

การประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดและปริมาณ สารประกอบไขมันของข้าวโดยใช้การวิเคราะห์หลายตัวแปร Evaluation of Rice Grain Morphological Characteristics and Lipid Compounds Using Multivariate Classification Techniques

กษิติศ พร้อมเพรา และพรชัย หาระโคตร*

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

พลัง สุริหาร

สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

Yaowapha Jirakiattikul*, Jermaroon Autaijamsripon and Panumart Rithichai

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology,

Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Bhalang Suriharn

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University,

Nai-Muang, Muang, Khon Kaen 40002

บทคัดย่อ

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวมีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด แอลฟาโทโคฟีรอล และแกมมาโอโรซานอลในเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 81 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ กข. 6 ด้วยวิธีวิเคราะห์หลายตัวแปร (multivariate analysis) ประกอบด้วยการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ การวิเคราะห์ส่วนประกอบหลัก และการวิเคราะห์แบ่งกลุ่ม ผลจากการศึกษาพบว่าทุกลักษณะที่ศึกษามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงสำหรับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด (7.72-30.99 %) แอลฟาโทโคฟีรอล (49.82 %) และแกมมาโอโรซานอล (23.39 %) นอกจากนี้การวิเคราะห์ส่วนประกอบหลักและการวิเคราะห์แบ่งกลุ่มของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดให้ผลสอดคล้องกันและสามารถจัดกลุ่มเป็น 9 กลุ่ม ขณะที่การวิเคราะห์แบ่งกลุ่มของปริมาณแกมมาโอโร

ชานอลและสารแอลฟาโทโคฟีรอลสามารถจัดกลุ่มเป็น 9 กลุ่ม โดยกลุ่มที่มีปริมาณสารประกอบไขมันดังกล่าวสูงสุด 14 สายพันธุ์ คือ สันป่าตอง นางบุญมา สาวอุดร ปลาแซ่ เจ้าปทุมมา เหยี่ยวทอง เหลืองบุญมา ฮ้าว หอมสังข์ทอง หอม อีต่า ข้าวช่อราตรี LG2751 และหอมทุ่ง 1 ผลจากการศึกษาครั้งนี้เป็นประโยชน์สำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ในการนำไปคัดเลือกเชื้อพันธุ์กรรมข้าวเพื่อการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้มีสารประกอบไขมันที่มีฤทธิ์ทางเภสัชสูงในอนาคต

คำสำคัญ : สารสเตอรอลในพืช; การวิเคราะห์แบ่งกลุ่ม; การวิเคราะห์ส่วนประกอบหลัก; ความแปรปรวนทางพันธุกรรม; *Oryza sativa*

Abstract

Genetic diversity of rice is important for rice breeding strategies. The objective of this study was to evaluate rice grain morphological characteristics, α -tocopherol, γ -oryzanol in 81 rice germplasms compared with KDML105 and RD6, by using multivariate analysis including statistical analysis, principal component analysis, and cluster analysis. The results indicated that rice germplasms were significantly different for all traits. A large variation among genotypes was found for rice grain morphological characteristics (7.72-30.99 %), α -tocopherol (49.82 %) and γ -ryzanol (23.3 9%). In addition, the principal component bi-plot and clustering analysis based on rice grain characteristics were clustered rice germplasms into 9 groups. According to clustering analysis based on lipid compounds contents, 83 rice germplasm were distinguished to 9 groups. The highest α -tocopherol and γ -oryzanol contents group comprised 14 genotypes including Sun-Pa-Thong, Nang-Boon- Ma, Khao-Saw- U- Don, Pah- Kheng, Chao- Pa- Thum- Ma, Rean- Thong, Luang- Boon- Ma, Khao- Haw, Hom- Saeng- Thong, Khao- Hom, E- Daeng, Khao- Chao- Ra- Tree, LG2751 and Hom- Thung 1. As the result, this study can be useful for the rice germplasm selection and breeding of rice varieties with high nutraceutical lipid compounds in the future.

Keywords: plant sterol; cluster analysis; principal component analysis; genetic variability; *Oryza sativa*

1. บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นแหล่งอาหารที่ให้พลังงานแก่ร่างกายและคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งภายในทวีปเอเชียที่มีการบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก [1,2] สำหรับประเทศไทยข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สร้างรายได้ให้กับประเทศมูลค่าหลายแสน

ล้านบาทต่อปี อย่างไรก็ตาม สถานการณ์การส่งออกข้าวของไทยมีแนวโน้มลดลง โดยยังเป็นผู้ส่งออกข้าวอันดับที่ 2 รองจากประเทศอินเดีย นอกจากนี้ ความสามารถในการแข่งขันของประเทศไทยต่อคู่แข่งมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกัน [3] ดังนั้นประเทศไทยควรตระหนักถึงผลกระทบจากปัญหาดังกล่าว โดยทุกภาค

ส่วนที่เกี่ยวข้องต้องร่วมมือพัฒนาและปรับปรุงตลอดห่วงโซ่อุตสาหกรรมข้าวไทยให้สอดคล้องกับตลาดค้าข้าวที่เปลี่ยนไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพัฒนาและปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวซึ่งเป็นต้นน้ำของกระบวนการผลิต เพื่อให้ได้สายพันธุ์ข้าวที่มีศักยภาพในการแข่งขันกับประเทศอื่น ๆ

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้แบ่งข้าวในประเทศไทยเป็น 2 ประเภท [4] คือ (1) พันธุ์ข้าวพื้นเมือง (local variety) เป็นข้าวที่มีเฉพาะในแต่ละท้องถิ่น ข้าวพื้นเมืองทนต่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงอย่างมาก [5] และ (2) พันธุ์ข้าวเชิงพาณิชย์ (commercial variety) เป็นข้าวพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกให้ผลผลิตสูงส่งผลให้เกษตรกรหันมานิยมปลูกข้าวที่เป็นพันธุ์เชิงพาณิชย์มากกว่าพันธุ์ข้าวพื้นเมือง นอกจากนี้พันธุ์ข้าวพื้นเมืองแต่ละชนิดจะมีลักษณะเด่นที่ต่างกันไป และมีการปรับตัวให้สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมดี เนื่องจากพันธุ์ข้าวพื้นเมืองมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง [6] ดังนั้นเชื้อพันธุ์กรรมข้าวพื้นเมืองจึงมีความสำคัญ โดยเป็นแหล่งพันธุกรรมสำคัญในการปรับปรุงข้าวสายพันธุ์ใหม่ เช่น การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโภชนาการสูง [5]

