

# ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่สูง จากกลุ่มชาติพันธุ์ในภาคเหนือของประเทศไทย

## Genetic diversity of highland rice landraces from ethnic groups in northern Thailand

สิรินทร์ กุลเสวกกุล<sup>1</sup>, ศันสนีย์ จำจด<sup>1,2</sup> และ ต่อนภา ผุสดี<sup>1\*</sup>

Sirin Kulsawekkul<sup>1</sup>, Sansanee Jamjod<sup>1,2</sup> and Tonapa Pusadee<sup>1\*</sup>

**บทคัดย่อ:** สภาพภูมิอากาศบนพื้นที่สูงไม่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์สมัยใหม่ ดังนั้นข้าวพื้นเมืองจึงมีสำคัญต่อการดำรงชีวิตของเกษตรกรที่อาศัยอยู่บนพื้นที่สูง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความหลากหลายทางลักษณะสัณฐานและความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมาย microsatellites ในข้าวพื้นเมืองที่สูง 7 ชื่อพันธุ์ จำนวนทั้งหมด 28 ประชากร จาก 4 กลุ่มชาติพันธุ์ที่อาศัยอยู่ในระดับความสูงทั้งน้อยกว่าและมากกว่า 1,000 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล และใช้เครื่องหมายจาก organelle จำแนกชนิดข้าวระหว่าง Indica และ Japonica จากการประเมินลักษณะสัณฐานพบความหลากหลายทั้งภายในประชากรและระหว่างประชากรภายในพันธุ์ เครื่องหมายจาก organelle จำนวน 3 ตำแหน่งบ่งบอกว่าข้าวพื้นเมืองที่สูง 84% เป็นชนิด Tropical japonica มีเพียง 16% ที่เป็นชนิด Indica ข้าวพื้นเมืองที่สูงในการศึกษานี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงและมีโครงสร้างสัมพันธ์กับชนิดย่อยและระดับความสูง การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทั้งลักษณะทางสัณฐานและทางพันธุกรรม รวมไปถึงโครงสร้างของประชากรข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงจากกลุ่มชาติพันธุ์ในภาคเหนือของประเทศไทย ซึ่งเป็นผลมาจากการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมท้องถิ่น และการทำเกษตรแบบดั้งเดิม ความเข้าใจเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากรสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการกำหนดแนวทางในการอนุรักษ์พันธุกรรมข้าวพื้นเมืองที่สูงที่ต้องอาศัยทั้งการจัดการของเกษตรกรร่วมกับการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของข้าวพื้นเมือง เพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ต่อไป

**คำสำคัญ:** ความหลากหลายทางพันธุกรรม, การปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมท้องถิ่น, ข้าวพื้นเมืองที่สูง, กลุ่มชาติพันธุ์, โครงสร้างประชากร, ชนิดย่อย (Subspecies types)

Received January 11, 2019

Accepted April 26, 2019

<sup>1</sup> สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

Division of Agronomy, Department of Plant and Soil Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, 50200 Thailand

<sup>2</sup> ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, 50200 Thailand

\* Corresponding author: tonapha.p@cmu.ac.th

**ABSTRACT:** Climate of highland agricultural area is not suitable for growing elite rice cultivars. Rice landraces thus play an important role on farmers' livelihood in mountainous area. The purpose of this study was to evaluate morphological traits and genetic diversity using microsatellite markers in 7 rice landraces varieties totally 28 populations from 4 ethnic groups that grow at the altitudes lower and above 1,000 meters above sea level (MASL). The results showed that highland rice landraces illustrated morphological variation both within population and among populations within variety. Three organelle markers indicated that 84% of rice landraces in this study was Tropical japonica type only 16% was Indica type. Highland rice landraces in this study are genetically variable, and structured associated to subspecies types and the altitudes. This study illustrated morphological variation and genetic diversity including population structure of highland rice landraces of ethnic groups in northern Thailand which was the consequence of local adaptation and traditional agriculture practices. Understanding genetic diversity and population structure can be applied as a guideline for conservation strategy of highland rice landraces involved farmers' managements and local adaptation for furthers utilization.

**Keywords:** Genetic diversity, Local adaptation, Highland rice landrace, Ethnic groups, Population structure, Subspecies types

### บทนำ

การมีฐานพันธุกรรมที่กว้างของพืชพันธุ์พื้นเมืองเป็นสิ่งสำคัญต่อการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศและลดความเสี่ยงจากโรคและแมลง (Mulumba, 2012) อีกทั้งสามารถเจริญเติบโตและปรับตัวให้เข้ากับท้องถิ่นนั้นๆ ได้ (Frankel et al., 1995) ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบในข้าวพันธุ์พื้นเมืองเป็นผลมาจากการคัดเลือกโดยธรรมชาติและการจัดการของเกษตรกร (Bellon MR, 1997; Maclean et al., 2013) ซึ่งบนพื้นที่สูงของประเทศไทยมีกลุ่มชาติพันธุ์ที่มีเอกลักษณ์ทางภาษา ประเพณี และวัฒนธรรมบ่งบอกถึงความเป็นกลุ่มชนของตนเองได้อย่างชัดเจน มีการแลกเปลี่ยนเมล็ดพันธุ์ (seed exchange) ภายในและระหว่างครอบครัว หมู่บ้าน และกลุ่มชาติพันธุ์ เป็นสาเหตุให้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่อยู่ในพื้นที่ใกล้เคียงกันมีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อยกว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่อยู่ในพื้นที่ห่างไกลกัน ซึ่งความแตกต่างทางพันธุกรรมที่พบดังกล่าว ทำให้ข้าวพื้นเมืองบางสายพันธุ์มีโครงสร้างเป็นแบบการแยกจากกันโดยระยะทาง (Isolation by distance) และเกิดจากการปรับตัวของข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีฐานพันธุกรรมที่กว้างต่อสภาพแวดล้อมท้องถิ่น (microenvironment) (Pusadee et al., 2009)

ความหลากหลายของกลุ่มชาติพันธุ์แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างทางด้านวัฒนธรรม

ประเพณี ภาษาและความเชื่อที่บ่งบอกถึงความเป็นกลุ่มชนของตนเองได้อย่างชัดเจน ซึ่งกลุ่มชาติพันธุ์เป็นทั้งผู้ปลูกและบริโภคข้าวพื้นเมืองเป็นส่วนใหญ่รวมไปถึงการใช้ประโยชน์จากข้าวพื้นเมือง เช่น ในพิธีกรรมต่าง ๆ รับขวัญเด็กแรกเกิดงานขึ้นบ้านใหม่ พิธีแต่งงาน ทำเหล้า ไวน์และอาหารสัตว์ เป็นต้น (Schiller et al., 2006) ข้าวพื้นเมืองบางพันธุ์มีการวิเคราะห์และรายงานผลว่ามีส่วนประกอบของสารอาหารที่เป็นประโยชน์ในปริมาณสูง เช่น ธาตุเหล็ก สังกะสี ออโรซานอลและแอนโทไซยานิน (Pintasas et al., 2007; Boonsit et al., 2010; Daijponmak et al., 2010) ดังนั้นข้าวพื้นเมืองจึงเป็นทั้งพืชอาหารหลักและพืชวัฒนธรรมโดย Wang et al. (2016) ศึกษาอิทธิพลของประเพณีวัฒนธรรมของกลุ่มชาติพันธุ์ต่อความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองทางตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศไทย โดยเปรียบเทียบระหว่างข้าวพื้นเมืองชื่อพันธุ์เดียวกันที่อนุรักษ์แบบ ex-situ กับ on-farm พบว่า ข้าวพื้นเมืองที่อนุรักษ์แบบ on-farm มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากกว่าข้าวพื้นเมืองที่อนุรักษ์แบบ ex-situ แสดงถึงวิถีชีวิตและการเกษตรกรรมของกลุ่มชาติพันธุ์มีอิทธิพลต่อความหลากหลายของสายพันธุ์และความหลากหลายของพันธุกรรมเช่นกัน

