

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเก็บรวบรวมและศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมือง
ในพื้นที่ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลาเพื่อการอนุรักษ์และการปรับปรุงพันธุ์
Collection and study of indigenous rice in Songkhla lake basin area
for conservation and breeding program

คณะวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสาวภา ต้วงปาน
รองศาสตราจารย์ ดร. จรัสศรี นวลศรี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรกช นาคคะนอง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กฤติกา แก้วจำนง

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2560 – 2562 รหัสโครงการ NAT600104s

ผู้วิจัย

หน่วยงาน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสาวภา ต้วงปาน

สาขาวิชาวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ

คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

รองศาสตราจารย์ ดร. จรัสศรี นวลศรี

สาขาวิชาวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ

คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรรข นาคคะนอง

สาขาวิชาวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ

คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กฤติกา แก้วจำนง

ภาควิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
บทคัดย่อ	จ
Abstract	ช
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
วิธีการดำเนินการวิจัย	6
ผลการทดลองและวิจารณ์	11
สรุปผลการทดลอง	52
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก	59

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเครื่องหมาย SSR ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ความหลากหลายของพันธุกรรมข้าวพื้นเมือง	12
ตารางที่ 2 พันธุ์ข้าวที่นำมาคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในระยะต้นกล้า	15
ตารางที่ 3 การให้คะแนนการม้วนของใบในระบบ Standard Evaluation System	16
ตารางที่ 4 รายชื่อพันธุ์ข้าว รหัสบ่งชี้ตัวอย่างที่ใช้และแหล่งที่มาของตัวอย่าง	21
ตารางที่ 5 รายชื่อพันธุ์ข้าว 7 กลุ่มเมื่อแบ่งที่สัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.4	30
ตารางที่ 6 รายชื่อพันธุ์ข้าว 14 กลุ่มเมื่อแบ่งที่สัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.5	31
ตารางที่ 7 อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ ปริมาณโพรลิน และ การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ในชุดทดลองควบคุมที่มีการให้น้ำ (Irrigation) และชุดทดลองที่มีการงดน้ำ (Drought)	37
ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ ปริมาณโพรลิน และการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ในชุดทดลองที่มีการงดน้ำ (Drought) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองควบคุมที่มีการให้น้ำ (Irrigation) ในข้าวพันธุ์ต่างๆ	38
ตารางที่ 9 ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ชุดทดลองควบคุมที่มีการให้น้ำ (Irrigation) และชุดทดลองที่มีการงดน้ำ (Drought)	41
ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดและปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ในชุดทดลองที่มีการงดน้ำ (Drought) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองควบคุมที่มีการให้น้ำ (Irrigation) ในข้าวพันธุ์ต่างๆ	42
ตารางที่ 11 ดัชนีทนแล้งที่คำนวณจากค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาของต้นข้าวพันธุ์ต่างๆ	44
ตารางที่ 12 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก Principle component analysis (PCA) โดยใช้ค่าดัชนีทนแล้ง	48
ตารางที่ 13 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก Principle component analysis (PCA) โดยใช้ค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาในสภาวะแล้ง	51

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 เก็บรวบรวมตัวอย่างพันธุ์ข้าวจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ จ. พัทลุง	7
รูปที่ 2 เก็บรวบรวมตัวอย่างพันธุ์ข้าวจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ จ. สงขลา	8
รูปที่ 3 ต้นอ่อนข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ให้สำหรับเก็บชิ้นส่วนรากและใบเพื่อสกัดดีเอ็นเอ	10
รูปที่ 4 เดนโดแกรม (dendrogram) แสดงความสัมพันธ์ของพันธุ์ข้าวพื้นเมืองจากข้อมูลความสัมพันธ์จากเครื่องหมาย SSR จำนวน 20 เครื่องหมาย	29
รูปที่ 5 ค่าเฉลี่ยคะแนนการเปลี่ยนแปลงของใบข้าวเมื่อผ่านการงดน้ำ 7 วัน	33
รูปที่ 6 การเปลี่ยนแปลงของใบข้าวเมื่อผ่านการงดน้ำ 7 วัน โดย Irrigation คือ ชุดทดลองควบคุมที่มีการให้น้ำ และ Drought คือ ชุดทดลองที่มีการงดน้ำ 7 วัน	34
รูปที่ 7 แผนภาพความร้อน (heat map) และการวิเคราะห์ hierarchical clustering โดยใช้ค่าดัชนีทนแล้งที่คำนวณจากค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยา	46
รูปที่ 8 Biplot จากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก Principle component analysis (PCA) โดยใช้ค่าดัชนีทนแล้ง	47
รูปที่ 9 แผนภาพความร้อน (heat map) และการวิเคราะห์ hierarchical clustering โดยใช้ค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาในสภาวะแล้ง	49
รูปที่ 10 Biplot จากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก Principle component analysis (PCA) โดยใช้ค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาในสภาวะแล้ง	50

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเกษตรกรผู้ปลูกข้าวที่ให้ความร่วมมือ ช่วยเหลือ และให้ข้อมูล ตลอดระยะเวลาการเก็บข้อมูลการทำวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนผู้ช่วยวิจัย และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ช่วยเหลือสนับสนุนเป็นอย่างดี

เสาวภา ต้วंगปาน

บทคัดย่อ

การเก็บรวบรวมข้าวพันธุ์พื้นเมืองในบริเวณความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมืองในพื้นที่ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา พบว่าเกษตรกรปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองลดลง เนื่องจากมีการปลูกข้าวพันธุ์การค้า และพันธุ์แนะนำมากขึ้น ข้าวพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่ถูกเก็บรวบรวมไว้โดยศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองจำนวน 53 พันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR 20 ไพรเมอร์ พบว่า เครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 4 ไพรเมอร์ ได้แก่ RM60, RM260, RM316 และ RM416 ให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์ (monomorphic) และมีเครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphisms) จำนวน 16 ไพรเมอร์ คือ RM219, RM263, RM315, RM72, RM410, RM3805, RM36, RM525, RM517, RM8094, RM212, RM1261, RM566, RM7, RM234, RM493 ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมดจำนวน 59 แถบ มีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดต่อไพรเมอร์ 2-6 แถบ โดยไพรเมอร์ RM410 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุด คือ 6 แถบ ค่าความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของข้าวทั้ง 53 สายพันธุ์ ที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (Jaccard's similarity) อยู่ระหว่าง 0.28-0.91 และที่ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน 0.4 และ 0.5 สามารถแบ่งกลุ่มข้าวพื้นเมืองออกเป็น 7 และ 14 กลุ่มตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองที่นำมาศึกษา

จากการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในการศึกษารุ่นนี้ ข้าวพันธุ์พื้นเมือง 20 พันธุ์ กับพันธุ์การค้า 3 พันธุ์ ได้ถูกนำมาคัดเลือกในระยะต้นกล้า ในสภาวะโรงเรือน และทำการวัดค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ปริมาณโพสลิน ปริมาณคลอโรฟิลล์ อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ คະแนนการเปลี่ยนแปลงใบ และการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ เมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำ ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ และปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง ในขณะที่ปริมาณโพสลิน การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ และคະแนนการเปลี่ยนแปลงใบมีค่าเพิ่มขึ้น

หากการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งคำนึงถึงค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาของต้นข้าวทั้งในสภาวะที่ได้รับน้ำอย่างเพียงพอ และสภาวะขาดน้ำ ดัชนีทนแล้งถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์การจัดกลุ่ม และวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก พบว่า ข้าวพันธุ์ถูกเทียบแดง หัวนาดำ เอวมตแดง ลูกเขย มะจานู ภูนิง ลูกปลา (PI70) ไร่ทราย ลูกปลา (SK02) กข15 หอมธรรมศาสตร์ และปทุมธานี 1 เป็นพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนแล้ง จะเห็นได้ว่าพันธุ์การค้าทั้งสามพันธุ์ถูกจัดอยู่ในกลุ่มนี้

หากการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งคำนึงถึงค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาของต้นข้าวในสภาวะที่ขาดน้ำเพียงอย่างเดียว ค่าที่ใช้ในการวิเคราะห์การจัดกลุ่ม และวิเคราะห์องค์ประกอบหลักจะใช้ค่าในสภาวะขาดน้ำ

เท่านั้น พบว่า ปทุมธานี 1 ลูกปลา (SK02) หัวนาคำ และหอมธรรมศาสตร์ เป็นพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนแล้ง จากข้อมูลดังกล่าวสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ทนทานต่อสภาวะขาดน้ำต่อไป

Abstract

The research was conducted to identify genetic diversity of local rice varieties and to compare the effect of drought on morphological and physiological changes of local lowland rice varieties for drought tolerance screening. A total of 123 rice varieties were collected. Genetic diversity of 53 studied rice varieties were determined using 20 SSR markers. Four SSR markers (RM60, RM260, RM316 and RM416) showed monomorphic band while 16 SSR markers (RM219, RM263, RM315, RM72, RM410, RM3805, RM36, RM525, RM517, RM8094, RM212, RM1261, RM566, RM7, RM234, RM493) exhibited polymorphic bands with a total number of 59. Number of polymorphic bands ranged from 2-6 bands per marker. At genetic similarity coefficient of 0.4 and 0.5, rice genotypes were divided into 7 and 14 groups, respectively. According to the results. local rice varieties studied showed high genetic variability.

Also, twenty local rice varieties along with three commercial varieties, Pathumthani 1, RD15 and Hom Thummasat were screened for drought tolerance potential. Seedlings of each variety were exposed to either daily watering (control treatment) or 7-day water withholding (stress treatment) under greenhouse condition. Relative water content, proline content, chlorophyll content, root to shoot ratio, leaf rolling and electrolyte leakage were recorded. Relative water content and chlorophyll content were significantly declined while proline content, electrolyte leakage and root to shoot ratio were significantly elevated under drought condition compared to those under optimal condition. When responses under both optimal and drought conditions were considered, drought tolerance index were used to evaluate the drought tolerance potential of the varieties. PCA and hierarchal clustering indicated that Chuk Tium Dang, Hua Nadam, Eaw Mod Deang, Look Kheoy, Majaanoo, Koo Ning, Look Pla, Rai Sai, Look Pla (SK02), RD 15, Hom Thummasat and Pathumthani 1 were drought tolerant varieties. Values of parameters measured solely in drought condition or drought tolerance index were subjected to principle component analysis (PCA) and hierarchal clustering. Under drought condition, PC1 and PC2 explained 52.2% and 23.0% of total variability, respectively. Regardless of performance under optimal condition, hierarchal clustering and PCA identified Hua Nadum, Look Pla (SK02), Pathumthani 1, and Hom Thummasat as superior drought tolerant varieties

บทนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เพราะเป็นทั้งอาหารหลักและสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศ ปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 60 ล้านไร่ สามารถผลิตข้าวได้ปีละ 25 ล้านตัน เป็นอันดับ 6 ของโลก พื้นที่ปลูกข้าวในประเทศไทยมีการกระจายตัวอยู่ในทุกภูมิภาค โดยในพื้นที่ภาคใต้แหล่งปลูกข้าวที่มีความสำคัญ ได้แก่ พื้นที่ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลาซึ่งครอบคลุมพื้นที่ 3 จังหวัด ได้แก่ นครศรีธรรมราช พัทลุง และสงขลา เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ เป็นแหล่งศูนย์กลางความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีลักษณะดี เช่น ความทนทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช ความทนทานต่อสภาพแวดล้อม แต่ปัจจุบันมีการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกข้าวพันธุ์ปรับปรุงแทนพันธุ์ข้าวพื้นเมือง เกษตรกรต้องซื้อเมล็ดพันธุ์ทุกปี และมีการเปลี่ยนพื้นที่เพาะปลูกข้าวไปทำกิจกรรมอื่น เช่น ปลูกยางพารา ปาล์มน้ำมัน เป็นที่ตั้งโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น นอกจากนี้พื้นที่ทำนาข้าวยังได้รับผลจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศของโลก ทำให้เกิดปัญหาต่างๆ เช่น ปัญหาภาวะแห้งแล้ง และปัญหาดินเค็ม เป็นต้น ส่งผลให้ผลผลิตลดลง เกษตรกรเกิดภาวะขาดทุนและเลิกปลูก ส่งผลให้พื้นที่เพาะปลูกข้าวลดลง ทำให้เกิดการเสื่อมพันธุ์หรือสูญพันธุ์ของข้าวพันธุ์พื้นเมือง ซึ่งถือเป็นทรัพยากรทางพันธุกรรมที่มีคุณค่ามหาศาลต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวในอนาคต การอนุรักษ์พันธุ์พื้นเมืองจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ทั้งนี้ได้มีการเก็บรวบรวมพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทยในธนาคารเชื้อพันธุ์ข้าว ประมาณ 18,000 ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ รวมถึงการเก็บรวบรวมในศูนย์วิจัยข้าวต่างๆ แต่ข้าวพื้นเมืองที่มีการเพาะปลูกโดยเกษตรกรในปัจจุบันได้ผ่านการคัดเลือกโดยเกษตรกรมาเป็นระยะเวลาหนึ่ง เนื่องจากโดยทั่วไปข้าวพันธุ์พื้นเมืองจะมีลักษณะความหลากหลายทางพันธุกรรมในเชื้อพันธุ์ข้าว ความหลากหลายทางพันธุกรรมดังกล่าวเปิดโอกาสให้มีการคัดเลือกเพื่อการปรับตัวของพันธุ์ข้าวให้ทนทานต่อภาวะเครียดต่างๆ ที่เกิดขึ้น เช่น โรคและแมลงใหม่ๆ และสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากภาวะโลกร้อน เพราะต้นที่ไม่ทนทานก็จะมีเมล็ดน้อยหรือตายไป เมล็ดและต้นที่ทนทานก็จะมีสัดส่วนเพิ่มขึ้น รวมถึงอาจเกิดสายพันธุ์ใหม่จากการปลูกข้าวหลายสายพันธุ์ในแปลงนาเดียวกัน หรือเกิดการถ่ายโอนยีนบางอย่างจากข้าวป่า (wild rice) มาสู่ข้าวปลูกทำให้เกิดลักษณะใหม่ๆ ขึ้นในข้าวปลูก ดังนั้นการสำรวจและเก็บรวบรวมพันธุ์ในพื้นที่ต่างๆ ในช่วงเวลาที่ต่างกันอาจได้สายพันธุ์ที่มีลักษณะแตกต่างกัน พันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่เก็บรวบรวมได้จะเป็นแหล่งพันธุกรรมสำคัญที่จะนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะที่ต้องการต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
2. เพื่อเก็บรวบรวมข้าวพื้นเมืองในพื้นที่ปลูกกลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา สำหรับใช้เป็นเชื้อพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะที่ต้องการ
3. เพื่อจำแนกและประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองในพื้นที่กลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์และการปรับปรุงพันธุ์
4. เพื่อคัดเลือกพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีลักษณะทนแล้งในระยะต้นกล้า

การตรวจเอกสาร

ข้าวและความหลากหลายของพันธุ์ข้าว

ข้าว (*Oryza sativa* L.) จัดอยู่ในวงศ์หญ้า (POACEAE หรือ GRAMINEAE) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จำพวกธัญพืช แบ่งออกเป็น 2 สปีชีส์ใหญ่ ๆ คือ *Oryza glaberrima* (ปลูกเฉพาะในเขตร้อนของแอฟริกา) และ *Oryza sativa* (ปลูกกันทั่วโลก) สำหรับชนิด *Oryza sativa* ยังแบ่งแยกย่อยออกไปได้อีกคือ Javanica, Japonica (ปลูกมากในเขตอบอุ่น) และ indica (ปลูกมากในเขตร้อน) ในประเทศไทยสำหรับประเทศไทยข้าวที่ปลูกจะเป็นชนิด indica โดยแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว

ข้าวพื้นเมืองเป็นแหล่งพันธุกรรมที่มีคุณค่า เนื่องจากมีลักษณะหลายอย่างที่เป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าว เช่น ความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช และความทนทานต่อสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ข้าวพื้นเมืองเป็นแหล่งของธาตุอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น กรดฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ (Tian *et al.*, 2004; Zhou *et al.*, 2004) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านทานการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แต่ในปัจจุบันมีการส่งเสริมให้ชาวนาทำเกษตรเชิงเดี่ยว ที่เน้นทำเพื่อเศรษฐกิจ มีการปลูกข้าวพันธุ์ปรับปรุงแทนข้าวพันธุ์พื้นเมือง ทำให้ข้าวพื้นเมืองมีการเสื่อมพันธุ์หรือสูญพันธุ์เป็นจำนวนมาก (สำเริง, 2550) การอนุรักษ์พันธุ์ข้าวพื้นเมืองจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อรักษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ได้ในอนาคต ทั้งนี้ได้มีการเก็บรวบรวมพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทยในธนาคารเชื้อพันธุ์ข้าว ประมาณ 18,000 ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ (สำเริง, 2550; ฉวีวรรณ, 2543)

นอกเหนือจากการเก็บรวบรวมพันธุ์แล้วการตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์ก็เป็นสิ่งสำคัญเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการอนุรักษ์และปรับปรุงพันธุ์ โดยในข้าวนิยมศึกษาโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด แบ่งเป็นลักษณะทางคุณภาพ ได้แก่ สีเปลือกหุ้มเมล็ด สีของเมล็ดข้าวกล้อง รูปร่างข้าวกล้อง และลักษณะทางปริมาณ เช่น น้ำหนักของเมล็ด ความกว้าง ความยาว และความหนาของเมล็ด เป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้ลักษณะอื่นๆ ของต้น เช่น ลักษณะสีแผ่นใบ สีกาบใบ สีลั่นใบ รูปร่างลั่นใบ สีหูใบ สีข้อ สีปล้อง สีข้อต่อใบ สียอดเกสรตัวเมีย สียอดดอก สีกลีบรองดอก และสีหางข้าว ในการศึกษาอีกด้วย (นันทยาและคณะ, 2554; อรรวรรณและคณะ, 2553)

นอกจากการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้วในปัจจุบันได้มีการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์อีกด้วย (พัชรี, 2552) เครื่องหมายดีเอ็นเอที่นิยมใช้

