รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ (BRT R_252036)

การศึกษาจีโนมิกของข้าววัชพืช (*Oryza sativa* f. spontanea) โดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายทางพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์

โดย

รศ. ดร. ปรีชา ประเทพา และคณะ

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

19 กุมภาพันธ์ 2553

RECEIVED
BY DATE 12/2/53

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การศึกษาจีโนมิกของข้าววัชพืช (*Oryza sativa* f. spontanea) โดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายทางพันธุกรรมไมโครแซทเทลไลท์

โดย

รศ. ดร. ปรีชา ประเทพา และคณะ

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT) ผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณโครงการ BRT ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยข้าวมาอย่างต่อเนื่อง ทำให้ผู้วิจัยสามารถผลิตผลงานวิจัยวิทยาศาสตร์พื้นฐานที่สามารถนำไปตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติได้ อันเป็นแนวทางยกระดับความรู้ความสามารถของนักวิจัยวิทยาศาสตร์พื้นฐานให้มีมาตรฐานเข้าสู่ความเป็นสากลมากขึ้น

บทคัดย่อ

ข้าววัชพืช (Weedy rice) ส่วนหนึ่งเกิดมาจากการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าที่พบทั่วไปในธรรมชาติ กับข้าวปลูก เกิดเป็นลูกผสมที่มีการกระจายตัวของลูกหลานเป็นหลายลักษณะ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นลักษณะที่ชาวนาไม่ต้องการ คือ เปลือกเมล็ดมีสีดำหรือลายน้ำตาแดง เมล็ดข้าวสารมีสีแดง ปลายเมล็ดมีหางและเมื่อสุกแก่เมล็ดจะร่วงก่อนเก็บเกี่ยวข้าว ข้าววัชพืชพบทุกประเทศในลุ่มน้ำโขงจากเหนือ (จีน) จรดใต้ (ไทย) เป็นวัชพืชที่สร้างความเสียหายในระบบการผลิตข้าวอย่างรุนแรง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าววัชพืช 4 ประชากรที่มีถิ่นอาศัยในไทยและลาวโดยการวิเคราะห์ดีเอ็นเอส่วนที่เป็น ไมโครแซทเทลไลท์ ผลการศึกษาพบว่า ข้าววัชพืชทุกประชากรที่ศึกษามีความหลากหลายพันธุกรรมในระดับสูงทุกประชากร ความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรข้าววัชพืชเหล่านี้จะนำมาซึ่งความยุ่งยากซับซ้อนในการควบคุมกำจัดข้าววัชพืชในอนาคตและส่งผลกระทบเชิงลบในกระบวนการผลิตข้าว ดังนั้นการพัฒนากระบวนการที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุม การจัดการเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางในพื้นที่ปลูกข้าวจึงมีความจำเป็นและเร่งด่วนของผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทั้งในไทยและลาว

Abstract

Weedy rice *(Oryza sativa* f. spontanea) is one of a notorious weed which occurs in rice-plating areas in the Mekhong River Basin. There is expected to play important role in increasing the genetic diversity of cultivated rice (*Oryza sativa* L.). The objective of this study is to use simple sequence repeat (SSR) to estimate the genetic diversity of 4 weedy rice populations from Laos and Thailand. It was found that the genetic diversity of each weedy rice population was relatively high (H_e >0.5). The abundant genetic diversity of weedy rice populations will complicate weedy rice control in the future and consequently threaten rice production. Thus, effective methodologies for weed control and management must be developed to prevent weedy rice from extensive spreading and infestation across all rice-planting regions in Thailand and Laos.

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

ข้าววัชพืชขึ้นอยู่ในระบบนิเวศเกษตรจะไปแก่งแย่งธาตุอาหาร น้ำ แสงอาทิตย์และแหล่งอาหารอื่นๆกับข้าวปลูก และส่งผลกระทบต่อการผลิตข้าว การบริหารจัดการข้าววัชพืชที่อยู่ในระบบนิเวศเกษตรนั้นต้องมีความสอดคล้อง สนับสนุนและส่งเสริมระบบการผลิตข้าวให้มีความยั่งยืน ซึ่งลักษณะพิเศษของข้าววัชพืชที่ส่งเสริมให้ข้าวเหล่านี้ปรับตัวอยู่ได้อย่างดีในระบบนิเวศเกษตรคือ ข้าวเหล่านี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมและการปรับตัวให้สามารถอยู่ในถิ่นอาศัยที่แตกต่างหลากหลายได้ ซึ่งพบทั่วไปในประชากรข้าววัชพืช ดังนั้นความเข้าใจอย่างลึกซึ้งเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าววัชพืชเป็นสิ่งแรกที่ต้องทราบเพื่อใช้สำหรับการจัดการข้าววัชพืชอย่างมีประสิทธิภาพ และผลการศึกษาที่ทำให้ทราบถึงจุดกำเนิดและการเปลี่ยนวิวัฒนาการของข้าววัชพืชล้วนแล้วแต่มีส่วนช่วยเหลือในการออกแบบยุทธศาสตร์ในการจัดการเพื่อกำจัดและควบคุมข้าววัชพืชอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

Executive Summary

Weedy rice persist in agricultural ecosystems competing for nutrients, water, sunlight and other resources with cultivated rice, and consequently cause a constant challenge for rice production. Appropriate management of weedy rice occurring in agroecosystems will harmonize the systems and enhance the sustainable rice production. A central characteristic of weedy rice, which contributes to their success in agroecosystems, is the genetic variability and plasticity found within and among weedy rice populations. This enables weedy rice to infest a wide range of diverse habitats. Thus, a full understanding of the genetic diversity of weedy rice is a major prerequisite for their effective management. In addition, elucidating the origin and evolutionary processes of weedy rice is helpful for designing effective management strategies for weedy rice control.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	**ก**
บทคัดย่อ	**ช**
Abstract	**ค**
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	**ง**
Executive Summary	**จ**
บทที่ 1 บทนำ	**1**
บทที่ 2 อุปกรณ์และวิธีการ	**4**
บทที่ 3 ผลการศึกษาและวิจารณ์	**11**
เอกสารอ้างอิง	**22**

บทนำ ๑

Federici et al. (2001) ได้ให้คำนิยามข้าววัชพืช (weedy rice) ไว้ดังนี้ " weedy rice" *refers to populations of usually annual Oyza species that diminish farmer income both quantitatively through yield reduction, and qualitatively, through lowered commodity value at harvest* ข้าววัชพืชเหล่านี้ บางครั้งเรียกว่า ข้าวแดง (red rice) อันเนื่องมาจาก ข้าวกล้องมีสีแดง (red pericarp) มีลักษณะของวัชพืช (weedy trait) คือ มีความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา (morphological plasticity) มีความสามารถสูงในการกระจายพันธุ์ (high seed dispersal ability) และเมล็ดมีระยะพักตัวยาวนาน ข้าวกลุ่มนี้จะออกดอกและแตกกอก่อนข้าวปลูก และส่วนต่างๆของต้นข้าวจะมีสีม่วง (anthocyanin pigmentation of different plant parts) เช่น คอใบ (collar) ลิ้นใบ(ligule) เมล็ด เมล็ดมีก้นจุด (grain apiculus color) เกสรตัวผู้ (stigma) และหาง (awn) (Federici et al. 2001; Suh et al. 1997) ข้าววัชพืชเหล่านี้ พบทุกพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวในเขตร้อน และกลายเป็นปัญหาที่สำคัญในพื้นที่ที่ปลูกข้าวแบบนาหว่าน (direct-seeded rice agriculture) ในแถบลาตินอเมริกา อเมริกาเหนือ แถบแคริเบียน อาฟริกา เอเชีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Oka 1988) ข้าววัชพืช แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ข้าววัชพืชที่เกิดขึ้นในพื้นที่ที่มีข้าวป่าที่เป็นบรรพบุรุษ และข้าววัชพืชที่พบบริเวณที่ไม่มีข้าวป่า (Oka 1988) Suh et al. (1997) รายงานว่า การเกิดขึ้นของข้าววัชพืชแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ ข้าววัชพืชกลุ่มแรกเกิดจากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าซึ่งพบในพื้นที่ที่มีข้าวป่าเป็นพืชพื้นถิ่น และกลุ่มที่สอง ข้าววัชพืชเกิดจากข้าวพันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิมที่กลายมาเป็นข้าววัชพืช ซึ่งในต่างประเทศมีรายงานผลการศึกษาข้าววัชพืชในแง่มุมต่างๆ ออกมาเป็นระยะๆ เช่น ในอุรุกวัย (Federici et al. 2001) Costa Rica (Arrieta-Espinoza et al. 2005) Bhutan (Ishikawa et al. 2005) China (Yu et al. 2005) ข้าววัชพืชพบในไทยเกิดขึ้นจากการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าที่มียีโนม AA (*O. rufipogon*) และข้าวปลูก มีอายุปีเดียว มีการกระจายพันธุ์ในทุกภาคของไทยข้าวในกลุ่มนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยากึ่งข้าวป่าและข้าวปลูก ลักษณะกอตั้งตรง ลำต้นแข็งแรง แตกกอมาก เมล็ดมีหางสั้นถึงยาว ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด พบมากในภาคกลางและภาคใต้ หรือในภาคอื่นๆที่มีการทำนาแบบนาหว่าน ซึ่งข้าววัชพืชเหล่านี้สร้างปัญหาให้กับชาวนามาก โดยเฉพาะในภาคกลางและภาคใต้ที่มีการทำนาแบบหว่านน้ำตม ซึ่งองค์ความรู้เกี่ยวกับพันธุกรรมข้าวกลุ่มนี้ยังมีน้อยมาก