การพิจารณาสายพันธุ์ของข้าวพื้นเมืองในการเลือกคู่ผสมมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์จำเป็นต้องใช้ข้อมูลองค์ประกอบต่าง ๆ ซึ่งมีความซับซ้อน การวิเคราะห์หลายตัวแปร (multivariate analysis) เป็นวิธีการทางสถิติที่นำมาประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกคู่ผสมที่มีลักษณะตามที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ต้องการ นอกจากนี้การวิเคราะห์ดังกล่าวยังมีความสำคัญในการส่งเสริมและเป็นข้อมูลในการตัดสินใจเลือกพันธุ์ที่ต้องการของเกษตรกร [7] ซึ่งส่วนใหญ่ใช้การวิเคราะห์แบ่งกลุ่ม (cluster analysis) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการจัดกลุ่มสายพันธุ์ที่ไม่ทราบว่าจะจัดหรือแบ่งเป็นกี่กลุ่ม เป็นวิธี

ทั่วไปที่ใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยพิจารณาจากความคล้าย (similarity) หรือความต่าง (dissimilarity) หรือระยะทาง (distance) ถ้ามีความคล้ายกันมากจะจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ส่วนที่มีความต่างกันมากจะจัดให้อยู่คนละกลุ่ม สามารถพิจารณาจากแผนภาพ dendrogram ด้วยวิธีเชิงลำดับชั้น (hierarchical method) ซึ่งทำให้ง่ายต่อการวิเคราะห์ข้อมูล เหมาะกับการเลือกเชื้อพันธุ์กรรมในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ [8,9] นอกจากนี้วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis) เป็นการสร้างตัวแปรใหม่ให้อยู่ในรูปของส่วนประกอบหลัก (principal component) โดยรวมตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันเข้าเป็นตัวแปรใหม่ แต่ยังคงความแปรปรวนรวมของตัวแปรเดิม โดยสามารถประยุกต์ใช้แผนภาพคะแนน (score plot) ในการจัดกลุ่ม [8] โดยมีการประยุกต์เทคนิคดังกล่าวในงานปรับปรุงพันธุ์ เช่น Madee และคณะ ศึกษาการใช้การวิเคราะห์จัดกลุ่มหลายตัวแปรของความทนเค็มและทนแล้งสำหรับพันธุ์ข้าวสีพื้นเมืองช่วงระยะต้นกล้า 40 พันธุ์ ด้วยโปรแกรม PC-ORD version 4 (MjM software Design, USA) ในการจัดกลุ่มพันธุ์ สามารถแบ่งเป็น 5 กลุ่ม นอกจากนี้การวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย one-way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยการวิเคราะห์ Duncan's multiple range test (DMRT) กำหนดระดับนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ และคำนวณค่า Pseudo-F (pF) ในแต่ละลักษณะเพื่อประเมินประสิทธิภาพการจัดกลุ่ม ซึ่งข้อมูลเหล่านี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวพื้นเมืองให้ทนต่อสภาวะความเครียดด้านกายภาพต่าง ๆ ต่อไป [10]

Phodjanawichaikul ศึกษาส่วนประกอบของแร่ธาตุโดยใช้การวิเคราะห์แบบแบ่งกลุ่มและการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักในข้าวกล้องจากข้าว

พื้นเมืองและข้าวเชิงพาณิชย์ สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม โดยพบว่าข้าวกล้างจากข้าวพื้นเมืองมีปริมาณส่วนประกอบแร่ธาตุส่วนใหญ่สูงกว่าพันธุ์ข้าวเชิงพาณิชย์ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้เป็นประโยชน์สำหรับการวางแผนพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวในอนาคต [8] โดยต้องทราบและคำนึงถึงคุณลักษณะและคุณภาพของข้าวแต่ละสายพันธุ์ อย่างไรก็ตาม การศึกษาดังกล่าวยังไม่ครอบคลุมถึงพันธุ์ข้าวพื้นเมืองของไทยอีกจำนวนมาก ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด ปริมาณแกลบมาออโรซานอล และแอลฟาโทโคฟีรอลในเชื้อพันธุ์กรรมข้าวด้วยวิธีวิเคราะห์หลายตัวแปร ซึ่งเป็นแนวทางสำหรับการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวไทยให้มีประโยชน์สำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ในการนำไปคัดเลือกคู่ผสมเพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD, complete randomized design) โดยคัดเลือกเชื้อพันธุ์กรรมข้าวที่มีลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตดีจากการปลูกประเมินในฤดูทำนาปี พ.ศ. 2559 ณ แปลงทดลองของสาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต รวมทั้งหมด 83 สายพันธุ์ ประกอบด้วยเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 81 สายพันธุ์ ได้แก่ (1) ทับทิมชุมแพ (2) หอมธรรมศาสตร์ (3) หอมคำสุตะบุตร (4) หอมเวสสันตะระ (5) มะลิโกเมน (6) หอมสกล (7) หอมใบเตย (8) สันป่าตอง (9) เจริญทอง (10) หอมทวี (11) แจ็กเชย (12) ข้าวเตี้ย (13) ฟ้ามืด (14) นางหก (15) ปลาซัง (16) ปทุมมา (17) มะลิดำ 1 (18) มะลิดำ 2 (19) เจ้าแดงดอ (20) มะลิตั้งเดิม (21) ข้าวฮั่ว (22) เกษตรดอ (23) มะยม (24) หอม (25) กระดุกู (26) อีปู้ (27) ดอขาว