ถึงแม้ว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองจะมีผลผลิตน้อยกว่าข้าวพันธุ์สมัยใหม่ แต่เกษตรกรยังเลือกที่

จะปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองเนื่องจากสามารถปรับตัวกับพื้นที่ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับการจัดการของเกษตรกรในพื้นที่นั้นๆ (Pusadee et al., 2014) เมื่อพื้นที่ทางการเกษตรในปัจจุบันลดลงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวบนพื้นที่สูงจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อให้ข้าวสามารถปลูกได้ในสภาพภูมิประเทศที่หลากหลาย

หลาย ให้ทั้งผลผลิตสูงและคุณภาพดีเพื่อรองรับประชากรโลกที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากปัจจุบัน ดังนั้น การศึกษาที่มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวพื้นเมืองบนพื้นที่สูงแบ่งตามกลุ่มชาติพันธุ์โดยประเมินลักษณะสัณฐานและทางพืชไร่ร่วมกับศึกษาในระดับดีเอ็นเอ

**Table 1** Passport information on 28 highland rice landraces of Thailand and 2 elite rice varieties in the present study

| Ethnic groups | Local names        | Populations | Elevation | Subspecies type          |
|---------------|--------------------|-------------|-----------|--------------------------|
| Lahu          | Ja Peu Ma          | JPM1        | 964       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Ja Peu Ma          | JPM2        | 964       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Ja Peu Ma          | JPM3        | 964       | <i>Tropical Japonica</i> |
| Lahu Na       | Pa Ka Ja           | PKJ1        | >1000     | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Pa Ka Ja           | PKJ2        | >1000     | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Pa Ka Ja           | PKJ3        | >1000     | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Pa Ka Ja           | PKJ4        | >1000     | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Pa Ka Ja           | PKJ5        | >1000     | <i>Tropical Japonica</i> |
| Akha          | Cha Ta Te          | CTT1        | 1031      | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Cha Ta Te          | CTT2        | 1031      | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Cha Ta Te          | CTT3        | 1031      | <i>Indica</i>            |
|               | Hor Chae           | HCH1        | 779       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Hor Chae           | HCH2        | 779       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Hor Chae           | HCH3        | 779       | <i>Indica</i>            |
|               | Hor Je             | HJ1         | 779       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Hor Je             | HJ2         | 779       | <i>Indica</i>            |
| Karen         | Bue Por Lor        | BPL1        | 804       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Bue Por Lor        | BPL2        | 870       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Bue Por Lor        | BPL3        | 798       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Bue Por Lor        | BPL4        | 813       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Bue Por Lor        | BPL5        | 869       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Bue Por Lor        | BPL6        | 869       | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Bue Po Lo          | BPLL1       | 1273      | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Bue Po Lo          | BPLL2       | 1258      | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Bue Po Lo          | BPLL3       | 1138      | <i>Indica</i>            |
|               | Bue Po Lo          | BPLL4       | 1137      | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Bue Po Lo          | BPLL5       | 1030      | <i>Tropical Japonica</i> |
|               | Bue Po Lo          | BPLL6       | 1030      | <i>Indica</i>            |
| Checked       | Khao Dawk Mali 105 | KDML105     | -         | <i>Indica</i>            |
|               | Pathum Thani 1     | PTT1        | -         | <i>Indica</i>            |

\*Subspecies type จากเครื่องหมาย organelle ตามวิธีของ Okoshi (2015)

## อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

### พันธุ์ข้าว

เก็บรวบรวมตัวอย่างข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงจากเกษตรกรกลุ่มชาติพันธุ์ในจังหวัดเชียงราย และแม่ฮ่องสอน จำนวน 4 กลุ่มชาติพันธุ์ 7 ชื่อพันธุ์ 28 ประชากรที่ระดับความสูงเหนือน้ำทะเลน้อยกว่า 1,000 เมตรและที่มากกว่า 1,000 เมตร (Table 1) นำเมล็ดส่วนหนึ่งที่ได้จากเกษตรกรมาบันทึกลักษณะพื้นฐานของเมล็ด ปลูกในกระถางเพื่อประเมินลักษณะทางสัณฐานและพืชไร่ และวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอ

### การประเมินความหลากหลายในลักษณะทางสัณฐานของเมล็ดจากเกษตรกร

นำเมล็ดส่วนหนึ่งจำนวน 30 เมล็ดมาบันทึกลักษณะทางสัณฐานเมล็ดของเกษตรกรในลักษณะของการมีหางของเมล็ด สียอดเมล็ด สีเปลือกเมล็ดและสีเขียวหุ้มเมล็ด จากนั้นนำข้าวกล้องอย่างละ 30 เมล็ด วัดขนาดความกว้าง (มม.) ความยาว (มม.) และความหนา (มม.) โดยใช้ดิจิตอลเวอร์เนียร์คาลิเปอร์เพื่อประเมินขนาดและรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องตามเกณฑ์ของ N. Deja Cruz and G.S. Khush (2000)

### การประเมินความหลากหลายโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานและพืชไร่

ปลูกทดสอบเปรียบเทียบด้วยข้าวพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 2 พันธุ์ คือ ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) และ ปทุมธานี 1 (PTT1) ในสภาพเดียวกันที่โรงเรือนทดลอง สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) 1 ต้นต่อหลุม จำนวน 10 ต้นต่อกระถาง จำนวน 2 ซ้ำ ให้ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ 3 ครั้งที่ 30, 60 และ 75 วันหลังจากย้ายปลูกในกระถาง โดยให้อยู่สภาพน้ำขังในกระถาง

ตลอดเวลา บันทึกข้อมูลลักษณะพื้นฐานจำนวน 22 ลักษณะและลักษณะทางพืชไร่ 8 ลักษณะแยกแต่ละต้นทุกต้นที่ระยะต่างๆ โดยใช้แบบบันทึกข้อมูลตาม Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 2013) เมื่อถึงระยะแตกกอ เก็บตัวอย่างใบแยกต้นโดยสุ่มประชากรละ 5 ต้น ๆ ละ 2-3 ใบใน silica gel เพื่อนำไปสกัด DNA

### การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากร

นำตัวอย่างใบข้าวที่เก็บไว้ข้างต้นประชากรละ 5 ต้นมาบดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว เพื่อนำมาสกัด DNA ด้วยวิธี CTAB ที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Doyle and Doyle (1987) และเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยปฏิกิริยา PCR (Polymerase Chain Reactions) โดย Microsatellite marker จำนวน 11 ตำแหน่ง (Table 2) และวิเคราะห์ชนิดย่อย (subspecies type) โดยใช้ organelle markers จำนวน 3 ตำแหน่งด้วยวิธีของ Okoshi et al. (2015) (Table 3) ปฏิกิริยา PCR ปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 10 ng DNA ต้นแบบ, 5X PCR buffer 0.5 ไมโครลิตร, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 20 ppm Forward และ Reverse primers, 25 mM dNTP และ 0.5 unit Taq DNA polymerase และปรับปริมาตรด้วย dH<sub>2</sub>O เงื่อนไขในการเพิ่มปริมาณ DNA ประกอบด้วย denaturing แรกเริ่มที่ 95 °C นาน 5 นาที ตามด้วยรอบของ denaturing ที่ 95 °C นาน 30 วินาที annealing ที่ 55-58 °C นาน 30 วินาที และ extension ที่ 72 °C นาน 30 วินาที จำนวน 40 รอบ และ ตามด้วย final extension 72 °C นาน 5 นาที แล้วนำผลผลิตที่ได้ตรวจทดสอบด้วย 10% polyacrylamide gel electrophoresis ดูการเกิดลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่อง BLook LED transilluminator บันทึกภาพด้วยกล้องดิจิตอล จากนั้นนำภาพถ่ายลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาวิเคราะห์ขนาดและเปรียบเทียบกับ DNA มาตรฐาน (50 bp DNA ladder และ 100 bp DNA ladder)

Table 2 Detail of SSR markers used in the present study

| Primer name | Chr. | Forward Primer (5'-3')   | Reverse Primer (5'-3')   | Anneal Temperature (°C) |
|-------------|------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| RM84        | 1    | TAAGGGTCCATCCACAAGAGT    | TTGCAAAATGCAGCTAGAGTAC   | 55                      |
| RM318       | 2    | GTACGGAAAACATGGTAGGAAG   | TCGAGGGAAGGATCTGGTC      | 55                      |
| RM251       | 3    | GAATGGCAATGGCGCTAG       | ATGAGGTTCAAGATTCGATC     | 55                      |
| RM241       | 4    | GAGCCAAATAAGATCGCTGA     | TGCAAGCAGCAGATTTAGTG     | 55                      |
| RM122       | 5    | GAGTCGATGTAATGTCATCAGTGC | GAAGGAGGTATCGCTTTGTTGGAC | 55                      |
| RM584       | 6    | AGAAAAGTGGATCAGGAAGGC    | GATCCTGCAGGTAACCAACAC    | 55                      |
| RM11        | 7    | TCTCCTCTTCCCCCGATC       | ATAGCGGGCGAGGCTTAG       | 55                      |
| RM447       | 8    | CCCTTGTCGTGTCCTCTCTC     | ACGGGCTTCTTCTCCTTCTC     | 55                      |
| RM316       | 9    | CTAGTTGGGCATACGATGGC     | ACGCTTATATGTTACGTCAAC    | 55                      |
| RM167       | 11   | GATCCAGCCTGAGGAACACGT    | AGTCCGACCACAAAGTGCGTTGTC | 55                      |
| RM247       | 12   | TAGTGCCGATCGAIGTAACG     | CATAIGGTTTTGACAAAAGCG    | 55                      |

Table 3 Detail of organelle markers used in the present study

| Primer name* | Forward Primer (5'-3')    | Reverse Primer (5'-3')       | Amplicon size (bp) |     |
|--------------|---------------------------|------------------------------|--------------------|-----|
|              |                           |                              | I                  | J   |
| Osc04        | TTTTTAATTTGATATGGCTCGGACG | GATGGACTGAAAAATACAAGAAATTCTG | 114                | 119 |
| Osc11        | AAACCAAAGGTTTCTCTCGGC     | GGAATTTTGGGGGATAGG           | 84                 | 80  |
| Osm04        | AGTGGTCCTTTTGCTCATTCACG   | ATTATCGATCGCATGGCCCC         | 59                 | 67  |

\*Primer name OsC is for chloroplasts, OsM is for mitochondria

\*\*Position in chloroplast and mitochondria

I *indica*, J *japonica*

### การวิเคราะห์ข้อมูล

ประเมินลักษณะทางสัณฐานด้วยค่าดัชนีความหลากหลาย Shannon-Weaver index ( $H'$ ) (Shannon and Weaver, 1949) ลักษณะทางพืชไร่วิเคราะห์โดยใช้ค่าเฉลี่ย (mean) ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (cv, %) และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance)

ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในและระหว่างประชากรโดยนำข้อมูลขนาดของอัลลีลของ microsatellite ทั้ง 11 ตำแหน่ง เพื่อหาค่าความหลากหลายและความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยคำนวณค่า average gene diversity within the populations (HS), total gene diversity (HT) และ degree of genetic differentiation among populations (FST) โดยใช้โปรแกรม FSTAT version 2.9.3 (Goudet, 2001) และค่า number of alleles (Na), effective number of alleles (Ne), expected heterozygosity (He) โดยใช้โปรแกรม GenAlEx version 6.1 (Peakall and Smouse, 2006)

การวิเคราะห์ลำดับชั้นของความแปรปรวนทางพันธุกรรม (Analysis of Molecular Variance; AMOVA) ด้วยโปรแกรม GenAlEx version 6.1 (Peakall and Smouse, 2006) เพื่อหาลำดับชั้นความแปรปรวนทางพันธุกรรมภายในและระหว่างประชากร โดยแบ่งเป็นการจัดลำดับแบบแบ่งตามชนิดย่อย (subspecies types) ระดับความสูงเหนือน้ำทะเล (elevations) กลุ่มชาติพันธุ์ (ethnics) ชื่อพันธุ์ (varieties) และประชากร (populations)

การวิเคราะห์โครงสร้างประชากรด้วยโปรแกรม STRUCTURE version 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) เพื่อแสดงถึงการจัดกลุ่มที่คล้ายหรือปะปนกันทางพันธุกรรมของประชากรที่ศึกษา โดยกำหนดจำนวนกลุ่มประชากร (ค่า K) ในช่วง 1 – 10 ค่า Burnin และ MCMC ที่ 1,000,000 รอบ เลือก Ancestry model แบบ no admixture model จากนั้น run ข้อมูลที่ K ละ 10 รอบ หลังจากได้ผลของโปรแกรม STRUCTURE นำไปหาค่า K ที่เหมาะสมที่สุดในการแบ่งกลุ่มประชากรโดยใช้ STRUCTURE HARVESTER (Earl & vonHoldt, 2012) (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>)

วิเคราะห์การจัดกลุ่มความใกล้ชิดทางพันธุกรรมด้วยวิธี Principal Coordinate Analysis (PCA) โดยโปรแกรม GenAlEx version 6.1 (Peakall and Smouse, 2006) และนำค่าระยะห่างระหว่างพันธุกรรมที่ได้มาหาความสัมพันธ์โดยการสร้าง dendrogram ด้วยวิธี Neighbour-joining (NJ) ที่ได้จากโปรแกรม POWERMAKER version 3.0 (Liu and Muse 2005) โดยใช้โปรแกรม MEGA7