การวิจัยจีโนมจะช่วยทำให้เข้าใจชีววิทยาของประชากรข้าววัชพืช และช่วยในการทำนายและสร้างความรู้ด้านการถ่ายเทยีนระหว่างสปีชีส์ (Weller et al. 2001; Basu et al. 2004) ในอีกด้านหนึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจีโนมควบคู่ไปกับการศึกษาชีววิทยาเชิงโมเลกุลจะช่วยทำให้มีความเข้าใจประชากรของวัชพืชมากยิ่งขึ้น รวมทั้งการพัฒนานวัตกรรมใหม่ๆเพื่อ

ใช้สำหรับบริหารจัดการวัชพืช จากมุมของการจัดการข้าววัชพืช มีความจำเป็นที่ต้องวินิจฉัย ความหลากหลายทางพันธุกรรม การบริหารจัดการวัชพืชในระบบนิเวศเกษตรใดๆจะต้องทำงานไปพร้อมๆกับการจัดการระบบที่ส่งเสริมสนับสนุนระบบการผลิตแบบยั่งยืนของพืชปลูกด้วย ลักษณะร่วมของวัชพืชที่ทำให้มีความสำเร็จในการเจริญเติบโตในระบบนิเวศเกษตรคือ ความแตกต่างหลากหลายทางพันธุกรรมและความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่พบว่ามีความแตกต่างหลากหลายของลักษณะสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมในประชากรเดียวกันและระหว่างประชากรของวัชพืช (Green et al. 2001) ความสามารถในการปรับตัวเช่นนี้ส่งผลทำให้วัชพืชระบาดในสภาพถิ่นอาศัยที่แตกต่างหลากหลาย ดังนั้น ความเข้าใจอย่างลึกซึ้งในความหลากหลายทางพันธุกรรมของวัชพืชจึงเป็นสิ่งจำเป็นลำดับดับแรกสำหรับใช้ในการบริหารจัดการวัชพืช รวมทั้งการค้นหาคำตอบเกี่ยวกับจุดกำเนิดและกระบวนการวิวัฒนาการของวัชพืชเหล่านี้ คือการสนับสนุนช่วยเหลือด้านการออกแบบกลยุทธ์การบริหารจัดการการควบคุมวัชพืช (Pyšek and Prach 2003) สำหรับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวด้วยการสนับสนุนของดีเอ็นเอเครื่องหมายและข้อมูลที่เป็นไมโครแซทเทลไลท์ที่สืบค้นได้ในเวบไซต์จำนวน 2240 ตำแหน่งนั้นส่งผลอย่างมากในการใช้ศึกษาวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้าว (McCouch et al. 2002)

ไมโครแซทเทลไลท์ หรือ simple sequence repeats (SSRs) คือสายดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำ กันแบบต่อเนื่อง จำนวนซ้ำกันมีตั้งแต่ 1 ซ้ำ (mono-) สองซ้ำ (di-) สามซ้ำ (tri-) สี่ซ้ำ (tetra-) หรือ ห้าซ้ำ (penta-nucleotide units) ซึ่งไมโครแซทเทลไลท์กระจัดการจายอยู่ทั่วไปในจีโนมของสิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอต (Powell et al. 1996) ความเป็นเอกลักษ์และคุณค่าของไมโครแซทเทลไลท์คือไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่งหนึ่งมีหลายอัลลีล เป็นดีเอ็นเอเครื่องหมายในกลุ่ม codominant marker คือการถ่ายทอดสู่รุ่นลูกเป็นไปตามกฎของเมนเดลและตรวจสอบได้ง่ายด้วยเทคนิค PCR และไมโครแซทเทลไลท์ให้ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมได้มากกว่ากระบวนการวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยวิธีอื่นๆ (Powell et al. 1996) ในข้าวที่มีจีโนม AA มีการประยุกต์ใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายนี้เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้าวหลายสปีชีส์ ได้แก่ ข้าวป่าอายุยืนที่เป็นบรรพบุรุษข้าวปลูก (*Oryza rufipogon*) (Gao et al. 2002; Gao 2004; Song et al. 2003) หรือศึกษาในข้าวปลูก (*O. sativa*) (Jayamani et al. 2007; Giarrocco et al. 2007; Garris et al. 2005; Ni et al.2002;) ในข้าววัชพืช (*O. sativa f. spontanea)* (Yu et al. 2005; Cao et al. 2006)

พื้นที่ราบลุ่มแม่น้ำโขง (The Mekong River basin) เป็นพื้นที่หนึ่งที่มีการปลูกข้าวและมีข้าวป่า *O. rufipogon* ที่เป็นบรรพบุรุษข้าวปลูก ข้าวป่า สปีชีส์นี้มีการกระจายพันธุ์ในพื้นที่ต่างๆ ได้แก่ พื้นที่ราบของจีนตอนใต้ เวียดนาม ลาว เมียนมาร์ และไทย ข้าววัชพืชแบ่งออกเป็นสองกลุ่มใหญ่คือ (1) กลุ่มที่เกิดขึ้นในพื้นที่ที่เป็นถิ่นอาศัยของข้าวป่า (2) กลุ่มที่เกิดขึ้นในพื้นที่นอกถิ่นอาศัยของข้าวป่า (Oka 1988) มีรายงานการพบและมีผลการวิจัยข้าววัชพืชพบในที่ราบ

ลุ่มแม่น้ำโขง (Yu et al. 2005; Kuroda et al. 2007; Prathepha 2009) อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าววัชพืชในแถบนี้ยังมีน้อยมากซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการบริหารจัดการข้าววัชพืชในแถบนี้ ดังนั้นเพื่อเติมเต็มองค์ความรู้ด้านการบริหารจัดการข้าววัชพืชจึงมีความจำเป็นในการศึกษาประชากรข้าววัชพืชที่มีถิ่นอาศัยในที่ราบลุ่มแม่น้ำโขง ซึ่งทำให้เข้าใจระดับและการกระจายความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้าววัชพืชที่เป็นตัวอย่างจากพื้นที่ราบของกรุงเวียงจันทน์ ประเทศลาว ที่ราบลุ่มภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ ๒