(28) ขาวน้อย (29) ช่อราตรี (30) พม่าหอม (31) เจริญทอง (32) รากไผ่ (33) นางนวล (34) อีต่าง (35) มะยม (36) หอมทุ่ง 1 (37) เหลืองบุญมา (38) กาบยาง 1 (39) กาบหมาก (40) นางบุญมา (41) หมากแขก (42) เล็บม้า (43) ตับเมย (44) อิฐขาว 1 (45) ตับเหมยขาว (46) เขียวใบโพธิ์ (47) ทวีตน์ (48) เหนียวดำ (49) LG175 (50) LG5048 (51) แดงเมืองเลย (52) LG2751 (53) LG13552 (54) สาวอุดร (55) หอมสังข์ทอง (56) พม่าลาย (57) กาบยาว (58) ดวงจันทร์ (59) กำเปือกขาว 1 (60) หอมสกล (61) หน่วยเชื้อ (62) ไก่น้อย (63) กุหลาบแดง (64) มะลิแดง (65) โสมาลี (66) เล้าแตก (67) หอมพันทอง (68) มันเปิด (69) กะทิ (70) อีดำอีต่าง (71) ข้าวเหนียวแดง (72) สังข์หยด (73) กำเปือกขาว 2 (74) กำภูเขียว (75) กำกัลยา (76) ลิ้มผัว (77) หอมนิล (78) พญาทองดำ (79) ไรซ์เบอร์รี่ (80) หอมนางฟ้า และ (81) ดอนางฮี ซึ่งเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์มาตรฐาน 2 พันธุ์ คือ กข. 6 และขาวดอกมะลิ 105 โดยสุ่มตัวอย่างจากข้าวที่เก็บในอุณหภูมิ 25 °C และความชื้น 7 % เพื่อนำมาประเมินลักษณะต่าง ๆ ต่อไป

2.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้าง

วัดความหนา ความกว้าง และความยาวของเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้างสายพันธุ์ละ 10 เมล็ด 3 ซ้ำ เพื่อประเมินรูปร่างเมล็ดจากสัดส่วนความยาวต่อความกว้างเมล็ดข้าวเปลือก และเปรียบเทียบกับค่าในตารางมาตรฐานของ International Rice Research Institute (IRRI) [11] และหาความหนาของเปลือกข้าว (ความหนาของเมล็ดข้าวเปลือก-ความหนาของเมล็ดข้าวกล้าง) โดยสุ่มเมล็ดพันธุ์ละ 100 เมล็ด 3 ซ้ำ เพื่อชั่งและบันทึกน้ำหนัก 100 เมล็ด ของเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้าง แล้วหาน้ำหนักของเปลือก (น้ำหนักของข้าวเปลือก-น้ำหนักของข้าวกล้าง)

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารแกมมาออโรซานอลและแอลฟาโทโคฟีรอล

ใช้วิธีของ Butsat และ Siriamornpun โดยนำตัวอย่างข้าวกล้อง 1.0 g เติมน้ำมัน 5 mL บดผาและเขย่าด้วยเครื่องเขย่า เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 2,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำของเหลวเหนือตะกอน (supernatant) ไปวิเคราะห์ด้วย high performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้ปริมาณตัวอย่าง 1 μ L ผ่านคอลัมน์ Inertsil ODS (4.6 x 250 mm, 5 μ m) ใช้สภาวะของ HPLC เป็น isocratic ซึ่งมีเฟสเคลื่อนที่ เป็น acetonitrile/methanol (20 : 80 v/v) อัตราการเคลื่อนที่ 1.5 mL/min เป็นเวลา 30 min และใช้ photodiode-array detector ที่ 292 และ 325 nm สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแกมมาออโรซานอลและแอลฟาโทโคฟีรอลตามลำดับ คำนวณหาปริมาณสารดังกล่าวโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานและแสดงผลในหน่วย μ g/100 g of DW [12]

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของลักษณะที่ศึกษาและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี least-significant different (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรม Statistix 9.0 (Statistix, USA) วิเคราะห์แบ่งกลุ่มด้วยวิธี Ward's hierarchical clustering และวิเคราะห์องค์ประกอบหลักของลักษณะที่ศึกษา (ยกเว้นรูปร่างเมล็ดและพารามิเตอร์สี) ด้วยโปรแกรม JMP trial version 14 (SAS, USA)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ความแปรปรวนของลักษณะทางสัณฐานวิทยา ปริมาณแกมมาออโรซานอล และแอลฟาโทโคฟีรอลในเชื้อพันธุ์กรรมข้าว

การประเมินความแปรปรวนของของลักษณะทางสัณฐานวิทยา ปริมาณแกมมาออโรซานอลและแอลฟาโทโคฟีรอลในเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 83 สายพันธุ์ พบว่าทุกลักษณะที่ศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) โดยลักษณะที่ศึกษามีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน 7.72-49.82 % โดยปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลมีความแปรปรวนสูงสุด (49.82 %) รองลงมา คือ น้ำหนักเปลือก แกมมาออโรซานอล และน้ำหนักข้าวเปลือก (30.90, 23.39 และ 18.60 % ตามลำดับ) ขณะที่ความหนาข้าวเปลือกและข้าวกล้องมีความแปรปรวนต่ำสุด (7.72 และ 7.44 % ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด ปริมาณแกมมาออโรซานอลและแอลฟาโทโคฟีรอลสามารถใช้บ่งชี้ความหลากหลายของเชื้อพันธุ์กรรมข้าวได้ในระดับหนึ่ง ซึ่งความแปรปรวนของเชื้อพันธุ์กรรมข้าวดังกล่าวนี้บ่งชี้ว่าเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานปรับปรุงพันธุ์ข้าวเนื่องจากความสำเร็จของการปรับปรุงพันธุ์ข้าวขึ้นอยู่กับความแปรปรวนทางพันธุกรรมหรือความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic variability) ในลักษณะที่เราสนใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลและแกมมาออโรซานอล ซึ่งมีค่า 78-1,678 และ 7,477-24,613 μ g/100 g of DW ตามลำดับ ซึ่งสารประกอบไขมันทั้งสองมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ [13] สามารถยับยั้งและป้องกันโรคหลอดเลือดและหัวใจ โดยการเพิ่มปริมาณของไขมันที่เป็นประโยชน์ [14] เป็นต้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Joralee และคณะ ที่พบว่าปริมาณแกมมาออโรซานอลในข้าวเหนียวดำมีความแปรปรวนสูง (14,600-29,400 μ g/100 g of DW) [15]