### ผลการศึกษาและวิจารณ์

#### ลักษณะทางสัณฐานของเมล็ดที่ได้จากเกษตรกร

การประเมินความหลากหลายในลักษณะทางสัณฐานของเมล็ดที่ได้จากเกษตรกรทั้ง 4 กลุ่มชาติพันธุ์ พบข้าวพื้นเมืองที่สูงในการศึกษานี้ส่วนใหญ่แสดงลักษณะของเมล็ดไม่มีหาง ยอดเมล็ดสีฟาง เปลือกเมล็ดสีฟาง เยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว ชนิดแบ่งส่วนใหญ่เป็นข้าวเจ้าและจากการประเมินรูปร่างเมล็ดของแต่ละกลุ่มชาติพันธุ์นั้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 รูปร่าง โดยข้าวพันธุ์พื้นเมืองของกลุ่มชาติพันธุ์ลาหู่ ลาหู่และอาข่า มีรูปร่างเป็นแบบเมล็ดค่อนข้างเรียวยาว ส่วนกลุ่มชาติพันธุ์กะเหรี่ยงพบรูปร่างทั้งแบบเมล็ดป้อมและเมล็ดค่อนข้างเรียวยาว (Figure 1) รูปร่างเมล็ดที่พบว่ามีหลากหลายในการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาลักษณะเมล็ดพันธุ์ข้าวที่มีการอนุรักษ์แบบ On-farm ในพื้นที่ของศูนย์กลางความหลากหลาย (Centre of rice diversity) ซึ่งรูปร่างเมล็ดข้าวเปลือกของข้าวพื้นที่สูงแสดงลักษณะเมล็ดใหญ่ รูปร่างเมล็ดข้าวกล้องแสดงลักษณะค่อนข้างเรียวยาวและแสดงชนิดแบ่งเป็นข้าวเจ้า (Jamjod et al., 2017) ลักษณะเมล็ดที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากการคัดเลือกและความชอบในการบริโภคที่ผู้บริโภคเน้นที่เรื่องของคุณภาพแตกต่างกัน เช่น ความหอม และคุณภาพการหุงต้ม (Juliano et al., 2007) รวมถึงการนำไปใช้ประโยชน์ของข้าวแต่ละกลุ่มชาติพันธุ์ เช่น การหมักเหล้า ขนม อาหารสัตว์ หรือใช้ประกอบพิธีกรรมต่างๆ การคัดเลือกพันธุ์ของเกษตรกรจึงไปพร้อมกับความหลากหลายทางพันธุกรรม

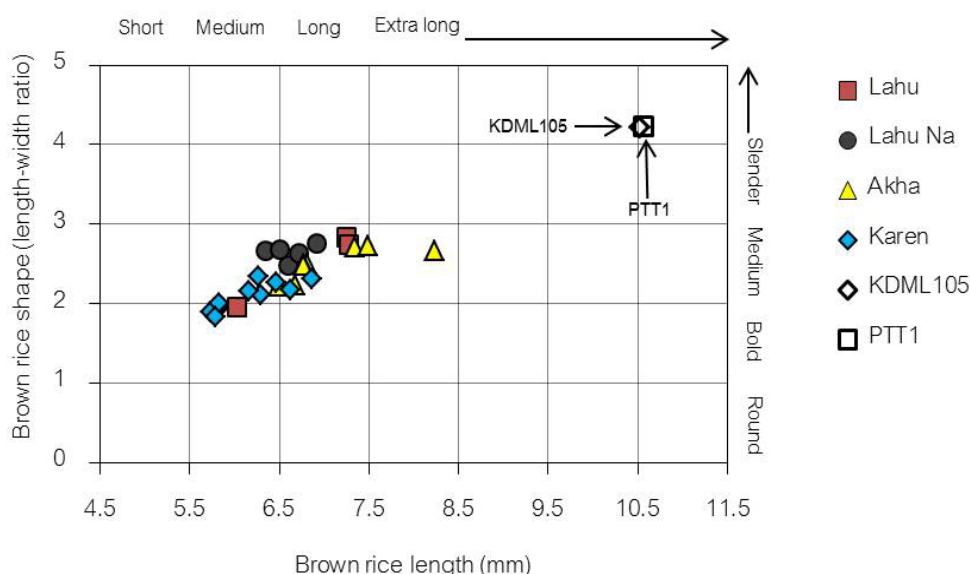


Figure 1 Grain shape and size of 28 highland rice landraces divide by 4 ethnic groups (Lahu, Lanu Na, Akha, and Karen) and 2 elite rice varieties (KDML105 and PTT1).

### ความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานและพืชไร่

จากการประเมินลักษณะพื้นฐานข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงมีความหลากหลายทั้งภายในและระหว่างประชากร พบลักษณะที่มีความหลากหลาย 14 ลักษณะ (Figure 2) คือ ทรงกอ การมีขนใบ สียอดดอก สียอดเกสรตัวเมีย ความยาวเกสรตัวเมีย การไผ่ของเกสรตัวเมีย ความยาวเกสรตัวผู้ ลักษณะรวง การไผ่พันคอรวง สีกลีบรองดอก มุมของใบธง การมีหาง สีเปลือกเมล็ด และสีเยื่อหุ้มเมล็ด ไม่พบความหลากหลายใน 8 ลักษณะ ( $H'=0$ ) คือ สีแผ่นใบ สีกาบใบ สีลิ้นใบ รูปว่างลิ้นใบ สีหูใบ สีข้อ สีปล้อง และสีข้อต่อใบ โดยข้าวพื้นเมืองที่สูงพันธุ์จะพริ้วมา (JPM) จากกลุ่มชาติพันธุ์ลาหู่, แซตเต๊ะ (CTT) และห่อเจ๊ะ (HJ) จากกลุ่มชาติพันธุ์อาข่ามีความหลากหลายภายในประชากรมากที่สุด 11 ลักษณะ ส่วนข้าวพื้นเมืองที่สูงพันธุ์ห่อแฉะ (HCH) จากกลุ่มชาติพันธุ์อาข่าและบือปอลอ (BPL) จากกลุ่มชาติพันธุ์กะเหรี่ยงมีความหลากหลายภายในประชากรน้อยที่สุด 8 ลักษณะ

เมื่อประเมินลักษณะทางพืชไร่จำนวน 8 ลักษณะ (Table 4) พบลักษณะของช่อดอกต่อ

รวงมีความหลากหลายมากที่สุด และอายุออกดอกมีความหลากหลายน้อยที่สุด ทั้งลักษณะทางสัณฐานและพืชไร่แสดงให้เห็นถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจเลือกพันธุ์ของเกษตรกร ซึ่งบนพื้นที่สูงอาศัยปริมาณน้ำฝน สภาพดินและความสามารถในการจัดการทั้งพันธุ์และพื้นที่ของเกษตรกร (อัศวพงศ์ และคณะ, 2550) รวมไปถึงการใช้ประโยชน์จากข้าวที่ส่งผลต่อการคัดเลือกพันธุ์และลักษณะเมล็ดที่มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับลักษณะทางสัณฐานรุ่นก่อน ความแตกต่างของกลุ่มชาติพันธุ์แสดงให้เห็นถึงรูปแบบการเกษตรกรรมที่แตกต่างกันและเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์อย่างประณีตเพื่อส่งต่อพันธุ์ที่ดีให้รุ่นลูกหลาน เช่น ลำต้นแข็งแรง เมล็ดใหญ่ คุณภาพหุงต้มดี กลิ่นหอม ทนทานต่อโรคแมลง อายุการเก็บเกี่ยวสั้น ผลผลิตสูง ที่ช่วยให้กลุ่มชาติพันธุ์ตัดสินใจเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ได้ดีขึ้น ความหลากหลายระหว่างประชากรของข้าวพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่มาจากความแตกต่างของท้องถิ่นหรือสภาพภูมิศาสตร์ที่ประชากรนั้นสามารถเจริญเติบโตและปรับตัวให้เข้ากับท้องถิ่นนั้นได้ (Frankel et al., 1995)

