้าวปามาใช้ในการศึกษา	22
ภาพที่ 2 ตัวอย่างข้าวพื้นบ้านที่ใช้ในการศึกษา	24
ภาพที่ 3 ภาพถ่ายเจลที่แสดงแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณโดยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 2F/4R	25
ภาพที่ 4 ภาพถ่ายเจลที่แสดงแถบดีเอ็นเอที่มีหรือไม่มี p-SINE1-r2 ในอินทรอน 10 ของ Waxy gene	26
ภาพที่ 5 เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ direct repeats ที่พบใน p-SINE1	28
ภาพที่ 6 เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ p-SINE1 ที่พบในตัวอย่างข้าวที่ใช้ศึกษา	29
ภาพที่ 7 Phylogeny ของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา	33

1) บทนำ

ข้าวปลูกพื้นบ้านจากการสำรวจและเก็บรวบรวมในระหว่างปี พ.ศ. 2525-2529 โดยศูนย์ปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ข้าวแห่งชาติ นั้น ได้พบว่ามีข้าวพื้นบ้านจำนวนไม่น้อยกว่า 3,500 พันธุ์ และการศึกษาทางโบราณคดีเกี่ยวกับข้าวไทยได้พบว่าคนที่อาศัยอยู่ในภาคอีสานรู้จักการเพาะปลูกข้าวไม่น้อยกว่า 3,500 ปีมาแล้ว และได้มีนักโบราณคดีท่านหนึ่งคือ รองศาสตราจารย์ ศรีศักร วัลลิโภดม ได้ให้ข้อสังเกตที่น่าสนใจมากเกี่ยวกับวิวัฒนาการข้าวปลูกในไทย โดยได้กล่าวว่าข้าวปลูกของไทยมีวิวัฒนาการจากคนโบราณของไทยเองที่ได้นำข้าวป่าที่ขึ้นอยู่อย่างหลากหลายนำมาปลูกและคัดเลือกจนกลายเป็นข้าวปลูกอยู่ทุกวันนี้ (ศรีศักร, 2531) และ จากการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาวิถีการเกิดวิวัฒนาการของข้าวปลูกพบว่ายังไม่มีข้อมูลระดับโมเลกุลมาใช้เป็นหลักฐานใช้ในการอธิบายวิถีการเกิดวิวัฒนาการ ซึ่งข้าวปลูกพื้นบ้านเหล่านี้และข้าวป่าที่เป็นบรรพบุรุษข้าวปลูกจึงมีความจำเป็นที่ต้องใช้ในการศึกษาเพื่ออธิบายความเป็นมาของข้าวปลูกเหล่านี้โดยใช้ข้อมูลระดับโมเลกุลคือ ยีนบางยีนที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของข้าวในด้านการหุงต้มคือยีนแวกซี เพราะว่านอกจากจะใช้ในติดตาม "ร่องรอย" ของวิถีการเกิดวิวัฒนาการแล้วยังแสดงให้เห็นถึงข้อมูลของความหลากหลายของยีนนี้ด้วยในข้าวปลูกของไทยและข้าวป่า เพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ในอนาคต และเหตุผลที่สำคัญที่ไม่อาจมองข้ามไปได้คือ ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยอาจใช้อธิบายผลที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพหุงต้มของพันธุ์ข้าวที่สำคัญๆ ที่อาจเกิดขึ้นได้กับข้าวของไทยในอนาคต

1.1 ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ (mobile DNA)

ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ หมายถึง ชิ้นส่วนของDNAที่สามารถเคลื่อนที่ได้หรือเปลี่ยนตำแหน่งโดยทั่วไปของยีนโนมของเซลล์ใดเซลล์หนึ่ง ซึ่งการเคลื่อนที่ของDNAประเภทนี้ส่งผลทำให้เกิด

1. มิวเทชันที่มีการเปลี่ยนแปลงชนิดของเบส (base substitution)
2. การเพิ่ม (หรือลดลง) ของปริมาณDNAในยีนโนม (ยีนโนม หมายถึง ปริมาณDNAทั้งหมดของเซลล์หนึ่ง หรือ DNAสิ่งมีชีวิตตัวใดตัวหนึ่ง)

ดีเอ็นเอเคลื่อนที่ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มดังนี้

1. ทรานสโพซอน (transposons)

เป็นชิ้นDNAที่สามารถเคลื่อนที่จากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่งภายในยีนโนมได้

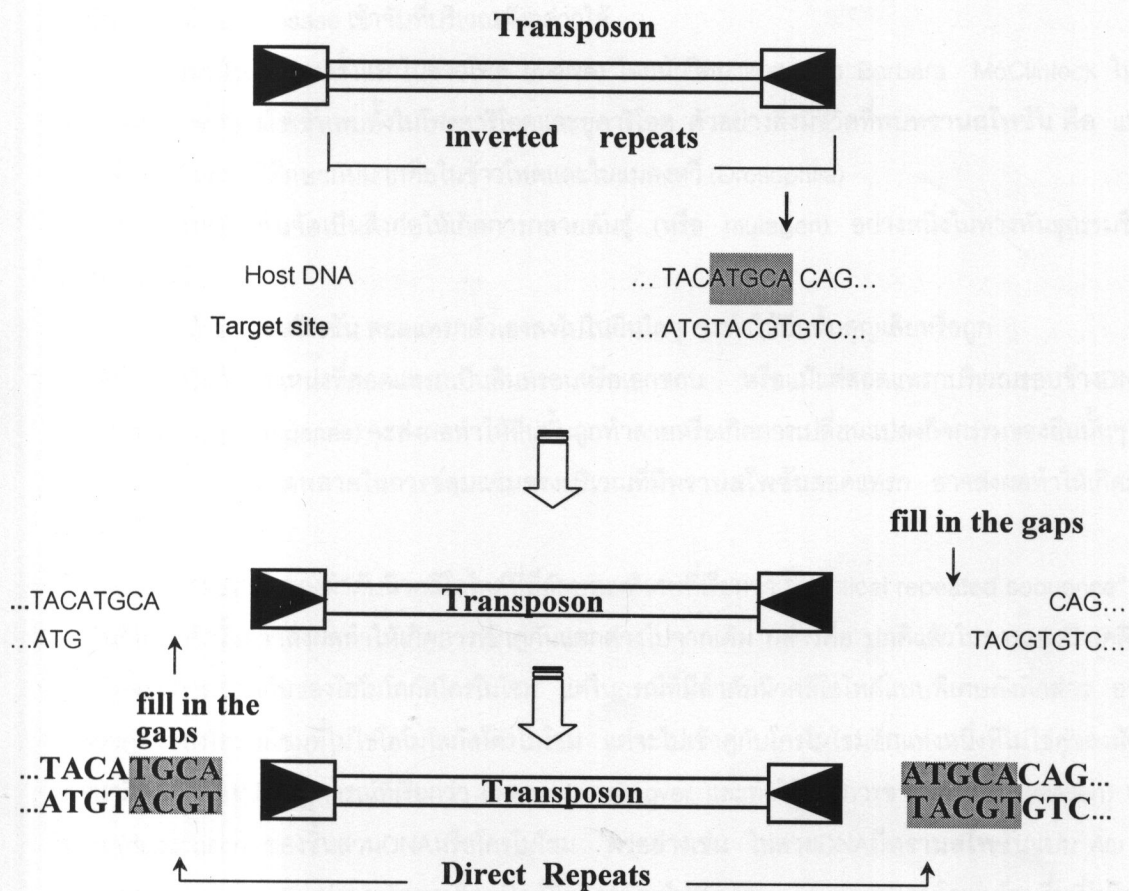
2. รีทรานสโพซอน (retrotransposons)

เป็นชิ้นDNAที่เกิดจากการถ่ายแบบที่ใช้ดีเอ็นเอเป็นแม่พิมพ์ได้เป็น RNA และต่อมาได้เปลี่ยนเป็น cDNA โดยใช้เอนไซม์ reverse transcriptase และเคลื่อนย้ายไปยังจุดต่าง ๆ ภายในยีนโนม

1.1 ทรานสโพซอน

การค้นพบ DNA ประเภนี้เกิดจากความสงสัยที่เป็นผลมาจากปรากฏการณ์แปลก ๆ อันเกิดจากพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต หรือค้นพบโดยบังเอิญจากผลของการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์

ทรานสโพซอนจะเคลื่อนที่จากจุดหนึ่งไปยังจุดหนึ่งบนโครโมโซมโดยการตัด (cut) และปะ (paste) เปรียบได้กับคำสั่ง control-x และ control-v ในคอมพิวเตอร์ ซึ่งกระบวนการนี้ต้องใช้เอนไซม์ชนิดหนึ่งคือเอนไซม์ทรานสโพเซส (transposase) ซึ่งการสังเคราะห์เอนไซม์ชนิดนี้ถูกควบคุมโดยยีนที่อยู่ใน transposon กลไกการตัด / ปะ ของ transposon แสดงดังไดอะแกรมต่อไปนี้



กลไกการตัด/ปะของทรานสโพซอน มีขั้นตอน ดังนี้

1. เริ่มจากเอนไซม์ transposase จะจับที่บริเวณ inverted repeat (ลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกันแต่อ่านในทิศทางตรงข้ามกัน)
2. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เป้าหมาย (target site) เนื่องจากว่าเอนไซม์ transposase ชนิดนี้จะจดจำลำดับนิวคลีโอไทด์เฉพาะที่จะสอดแทรกตัวเองเข้าไปตรงบริเวณดังกล่าว

ขณะที่เอนไซม์ transposase อีกประเภทหนึ่งสามารถใช้ในการสอดแทรกทรานสโพซอนได้ทั่วไปในยีนโนม ซึ่งไม่จำเป็นต้องมีลำดับนิวคลีโอไทด์เป้าหมายแต่อย่างใด

กลไกการสอดแทรกจะเริ่มจากนิวคลีโอไทด์เป้าหมายบนสาย DNA จะถูกตัดทำให้เกิดรอยแยกเกิดขึ้นบริเวณดังกล่าว (คล้าย ๆ กับบริเวณปลายเหนียวของสาย DNA ที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ) ต่อมาทรานสโพซอนจะสอดแทรกตัวเองลงในบริเวณดังกล่าว หลังจากนั้นจะเติมนิวคลีโอไทด์ที่เป็นช่องว่างอยู่ตามหลักของ Watson-Crick คือ A-T / C-G ผลจากการสอดแทรกของทรานสโพซอน นี้ทำให้เกิดลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียกว่า "direct repeat" ในแต่ละปลายของทรานสโพซอน

บ่อยครั้งที่พบว่าทรานสโพซอนเกิดการสูญเสียยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ transposase แต่ ทรานสโพซอนเหล่านี้ยังมีความสามารถเคลื่อนที่ไปวางตัวเองไว้ที่ใด ๆ ในยีนโนมได้เหมือนเดิม เนื่องจากว่ามีทรานสโพซอนอื่นๆ ในเซลล์ที่สร้างเอนไซม์ transposase ได้ และนิวคลีโอไทด์บริเวณ "inverted repeat" สามารถใช้เป็นบริเวณจดจำสำหรับเอนไซม์ transposase เข้าจับที่บริเวณดังกล่าวได้

ทรานสโพซอนพบครั้งแรกในข้าวโพด (maize) โดยนักวิทยาศาสตร์ชื่อ Barbara McClintock ในช่วงทศวรรษ 1940s ทรานสโพซอนพบทั้งในโพคาริโอตและยูคาริโอต ตัวอย่างสิ่งมีชีวิตที่พบทรานสโพซอน คือ แบคทีเรีย ยีสต์ พืช สัตว์ และที่มศึกษากันมากคือในข้าวโพดและในแมลงหวี่ (Drosophila)

ทรานสโพซอนจัดเป็นสิ่งที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (หรือ mutagen) อย่างหนึ่งในทางพันธุกรรมซึ่งเกิดได้หลายทางดังนี้

1. ถ้าทรานสโพซอน สอดแทรกตัวเองลงไปนยีนใด ๆ จะทำให้ยีนนั้นสูญเสียหรือถูกทำลายไป หรือถ้าตำแหน่งที่สอดแทรกเป็นอินทรอนหรือเอกซอน หรือแม้แต่สอดแทรกบริเวณรอบข้าง DNA ที่เป็นยีน (DNA flanking the genes) จะส่งผลทำให้ยีนนั้นถูกทำลายหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของยีนนั้นๆ
2. ความผิดพลาดในการซ่อมแซมตรงบริเวณที่มีทรานสโพซอนสอดแทรก อาจส่งผลทำให้เกิดมิวเทชันบริเวณนี้ได้
3. การปรากฏของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีลักษณะพิเศษที่เรียกว่า "identical repeated sequence" อยู่มากมายในยีนโนม ดังนั้นอาจส่งผลทำให้เกิดการเข้าคู่กันแตกต่างไปจากเดิม กล่าวคือ ปกติแล้วในการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอซิสจะมีการเข้าคู่กันของโฮโมโลกัสโครโมโซม แต่ในกรณีที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์แบบพิเศษดังที่กล่าว อาจทำให้การเข้าคู่กันของโครโมโซมที่ไม่ใช่โฮโมโลกัสโครโมโซม แต่จะไปเข้าคู่กับโครโมโซมอีกแท่งหนึ่งที่ไม่ใช่คู่ของมัน ผลที่ตามมาคือทำให้เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า unequal crossover และทำให้เกิดการขาดหายไป (deletion) หรือเพิ่มขึ้นมา (duplication) ของชิ้นส่วน DNA หรือโครโมโซม ตัวอย่างเช่น ในสาย DNA มีทรานสโพซอนแบบ *Alu* มีขนาดประมาณ 300 bp อยู่ 5 แห่งของโครมาติดหนึ่ง มีโอกาสที่จะไปเข้าคู่กัน (synapsis) กับโครโมโซมอื่นที่ไม่ใช่โฮโมโลกัสโครโมโซม แต่โครโมโซมที่จะจับคู่กันใหม่นั้นมีลำดับนิวคลีโอไทด์แบบ *Alu* อยู่ในโครโมโซมนี้ และจะเกิดการสร้างพันธะของเบสระหว่างโครโมโซมได้และส่งผลทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมระหว่างโครโมโซมที่ไม่ใช่คู่ของมันเอง