กันอย่างแพร่หลาย คือ เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite marker) หรือเครื่องหมายเอสเอสอาร์ (simple sequence repeat; SSR marker) เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีจำนวนเบสซ้ำกันประมาณ 1-6 เบส เรียงอยู่ต่อเนื่องกัน กระจายทั่วทั้งจีโนม พบจำนวนมากในจีโนมสิ่งมีชีวิตชั้นสูง ความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากจำนวนครั้งของเบสซ้ำของไมโครแซทเทลไลท์ในโลกัสหนึ่งๆ ต่างกัน (สุรินทร์, 2552; Kaur *et al.*, 2015) ในการศึกษาพันธุศาสตร์ในข้าว เครื่องหมายเอสเอสอาร์ได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม เช่น การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว 24 สายพันธุ์ในอินเดีย (Berilus *et al.*, 2012) การศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variability) ของข้าวพื้นเมือง 417 สายพันธุ์ในบราซิล (Borba *et al.*, 2009) การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรข้าวป่าสามัญในประเทศไทย (อติเรก และคณะ, 2549) และการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ข้าวที่มีความทนทานต่อความเค็มระดับต่างๆ (Seetharam *et al.*, 2009; Kanawapee *et al.*, 2011)

การคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะทนแล้ง

ข้าวเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของไทย เนื่องจากปัจจุบันสถานการณ์สภาวะโลกร้อนมีผลกระทบต่อภาคเกษตรในทุกพื้นที่รวมถึงการผลิตข้าว ทำให้มูลค่าการส่งออกของข้าวลดลง รวมถึงเกษตรกรที่ปลูกข้าวไว้บริโภคในครัวเรือนผลิตข้าวได้น้อยลง สำหรับการปลูกข้าวของไทยนั้น แบ่งตามเขตพื้นที่ที่ปลูกแล้ว แบ่งได้ 3 สภาพ คือ การปลูกข้าวในเขตชลประทาน การปลูกข้าวแบบอาศัยน้ำฝน และการปลูกข้าวในเขตพื้นที่ดอนหรือสภาพไร่ โดยการปลูกข้าวของไทยส่วนใหญ่เป็นการปลูกแบบอาศัยน้ำมักจะประสบกับปัญหาสภาวะแล้งในช่วงต้นฤดูปลูก เนื่องจากสภาวะฝนทิ้งช่วง ทำให้ต้นข้าวที่ปลูกแห้งตาย (Bray, 2000) เพื่อเป็นการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวทนแล้งจึงมีความจำเป็นเนื่องจากช่วยให้ผลผลิตของข้าวน้ำฝนมีเสถียรภาพมากขึ้น

ข้าวพื้นเมืองเป็นแหล่งพันธุกรรมสำคัญที่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงข้าวให้มีลักษณะทนต่อความเครียดต่างๆ ประเทศไทยได้มีการนำได้พันธุ์ข้าวพื้นเมืองจากธนาคารเชื้อพันธุ์ข้าว มาทดสอบและคัดเลือก เพื่อนำมาใช้เป็นพ่อแม่ในการพัฒนาพันธุ์ทนแล้ง ประชากรข้าวทนแล้งที่มีฐานพันธุกรรมของข้าว กข6 ขาวดอกมะลิ 105 และสุรินทร์1 ได้มีการศึกษาและระบุลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความทนแล้ง ได้แก่ ศักย์ของน้ำที่ใบ (leaf water potential) และเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ (Jongdee *et al.*, 2006)

ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวทนแล้ง โดยการเปรียบเทียบข้าวพันธุ์ต่างๆ ในสภาวะที่ได้รับน้ำเพียงพอ และขาดน้ำพบว่าการเจริญเติบโต การให้ผลผลิต และการตอบสนองทางสรีรวิทยาบางอย่าง เช่น ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (relative water content) การสะสมโปรตีน การเปิด-ปิดปากใบ แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ซึ่งสามารถนำมาเป็นตัวบ่งชี้ในการคัดเลือกพันธุ์ได้ (Almeida et al., 2016; Jongdee et al., 2011) เพื่อเป็นจุดเริ่มต้นในการนำเชื้อพันธุกรรมข้าวพื้นเมืองมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว งานวิจัยนี้จึงได้ทำการคัดเลือกพันธุ์ข้าวพื้นเมืองโดยการพิจารณาการเจริญเติบโต ควบคู่กับการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการ

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมือง

1.1 การเก็บตัวอย่างและการปลูกข้าว

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างพันธุ์ข้าวจากแปลงเกษตรกรใน 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสงขลา พัทลุง และนครศรีธรรมราช โดยจะทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างในพื้นที่ที่มีรายงานการเพาะปลูกข้าวจำนวนมากของแต่ละจังหวัด ในจังหวัดสงขลาจะสำรวจและรวบรวมตัวอย่างในเขตอำเภอระโนด อำเภอสทิงพระ อำเภอกระแสดินธุ์ อำเภอสิงหนคร อำเภอเมืองสงขลา อำเภอควนเนียง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดพัทลุง ในเขตอำเภอเมืองพัทลุง อำเภอปากพะยูน อำเภอบางแก้ว อำเภอเขาชัยสน อำเภอควนขนุน และจังหวัดนครศรีธรรมราช ในเขตอำเภอชะอวด โดยเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนมีนาคม ของปีพ.ศ. 2560 และ พ.ศ. 2561 (รูปที่ 1 และ 2) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของข้าวแต่ละสายพันธุ์ในแปลงปลูก ขอความอนุเคราะห์ตัวอย่างใบเพื่อนำมาวิเคราะห์ดีเอ็นเอในห้องปฏิบัติการ รวมถึงขอความอนุเคราะห์เมล็ดของข้าวแต่ละสายพันธุ์จากเกษตรกรเพื่อนำมาปลูกเพิ่มจำนวนเมล็ด เพื่อให้นำบางส่วนมาใช้สำหรับการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้ง



รูปที่ 1 เก็บรวบรวมตัวอย่างพันธุ์ข้าวจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ จ. พัทลุง

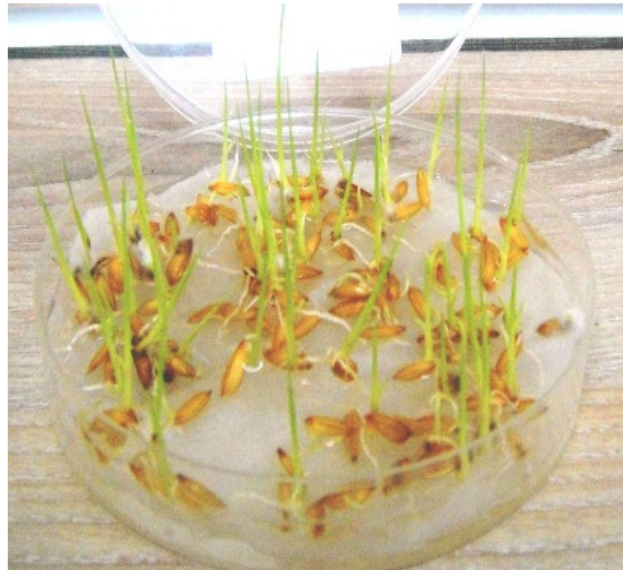


รูปที่ 2 เก็บรวบรวมตัวอย่างพันธุ์ข้าวจากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ จ. สงขลา

1.2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ

1.2.1 การสกัดดีเอ็นเอ

สกัด DNA ด้วยวิธีของ Sharma และคณะ (Sharma *et al.*, 2003) โดยซึ่งตัวอย่างใบข้าวที่เก็บจากแปลงเกษตรกร หรือพันธุ์ข้าวที่ได้รับอนุเคราะห์ในรูปแบบเมล็ดให้นำมาเพาะในจานเพาะเชื้อ (petri dish) เพื่อเก็บตัวอย่างรากและใบอ่อน (รูปที่ 3) ประมาณ 0.5 กรัม บดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว แล้วย้ายมาใส่ในหลอดเซนตริฟิวส์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายสำหรับการสกัด ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ประกอบด้วย CTAB 1 โมลาร์ Tris-HCl pH 8.0 0.5 โมลาร์ EDTA pH 8.0 5 โมลาร์ NaCl และ β -mercaptoethanol นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วเติมสารละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ อัตราส่วน 24:1 ปริมาตร 1 เท่า ของสารละลาย ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง ที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ปิเปตสารละลายส่วนใสลงในหลอดเซนตริฟิวส์ใหม่ ทำซ้ำอีก 1 ครั้งตกตะกอนจีโนมดีเอ็นเอโดยเติมสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 3 โมลาร์, pH 5.2 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และเอทานอลบริสุทธิ์ปริมาตร 250 ไมโครลิตรต่อจีโนมดีเอ็นเอ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้บนน้ำแข็งนาน 30 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ทำการล้างตะกอนของดีเอ็นเอด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ตั้งตะกอนดีเอ็นเอทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องประมาณ 15 นาที ละลายตะกอนจีโนมดีเอ็นเอด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และวิเคราะห์คุณภาพและตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีเจลาอะกาโรสอิเล็กโตรโฟเรซิสและเครื่อง Nanodrop



รูปที่ 3 ต้นอ่อนข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ให้สำหรับเก็บชิ้นส่วนรากและใบเพื่อสกัดดีเอ็นเอ

1.2.2 การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้ SSR markers

ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้ SSR primers จำนวน 20 คู่ (ตารางที่ 1) มาใช้ในปฏิกิริยา PCR ที่มี ปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร แต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วย

- จีโนมิกดีเอ็นเอ 50 นาโนกรัม
- ไพรเมอร์ SSR ความเข้มข้น 0.2 ไมโครโมลาร์
- บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1 เท่า ที่มี Mg^{2+}
- เอนไซม์ Taq polymerase เข้มข้น 0.4 ยูนิต
- dATP, dCTP, dGTP และ dTTP ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์

นำส่วนผสมไปเข้าเครื่อง Thermal cycle ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิและจำนวนรอบ ดังนี้

- initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94.0 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
- denaturation ที่อุณหภูมิ 94.0 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที
- annealing ที่อุณหภูมิ 55.0 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
- elongation ที่อุณหภูมิ 72.0 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที โดยทำปฏิกิริยา PCR ทั้งหมด 30 รอบ และตามด้วย final extension ที่อุณหภูมิ 72.0 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที

จากนั้นนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์มาทำให้เสียสภาพโดยการผสม loading buffer ซึ่งมีส่วนผสมของฟอร์มามาไมด์ 95% นำไปปมที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส แล้วนำไปแช่น้ำแข็งทันที แล้วทำการตรวจสอบขนาดชิ้นดีเอ็นเอด้วยเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิส

ตารางที่ 1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเครื่องหมาย SSR ที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของพันธุกรรมข้าวพื้นเมือง (McCouch *et al.*, 2002)

Primer	Forward	Reverse	Annealing T _m
RM260	ACTCCACTATGACCCAGAG	GAACAATCCCTTCTACGATCG	55
RM219	CGTCGGATGATGTAAAGCCT	CATATCGGCATTTCGCCTG	55
RM263	CCCAGGCTAGCTCATGAACC	GCTACGTTTGAGCTACCACG	55
RM315	GAGGTA CTTCCTCCGTTTCAC	AGTCAGCTCACTGTGCAGTG	62
RM72	CCGGCGATAAAACAATGAG	GCATCGGTCCTAACTAAGGG	55
RM410	GCTCAACGTTTCGTTCTG	GAAGATGCGTAAAGTGAACGG	55
RM3805	AGAGGAAGAAGCCAAGGAGG	CATCAACGTACCAACCATGG	55
RM36	CAACTATGCACCATTGTCGC	GTA CTCCACAAGACCGTACC	55
RM525	GGCCCGTCCAAGAAATATTG	CGGTGAGACAGAATCCTTACG	55
RM60	AGTCCCATGTTCCACTTCCG	ATGGCTACTGCCTGTACTAC	55
RM517	GGCTTACTGGCTTCGATTTG	CGTCTCCTTTGGTTAGTGCC	55
RM8094	AAGTTTGTACACATCGTATACA	CGCGACCAGTACTACTACTA	55
RM212	CCACTTTCAGCTACTACCAG	CACCCATTTGTCTCTCATTATG	55
RM1261	GTCCATGCCCAAGACACAAC	GTTACATCATGGGTGACCCC	55
RM566	ACCCA ACTACGATCAGCTCG	CTCCAGGAACACGCTCTTTC	55
RM7	TTCGCCATGAAGTCTCTCG	CCTCCCATCATTTGTTGTT	55
RM416	GGGAGTTAGGGTTTTGGAGC	TCCAGTTTCACACTGCTTCG	55
RM234	ACAGTATCCAAGGCCCTGG	CACGTGAGACAAAGACGGAG	55

RM316	CTAGTTGGGCATACGATGGC	ACGCTTATATGTTACGTCAAC	55
RM493	TAGCTCCAACAGGATCGACC	GTACGTAAACGCGGAAGGTG	55

1.2.3 การวิเคราะห์ผลการศึกษา

ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยแบ่งเป็นการประเมินลักษณะทางคุณภาพและลักษณะทางปริมาณ โดยลักษณะทางคุณภาพ ใช้ค่าดัชนีความหลากหลาย Shannon-Weaver Index (H') ซึ่งคำนวณจากสูตร

$$H' = \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$$

โดย s = จำนวนชนิดความแตกต่างที่พบในลักษณะที่บันทึก

p_i = สัดส่วนของจำนวนชนิดที่พบในลักษณะนั้นๆ ต่อจำนวนทั้งหมด

ค่าดัชนีความหลากหลายที่มากขึ้นแสดงถึงความหลากหลายที่สูงขึ้น (Fowler *et al.*, 1998)

วิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากวิธี SSR โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc V2.1 (Rohlf, 2002) แปลงข้อมูลเป็นแบบ binary โดยแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันคิดเป็นหนึ่งลักษณะ ให้ค่าคะแนนเป็น 1 เมื่อปรากฏแถบและ 0 เมื่อไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ คำนวณหาค่า Jaccard's similarity coefficient (Jaccard, 1908) และจัดกลุ่มความสัมพันธ์โดยวิธี unweighted pair-group method with arithmetic means (UPGMA) เพื่อสร้างเดนโดรแกรม

2. การคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะทนแล้งในระยะต้นกล้า

2.1 พิษทดลองและการออกแบบการทดลอง

นำเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่เก็บรวบรวมได้และมีข้อมูลความแตกต่างทางพันธุกรรมจำนวน 20 พันธุ์ และพันธุ์การค้าจำนวน 3 พันธุ์ (พันธุ์เปรียบเทียบ) ดังแสดงในตารางที่ 2 มาเพาะในกระถางคัดเลือกในสภาพโรงเรือน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยแบ่งเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดทดลองควบคุม (ได้รับน้ำเพียงพอตลอดการทดลอง) และชุดทดลองการขาดน้ำ ใช้แผนงานทดลองแบบ CRD (Complete Randomized Design) จำนวน 3 ซ้ำ การปลูกข้าวใช้วิธีหยอดเมล็ดโดยตรง และเมื่อต้นข้าวอายุได้ 10 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือ 10 ต้นต่อกระถาง ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ในอัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ ให้น้ำที่ระดับความจุสนาม (100% field capacity) จนข้าวมีอายุ 30 วันหลังปลูก จึงเริ่มการทดลองโดยในชุดควบคุมจะมีการให้น้ำปกติอย่างต่อเนื่อง ส่วนชุดทดลองการขาดน้ำทำการงดน้ำเป็นเวลา 7 วัน ทำการบันทึกข้อมูล

ตารางที่ 2 พันธุ์ข้าวที่นำมาคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในระยะต้นกล้า

ลำดับที่	พันธุ์	รหัส
1	กิโล (Kilo)	PI10
2	ช่อละมัย (Chor La Mai)	PI13
3	ลูกนนท์ (Look Non)	PI15
4	จุกเทียมแดง (Chuk Tium Dang)	PI16
5	หัวนาดำ (Hua Nadam)	PI17
6	เอวมดแดง (Eaw Mod Deang)	PI20
7	ลูกเขย (Look Kheoy)	PI21
8	มะจานู (Majaanoo)	PI22
9	จะนะ (Chana)	PI25
10	มันตม (Mon Tom)	PI31
11	ลูกดำ (Look Dum)	PI46
12	อัลฮัมดุลิลลา (Alhamdulillah)	PI09
13	ชม (Kom)	PI58
14	กูนิง (Koo Ning)	PI64
15	ลูกปลา (Look Pla)	PI70
16	ไร่ทราย (Rai Sai)	PI74
17	ลูกปลา (Look Pla)	SK02
18	ข้าวเหมะ (Khaw Mae)	SK03
19	ข้าวดำ (Khaw Dum)	SK04
20	เล็บนก (Lep Nok)	SK05
21	ข้าวหอมปทุมธานี 1 (Pathumthani 1)	
22	กข 15 (RD15)	
23	ข้าวหอมธรรมศาสตร์ (Hom Thummasat)	

2.2 การบันทึกข้อมูล

2.2.1 ความชื้นดินในกระถาง

บันทึกข้อมูลความชื้นดินในกระถางชุดทดลองควบคุมและชุดทดลองที่มีการงดน้ำเป็นเวลา 7 วัน ด้วย เครื่อง Delta-T Devices WET Sensor

2.2.2 คะแนนการเปลี่ยนแปลงของใบข้าว

บันทึกการเปลี่ยนแปลงของใบข้าวหลังจากการเริ่มการทดลองงดน้ำ โดยให้คะแนนตาม Standard Evaluation System สำหรับข้าว (IRRI, 1996) โดยมีรายละเอียดคะแนนดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การให้คะแนนการม้วนของใบในระบบ Standard Evaluation System

No. score	Score	Description
1	0	Leaves healthy
2	1	Leaves start to fold (shallow V-shape)
3	3	Leaves folding (deep V-shape)
4	5	Leaves fully cupped (U-shape)
5	7	Leaf margins touching (O-shape)
6	9	Leaves tightly rolled

Standard evaluation system for rice (IRRI, 1996)

2.2.3 อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ

หลังจากการทดลองงดน้ำเป็นเวลา 7 วัน ทำการเก็บตัวอย่างข้าวและแยกส่วนรากออกจากลำต้นและใบ นำไปทำให้แห้งด้วยการบ่มใน incubator ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักแห้งราก และลำต้น ใบเพื่อคำนวณอัตราส่วนรากต่อลำต้นและใบ