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้องที่ศึกษารังนี้มีความแปรปรวนระดับปานกลางถึงสูง ยกเว้นลักษณะความ

หนาของข้าวเปลือกและข้าวกล้อง ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพันธุ์กรรมข้าวจะผันแปรไปตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง การปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในแต่ละท้องถิ่น การผสมข้ามระหว่างประชากร รวมถึงการคัดเลือกของเกษตรกรจึงทำให้พันธุ์พื้นเมืองมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ต่างกัน [16] จึงจำเป็นต้องมีการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการยืนยันความแตกต่างของสายพันธุ์ข้าวในการศึกษาครั้งต่อไป [17] นอกจากนี้รูปร่างของเมล็ดข้าวเปลือกในเชื้อพันธุ์กรรมข้าวทั้ง 83 สายพันธุ์ สามารถจำแนกเป็น 3 รูปร่าง คือ เชื้อพันธุ์กรรมข้าวส่วนใหญ่มีรูปร่างเรียวยาว

(47 สายพันธุ์) รองลงมา คือ รูปร่างป้อม (26 สายพันธุ์) และรูปร่างเรียวยาว (10 สายพันธุ์) ขณะที่รูปร่างข้าวกล้องสามารถจำแนกเป็น 3 รูปร่าง เช่นเดียวกัน โดยเชื้อพันธุ์กรรมข้าวส่วนใหญ่มีรูปร่างเรียวยาวและเรียวยาว (40 และ 39 สายพันธุ์ ตามลำดับ) และมีรูปร่างป้อมน้อยสุด (4 สายพันธุ์) สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาซึ่งพบว่าเชื้อพันธุ์กรรมข้าวของไทยมีความหลากหลายในรูปร่างเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้อง โดยสามารถนำลักษณะดังกล่าวมาประเมินความหลากหลายทางพันธุ์กรรม [18]

Table 1 Ranges of variation in rice grain characteristics, α -tocopherol and γ -oryzanol of 83 rice germplasms.

Characteristics	Mean $\pm$ SE	Min	Max	% CV	F-value
Grain characteristics					
PRW	2.61 $\pm$ 0.49	1.27	3.86	18.60	104.0**
BRW	2.07 $\pm$ 0.38	1.01	3.04	18.24	117.0**
PRT	1.92 $\pm$ 0.15	1.56	2.29	7.72	13.3**
BRT	1.74 $\pm$ 0.13	1.45	2.09	7.44	16.8**
PRWi	2.89 $\pm$ 0.40	2.10	3.76	13.80	20.0**
BRWi	2.32 $\pm$ 0.32	1.70	3.04	13.82	99.3**
PRL	9.69 $\pm$ 0.97	5.77	11.41	10.01	49.3**
BRL	6.85 $\pm$ 0.81	3.90	9.56	11.81	52.0**
HW	0.54 $\pm$ 0.17	0.22	0.99	30.90	15.9**
HT	0.19 $\pm$ 0.03	0.15	0.29	13.73	2.25**
Lipid compounds (μ g/100 g of DW)					
α -tocopherol	920 $\pm$ 458	78	1,673	49.82	48.1**
γ -oryzanol	16,501 $\pm$ 3,860	7,477	24,613	23.39	39.0**

** indicates significance at 1 % level of probability; PRW = paddy rice weight (g); BRW = brown rice weight (g); PRT = paddy rice thickness (mm); BRT = brown rice thickness (mm); PDWi = paddy rice width (mm); BRWi = brown rice width (mm); PRL = paddy rice length (mm); BRL = brown rice length (mm); HW = husk weight (g); HT = husk thickness (mm)

ความเข้าเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษาสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวมีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ การศึกษาพบว่าปริมาณแอลฟาโทโคเฟอร์รอลและแกมมาออไรซานอลไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้อง ยกเว้นแอลฟาโทโคเฟอร์รอลมีความสัมพันธ์เชิงลบกับน้ำหนักของเปลือกข้าวแสดงให้เห็นว่าลักษณะดังกล่าวสามารถใช้เป็นพารามิเตอร์สำหรับการคัดเลือกพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่ม

ปริมาณแอลฟาโทโคเฟอร์รอลโดยอ้อม (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่าขนาดและรูปร่างของข้าวไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ [19] ด้วยเหตุที่สารประกอบไขมันในข้าวส่วนใหญ่อยู่ในชั้นแอลิวโรน (17.5-21.7 %) [20] โดยเมล็ดข้าวขนาดใหญ่ส่งผลให้พื้นที่ผิวต่อน้ำหนักลดลง การลดลงของพื้นที่ผิวส่งผลให้สารประกอบไขมันในชั้นแอลิวโรนข้าวลดลงเช่นเดียวกัน

Table 2 Correlation coefficients between lipid compounds and rice grain morphological characteristics of 83 rice germplasms.

Morphological characteristics	α -Tocopherol	γ -Oryzanol
Paddy rice weight	0.089 ^{ns}	0.162 ^{ns}
Paddy rice length	0.090 ^{ns}	0.151 ^{ns}
Paddy rice thickness	0.061 ^{ns}	0.113 ^{ns}
Brown rice weight	-0.093 ^{ns}	-0.012 ^{ns}
Brown rice length	-0.141 ^{ns}	-0.119 ^{ns}
Brown rice thickness	0.071 ^{ns}	0.078 ^{ns}
Paddy rice width	-0.127 ^{ns}	-0.064 ^{ns}
Brown rice width	-0.019 ^{ns}	0.009 ^{ns}
Husk weight	-0.306*	-0.216 ^{ns}
Husk thickness	-0.074 ^{ns}	-0.034 ^{ns}

* = indicates significance at 5 % level of probability; ^{ns} = non-significant.