1.2 รีโทรทรานสโพซอน

DNA เคลื่อนที่อีกประเภทหนึ่งเรียกว่ารีโทรทรานสโพซอน สาเหตุที่เรียกชื่อเช่นนี้เนื่องจากความแตกต่างของกลไกการตัดและปะตัวเองจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่งภายในยีนโนม กลไกการทำซ้ำ และตัดปะตัวเองนั้นเริ่มต้นจาก

DNA ที่เป็นรีโทรทรานสโพซอนที่สอดแทรกอยู่ในสาย DNA ใดๆ จะถูกถอดรหัสให้ได้เป็น RNA และต่อมา RNA ขึ้นนี้ถูกถอดรหัสนย้อนกลับเป็น DNA โดยใช้เอนไซม์รีเวอร์สทรานสคริปเทส และ DNA ขึ้นนี้จะสอดแทรกตัวเองเข้าไปรวมกับยีนใด ๆ ซึ่งกลไกการสอดแทรกแบบนี้เรียกว่า “รีโทรทรานสโพซิชั่น (retrotransposition)” และผลที่ตามมาหลังจากมีการสอดแทรกแล้วบริเวณปลายทั้งสองด้านของรีโทรทรานสโพซอนจะมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีลักษณะเป็นแบบ direct repeat ซึ่งแสดงถึง “ร่องรอย” ของการสอดแทรกของ DNA โดยขึ้น DNA ประเภทนี้ (retrotransposition) ในยีนโนมของมนุษย์จะมีรีโทรทรานสโพซอน ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์

ตัวอย่างของรีโทรทรานสโพซอน ได้แก่

1. HIV-1 เป็นสาเหตุของ AIDS มีพฤติกรรมคล้ายรีโทรทรานสโพซอน ซึ่งในยีนโนมที่เป็นอาร์เอ็นเอของ HIV-1 จะมียีนสำหรับควบคุมการสร้างเอนไซม์รีเวอร์สทรานสคริปเทส และยีนสำหรับควบคุมการสร้างเอนไซม์ integrase ซึ่งทำหน้าที่คล้ายเอนไซม์ transposase ขึ้น DNA ประเภทนี้จะสอดแทรกตามบริเวณใด ๆ ในยีนโนม
2. LINES (Long interspersed elements) เป็นชิ้นดีเอ็นเอที่มีความยาวที่เกิดจากการถอดรหัสแบบย้อนกลับจากโมเลกุลของอาร์เอ็นเอโดยใช้เอนไซม์ RNA polymerase II (เอนไซม์ชนิดนี้เกี่ยวข้องกับการถอดรหัสของ mRNA) ขึ้น DNA ประเภทนี้จะไม่มียีนอินตรอน (intron) และบริเวณที่ทำหน้าที่คล้ายโปรโมเตอร์ (promoter) ดังนั้นยีนเหล่านี้จะไม่แสดงออกเรียกยีนเหล่านี้ว่า พูโดยีน (pseudogene)
3. SINES (Short interspersed elements) SINE เป็นชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็ก ๆ มีจุดกำเนิดจากการถอดรหัสแบบย้อนกลับของอาร์เอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ RNA-polymerase III นั้นหมายความว่าอาร์เอ็นเอต้นแบบของ DNA SINE นี้จะอยู่ในกลุ่มเดียวกับ t-RNA, 5s-RNA และ small nuclear RNAs

SINES ที่ปรากฏในเซลล์โดยมากจะเป็นประเภท “Alu elements” คาดว่า จะมี 1 ล้านชิ้นในยีนโนมมนุษย์ (คิดเป็น 11 เปอร์เซ็นต์ ของ DNA ทั้งหมดของมนุษย์ : 2.9×10^9 bp) ซึ่ง Alu elements จะมีลำดับนิวคลีโอไทด์ประมาณ 300 คู่เบส และมีบริเวณที่ถูกจดจำโดยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดหนึ่งคือ Alu1 ข้อมูลที่น่าสนใจอย่างหนึ่งคือ SINES จะไม่มีการควบคุมการสังเคราะห์โมเลกุลใด ๆ ในเซลล์ การปรากฏขึ้นในเซลล์ของ SINES ยังเป็นปริศนา (mystery) สำหรับนักวิทยาศาสตร์คือไม่มีหลักฐานใดๆ ที่ชี้ว่าดีเอ็นเอเหล่านี้มีบทบาทอย่างไรในเซลล์ของยูคาริโอต

1.2 อิทธิพลของ SINES ที่มีการสอดแทรกในยีนของสิ่งมีชีวิต

รีโทรทรานสโพซอนที่มีการศึกษากันมาก ได้แก่ ในแมลงหวี่ ซึ่งมีรีโทรทรานสโพซอนชนิด gypsy, copia เป็นต้น ในยีสต์พบรีโทรทรานสโพซอน ชนิด Ty ส่วนในพืชมีข้อมูลน้อยมาก มีรายงานว่าพบ รีโทรทรานสโพซอน 7 ชนิด ในจำนวนนี้ Bsi ในข้าวโพด และ Tnt1 elements พบในยาสูบ มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดมิวเทชัน ส่วนอีก 5 ชนิดที่เหลือยังไม่มีการศึกษาในรายละเอียด มีข้อมูลที่สำคัญและน่าสนใจประการหนึ่งเกี่ยวกับรีโทรทรานสโพซอนที่ปรากฏในยีนโนม ซึ่ง Varagona et al. (1992) ได้กล่าวไว้ว่า ยังไม่มีหลักฐานใดๆ ที่แสดงให้เห็นว่า รีโทรทรานสโพซอนชนิดใดๆ ในยีนโนมของพืชชั้นสูงที่ยังคงมีความสามารถในการเคลื่อนย้าย (retrotransposition) ตัวเอง

การสอดแทรกของรีโทรทรานสโพซอนในยีนของพืชชั้นสูง มีรายงานว่ามีการสอดแทรกทั้งส่วนที่เป็นเอ็กซอน และส่วนที่เป็นอินตรอนของยีน ตัวอย่างได้แก่ ใน waxy ยีนของข้าวโพด มีรีโทรทรานสโพซอน ชนิด wx-Stonor, wx-

B5 และ wx-G มีขนาด 5.2, 6.1 และ 5.0 kb ตามลำดับ ได้สอดแทรกในส่วนที่เป็นอินทรอนต่างๆ และรีโทรทรานสโพซอนที่สอดแทรกในส่วนที่เป็นเอ็กซอน คือ Ds (Dissociation) elements ที่สอดแทรกในเอ็กซอนที่ 10 ของ waxy ยีนในข้าวโพด

จากการที่มีการสอดแทรกของรีโทรทรานสโพซอนในยีนใดๆนั้น ผลที่ตามมาคือ มีความน่าจะเป็นที่จะส่งผลต่อการแสดงออกของยีนนั้นๆ แต่จากการตรวจสอบเอกสาร (reviewed) โดย Varagona *et al.* (1992) ได้รายงานไว้ว่าแม้ว่ายีนของพืชที่มีรีโทรทรานสโพซอน สอดแทรกอยู่นั้น การแสดงออกของยีนยังเป็นปกติ โดยใช้หลักฐานจากยีนนั้นมี mature m-RNA หรือทรานสคริปต์ (transcripts) เป็นแบบปกติ ดังเช่นทรานสคริปต์ที่พบในยีนเดียวกันแต่ปราศจากรีโทรทรานสโพซอน (หรือยีนยังคงเป็นแบบเดิมหรือ wild type) ข้ออธิบายของนักวิทยาศาสตร์ถึงสาเหตุที่การแสดงออกของยีนยังคงเป็นแบบปกตินั้น มีอยู่ 2 แนวทางคือ

1. ในกรณีที่สอดแทรกในเอ็กซอน: โดยปกติแล้วในกระบวนการตัดต่อ RNA นั้น จะมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เป็นสัญญาณ (splicing signal) ในกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงโดยการสอดแทรกรีโทรทรานสโพซอนในบริเวณใดๆของยีนนั้น จะเกิดเหตุการณ์ที่จะมีการตัดต่อเอ็กซอนแบบใหม่ที่แตกต่างกันไปจากเดิม กล่าวคือมี spliced site ใหม่ (alternative splice sites) ซึ่งจะเกิดแบบชั่วคราว แต่การสอดแทรกนั้นต้องไม่เกิดขึ้นที่บริเวณรอยต่อระหว่างเอ็กซอนและอินทรอนหรือเรียกบริเวณนี้ว่า "spliced junction" ส่วนมากจะมีนิวคลีโอไทด์แบบ GT/AG การตัดต่อเอ็กซอนเข้าด้วยกันนั้นจะใช้หลักการข้ามสิ่งกีดขวาง (skipping of exons) โดยข้ามส่วนที่เป็นรีโทรทรานสโพซอน ผลที่เกิดขึ้นคือทำให้ได้ ทรานสคริปต์ปกติ และยีนจึงแสดงออกได้อย่างปกติ

ในกรณีมีการสอดแทรกในอินทรอน: ในกรณีนี้รีโทรทรานสโพซอนจะทำตัวเหมือนอินทรอน คือจะถูกตัดออกไปโดยอัตโนมัติในกระบวนการ RNA splicing ตัวอย่างเช่น Ds elements ที่สอดแทรกในเอ็กซอนของยีน Waxy ในข้าวโพด การผลการศึกษาพบว่าอิลเลเมนต์นี้จะถูกตัดออกไปทำให้ได้ผลลัพธ์เป็น mature m-RNA ปกติ เช่นผลการศึกษาคัดต่อเอ็กซอนของยีนบางยีนที่มีรีโทรทรานสโพซอนสอดแทรกอยู่ในของ *Nicotiana plumbaginifolia* (Leprince *et al.*, 2001) เป็นต้น

1.3 ข้าวปลูกและข้าวป่าที่มียีนแบบ AA

ข้าวป่าที่เป็นบรรพบุรุษของข้าวปลูกเอเชีย (*Oryza sativa*) คือ ข้าวป่าที่พบทั่วไปในภูมิภาคเอเชีย (Asian common wild rice) คือ *Oryza rufipogon* ซึ่งข้าวป่าสปีชีส์นี้นักวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาวิจัยข้าว คือ Morishima *et al.* (1984) ได้แบ่งออกเป็น 2 แบบตามลักษณะนิสัย (habit) คือ แบบที่มีอายุข้ามปี (perennial type) และแบบที่มีอายุปีเดียว (annual type) ในขณะเดียวกันข้าวที่มีนิสัยที่แตกต่างกันนี้ได้ถูกจัดออกเป็นสองสปีชีส์ คือ แบบที่มีอายุข้ามปีจะถูกเรียกว่า *O. rufipogon* และแบบที่มีอายุปีเดียวจะถูกเรียกว่า *O. nivara* (Lu, 1999) รายละเอียดของลักษณะประจำแต่ละสปีชีส์เป็นดังนี้ (สงกรานต์, 2532)

1. *Oryza rufipogon* (OR) หรือ *O. perennis* Moench เป็นดิพลอยด์ ($2x = 24$) มี ยีนชนิด AA เกษตรกรเรียกข้าวชนิดนี้ว่าหนูละมาน หนูข้าวนก หรือข้าวผี เป็นข้าวป่าอายุข้ามปี (perennial type) ขึ้นอยู่ในน้ำลึกถึงลึกมาก ต้นสูงมากกว่า 1 เมตร กอแผ่กิ่งเลื้อย ลำต้นใหญ่ รวงใหญ่ ใบผลผลิตน้อย เมล็ดเมื่อสุกมีสีดำ รวงง่าย เปลือกหุ้มเมล็ดยาว ขรุขระ ขนเป็นเส้นยาว มีหางยาวค่อนข้าง อับละอองเกสรยาวเกือบเท่าเมล็ด ขยายพันธุ์ ด้วยเมล็ดและลำต้นที่มีการแตกหน่อหรือทอดตามข้อ ผลผสมข้ามกับข้าวปลูกได้เองตามธรรมชาติ

2. *O. nivara* (ON) เป็นดิพลอยด์ ($2x = 24$) ที่มียีนในชนิด AA เกษตรกรเรียก ข้าวป่า ชนิดนี้ว่าหญ้าละมาน หญ้าข้าวนก หรือข้าวผี เป็นข้าวป่าอายุปีเดียว ต้นสูง 80-160 ซม. ส่วนมากกอจะตั้ง(erect) แตกกอมาก ผสมกับ ข้าวปลูกได้ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ติดเมล็ดปานกลางถึงมาก เมล็ดมีหางเมื่อสุกเป็นสีดำ รวงง่าย พบบริเวณที่โล่งแจ้ง เป็นแอ่งน้ำแต่ไม่ลึก