1) ตัวอย่างข้าววัชพืช

ข้าววัชพืชที่สุ่มเก็บตัวอย่างมาศึกษาครั้งนี้ มาจากจากถิ่นอาศัยตามภาคต่าง ๆ ดังนี้ 1) ข้าววัชพืชในเขตทุ่งกุลาร้องไห้ พบข้าววัชพืชในแปลงปลูกข้าวหอมมะลิ ในถนนหลวงหมายเลข 2061 ระหว่างอำเภอพยัคฆภูมิพิสัย จังหวัดมหาสารคาม-อำเภอเกษตรวิสัย จังหวัดร้อยเอ็ด ถนนหลวงหมายเลข 214 จากอำเภอสุวรรณภูมิ จังหวัดร้อยเอ็ด-อำเภอท่าตูม จังหวัดสุรินทร์ และภายในใจกลางของทุ่งกุลาร้องไห้ที่พบข้าววัชพืชในแปลงปลูกข้าวที่บ้านหนองบ่อ อำเภอพยัคฆภูมิพิสัย 2) พื้นที่ปลูกข้าว กข 6 ริมถนนสายอุดรธานี-หนองคาย 3) พื้นที่ปลูกข้าว กข6 ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดร้อยเอ็ด 4) พื้นที่ปลูกข้าวบริเวณแยกปลวกสูง อำเภอวชิรบารมี จังหวัดพิจิตร และ 5) ที่ราบลุ่มของนครหลวงเวียงจันทน์ แสดงในภาพที่ 1 และรายละเอียดของถิ่นอาศัยแสดงในตารางที่ 1 ตัวอย่างข้าววัชพืชรวม 97 ตัวอย่าง

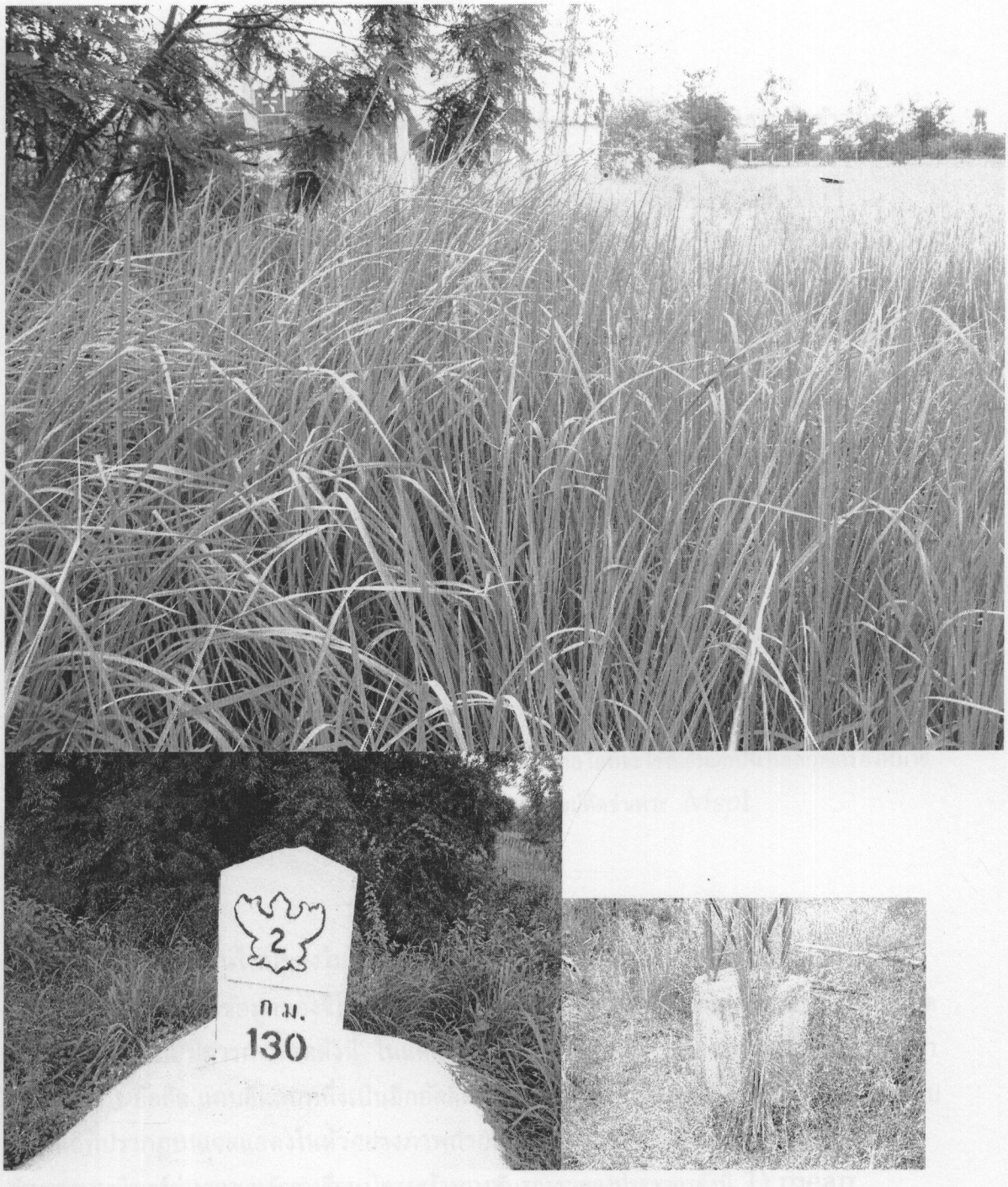
ภาพที่ 1 แสดงถิ่นอาศัยของข้าววัชพืชที่เก็บตัวอย่างจาก 5 จุด

(ที่ราบเวียงจันทน์ สปป. ลาว)

(แยกปลวกสูง จังหวัดพิจิตร)

(ทุ่งกลาร้องไห้)

(แยกบ้านโนนเมือง จังหวัดร้อยเอ็ด)



(แปลงปลูกข้าวริมถนนหลวงหมายเลข 2 อุดรธานี – หนองคาย)

1) การสกัดดีเอ็นเอจากใบธงของข้าววัชพืช

ใบธงของต้นข้าววัชพืชแต่ตัวอย่างจะใช้สกัดดีเอ็นเอ การสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าวนั้นจะใช้วิธี CTAB ตามวิธีการของ Doyle and Doyle (1987)

2) การศึกษาดีเอ็นเอส่วนที่เป็นไมโครแซทเทลไลท์ จะศึกษา 6 ตำแหน่ง คือ (RM11, RM17, RM21, RM167, RM180, RM211) โดยใช้เทคนิค PCR และพอลิอะคลิลาไมด์เจลอิเลคโทรฟอริซิส ซึ่งรายละเอียดของลำดับเบสของไพรเมอร์สามารถสืบค้นได้ที่ตามที่อยู่ดังนี้ http://www.gramene.org/microsat/ssr.txt.

3) ในปฏิกิริยาลูกโซ่ มีองค์ประกอบดังนี้ ปริมาตรของส่วนประกอบต่างๆในหลอดคือ 20 µL ประกอบด้วย 1x buffer, 1 mM ของแต่ละ dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 2 mM$MgCl_2$, 10 mM ของแต่ละ SSR primer 50 ng ของดีเอ็นเอ และ 1 unit ของ*Taq* polymerase (Promega) โปรแกรมของปฏิกิริยาลูกโซ่เป็นดังนี้ 94 °C นาน 4 นาทีจำนวน 1 รอบ และจำนวน 36 รอบ ตามเงื่อนไขดังนี้ 40 วินาทีที่อุณหภูมิ 94 °C 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 55 °C และ 40 วินาทีที่อุณหภูมิ 72 °C หลังจากนั้น ปฏิกิริยาลูกโซ่จะสิ้นสุดเมื่อได้ดำเนินการอีก 1 รอบตามเงื่อนไข 10 นาทีที่อุณหภูมิ 72 °C ผลผลิตของปฏิกิริยาลูกโซ่ (PCR products) จะถูกนำไปแยกแถบดีเอ็นเอด้วยเทคนิค 6 % polyacrylamide denaturing gels และย้อมด้วย silver ระยะทางจากจุดเริ่มต้นแต่ละอัลลีลของไมโครแซทเทลไลท์จะใช้ดีเอ็นเอเป็นโมเลกุลเครื่องหมายเทียบเคียงคือ PUC 19 DNA ที่ตัดด้วยอีนไซม์ตัดจำเพาะ *Msp*I