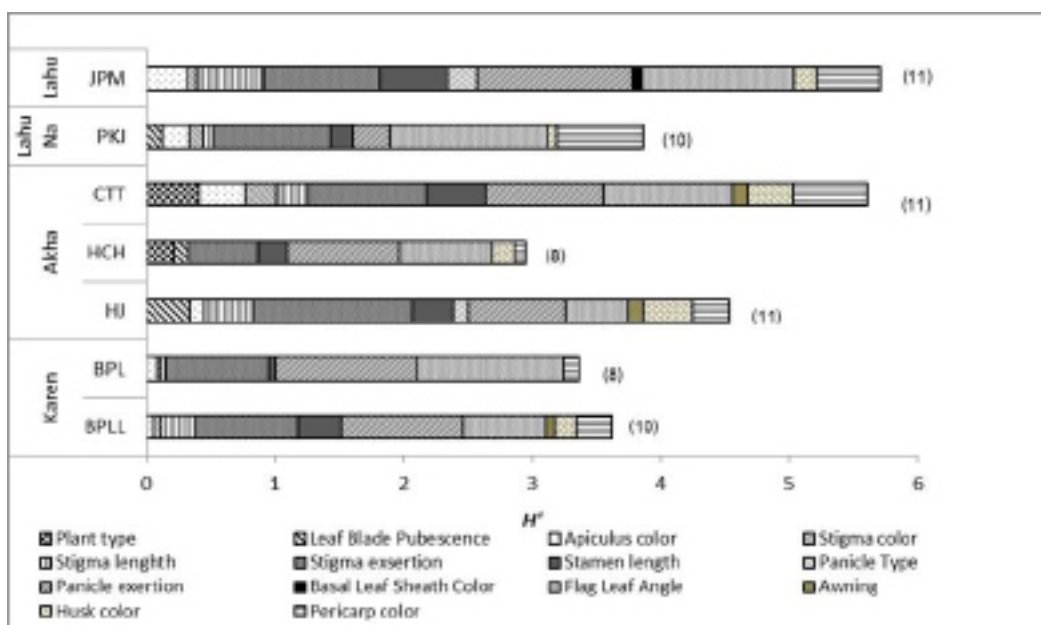


Figure 2 Shannon's index ( $H'$ ) for 14 morphological traits of 28 highland rice landraces from 4 ethnic groups and 2 elite rice varieties. Numbers in the parentheses represent number of polymorphic traits.

### ความหลากหลายทางพันธุกรรมและโครงสร้างประชากร

การจำแนกชนิดย่อย (Subspecies types) ด้วย organelle markers ของข้าวพื้นเมืองที่สูงจาก 4 กลุ่มชาติพันธุ์ 7 ชื่อพันธุ์ 28 ประชากรและพันธุ์เปรียบเทียบ 2 พันธุ์ พบความหลากหลายของชนิดย่อยในข้าวพื้นเมืองที่สูงแสดงทั้งชนิด Indica และ Tropical japonica โดยข้าวพื้นเมืองที่สูงในการศึกษานี้ส่วนใหญ่แสดงชนิดเป็น Tropical japonica ส่วนของประชากร CTT3, HCH3, HJ2, BPLL3 และ BPLL6 รวมทั้งข้าวพันธุ์เปรียบเทียบ (KDML105 และ PTT1) เป็นชนิด Indica (Table 1) โดยความแตกต่างของชนิดย่อยระหว่างประชากรเกิดจากการแลกเปลี่ยนและคัดเลือกเมล็ดพันธุ์ตามความชอบและการใช้ประโยชน์ของกลุ่มชาติพันธุ์สอดคล้องกับ Prathepha et al. (2014) ศึกษาการจำแนกชนิดย่อยด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบ InDel markers ในข้าวไทย โดยข้าวไร่ของทางภาคเหนือมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของชนิดย่อยทั้งชนิด Indica และ Japonica ส่วนข้าวปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลางและภาคใต้

ของประเทศไทยที่พบเพียงชนิดย่อยแบบ Indica ผลจากการคัดเลือกโดยมนุษย์และธรรมชาติ ทำให้ข้าวสามารถแบ่งชนิดย่อยได้เป็น 2 ชนิด คือ indica และ Japonica (Lu et al., 2009) ซึ่งข้าว (*Oryza sativa* L.) ที่นิยมปลูกในแถบทวีปเอเชียชนิด indica ถูก domestication ในแถบตะวันออกเฉียงใต้และทางตอนใต้ของทวีปเอเชีย ขณะที่ชนิด Japonica ถูก domestication ทางตอนใต้ของประเทศจีน (Huang et al. 2012) โดยส่วนใหญ่ชนิด Indica สามารถเจริญเติบโตในสภาพภูมิอากาศเขตร้อนและความสูงเหนือระดับน้ำทะเลไม่มาก ในส่วนของชนิด japonica สามารถเจริญเติบโตในสภาพภูมิอากาศเขตอบอุ่นและความสูงเหนือระดับน้ำทะเลมาก หรือที่มีสภาพอากาศเย็น (Xiong et al., 2010) เช่นเดียวกับทางภาคเหนือของประเทศไทยที่มีสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศส่วนใหญ่เป็นภูเขาสูง พื้นที่ระหว่างหุบเขา พื้นราบ และสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล เช่น ฤดูหนาวอากาศหนาวเย็นกว่าภาคอื่นๆ ส่งผลต่อระบบนิเวศการเกษตรทำให้สิ่งมีชีวิตต้องปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น (Shrestha et al., 2017)

**Table 4** Agronomic traits of 28 highland rice landraces from 4 ethnic groups and 2 elite rice varieties.

| Ethnic groups               | Accession | Day of flowering | Culm length | Tillering Ability | Panicle/ plant | Panicle length | Bruch /panicle | Number of spikelet / panicles | Grain (%) |
|-----------------------------|-----------|------------------|-------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------------|-----------|
| Lahu                        | JPM       | 102              | 88.7        | 3                 | 2              | 22             | 7              | 46                            | 59.0      |
| Lahu Na                     | PKJ       | 105              | 83.0        | 3                 | 2              | 22             | 7              | 53                            | 52.1      |
| Akha                        | CTT       | 98               | 75.5        | 3                 | 1              | 22             | 7              | 54                            | 54.4      |
|                             | HCH       | 108              | 73.3        | 3                 | 1              | 22             | 7              | 44                            | 62.5      |
|                             | HJ        | 111              | 58.0        | 3                 | 2              | 23             | 7              | 67                            | 65.0      |
| Karen                       | BPL       | 125              | 69.5        | 2                 | 1              | 21             | 6              | 40                            | 61.6      |
|                             | BPLL      | 110              | 72.9        | 4                 | 3              | 22             | 8              | 62                            | 60.7      |
| Checks<br>(Elite varieties) | KDML105   | 104              | 82.3        | 11                | 9              | 20.53          | 7              | 60                            | 82.81     |
|                             | PTT1      | 102              | 71.9        | 10                | 9              | 22.7           | 7              | 62                            | 47.22     |
|                             | LSD 0.05  | 3.19             | 7.55        | 0.73              | 0.55           | 2.30           | 0.975          | 15.46                         | 14.89     |
|                             | F-test    | *                | *           | *                 | *              | *              | *              | *                             | *         |
|                             | CV (%)    | 4.7              | 16.3        | 35.78             | 40.17          | 17.21          | 22.78          | 48.33                         | 41.46     |