แม้ว่าข้าวปลูกและข้าวป่าที่มียีนแบบ AA จะถูกแยกออกเป็น 3 สปีชีส์ นั้น ถ้าจะใช้หลักการของสปีชีส์ทางชีววิทยา (biological species) ไม่สามารถใช้ได้ในกรณีนี้ เนื่องจากว่าข้าวทั้งสามสปีชีส์นี้ผสมข้ามกันได้ ในภูมิภาคต่างๆของเอเชีย นักวิจัยข้าวมีความพยายามที่จะศึกษาในแง่มุมต่างๆของข้าวป่าที่มียีนแบบ AA สองสปีชีส์นี้ โดยสรุปแล้วนักวิจัยข้าวมีความพยายามที่จะหาหลักฐานมาสนับสนุนแนวทางการเกิดวิวัฒนาการของข้าวปลูกโดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายเป็นหลักฐานอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าโดยมีความพยายามที่จะใช้ตัวอย่างทุกภูมิภาคของเอเชีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวอย่างข้าวป่าในถิ่นอาศัยธรรมชาติและข้าวพื้นบ้านจากประเทศต่างๆในแถบกลุ่มแม่น้ำโขง อันได้แก่ ไทย สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว เวียดนาม เขมร จีน ทีมวิจัยที่มีบทบาทสำคัญที่สุดคือ นักวิจัยจากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ที่มีความพยายามเข้าไปสู่เป้าหมายภายใต้ความร่วมมือเป็นโครงการร่วมมือระหว่าง IRRI และสถาบันที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยข้าว ตัวอย่างล่าสุดคือ โครงการความร่วมมือของ IRRI กับประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว(Laos-IRRI Project) นักวิจัยกลุ่มนี้ได้นำตัวอย่างข้าวป่าและข้าวพื้นบ้านไปศึกษาและพบว่ามีลูกผสม (weedy form) เกิดขึ้นในธรรมชาติ (Rao, 1997) ลูกผสมที่เกิดขึ้นนี้เป็นการรวมกันระหว่างยีนของข้าวปลูกและข้าวป่า ประชากรของข้าวลูกผสมเหล่านี้จะถูกนำไปคัดเลือกเพื่อค้นหาลักษณะที่ทนทานต่อสภาวะกดดันของสภาพแวดล้อม (stress resistance traits) ต่อไป

1.4 การศึกษาวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตโดยใช้ SINEs เป็นโมเลกุลเครื่องหมาย

จากการที่พบว่ารีโทรทรานสโพซอนรีโทรทรานสโพซอนที่สอดแทรกอยู่ในยีนของสิ่งมีชีวิตแต่ไม่ส่งผลต่อการแสดงออกของยีนแต่อย่างใดนั้น ทำให้นักวิทยาศาสตร์ได้ให้ความสนใจที่จะใช้รีโทรทรานสโพซอนมาใช้เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมในการศึกษาวิวัฒนาการ ตัวอย่างเช่น รีโทรทรานสโพซอนชนิด *Alu* element ถูกนำไปใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมอย่างหนึ่ง ด้วยคุณสมบัติที่เป็นเอกลักษณ์คือ อีเลเมนต์ชนิดนี้ไม่มีการสูญหายหรือมีการจัดเรียงตัวใหม่ ทำให้ตัวมันเองมีความเสถียรพอที่จะใช้เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมได้ และได้มีรายงานการวิจัยที่อธิบายถึงความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตของเผ่าพันธุ์มนุษย์โดยใช้อีเลเมนต์ชนิดนี้ (Batzer et al., 1994)

SINE ที่ปรากฏในพืชจะเรียกว่า "plant SINE" หรือ เรียกย่อๆว่า p-SINE ในยีนข้าวมีรายงานการพบ SINE โดย Umeda et al. (1991), Mochizuki et al. (1992) โดยให้สัญลักษณ์เป็น p-SINE1 ปัจจุบันมีรายงานการค้นพบสมาชิก (member) ของ p-SINE1 ในข้าวคือ p-SINE1-r1, -r2, -r3, -r4, -r5, -r6, -r7, -r21, -r22, -r23, -r24, -r25, -r26, -r27, -r28, -r29, -r30, -r31, -r38, -r100 และ -r112

สมาชิกของ p-SINE1 สามารถใช้ในการจำแนกสายพันธุ์ข้าวที่มียีนแบบ AA ได้ Motohashi et al. (1997) พบว่า p-SINE1-r30 พบในข้าวปลูกชนิด *O. sativa* แต่ไม่พบในข้าวชนิดอื่นที่มียีนแบบ AA ยกเว้นข้าวป่า *O. rufipogon* ที่พบว่าประมาณ 30% ของตัวอย่างที่ศึกษาจะพบว่ามี p-SINE1-r30 Mochizuki et al. (1993) ระบุว่า p-SINE1-r2 และ -r6 ซึ่งไม่พบในข้าวบางสายพันธุ์ ดังนั้นสมาชิกของ p-SINE1 นี้อาจเป็นประโยชน์ด้านการจำแนกสายพันธุ์ข้าวที่มียีนแบบ AA ได้ นอกจากนี้มีรายงานที่น่าสนใจโดย Hirano et al. (1994) ที่พบว่าในข้าวปลูกของเอเชีย (*O. sativa*) และบรรพบุรุษของข้าวปลูกเอเชียคือ *O. rufipogon* มี p-SINE1-r2 ปรากฏในยีน Waxy ซึ่ง

ไม่พบ p-SINE1-r2 ในข้าวชนิดอื่น ซึ่งจากข้อค้นพบดังกล่าวนี้ทำให้ทีมวิจัยทีมนี้ได้สรุปว่า p-SINE1-r2 ได้เข้ามาอยู่ในยีนอมของข้าวปลูกและข้าวป่าของเอเชียหลังจากที่ข้าว 2 ชนิดนี้ได้แยกสายวิวัฒนาการออกจากสายวิวัฒนาการของข้าวชนิดอื่นๆแล้ว

จากการค้นพบ SINE1 ในยีนอมของข้าวในปี ค.ศ. 1991 โดยทีมวิจัยของนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นนั้นได้จุดประกายให้นักวิทยาศาสตร์ที่สนใจใช้ SINE1 ที่พบมาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับศึกษาด้านวิวัฒนาการของข้าวปลูกเอเชียคือ *O. sativa* ที่แบ่งออกตามสภาพภูมิศาสตร์(geographical race หรือ ecospecies หรือ subspecies) ออกเป็น 3 แบบ คือ *Indica*, *Japonica* และ *Javanica* โดยนักวิทยาศาสตร์ของจีนและญี่ปุ่นได้ให้ความสำคัญของการเกิดวิวัฒนาการของข้าวปลูกเอเชียแบบ อินดิกา (หรือ Hsien rice) และจาปอนิกา (หรือ Keng rice) โดยได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างรีโทรทรานสโพซัน ที่ปรากฏในบรรพบุรุษของข้าวปลูกและข้าวป่า ผลจากการศึกษาทำให้นักวิทยาศาสตร์ได้ตั้งสมมติฐานไว้ว่าข้าวปลูกอินดิกามีสายวิวัฒนาการแยกกันกับสายวิวัฒนาการของข้าวปลูกจาปอนิกา หรือข้าวปลูกสองแบบนี้มีสายวิวัฒนาการแยกกัน (diphyletic origin) ตัวอย่างข้าวที่ใช้คือข้าวของญี่ปุ่นและจีน ทั้งข้าวปลูกและข้าวป่า อย่างไรก็ตามการทดสอบสมมติฐานนี้จำเป็นต้องเวลาและที่สำคัญข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจากทุกพื้นที่ที่มีข้าวปลูกและข้าวป่าโดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวอย่างข้าวปลูกและข้าวป่าที่อาศัยอยู่ในบริเวณภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นั้น มีความจำเป็นอย่างยิ่ง ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปใช้ในการอธิบายภูมิหลัง (life history) ของข้าวอินดิกาและจาปอนิกาในระดับสากล ในขณะที่ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในข้าวไทยที่เป็นส่วนหนึ่งของภูมิภาคนี้ นับว่าเป็นความจำเป็นและมีความสำคัญในการอธิบายภูมิหลังของข้าวไทยที่บรรพบุรุษได้ฝากเป็นมรดกอันล้ำค่านี้เอาไว้ให้ลูกหลาน ด้วยการใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมใช้ในการศึกษายีนเพื่อค้นหาข้อมูลที่เป็นวิทยาศาสตร์ของข้าวปลูกของไทยที่ได้มาจากภูมิปัญญาของบรรพบุรุษ เพื่อค้นหาอัตลักษณ์ที่สะท้อนให้เห็นคุณค่าในด้านจิตวิญญาณของข้าวไทยในอีกมิติหนึ่ง

1.5 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาการกระจาย(การปรากฏหรือไม่ปรากฏ)ของ p-SINE1-r2 ในประชากรของข้าวปลูกและข้าวป่า และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความถี่ของการกระจายของ p-SINE1-r2 กับประชากรข้าวและนิสัย (habit) ของข้าวป่า
- 2) เพื่อรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลลักษณะโมเลกุลของ p-SINE1-r2 ที่ปรากฏในประชากรข้าวปลูกและข้าวป่า
- 3) เพื่อวิเคราะห์และสังเคราะห์ข้อมูลดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ได้จากการศึกษามาใช้ในการอธิบายภูมิหลังหรือวิถีการเกิดวิวัฒนาการ(evolutionary path) ของข้าวปลูกไทย

2) วัสดุและวิธีการศึกษา

2.1 ตัวอย่างข้าวที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างข้าวที่ใช้ในการศึกษาในงานวิจัยนี้เป็นตัวอย่างที่เป็นข้าวป่า 2 ชนิด คือ *Oryza nivara* และ *O. rufipogon* และข้าวปลูกพื้นบ้านของไทย สำหรับข้าวป่านั้นจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดและใบอ่อนของโครงการวิจัยที่ได้รับการสนับสนุนจากโครงการ BRT นั้น ได้สกัดดีเอ็นเอไว้แล้วในห้องปฏิบัติการมีอยู่จำนวนหนึ่ง ซึ่งประชากรข้าวป่าที่จะใช้เป็นแหล่งศึกษาวิจัยการเปลี่ยนแปลงติดตามตรวจสอบพันธุกรรมของประชากรนั้นผู้วิจัยได้กำหนดไว้ 2 ประชากรคือ หนองหาน จังหวัดสกลนคร และหนองญาติ จังหวัดนครพนม (ภาพที่ 1) ประชากรธรรมชาติเหล่านี้มีขนาดใหญ่มากและการรบกวนจากสัตว์และกิจกรรมของมนุษย์มีน้อยจึงควรที่จะใช้เป็นพื้นที่ถาวรสำหรับศึกษาวิจัยข้าวป่าในแง่มุมต่างๆ นอกจากนี้ผู้วิจัยมีตัวอย่างข้าวที่เป็นลูกผสม หรือ weedy form อยู่จำนวนหนึ่งทั้งข้าวเหนียวและข้าวเจ้าจึงนำมาใช้ในการศึกษานี้ด้วย ส่วนข้าวปลูกพื้นบ้านนั้นจะออกเก็บตัวอย่างจากชาวบ้านในภาคอีสาน และได้มีการประสานงานและร่วมมือในการศึกษาวิจัยในระดับโมเลกุลของข้าวพื้นบ้านจากมูลนิธิขวัญข้าวจังหวัดสุพรรณบุรี เพื่อใช้ตัวอย่างที่เก็บได้โดยมูลนิธินำมาศึกษาวิจัย และผู้วิจัยได้เดินทางไปศึกษาวิจัยวัฒนธรรมท้องถิ่นที่เกี่ยวข้องกับความหลากหลายทางชีวภาพใน สปป. ลาว จึงได้ข้าวพื้นบ้านของสปป. ลาวมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย

2.2 การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

2.2.1 ตัวอย่างข้าวป่าและข้าวพื้นบ้านที่เก็บรวบรวมได้จะนำมาเพาะเมล็ดและสกัดดีเอ็นเอ และเก็บเป็นสต็อกดีเอ็นเอไว้ใช้ในการศึกษาวิจัย

2.2.2 การสกัดดีเอ็นเอจากเมล็ดข้าว

- การสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าวนั้นจะใช้วิธี CTAB ตามวิธีการของ Doyle and Doyle (1987) ที่ดัดแปลงเล็กน้อย ตามวิธีการที่ใช้ในห้องปฏิบัติการของหัวหน้าโครงการวิจัย

2.2.3 การศึกษาในเชิงระบาดวิทยาของ p-SINE1-r2 ในข้าวป่าและข้าวปลูก

- ออกแบบไพรเมอร์คู่ที่ 1 โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ Waxy gene เป็นแม่พิมพ์ ที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของ NCBI ซึ่งไพรเมอร์คู่นี้จะครอบคลุมนิวคลีโอไทด์ส่วนที่เป็นครึ่งหลัง (second half) ของยีนนี้ซึ่งมีขนาดประมาณ 2 kb และใช้เทคนิค PCR เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ตรวจสอบผลของการทดลองโดยใช้เทคนิคอะการโรสเจลิเลคโทรโฟรีซิส ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์เป็นดังนี้ (Yamanaka *et al.* (<http://www.carleton.ca/~bgordon/Rice/papers/yama20.htm>))