4) การบันทึกข้อมูลจีโนไทป์ของไมโครแซทเทลไลท์และการวิเคราะห์ข้อมูล

การบันทึกข้อมูลของจีโนไทป์ของตัวอย่างข้าววัชพืชที่ศึกษาแต่ละตำแหน่งของไมโครแซทเทลไลท์นั้น มีการกำหนดดังนี้ ในแต่ละไพรเมอร์ที่ใช้ศึกษา แต่ละแถบของดีเอ็นเอถือว่าเป็นอัลลีล 1 อัลลีล แถบอีแถบหนึ่งเป็นอีกอัลลีลหนึ่ง ซึ่งตัวอย่างของการบันทึกข้อมูลของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนเจลแสดงในตัวอย่างภาพถ่ายเจลในภาพที่ 2 หลังจากนั้นจะนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณพารามิเตอร์ต่างๆตามหลักการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรดังนี้ 1) mean number of alleles per locus (*A*) 2) the percentage of polymorphic loci (*P*) 3) mean number of alleles per polymorphic locus (A_p) 4) observed heterozygosity (H_o) 5) expected heterozygosity (H_e) 6) Wright's *F* statistics (F_{is}, F_{it} and F_{st}) 7) ทดสอบ Hardy-Weinberg equilibrium 8) ทดสอบค่า F_{is} เพื่อประเมินว่าแต่ละตำแหน่งของไมโครแซทเทลไลท์มีภาวะพร่อง (deficit) หรือ ภาวะเกิน (excess) ของจีโนไทป์แบบเฮตเทอโรไซโกต ซึ่งการคำนวณพารามิเตอร์ที่กล่าวถึงทั้งหมดจะใช้โปรแกรม FSTAT (**Goudet** 1995) การเปรียบเทียบความหลากหลายของ SSR ระหว่างประชากรและโครงสร้างทางพันธุกรรมของข้าววัชพืชจะเปรียบเทียบใน 3 กรณีดังนี้

1) เปรียบเทียบระหว่างประชากรข้าววัชพืชที่มีถิ่นอาศัยในที่ราบลุ่มนครหลวงเวียงจันทน์กับประชากรข้าววัชพืชที่มีถิ่นอาศัยในที่ราบลุ่มภาคกลาง (จังหวัดพิจิตร) โดยใช้ผลการศึกษาจากไพรเมอร์ 5 ไพรเมอร์ คือ RM17 RM 84 RM167 RM180 และ RM211

2) เปรียบเทียบระหว่างประชากรข้าววัชพืชที่มีถิ่นอาศัยในประเทศไทย 3 ประชากรคือ ที่ราบลุ่มภาคกลาง (จังหวัดพิจิตร) ทุ่งกุลาร้องไห้ (จังหวัดมหาสารคามและร้อยเอ็ด) และถิ่นอาศัยที่เป็นขอบแปลงปลูกข้าว กข 6 ในจังหวัดอุดรธานี ใช้ผลการศึกษาจาก 4 ไพรเมอร์ คือ RM84 RM167 RM180 และ RM211

3) เปรียบเทียบระหว่างประชากรข้าววัชพืชที่มีถิ่นอาศัยในประเทศไทยและลาวรวม 4 ประชากรคือ ที่ราบลุ่มภาคกลาง (จังหวัดพิจิตร) ทุ่งกุลาร้องไห้ (จังหวัดมหาสารคามและร้อยเอ็ด) และถิ่นอาศัยที่เป็นขอบแปลงปลูกข้าว กข6 ในจังหวัดอุดรธานี และที่ราบลุ่มนครหลวงเวียงจันทน์ ใช้ผลการศึกษาจาก 4 ไพรเมอร์ คือ RM84 RM167 RM180 และ RM211

ผลการศึกษาและวิจารณ์ ๓

3.1 โครงสร้างทางพันธุกรรมเปรียบเทียบระหว่างประชากรข้าววัชพืชจากที่ราบลุ่มเวียงจันทน์ สปป. ลาว และข้าววัชพืชที่ราบลุ่มภาคกลางประเทศไทย

ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่วิเคราะห์ตัวอย่างข้าววัชพืชจากสองประชากรโดยใช้ SSR ไพรเมอร์จำนวน 5 ไพรเมอร์แสดงให้เห็นถึง alleleic polymorphism และอัลลีลที่พบในการวิเคราะห์มีจำนวน 46 อัลลีลส์ มีค่าพิสัย (range) อยู่ระหว่าง 5 ถึง 18 จากจำนวนตำแหน่ง(number of loci) ที่วิเคราะห์ 5 ตำแหน่ง มีค่าเฉลี่ย 9.2 อัลลีลส์ต่อตำแหน่ง จำนวนอัลลีลมากที่สุดคือ ไพรเมอร์ RM 180 มีจำนวน 18 อัลลีลส์ ความหลากหลายของยีน (gene diversity) ที่วิเคราะห์โดยใช้หลักการของ Nei (1987)) เปรียบเทียบระหว่างสองประชากรมีค่าสูงสุดคือ RM180 โดยมีค่าเท่ากับ 0.812 ในประชากรจากเวียงจันทน์ สปป. ลาว และ 0.837 ในประชากรจากจังหวัดพิจิตร ซึ่งความหลากหลายของยีนที่วิเคราะห์แสดงดังข้อมูลต่อไปนี้

SSR locus	The Vientiane Plain, Laos	Central Plain, Phichit province
RM17	0.676	0.809
RM84	0.723	0.545
RM167	0.595	0.646
RM180	0.812	0.837
RM211	0.090	0.739

โครงสร้างทางพันธุกรรมที่แสดงโดยค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม (genetic parameters) ตามทฤษฎีของ Nei (1987) ของประชากรข้าววัชพืชจากสองประชากรได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้

SSR loci	*Ho*	*Hs*	*Ht*	*Dst*	*Dst'*	*Ht'*	*Gst*	*Gst'*	*Gis*
RM17	0.589	0.743	0.832	0.090	0.179	0.922	0.108	0.194	0.207
RM84	0.695	0.634	0.644	0.010	0.020	0.654	0.016	0.031	-0.096
RM167	0.695	0.621	0.630	0.010	0.020	0.640	0.016	0.031	-0.119
RM180	0.775	0.825	0.885	0.061	0.121	0.946	0.068	0.128	0.060
RM211	0.403	0.415	0.642	0.227	0.453	0.869	0.353	0.522	0.031
Overall	0.631	0.647	0.727	0.079	0.159	0.806	0.109	0.197	0.025

จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าข้าววัชพืชจากสองประชากรมีความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยพิจารณาจากค่า expected heterozygosity, H_s *(หรือ* H_e*)* ที่มีค่าเฉลี่ย 0.647 และจากการวิเคราะห์ค่าสถิติของ Wrihgt (Wright's statistics) พบว่า genetic differentiation ระหว่างสองประชากร *(*F_{st}*)* นี้มีค่าเท่ากับ 0.195 ค่า inbreeding coefficient (F_{is}) ของมวลสมาชิกในแต่ละประชากร (the inbreeding coefficient of the individuals in the local populations) มีค่าเท่ากับ 0.027 และค่า inbreeding coefficient (F_{it}) ของมวลสมาชิกในประชากรทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 0.216

3.2 ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรข้าววัชพืชเปรียบเทียบระหว่างประชากรในภาคอีสาน

ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่วิเคราะห์ตัวอย่างข้าววัชพืชจากภาคอีสานจำนวนสองประชากรคือทุ่งกุลาร้องไห้ จังหวัดมหาสารคามและร้อยเอ็ดและจังหวัดอุดรธานี โดยใช้ SSR ไพรเมอร์จำนวน 6 ไพรเมอร์แสดงให้เห็นถึง alleleic polymorphism และอัลลีลที่พบในการวิเคราะห์มีจำนวน 59 อัลลีลส์ มีค่าพิสัย (range) อยู่ระหว่าง 7 ถึง 15 จากจำนวนตำแหน่ง(number of loci) ที่วิเคราะห์ 6 ตำแหน่ง มีค่าเฉลี่ย 9.8 อัลลีลส์ต่อตำแหน่ง จำนวนอัลลีลมากที่สุดคือ ไพรเมอร์ RM 180 มีจำนวน 15 อัลลีลส์ ความหลากหลายของยีน (gene diversity) ที่วิเคราะห์โดยใช้หลักการของ Nei (1987)) เปรียบเทียบระหว่างสองประชากรมีค่าสูงสุดคือ RM180 โดยมีค่าเท่ากับ 0.785 ในประชากรจากจังหวัดอุดรธานี และ RM17 ในประชากรจากทุ่งกุลาร้องไห้ มีค่าเท่ากับ 0.743 ซึ่งความหลากหลายของยีนที่วิเคราะห์แสดงดังข้อมูลต่อไปนี้