2.2.4 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์

เลือกเก็บตัวอย่างใบที่แผ่ขยายเต็มที่ ใบที่ 3 ทำการเก็บตัวอย่างช่วงเวลา 8.00-10.00 นาฬิกา ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร ปิดให้สนิท ทำการชั่งน้ำหนักสด (fresh weight: FW) อย่างรวดเร็ว เติมน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดฝา และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ใบช้ำดูดน้ำได้เต็มที่จากนั้นใช้ปากคีบคีบชิ้นส่วนใบวางลงบนกระดาษทิชชูเพื่อซับน้ำที่ผิวใบออก แล้วชั่งหาน้ำหนักเต่ง (turgid weight; TW) จากนั้นนำชิ้นส่วนใบไปอบให้แห้งในตู้อบเป่าลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้ง (dry weight; DW) คำนวณหาปริมาณน้ำสัมพัทธ์(RWC) จากสูตรการวัดค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative water content; RWC) (Amirjani et al., 2011)

$$RWC (\%) = [(FW-DW) / (TW-DW)] \times 100$$

2.2.5 ปริมาณโพรลีน

วัดปริมาณโพรลีนโดยดัดแปลงวิธีของ Bates et al. (1973) เก็บตัวอย่างใบปริมาณ 1 กรัม บดใบข้าวในไนโตรเจนเหลว แล้วนำผงตัวอย่างใบใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร เติมกรด sulfosalicylic acid ความเข้มข้น 3% (w/v) 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 เติม glacial acetic acid 1 มิลลิลิตร และ ninhydrin reagent 1 มิลลิลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการแช่ตัวอย่างใน ice bath แล้วเติม toluene 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เมื่ออุณหภูมิของตัวอย่างเพิ่มขึ้นจนถึงอุณหภูมิห้อง ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วย UV-visible spectrophotometer เปรียบเทียบความเข้มข้นของโพรลีนในตัวอย่างกับโพรลีนที่ทราบความเข้มข้น

2.2.5 ปริมาณคลอโรฟิลล์

วัดปริมาณคลอโรฟิลล์โดย เก็บตัวอย่างใบที่แผ่ขยายเต็มที่ ใบที่ 3 ใช้อุปกรณ์เจาะใบโดยหลีกเลี่ยงตำแหน่งเส้นกลางใบ จะได้ตัวอย่างใบที่มีพื้นที่ 0.82 ตารางเซนติเมตร นำตัวอย่างใบใส่หลอดทดลองขนาด 4 มิลลิลิตร เติมสาร N,N-dimethylformamide (DMF) ปริมาณ 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองและปิดฝาให้สนิท ย้ายไปเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อสกัดคลอโรฟิลล์และป้องกันไม่ให้แสงทำลายคลอโรฟิลล์ หลังจากนั้นนำสารละลายสีเขียวที่สกัดได้

ไปวัดค่าหาความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ โดยวิธีวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 647 และ 664 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาปริมาณของคลอโรฟิลล์รวม มีหน่วยเป็นปริมาณของคลอโรฟิลล์ต่อหน่วยพื้นที่ใบ (กรัม/ตารางเมตร) สมการที่ใช้คำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ (สุนทรีย์ และคณะ, 2543; Moran, 1982) ตามสมการดังนี้

$$\text{Total Chlorophyll (g m}^{-2}\text{)} = [10.27(A_{647}) + 7.04(A_{664})] \times \text{vol} / (\text{Area} \times 100)$$

เมื่อ A_{647} = ค่าดูดแสงที่ความยาวคลื่น 647 นาโนเมตร

A_{664} = ค่าดูดแสงที่ความยาวคลื่น 664 นาโนเมตร

vol = ปริมาณ DMF ที่ใช้สกัดมีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

Area = พื้นที่แผ่นใบที่ใช้สกัดมีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร

2.2.6 การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์

ตัดชิ้นส่วนใบให้มีความยาว ประมาณ 0.5 เซนติเมตร ชิ้นส่วนของรากและใบแช่ลงในน้ำกลั่นที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีและนำไปวัดค่าการนำไฟฟ้า (Reading 1) หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนของใบที่แช่ในน้ำกลั่นไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปวัดค่าการนำไฟฟ้า (Reading 2) หลังจากนั้น นำค่าการนำไฟฟ้าที่วัดได้ไปแทนค่าใน สมการตามวิธีการของ Dionisio-Sese and Tobita (1998)

$$\text{Electrolyte leakage \%} = (\text{Reading 1} / \text{Reading 2}) \times 100$$

2.3 การวิเคราะห์หาพันธุทนแล้ง

วิเคราะห์หาพันธุทนแล้งโดยนำข้อมูลการเจริญเติบโตและค่าทางสรีรวิทยามาคำนวณดัชนีทนแล้ง (drought tolerance index) ตามสมการ

$$\text{Drought tolerance index} = (Y_s \times Y_p) / \bar{Y}_p^2$$

เมื่อ Y_s คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตหรือค่าทางสรีรวิทยาภายใต้ภาวะขาดน้ำของพันธุ์นั้นๆ

Y_p คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตหรือค่าทางสรีรวิทยาภายใต้ภาวะปกติของพันธุ์นั้นๆ

\bar{Y}_p คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตหรือค่าทางสรีรวิทยาภายใต้ภาวะปกติของทุกพันธุ์

นำค่าดัชนีการทนแล้งมาวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis : PCA) รวมถึงวิเคราะห์ hierarchical clustering analysis และสร้างแผนภาพความร้อน (heat map) ด้วยโปรแกรม Clust Vis software (Metsalu and Vilo, 2015).

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมือง

1.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่าง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในพื้นที่รอบทะเลสาบสงขลาในเขตพื้นที่ 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสงขลา สํารวจและรวบรวมตัวอย่างในเขตอำเภอระโนด อำเภอสทิงพระ อำเภอกะแสสินธุ์ อำเภอสิงหนคร อำเภอเมืองสงขลา อำเภอกวนเนียง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดพัทลุง ในเขตอำเภอเมืองพัทลุง อำเภอปากพะยูน อำเภอบางแก้ว อำเภอเขาชัยสน อำเภอกวนขนุน และจังหวัดนครศรีธรรมราช ในเขตอำเภอชะอวด รวมถึงการขอความอนุเคราะห์พันธุ์ข้าวจากศูนย์วิจัยข้าวจังหวัดพัทลุง สามารถรวบรวมพันธุ์ข้าวได้ 123 พันธุ์ ได้รับความอนุเคราะห์ 86 พันธุ์ ข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่เก็บตัวอย่างได้จากพื้นที่จังหวัดพัทลุง จำนวน 10 พันธุ์ จังหวัดสงขลา 18 พันธุ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช 3 พันธุ์ และพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 5 พันธุ์

จากการสำรวจในพื้นที่เป้าหมาย พบว่า เกษตรกรปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองน้อยลง เปลี่ยนมาปลูกข้าวพันธุ์ปรับปรุงมากขึ้น เนื่องจากขายได้ในราคาสูงกว่าข้าวพันธุ์พื้นเมือง เป็นที่นิยมในผู้บริโภคจำนวนมาก โดยในจังหวัดพัทลุง มีการปลูกข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ข้าวหอมปทุมธานี 1 และข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นจำนวนมาก และข้าวพื้นเมืองที่เกษตรกรปลูกจะปลูกไว้บริโภคในครัวเรือนเป็นส่วนใหญ่ ในจังหวัดสงขลา มีการปลูกข้าวพันธุ์หอมปทุมธานี 1 และข้าวพันธุ์สังข์หยด ส่วนในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราชอำเภอชะอวด นิยมปลูกข้าวหอมใบเตย ซึ่งเป็นพันธุ์พื้นเมืองที่มีชื่อเสียงเป็นที่นิยมในพื้นที่นั้น

ตารางที่ 4 รายชื่อพันธุ์ข้าว รหัสบ่งชี้ตัวอย่างที่ใช้และแหล่งที่มาของตัวอย่าง

ลำดับที่	รหัสบ่งชี้พันธุ์	ชื่อพันธุ์ข้าว (ภาษาไทย)	ชื่อพันธุ์ข้าว (ภาษาอังกฤษ)	แหล่งที่มาของ พันธุ์ข้าว
1	PI01	รวงยาวแดง	Ruong Yaw Deng	พัทลุง
2	PI02	เบาหอม	Bao Hom	พัทลุง
3	PI03	ข้าวเหลือง	Khaw Leong	พัทลุง
4	PI04	หอมจันทร์	Hom Cham	พัทลุง
5	PI05	แก่นจันทร์	Kean Chan	พัทลุง
6	PI06	ช่อปลีขาว	Chor Plee khaw	พัทลุง
7	PI07	แม่หม้าย	Mea Mui	พัทลุง
8	PI08	ช่อจิ้งหรีด	Chor Chang Wad	พัทลุง
9	PI09	ฮัลฮำตุลิล่าห์	HulHumdoulila	พัทลุง
10	PI10	กิโละ	Kilo	พัทลุง
11	PI11	ข้าวห่อ	Khaw Hor	พัทลุง
12	PI12	วงช้าง	Nguang Chang	พัทลุง
13	PI13	ช่อละมัย	Chor La Mai	พัทลุง
14	PI14	แสนงาม	Saan Ngam	พัทลุง
15	PI15	ลูกนน	Look Non	พัทลุง
16	PI16	จุกเทียมแดง	Chuk Tium Dang	พัทลุง
17	PI17	หัวนาคำ	Hua Nadum	พัทลุง

18	PI18	สามรวง	Sam Ruong	พัทลุง
19	PI19	บ่วงข้าว	Buang Khaw	พัทลุง
20	PI20	เอวมตแดง	Eaw Mod Deang	พัทลุง
21	PI21	ลูกเขย	Look Kheoy	พัทลุง
22	PI22	มะจานู	Majaanoo	พัทลุง
23	PI23	ลูกตอ	Look Tor	พัทลุง
24	PI25	จะนะ	Chana	พัทลุง
25	PI26	สายช่อ	Sai Chor	พัทลุง
26	PI27	ช่อปุด	Chor Pud	พัทลุง
27	PI28	ยาโคเบา	Ya Ko Bao	พัทลุง
28	PI29	นาทวี	Na Ta Wee	พัทลุง
29	PI30	เหลื่องหอม	Leung Hom	พัทลุง
30	PI31	มันตม	Mon Tom	พัทลุง
31	PI32	เมล็ดขาว	Maled Khaw	พัทลุง
32	PI33	หลอกแขก	Lok Kheak	พัทลุง
33	PI34	ห้วนเรียน	Wan Rean	พัทลุง
34	PI35	นางหลง	Nang long	พัทลุง
35	PI36	โคกโพธิ์	Kok Poh	พัทลุง
36	PI37	ลำหัก	Lum Hak	พัทลุง
37	PI38	ซีริปปา	Si Rippa	พัทลุง

38	PI39	คอน	Korn	พัทลุง
39	PI40	ดอน	Dorn	พัทลุง
40	PI41	ท้ายดำ	Tai Dum	พัทลุง
41	PI42	กือเซาะขาว	Keu Sor Khaw	พัทลุง
42	PI43	หม้ายหญ้า	Maay Ya	พัทลุง
43	PI44	พอน	Pon	พัทลุง
44	PI45	ระเด่น	Ra Den	พัทลุง
45	PI46	ลูกดำ	Look Dum	พัทลุง
46	PI47	แดง	Deang	พัทลุง
47	PI48	สามเดือน	Sam Deun	พัทลุง
48	PI49	ดอกพยอม	Dok Pa Yom	พัทลุง
49	PI50	ดอกชำ	Dok Kah	พัทลุง
50	PI51	หอมเจ็ดบ้าน	Hom Jed Baan	พัทลุง
51	PI52	ช่อไม้ไผ่	Chor Mai Pai	พัทลุง
52	PI53	นางเซียน	Nang Sean	พัทลุง
53	PI54	นางดำ	Nang Dum	พัทลุง
54	PI55	กูเมืองหลวง	Koo Meung Leong	พัทลุง
55	PI56	ภูเขาทอง	Poo Kao Tong	พัทลุง
56	PI57	ดอกขาม	Dok kham	พัทลุง
57	PI58	ชม	Kom	พัทลุง

58	PI59	ซ็องนาง	Chong Nang	พัทลุง
59	PI60	ช่อลุง	Chor Lung	พัทลุง
60	PI61	รีบู	Ree Bu	พัทลุง
61	PI62	ทางหวาย	Tang Wai	พัทลุง
62	PI63	นางหงส์ดำ	Nang Hong Dum	พัทลุง
63	PI64	กูนิง	Koo Ning	พัทลุง
64	PI65	กระดั่งงา	Kra Dang Nga	พัทลุง
65	PI66	ข้าวแพน	Kao Pan	พัทลุง
66	PI67	นางมา	Nang Ma	พัทลุง
67	PI68	กือแซะดำ	Keu Sea Dum	พัทลุง
68	PI69	ช่อตานี	Chor Ta Nee	พัทลุง
69	PI70	ลูกปลา	Look Pla	พัทลุง
70	PI71	ลูกผึ้ง	Look Pung	พัทลุง
71	PI72	กลีบบัว	Kleab Bua	พัทลุง
72	PI73	แหวกหญ้า	Wak ya	พัทลุง
73	PI74	ไร่ทราย	Rai Sai	พัทลุง
74	PI75	ลูกปลา	Look Pla	พัทลุง
75	PI77	ปุย	Poo Yoo	พัทลุง
76	PI78	ลาบู	La Boo	พัทลุง
77	PI79	ข้าวป้อม	Khaw Pom	พัทลุง

78	PI80	ข้าวรัก	Khaw Rak	พัทลุง
79	PI81	นางลอย	Nang Loy	พัทลุง
80	PI82	พวงหวาย	Puang Wai	พัทลุง
81	PI83	ก้นตัง	Kan Tang	พัทลุง
82	PI45	ระเด่น	Ra Den	พัทลุง
83	PI85	คล้าหนัก	Kla Nak	พัทลุง
84	PI86	เมืองไทร	Meung Sai	พัทลุง
85	PI87	หมออรุณ	Moh Aroon	พัทลุง
86	PI88	เส้ม่า	Sae Mah	พัทลุง
87	PT11	สารสวย	Saan Suay	พัทลุง
88	PT12	เหนียวดำ	Neaw-Dum	พัทลุง
89	PT13	สังข์หยด	Sang Yod	พัทลุง
90	PT14	เล็บนก	Lep Nok	พัทลุง
91	PT15	เตี้ยมาเลย์แดง	Tia Malay-Daeng	พัทลุง
92	PT16	ไรซ์เบอร์รี่	Riceberry	พัทลุง
93	PT17	ยาไทร	Ya Sai	พัทลุง
94	PT18	เล็บนก	Lep Nok	พัทลุง
95	PT19	เฉียง	Chiang	พัทลุง
96	PT20	สังข์หยด	Sang Yod	พัทลุง
97	SK01	เข้มทอง	Khem Thong	สงขลา

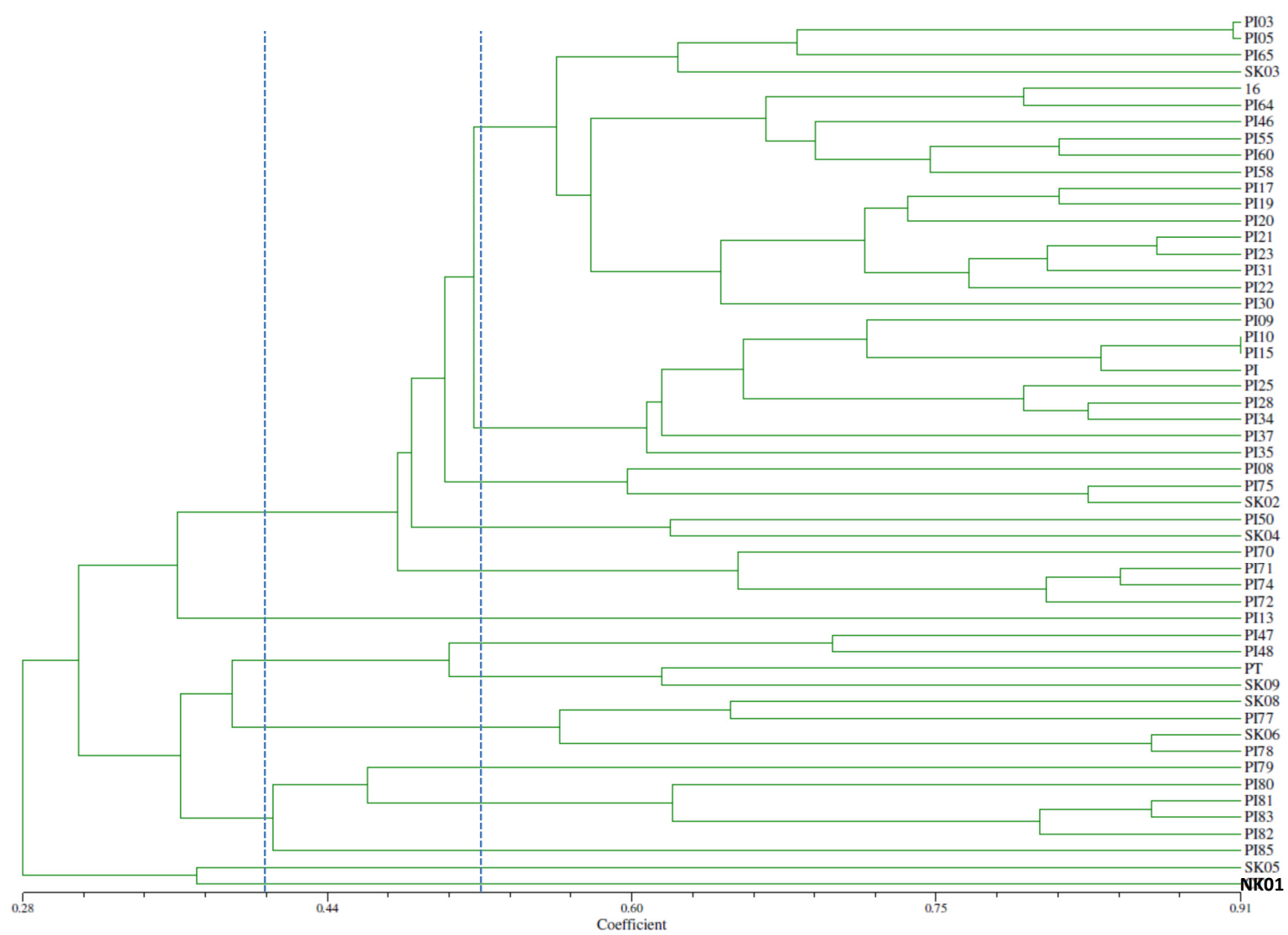
98	SK02	ลูกปลา	Look Pla	สงขลา
99	SK03	ข้าวแหมะ	Khaw Mae	สงขลา
100	SK04	ข้าวดำ	Khaw Dum	สงขลา
101	SK05	เล็บนก (หาดใหญ่)	Lep Nok	สงขลา
102	SK06	สังข์หยด	Sang Yod	สงขลา
103	SK07	หอมปทุม	Hom Pathum	สงขลา
104	SK08	มาเลย์	Malay	สงขลา
105	SK09	เล็บนก (รัตภูมิ)	Lep Nok	สงขลา
106	SK 31	ไอ้ฉะยิง (ระโนด)	I-Chiang	สงขลา
107	SK 32	หอมมะลิ	Hom Mali	สงขลา
109	SK 34	หอมราชินี	Hom Rachinee	สงขลา
110	SK 35	เหมะหอม	Mlea-Hom	สงขลา
111	SK 36	ช่อลุง	Chor-Lung	สงขลา
112	SK 37	ข้าวเหนียว	Kaw-Neaw	สงขลา
113	SK 38	ลูกปลา (ขุนทอง)	Look-Pla	สงขลา
114	SK 39	ข้าวหอม	Kao-Hom	สงขลา
115	SK 40	ข้าวเข้มทอง	Kem-Thong	สงขลา
116	NK 01	หอมนิล	Hom Nil	นครศรีธรรมราช
117	NK 02	หอมไบเตย	Hom Bi-Toey	นครศรีธรรมราช
118	NK 03	เล็บนก	Lep Nok	นครศรีธรรมราช