Waxy2F: 5'-ACGCCGGTGGAGGGCAGGAAGATCAACT-3' และ

Waxy4R: 5'-TCAAGGAGCAGCCACGTTCTCCTTGGCG-3'

- ออกแบบไพรเมอร์ชุดที่ 2 เพื่อใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณรอบๆอินทรีออนที่ 10 และอินทรีออนที่ 10 โดยใช้ PCR products ที่ได้จากการทำ PCR ในครั้งแรกและตรวจสอบผลของการทดลองโดยใช้เทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส
ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ชุดที่สองเป็นดังนี้
M6: 5'-GGAGGACGTGCAGATCGTTC-3' และ
R7: 5'-ACGAGTCCACCGGTGGACGC-3'
- เงื่อนไขและองค์ประกอบของการทำ PCR
องค์ประกอบของการทำ PCR เป็นดังนี้ ปริมาตรในแต่ละหลอดคือ 20 μ l ประกอบด้วย PCR buffer (10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 50 mM KCl และ 0.1% Triton[®] x-100), 1.5 mM MgCl₂, 0.1mM แต่ละ dNTPs, 10 pM แต่ละ primer, และ 150 ng genomic DNA (โดยประมาณ), และ 1 U ของ Taq polymerase (Promega) ใช้เครื่อง Hybaid thermal cycler โดยกำหนดเงื่อนไขดังนี้ 94°C นาน 2 min, ตามด้วย 35 รอบของ 94°C นาน 1 min, 65°C นาน 1 min และ 72°C นาน 2 min
- การบันทึกข้อมูล จะบันทึกเป็นปรากฏ (+), ไม่ปรากฏ (-) และแบบที่เป็น heterozygote (+, -)
- วิเคราะห์ความถี่ของอัลลีลเมอนต์นี้ในประชากรกลุ่มต่างๆของข้าวป่าและข้าวพื้นบ้าน โดยแยกเป็นกลุ่มหลักๆ อาทิ กลุ่มที่เป็น perennial type และ annual type กลุ่มข้าวพื้นบ้านที่ปลูกตามสภาพพื้นที่ต่างๆ เป็นต้น

2.2.4 วิเคราะห์ลักษณะโมเลกุลของ p-SINE1-r2 และวิเคราะห์ Phylogeny

- นำชิ้นดีเอ็นเอที่แสดงว่ามี p-SINE1-r2 และไม่มี p-SINE1-r2 แยกออกมาจากเจล และทำให้ชิ้นดีเอ็นเอบริสุทธิ์โดยใช้ QIA quick Gel extraction kit (Qiagen)
- วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอโดยใช้เครื่องวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์อัตโนมัติ (ABI 737 automated sequencer)
- วิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนและคุณภาพของ p-SINE1-r2 วาเรียนส์ต่างๆ (variants) ที่พบในข้าวปลูกและข้าวป่าโดยใช้โปรแกรม DnaSP 3.5 (Rozas and Rozas, 1999)

2.2.5 วิเคราะห์ข้อมูลพันธุกรรมเชิงประชากรโดยใช้โปรแกรม DnaSP 3.5 ค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้อธิบายความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการของข้าวปลูกและข้าวป่าโดยใช้ข้อมูลจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของอินทรีออนที่ 10 และ p-SINE1-r2 ได้แก่ nucleotide diversity, Π (Tajima, 1983), Watterson's (1975) estimator of Θ_w และใช้ Tajima's (1989) test เพื่อทดสอบ selectively neutral โดยใช้ค่า Tajima's D statistic ที่มีข้อตกลงเบื้องต้นว่าไม่มีการเกิด recombination ระหว่างตำแหน่งเบสใดๆที่ศึกษา ซึ่งข้อตกลงนี้นิยมใช้กับพืชในกลุ่มผสมตัวเอง (selfing species) ดังเช่นข้าว *O. sativa* และ *O. nivara*

ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ทั้งหมดนำมาสร้าง phylogeny โดยใช้วิธี NJ method (Saitou and Nei, 1997) ที่มีอยู่ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์ TREECON 1.3b (Van de Peer and De Wachter, 1997) โดยได้กำหนดค่า Bootstrap เท่ากับ 100

3) ผลการศึกษา

Genome polymorphism อันเป็นผลมาจากการสอดแทรกของ p-SINE1-r2 ในวงศ์ขี้น

ผลจากการศึกษาโดยใช้ไพรเมอร์ชุดแรก พบว่าในอินทรอนที่10 ของวงศ์ขี้นแสดงความแตกต่าง กล่าวคือ ในตัวอย่างข้าวที่ใช้ในการศึกษา ผลของปฏิกิริยาลูกโซ่ หลังจากได้ทำอะกาโรสเจลอิเล็กโตรฟอเรซิสแล้ว จะปรากฏ แถบดีเอ็นเอแบ่งออกเป็น 3 แบบ คือ ปรากฏแถบดีเอ็นเอ 1 แถบ (บน (L) หรือล่าง(S)) หรือ ปรากฏ 2 แถบ (LและS) ดังแสดงในภาพที่ 3 แถบบนนั้นแสดงให้เห็นว่าน่าจะมี p-SINE1-r2 สอดแทรกในยีนโนม(ยีนวงศ์ขี้น) ในขณะที่แถบล่าง ไม่มีอิลเมนต์นี้สอดแทรกอยู่

เมื่อนำผลลัพธ์จากการทำปฏิกิริยาลูกโซ่ครั้งแรกไปทำปฏิกิริยาลูกโซ่ครั้งที่ 2 (nested PCR) โดยใช้ ไพรเมอร์ชุดที่ 2 พบว่าได้ผลลัพธ์ตามที่คาดหมายไว้ กล่าวคือ ในตัวอย่างข้าวที่มีแถบดีเอ็นเอ 1 แถบ (L หรือ S) จะแสดงผลได้แถบดีเอ็นเอเพียง 1 แถบซึ่งสามารถอนุมานได้ว่ายีนโนมข้าวที่ใช้เป็นตัวอย่างนั้นมียีนโนไทป์แบบ L/L หรือ S/S ส่วนตัวอย่างข้าวที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ 2 แถบนั้นผลลัพธ์ของปฏิกิริยาลูกโซ่ครั้งที่ 2 ได้เป็นแถบดีเอ็นเอ 2 แถบตามที่คาดหมายไว้ จึงอนุมานยีนโนไทป์ได้เป็น L/S (ภาพที่ 4ก-ข)

ผลจากการศึกษาการปรากฏและการกระจายของ p-SINE1-r2 ในประชากรของข้าวป่าและข้าวปลูกที่มียีนโนแบบ AA นั้น ปรากฏผลดังตารางที่ 1

Table 1. Prevalence of p-SINE1-r2 at the waxy locus in Thai cultivated rice and wild rice with genome AA

Species/strain	Habit	N	Presence p-SINE1-r2	Absence p-SINE1-r2	Heterozygotes
<i>O. sativa</i>	annual	106	106	0	0
<i>O. nivara</i>	annual	58	55	2	1
<i>O. rufipogon</i>	perennial	112	0	69	43
Total		276	161	71	44

ข้อมูลจากตารางที่ 1 สรุปได้ว่าในข้าวปลูกที่ศึกษาจำนวน 106 พันธุ์ซึ่งเป็นข้าวที่มีอายุชั่ปีเดียว (annual form) ในประชากรข้าวชนิดนี้จะปรากฏอิลเมนต์นี้ในยีนโนมที่บริเวณอินทรอน 10 ของวงศ์ขี้นทุกพันธุ์ ส่วนในประชากรข้าวป่าชนิด *O. nivara* ซึ่งมีอายุชั่ปีเดียวเช่นกันพบว่ามิลเมนต์นี้ในประชากรเป็นส่วนใหญ่ มีจำนวนเล็กน้อยที่ไม่พบอิลเมนต์นี้ในยีนโนมและรวมทั้งพบว่ามีเพียง 1 สายพันธุ์เท่านั้นที่พบว่าเป็นเฮตเทอโรไซโกต ในประชากรข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* ที่ศึกษาจากตัวอย่างจำนวน 112 สายพันธุ์พบว่าส่วนมากจะไม่พบอิลเมนต์ชนิดนี้ (96/112) ถ้าจะพบอิลเมนต์นี้จะพบในสภาพเฮตเทอโรไซโกต (43/112) และไม่พบว่าอิลเมนต์ชนิดนี้ปรากฏในมวลสมาชิกของข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* ในแบบโฮโมไซโกต

ผลจากการวิจัยที่ได้กล่าวถึงนี้ได้เสนอลงตีพิมพ์ในวารสารวิจัยข้าวนานาชาติ คือ International Rice Research Note ณ ประเทศฟิลิปปินส์ แล้วและได้ตอบรับจากกองบรรณาธิการแล้วว่า จะตีพิมพ์ในเล่ม ประจำเดือนกรกฎาคม 2546

Nucleotide sequence ของ p-SINE1-r2 ที่พบในประชากรข้าวปลูกและข้าวป่าของไทย

เมื่อนำแถบดีเอ็นเอที่เป็นแถบ L ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทป์ และเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอที่เป็นแถบ S พบว่าดีเอ็นเอแถบ S มีชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดโมเลกุล 139 คู่เบสขาดหายไป ในขณะที่เดียวกันพบชิ้นดีเอ็นเอดังกล่าวในแถบ L และเมื่อนำตัวอย่างพันธุ์ข้าวจำนวน 48 สายพันธุ์ (ดังแสดงในตารางที่ 2) นำไปวิเคราะห์พบว่าอิลเมนต์นี้ (p-SINE1-r2) ซึ่ง Motohashi et al.(1997) และ Mochizuki et al. (1992) ได้รายงานเอาไว้แล้ว ผลจากการเปรียบเทียบพบว่า มีขนาดของโมเลกุลเท่ากันคือประมาณ 125 คู่เบสและล้อมรอบด้วย direct repeat ทั้งปลายทั้งสองด้านๆ ละ 14 คู่เบส ข้อแตกต่างกับ p-SINE1-r2 ที่ทั้งสองท่านนี้ได้รายงานไว้แล้วนั้นได้แก่ ลำดับนิวคลีโอไทป์ของ p-SINE1-r2 แตกต่างกันอย่างสิ้นเชิง และลำดับนิวคลีโอไทป์ของ direct repeat ก็แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบในฐานข้อมูลของ GenBank พบว่าอินทรอน 10 ของเวกเตอร์มีโมเลกุลคล้ายๆกับโมเลกุลที่พบในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มี Acc. Nos. AF031162 หรือ AF 14195 เป็นต้น ซึ่งมีขนาดโมเลกุลและลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายคลึงกัน (ภาพที่ 5) ผลจากการศึกษานี้ทำให้ตั้งข้อสันนิษฐานได้ว่า p-SINE1-r2 ที่มีรายงานไว้นั้นเป็นคอนละแบบกับที่มีในฐานข้อมูลและผลจากการศึกษานี้ ลักษณะโมเลกุลของ p-SINE1 ที่พบในฐานข้อมูลและผลจากการศึกษานี้ตามที่เสนอไว้ในภาพที่ 5 นั้นน่าจะเป็น p-SINE1 ชนิดใหม่ (อาจเรียกว่า variant) ซึ่งยังไม่มีผู้ใดสังเกตมาก่อน ลักษณะของโมเลกุลมีคุณสมบัติเช่นเดียวกันกับ p-SINE1-r2 กล่าวคือ มีขนาดโมเลกุล 125 คู่เบสที่ล้อมรอบด้วย direct repeat และที่บริเวณด้านปลาย 3' จะมีคุณสมบัติที่เรียกว่า T-rich pyrimidine tract และลำดับนิวคลีโอไทด์ของอิลเมนต์ชนิดนี้ของพันธุ์ข้าวของไทยและต่างประเทศรวม 48 สายพันธุ์แสดงในภาพที่ 6 และ DNA sequence ของอิลเมนต์ของสายพันธุ์ข้าวเหล่านี้ได้ส่งไปเก็บไว้ในฐานข้อมูลของ GenBank เรียบร้อยแล้วภายใต้ลำดับหมายเลข Acc. Nos. AY222747-222794 (ดูรายละเอียดในภาคผนวก)