3.2 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อพันธุ์กรรมข้าวโดยการวิเคราะห์ส่วนประกอบหลักและการวิเคราะห์แก๊สกลุ่ม

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 81 สายพันธุ์ และพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐาน 2 พันธุ์ โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้อง พบว่าการวิเคราะห์

ส่วนประกอบหลัก โดยใช้ตัวแปรของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้อง 10 ลักษณะ สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อพันธุ์กรรมข้าวเป็น 9 กลุ่ม (กลุ่ม A-I) และส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก (รูปที่ 1A) ส่วนค่าเฉพาะ (eigenvalue) ของส่วนประกอบหลักที่ 1 ถึง 10 (PC1-PC10) มีค่ามากกว่า 1 หรือเข้าใกล้ 1 แต่ในงานวิจัยนี้

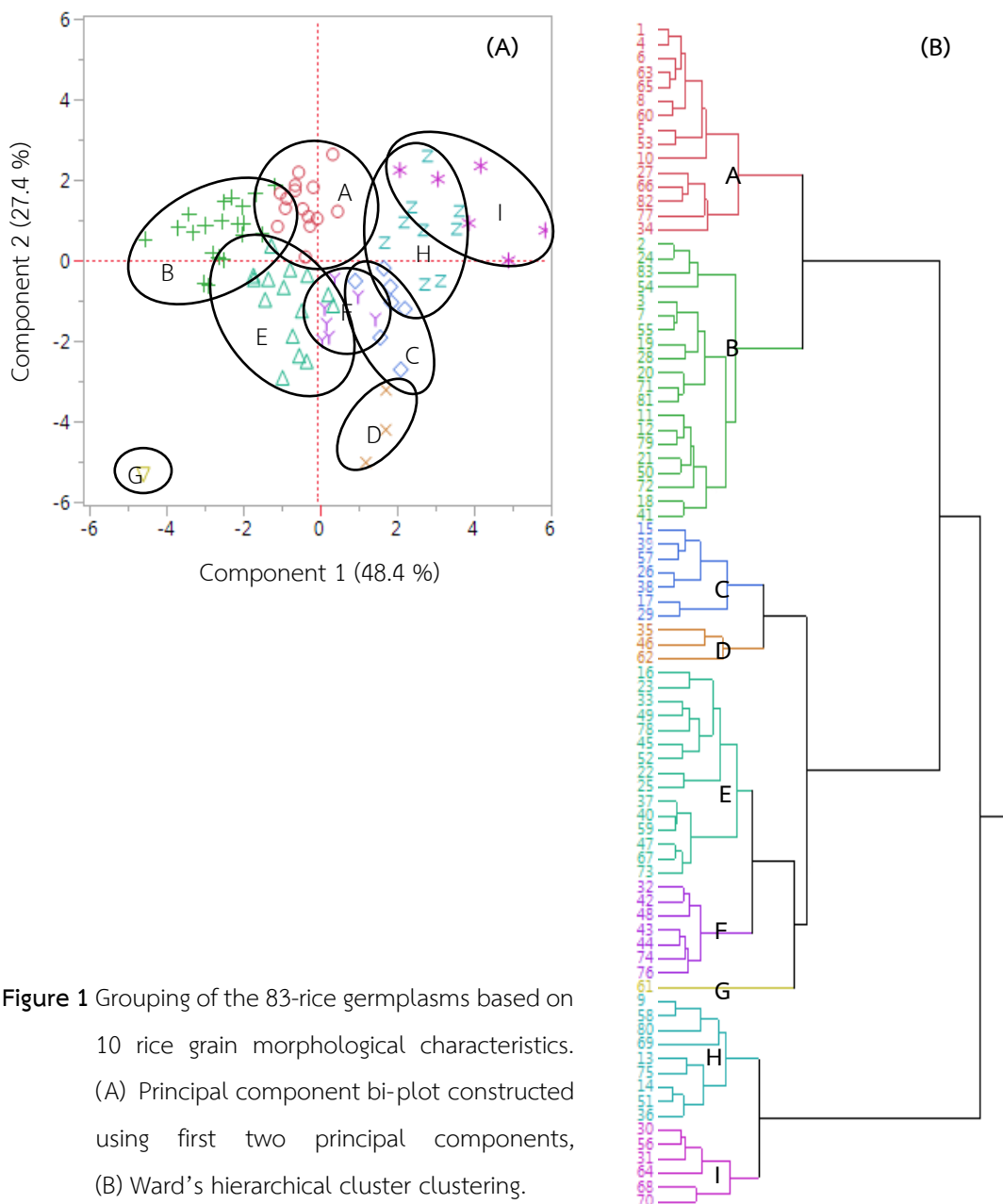


Figure 1 Grouping of the 83-rice germplasm based on 10 rice grain morphological characteristics. (A) Principal component bi-plot constructed using first two principal components, (B) Ward's hierarchical cluster clustering.

เลือกใช้ส่วนประกอบหลักที่ 1 ถึง 9 (PC1-PC9) เพื่อยืนยันว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถจำแนกกลุ่มความสัมพันธ์เป็น 9 กลุ่ม ซึ่งส่วนประกอบหลักทั้ง 9 ส่วนประกอบ อธิบายความแปรปรวนของข้อมูลได้ถึง 99.95 % ของความแปรปรวนทั้งหมด (ตารางที่ 3) เมื่อพิจารณาแผนภาพคะแนนส่วนประกอบหลัก พบว่า

กลุ่ม A, E และ F เกาะกลุ่มกันบริเวณกลางแผนภาพคะแนน แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวกลุ่มดังกล่าวมีความใกล้เคียงกัน ขณะที่กลุ่มอื่น ๆ มีการกระจายตัวออกจากบริเวณกลางแผนภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่ม G ที่มีการแยกออกมาอย่างเห็นได้ชัด แสดงให้เห็นว่าลักษณะทางสัณฐาน

วิทยาของเมล็ดของเชื้อพันธุ์กรรมข้าวมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เมื่อพิจารณาการวิเคราะห์แบ่งกลุ่มโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้องพบว่าสามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์เป็น 9 กลุ่ม เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ส่วนประกอบหลัก (รูปที่ 1B) กลุ่ม A มีเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 14 สายพันธุ์ กลุ่ม B มีเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 19 สายพันธุ์ กลุ่ม C มีเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 7 สายพันธุ์ กลุ่ม D

มีเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 3 สายพันธุ์ กลุ่ม E มีเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 15 สายพันธุ์ กลุ่ม F มีเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 7 สายพันธุ์ กลุ่ม G มีเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 1 สายพันธุ์ คือ พันธุ์หน่วยเชื้อมีรูปร่างเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้องป้อม กลุ่ม H มีเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 9 สายพันธุ์ และกลุ่ม I มีเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 6 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นเชื้อพันธุ์กรรมข้าวที่มีรูปร่างเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้องเรียวยาว รวมถึงมีน้ำหนัก 100 เมล็ดสูงด้วย

Table 3 Principal component analysis (PCA) for 83 rice germplasms based on rice grain morphological characteristics.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
Eigenvalue	4.84	2.74	0.86	0.75	0.34	0.25	0.12	0.06	0.03	0.01
Proportion	48.44	27.45	8.62	7.47	3.37	2.51	1.23	0.61	0.26	0.06
Cumulative (%)	48.44	75.89	84.51	91.98	95.35	97.85	99.08	99.68	99.95	100.00

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อพันธุ์กรรมข้าวโดยใช้ปริมาณแกมมาออโรซานอลและแอลฟาโทโคฟีรอลด้วยการวิเคราะห์แบ่งกลุ่ม (cluster analysis) สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อพันธุ์กรรมข้าวเป็น 9 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่ม A ประกอบด้วยข้าว 7 สายพันธุ์ โดยมีปริมาณแกมมาออโรซานอลต่ำและแอลฟาโทโคฟีรอลปานกลาง กลุ่ม B ประกอบด้วยข้าว 6 สายพันธุ์ โดยมีปริมาณสารประกอบไขมันทั้งสองต่ำ กลุ่ม C ประกอบด้วยข้าว 9 สายพันธุ์ โดยมีปริมาณแกมมาออโรซานอลค่อนข้างต่ำและแอลฟาโทโคฟีรอลต่ำ กลุ่ม D ประกอบด้วยข้าว 1 สายพันธุ์ โดยมีปริมาณแกมมาออโรซานอลค่อนข้างสูง แต่แอลฟาโทโคฟีรอลต่ำ กลุ่ม E ประกอบด้วยข้าว 9 สายพันธุ์ โดยมีปริมาณแกมมาออโรซานอลค่อนข้างสูงและแอลฟาโทโคฟีรอลสูง กลุ่ม F ประกอบด้วยข้าว 6 สายพันธุ์ โดยมีปริมาณแกมมาออโรซานอลค่อนข้างสูงและแอลฟาโทโคฟีรอลปานกลาง กลุ่ม G ประกอบด้วยข้าว 17 สาย

พันธุ์ โดยมีปริมาณแกมมาออโรซานอลปานกลางและแอลฟาโทโคฟีรอลค่อนข้างสูง กลุ่ม H ประกอบด้วยเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 12 สายพันธุ์ โดยมีปริมาณแกมมาออโรซานอลค่อนข้างต่ำและแอลฟาโทโคฟีรอลปานกลาง กลุ่ม I ประกอบด้วยข้าว 14 สายพันธุ์ โดยมีปริมาณแกมมาออโรซานอลสูงมากและแอลฟาโทโคฟีรอลค่อนข้างสูง (รูปที่ 2) แสดงให้เห็นว่าปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลและแกมมาออโรซานอลมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงและเป็นประโยชน์ต่องานปรับปรุงพันธุ์ โดยสามารถสร้างคู่ผสมจากสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารประกอบไขมันต่างกัน ซึ่งกลุ่ม I ประกอบด้วยพันธุ์สันป่าตอง นางบุญมา สาวอุดร ปลาแซ่ ปทุมมา เจริญทอง เหลืองบุญมา ฮั่ว หอมสังข์ทอง หอม อีต่าง ข้าวช่อราตรี LG2751 และหอมทุ่ง 1 (รูปที่ 3) มีปริมาณแกมมาออโรซานอลสูง (20,288-24,613 $\mu\text{g}/100 \text{ g of DW}$) และแอลฟาโทโคฟีรอลค่อนข้างสูง (1,053-1,673 $\mu\text{g}/100 \text{ g of DW}$) (ตาราง