119	RD41	กข 41	RD41	พันธุ์ปรับปรุง
120	TU01	ข้าวหอมธรรมศาสตร์	Hom Tummasart	พันธุ์ปรับปรุง
121	RD15	กข 15	RD15	พันธุ์ปรับปรุง
122	HP01	ข้าวหอมปทุมธานี 1	Patumthani 1	พันธุ์ปรับปรุง
123	RD 6	กข 6	RD6	พันธุ์ปรับปรุง

1.2 การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยเครื่องหมายโมเลกุล SSR

ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้ SSR primers จำนวน 20 คู่ (ตารางที่ 1) มาใช้ในปฏิกิริยา PCR ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยเครื่องอิลคโตรโฟเรซิส และถ่ายภาพแถบดีเอ็นเอ วิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้ โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc V2.1 แปลงข้อมูลเป็นแบบ binary โดยแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเดียวกันคิดเป็นหนึ่งลักษณะ ให้ค่าคะแนนเป็น 1 เมื่อปรากฏแถบและ 0 เมื่อไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ คำนวณหาค่า Jaccard's similarity coefficient และจัดกลุ่มความสัมพันธ์โดยวิธี unweighted pair-group method with arithmetic means (UPGMA) เพื่อสร้างเดนโดแกรมดังแสดงในรูปที่ 4

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของพันธุกรรมข้าวพื้นเมืองจำนวน 53 พันธุ์ ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 20 ไพรเมอร์ พบว่า มีเครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 4 ไพรเมอร์ ได้แก่ RM60, RM260, RM316 และ RM416 ให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์ (monomorphic) และมีเครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphisms) จำนวน 16 ไพรเมอร์ คือ RM219, RM263, RM315, RM72, RM410, RM3805, RM36, RM525, RM517, RM8094, RM212, RM1261, RM566, RM7, RM234, RM493 ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมดจำนวน 59 แถบ มีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดต่อไพรเมอร์ 2-6 แถบ โดยไพรเมอร์ RM410 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุด คือ 6 แถบ ค่าความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของข้าวทั้ง 53 สายพันธุ์ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (Jaccard's similarity) อยู่ระหว่าง 0.28-0.91 (รูปที่ 4) โดยที่สัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.4 และ 0.5 สามารถแบ่งข้าวพันธุ์พื้นเมืองได้เป็น 7 กลุ่มและ 14 กลุ่มตามลำดับ (ตารางที่ 5)



รูปที่ 4 เดนโดแกรม (dendrogram) แสดงความสัมพันธ์ของพันธุสำเนาพื้นเมืองจากข้อมูลความสัมพันธ์จากเครื่องหมาย SSR จำนวน 20 เครื่องหมาย

ตารางที่ 5 รายชื่อพันธุ์ข้าว 7 กลุ่มเมื่อแบ่งที่สัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.4

กลุ่มที่	จำนวน	พันธุ์ข้าว
1	36 พันธุ์	ข้าวเหลือง (PI03) แก่นจันทร์ (PI05) ช่อจังหวัด (PI08) อัลฮัมดุลิลลาห์ (PI09) กิโล (PI10) ลูกนนท์ (PI15) จุกเทียมแดง (PI16) หัวนาคำ (PI17) บ่วงข้าว (PI19) เอมตแดง (PI20) ลูกเขย (PI21) มะจานู (PI22) ลูกตอ (PI23) จะนะ (P25) ยาโคเบา (PI28) เหลืองหอม (PI30) มันทม (PI31) หวังเรียน (PI34) นางหลง (PI35) ลำหัก (PI37) ลูกดำ (PI46) ดอกข่า (PI50) กุ่มเมืองหลวง (PI55) ขม (PI58) ช่อลุง (PI60) ภูนิง (PI64) กระจดงา (PI65) ลูกปลา (PI70) ลูกฝั่ง (PI71) กลีบบัว (PI72) แหวกหญ้า (PI73) ลูกปลา (PI75) ปูยู (PI77) ลูกปลา (SK02) ข้าวแหมะ (SK03) ข้าวดำ (SK04)
2	1 พันธุ์	ช่อละมัย (PI13)
3	4 พันธุ์	แดง (PI47) สามเดือน (PI48) สารสวย (PT11) เล็บนก (SK09)
4	4 พันธุ์	มาเลย์ (SK08) ปูยู (PI77) สังข์หยด (SK06) ลาปู (PI78)
5	6 พันธุ์	ข้าวป้อม (PI79) ข้าวรัก (PI80) นางลอย (PI81) พวงหวาย (PI82) กันตัง (PI83) คล้าหนัก (PI85)
6	1 พันธุ์	เล็บนก (SK05)
7	1 พันธุ์	หอมนิล (NK01)

ตารางที่ 6 รายชื่อพันธุ์ข้าว 14 กลุ่มเมื่อแบ่งที่สัมประสิทธิ์ความเหมือนเท่ากับ 0.5

กลุ่มที่	จำนวน	พันธุ์ข้าว
1	18 พันธุ์	ข้าวเหลือง (PI03) แก่นจันทร์ (PI05) กระจ่าง (PI65) ข้าวแหมะ (SK03) ลูกดำ (PI46) ภูนิง (PI64) กุ่มเมืองหลวง (PI55) หัวนาคำ (PI17) บ่วงข้าว (PI19) ชม (PI58) ช่อสูง (PI60) มดแดง (PI20) ลูกเขย (PI21) มะจานู (PI22) ลูกตอ (PI23) มันทม (PI31) เหลืองหอม (PI30)
2	9 พันธุ์	อัลฮัมดุลิลลาห์ (PI09) กิโล (PI10) ลูกนนท์ (PI15) จะนะ (P25) ยาโคบา (PI28) เหลืองหอมหัวน้เรียน (PI34) นางหลง (PI35) ลำหัก (PI37)
3	3 พันธุ์	ช่อจังหวัด (PI08) นางหลง (PI35) ลูกปลา (SK02)
4	2 พันธุ์	ดอกข่า (PI50) ข้าวดำ (SK04)
5	4 พันธุ์	ลูกปลา (PI70) ลูกฝั่ง (PI71) กลีบบัว (PI72) ลูกปลา (PI75)
6	1 พันธุ์	ช่อละมัย (PI13)
7	2 พันธุ์	แดง (PI47) สามเดือน (PI48)
8	2 พันธุ์	สารสวย (PT11) เล็บนก (SK09)
9	4 พันธุ์	มาเลย์ (SK08) ปูยู (PI77) สังข์หยด (SK06) ลานู (PI78)
10	1 พันธุ์	ข้าวป้อม (PI79)
11	4 พันธุ์	ข้าวรัก (PI80) นางลอย (PI81) พวงหวาย (PI82) กันตัง (PI83)
12	1 พันธุ์	คล้ายนก (PI85)
13	1 พันธุ์	เล็บนก (SK05)
14	1 พันธุ์	หอมนิล (NK01)

2. การคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะทนแล้งในระยะต้นกล้า

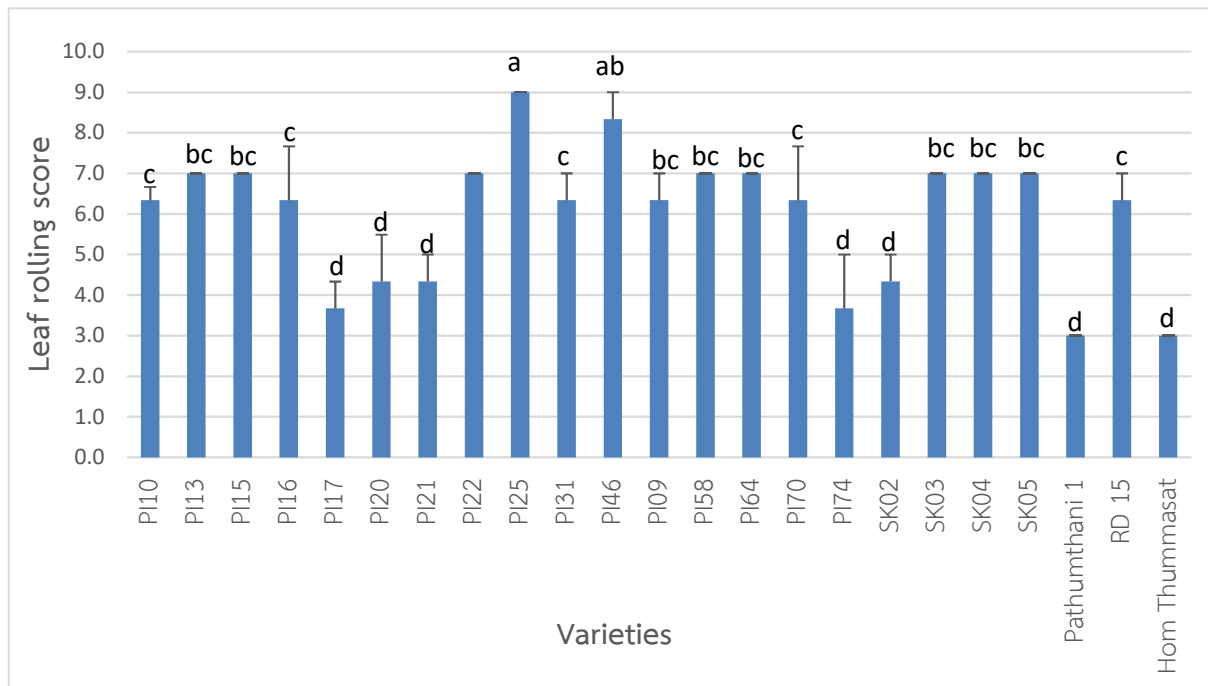
2.1 การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาในสภาวะควบคุมและสภาวะแล้ง

2.1.1 ความชื้นดินในกระถาง

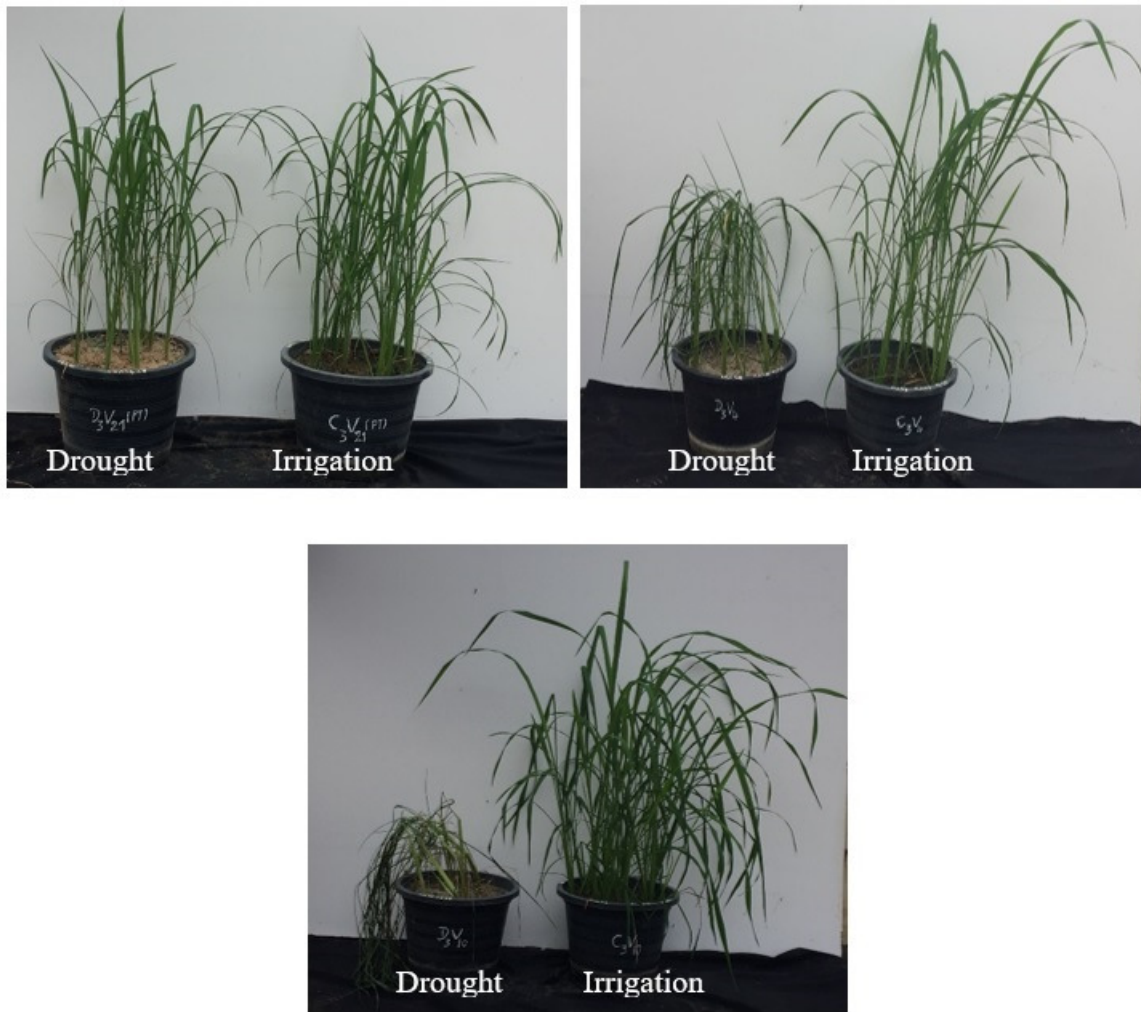
จากการวัดความชื้นดินในกระถางเมื่อทำการทดลองรดน้ำพบว่า ในชุดทดลองควบคุม ความชื้นในกระถางมีค่า $27.7 \pm 1.27\%$ และในชุดทดลองรดน้ำพบว่า ความชื้นดินในกระถางมีค่าลดลงเหลือ $2.3 \pm 0.7\%$

2.1.2 คะแนนการเปลี่ยนแปลงของใบข้าว

จากการให้คะแนนการเปลี่ยนแปลงของใบข้าวหลังจากมีการทดลองครบ 7 วัน พบว่า ในชุดทดลองควบคุมที่ได้รับน้ำเต็มที่ ข้าวทุกพันธุ์มีใบสมบูรณ์ ไม่ปรากฏการม้วนของใบ อยู่ในระดับคะแนน 0 ในขณะที่ชุดทดลองที่มีการงดน้ำ 7 วัน ข้าวพันธุ์ต่างๆ แสดงการเปลี่ยนแปลงของใบ (รูปที่ 6) โดยพบการม้วนของใบในระดับต่างๆ คือ ข้าวพันธุ์หอมธรรมศาสตร์ ห้วนดำ ไไร่ทราย เอวมดแดง ลูกเขย และลูกปลา (SK02) มีคะแนนการม้วนของใบ 3.00, 3.00, 3.67, 3.67, 4.33, 4.33 และ 4.33 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับข้าวพันธุ์อื่น ๆ (รูปที่ 5) แสดงให้เห็นว่าข้าวทั้ง 7 พันธุ์ดังกล่าว มีการม้วนของใบน้อยเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่น ข้าวพันธุ์จະนะ และลูกดำ มีคะแนนการม้วนของใบสูงสุด คือ 9.00 และ 8.33 ตามลำดับ (รูปที่ 5) แสดงให้เห็นว่าใบข้าวทั้งสองพันธุ์ ๆ ได้รับผลกระทบจากการงดน้ำมากที่สุด คะแนนการม้วนของใบ



รูปที่ 5 ค่าเฉลี่ยคะแนนการเปลี่ยนแปลงของใบข้าวเมื่อผ่านการงดน้ำ 7 วัน (PI10: กิโละ, PI13: ช่อละมัย, PI15: ลูกนนท์ท์, PI16: จุกเทียมแดง, PI17: หัวนาคำ, PI20: เอวมดแดง, PI21: ลูกเขย, PI22: มะจานู, PI25: จะนะ, PI31:มันตม, PI46: ลูกดำ, PI09: อัลฮัมดุลิลลา, PI58: ขม, PI64:กุนิง, PI70: ลูกปลา, PI74: ไร่ทราย, SK02: ลูกปลา, SK03: ข้าวแหมะ, SK04: ข้าวดำ, SK05: เล็บนก, Pathumthani 1: ข้าวหอมปทุมธานี 1, RD15: Hom Thummasat: ข้าวหอมธรรมศาสตร์) ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ error bar แสดง standard error of the mean (SE)