ผลจากการวิเคราะห์นิวคลีโอไทด์ของ p-SINE1 ในตัวอย่างข้าวที่ใช้ในการศึกษานี้จำนวน 48 สายพันธุ์ พบว่ามีตำแหน่งที่เกิดมิวเทชันหรือ nucleotide substitution จำนวน 55 แห่ง และมี haplotype จำนวน 29 haplotypes ที่น่าสนใจคือ พันธุ์ข้าวทุกพันธุ์ที่นำมาจากภาคใต้จะไม่พบนิวคลีโอไทด์ ATA ที่ตำแหน่ง 51-53 ในขณะที่ข้าวพื้นบ้านจากทางภาคเหนือทุกพันธุ์พบนิวคลีโอไทด์กลุ่มนี้ ตัวอย่างข้าวที่นำมาจากประเทศลาวและญี่ปุ่น พบว่ามีนิวคลีโอไทด์กลุ่มนี้ ส่วนในข้าวเหนียวป่าและข้าวจากเมืองคุนหมิง ประเทศจีน พบทั้งมีและไม่มีนิวคลีโอไทด์กลุ่มนี้ ผลจากการวิเคราะห์ความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์พบว่า ตัวอย่างข้าวจากลาว ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ของไทยมีความคล้ายคลึงกันมาก ในขณะที่ตัวอย่างข้าวจากภาคเหนือมีความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับภูมิภาคอื่นๆ (ตารางที่ 3) ตัวอย่างข้าวในกลุ่มข้าวเหนียวจะมีความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ (Phi) น้อยกว่าข้าวเจ้า ซึ่งสอดคล้องกับค่า Θ_w ซึ่งมีค่ามากกว่าประมาณ 2 เท่าในกลุ่มข้าวเจ้าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างข้าวในกลุ่มข้าวเหนียว (ตารางที่ 4) ผลจากการวิเคราะห์ความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากข้อมูลนี้ จะสนับสนุนสมมติฐานของการกำเนิดข้าวเหนียวว่ามาจากบรรพบุรุษที่เป็นข้าวเจ้า ผลจากการวิเคราะห์ Tajima's test พบว่าผลของการคัดเลือก (selection) ไม่เบี่ยงเบนไปจากค่าความคาดหวัง (selectively neutral expectation) ($P > 0.1$)

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของ p-SINE1 ของข้าวกลุ่มนี้ไปสร้าง phylogeny โดยใช้วิธี NJ พบว่าข้าวแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยข้าวจากชนกลุ่มน้อยทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย ข้าวจากญี่ปุ่น ลาว และข้าวจากเมืองคุนหมิง มณฑลยูนนาน ประเทศจีน กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยข้าวจากภาคใต้เป็นส่วนมากและข้าวเหนียวป่าจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วนข้าวพันธุ์ดอกคำและตัวอย่างข้าวจากเมืองคุนหมิง มีความแตกต่างทางพันธุกรรมไปจากสองกลุ่มแรก (ภาพที่ 7)

ผลจากการศึกษาในหัวข้อนี้ได้เขียนต้นฉบับเพื่อเสนอลงตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติแล้ว ภายใต้ชื่อบทความว่า “Molecular characterization of a retrotransposon that insert to the intron 10 of the rice *Waxy* gene”

4) สรุปและวิจารณ์

การกระจายของ p-SINE1 ในประชากรข้าวปลูกและข้าวป่า

ในประชากรข้าวปลูกมี p-SINE1 อยู่ในยีนพูลของข้าวกลุ่มนี้ โดยปรากฏในอินทรอนที่ 10 ของแควซีเอ็น p-SINE1 เป็น retroposon ประเภทหนึ่งที่พบในข้าว จากอดีตถึงปัจจุบันยังไม่พบรายงานว่าอิลเมนต์ชนิดนี้เกิดเปลี่ยนแปลงเป็น “active form” แต่อย่างใด แต่ยังคงสภาพ “inactive form” อยู่ซึ่งอิลเมนต์ในกลุ่ม retroposon นี้ในยาสูบหรือในข้าวโพดจะมีการสลับสับเปลี่ยนตำแหน่งในยีนในข้าวโพดและยาสูบ ทำให้แควซีเอ็นและnitrate reductase gene ตามลำดับ มีการแสดงออกของยีนอย่างผิดปกติ (Varagona et al., 1992; Leprince et al., 2001) ผลจากการศึกษานี้พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของ p-SINE1 ในข้าวไทย ลาว จีน และญี่ปุ่น มีความคล้ายคลึงกันแสดงถึงวิวัฒนาการของข้าวว่ามีรากเหง้าเดียวกันโดยใช้ DNA sequence บริเวณนี้เป็นเครื่องหมาย แต่มีข้อสังเกตว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์(มิวเทชัน)ที่เบสตำแหน่งต่างๆเป็นจำนวนมาก นำไปสู่ข้อสรุปได้ว่าอิลเมนต์นี้มีอัตราการเกิดมิวเทชันสูง ในประชากรของข้าวปลูกและข้าวป่าชนิด *O. nivara* พบว่ามีอิลเมนต์ชนิดนี้กระจายอยู่ในยีนพูลในสภาพ homozygous เป็นส่วนมาก และมีส่วนน้อยที่พบอิลเมนต์นี้ในสภาพ heterozygous ในขณะที่ประชากรของข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* มีอิลเมนต์นี้อยู่ในสภาพ heterozygous และไม่พบอิลเมนต์นี้ในสัดส่วนใกล้เคียงกัน แต่ไม่พบอิลเมนต์นี้ในสภาพ homozygous เลย ข้ออธิบายประการแรกถึงสาเหตุอาจเนื่องมาจากตำแหน่งที่อิลเมนต์นี้สอดแทรกอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 นั้นอาจจะมียีนที่เป็นลึงค์ยีนที่เป็น lethal gene (หรือ lethal allele) ทำให้ต้นข้าวที่มี lethal allele ในสภาพ homozygous ตายไปในระยะใดระยะหนึ่งของพัฒนาการ ส่งผลทำให้ไม่พบอิลเมนต์นี้ในสภาพ homozygous ดังที่กล่าวแล้วในยีนพูลของข้าวป่าชนิดนี้ ข้ออธิบายที่เป็นไปได้อีกประการหนึ่งคือ ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาการกระจายของอิลเมนต์ในข้าวป่าชนิด *O. rufipogon* นั้นใช้ส่วนของใบอ่อนที่เก็บตัวอย่างจากต้นคือส่วนที่เป็น vegetative part ซึ่งในสภาพน้ำลึกข้าวป่าชนิดนี้จะขยายพันธุ์โดยการแตกกิ่งใหม่มากกว่าที่จะผลิตเมล็ด ทำให้ตัวอย่างที่เก็บมาใช้สำหรับศึกษารั้งนี้เป็นต้นข้าวที่เกิดจากการขยายพันธุ์ในสภาพธรรมชาติแบบไม่อาศัยเพศ ดังที่กล่าวแล้ว อย่างไรก็ตามการทดลองที่จะยืนยันข้อสันนิษฐานว่าข้อใดถูกต้องนั้นจำเป็นต้องออกแบบการทดลองและทำการทดลองเพื่อค้นหาคำตอบต่อไป

ลักษณะโมเลกุลของ p-SINE1 ที่ปรากฏในอินทรอน 10 ของยีนแควซี

จากตัวอย่างข้าวที่เลือกมาศึกษาจำนวน 48 พันธุ์ทั้งข้าวป่า (*O. nivara*) และข้าวปลูก (*O. sativa*) โดยศึกษาอิลเมนต์ชนิด p-SINE1-r2 ตามที่มีรายงานโดย Umeda et al. (1991) นั้น จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของ p-SINE1 ที่พบในตัวอย่างข้าวที่ศึกษาแตกต่างกันไปจาก p-SINE1-r2 ที่มีรายงานโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นนั้น หลักเกณฑ์ที่ใช้ในการตัดสินว่า ชิ้นส่วน DNA ชิ้นนี้จัดอยู่ในกลุ่ม p-SINE1 นั้น พิจารณาจากผลจากการศึกษารั้งนี้กับผลการศึกษาของ (Yamanaka et al.

(<http://www.carleton.ca/~bgordon/Rice/papers/yama20.htm>) ซึ่งใช้เทคนิคเดียวกัน และ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA ชิ้นนี้มีคุณสมบัติของ retrotransposon กล่าวคือ มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีขนาด 14 คู่เบส ที่เรียกว่า direct repeat ล้อมรอบที่ปลายทั้งสองด้าน และลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA ชิ้นนี้ บริเวณตอนปลายจะมีคุณสมบัติที่เรียกว่า AT-rich หมายความว่ามียีนชนิด A และ T ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้อิลเมนต์ที่พบนี้น่าจะเรียกได้ว่าเป็น “variant” ของ p-SINE1-r2 อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA ชิ้นนี้ ที่ตำแหน่งเดียวกันบนยีนแควซีกับ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของพันธุ์ข้าวที่มีอยู่ในฐานข้อมูล (GenBank) พบว่ามีชิ้นส่วน DNA ที่มีลักษณะเช่นนี้

อยู่ในตำแหน่งเดียวกันนั้นบนยีนแควซี แต่เป็นที่น่าแปลกใจว่าทำไมนักวิจัยจึงไม่สังเกตและนำมาเปรียบเทียบกับ p-SINE1-r2 ที่มีรายงานออกมา อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการศึกษานี้จะต้องถูกตรวจสอบโดยนักวิจัยที่ศึกษาในแนวทางเดียวกันนี้โดยผ่านกระบวนการตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการนานาชาติ

การเกิดมิวเทชันของนิวคลีโอไทด์ใน *p-SINE1* หรือ *p-SINE1-related element* พบว่าสามารถนำไปใช้เป็นดีเอ็นเอเครื่องหมายได้ กล่าวคือ ผลจากการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบส (base substitution) นั้นทำให้สามารถใช้เครื่องหมายนี้แบ่งข้าวออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ข้าวหลายพันธุ์โดยเฉพาะข้าวพื้นบ้านจากภาคใต้ มีเบสสูญหายไป (deletion) 3 เบส คือ ATA ในขณะที่ข้าวพันธุ์อื่นๆมีเบสสามเบสนี้ หรือมีการขาดหายไปของเบสเหล่านี้

การศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรของตัวอย่างข้าวพันธุ์ต่างๆในครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อหาข้อมูลในระดับหนึ่งเพื่อใช้อธิบายความเป็นมาของข้าวปลูกของไทย โดยใช้การวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่เป็นบางส่วนของยีนแควซี อันเป็นข้อมูลส่วนหนึ่งที่ใช้นับสนุนข้อมูลอื่นๆที่จะใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในประชากรข้าวของไทย ซึ่งทำให้เรามองเห็นว่าแนวทางหรือวิถีแห่งการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมนั้นมีการเปลี่ยนแปลงมากน้อยเท่าใด เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างพันธุ์ข้าวที่มีวิวัฒนาการตามสภาพภูมิประเทศที่หลากหลายในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และในภูมิภาคอินโดจีน ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาก็ดีหรือเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาที่พัฒนาขึ้นนี้ นำไปสู่การพัฒนาในเชิงเทคนิคที่ใช้ศึกษาพันธุกรรมข้าว และที่สำคัญข้อมูลที่ได้เหล่านี้ถือว่าเป็นองค์ความรู้ใหม่และอาจจะนำไปใช้โดยผู้อื่นที่เห็นว่า มีประโยชน์ต่อวิชาชีพหรือหน้าที่ที่ได้ทำกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับผลงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยเองได้มีโจทย์วิจัยเพิ่มขึ้นมาอีกหลายโจทย์เมื่อผ่านกระบวนการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากผลการศึกษาดังแต่ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยเกี่ยวกับข้าว และในงานวิจัยที่จะดำเนินการต่อไปนั้นผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะศึกษายีน SBE (Starch branching enzyme) เป็นยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์แป้งชนิดอะไมโลเพกติน ในตัวอย่างข้าวที่มีการสกัดดีเอ็นเอไว้แล้วและที่อยู่ในระหว่างการเก็บตัวอย่างข้าวพื้นบ้านจากภูมิภาคอินโดจีน เพื่อใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในระดับประชากรของข้าวในภูมิภาคนี้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- สงกรานต์ จิตรากร (2532) ทรัพยากรเชื้อพันธุ์ข้าวป่าในประเทศไทย. *ว.วิชาการ กษ.* 7, 79-83.
- ศรีศักร วัลลิโภดม (2531) ข้าว:กับการพัฒนาของรัฐในประเทศไทย, หน้า 70-97 ใน *ข้าวไพร่-ข้าวเจ้าของชาวสยาม*. บรรณาธิการ: สุจิตต์ วงษ์เทศ. สำนักพิมพ์มติชน กรุงเทพฯ.
- Batzer M *et al.* (1994) African origin of human-specific polymorphic *Alu* insertions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **91**, 12288-12292.
- Doyle J.J., and Doyle J.L. (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bull.* **19**, 11-15.
- Hirano H.Y., Mochizuki K., Umeda M., Ohtsubo H., Ohtsubo E., and Sano Y. (1994) Retrotransposition of a plant SINE into the *wx* locus during evolution of rice. *J. Mol. Evol.* **38**, 132-137.
- Ge S., Sang T., Lu B.-R., and Hong D.-Y. (1999) Phylogeny of rice genome with emphasis on origins of allotetraploid species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 14400-14405.
- Leprince A-S *et al.* (2001) Retrotransposons of the Tnt1B family are mobile in *Nicotiana plumbaginifolia* and can induce alternative splicing of the host gene upon insertion. *Plant Molecular Biology* **47**, 533-541.
- Lu BR. (1999) Taxonomy of the genus *Oryza* (Poaceae): historical perspective and current status. *International Rice Res. Newsletter*. **24**(3), 4-8.
- Morishima HY, Sano, Y and Oka, HI. (1984) Differentiation of perennial and annual types due to habitat conditions in the wild rice *Oryza perennis*. *Plant Syst. Evol.* **144**, 119-135.
- Motohashi R., Mochizuki K., Ohtsubo H. and Ohtsubo E. (1997) Structures and distribution of *p-SINE1* members in rice genome. *Theor, Appl. Genet.* **95**, 359-368.
- Mochizuki K, Umeda M, Ohtsubo H and Ohtsubo E. (1992) Characterization of a plant SINE, *p-SINE1*, in rice genomes. *Jpn. J. Genet.* **67**, 155-166.
- Mochizuki K., Ohtsubo H., Hirano H-Y, Sano Y, and Ohtsubo H. (1993) Classification and relationships of rice strains with AA genome by identification of transposable elements at nine loci. *Jpn. J. Genet.* **68**, 205-217.
- Motohashi R., Mochizuki K., Ohtsubo H., and Ohtsubo E. (1997) Structures and distribution of *p-SINE1* members in rice genome. *Theor, Appl. Genet.* **95**, 359-368.
- Mochizuki K., Umeda M., Ohtsubo H., and Ohtsubo E. (1992) Characterization of a plant SINE, *p-SINE1*, in rice genomes. *Jpn. J. Genet.* **67**, 155-166.
- Prathepha P. (2003) Distribution of *p-SINE1-r2* at *Wx* locus in cultivated and wild rice in Thailand. *IRRN* (in press).
- Rao SA, Phetpaseut and Jackson MT. (1997) Spontaneous interspecific hybrids in *Oryza* in Lao PDR. *IRRN* **22**, 4-5.