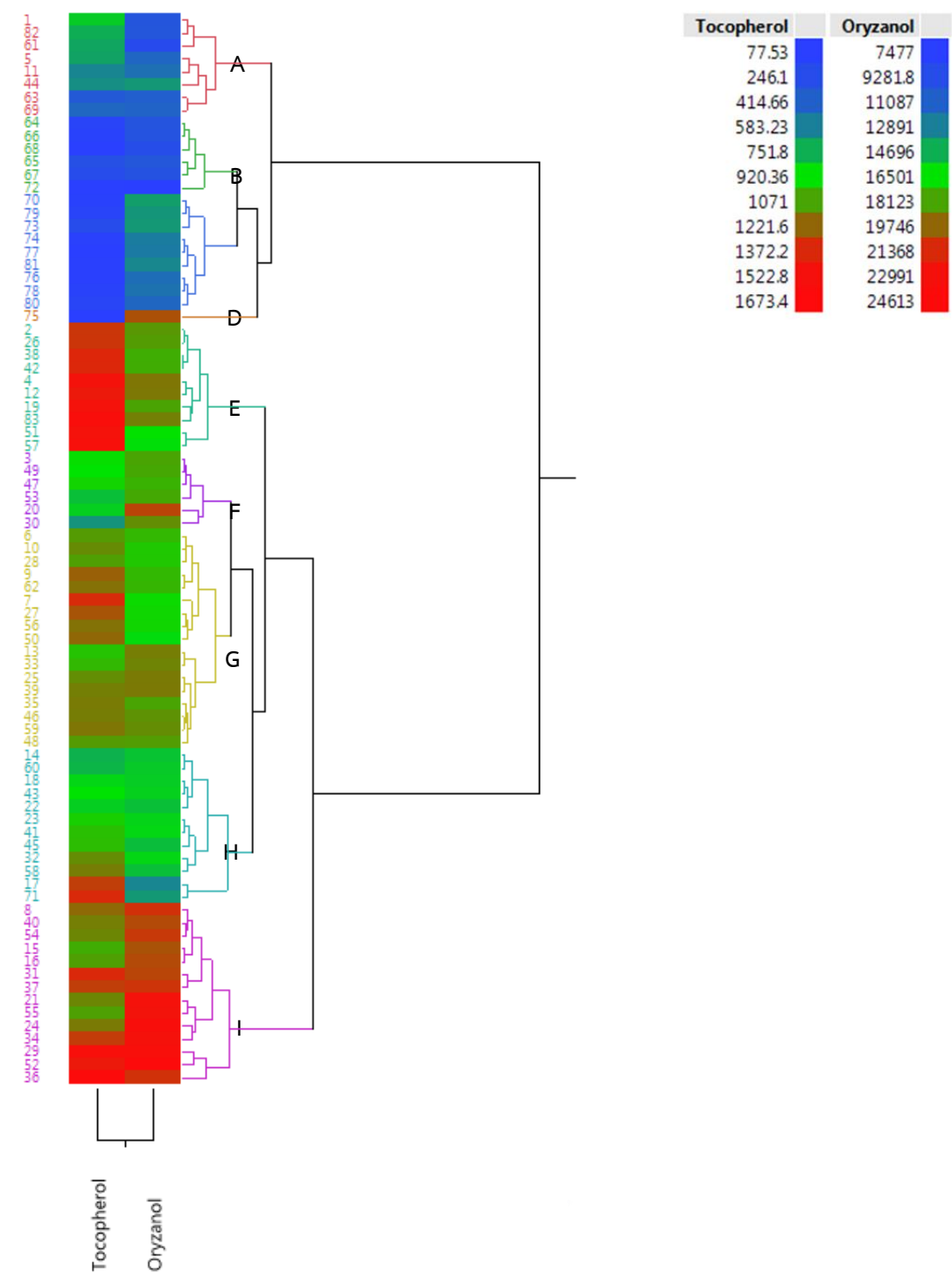


Figure 2 Dendrogram of genetic relationships among 83 genotypes. Two ways Ward's cluster analysis based on gamma-oryzanol and alpha-tocopherol contents. Nine main clusters (A to I) were formed.

ที่ 4) โดยข้าวเหล่านี้สามารถนำไปเป็นวัตถุดิบสำหรับอาหารเพื่อสุขภาพหรือโภชนเภสัชภัณฑ์ (nutraceutical) และใช้เป็นแหล่งพันธุ์กรรมสำหรับงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลและแกมมาโอไรซานอลในอนาคต นอกจากนี้ข้าวในกลุ่มดังกล่าวมีปริมาณแกมมาโอไรซานอลและแอลฟาโทโคฟีรอลสูงกว่าพันธุ์ กข. 6 ซึ่งเป็นพันธุ์เปรียบเทียบกับที่มีแอลฟาโทโคฟีรอลต่ำ (749 $\mu\text{g}/100 \text{ g of DW}$) ขณะที่ปริมาณสารประกอบไขมันทั้งสองใกล้เคียงกันกับพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Boonsit และคณะ ที่พบว่าข้าวสีม่วงพันธุ์พื้นเมือง

มีปริมาณแกมมาโอไรซานอลสูงกว่าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ กข. 6 [21] นอกจากนี้ Phodjanawichai kul พบว่าการวิเคราะห์แบ่งกลุ่มในข้าวกล้องจากพันธุ์ข้าวพื้นเมืองและพันธุ์ข้าวเชิงพาณิชย์ โดยใช้ปริมาณแร่ธาตุบางชนิด สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์เป็น 2 กลุ่ม นอกจากนี้พันธุ์ข้าวพื้นเมืองมีปริมาณแคลเซียม เหล็ก สังกะสี และวิตามินอี (แอลฟาโทโคฟีรอล) สูงกว่าพันธุ์ข้าวเชิงพาณิชย์ อย่างไรก็ตาม พันธุ์ข้าวเชิงพาณิชย์มีวิตามินอี (แกมมาโทโคฟีรอล) ที่สูงกว่า [8]

Table 4 List of top high performing genotypes for lipid compounds in rice germplasms.

Serial numbers	Genotypes	Lipid compounds ($\mu\text{g}/100 \text{ g of DW}$)	
		α -Tocopherol	γ -Oryzanol
8	Sun-Pa-Thong	1,216 $\pm$ 91	21,171 $\pm$ 545
40	Nang-Boon-Ma	1,163 $\pm$ 49	20,494 $\pm$ 921
54	Khao-Saw-U-Don	1,144 $\pm$ 58	20,943 $\pm$ 110
15	Pah-Kheng	1,053 $\pm$ 25	20,288 $\pm$ 127
16	Chao-Pa-Thum-Ma	1,085 $\pm$ 18	20,494 $\pm$ 1,869
31	Rean-Thong	1,373 $\pm$ 198	20,626 $\pm$ 824
37	Luang-Boon-Ma	1,319 $\pm$ 348	21,076 $\pm$ 140
21	Khao-Haw	1,144 $\pm$ 20	22,619 $\pm$ 1,202
55	Hom-Saeng-Thong	1,083 $\pm$ 104	22,135 $\pm$ 1,700
24	Khao-Hom	1,173 $\pm$ 81	23,581 $\pm$ 274
34	E-Daeng	1,325 $\pm$ 15	22,791 $\pm$ 1,980
29	Khao-Chao-Ra-Tree	1,566 $\pm$ 157	23,423 $\pm$ 147
52	LG 2751	1,409 $\pm$ 62	24,613 $\pm$ 379
36	Hom-Thung 1	1,673 $\pm$ 11	21,148 $\pm$ 1,279
Variety checks			
82	KDML105	1,589 $\pm$ 5	19,073 $\pm$ 2119
83	RD6	749 $\pm$ 67	10,444 $\pm$ 1,453



Figure 3 Variations in grain and kernel morphology of 14 rice germplasms, which were high of α -tocopherol and γ -oryzanol contents. The serial numbers of rice are given in Table 4 (The scale bar is 1 mm).