SSR locus	Udon Thani	Thungkularonghai
RM11	0.633	0.576
RM17	0.556	0.743
RM84	0.533	0.511
RM167	0.486	0.444
RM180	0.785	0.686
RM211	0.572	0.572

โครงสร้างทางพันธุกรรมที่แสดงโดยค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม (genetic parameters) ตามทฤษฎีของ Nei (1987) ของประชากรข้าววัชพืชจากสองประชากรได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้

SSR locus	Ho	Hs	Ht	Dst	Dst'	Ht'	Gst	Gst'	Gis
RM11	0.353	0.606	0.725	0.118	0.237	0.843	0.163	0.281	0.418
RM17	0.278	0.653	0.723	0.069	0.139	0.792	0.096	0.175	0.574
RM84	0.291	0.522	0.562	0.040	0.080	0.602	0.071	0.133	0.442
RM167	0.188	0.465	0.579	0.114	0.227	0.692	0.197	0.329	0.596
RM180	0.201	0.734	0.825	0.091	0.183	0.917	0.111	0.200	0.726
RM211	0.315	0.574	0.653	0.079	0.158	0.732	0.121	0.216	0.450
Overall	*0.271*	*0.592*	*0.678*	*0.085*	*0.171*	*0.763*	*0.126*	*0.224*	*0.542*

จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าข้าววัชพืชจากสองประชากรมีความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยพิจารณาจากค่า expected heterozygosity, H_s *(หรือ* H_e*)* ที่มีค่าเฉลี่ย 0.592 และจากการวิเคราะห์ค่าสถิติของ Wrihgt (Wright's statistics) พบว่า genetic differentiation ระหว่างสองประชากร *(*F_{st}*)* นี้มีค่าเท่ากับ 0.224 และผลจากการทดสอบทางสถิติของค่านี้พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.01$) ค่า inbreeding coefficient (F_{is}) ของมวลสมาชิกในแต่ละประชากร (the inbreeding coefficient of the individuals in the local populations) มีค่าเท่ากับ 0.594 และค่า inbreeding coefficient (F_{it}) ของมวลสมาชิกในประชากรทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 0.685

3.3 โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรข้าววัชพืชเปรียบเทียบระหว่างประชากรในประเทศไทย

ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่วิเคราะห์ตัวอย่างข้าววัชพืชจากประเทศไทยจำนวนสามประชากรคือทุ่งกุลาร้องไห้ จังหวัดมหาสารคามและร้อยเอ็ดข้าววัชพืชจากจังหวัดอุดรธานี และ

จากจังหวัดพิจิตรโดยใช้ SSR ไพรเมอร์จำนวน 4 ไพรเมอร์แสดงให้เห็นถึง alleleic polymorphism และอัลลีลที่พบในการวิเคราะห์มีจำนวน 45 อัลลีลส์ มีค่าพิสัย (range) อยู่ระหว่าง 7 ถึง 19 จากจำนวนตำแหน่ง(number of loci) ที่วิเคราะห์ 4 ตำแหน่ง มีค่าเฉลี่ย 11.25 อัลลีลส์ต่อตำแหน่ง จำนวนอัลลีลมากที่สุดคือ ไพรเมอร์ RM 180 มีจำนวน 19 อัลลีลส์ ความหลากหลายของยีน (gene diversity) ที่วิเคราะห์โดยใช้หลักการของ Nei (1987)) เปรียบเทียบระหว่างสองประชากรมีค่าสูงสุดคือ RM167 โดยมีค่าเท่ากับ 0.785, 0.686 และ 0.837 ในประชากรจากจังหวัดอุดรธานี ทุ่งกุลาร้องไห้และจังหวัดพิจิตร ตามลำดับ ความหลากหลายของยีนที่วิเคราะห์แสดงดังข้อมูลต่อไปนี้

SSR locus	**Udon Thanai**	**Thungkularonghai**	**Central plain, Phichit province**
RM84	0.533	0.511	0.545
RM167	0.486	0.444	0.646
RM180	0.785	0.686	0.837
RM211	0.572	0.572	0.739

โครงสร้างทางพันธุกรรมที่แสดงโดยค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม (genetic parameters) ตามทฤษฎีของ Nei (1987) ของประชากรข้าววัชพืชจากสามประชากรได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้

SSR locus	Ho	Hs	Ht	Dst	Dst'	Ht'	Gst	Gst'	Gis
RM84	0.384	0.529	0.587	0.058	0.087	0.616	0.099	0.141	0.273
RM167	0.372	0.525	0.621	0.097	0.145	0.670	0.155	0.216	0.292
RM180	0.381	0.767	0.894	0.127	0.190	0.957	0.142	0.199	0.503
RM211	0.448	0.629	0.724	0.095	0.143	0.772	0.132	0.185	0.287
Overall	*0.396*	*0.612*	*0.707*	*0.094*	*0.141*	*0.754*	*0.133*	*0.187*	*0.353*

จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าข้าววัชพืชจากสองประชากรมีความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยพิจารณาจากค่า expected heterozygosity, H_s *(หรือ* H_e*)* ที่มีค่าเฉลี่ย 0.612 และจากการวิเคราะห์ค่าสถิติของ Wrihgt (Wright's statistics) พบว่า genetic differentiation ระหว่างสองประชากร (F_{st}) นี้มีค่าเท่ากับ 0.18 และผลจากการทดสอบทางสถิติของค่านี้พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.01$) ค่า inbreeding coefficient (F_{is}) ของมวลสมาชิกในแต่ละประชากร (the inbreeding coefficient of the individuals in the local populations) มีค่า

เท่ากับ 0.358 และค่า inbreeding coefficient (F_{it}) ของมวลสมาชิกในประชากรทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 0.474

ค่า inbreeding coefficient (F_{is}) ของมวลสมาชิกในแต่ละประชากร

SSR locus	Udon Thanai	Thungkularonghai	Central plain, Phichit province
RM84	0.438	0.448	-0.049
RM167	0.543	0.653	-0.144
RM180	0.717	0.738	0.115
RM211	0.301	0.596	0.034
All	*0.518*	*0.618*	*0.001*

3.4 ความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้าววัชพืชในไทยและลาวจากข้อมูลการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์

ผลจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 6 ตำแหน่งในข้าววัชพืชที่เก็บตัวอย่างจากไทยและลาว แสดงให้เห็นว่า ประชากรข้าววัชพืชทุกประชากรมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงทุกประชากรโดยใช้ค่า expected heterozygosity (H_e) เป็นค่าบ่งชี้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากร ซึ่งค่านี้ของประชากรข้าววัชพืชที่วิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์มีพิสัยอยู่ระหว่าง 0.444 ถึง 0.837 ยกเว้นในข้าววัชพืชจากลาวที่วิเคราะห์โดย RM211 ที่มีค่า (H_e) ในระดับต่ำคือมีค่าเท่ากับ 0.09

ผลจากการศึกษาครั้งนี้มีเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับผลการศึกษาในข้าวป่า *O. rufipogon* ที่ศึกษาโดย Song et al. (2003) พบว่ามีความแตกต่างกันคือ จำนวนอัลลีลส์ที่ตรวจพบในประชากรข้าวป่าที่ใช้ SSR loci ตำแหน่งเดียวกันคือ RM11 RM17 RM84 RM167 RM180 และ RM211 พบว่าในข้าวป่ามีจำนวนอัลลีลส์น้อยกว่าที่พบในข้าววัชพืชที่ศึกษาครั้งนี้มาก ดังแสดงในตาราง ดังนี้

Primer code	LO[a]	SSR motif	No. of Alleles
RM11		(GA)17	7 (10)
RM14	1	(GA)17	5
RM17	12	(GA)21	0(10)
RM19	12	(ATC)10	
RM21	11	(GA)21	9
RM38	8	(GA)16	7
RM44	8	(GA)16	5
RM55	3	(GA)17	4
RM84	1	(TCT)10	3(9)
RM167	11	GGAA(GA)16GGGG	5(11)
RM180	7	(ATT)10	6(22)
RM205	9	(GA)25	5
RM211	2	(GA)18	4(7)
RM212	1	(GA)24	5
RM215	9	(GA)16	4
RM219	9	(GA)17	9
RM228	10	(GA)18	6
RM230	8	(GA)13	5
RM253	6	(GA)25	7
RM276	6	(AG)8A3(GA)33	7
RM280	4	(GA)16	5
RM289	5	G11(GA)16	4
RM335	4	(CTT)25	8

[a] Location on chromosome no.