- Rozas J., and Rozas R. (1999) DnaSP: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis, version 3.5, *Bioinformatics* **15**, 174-175.
- Saitou N., and Nei M. (1987) The neighbour-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**, 406-425.
- Tajima F. (1983) Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics* **105**, 437-460.
- Tajima F. (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* **123**, 585-595.
- Umeda M., Ohtsubo H., and Ohtsubo E. (1991) Diversification of the rice Waxy gene by insertion of mobile DNA elements into introns. *Jpn. J. Genet.* **66**, 569-586.
- Van de Peer Y., De Wachter, R. (1997) Construction of evolutionary distance trees with TREECON for Windows: accounting for variation in nucleotide substitution rate among sites. *Comput. Applic. Biosci.* **13**, 227-230.
- Varagona M., Purugganan M., and Wessler SR. (1992) Alternative splicing induced by insertion of retrotransposons into the maize waxy gene. *The Plant Cell* **4**, 811-820.
- Watterson C.A. (1975) On the number of segregating sites in genetical models without recombination. *Theor. Popul. Biol.* **7**, 256-276.
- Yamanaka S., Nakamura I., Nakai H., and Sata Y.-I. (No date). Annual-perennial and *indica-japonica* differentiations related to retrotransposon polymorphism at Waxy locus in wild relatives of rice. Online]. Available: <http://www.carleton.ca/~bgordon/Rice/papers/yama20.htm> [2002, May 23].

ตารางที่ 2 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาลักษณะโมเลกุลของ p-SINE1

รหัส	ชนิด	พันธุ์หรือสายพันธุ์	แหล่งกำเนิด	% อะมิโลส	ชนิดเอนโดสเปิร์ม
SQ10016	<i>O. sativa</i>	Glutinous japonica rice	ญี่ปุ่น	4.59	เหนียว
SQ10017	<i>O. sativa</i>	ทามาซากะ	ญี่ปุ่น	3.51	เหนียว
SQ10018	<i>O. sativa</i>	โยเนชิโร	ญี่ปุ่น	18.31	เจ้า
SQ10019	<i>O. sativa</i>	โกไฮกาคุมังโกกุ	ญี่ปุ่น	20.25	เจ้า
SQ10020	<i>O. sativa</i>	แบลลือ	เซียงราย (ม้ง)	3.51	เหนียว
SQ10021	<i>O. sativa</i>	แบลเจ้าเปลา	เซียงราย (ม้ง)	3.39	เหนียว
SQ10022	<i>O. sativa</i>	แบลเปลาซัง	เซียงราย (ม้ง)	3.51	เหนียว
SQ10023	<i>O. sativa</i>	บ้ากู่	เซียงราย (เมี่ยน)	3.62	เหนียว
SQ10024	<i>O. sativa</i>	เบี่ยวไมยันไร	เซียงราย (เมี่ยน)	16.51	เจ้า
SQ10025	<i>O. sativa</i>	บ้านุด	เซียงราย (เมี่ยน)	3.62	เหนียว
SQ10026	<i>O. sativa</i>	ลายน้อย	เซียงราย (ขมุ)	3.85	เหนียว
SQ10027	<i>O. sativa</i>	ยิม	เซียงราย (ขมุ)	3.74	เหนียว
SQ10028	<i>O. sativa</i>	บันเนิร์ยิม	เซียงราย (ขมุ)	4.31	เหนียว
SQ10029	<i>O. sativa</i>	จาย	เซียงราย (ขมุ)	4.08	เหนียว
SQ10030	<i>O. sativa</i>	ชีว	เซียงราย (ขมุ)	3.62	เหนียว
SQ10031	<i>O. sativa</i>	รำตาง	เซียงราย (ขมุ)	3.62	เหนียว
SQ10032	<i>O. sativa</i>	แบ่เต้าเดอก	ตาก (ม้ง)	3.96	เหนียว
SQ10033	<i>O. sativa</i>	เบ้จา	ตาก (ม้ง)	2.14	เหนียว
SQ10034	<i>O. sativa</i>	เบ้เลี้ยะเตี้ยะเต้า	ตาก (ม้ง)	15.58	เจ้า
SQ10035	<i>O. sativa</i>	เผือกน้ำ	พัทลุง	30.5	เจ้า
SQ10036	<i>O. sativa</i>	พวงทอง	พัทลุง	27.77	เจ้า
SQ10037	<i>O. sativa</i>	นางพญา	พัทลุง	28.34	เจ้า
SQ10038	<i>O. sativa</i>	เจี้ยงพัทลุง	พัทลุง	28.91	เจ้า
SQ10039	<i>O. sativa</i>	แก่นจันทร์	พัทลุง	29.25	เจ้า
SQ10040	<i>O. sativa</i>	เล็บนกปัตตานี	พัทลุง	23.78	เจ้า
SQ10041	<i>O. sativa</i>	จำปา	พัทลุง	28	เจ้า
SQ10042	<i>O. nivara</i>	ON-RE(D1-F1)	ร้อยเอ็ด	20.14	เจ้า
SQ10043	<i>O. sativa</i>	ดอกคำ1	สปป.ลาว	4.53	เหนียว
SQ10044	<i>O. sativa</i>	น้ำปะ	สปป.ลาว	-	-

ตารางที่ 2 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาลักษณะโมเลกุลของ p-SINE1 (ต่อ)

รหัส	ชนิด	พันธุ์หรือสายพันธุ์	แหล่งกำเนิด	% อะมิโลส	ชนิดเอนโดสเปิร์ม
SQ10045	<i>O. sativa</i>	ผาดั่ง	สปป.ลาว	4.19	เหนียว
SQ10046	<i>O. sativa</i>	ข้าวเหนียว	สปป.ลาว	5.1	เหนียว
SQ10047	<i>O. sativa</i>	หอมมะลิเจ้า	สปป.ลาว	15.13	เจ้า
SQ10048	<i>O. sativa</i>	Kunming1	จีน	15.58	เจ้า
SQ10049	<i>O. sativa</i>	Kunming2	จีน	-	-
SQ5085	<i>O. sativa</i>	ขาวดอกมะลิ105	นครพนม	14.25	เจ้า
SQ5086	<i>O. sativa</i>	ขาวดอกมะลิ105	ยโสธร	13.72	เจ้า
SQ5087	<i>O. nivara</i>	waxy7	สกลนคร	-	เหนียว
SQ7689	<i>O. sativa</i>	กข6	มหาสารคาม	4.25	เหนียว
SQ8215	<i>O. nivara</i>	waxy6	นครพนม	13.72	เจ้า
SQ8314	<i>O. nivara</i>	waxy3	นครพนม	12.98	เจ้า
SQ8316	<i>O. nivara</i>	waxy4	มุกดาหาร	10.45	เจ้า
SQ8317	<i>O. nivara</i>	waxy5	มุกดาหาร	25.03	เจ้า
SQ8318	<i>O. nivara</i>	waxy2	มหาสารคาม	3.62	เหนียว
SQ8319	<i>O. nivara</i>	waxy1	กาฬสินธุ์	-	เหนียว
SQ8320	<i>O. sativa</i>	ข้าวแกนดู่	มุกดาหาร	8.65	เหนียว
SQ8321	<i>O. sativa</i>	อุคำ	มุกดาหาร	6.51	เหนียว
SQ8322	<i>O. sativa</i>	ป๋องแอ้ว	มุกดาหาร	8.7	เหนียว
SQ8323	<i>O. sativa</i>	ขี้ตม	มหาสารคาม	8.48	เหนียว

ตารางที่ 3 Geographical distribution of genetic diversity at the *Wx* locus.

Population	π	θ_w	Tajima's D
China (n=2)	0.27848 (0.1392)	0.27848 (0.1991)	-
Laos (n=4)	0.05241 (0.0169)	0.0549 (0.0317)	-0.45989 (P>0.01)
Northern, Thailand (n=15)	0.00458 (0.0015)	0.00584 (0.0038)	-0.64102 (P>0.10)
Northeastern, Thailand (n=16)	0.04016 (0.0086)	0.04472 (0.0181)	-0.41439 (P>0.10)
Southern, Thailand (n=7)	0.0425 (0.0140)	0.05301 (0.0259)	-1.16033 (P>0.10)
Japan (n=4)	0.00738 (0.0023)	0.0069 (0.0055)	0.59158 (P>0.10)

Standard deviation are shown in parentheses. Values for θ were calculated using the conservative assumption of no recombination. For China population, Tajima's D can not be calculated.

ตารางที่ 4 Genetic diversity in glutinous and nonglutinous rice accessions used in this study.

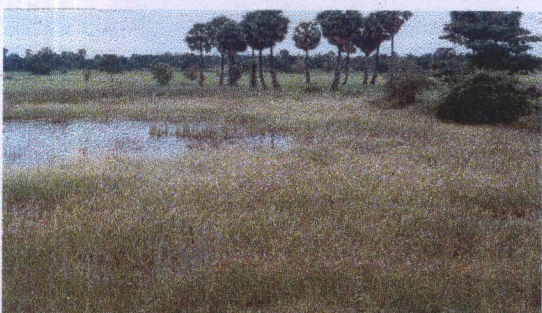
	n	π	θ_w	Tajima's D
Glutinous	30	0.02715 (0.005)	0.04289 (0.015)	-1.3111 (P>0.10)
Nonglutinous	18	0.07839 (0.024)	0.10261 (0.038)	-0.97505 (P>0.10)



อ. เมือง จ. ร้อยเอ็ด



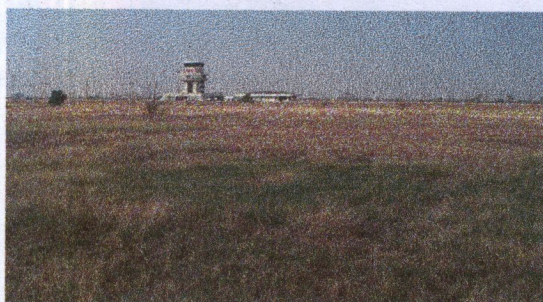
อ. ชาติพนม จ. นครพนม



ถนนสายอุดร-หนองคาย



ถนนสายไปวัดหินหมากเป้ง
จ. อุดรธานี



บ้านอุ่มเม้า สนามบินจังหวัดร้อยเอ็ด



หนองญาติ บ้านนาจอก อ. เมือง
จังหวัดนครพนม

ภาพที่ 1 ถิ่นอาศัยของข้าวป่านิด *O. nivara* และ *O. rufipogon* ที่เก็บตัวอย่างใช้ในการศึกษา



อ. โกสุมพิสัย จ. มหาสารคาม



หนองหาน อ. เมือง จ. สกลนคร
(บริเวณที่ 3)



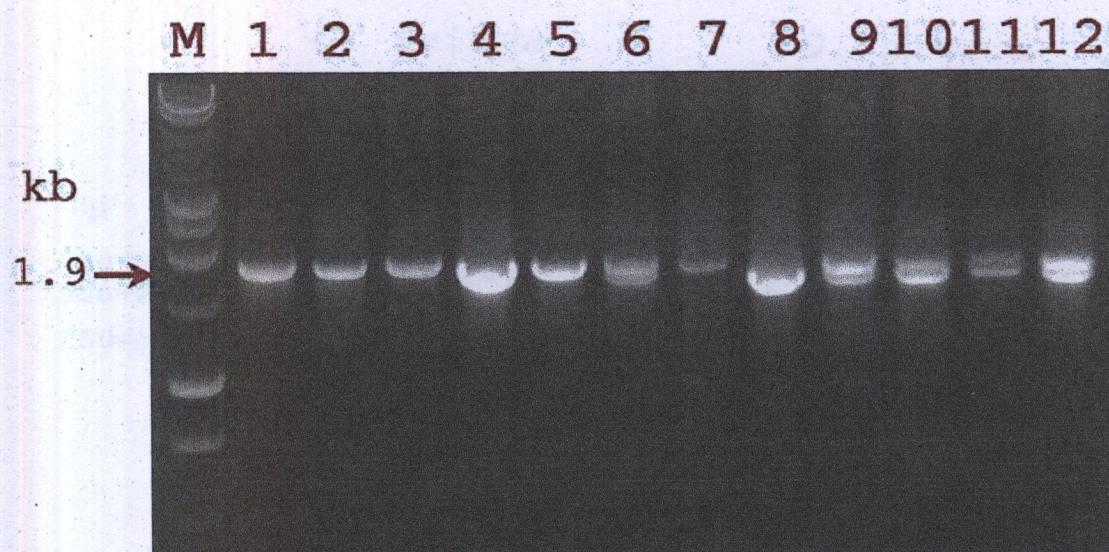
หนองหาน อ. เมือง จ. สกลนคร (บริเวณที่ 2)