4. สรุป

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด แกมมาออไรซานอล และแอลฟาโทโคฟีรอลในเชื้อพันธุ์กรรมข้าว 83 สายพันธุ์ มีความแปรปรวน 7.44-49.82 % ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงสุด คือ น้ำหนักเปลือก (30.90 %) ขณะที่ปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลและแกมมาออไรซานอล คือ 49.82 และ 23.39 % ตามลำดับ เมื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดด้วยวิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักและการวิเคราะห์แบ่งกลุ่ม ให้ผลที่สอดคล้องกันและสามารถจำแนกเป็น 9 กลุ่ม นอกจากนี้การแบ่งกลุ่มโดยใช้ปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลและแกมมาออไรซานอลให้ผลการศึกษาเช่นเดียวกัน โดยกลุ่มที่มีปริมาณสารประกอบไขมันทั้งสองชนิดสูงสุดประกอบด้วยพันธุ์สันป่าตอง นางบุญมาสาวอุดร ปลาแซ่ก ปทุมมา เจริญทอง เหลืองบุญมา

ฮ้าว หอมสังข์ทอง หอม อีต่าง ข้าวช่อราตรี LG2751 และหอมทุ่ง 1 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์หลายตัวแปรช่วยให้นักปรับปรุงพันธุ์สามารถจัดกลุ่มพันธุ์และคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีตรงตามที่ต้องการไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ภายใต้ทุนสนับสนุนการวิจัย ประเภทวิจัยทั่วไป สำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (ทน 17/2561)

6. References

- [1] Liu, R.H., 2007, Whole grain phytochemicals and health, J. Cereal Sci. 46: 207-219.
- [2] Mira, N.V., Massaretto, I.L., Pascual C.S.

- and Marquez, U. M. , 2008, Comparative study of phenolic compounds in different Brazilian rice (*Oryza sativa* L.) genotypes, J. Food. Compost. Anal. 22: 405-409.
- [3] Thai Rice Exporters Association, Rice Production, Available Source: <http://www.thairiceexporters.or.th/production.htm>, December 20, 2018. (in Thai)
- [4] Thitiprasert, W., Jaichagun, M., Makrua, T., Thongjuaphet, P., Raksasin, S., Deeman, A. and Wuttiyano, C. , 2011, Rice Breeding Database: Rice Research Institute and the National Plant Protection Bureau Department of Agriculture, Agricultural Cooperative Assembly of Thailand Limited, Bangkok, 682 p. (in Thai)
- [5] Harlan, J.R., 1992, Crops and Man, 2nd Ed., American Society and Agronomy, Crop Science Society of America, Madison, WI., 284 p.
- [6] Oka, H.I., 1988, Origin of Cultivated Rice, Japan Scientific Societies Press, National Institute of Genetic, Misima, 254 p.
- [7] Khavari, K.S., Mostafavi K., Zandipour E. and Heidarian A. , 2011, Multivariate analysis of agronomic traits of new corn hybrids (*Zea may* L.), Int. J. Agri. Sci. 1: 314-322.
- [8] Phodjanawichaikul, P., 2017, Characteristic and quality determination of Thai rice with multivariate analysis, Songklanakarin J. Plant Sci. 4(2): 56-65. (in Thai)
- [9] van Beuningen, L.T. and Busch, R.H., 1997, Genetic diversity among North American spring wheat cultivars: III. Cluster analysis based on quantitative morphological traits, Crop. Sci. 37: 981-988.
- [10] Madee, P., Theerakulpisut, P., Sanitchon, J., Lontom, W., Pattankul, W. and Pengrat, J., 2014, Evaluation of salinity and drought tolerance in landrace colour rice genotypes at seedling stage using multivariate cluster analysis, Thai J. Bot. 6(Suppl.): 211-218. (in Thai)
- [11] International Rice Research Institute, 2002, Standard Evaluation System for Rice (SES), International Rice Research Institute (IRRI), Los Banos, 56 p.
- [12] Butsat, S. and Siriramornpun, S. , 2010, Antioxidant capacities and phenolic compound of the husk bran and endosperm of Thai rice, Food Chem. 119: 606-613.
- [13] Ismail, M., AL-Naqeeb, G., Mamat, W.A.A., and Ahmad, Z. 2010, Gamma-oryzanol rich fraction regulates the expression of antioxidant and oxidative stress related genes in stressed rat's liver, Nutr. Metab. 7: 1-13.
- [14] Goufo, P. and Trindade, H. , 2014, Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid, Food Sci. Nutr. 2: 75-164.
- [15] Joralee, A., Banteng, P. and Kaewpradit, W., 2013, Evaluation of agronomic traits

- p and gamma oryzanol content in black glutinous rice grown under upland condition,
- Khon Kaen Agric. J.*
- 41(1): 618-623. (in Thai)
- [16] Boodseephum, P. and Wongtamee, A. 2017, Morphological diversity and cluster analysis of local rice varieties from lower north region, pp. 343-348, 13th Naresuan Research Conference, Phitsanulok. (in Thai)
- [17] Kajonphol, T. , Paowsrakoo, N. and Sangsiri, C., 2012, Diversity of local upland rice varieties in Kanchanaburi province, *Agric. Sci. J.* 43(Suppl. 2): 601-604. (in Thai)
- [18] Thamwongsa, T., Sanitchon, J., Meesawat, A. and Itharat, P., 2012, Morphological and anatomical characters of lowland- black rice grains in the Northeast of Thailand, *KKU Sci. J.* 40(4): 1138-1148. (in Thai)
- [19] Shen, Y., Jin, L., Xia, P., Lu, Y. and Bao, J., 2009, Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight, *J. Cereal Sci.* 49: 106-111.
- [20] Juliano, B.O., 1997, Rice lipids, *Il Riso.* 26: 3-21.
- [21] Boonsit, P. , Pongpichan, P. , Julsrigival, S. and Karladee, D. , 2010, Gamma-oryzanol content in glutinous purple rice landrace varieties, *CMU. J. Nat. Sci.* 9(1): 151-157.