ข้อมูลในตารางช่องขวาสุดเปรียบเทียบให้เห็นว่าในไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่งเดียวกัน ตรวจสอบพบจำนวนอัลลัลส์ต่างกัน ตัวเลขในวงเล็บเป็นผลการศึกษาในข้าววัชพืชครั้งนี้

ความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับมากที่ตรวจพบในข้าววัชพืชนั้นมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาในข้าววัชพืชในจีนโดย Cao et al. (2006) ที่รายงานว่าผลจากการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ในข้าววัชพืชในทางตะวันออกเฉียงเหนือของจีนมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง (H_e =0.313) แต่ผลการศึกษาข้าววัชพืชในจีนเช่นเดียวกันกลับพบว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ(H_e =0.053) (Yu et al. 2005) ความแตกต่างดังกล่าวน่าจะเกิดจากจำนวนตัวอย่างข้าววัชพืชที่ใช้ในการวิเคราะห์ ตัวอย่างที่มีจำนวนน้อย

อาจตรวจพบจีโนไทป์ที่แตกต่างได้น้อย หรือข้าววัชพืชที่มีถิ่นอาศัยที่เก็บตัวอย่างซึ่งมีความหลากหลายแตกต่างกันอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลการศึกษาแตกต่างกัน (Cao et al. 2006)

โดยหลักการแล้วความหลากหลายพันธุกรรมในประชากรข้าววัชพืชมีส่วนส่งเสริมทำให้ข้าววัชพืชมีศักยภาพในการปรับตัวให้เหมาะสมกับระบบนิเวศการเกษตร (agroecosystem) ที่มีความหลากหลาย ทำให้การควบคุมหรือกำจัดข้าววัชพืชมีความซับซ้อน (Dekker, 1997; Holt and Hochberg, 1997) ในทางตรงกันข้ามความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้าววัชพืชบางสายพันธุ์มีประโยชน์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าว (Chen and Suh, 2004) กล่าวคือความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าววัชพืชในยีนพูลจะเปิดโอกาสให้ได้คัดเลือกเชื้อพันธุ์ที่มีประโยชน์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าว

ผลจากการศึกษาข้าววัชพืชใน 4 ประชากรในไทยและลาวยังพบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมมีการกระจายในประชากรที่ศึกษาไม่สม่ำเสมอกัน กล่าวคือ ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบในแต่ละประชากรแตกต่างกันนั้น อาจมีสาเหตุดังนี้ 1) การควบคุมโดยการกำจัดข้าววัชพืชในแต่ละประชากรมีระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 2) แหล่งที่มีของเมล็ดพันธุ์ข้าวปลูกแตกต่างกัน ซึ่งอาจได้จากศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์ของบริษัทเอกชนหรือหน่วยงานของรัฐ หรือได้เมล็ดพันธุ์ที่เก็บไว้เมื่อฤดูปลูกปีที่ผ่านรวมทั้งสายพันธุ์ข้าวปลูกที่ใช้ในแต่ละพื้นที่ มาอาจมีข้าววัชพืชปนมาด้วย และ 3) ความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้าววัชพืชมีจุดกำเนิดที่แตกต่างหลากหลาย เช่น เกิดจากการเกิดมิวเทชัน หรือการผสมพันธุ์และกระจายพันธุ์

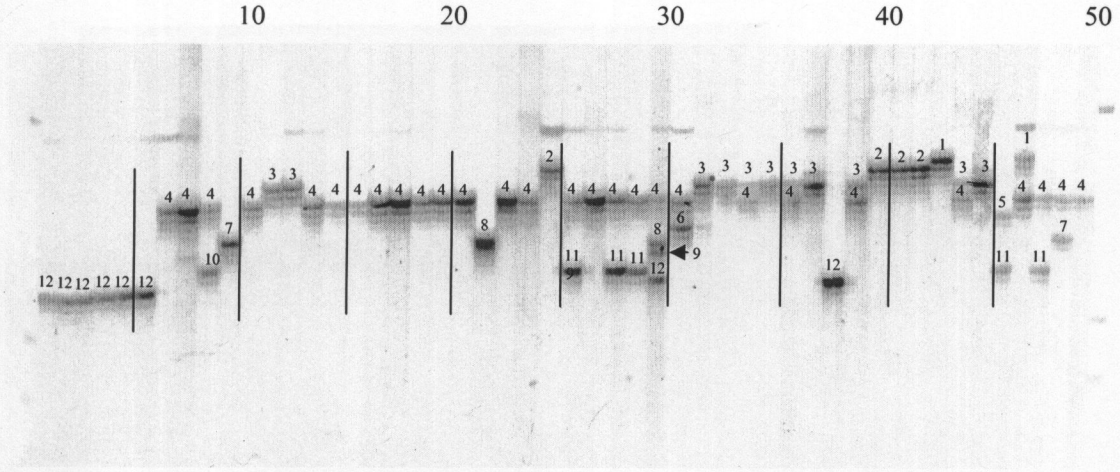
ตามหลักการแล้วข้าววัชพืชจัดอยู่ในกลุ่มพืชผสมตัวเอง (autogamous species) มีอัตราการผสมข้ามน้อยมากและการถ่ายเทยีนโดยผ่านละอองเรณูเท่านั้น (restricted pollen-mediated gene flow) (Gealy et al. 2003; Chen et al. 2004) ซึ่งผลจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าประชากรข้าววัชพืชมีค่า F_{is} และ F_{it} ในระดับมากแสดงให้เห็นว่าข้อค้นพบนี้สอดคล้องกับหลักการดังกล่าว อย่างไรก็ตามมีบางประชากรของข้าววัชพืชอาจมีอัตราการผสมข้ามมาก ทั้งในประชากรของข้าววัชพืช หรือผสมข้ามระหว่างข้าววัชพืชและข้าวปลูก เหตุการณ์อย่างนี้มีบทบาทสำคัญในกระบวนการวิวัฒนาการของข้าววัชพืชและทำให้มีการคงอยู่ของความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรแต่ละประชากร รวมทั้งข้าววัชพืชส่วนมากจะเกิดขึ้นในแปลงปลูกข้าวหรือข้าววัชพืชจะถูกล้อมรอบดวยข้าวปลูกพันธุ์ต่างๆ การถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกมายังประชากรข้าววัชพืชมีความเป็นไปได้สูงมากจึงทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรข้าววัชพืชเหล่านั้น (Song et al. 2006)

เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรข้าววัชพืชจากค่า F_{st} พบว่าประชากรที่ศึกษามีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรข้าววัชพืช ซึ่งอาจมีสาเหตุจากการไม่มีการแลกเปลี่ยนหรือการถ่ายเทยีนระหว่างประชากรข้าววัชพืช