จากการประเมินความหลากหลายของอัลลีลและความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้าวพื้นเมืองที่สูงด้วยเครื่องหมายไมโครแซเทลไลต์ *microsatellites* จำนวน 11 ตำแหน่ง พบ *polymorphic alleles* โดยมีจำนวนอัลลีลทั้งหมด 35 อัลลีล พบประชากรเชื้อพันธุ์จระพือมา (JPM) ของกลุ่มชาติพันธุ์ลาหู่มีจำนวนอัลลีลมากที่สุดคือ 27 อัลลีลและประชากรเชื้อพันธุ์ป้อปอลอ (BPL) ของกลุ่มชาติพันธุ์กะเหรี่ยงมีจำนวนอัลลีลน้อยที่สุดคือ 17 อัลลีล ส่วนจำนวนอัลลีลของ Marker พบ RM247 แสดงอัลลีลมากที่สุดจำนวน 6 อัลลีล ข้าวพื้นเมืองที่สูงทั้ง 28 ประชากรมีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมเฉลี่ยภายในประชากร (HS) ความหลากหลายทางพันธุกรรมรวม (HT) มีค่าใกล้เคียงกัน คือ 0.319 และ 0.48 ตามลำดับ มีค่าความแตกต่างระหว่างประชากร (FST) 0.161 (Table 5) ซึ่งแสดงว่าประชากรมีความแตกต่างทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง

ในส่วนของการวิเคราะห์โครงสร้างทางพันธุกรรมจากการวิเคราะห์ AMOVA (Table 6) พบการแบ่งกลุ่มตามประชากร (Among populations) มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมมากที่สุด 73% และแบ่งกลุ่มตามกลุ่มชาติพันธุ์ (Among ethnics) มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมน้อยที่สุด 9% แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองที่ศึกษานี้เกิดจากความหลากหลายระหว่าง 28 ประชากร สอดคล้องกับโครงสร้างและความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในทางตะวันออกของเทือกเขาหิมาลัยภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศอินเดีย ที่ซึ่งศึกษาข้าวพื้นเมือง 24 พันธุ์ ข้าวพันธุ์ปรับปรุง 5 พันธุ์และข้าวป่า 1 ประชากร ข้าวพื้นเมืองถูกแบ่งออกเป็น 4 ชนิด (type) คือ *sali* (พื้นที่ราบปลูกในช่วงฤดูฝน), *boro* (พื้นที่ราบปลูกในช่วงฤดูแล้ง), *jum* (พื้นที่สูงมากกว่า 3,000 MASL) และชนิดข้าวเหนียว (*glutinous grain rice*) ด้วยเครื่องหมาย *microsatellites* จำนวน 7 ตำแหน่ง พบความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์สูง ( $H_e = 0.776$ ) เมื่อพิจารณาระหว่างชนิดพบ *sali* ให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงสุด ( $H_e = 0.747$ ) รองลงมาเป็นชนิด *jum* ( $H_e = 0.627$ ) การวิเคราะห์ AMOVA พบความแปรปรวน

ทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์มากที่สุด (66%) และความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างชนิดน้อยที่สุด (8%) (Choudhury et al., 2013) ดังนั้นการอนุรักษ์ข้าวพันธุ์พื้นเมืองแบบ on-farm ซึ่งมีความซับซ้อนของระบบนิเวศ สภาพภูมิอากาศ การทำเกษตรแบบดั้งเดิมและวัฒนธรรมที่แตกต่างของกลุ่มชาติพันธุ์ทำให้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองแสดงความหลากหลายทางพันธุกรรมและการเปลี่ยนแปลงของอัลลีลภายในประชากร (Wang et al., 2016) ความหลากหลายและโครงสร้างทางพันธุกรรมนี้แสดงถึงการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมร่วมกับการจัดการของเกษตรกร จึงควรอนุรักษ์ข้าวพื้นเมืองทั้งแบบ ex situ และ in situ ไปพร้อมกันเพื่อป้องกันการสูญหายของแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

โครงสร้างประชากรและการจัดกลุ่มทางพันธุกรรม จากการวิเคราะห์ STRUCTURE (Figure 3), Nei (1983) genetic distance (Figure 4) และ Principal Coordinate Analysis (PCA) (Figure 5) สัมพันธ์กันด้วยชนิดย่อย (subspecies type) ที่พบชนิด *Indica* และ *Tropical japonica* กับระดับความสูงเหนือน้ำทะเล (Altitude, MASL) ที่แบ่งเป็นน้อยกว่าและมากกว่า 1,000 เมตร เช่นเดียวกับ Cui et al., (2017) ศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมแยกตามระดับความสูงในข้าวพื้นเมืองของยูนนาน ประเทศจีนจำนวน 188 ประชากรที่เก็บจากระดับความสูงในช่วง 425 ถึง 2, 274 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล โดยใช้เครื่องหมาย SSR 48 เครื่องหมาย แสดงโครงสร้างประชากรออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ *Indica* และ *Japonica* ในสองกลุ่มนี้สามารถแบ่งย่อยได้อีกตามระดับความสูง โดยพบเพียงชนิด *Indica* ที่ระดับความสูงน้อยกว่า 800 MASL ส่วนที่ระดับความสูงมากกว่า 800 MASL พบทั้งสองชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นรูปแบบความแตกต่างทางพันธุกรรมและการถ่ายเทเคลื่อนย้ายของยีน (gene flow) ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ถูกแบ่งแยกตามระดับความสูง (isolation by altitude) ในทำนองเดียวกับข้าวพื้นเมืองพันธุ์ป้อปอที่มีที่เพาะปลูกโดยกลุ่มชาติพันธุ์กะเหรี่ยงในประเทศไทย จำนวน 33 ประชากรจาก 13 หมู่บ้านที่แสดงความแตกต่างทางพันธุกรรม

ด้วยโครงสร้างทางพันธุกรรมที่แบ่งตามระยะทาง (isolation by distance) ซึ่งเกิดการแลกเปลี่ยนเมล็ดพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการแลกเปลี่ยนเมล็ดพันธุ์ระหว่างกลุ่มเกษตรกรชาติพันธุ์กะเหรี่ยงด้วย

กันเอง (Pusadee et al., 2009) ดังนั้นข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสามารถตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งสภาพแวดล้อมและการจัดการของเกษตรกรในพื้นที่

**Table 5** Genetic diversity indices for 11 microsatellite loci of 7 highland rice landraces and 2 elite rice varieties

| Ethnic groups            | Accession | N | n   | H <sub>e</sub> | H <sub>S</sub> | H <sub>T</sub> | F <sub>ST</sub> |
|--------------------------|-----------|---|-----|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| Lahu                     | JPM       | 3 | 15  | 0.225          | 0.282          | 0.373          | 0.091           |
| Lahu Na                  | PKJ       | 5 | 25  | 0.105          | 0.131          | 0.359          | 0.228           |
| Akha                     | CTT       | 3 | 15  | 0.175          | 0.218          | 0.357          | 0.139           |
|                          | HCH       | 3 | 15  | 0.092          | 0.115          | 0.379          | 0.263           |
|                          | HJ        | 2 | 10  | 0.069          | 0.086          | 0.37           | 0.284           |
| Karen                    | BPL       | 6 | 30  | 0.041          | 0.052          | 0.131          | 0.079           |
|                          | BPLL      | 6 | 30  | 0.075          | 0.094          | 0.193          | 0.099           |
| Total rice landraces     |           | 7 | 140 | 0.101          | 0.319          | 0.48           | 0.161           |
| Checks (Elite varieties) | Total     | 2 | 10  | 0              | 0              | 0.125          | 1               |

Number of accession (N), number of individuals (n), expected heterozygosity ( $H_e$ ), average gene diversity ( $H_s$ ), total gene diversity ( $H_T$ ), and genetic differentiation ( $F_{ST}$ )