รูปที่ 6 การเปลี่ยนแปลงของใบข้าวเมื่อผ่านการงดน้ำ 7 วัน โดย Irrigation คือ ชุดทดลองควบคุมที่มีการให้น้ำ และ Drought คือ ชุดทดลองที่มีการงดน้ำ 7 วัน

2.1.3 อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ

การเก็บข้อมูลอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ พบว่า ในสถานะที่ได้รับน้ำเต็มที่พันธุ์ข้าวมีอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ 0.30 – 0.68 โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.45 และเมื่อผ่านการงดน้ำ อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบอยู่ระหว่าง 0.39 – 1.35 (ตารางที่ 7) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองควบคุม เมื่อผ่านการงดน้ำเป็นเวลา 7 วัน ข้าวพันธุ์จะนะ และลูกดามีอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.35 และ 1.07 ตามลำดับ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ 182.09 และ 228.76 ตามลำดับ (ตารางที่ 8) พันธุ์ลูกปลามีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 281.75

อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบถ้าพันธุ์ที่มีค่ายิ่งมาก แสดงว่ามีรากมาก และมีแนวโน้มที่จะทนความแห้งแล้งได้ดีกว่าพันธุ์ที่มีค่าน้อย เพราะรากเป็นส่วนสำคัญในการดูดน้ำของพืช การปรับตัวในสภาวะขาดน้ำ โดยการที่รากมีการเจริญเติบโตเร็ว จะเพิ่มระบบรากฝอย เพื่อให้มีพื้นที่ดูดรับน้ำได้มาก ซึ่งเป็นกลไกการทนแล้งอย่างหนึ่งของพืช การหยั่งรากที่ลึกลงไปในดินได้มาก และแผ่กระจายได้มากจะช่วยให้ทนทานต่อความแห้งแล้งได้มาก และเพิ่มความสามารถในการดูดน้ำจากดิน (Turner, 1986)

2.1.4 ปริมาณโพรลิน

ปริมาณโพรลินตั้งต้นในสภาวะที่ข้าวได้รับน้ำมีค่าแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ โดยมีความอยู่ระหว่าง 0.88 – 30.88 $\mu\text{g/g}$ FW เมื่อข้าวอยู่ในสภาวะขาดน้ำ ปริมาณโพรลินเพิ่มขึ้นในทุกพันธุ์ โดยมีความอยู่ระหว่าง 20.10 – 109.41 $\mu\text{g/g}$ FW พันธุ์ข้าวดำ มันตม กิไล ลูกนนท์ และเอวมดแดง เป็นพันธุ์ที่มีปริมาณโพรลินสูงในสภาวะขาดน้ำ โดยมีความเท่ากับ 109.41, 107.92, 106.30, 106.15, 101.94 $\mu\text{g/g}$ FW ตามลำดับ (ตาราง 7) เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของปริมาณโพรลินเปรียบเทียบกับสภาวะแล้งกับสภาวะควบคุม พบว่า พันธุ์กิไลมีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของปริมาณโพรลินสูงสุด คิดเป็น 12025.48% และพันธุ์หัวนาดำมีการเพิ่มขึ้นของโพรลินต่ำสุด เท่ากับ 17.85% (ตารางที่ 8)

การสะสมโพรลินเป็นตัวบ่งชี้อย่างหนึ่ง que แสดงให้เห็นว่าพืชอยู่ในสภาวะเครียด ทั้งนี้ในสภาวะเครียดน้ำ เมื่อน้ำในต้นพืชลดลงจะส่งผลต่อความต่างศักย์ระหว่างดินกับพืช ทำให้น้ำในดินถูกดูดไปใช้ได้น้อยลง เมื่อน้ำในดินลดลงถึงจุดที่พืชนำไปใช้ได้น้อยมาก ปากใบจะค่อยๆ ปิดเพื่อลดการคายน้ำ (สายัณห์, 2537) ในการรักษาศักย์ของน้ำจะมีกระบวนการปรับแรงดันออสโมติกภายในเซลล์เพื่อให้พืชสามารถเจริญเติบโตและดำรงชีวิตอยู่ได้ ทั้งนี้กระบวนการหนึ่งที่พบได้ทั่วไปคือ พืชจะมีการสะสมสารบางชนิดในรูปของสารละลาย เช่น โพรลิน ไกลซีน บีเทน กรดอินทรีย์และน้ำตาลภายในไซโตพลาสซึม ดังนั้น การสะสมโพรลินจึงใช้เป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการปรับตัวให้เกิดการทนแล้งของพืชได้

2.1.5 การร่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์

การร่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์บ่งบอกถึงสภาพความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ภายในพืชที่ได้รับสภาวะขาดน้ำ โดยพบว่า การร่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ภายในใบเพิ่มขึ้นตามระดับความรุนแรงของสภาวะขาดน้ำที่ได้รับในพืชหลายชนิด เช่น หญ้าเบอร์มิวด้า (Hu et al., 2010) ถั่วลิสง (McKersie et al., 1996) ถั่ว (França et al., 2000) ข้าวสาลี (Bajji et al., 2001) กาแฟ (Lima et al., 2002)

จากผลการทดลองพบว่า การรดน้ำทำให้การร่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ในข้าวเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นถึงความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ที่เกิดจากการขาดน้ำ (ตารางที่ 7) โดยสภาวะขาดน้ำทำให้พันธุ์กิไล มันตม และช่อละมัย มีค่าการร่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์สูง โดยมีค่าเท่ากับ 29.90, 22.13, 19.68% ตามลำดับ (ตารางที่ 7) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองควบคุม พบว่า ข้าวพันธุ์กิไล มันตม และเล็บนก (SK05) มีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของการร่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์สูงสุด คิดเป็น 293.81, 247.16 และ 216.85% (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ ปริมาณโพรลีน และการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ในชุดทดลอง ควบคุมที่มีการให้น้ำ (Irrigation) และชุดทดลองที่มีการงดน้ำ (Drought)

Varieties	Root to shoot ratio		Proline content (µg/g FW)		Electrolyte leakage (%)	
	Irrigation	Drought	Irrigation	Drought	Irrigation	Drought
PI10	0.52 ^{cdef}	0.40 ^{fg}	0.88 ^f	106.30 ^{ab}	7.59 ^{ab}	29.90 ^a
PI13	0.41 ^{abcde}	0.39 ^g	2.33 ^f	98.73 ^{abc}	7.34 ^{ab}	19.68 ^{bc}
PI15	0.46 ^{abcdef}	0.49 ^{efg}	2.58 ^f	106.15 ^{ab}	8.16 ^a	10.93 ^{cde}
PI16	0.48 ^{abcdef}	0.63 ^{defg}	1.45 ^f	95.35 ^{abc}	6.46 ^{ab}	6.86 ^e
PI17	0.49 ^{abcdef}	0.78 ^{bcdef}	18.19 ^{cde}	21.44 ^f	6.14 ^{ab}	6.53 ^e
PI20	0.48 ^{abcdef}	0.59 ^{defg}	6.38 ^f	101.94 ^{abc}	5.07 ^b	6.97 ^e
PI21	0.30 ^{ef}	0.55 ^{defg}	1.09 ^f	72.65 ^d	6.74 ^{ab}	9.07 ^{de}
PI22	0.42 ^{bcdef}	0.68 ^{cdef}	1.88 ^f	88.01 ^{bcd}	6.74 ^{ab}	9.36 ^{de}
PI25	0.48 ^{abcdef}	1.35 ^{abcdef}	2.63 ^f	98.92 ^{abc}	5.75 ^{ab}	14.02 ^{bcde}
PI31	0.34 ^{def}	0.61 ^{defg}	2.53 ^f	107.92 ^{ab}	6.38 ^{ab}	22.13 ^{ab}
PI46	0.33 ^{def}	1.07 ^{abc}	2.94 ^f	102.53 ^{abc}	4.73 ^b	9.65 ^{de}
PI09	0.42 ^{bcdef}	0.89 ^{bcd}	30.88 ^a	91.34 ^{abc}	5.28 ^{ab}	7.89 ^e
PI58	0.38 ^{cdef}	0.71 ^{cdefg}	24.16 ^b	84.52 ^{cd}	4.93 ^b	10.32 ^{de}
PI64	0.39 ^{cdef}	0.48 ^{efg}	1.93 ^f	95.67 ^{abc}	5.84 ^{ab}	6.53 ^e
PI70	0.27 ^f	1.02 ^{bcd}	14.83 ^e	92.34 ^{abc}	5.48 ^{ab}	5.70 ^e
PI74	0.32 ^{def}	0.79 ^{bcde}	14.33 ^e	48.18 ^e	5.44 ^{ab}	8.47 ^e
SK02	0.51 ^{abcde}	0.55 ^{defg}	14.83 ^e	22.30 ^f	7.75 ^{ab}	7.57 ^e
SK03	0.65 ^{ab}	0.43 ^{efg}	23.17 ^{bc}	98.09 ^{abc}	6.41 ^{ab}	13.29 ^{cde}
SK04	0.49 ^{abcdef}	0.39 ^g	20.55 ^{bcd}	109.41 ^a	6.45 ^{ab}	12.04 ^{cde}
SK05	0.61 ^{abc}	0.52 ^{defg}	14.21 ^e	93.11 ^{abc}	5.73 ^{ab}	18.16 ^{bcd}
Pathumthani 1	0.55 ^{abcd}	0.51 ^{defg}	15.70 ^{de}	29.76 ^f	6.49 ^{ab}	6.66 ^e
RD 15	0.42 ^{bcdef}	0.56 ^{defg}	14.67 ^e	53.28 ^e	6.00 ^{ab}	6.56 ^e
Hom Thummasat	0.68 ^a	0.57 ^{defg}	16.30 ^{de}	20.10 ^f	5.01 ^b	5.50 ^e
Mean	0.45	0.56	10.80	79.92	6.17	11.03
CV%	23.76	37.07	83.84	38.39	15.19	55.66

¹PI10: กิ๊โล, PI13: ซ่อละมัย, PI15: ลูกนนท์ห้, PI16: จุกเหียมแดง, PI17: หัวนาค้า, PI20: เวมตแดง, PI21: ลูกเขย, PI22: มะจัญ, PI25: จนะ, PI31:มันตม, PI46: ลูกค้ำ, PI09: อัลฮิมคูลิลลา, PI58: ขม, PI64:กุนิง, PI70: ลูกปลา, PI74: ไทราย, SK02: ลูกปลา, SK03: ข้าวแหมะ, SK04: ข้าวค้ำ, SK05: เล็บนค, Pathumthani 1: ข้าวหอมปทุมธานี 1, RD15: Hom Thummasat: ข้าวหอมธรรมศาสตร์

²คอลัมน์เดียวกัน ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range test

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ ปริมาณโพรลีน และการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ในชุดทดลองที่มีการงดน้ำ (Drought) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองควบคุมที่มีการให้น้ำ (Irrigation) ในข้าวพันธุ์ต่างๆ

Varieties	Root to shoot ratio	Proline Content	Electrolyte leakage
PI10	-23.60	12025.48	293.81
PI13	-5.07	4131.43	167.98
PI15	6.73	4009.03	33.97
PI16	31.40	6490.78	6.28
PI17	60.18	17.85	6.40
PI20	21.32	1497.86	37.33
PI21	82.46	6585.58	34.62
PI22	63.54	4572.92	38.79
PI25	182.09	3656.58	143.73
PI31	80.85	4165.48	247.16
PI46	228.76	3387.41	103.90
PI09	109.23	195.77	49.37
PI58	84.16	249.80	109.36
PI64	24.57	4856.99	11.81
PI70	281.75	522.80	3.89
PI74	149.28	236.24	55.70
SK02	6.35	50.38	2.36
SK03	-33.35	323.40	107.19
SK04	-21.56	432.32	86.72
SK05	-13.95	555.24	216.85
Pathumthani 1	-6.39	89.58	2.72
RD 15	35.39	263.21	9.27
Hom Thummasat	-15.54	23.33	9.80

¹PI10: กิโกล, PI13: ซ่อละมัย, PI15: ลูกนนท์, PI16: จุกเทียมแดง, PI17: หัวนาคำ, PI20: เอมตแดง, PI21: ลูกเขย, PI22: มะจานู, PI25: จะนะ, PI31:มันตม, PI46: ลูกดำ, PI09: อัลฮัมดุลิลลา, PI58: ขม, PI64:กุนิง, PI70: ลูกปลา, PI74: ไไร่ทราย, SK02: ลูกปลา, SK03: ข้าวเหมะ, SK04: ข้าวดำ, SK05: เล็บนก, Pathumthani 1: ข้าวหอมปทุมธานี 1, RD15: Hom Thummasat: ข้าวหอมธรรมศาสตร์

2.1.6 ปริมาณคลอโรฟิลล์

ในสภาวะที่ได้รับน้ำปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของข้าวทุกพันธุ์มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 381.19 g/m^2 เมื่อทำการรดน้ำ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยลดลงเหลือ 351.55 g/m^2 ข้าวพันธุ์กุนิง ลูกปลา (PI70) กข15 และหอมธรรมศาสตร์มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดเมื่อมีการรดน้ำ โดยมีค่าเท่ากับ 541.12 g/m^2 , 525.87 g/m^2 , 481.53 g/m^2 และ 445.57 g/m^2 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าทั้งสี่พันธุ์มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ได้รับน้ำปกติ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเมื่อเกิดสภาวะขาดน้ำปริมาตรของเซลล์ลดลงเนื่องจากเกิดการสูญเสียน้ำไปบางส่วน ทำให้เซลล์มีพื้นที่จำกัด คลอโรฟิลล์จึงมีพื้นที่ในการเคลื่อนตัวจำกัดไปด้วยทำให้เกิดการรวมกันในพื้นที่แคบกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ได้รับน้ำเต็มที่ การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในหน่วย g/m^2 จึงมีค่าเพิ่มขึ้น ทำให้อาจจะเป็นตัวชี้วัดที่ไม่เหมาะสมในการวัดผลจากความเครียดที่เกิดจากการขาดน้ำมากนัก และอาจใช้การวัดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงแทนการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ สำหรับการทดลองครั้งนี้ พันธุ์ข้าวที่ได้รับผลกระทบจากการขาดน้ำมากที่สุด ได้แก่ ข้าวดำและข้าวเล็บนก มีปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง 43.01% และ 40.68% ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ปริมาณคลอโรฟิลล์บ่งบอกถึงผลกระทบที่เกิดขึ้นกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงภายในพืช Cha-um และคณะ (2010) รายงานว่าคลอโรฟิลล์ใบข้าวพันธุ์หอมจันทร์ ปทุมธานี 1 และ กข6 มีปริมาณลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำ เมื่อปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงของพืชด้วย ซึ่งส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของข้าวทั้ง 3 พันธุ์ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบและการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิดลดลงเมื่อได้รับสภาวะขาดน้ำเช่นฝ้าย (Parida et al., 2007) ข้าวสาลี (Loggini et al., 1999) และสบู่ดำ (Sapeta et al., 2013)

2.1.7 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์

ปริมาณน้ำสัมพัทธ์เป็นตัวชี้วัดสำคัญที่แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการปรับตัว และการรักษาระดับในต้นพืชในระหว่างการเกิดสภาวะขาดน้ำ จากการทดลองครั้งนี้พบว่า ข้าวพันธุ์หอมธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 1

และหัวนาคำ สามารถรักษาระดับปริมาณน้ำสัมพัทธ์ได้สูงสุด มีค่าเท่ากับ 73.02%, 86.12% และ 84.3%, ตามลำดับ ในขณะที่ข้าวพันธุ์กิโละ ช่อละมัย มันตม เล็บนก และข้าวดำมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ต่ำสุดคือ 18.40%, 17.21%, 17.26, และ 7.27% ตามลำดับ (ตารางที่ 9) เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณน้ำสัมพัทธ์ พันธุ์มันตม และข้าวดำมีการลดลงของปริมาณน้ำสัมพัทธ์มากที่สุด เท่ากับ 80.51% และ 92.12% ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 9 ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ชุดทดลองควบคุมที่มีการให้น้ำ (Irrigation) และชุดทดลองที่มีการงดน้ำ (Drought)

Varieties	Total chlorophyll content (g/m ²)		Relative water content (%)	
	Irrigation	Drought	Irrigation	Drought
PI10	397.82 ^{abcd}	319.57 ^{efgh}	87.00 ^{abc}	18.40 ^{hi}
PI13	367.61 ^{abcd}	331.54 ^{efgh}	65.66 ^e	17.21 ^{hi}
PI15	322.50 ^{cd}	265.48 ^{ghi}	72.76 ^{de}	40.30 ^{efg}
PI16	426.72 ^{abcd}	315.47 ^{efgh}	89.86 ^{ab}	57.8 ^{bcde}
PI17	446.60 ^{abc}	356.24 ^{defg}	92.27 ^{ab}	87.68 ^a
PI20	370.00 ^{abcd}	298.84 ^{fghi}	87.45 ^{abc}	65.42 ^{bc}
PI21	311.06 ^d	325.53 ^{efgh}	74.85 ^{cde}	59.02 ^{bcd}
PI22	345.17 ^{abc}	424.56 ^{bcde}	89.94 ^{ab}	66.16 ^{bc}
PI25	347.68 ^{abc}	391.60 ^{cdef}	88.06 ^{abc}	33.75 ^{fgh}
PI31	358.11 ^{abcd}	378.34 ^{cdefg}	88.55 ^{ab}	17.26 ^{hi}
PI46	348.22 ^{bcd}	314.98 ^{efgh}	88.12 ^{abc}	42.63 ^{defg}
PI09	361.49 ^{abcd}	284.38 ^{fghi}	89.86 ^{ab}	52.32 ^{cde}
PI58	393.31 ^{abcd}	233.53 ^{hi}	93.67 ^a	53.83 ^{cde}
PI64	402.59 ^{abcd}	541.12 ^a	90.37 ^{ab}	48.64 ^{cdef}
PI70	445.38 ^{abc}	525.87 ^{ab}	79.70 ^{bcd}	65.08 ^{bc}
PI74	481.68 ^a	351.42 ^{defgh}	82.75 ^{abcd}	64.54 ^{bc}
SK02	458.00 ^{ab}	382.60 ^{cdef}	83.01 ^{abcd}	84.3 ^a
SK03	447.83 ^{abc}	350.91 ^{defg}	85.67 ^{abc}	27.07 ^{gh}
SK04	342.26 ^{bcd}	195.05 ⁱ	92.19 ^{ab}	7.27 ⁱ
SK05	333.93 ^{bcd}	198.08 ⁱ	84.12 ^{abcd}	26.85 ^{gh}
Pathumthani_1	381.04 ^{abcd}	373.37 ^{cdefg}	86.52 ^{abc}	86.12 ^a
RD15	348.38 ^{bcd}	481.53 ^{abc}	80.79 ^{abcd}	55.65 ^{bcde}
Hom Thummasat	329.93 ^{bcd}	445.57 ^{abcd}	86.02 ^{abc}	73.02 ^{ab}
Mean	381.19	351.55	85.18	50.01
CV%	12.79	25.91	7.94	46.72