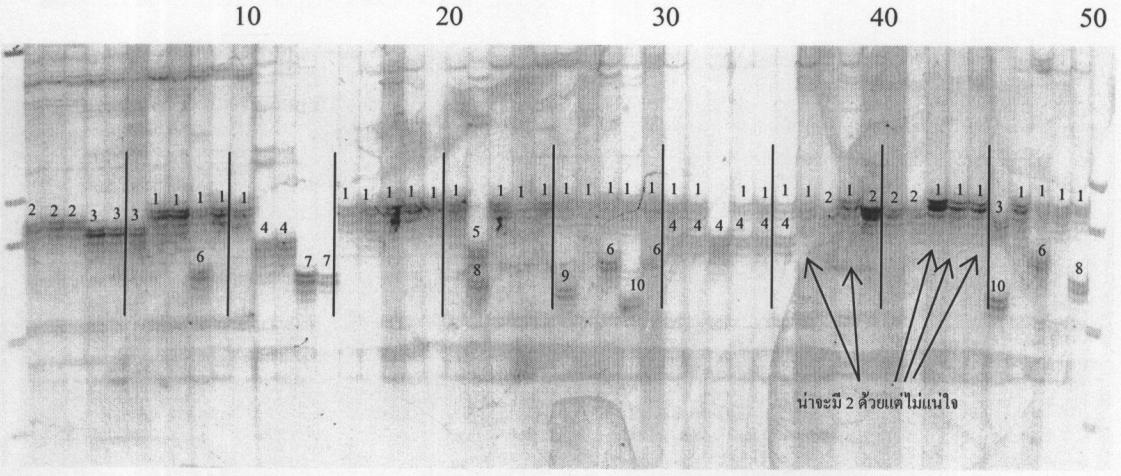
การอนุมานจุดกำเนิดของข้าววัชพืชในไทยและลาว

ข้าววัชพืชที่พบในไทยและลาว จะพบในบริเวณที่พบหรือมีร่องรอยของข้าวป่าสปีชีส์ *O. rufipogon* อาศัยอยู่รอบๆ แปลงข้าวปลูก เดิมแปลงข้าวปลูกเป็นถิ่นอาศัยของข้าวป่าสปีชีส์นี้ และเมื่อมีการปรับเปลี่ยนพื้นที่เป็นที่นา ทำให้มีการปลูกข้าวพันธุ์ต่างๆ ส่งผลทำให้เกิดการถ่ายเทยีนจากข้าวปลูกไปยังประชากรข้าวป่าที่เรียกเหตุการณ์นี้ว่า "introgression" ทำให้เกิดข้าวลูกผสมระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าขึ้นที่เป็นข้าววัชพืชในปัจจุบัน ซึ่งจุดกำเนิดของข้าววัชพืชในทุ่งกุลาร้องไห้ตามแนวทางนี้ถูกเสนอโดย Prathepha (2009) และในการศึกษาครั้งนี้จากผลการวิเคราะห์ไมโครแซทเทลไลท์ในข้าววัชพืชและข้าวปลูกของไทยคือ ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวพันธุ์ชาตุดอกคำของลาวพบว่ามีอัลลีลส์ร่วมกันระหว่างข้าวสองกลุ่มนี้ และเป็นหลักฐานสนับสนุนว่าข้าววัชพืชในไทยและลาวมีจุดกำเนิดอย่างหนึ่งคือเกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า ในประชากรข้าววัชพืชของจีนที่มีถิ่นอาศัยในจังหวัด Liaoning ทางตะวันออกเฉียงเหนือของจีนไม่ได้เกิดขึ้นจากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า เพราะว่าในแถบนั้นไม่มีข้าวป่า *O. rufipogon* อาศัยอยู่ เนื่องจากมีสภาพภูมิอากาศเย็นในหน้าหนาว และผลจากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอพบว่าข้าววัชพืชมีความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมกับข้าวปลูกมากกว่าข้าวป่า ดังนั้นข้าววัชพืชในจังหวัดนี้ของจีนจึงมีจุดเริ่มต้นจากข้าวปลูกพันธุ์ต่างๆ (Liaoning rice varieties) ที่มีการผสมพันธุ์กันโดยธรรมชาติ (Song et al. 2005) และตามด้วยการเกิดมิวเทชันย้อนกลับ (back-mutation) ทำให้เกิดลักษณะของข้าววัชพืชเกิดขึ้นในลูกผสมเหล่านั้น คือ เมล็ดร่วงง่าย และเมล็ดมีระยะเวลาพักตัว (seed shattering และ dormancy)

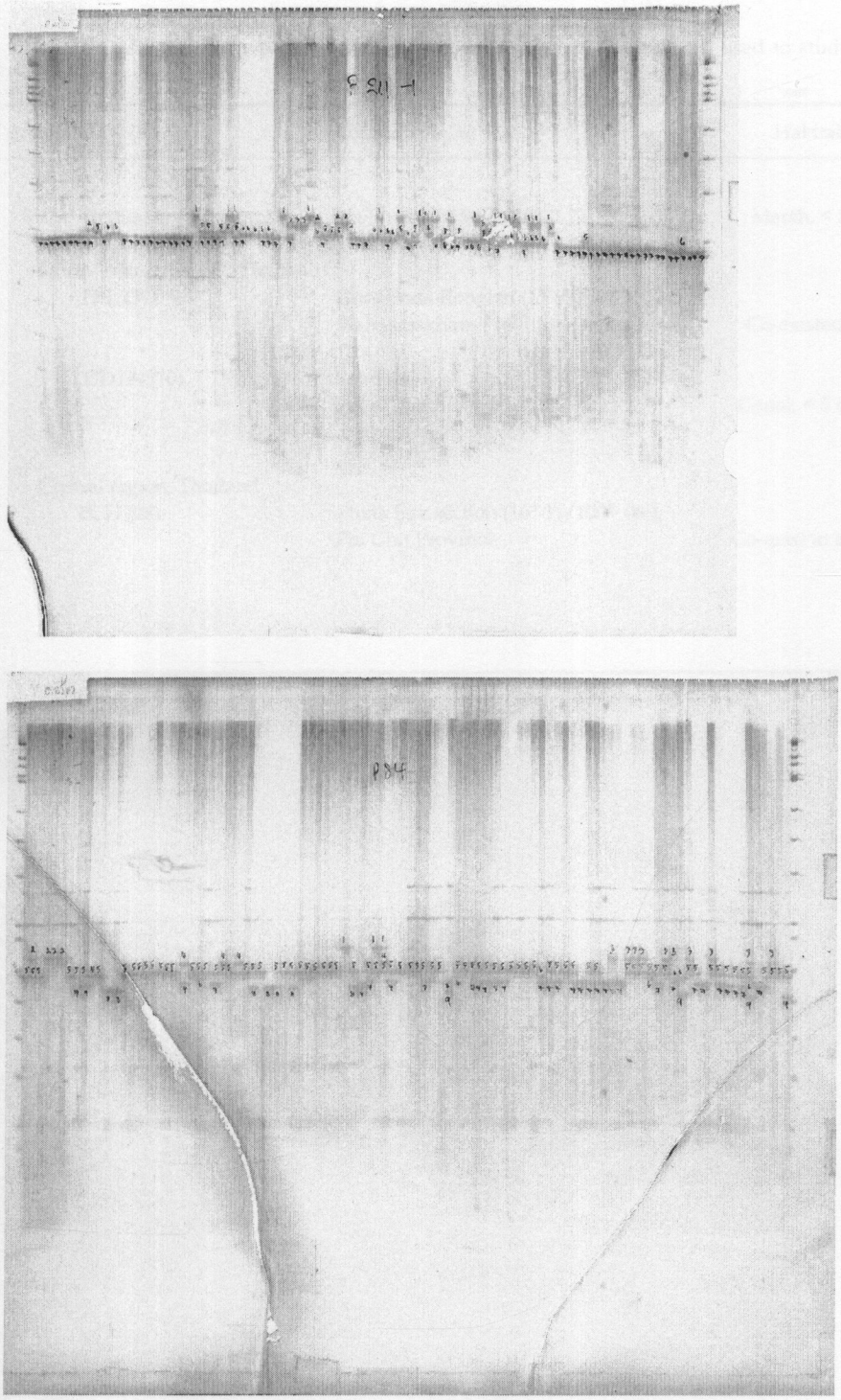
การปลูกข้าวโดยไม่มีการควบคุมกำจัดข้าววัชพืชนั้นจะส่งผลทำให้ข้าววัชพืชมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังนั้นความจำเป็นอย่างเร่งด่วนคือ ต้องมีการจัดการข้าววัชพืชอย่างเหมาะสมเช่น การปลูกพืชหมุนเวียนในแปลงปลูกข้าวหรือมีการใช้ยากำจัดหญ้ากำจัดข้าววัชพืชก่อนจะมีการปลูกข้าว