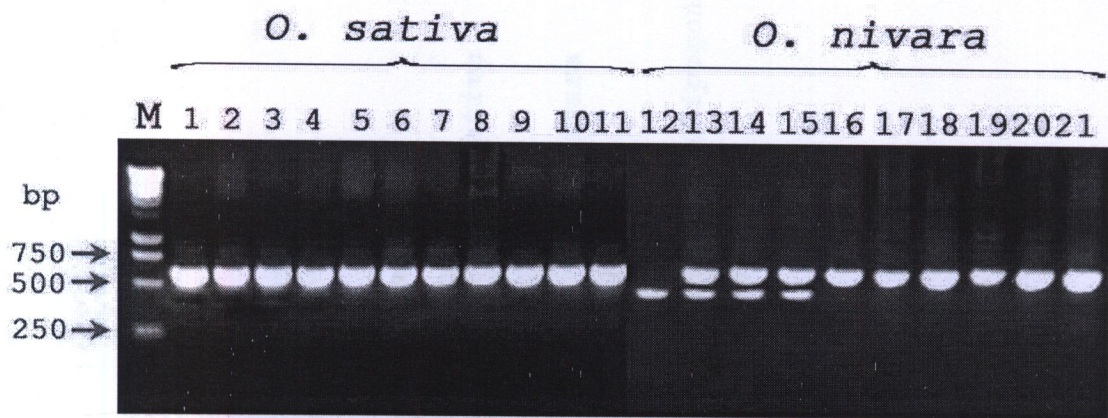
หนองหาน อ. เมือง จ. สกลนคร
(บริเวณที่ 1)



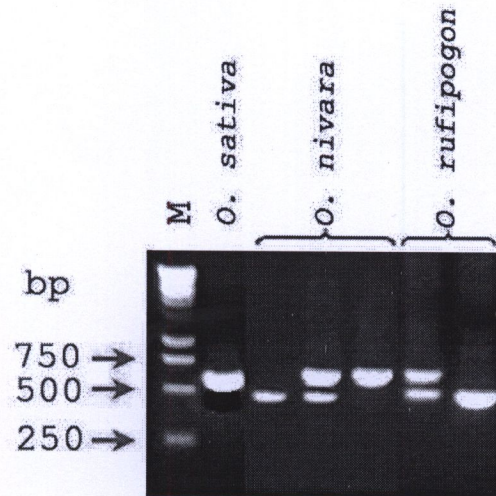
ภาพที่ 2 ตัวอย่างพันธุ์ข้าวพื้นบ้านจากชนกลุ่มน้อยทางวัฒนธรรมในภาคเหนือ



ภาพที่ 3 ภาพถ่ายเจลที่แสดงแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณโดยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 2F/4R สังเกตรูปแบบของแถบซึ่งมี 3 แบบ คือ 1 แถบ (L หรือ S) และ 2 แถบ (L/S)



ภาพที่ 4 ก ภาพถ่ายเจลแสดงตัวอย่างข้าวที่มีหรือไม่มี p-SINE1-r2 ใน intron 10 ของ Waxy gene



ภาพที่ 4 ข ภาพถ่ายเจลแสดงตัวอย่างข้าวที่มีหรือไม่มี p-SINE1-r2 ใน intron 10 ของ Waxy gene ในตัวอย่างข้าว 3 ชนิดที่มีอินโนแบบ AA

таблица 5 Direct repeats at the termini of the retroposon-like element found in the intron 10 of the *Wx* locus

Direct repeat sequence	Source	GenBank Acc. No.
AATTCAGTGGCAAA...//...AATTCAGTGGCAAA	Frances et al. (1998)	AF031162
ATTCAGTGGCAAA...//...ATTCAGTGGCAAA	Larkin et al. (1999)	AF141954
TTGGCCACTGAATT...//...TTGGCCACTGAATT	Larkin et al. (1999)	AF141955
AATTCAGTGGCAAA...//...AATTCAGGGGCAAA	this study	
DNA sequences of p-SINE1 element (125 bp) ↑		

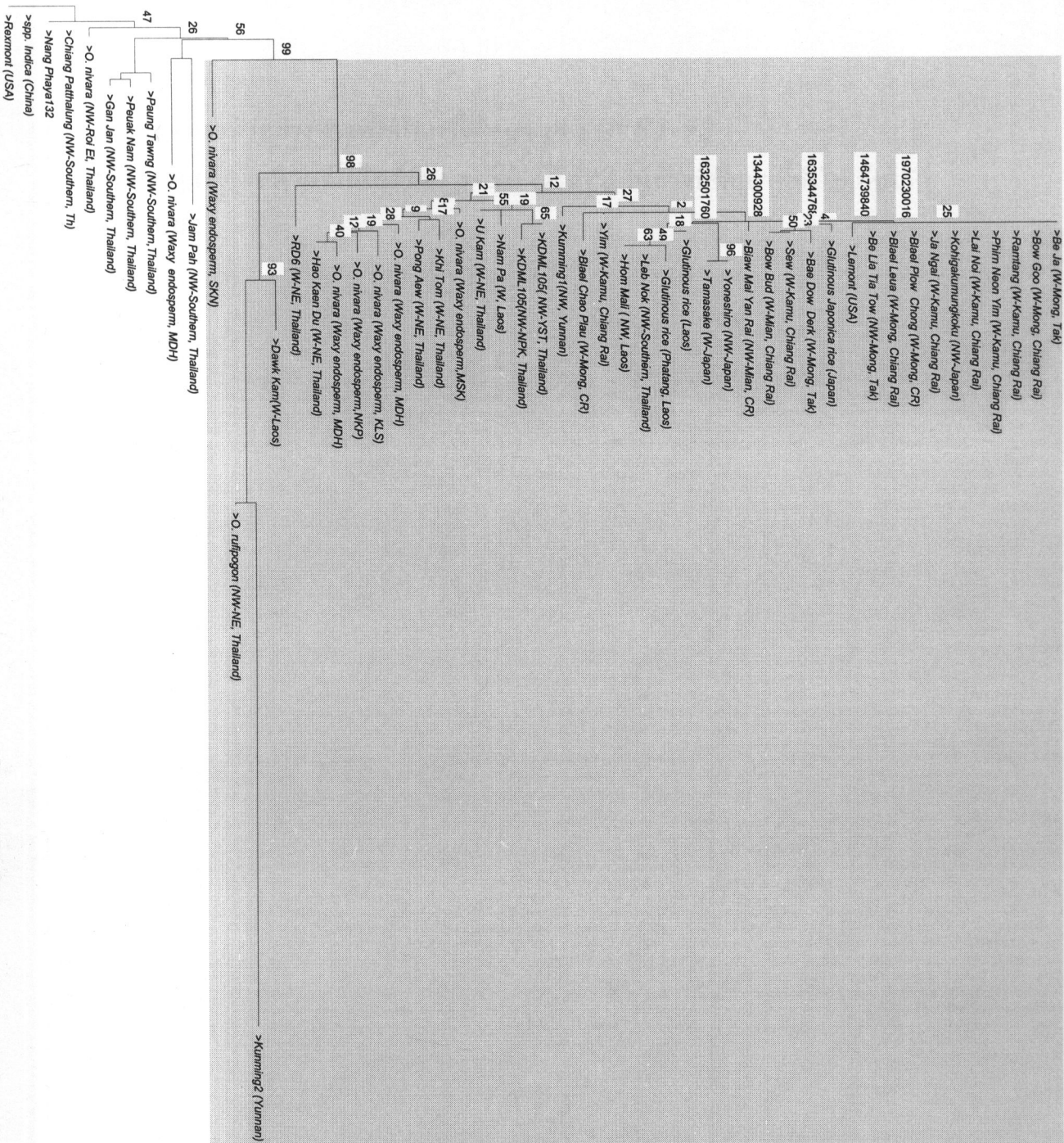
Figure 6 Haplotype of p-SINE1-like element that insert to the intron 10 of the rice *Waxy* gene.

[illegible]

[illegible]

```
>SQ10033 .....A.....T.....C.....A.....C.....T.....
>SQ10045 .....-C.....T.....T.....C.....A.....C.....T.....
>SQ10028 .....A.....-.....T.....C.....A.....C.....T.....
>SQ10031 .....A.....-.....T.....C.....A.....C.....T.....
...
1      15      30      45      60      75      90      105      120      135      150
166
>SQ8320 AATTCAGTGGCAAAAAAA-CTCGAATTTTAGGAGGACC-TAATAATCAATAATTAGAAGGGGGAGGCTTTGAACCCAGATCGTTTAGTCCACCACCTTGTGGGTT--AGCCGAGAGACCTCTGAGCATTTTCAATTCAAGGGG-CAATGCA
TGT
>SQ10017 .....A.....-.....T.....C.....A.....C.....T.....
>SQ10018 .....A.....-.....T.....C.....A.....C.....T.....
>SQ5087 .....A.....-A.....-.....T.....G..A..C..C.....A.C.....A..G.C.....
>SQ10037 .....A..A.....-A.....-.....T.....G..A.C..C.....A.A.C.....G.....C..G.....T.....
>SQ10038 .....A..A.....-A.....-.....T.....G..A.C..C.....A.A.C.....G.....C..G.....T.....
>SQ10042 .....A.....-A.....-.....T.....G..A.C..C.....A.A.C.....G.....C..G.....T.....
Rexmont .....A..A.....-A.....-.....T.....G..A.C..C.....A.A.C.....G.....C..G.....T.....
China .....A..A.....-A.....-.....T.....G..A.C..C.....A.A.C.....G.....C..G.....T.....
>SQ8317 .....A..A.....-A.....-T.....G.....G..A..C..C..C.....A.A.C.....G.....G.....
>SQ10041 .....A.....-.....C.....-.....T.....G..A.C..C.....A.A.C.....G..T..C.....GG..A.....G..
..G
>SQ10039 .....A..A.....-A.....-.....T.....G..A..C..C.....A.A.C.....G.....C..G.....T.....
...
>SQ10035 .....A..A.....-A.....-.....T.....G..A..C..C.....A.A.C.....G.....C..G.....
...
```

```
>SQ10036.....A..A.....-A.....-.....T.....G..A.C..C.....A.A.C.....G.....C..G.....T.....
>SQ10043.....A.....-C.....T.....G.....C.C.....C.....T.....C.....T..C.....
>SQ10049.....A.....-C.....-..T.T.A....T.....G.....T.....CCAGA.C.TC.....CC.T.A.C.GGCC.....GC...A.C.T.T..CG.T.....G.C.-AA.....
G..
>SQ5088
AATTCAGTGGCAAA-----TGA
TGT
1      15      30      45      60      75      90      105      120      135      150
166
>SQ8320
AATTCAGTGGCAAAAAAAAA-CTCGAATTTTAGGGAAGGCACC-TAATAATATCAAAATAATTAGAGGGGGAGGCTTTGAACCCAGATCGTTAGTCCACCACTTGTGGGGTT--AGCCGGAAGACCTCTGAGCATTTTCAATTCAAGGGG-CAAAATGA
TGT
```



ภาคผนวก

รายละเอียดของตัวอย่างข้าวที่ใช้ในการศึกษา *p-SINE1-r2*

ตัวอย่างข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *p-SINE1r2* ในข้าวที่ศึกษาที่ส่งไปเก็บไว้ที่
GenBank

รายละเอียดของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและผลของการศึกษาการกระจายของ p-SINE1-r2 ในฮิโนมข้าว

Species	Cultivar or strain (Code)	Locality	Type	p-SINE1-r2	
				Large band harbor p-SINE1-r2	Small band without p-SINE1-r2
<i>O. nivara</i>	on-RE-airport	Roi Et Airport, RE	Annaul	+	
	on-SKN	Ban Lad Cor, SKN	Annaul	+	
	on-Sodet	Som Det, KLS	Annaul	+	
	on-mdh	Mukdahan	Annaul		+
	on-msk-kr1-1	Ban Kham Rieng, MSK	Annaul	+	
	on-msk-kr1-2	Ban Kham Rieng, MSK	Annaul	+	
	on-msk-kr1-3	Ban Kham Rieng, MSK	Annaul	+	
	MSK-KR2-2	Ban Kham Rieng, MSK	Annaul		+
	on-msk-kr1-4	Ban Kham Rieng, MSK	Annaul	+	+
	MSK-KR2-1	Ban Kham Rieng, MSK	Annaul	+	
	MSK-NR1-1	Ban Thungnarao, MSK	Annaul	+	
	MSK-NR1-3	Ban Thungnarao, MSK	Annaul	+	
	MSK-NR2-1	Ban Thungnarao, MSK	Annaul	+	
	MSK-NR2-2	Ban Thungnarao, MSK	Annaul	+	
	TNR-W1 (waxy rice)	Ban Thungnarao, MSK	Annaul	+	
	KS1-1	Kham muang, KLS	Annaul	+	
	KS3-1	Kham muang, KLS	Annaul	+	
	on-Kham Muang	Kalasin	Annaul	+	
	on-Kham Muang	Kalasin	Annaul	+	
	RE-JH-1-1	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-JH-1-2	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-JH-1-4	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-JH-1-6	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-JH-1-7	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-JH-1-8	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-JH-1-10	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-JH-1-11	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-JH-1-12	Jung Harn, RE	Annaul	+	

รายละเอียดของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและผลของการศึกษาการกระจายของ p-SINE1-r2 ในอินโนข้าว

Species	Cultivar or strain (Code)	Locality	Type	p-SINE1-r2	
				Large band	Small band
				harbor p-SINE1-r2	without p-SINE1-r2
	RE-JH-1-13	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-JH-1-14	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-JH-1-16	Jung Harn, RE	Annaul	+	
	RE-SW1	Thung Kula, RE	Annaul	+	
	RE-SW2	Thung Kula, RE	Annaul	+	
	RE-SW-3	Thung Kula, RE	Annaul	+	
	RE-SW-4	Thung Kula, RE	Annaul	+	
	RE-SW5	Thung Kula, RE	Annaul	+	
	RE-SW6	Thung Kula, RE	Annaul	+	
	RE-D1-1	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-1	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-2	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-3	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-4	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-5	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-6	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-7	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-8	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-9	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-10	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-14	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-15	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-16	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-17	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-18	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-19	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-20	RE น้ำลึก	Annaul	+	
	RE-D2-21	RE น้ำลึก	Annaul	+	

รายละเอียดของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและผลของการศึกษาการกระจายของ p-SINE1-r2 ในยีนโมข้าว

Species	Cultivar or strain (Code)	Locality	Type	p-SINE1-r2	
				Large band	Small band
				harbor p-SINE1-r2	without p-SINE1-r2
	RE-D2-22	RE น้ำลึก	Annual	+	
	RE-D2-23	RE น้ำลึก	Annual	+	
O. rufipogon	MSK-KO-1	KosumPhisi, MSK	Perennial		+
	MSK-KO-3	KosumPhisi, MSK	Perennial		+
	MSK-KO-4	KosumPhisi, MSK	Perennial		+
	NKP1-2	Ban Naklang, NKP	Perennial		+
	NKP1-3	Ban Naklang, NKP	Perennial		+
	NPK2-1	Ban Nong Yard, NKP	Perennial		+
	NPK2-2	Ban Nong Yard, NKP	Perennial		+
	SKN1-1	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN1-4	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-5	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-6	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-8	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-10	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-7	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	KS	KosumPhisi, MSK	Perennial		+
	KS	KosumPhisi, MSK	Perennial		+
	KS	KosumPhisi, MSK	Perennial		+
	NKP1-1	Ban Thaklang, NKP	Perennial		+
	NKP1-4	Ban Thaklang, NKP	Perennial		+
	NKP1-6	Ban Thaklang, NKP	Perennial	+	+
	NKP1-7	Ban Thaklang, NKP	Perennial		+
	NKP1-8	Ban Thaklang, NKP	Perennial		+
	NKP1-10	Ban Thaklang, NKP	Perennial		+
	NKP2-3	Ban Nong Yard, NKP	Perennial		+
	NKP2-4	Ban Nong Yard, NKP	Perennial		+
	NKP2-5	Ban Nong Yard, NKP	Perennial		+

รายละเอียดของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและผลของการศึกษาการกระจายของ p-SINE1-r2 ในฮิโนมข้าว

Species	Cultivar or strain (Code)	Locality	Type	p-SINE1-r2	
				Large band	Small band
				harbor p-SINE1-r2	without p-SINE1-r2
	NKP2-6	Ban Nong Yard, NKP	Perennial		+
	SKN1-3	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN1-6	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN1-7	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN1-9	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN1-10	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN1-13	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN1-14	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN1-21	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN1-32	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN1-2	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-8	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-11	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-15	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-16	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-19	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-22	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-23	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-25	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-26	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-28	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-29	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-30	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN1-31	Nong Ham, SKN	Perennial		+
	SKN2-1	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-2	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-7	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-3	Nong Ham, SKN	Perennial	+	+

รายละเอียดของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและผลของการศึกษาการกระจายของ p-SINE1-r2 ในฮิโนมข้าว

Species	Cultivar or strain (Code)	Locality	Type	p-SINE1-r2	
				Large band	Small band
				harbor p-SINE1-r2	without p-SINE1-r2
	SKN2-4	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-9	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-21	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-26	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-29	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-31	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-33	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-34	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-35	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN2-16	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-17	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-19	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-22	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-25	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-27	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-28	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN2-30	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-8	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-2	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-4	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-10	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-11	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-14	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-16	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-17	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-22	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-26	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-27	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+

รายละเอียดของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและผลของการศึกษาการกระจายของ p-SINE1-r2 ในอณูข้าว

Species	Cultivar or strain (Code)	Locality	Type	p-SINE1-r2	
				Large band harbor p-SINE1-r2	Small band without p-SINE1-r2
	SKN3-28	Nong Harn, SKN	Perennial	+	+
	SKN3-3	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-13	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-15	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-29	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-30	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-31	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-32	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-33	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-34	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-5	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-6	Nong Harn, SKN	Perennial		+
	SKN3-9	Nong Harn, SKN	Perennial		+
O. sativa	KDML105	Mukdahan	Annau	+	
	KDML105	Nawa, NKP	Annau	+	
	KDML105	Thung Kula, RE	Annau	+	
	KDML105	Kudchum, YST	Annau	+	
	Chainart 60		Annau	+	
	RD15		Annau	+	
	Kam1	Nichomkhamsoi	Annau	+	
	Kam2	Nichomkhamsoi	Annau	+	
	Kam	Roi Et	Annau	+	
	Kasaen2	Ban Rom Klao	Annau	+	
	Hao Kaen Du	Ban Rom Klao	Annau	+	
	Khao Rai Kaset	Ban Rom Klao	Annau	+	
	Kam1	Kham Muang,KLS	Annau	+	
	Kam2	Kham Muang,KLS	Annau	+	
	Kamnai	Kham Muang,KLS	Annau	+	

รายละเอียดของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและผลของการศึกษาการกระจายของ p-SINE1-r2 ในอินโดจีน

Species	Cultivar or strain (Code)	Locality	Type	p-SINE1-r2	
				Large band	Small band
				harbor p-SINE1-r2	without p-SINE1-r2
	Khitom	Kantharavichai	Annaul	+	
	U-Kham	Ban Nongnokkhian Nichomkhamsoi	Annaul	+	
	Bla leu	Hmong	Annaul	+	
	Bla jao blao	Hmong	Annaul	+	
	Bla plao chong	Hmong	Annaul	+	
	Bla lamee	Hmong	Annaul	+	
	Bla makla	Hmong	Annaul	+	
	Bla jao jua	Hmong	Annaul	+	
	Bla jai	Hmong	Annaul	+	
	Bla der	Hmong	Annaul	+	
	Bla cha plao	Hmong	Annaul	+	
	Bao ku	Mian	Annaul	+	
	Bao pae	Mian	Annaul	+	
	Ling bao	Mian	Annaul	+	
	Bauw maiyanrai	Mian	Annaul	+	
	Bao bud	Mian	Annaul	+	
	Ja lai	Kamu	Annaul	+	
	Ka jao	Kamu	Annaul	+	
	Lai noi	Kamu	Annaul	+	
	Pan nim klok (NW)	Kamu	Annaul	+	
	Pan nim klok (W)	Kamu	Annaul	+	
	Yim	Kamu	Annaul	+	
	Pan nim yim	Kamu	Annaul	+	
	Ja ngai	Kamu	Annaul	+	
	Siew	Kamu	Annaul	+	
	Ram tang	Kamu	Annaul	+	
	Gala (W)	Kamu	Annaul	+	
	Ba dao dirk	Hmong	Annaul	+	

รายละเอียดของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและผลของการศึกษาการกระจายของ p-SINE1-r2 ในอินโนมข้าว

Species	Cultivar or strain (Code)	Locality	Type	p-SINE1-r2	
				Large band	Small band
				harbor p-SINE1-r2	without p-SINE1-r2
	Be lao da	Hmong	Annaul	+	
	Ba dai nong	Hmong	Annaul	+	
	Be dao	Hmong	Annaul	+	
	Be lia tia tao	Hmong	Annaul	+	
	La hoo or	มูเซอว์ดำ	Annaul	+	
	meuy	มูเซอว์ดำ	Annaul	+	
	Sa ne or	มูเซอว์ดำ	Annaul	+	
	Kai chon	โรงสีข้าว จ. เชียงราย	Annaul	+	
	Patalung 60	Patalung	Annaul	+	
	Leung 152	Patalung	Annaul	+	
	Peugnum43	Patalung	Annaul	+	
	Puangtong	Patalung	Annaul	+	
	Nangpaya132	Patalung	Annaul	+	
	Chiang patalung	Patalung	Annaul	+	
	Kan jan	Patalung	Annaul	+	
	Puang rai2	Patalung	Annaul	+	
	Hom jan	Patalung	Annaul	+	
	Kem tong	Patalung	Annaul	+	
	Jumpa	Patalung	Annaul	+	
	Lebnok patanee	Patalung	Annaul	+	
	Chor lung	Patalung	Annaul	+	
	Kai mod rin	Patalung	Annaul	+	
	Kow ruang yow	Patalung	Annaul	+	
	Si rak	Patalung	Annaul	+	
	RD13	Patalung	Annaul	+	
	Sanpatong	Laos	Annaul	+	
	Dok kam1	Laos	Annaul	+	
	กข 10+ ตั้งแต่เดิม	Laos	Annaul	+	

รายละเอียดของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและผลของการศึกษาการกระจายของ p-SINE1-r2 ในยีนโมข้าว

Species	Cultivar or strain (Code)	Locality	Type	p-SINE1-r2		
				Large band	Small band	
				harbor p-SINE1-r2	without p-SINE1-r2	
	Nampa (ขาวใส)	Laos	Annaul	+		น้ำปะ (ขาวใส)
	RD.12	Laos	Annaul	+		กข12
	Dok kam	Laos	Annaul	+		ดอกคำ
	Pa tang	Laos	Annaul	+		ผาดั่ง
	Bankasi (w)	Laos	Annaul	+		บ้านกาสี (เหนียว)
	Hom mali jao	Laos	Annaul	+		หอมมะลิเจ้า
	Todorokiwase	Japan	Annaul	+		
	Koshihikari	Japan	Annaul	+		
	Hyougonishiki	Japan	Annaul	+		
	Isenishiki	Japan	Annaul	+		
	Ukonnishiki	Japan	Annaul	+		
	Oozora	Japan	Annaul	+		
	Gohyakumanggoku	Japan	Annaul	+		
	Yamadanishiki	Japan	Annaul	+		
	Tamasakae	Japan	Annaul	+		
	Chiyonishiki	Japan	Annaul	+		
	Taipeijaponiga rice	Japan	Annaul	+		
	Yamahikari	Japan	Annaul	+		
	Koshinishiki	Japan	Annaul	+		
	Yoneshiro	Japan	Annaul	+		
	Fujiminori	Japan	Annaul	+		
	Hiyokumochi	Japan	Annaul	+		
	Glutinous japonica rice	Japan	Annaul	+		
	Hitomebore	Japan	Annaul	+		
	China3-2	Kunming Yunnan	Annaul	+		
	China4	Kunming Yunnan	Annaul	+		

bankit516213

Submission without Coding Regions

[Help](#)

**** You're NOT finished yet! ****

You have indicated that your submission is complete, but we notice that you did not indicate the location of a coding sequence interval (CDS). These are important components of many submissions, but not all. Please indicate whether you intended to submit your entry without coding regions or not, then press **BankIt**.

☒ There are **NO** coding sequence intervals (protein coding segments) in my submission.

☐ **Oops!** There is/are coding sequence(s) in my submission.

[Continue BankIt](#)

Submission 1 of a total of 1 submission(s).

--To be released immediately--

LOCUS bankit516213 159 bp DNA linear PLN 09-JAN-2003
DEFINITION p-SINE1 inserted to the intron10 of the rice Waxy gene.
ACCESSION bankit516213
KEYWORDS .
SOURCE Oryza sativa.
ORGANISM Oryza sativa
Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
Spermatophyta; Magnoliophyta; Liliopsida; Poales; Poaceae;
Ehrhartoideae; Oryzeae; Oryza.
REFERENCE 1 (bases 1 to 159)
AUTHORS Prathepha,P.
TITLE Molecular characterization of a retrotransposon that insert to the
intron10 of the rice Waxy gene
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 159)
AUTHORS Prathepha,P.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (09-JAN-2003) Biotechnology, Mahasarakham University,
Main Road, Muang, Mahasarakham 44000, Thailand
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..159
/organism="Oryza sativa"
/db_xref="taxon:4530"
/chromosome="6"
/note="Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta;
Embryophyta; Tracheophyta; euphyllophytes; Spermatophyta,

Magnoliophyta
Organelle: nucleomorph"

BASE COUNT 53 a 27 c 39 g 40 t

ORIGIN

1 aattcagtgg caaaaaaaaa actcgaattt tagggaagga cctaataata tcaaataatt
61 agaagggggg gggctttgaa cccagatcgt ttagtccacc accttggtga gttagccgga
121 agaccttga gcattttca attcaggggc aaatgatgt

//