**Table 6** Analysis of molecular variance (AMOVA) among subspecies, elevations, ethnic groups, varieties and populations in 28 highland rice landraces using 11 SSR loci

| Source              | df | SS     | MS    | % of the total variance |
|---------------------|----|--------|-------|-------------------------|
| Among subspecies    | 1  | 123.9  | 123.9 | 18%                     |
| Among elevations    | 1  | 188.1  | 188.1 | 21%                     |
| Among ethnic groups | 3  | 202.7  | 67.5  | 9%                      |
| Among varieties     | 6  | 581.9  | 96.9  | 34%                     |
| Among populations   | 27 | 1107.1 | 41    | 73%                     |

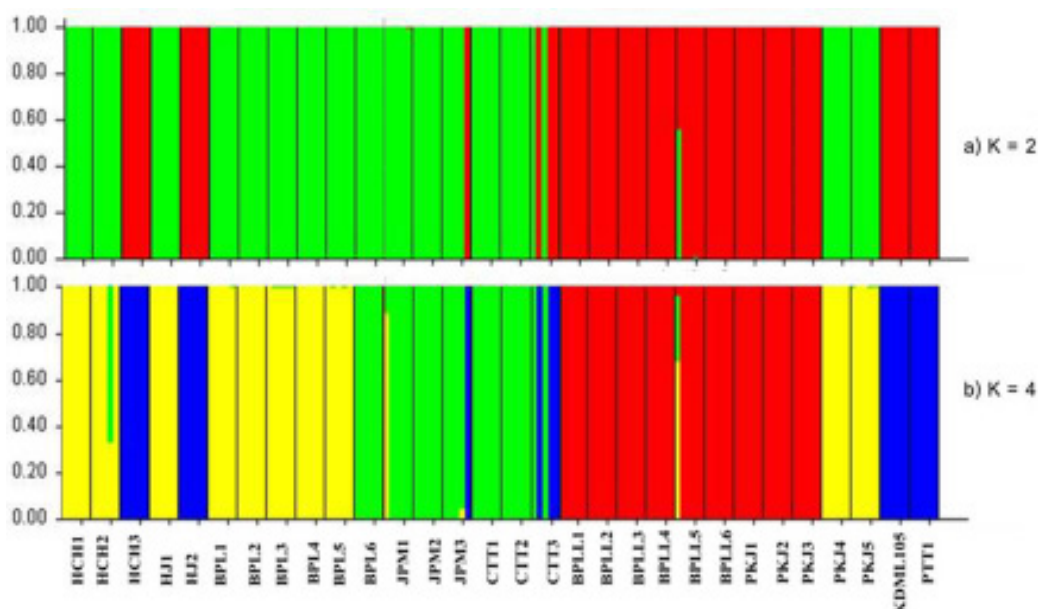


Figure 3 Population assignment using STRUCTURE analysis of 28 highland rice landraces and 2 elite rice varieties based on 11 microsatellite loci with (a) K= 2 clusters, red is Indica and green is Tropical japonica and (b) K= 4 clusters, blue is Indica and elite rice variety, red is Indica at >1,000 MASL, yellow is Tropical japonica at <1,000 MASL, green is Tropical japonica at >1,000 MASL. Each bar represents a population, individual vertical lines within the bar represent the 5 individuals sampled from that population.

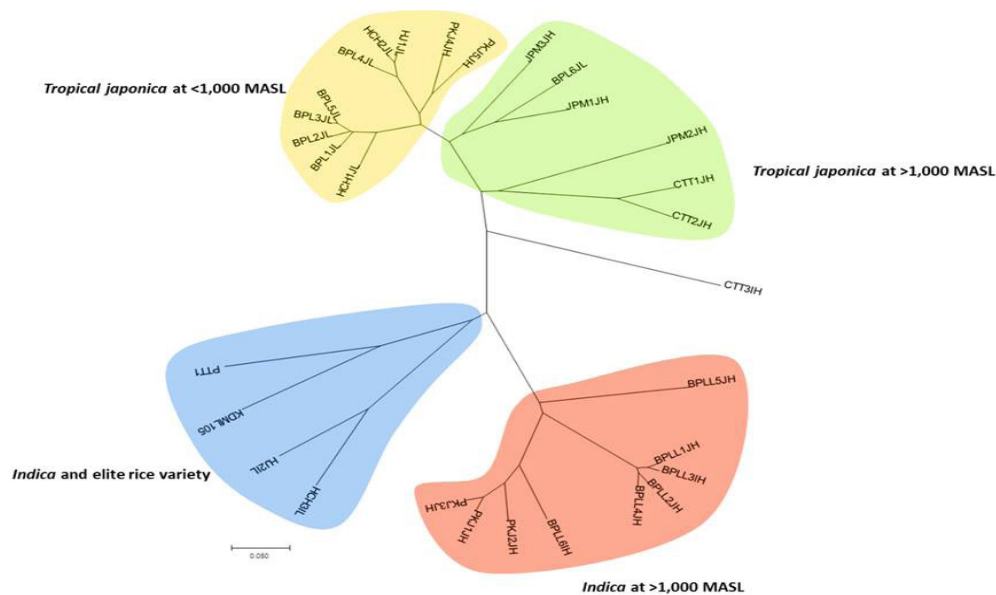


Figure 4 Cluster analysis using Nei's genetic distance (1983) of highland rice landraces and 2 elite rice varieties based on 11 SSR loci. Different color represent different inferred clusters based on STRUCTURE's result at K=4.

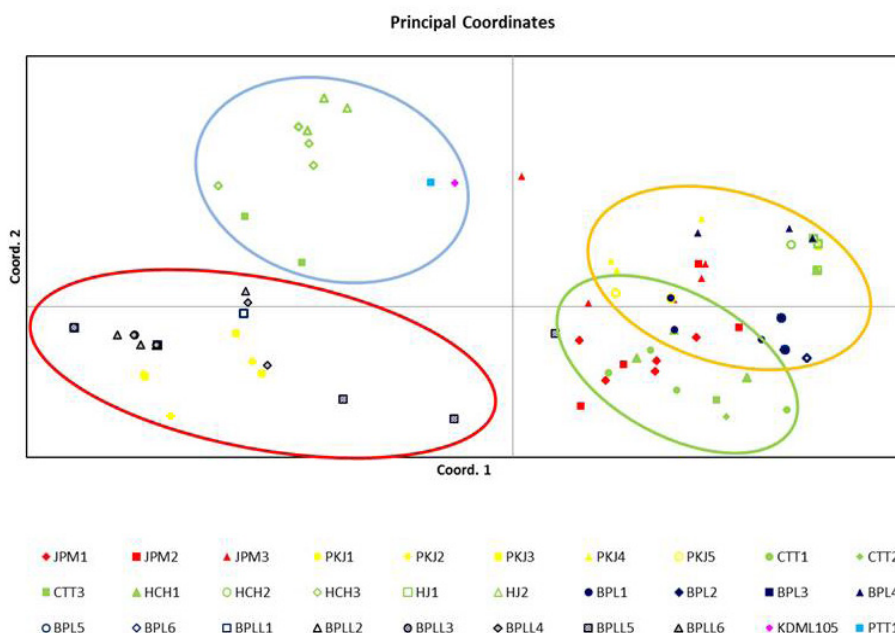


Figure 5 Principal Coordinate Analysis (PCA) of 28 highland rice landraces populations and 2 elite rice varieties. Different circle color represent different inferred clusters based on STRUCTURE's result at K=4.