¹PI10: กิโธ, PI13: ช่อละมัย, PI15: ลูกนนท์, PI16: จุกเทียมแดง, PI17: ห้วนดำ, PI20: เอมแดง, PI21: ลูกเขย, PI22: มะจานู, PI25: จะนะ, PI31: มันตม, PI46: ลูกดำ, PI09: อัลฮัมดุลิลลา, PI58: ขม, PI64: ภูนิง, PI70: ลูกปลา, PI74: ไทร่ทราย, SK02: ลูกปลา, SK03: ข้าวห่มมะ, SK04: ข้าวดำ, SK05: เล็บนก, Pathumthani 1: ข้าวหอมปทุมธานี 1, RD15: Hom Thummasat: ข้าวหอมธรรมศาสตร์

²คอลัมน์เดียวกัน ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range test

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดและปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในชุดทดลองที่มีการงดน้ำ (Drought) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองควบคุมที่มีการให้น้ำ (Irrigation) ในข้าวพันธุ์ต่างๆ

Varieties	Total chlorophyll content (g/m ²)	Relative water content %
PI10	19.67	78.85
PI13	9.81	73.78
PI15	17.68	44.61
PI16	26.07	35.68
PI17	20.23	4.97
PI20	19.23	25.19
PI21	-4.65	21.15
PI22	-23.00	26.44
PI25	-12.63	61.67
PI31	-5.65	80.51
PI46	9.55	51.62
PI09	21.33	41.78
PI58	40.62	42.53
PI64	-34.41	46.18
PI70	-18.07	18.34
PI74	27.04	22.01
SK02	16.46	1.53
SK03	21.64	68.40
SK04	43.01	92.12
SK05	40.68	68.08
<u>Pathumthani 1</u>	2.01	0.47
RD15	-38.22	31.11
Hom Thummasat	-35.05	15.11

¹PI10: กิโกล, PI13: ซ่อละมัย, PI15: ลูกนนท์, PI16: จุกเทียมแดง, PI17: หัวนาค้า, PI20: เอมตแดง, PI21: ลูกเขย, PI22: มะจานู, PI25: จะนะ, PI31: มันตม, PI46: ลูกดำ, PI09: อัลฮัมดุลิลลา, PI58: ชม, PI64: ภูนิง, PI70: ลูกปลา, PI74: ไไร่ทราย, SK02: ลูกปลา, SK03: ข้าวเหมะ, SK04: ข้าวดำ, SK05: เล็บนก, Pathumthani 1: ข้าวหอมปทุมธานี 1, RD15: Hom Thummasat: ข้าวหอมธรรมศาสตร์

2.2 การวิเคราะห์หาพันธุ์ทนแล้งด้วยดัชนีการทนแล้ง การวิเคราะห์ hierarchical clustering analysis และการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis : PCA)

2.2.1 ดัชนีทนแล้ง (drought tolerance index)

ดัชนีทนแล้งเป็นค่าหนึ่งที่ใช้ในการวิเคราะห์หาพันธุ์ที่ภายใต้สภาวะต่างๆ โดยปกติพันธุ์ที่มีค่าดัชนีทนแล้งสูงจะเป็นพันธุ์ที่ทนทานต่อสภาวะเครียดแล้งได้ดีเมื่อเทียบกับพันธุ์ที่มีค่าดัชนีทนแล้งต่ำกว่า แต่ในการศึกษาครั้งนี้ ดัชนีทนแล้งที่ได้จากการคำนวณจากค่าลักษณะต่างๆ ที่วัดได้จะพิจารณาแต่ละลักษณะไป เพราะบางลักษณะการมีค่าเพิ่มขึ้นจะส่งเสริมการทนแล้ง เช่น ปริมาณคลอโรฟิลล์ และอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ แต่บางลักษณะหากมีค่าเพิ่มขึ้นจะบ่งชี้ให้เห็นถึงความอ่อนแอต่อสภาวะแล้ง เช่น การร่วงไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ หรือคะแนนการเปลี่ยนแปลงลักษณะใบ เป็นต้น

หากพิจารณาดัชนีทนแล้งที่คำนวณได้จากปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่า พันธุ์ลูกปลา (PI70) เป็นพันธุ์ทนแล้ง ส่วนพันธุ์เล็บนก เป็นพันธุ์อ่อนแอ หากพิจารณาจากค่าดัชนีทนแล้งที่คำนวณจากปริมาณน้ำสัมพัทธ์ พันธุ์หัวนาคำ และปทุมธานี 1 จัดเป็นพันธุ์ทนแล้ง ส่วนกิโละและช่อละมัยจัดเป็นพันธุ์อ่อนแอ ค่าดัชนีทนแล้งที่คำนวณได้จากปริมาณโปรตีนแสดงให้เห็นว่าพันธุ์เอวมดแดง ไร่ทราย และ กข15 เป็นพันธุ์ทนแล้ง พันธุ์ลูกนัท จุกเทียมแดง และลูกเขยเป็นพันธุ์อ่อนแอ พันธุ์จະนะ และหอมธรรมศาสตร์เป็นพันธุ์ทนแล้ง เมื่อพิจารณาจากดัชนีทนแล้งที่คำนวณจากค่าน้ำหนักแห้งรากต่อน้ำหนักแห้งใบ ส่วนพันธุ์อ่อนแอคือ ช่อละมัย และลูกเขย นอกจากนี้หากใช้ค่าการร่วงไหลของสารอิเล็กโทรไลต์มีคำนวณดัชนีทนแล้ง หอมธรรมศาสตร์ และลูกปลาจัดเป็นพันธุ์ทนแล้ง ในขณะที่เป็นพันธุ์อ่อนแอ คือ พันธุ์กิโละและช่อละมัย (ตารางที่ 11) จะเห็นได้ว่า หากใช้ดัชนีทนแล้งที่คำนวณจากการวัดค่าใดค่าหนึ่ง จะได้พันธุ์แล้งและพันธุ์อ่อนแอที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากข้าวแต่ละพันธุ์มีความสามารถในการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดในสภาวะขาดน้ำแตกต่างกัน ใช้กระบวนการ หรือกลไกที่แตกต่างกันในการปรับตัว ดังนั้นในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้ง ควรพิจารณาค่าบ่งชี้หลายค่าร่วมกัน การทดลองนี้จึงมีการวิเคราะห์ การวิเคราะห์ hierarchical clustering analysis และการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis : PCA) ร่วมด้วยเพื่อหาพันธุ์ทนแล้งที่ดีที่สุด

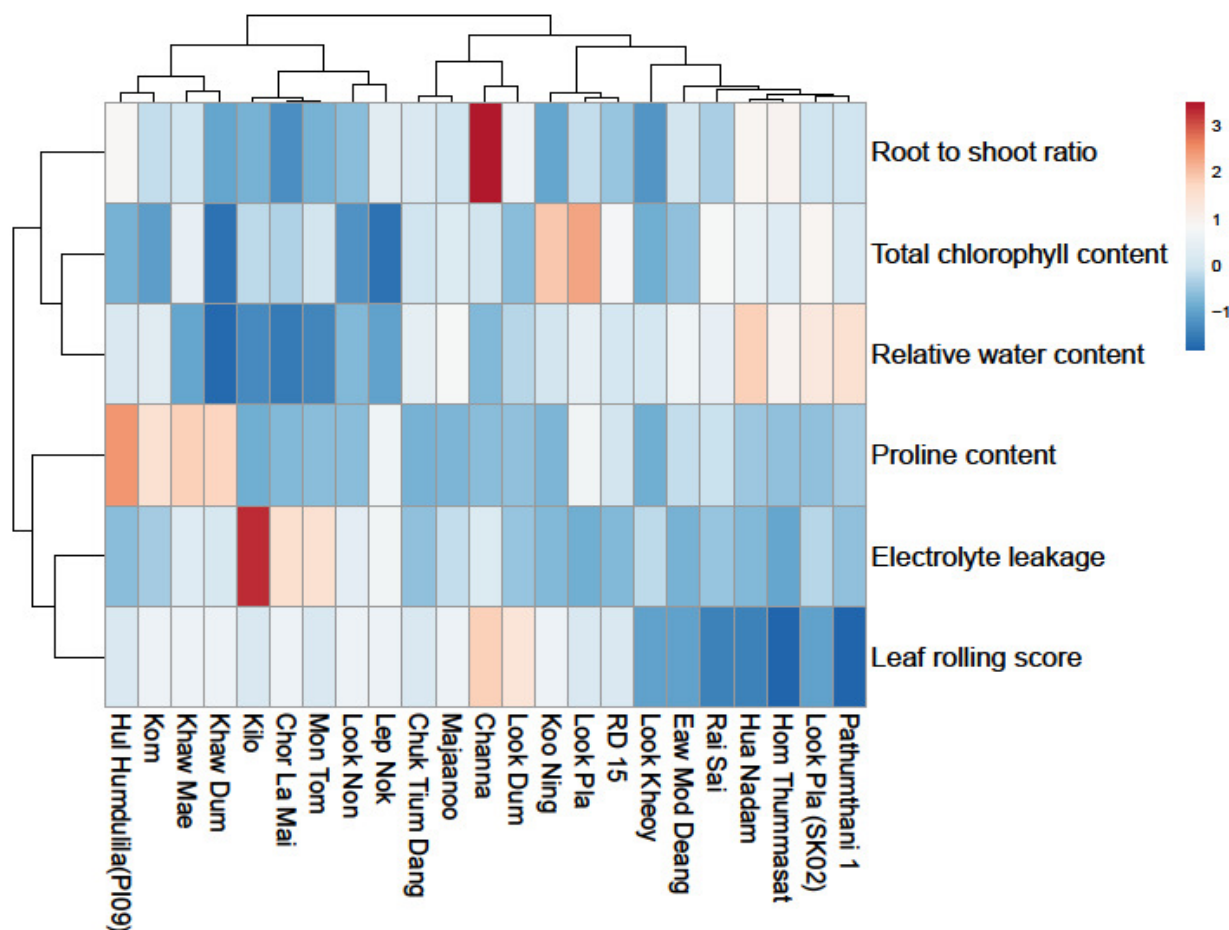
ตารางที่ 11 ดัชนีทนแล้งที่คำนวณจากค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาของต้นข้าวพันธุ์ต่างๆ

Varieties	Total chlorophyll	Relative water content	Proline content	Root to shoot ratio	Electrolyte leakage
PI10	0.95	0.35	0.50	0.82	3.06
PI13	0.83	0.15	1.97	0.77	3.79
PI15	0.58	0.40	2.35	1.09	2.34
PI16	0.92	0.71	1.18	1.49	1.16
PI17	1.09	1.12	3.34	1.85	1.05
PI20	0.76	0.79	5.57	1.39	0.92
PI21	0.69	0.61	0.67	0.81	1.60
PI22	1.00	0.82	1.42	1.39	1.65
PI25	0.93	0.41	2.23	3.16	2.11
PI31	0.93	0.21	2.34	1.01	3.70
PI46	0.75	0.52	2.58	1.70	1.20
PI09	0.70	0.61	24.17	1.84	1.09
PI58	0.63	0.69	17.50	1.33	1.33
PI64	1.49	0.60	1.58	0.92	1.00
PI70	1.61	0.71	11.73	1.32	0.82
PI74	1.16	0.74	5.91	1.21	1.21
SK02	1.20	0.96	2.83	1.38	1.54
SK03	1.08	0.32	19.47	1.38	2.23
SK04	0.45	0.09	19.27	0.93	2.03
SK05	0.45	0.31	11.33	1.56	2.73
<u>Pathumthani_1</u>	0.97	1.03	4.00	1.38	1.13
RD15	1.15	0.62	6.69	1.15	1.03
Hom Thummasat	1.01	0.87	2.80	1.90	0.72

¹PI10: กิโกล, PI13: ซอละมัย, PI15: ลูกนนท์, PI16: จุกเทียมแดง, PI17: หัวนาคำ, PI20: เวมดแดง, PI21: ลูกเขย, PI22: มะจานู, PI25: จะนะ, PI31:มันตม, PI46: ลูกคำ, PI09: อัลฮัมดุลิลลา, PI58: ขม, PI64:กุนิง, PI70: ลูกปลา, PI74: ไไร่ทราย, SK02: ลูกปลา, SK03: ข้าวห่มะ, SK04: ข้าวดำ, SK05: เล็บนก, Pathumthani 1: ข้าวหอมปทุมธานี 1, RD15: Hom Thummasat: ข้าวหอมธรรมศาสตร์

2.2.2 การวิเคราะห์ hierarchical clustering analysis โดยใช้ค่าดัชนีทนแล้ง

จากการสร้างแผนภาพความร้อน (heat map) และการวิเคราะห์ hierarchical clustering โดยใช้ค่าดัชนีทนแล้งที่คำนวณจากค่าการวัดการเจริญเติบโตและค่าทางสรีรวิทยาทั้งหมด พบว่า สามารถจัดพันธุ์ข้าว ออกได้เป็น 2 กลุ่ม ข้าวกลุ่มที่ 1 ได้แก่ ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ลูกปลา (SK02) หอมธรรมศาสตร์ หวานดำ ไร่ทราย เอวมตแดง ลูกเขย กข15 ลูกปลา (PI70) กุญิง ลูกดำ จะนะ มะจานู จุกเทียมแดง กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ข้าวพันธุ์เล็บนก ลูกนนท์ มั่นตม ช่อละม้าย กิโละ ข้าวดำ ขม ข้าวหะมะ และอัลฮัมดุลิลลา การวิเคราะห์ hierarchical clustering จะจัดข้าวที่มีการตอบสนองใกล้เคียงกันเข้าด้วยกัน โดยข้าวในกลุ่มที่ 1 มีแนวโน้มทนทานต่อความแล้งมากกว่ากลุ่มที่ 2 เนื่องจากเมื่อพิจารณาจากสีของแผนภาพความร้อน ข้าวกลุ่มที่ 1 อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด และปริมาณน้ำสัมพันธ์จะเพิ่มสูงกว่าพันธุ์ข้าวในกลุ่มที่ 2 ในทางกลับกันการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ การเพิ่มของปริมาณคลอโรฟิลล์ และคะแนนการเปลี่ยนแปลงลักษณะของใบของข้าวกลุ่มที่ 1 จะมีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ 2 แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการรักษาระดับน้ำในเซลล์ การปรับตัวให้มีการเจริญเติบโตของรากเพื่อการหาน้ำได้มากขึ้น และลดการเจริญเติบโตของใบเพื่อลดการสูญเสียน้ำได้ดีกว่าข้าวในกลุ่มที่ 2 รวมถึงความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงการม้วนใบของข้าวกลุ่มที่ 1 มีน้อยกว่าข้าวกลุ่มที่ 2 (รูปที่ 7)



รูปที่ 7 แผนภาพความร้อน (heat map) และการวิเคราะห์ hierarchical clustering โดยใช้ค่าดัชนีทนแล้งที่คำนวณจากค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยา (สีแดง แสดงให้เห็นค่าที่มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ย สีน้ำเงิน แสดงให้เห็นถึงค่าที่น้อยกว่าค่าเฉลี่ย)

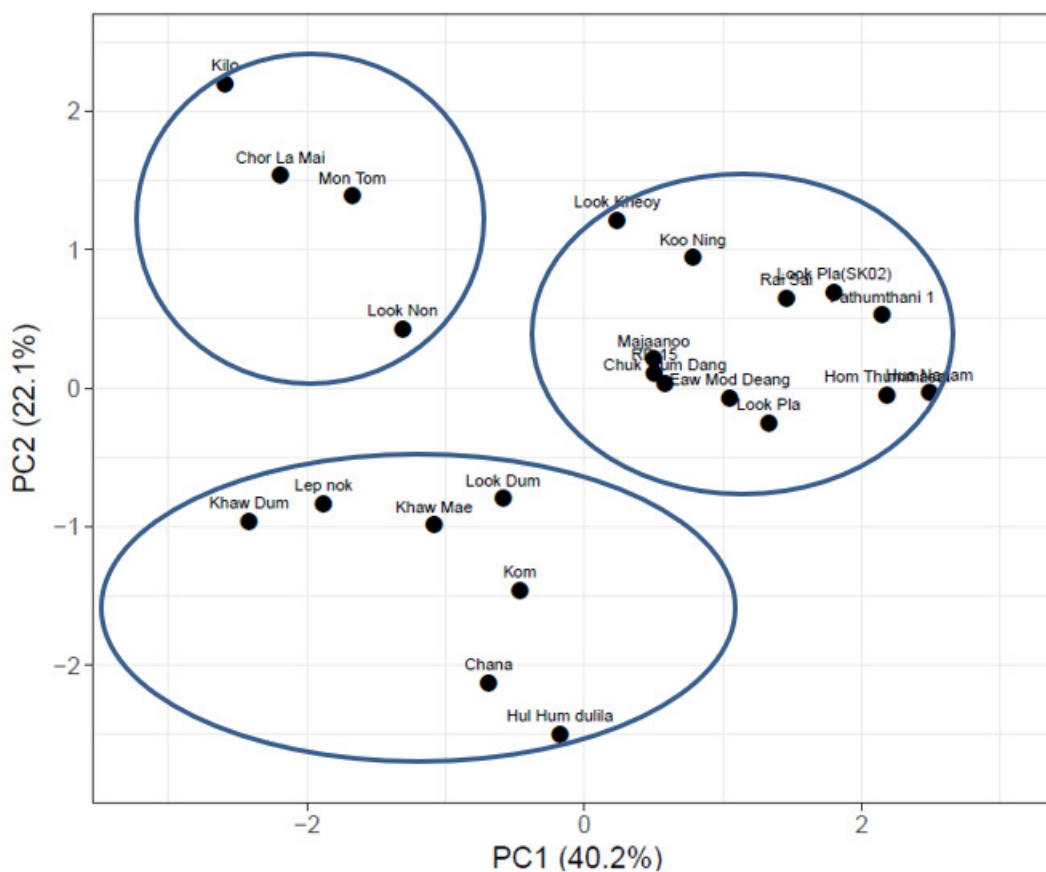
2.2.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis : PCA) โดยใช้ค่าดัชนีทนแล้ง

การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักโดยใช้ดัชนีทนแล้ง แบ่งข้าวออกเป็น 3 กลุ่ม โดย กลุ่ม 1 ประกอบด้วยข้าวพันธุ์กิโกล ซอละมัย มั่นตม และลูกนนท์ กลุ่ม 2 ประกอบด้วยข้าวพันธุ์จุกเทียมแดง หัวนาดา เอวมตแดง ลูกเขย มะจานู กูนิง ลูกปลา (PI70) ไไร่ทราย ลูกปลา (SK02) กข15 หอมธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 1 และกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย ข้าวดำ เล็บนก ข้าวหะมะ ลูกดำ ขม จะนะ และอัลฮัมดุลิลลา

PC1 และ PC2 มีค่า eigenvalue มากกว่า 1 และอธิบายความแปรปรวนได้ 40.20% และ 22.10% ตามลำดับ (รูปที่ 8) PC1 มีองค์ประกอบหลักคือ ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ค่าการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ และ

ค่าการเปลี่ยนแปลงของใบ ในขณะที่ PC2 มีองค์ประกอบหลักคือ ปริมาณโพสลินและอัตราส่วนน้ำหนักแห้ง รากต่อ (ตารางที่ 12)

ดังนั้นเมื่อพิจารณาร่วมกันจะพบว่า ข้าวในกลุ่มที่ 1 มีแนวโน้มเป็นพันธุ์อ่อนแอเนื่องจากมีแนวโน้มมี ปริมาณน้ำสัมพัทธ์น้อย มีค่าการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ และคะแนนการเปลี่ยนแปลงของใบมาก นั่นคือ ข้าวมีความสามารถในการรักษาระดับน้ำในเซลล์ได้น้อย เกิดการม้วนของใบ และความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ มาก โดยเฉพาะพันธุ์กิโล ข้าวกลุ่มที่ 2 มีแนวโน้มรักษาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ได้ดี มีค่าการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ และค่าการเปลี่ยนแปลงของใบน้อย จึงถือเป็นกลุ่มที่มีความทนแล้ง ข้าวกลุ่มที่ 3 มีแนวโน้มรักษาปริมาณ น้ำสัมพัทธ์ได้น้อยเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1 ถึงแม้จะมีแนวโน้มปริมาณโพสลิน และอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ มาก แต่หากไม่สามารถรักษาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ซึ่งถือเป็นตัวบ่งชี้สำคัญในการปรับตัวในสภาวะแล้งได้จึงถือว่า มีความทนทานต่อสภาวะแล้งได้น้อย



รูปที่ 8 Biplot จากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก Principle component analysis (PCA) โดยใช้ค่าดัชนี ทนแล้ง

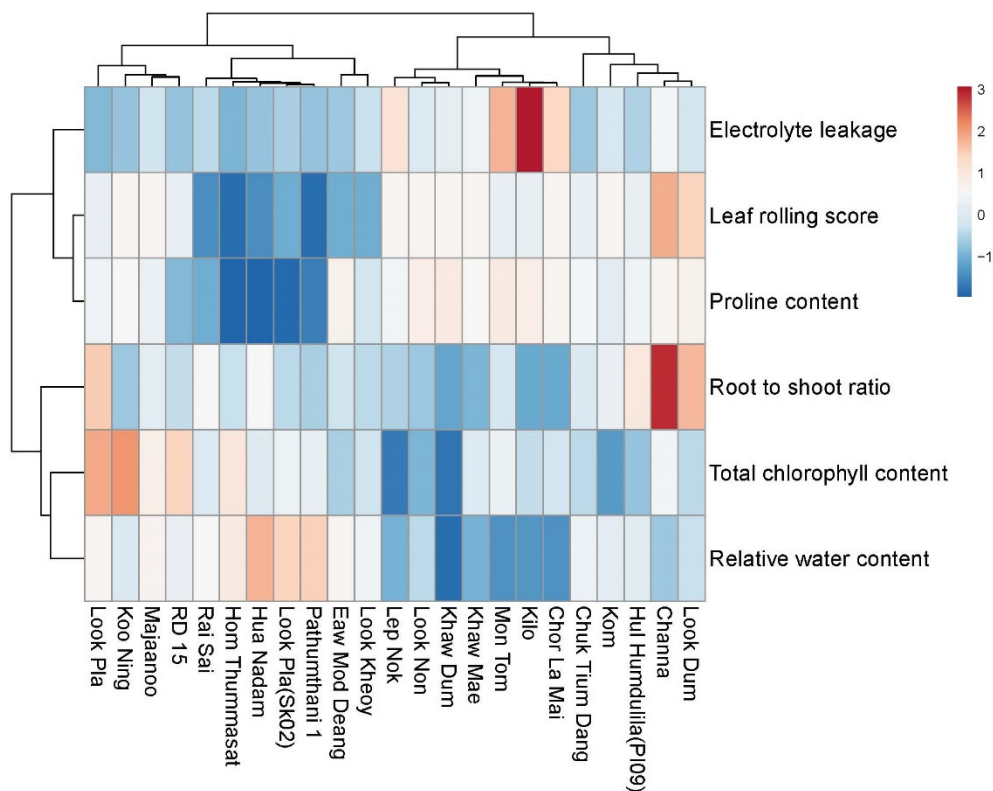
ตารางที่ 12 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก Principle component analysis (PCA) โดยใช้ค่าดัชนีทนแล้ง

Parameters	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
Total chlorophyll content	0.37	0.23	-0.30	-0.80	0.31	-0.10
Relative water content	0.61	-0.04	0.03	0.16	-0.03	0.77
Proline content	-0.10	-0.60	0.58	-0.30	0.40	0.14
Root to shoot ratio	0.15	-0.60	-0.60	0.32	0.38	-0.20
Electrolyte leakage	-0.50	0.40	-0.20	0.14	0.62	0.41
Leaf rolling score	-0.50	-0.30	-0.40	-0.40	-0.50	0.42
Eigenvalue	2.40	1.32	0.99	0.76	0.38	0.12
Variation (%)	0.40	0.22	0.17	0.13	0.06	0.02
Cumulative (%)	0.40	0.62	0.79	0.92	0.98	1.00

2.4 การวิเคราะห์ hierarchical clustering analysis และการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis : PCA) โดยใช้ค่าจากการวัดในสภาวะแห้งแล้ง

2.4.1 การวิเคราะห์ hierarchical clustering analysis โดยใช้ค่าจากการวัดในสภาวะแห้งแล้ง

จากการสร้างแผนภาพความร้อน (heat map) และการวิเคราะห์ hierarchical clustering โดยใช้ค่าจากค่าการวัดการเจริญเติบโตและค่าทางสรีรวิทยาของต้นข้าวในสภาวะแห้งแล้งทั้งหมด พบว่า สามารถจัดพันธุ์ข้าวออกได้เป็น 2 กลุ่ม ข้าวกลุ่มที่ 1 ได้แก่ ปทุมธานี 1 ลูกปลา (SK02) หอมธรรมศาสตร์ ห้วนดำ ไร้ทราย เอวมตแดง ลูกเขย กข15 ลูกปลา (PI70) กุNING มะจานู ข้าวกลุ่มที่ 2 ได้แก่ ข้าวพันธุ์ลูกดำ จะนะ อัลฮัมดุลิลลา จุกเทียมแดง ขม ช่อละมัย กิโละ มั่นตม ลูกนนท์ ข้าวดำ ข้าวห่มะ และเล็บนก ในสภาวะขาดน้ำ ข้าวกลุ่มที่ 1 มีแนวโน้มมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์มากกว่าข้าวกลุ่มที่ 2 รวมถึงมีปริมาณคลอโรฟิลล์ และอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบมากกว่า ในขณะที่มีปริมาณโพสทินน้อย มีค่าการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ และคะแนนการเปลี่ยนแปลงของใบน้อยกว่าข้าวกลุ่มที่ 2 จึงอาจกล่าวได้ว่าข้าวในกลุ่มที่ 1 มีความสามารถในการทนแล้งมากกว่าข้าวในกลุ่มที่ 2 (รูปที่ 9)



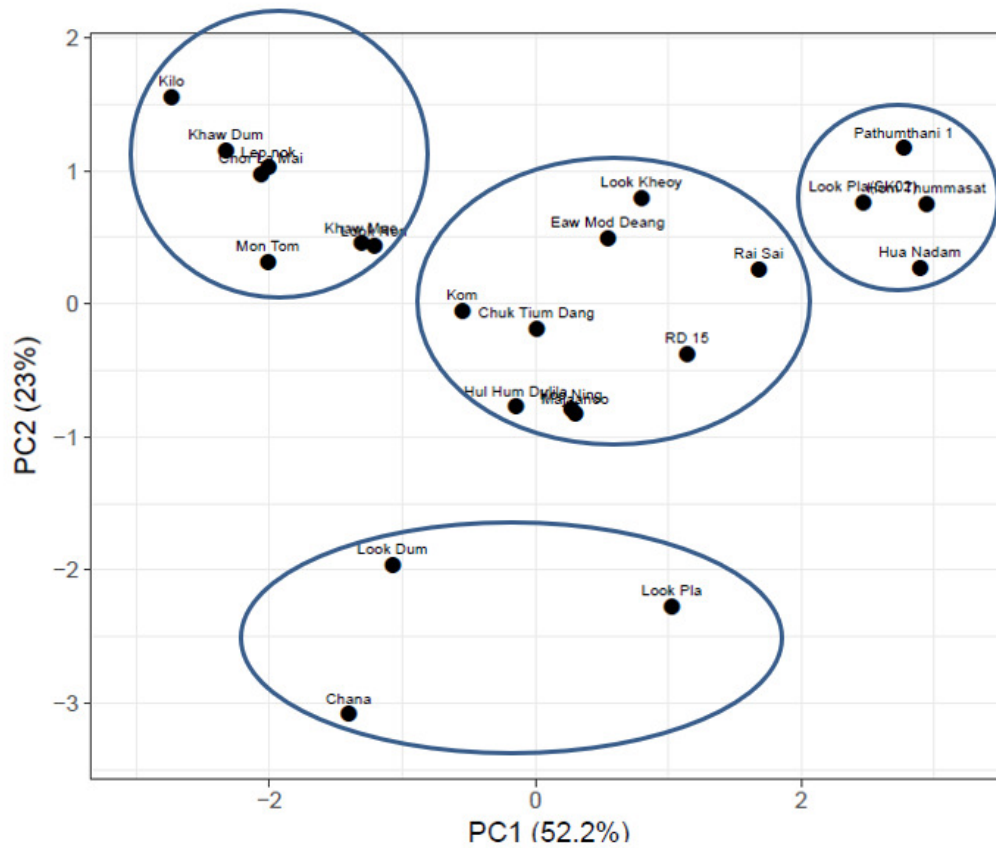
รูปที่ 9 แผนภาพความร้อน (heat map) และการวิเคราะห์ hierarchical clustering โดยใช้ค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาในสภาวะแห้ง (สีแดง แสดงให้เห็นค่าที่มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ย สีนํ้าเงิน แสดงให้เห็นถึงค่าที่น้อยกว่าค่าเฉลี่ย)

2.4.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis : PCA) โดยใช้ค่าจากการวัดในสภาวะแห้งแล้ง

การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักโดยใช้ค่าจากการวัดในสภาวะแห้งแล้ง PC1 และ PC2 อธิบายความแปรปรวนได้ 52.2% และ 23.0% ตามลำดับ รวมเป็น 75.2% สามารถแบ่งข้าวได้เป็น 4 กลุ่ม กลุ่ม 1 ได้แก่ ข้าวพันธุ์กิโล ช่อละมัย ลูกนนท์ มันทม ข้าวหะมะ ข้าวดำ และเล็บนก กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ลูกเขย เอวมดแดง ไร่ทราย ขม จุกเทียมแดง กข15 อัลฮัมดุลิลลา มะจานู และกุนิง กลุ่มที่ 3 ได้แก่ ปทุมธานี 1 ลูกปลา (SK02) หัวนาดำ และหอมธรรมศาสตร์ กลุ่มที่ 4 ได้แก่ ลูกดำ ลูกปลา (PI70) และจะนะ (รูปที่ 10)

PC1 มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางบวกกับปริมาณน้ำสัมพัทธ์ และในทิศทางลบกับปริมาณโพสลินและคะแนนการม้วนใบ PC2 มีองค์ประกอบหลักคือ อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ โดยมีความสัมพันธ์ไปในทิศ

ทางบวก พันธุ์ข้าวในกลุ่มที่ 3 มีแนวโน้มทนแล้งเมื่อพิจารณาจากค่าทางการเจริญเติบโตและค่าทางสรีรวิทยา ภายใต้สภาวะขาดน้ำ เนื่องจากเมื่ออยู่ในสภาวะแล้งยังมีความสามารถในการรักษาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ให้มีค่าสูงได้ และมีการปรับตัวให้มีอัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อไปสูงขึ้นในสภาวะดังกล่าว (ตารางที่ 13)



รูปที่ 10 Biplot จากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก Principle component analysis (PCA) โดยใช้ค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาในสภาวะแล้ง

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก Principle component analysis (PCA) โดยใช้ค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาในสภาวะแล้ง

Parameters	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
Total chlorophyll content	0.27	0.36	-0.90	0.01	-0.10	-0.10
Relative water content	0.54	0.07	0.16	-0.01	-0.20	0.81
Leaf rolling score	-0.40	0.45	-0.04	-0.20	0.63	0.39
Proline content	-0.50	0.20	-0.01	-0.40	-0.70	0.16
Root to shoot ratio	0.06	0.75	0.36	0.50	-0.20	-0.20
Electrolyte Leakage	-0.40	-0.30	-0.30	0.74	-0.10	0.35
Eigenvalue	3.13	1.38	0.75	0.46	0.17	0.10
Variation (%)	0.52	0.23	0.13	0.08	0.03	0.02
Cumulative (%)	0.52	0.75	0.88	0.95	0.98	1

สรุปผลการทดลอง

การเก็บรวบรวมข้าวพันธุ์พื้นเมืองในบริเวณความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์พื้นเมืองในพื้นที่ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา พบว่าเกษตรกรปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองลดลง เนื่องจากมีการปลูกข้าวพันธุ์การค้า และพันธุ์แนะนำมากขึ้น ข้าวพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่ถูกเก็บรวบรวมไว้โดยศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองจำนวน 53 พันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR 20 ไพรเมอร์ พบว่า ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 4 ไพรเมอร์ ได้แก่ RM60, RM260, RM316 และ RM416 ให้แถบดีเอ็นเอที่ไม่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์ (monomorphic) และมีเครื่องหมายโมเลกุล SSR ที่ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphisms) จำนวน 16 ไพรเมอร์ คือ RM219, RM263, RM315, RM72, RM410, RM3805, RM36, RM525, RM517, RM8094, RM212, RM1261, RM566, RM7, RM234, RM493 ทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมดจำนวน 59 แถบ มีจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดต่อไพรเมอร์ 2-6 แถบ โดยไพรเมอร์ RM410 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอสูงสุด คือ 6 แถบ ค่าความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมของข้าวทั้ง 53 สายพันธุ์ มีค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (Jaccard's similarity) อยู่ระหว่าง 0.28-0.91 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองที่นำมาศึกษา และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

จากการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในการศึกษาคั้งนี้ ข้าวพันธุ์พื้นเมือง 20 พันธุ์ กับพันธุ์การค้า 3 พันธุ์ ได้ถูกนำมาคัดเลือกในระยะต้นกล้า ในสภาวะโรงเรือน และทำการวัดค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ปริมาณโพสลิน ปริมาณคลอโรฟิลล์ อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ คະแนนการเปลี่ยนแปลงใบ และการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ เมื่ออยู่ในสภาวะขาดน้ำ ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ และปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง ในขณะที่ปริมาณโพสลิน การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ อัตราส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อใบ และคະแนนการเปลี่ยนแปลงใบมีค่าเพิ่มขึ้น

หากการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งคำนึงถึงค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาของต้นข้าวทั้งในสภาวะที่ได้รับน้ำอย่างเพียงพอ และสภาวะขาดน้ำ ดัชนีทนแล้งถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์การจัดกลุ่ม และวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก พบว่า ข้าวพันธุ์ถูกเทียบแดง หัวนาคำ เอมตแดง ลูกเขย มะจามู กูนิง ลูกปลา (PI70) ไร่ทราย ลูกปลา (SK02) กข15 หอมธรรมศาสตร์ และปทุมธานี 1 เป็นพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนแล้ง จะเห็นได้ว่าพันธุ์การค้าทั้งสามพันธุ์ถูกจัดอยู่ในกลุ่มนี้

หากการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งคำนึงถึงค่าการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาของต้นข้าวในสภาวะที่ขาดน้ำเพียงอย่างเดียว ค่าที่ใช้ในการวิเคราะห์การจัดกลุ่ม และวิเคราะห์องค์ประกอบหลักจะใช้ค่าในสภาวะขาดน้ำ

เท่านั้น พบว่า ปทุมธานี 1 ลูกปลา (SK02) หัวนาคำ และหอมธรรมศาสตร์ เป็นพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนแล้ง จากข้อมูลดังกล่าวสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ทนทานต่อสภาวะขาดน้ำต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- จุฑาทพร แสงประจักษ์. 2555. การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการปรับปรุงพันธุ์ข้าว. แก่นเกษตร. 40: 299-308.
- นันทยา พนมจันทร์ และวิจิตรา อมรวิริยะชัย. 2554. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองบริเวณลุ่มน้ำทะเลน้อย จังหวัดพัทลุง โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด. วารสารหาดใหญ่วิชาการ. 9: 25-31.
- พัชรี ลาโคตร. 2552. เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์กับการปรับปรุงพันธุ์พืช. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 73 หน้า.
- สรพงศ์ เบญจศรี. 2554. เครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืช. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 39: 350-363.
- สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 269 หน้า.
- สุรีพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 5: 37-59.
- สำเร็จ แซ่ตัน. 2550. ข้าวพันธุ์พื้นเมืองภาคใต้ เล่ม 1. ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 175 หน้า.
- อดิเรก ปัญญาลือ เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม และศันสนีย์ จำจด. 2549. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรข้าวป่าสามัญจากพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทย. วารสารเกษตร 22: 21-25.
- อรวรรณ สมใจ, จรัสศรี นวลศรี, และไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2553. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองบริเวณลุ่มน้ำนาทวี จังหวัดสงขลา โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ด และเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41: 89-97.