Primer 2 RM 17



Primer 1 RM 11



ภาพที่ 2 ภาพถ่ายเจลที่ใช้ SSR ไพรเมอร์ RM 11 RM 17 RM 84 และ RM211 แสดงการบันทึกข้อมูลจีโนไทป์ของข้าววัชพืชแต่ละตัวอย่าง

Table 1. Description of weedy rice (*Oryza sativa* f. spontanea) populations used to study simple sequence repeat (SSR) marker variation

Population (N)	Location (N/E)	Habitat and population status
The Vientiane plain, Laos		
VPL (22)	Na Phaeng village (18°21.74′/102° 38.7′), Vientiane Province	Marsh, < 5 m apart from rice fields
North-eastern region, Thailand		
TKL (39)	Thungkula Ronghai (15° 30′/103° 32′), Mahasarakham Province	Co-existed in rice fields
UDTN (10)	Road no. 2, Udon Thani Province (17° 40′/102° 84′)	Canal, < 5 m apart from rice fields
Central region, Thailand		
PCH (28)	Pluak Suk section (16° 31/100° 08′), Phi Chit Province	Co-exist in rice fields

เอกสารอ้างอิง

Arrie-Espinoza, G., Sa'nchez, E., Vargas, S., Lobo, J., Quesada, T. and Espinoza, M. (2005) The weedy rice complex in Costa Rica. I. Morphological study of relationships between commercial rice varieties, wild *Oryza* relatives and weedy types. Genetic Resources and Crop Evolution 52: 575-587.

Basu, C., Halfhill M.D. Mueller, T.C. and Stewart Jr C.N. 2004. Weed genomics: new tools to understand weed biology. Trends in Plant Sciences 9:391-398.

Cao, Q., Lu, B. R., XIA, H., RONG, J., SALA, F., Spada, A. and Grassi, F. 2006. Genetic Diversity and Origin of Weedy Rice (*Oryza sativa* f. *spontanea*) Populations Found in North-eastern China Revealed by Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. Annals of Botany 98:1241- 52.

Dekker, J. 1997. Weed diversity and weed management. Weed Science **37**:237–46.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem. Bull. 19:11-5.

Chen, L.J. and Suh, H.S. 2004. Study and utilization on weedy rice. In Yang QW (Ed.). Proceedings of the First National Conference on Wild Rice in China, Nanchang, Jiangxi, China pp. 258–264.

Chen L.J., Lee D.S., Song Z.P. Suh H.S. and Lu B.R. 2004. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. Annals of Botany 93: 67-73.

Federici, M.T., Vaughan, D., Tomooka, N., Kaga, A., Wang, X.W., Doi, K., Francis, M., Zorrilla, G. and Saldin, N. 2001. Analysis of Uruquayan weedy rice genetic diversity using

AFLP molecular markers. EJB Electronic Journal of Biotechnology 4:130-145.

Gao, L. 2004. Population structure and conservation genetics of wild rice *Oryza rufipogon* (Ppoaceae): a region-wide perspective from microsatellite variation. Molecular Ecology 13:1009-24.

Gao, L.Z., Schaal, B.A., Zhang, C.H., Jia, J.Z., Dong, Y.S. 2002. Assessment of population genetic structure in common wild rice *Oryza rufipogon* Griff. using microsatellite and allozyme markers. Theor. Appl. Genet. 106:173-80.

Garris, A.J., Tai, T.H., Coburn, J., Kresovich, S. and McCouch, S. 2005. Genetic Structure and Diversity in *Oryza sativa* L. Genetics 169: 1631-8

Gealy,D.R., Mitten, D,H,, Rutger, J,N. 2003. Gene flow between red rice (*Oryza sativa*) and herbicide-resistant rice (*O. sativa*): implications for weed management. Weed Technology 17:627–45.

Giarrocco, L.E., Marassi, M.A., Salerno, G.L. 2007. Assessment of the genetic diversity in Argentine rice cultivars with SSR markers. Crop Science 47:853-60.

Green, J.M., Barker, J.H.A., Marshall, E.J.P., Froud-Williams, R.J., Peters. N.C.B., Arnold, G.M., et al. 2001. Microsatellite analysis of the inbreeding grass weed Barren Brome (*Anisantha sterilis*) reveals genetic diversity at the within- and between-farm scales. Molecular Ecology 10:1035–45

Jayamani, P., Negrao, S., Martins, M., Macas, B., Oliveira, M.M. 2007. Genetic relatedness of Portuguese rice accessions from diverse origins as assessed by microsatellite markers. Crop Science 47:879-86.

Ishikawa, R., Toki, N., Imai, K., Sato Y.I., Yamagishi, H., Shimamoto, Y., Ueno, K., Morishima, H. and

Sato, T. 2005. Origin of weedy rice grown in Bhutan and the force of genetic diversity. Genetic Resources and Crop Evolution 52: 395-403.

Isshiki, M., Morino, K., Nakajima, M., Okagaki, R.J., Wessler, S.R., Izawa, T. and Kuroda Y., Sato Y.I., Bounphanousay C., Kono Y. and Tanaka K. 2005. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa* L.) to wild *Oryza* species (*Oryza rufipogon* Griff. & O. nivara Sharma and Shastry) on the Vientiane plain of Laos. Euphytica 142:75-83.

Holt, R.D. and Hochberg, M.E. 1997. When is biological control evolutionarily stable (or is it?). Ecology 78:1673-83

Kuroda, Y., Sato, Y.I., Bounphanousay, C., Kono, Y. and Tanaka, K. 2007. Genetic structure of three *Oryza* AA genome species (*O. rufipogon, O. nivara* and *O. sativa*) as assessed by SSR analysis on the Vientiane Plain of Laos. Conserv. Genet. 8:149-58.

McCouch, S.R., Chen,X., Panaud, O., Temnykh, S., Xu, Y., Cho, Y.G., Huang, N., Ishii, T. and Blair, M. 1997. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. Plant Mol Biol 35:89-99.

Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics **89**:583-90

Oka, H.I. 1988. Origin of cultivated rice. Japanese Scientific Societies Press, Tokyo

Powell, W. Machray, G.C., Provan, J. 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. Trends in Plant Science 1 (7):215-22.

Prathepha, P. 2009. Seed morphological traits and genotypic diversity of weedy rice (*Oryza sativa f. spontanea*)

populations found in the Thai Hom Mali rice fields of north-eastern Thailand. Weed Biol. Manag. 9:1-9.

Pyšek ,P and Prach, K. 2003. Research into plant invasions in a crossroads region: history and focus. Biological Invasions **5**:337–48

Song, Z.P., Xu, X. Wang, B., Chen, J.K., Lu, B.R. 2003. Genetic diversity in the northernmost *Oryza rufipogon* populations estimated by SSR markers. Theor. Appl. Genet. 107:1492-9.

Song, Z.P., Zhu, W., Rong, J. Xu, X., Chen, J..K., Lu, B.R. 2006. Evidences of introgression from cultivated rice to *Oryza rufipogon* (Poaceae) populations based on SSR fingerprinting: implications for wild rice differentiation and conservation. Evol. Ecol. 20:501-22.

Suh, H.S., Sato, Y.I. and Morishima, H. 1997. Genetic characterization of weedy rice (*Oryza sativa* L.) based on morpho-physiology, isozymes and RAPD markers. Theor. Appl. Genet. 94: 316-21.

Weller, S.C., Bressan, R.A., Goldsbrough, P.B., Fredenburg, T.B. and Hasegawa, P.M. 2001. The effect of genomics on weed management in the 21st century. Weed Science 49:282–9.

Yu, G.Q., Bao, Y., Shi, C.H., Dong, C.Q. and Ge, S. 2005. Genetic diversity and population differentiation of Liaoning weedy rice detected by RAPD and SSR markers. Biochemical Genetics 43:261–70.