## สรุป

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทั้งลักษณะสัณฐานและทางพันธุกรรม รวมไปถึงโครงสร้างของประชากรข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่สูงจากกลุ่มชาติพันธุ์ในภาคเหนือของประเทศไทย ซึ่งเป็นผลมาจากการที่เกษตรกรหรือกลุ่มชาติพันธุ์ที่ทำเกษตรแบบวิถีดั้งเดิม แลกเปลี่ยนเมล็ดพันธุ์และใช้ประโยชน์ เช่น ประเพณี ความเชื่อ วัฒนธรรม และอาหารสัตว์ เป็นต้น ถึงแม้ข้าวพื้นเมืองที่สูงจะมีผลผลิตที่ต่ำกว่าและถูกแทนที่ด้วยข้าวพันธุ์สมัยใหม่ แต่ข้าวพันธุ์ปรับปรุงไม่สามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ดีบนพื้นที่สูง ดังนั้นข้าวพื้นเมืองที่สามารถปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมที่เฉพาะเจาะจง จึงเหมาะสมต่อการเป็นแหล่งทรัพยากรและแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญควรค่าแก่การอนุรักษ์เพื่อนำมาใช้ประโยชน์และปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเกษตรกรในพื้นที่ภาคเหนือที่อนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ในการศึกษา ขอขอบคุณงบประมาณในการวิจัย จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (TRG5780091) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## เอกสารอ้างอิง

อัศวพงศ์ อนุพันธ์พงศ์. 2550. บ้านเรือนชาวเขากะเหรี่ยงปกากะญอ : ความยั่งยืนและการปรับตัว ภายใต้สิ่งแวดล้อมไร่หมุนเวียน. คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

- Bardenas, E. A., and T. T. Chang, 1965. Morphology and Varietal Characteristics of the Rice Plant, The. Int. Rice Res. Inst.
- Bellon, M. R., J. L. Pham, and M. T. Jackson. 1997. Genetic conservation: A role for rice farmers. In N. Maxted, B.V. Ford-Lloyd and J.G. Hawkes (eds.), Plant Conservation: The In Situ Approach. London: Chapman and Hall.
- Boonsit, P., P. Pongpiachan, S. Julsrigival, and D. Karladee. 2010. Gamma oryzanol content in glutinous purple rice landrace varieties. CMUJ. Nat. Sci. 9, 151-157.
- Choudhury, B., M. L. Khan. and S. Dayanandan. 2013. Genetic structure and diversity of indigenous rice (*Oryza sativa*) varieties in the Eastern Himalayan region of Northeast India. SpringerPlus, 2, 228.
- Cruz, N. D., and G. S. Khush, 2000. Rice grain quality evaluation procedures. Aromatic rices, 3, 15-28.
- Daiponmak, W., P. Theerakulpisut, P. Thanonkao, A. Vanavichit, and P. Prathepha. 2010. Changes of anthocyanin cyanidin-3-glucoside content and antioxidant activity in Thai rice varieties under salinity stress. Sci. Asia. 36:286-291.
- Doyle, J.J., and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation Procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Focus 12: 13-15.
- Earl, D. A. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conserv Genet Resour. . 4, 359-361.
- Frankel, O.H., A.D.H. Brownand. and J.J. Burdon. 1995. The Conservation of Plant Biodiversity, Cambridge: Cambridge University Press, 299.
- Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversity and fixation indices (version 2.9. 3). <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
- Huang, X., N. Kurata. Z. X. Wang. A. Wang. Q. Zhao. Y. Zhao. and Y. Lu. 2012. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. Nature, 490(7421), 497.
- IRRI. 2013. Standard Evaluation System for Rice (SES). International Rice Research Institute, Manila, Philippines
- Jamjod, S., N.Yimyam, S. Lordkaew, C. Prom-u-thai, and B. Rerkasem. 2017. Characterization of On-farm Rice Germplasm in an Area of the Crop's Center of Diversity. CMUJ. Nat. Sci. 16, 85-98.
- Juliano, B.O. 2007. Rice chemistry and quality. Philippines: Philrice. p. 402.
- Liu, K., and S. V. Muse. 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics, 21, 2128-2129.
- Lu, B.R., X. Cai. and J. Xin. 2009. Efficient indica and japonica rice identification based on the InDel molecular method: its implication in rice breeding and evolutionary research. Progress in

- Natural Science, 19(10), pp.1241-1252.
- Maclean, J., B. Hardy, and G. Hettel. 2013. Rice Almanac : Source Book for One of the Most Important Economic Activities on Earth. IRRI. Los Baños, Philippines.
- Mulumba, J.W., R. Nankya, J.Adokorach, C. Kiwuka, C. Fadda, P. De Santis, and, D.I. Jarvis. 2012. A risk-minimizing argument for traditional crop varietal diversity use to reduce pest and disease damage in agricultural ecosystems of Uganda. Agriculture, Ecosystems and Environment 157: 70-86.
- Okoshi, M., K. Matsuno, K. Okuno, M. Ogawa, T. Itani, and T. Fujimura. 2015. Genetic diversity in Japanese aromatic rice (*Oryza sativa* L.) as revealed by nuclear and organelle DNA markers. Genet. Resour. Crop Evol. 63: 199-208.
- Peakall, R. O. D., and P. E. Smouse. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Resources, 6, 288-295.
- Pintasen, S., S. Jamjod, N. Yimyam, and B. Rerkasem, 2007. Variation of grain iron content in a local upland rice germplasm from the village of Huai Tee Cha in northern Thailand. Euphytica, 158(1-2), 27-34.
- Prathepha, P., and K. Srisa-ard. 2014. Application of InDel markers for subspecies indica-japonica rice classification in Thai rice germplasm. Genomics and Genetics, 7, 87-96.
- Pritchard, J.K., M. Stephens, and P. Donnelly 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics. 155: 945-959.
- Pusadee, T., S. Jamjod, Y.C. Chiang, B. Rerkasem, and B.A. Schaal. 2009. Genetic structure and isolation by distance in a landrace of Thai rice. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106: 13880-13885.
- Pusadee, T., P. Oupkaew, B. Rerkasem, S. Jamjod, and B.A. Schaal. 2014. Natural and human-mediated Selection in a landrace of Thai rice (*Oryza sativa*). Annals of Applied Biology. 165: 280-292.
- Schiller, J. M. 2006. Rice in Laos. Int. Rice Res. Inst..
- Shannon, C.E., and W. Weaver. 1949. The Mathematical Theory of Communication. [SI]. Urbana.
- Shrestha, R. P., N. Chaweewan. and S. Arunyawat. 2017. Adaptation to Climate Change by Rural Ethnic Communities of Northern Thailand. Climate, 5, 57.
- Wang, Y., Y. Wang, X. Sun, Z. Caiji, J. Yang, D. Cui, and L. Han. 2016. Influence of ethnic traditional cultures on genetic diversity of rice landraces under on-farm conservation in southwest China. J Ethnobiol Ethnomed. 12: 51.
- Xiong, Z., S. Zhang. Y. Wang. B.V. Ford-Lloyd. M. Tu. X. Jin. Y. Wu. H. Yan. X. Yang. P. Liu. B.R. Lu. 2010. Differentiation and distribution of indica and japonica rice

varieties along the altitude gradients in Yunnan province of China as revealed by InDel molecular markers. Genet. Resour. Crop Evol. 57: 891–902.