- Almeida, D. M., Almadanim, M. C., Lourenco, T., Abreu, I. L. Saibo, N. J. and Oliveira, M. M. 2016. Screening for Abiotic Stress Tolerance in Rice: Salt, Cold, and Drought. *Methods in Molecular Biology*. 1398: 155-182.
- Amirjani, R.M. 2011. Effect of salinity stress on growth, sugar content, pigments and enzyme activity of rice. *International Journal of Botany* 7: 73-81.
- Bajji, M., Kinet, J.M. and Lutts, S. 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulators*. 36: 61-70.
- Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39:205-207.
- Berilus, S. R., Pattanayak, A., and Ram, G. 2012. Analysis of genetic variability in rice cultivars of Arunachal Pradesh (India) using microsatellite marker. *African Journal of Biotechnology*. 12: 798-810.
- Borba, T. C. O., Mendes, C. A., Guimaraes, E. P., Brunes, T. O., Fonseca, J. R., Brondani, R. V., and Brondani, C. 2009. Genetic variability of Brazilian rice landraces determined by SSR markers. [Pesquisa Agropecuária Brasileira](#). 44: 706-712.
- Bray, E. 2000. Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci*. 2: 48–54
- Chen, H. B., Martin, J. M., Lavin, M. and Talbert, L. E. 1994. Genetic diversity in hard red spring wheat based on sequence-tagged-site PCR markers. *Crop Science*. 1994. 34:1628–1632.
- Dionisio-Sese and Tobita, 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science* 135: 1-9.
- Franca, M. G. C., Thi, A. T. P., Pimentel, C., Rossiello, R. O. P., Zuily-Fodil, Y. and Laffray, D. 2000. Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress. *Environmental and Experimental Botany* 43: 227-237.
- Fowler, J., Cohen, L., and Jarvis, P. 1998. *Practical statistics for field biology*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.

- Hu, L., Wang, Z., Du, H., and Huang, B. 2010. Differential accumulation of dehydrins in response to water stress for hybrid and common bermudagrass genotypes differing in drought tolerance. *Journal of Plant Physiology* 167: 103-109.
- IRRI. 1996. Standard evaluation system for rice. 4th edition. Manila: IRRI. 52p.
- Jaccard, P. 1908. Nouvelles Recherches Sur La Distribution Florale. *Bulletin de la Société vaudoise des Sciences Naturelles*. 44: 223-270.
- Jongdee, B., Pantuwan, G., Fukai, S. and Fischer, K. 2006. Improving drought tolerance in rainfed lowland rice: An example from Thailand. *Agricultural Water Management*. 80: 225-240.
- Kaur, S., Panesar, P., Bera, M., and Kaur, V. 2015. Simple sequence repeat markers in genetic divergence and marker-assisted selection of rice cultivars: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 55: 41-49.
- Konieczny, A. and Ausubel, F. F. 1993. A procedure for mapping Arabidopsis mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *Plant Journal*. 4: 403-410.
- Lima, A. L. S., Damatta, F. M., Pinheiro, H. A., Totola, M. R. and Loureiro, M. E. 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environmental and Experimental Botany* 47: 239-247.
- Loggini, B., Scartazza, A., Brugnoli, E. and Navari-Izzo, F. 1999. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology* 119: 1091-1099.
- McCouch, S., Teytelman, L., Xu, Y., Loobs, B. L., Clare, K., Walton, M., Fu, B., Maghirang, R., Li, Z., Xing, Y., Zhang, Q., Kono, I., Yano, M., Fjellstrom, R., DeClerck, G., Schneider, D., Cartinhour, S., Ware, D. and Stein, L. 2002. Development and Mapping of 2240 New SSR Markers for Rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research*. 9: 199-207.

- McKersie, B. D., Bowley, S. R., Harjanto, E. and Leprince, O. 1996. Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. *Plant Physiology* 111: 1177- 1181.
- Metsalu, T. and Vilo, J. 2015. ClustVis: A web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap. *Nucleic Acids Research* 43: W568.
- Moghaddam A. and Hadizadeh, M. H. 2002. Response of corn (Zeamays L.) hybrids and their parental lines to drought using different stress tolerance indices. *Signal Processing: An International Journal*. 18: 255-272.
- Mondini, L., Noorani, A., and Pagnotta, M. A. 2009. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity*. 1:19-35.
- Parida, A.K., Dagaonkar, V.S., Phalak, M.S., Umalkar, G.V. and Aurangabadkar, L.P. 2007. Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short term drought stress followed by recovery. *Plant Biotechnology* 1: 37-48.
- Perry, D. J., N. Isabel and J. Bousquet 1999 Sequence-tagged-site (STS) markers of arbitrary genes: the amount and nature of variation revealed in Norway spruce. *Heredity*. 83: 239-248.
- Sapeta, H., Costa, J.M., Lourenço, T., Maroco, J., van der Linde, P. and Oliveira, M.M. 2013. Drought stress response in *Jatropha curcas*: Growth and Physiology. *Environmental and Experimental Botany* 85: 76-84.
- Rohlf, F. J. 2002. NTSYS-Pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.0. Applied Biostatistics. Exeter Software, New York.
- Sharma, A., Wolfgruber T. K., and Presting, G. G. 2013. Tandem repeats derived from centromeric retrotransposons. *BMC Genomics* 14: 142-151.
- Tian, S., Nakamura, K., and Kayahara, H. 2004. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice and germinated brown rice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 52: 4808-4813.

- Turner, N. C. 1986. Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 13: 175-190.
- Zhou, Z., Robards, K., Helliwelland, S., and Blanchard, C. 2004. The distribution of phenolic acids in rice. *Food Chemistry* 87: 401-406.

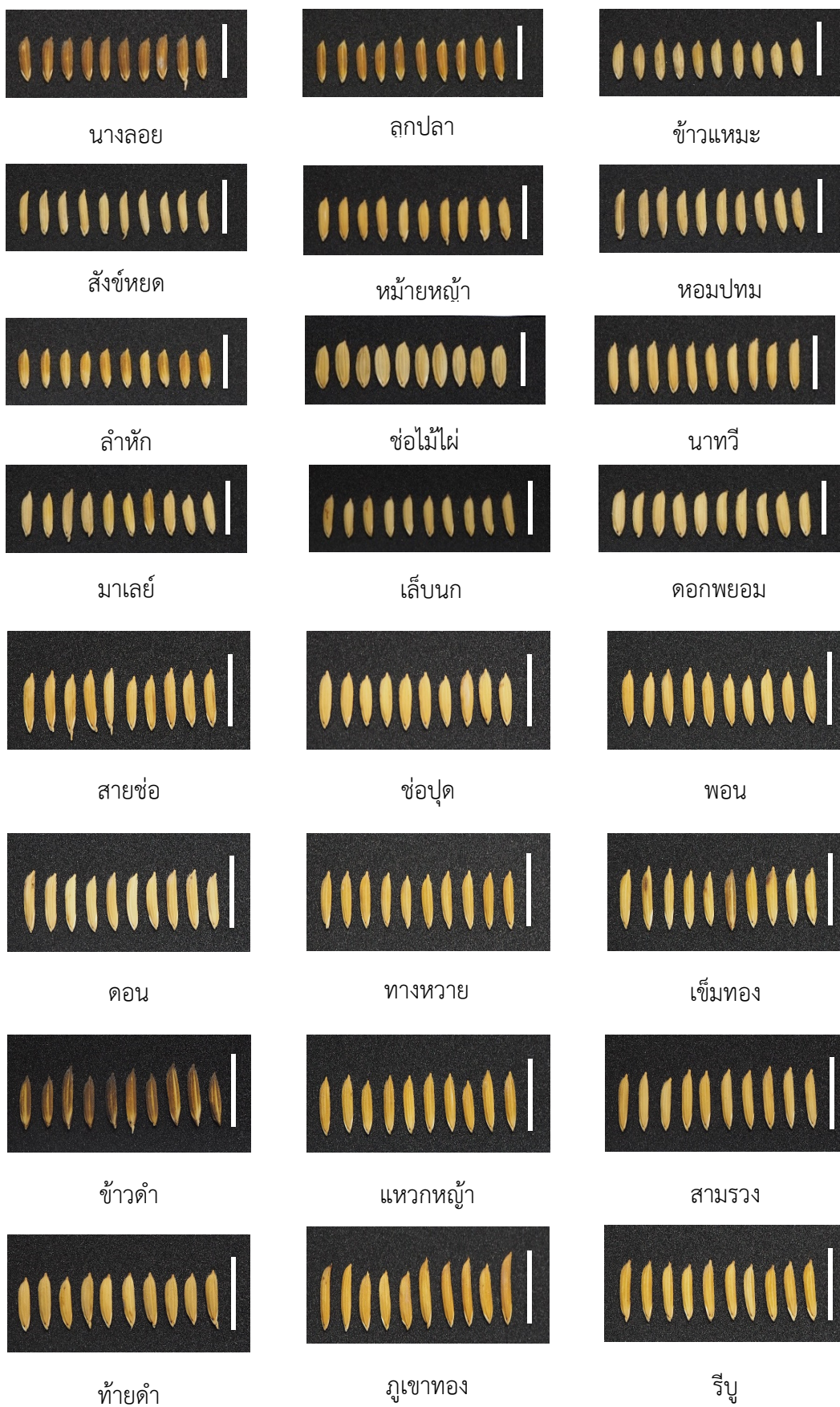
ภาคผนวก



รูปที่ 1 ตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมือง



รูปที่ 1 ตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมือง (ต่อ)



รูปที่ 1 ตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมือง (ต่อ)



รูปที่ 1 ตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมือง (ต่อ)



Morphological and Physiological Responses of Local Rice Varieties to Drought Stress

Sovannarun, V.¹ Nualsri, C.¹ Nakkanong, K.¹ and Duangpan, S.^{1*}

¹ Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Thailand

* Corresponding author: saowapa.d@psu.ac.th

Received 27 February 2019; Revised 09 May 2019; Accepted 22 July 2019

Abstract

The study was conducted to determine and to compare the effect of drought on morphological and physiological changes of local lowland rice varieties. Seven local rice varieties including Kilo, Hua Nadum, Eaw Moddeang, Chana, Rai Sai, Look Pla, Kao Dum and one commercial variety, Pathumthani 1 were investigated. Seedlings of each variety were exposed to daily watering and 7-day water withholding. Relative water content, proline content, chlorophyll content, root:shoot ratio and leaf rolling were measured. The result showed that relative water content and chlorophyll content were significantly declined whereas proline content and root: shoot ratio were significantly increased in response to water deprivation. Comparing among varieties tested, Hua Nadum, Look Pla and Pathumthani 1 showed better performance of physiological responses which indicated drought tolerant potential. Kao Dum was sensitive to drought as total chlorophyll content and relative water content were dramatically reduced upon dehydration and root:shoot ratio remained unchanged under drought so that the ability to absorb water was not enhanced to survive or to grow during drought condition. These results could be beneficial to breeding program for drought tolerance in rice using local varieties as genetic materials.

Keywords: Drought stress, local rice varieties, physiological responses

Introduction

Rice (*Oryza sativa* L.) is the primary food source for almost half of the global population and accounts for 35–60% of the calories consumed by 3 billion people in Asian countries (Brar and Khush, 2013). Rice production, however, has been affected by extreme weather, especially by drought, stemmed from climate change. Most of rice field is rainfed lowland without irrigation system to compensate rainfall shortage. In Thailand, approximately 50% of total rice field is rainfed lowland where rainfall is the solely source of water. Therefore, long spell of dry weather and low annual rainfall can cause major loss in rice production. Insufficient water supply adversely affects every stages of rice growth, for example,

drought in vegetative stage, flowering stage and reproductive stage causes 50.6%, 76.7-83.7% and 63.1% yield reduction, respectively (Jinmeng *et al.*, 2018). One of the most effective strategies to overcome this problem is developing genotype with drought tolerance (Mackill *et al.*, 1996). In breeding program for commercial drought tolerant rice, genetic materials with the ability to withstand low level of soil moisture are needed. Local varieties provide a good source of those materials and the elite varieties can be identified through screening method. Apart from yield, morphological and physiological responses to drought can be used to pinpoint varieties potentially tolerant to drought (Fang and Xiong, 2015).

Under water-deficit condition, a series of mechanisms occurs to alleviate the effects of dehydration. To evaluate the potentiality of drought resistance, characteristics such as proline accumulation, chlorophyll content, photosynthetic rate and antioxidant enzyme activities have been used as indicative parameters. In rice, the increased level of proline, an osmoprotectant amino acid, following water deficiency has been reported in drought and salt tolerant genotypes (Chutipajit et al., 2011). The high concentration of proline in stressed plants may help to retain water status which could result in preferable growth performance. Also, exposure to water stress leads to a significantly adverse effect in chlorophyll-contents which subsequently results in reduction in photosynthesis (Chutia and Barah, 2012; Zhang and Kirkham, 1995). Therefore, rice genotypes capable of maintaining chlorophyll content under drought stress is desirable. Chutia and Barah (2012) screened seven traditional rice varieties from Assam, India and found that the best drought sustaining varieties including *Laodubi*, *Leserihali*, *Beriabhang* and *Borah* were able to accumulate higher concentration of proline and maintain higher chlorophyll content under PEG-induced osmotic stress. Similar results were reported by Swapna and Shylaraj (2017). Antioxidant enzyme activities, relative water content, cell membrane stability, photosynthetic pigments, proline content and growth characteristics of 42 high-yielding varieties under drought condition were determined. Among those rice varieties, Swarnaprabha and Kattamodan, with higher relative water content, better membrane stability, osmolyte accumulation, and antioxidant enzyme activities, were identified as drought tolerant varieties. In this present study, seven local rice varieties and one commercial variety were evaluated for adaptive responses under drought condition aiming to identify elite cultivars for drought tolerance in vegetative phase.

Materials and Methods

The experiment was conducted in the greenhouse of Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University with the duration of 37 days.

Plant materials and experimental design

Seven local varieties including Look Pla, Rai Sai, Eaw Moddeang, Chana, Kao Dum, Kilo and Hua Nadum, kindly provided by Pattalung Rice Research Center, and one commercial variety (Pathumthani 1) were used in this present study. For an establishment of seedlings, approximately 30 rice seeds were soaked in distilled water for 24 h. After germination, the three-day-old seedlings were then transferred to the pots containing 6 kg of top soil and thinned to 5 plants per pot. The pot plants were arranged in a completely randomized design with ten replicates. The plants were irrigated for 30 days by daily watering and thereafter 3 replicates each were assigned to one of two treatments; the control (well-watered) and those exposed to drought by withholding of water for 7 days.

Measurement of relative water content

The third fully expanded leaves were collected during 8-10 AM from each treatment. Leaf sample were cut into 1 cm long and rapidly kept in the pre-weighted tube. The fresh weights of the leaf samples were immediately recorded. The leaf samples were then rehydrated by submerging in distilled water for 24 h at room temperature in darkness. The full turgid weights (WT) of the leaf samples were determined following by incubating the leaf samples at 70 °c for 24 h for dry weight measurement. Leaf relative water content (RWC) was calculated using the following formula (Amirjani, 2011):

$$\text{RWC (\%)} = \left[\frac{\text{FW} - \text{DW}}{\text{TW} - \text{DW}} \right] \times 100$$

Where, FW is leaf fresh weight, TW is leaf turgid weight and DW is leaf dry.

Measurement of proline content

The leaf samples for measurement of proline content were immediately submerged in liquid nitrogen after being harvested for storage.

Proline content was measured as described by Bates et al. (1973). A total of 0.5 g fresh weight of leaf was ground in liquid nitrogen, extracted in 10 ml of 3% sulfosalicylic acid and filtered through filter paper (Whatman no. 1, England). After filtration, 1 ml of the supernatant was mixed with 1 ml of glacial acetic acid and ninhydrin reagent. The reaction mixture was incubated in a water bath at 100 °C for 1 h. and subsequently terminated by placing the tubes in an ice bath followed by mixing with 4 ml toluene. The absorbance at 520 nm was measured by spectrophotometer. The proline concentration was determined from a standard curve and calculated on a fresh weight basis.

Measurement of chlorophyll content

Leaf samples of 0.82 cm² were excised from the third fully expanded leaves with 3

samples. Measurement of chlorophyll content was performed by soaking leaf samples in 4 ml of DMF for 24 h at 4 °C in dark room. Spectrophotometric measurements of chlorophyll content were made using spectrophotometer. The absorbance was recorded in triplicate for each sample at 647 and 664 nm simultaneously in order to determine total chlorophyll content, which was expressed as g/m² (Moran, 1982).

Measurement of root:shoot ratio

After irrigation treatment, 37 day-old plants were collected and cleaned. Plants were separated to root and shoot and were dried in incubator at 70 °C for 48 h. Dry weight was measured for calculation of root:shoot ratio.

Standard Evaluation System for rice scoring

Scoring of visual drought stress injury and growth reduction of rice seedling treated with water deficit in plant was performed using the Standard Evaluation System of rice as shown in Table 1.

Table 1 SES scoring system for recording drought scores based on symptoms (leaf rolling at vegetative stage)

Score	Description
0	Leaves healthy
1	Leaves start to fold (shallow V-shape)
3	Leaves folding (deep V-shape)
5	Leaves fully cupped (U-shape)
7	Leaf margins touching (O-shape)
9	Leaves tightly rolled

Source: Standard Evaluation System for rice (IRRI, 1996)

Statistical analysis

The data were analyzed by correlation coefficient and mean values of three replications were compared using Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) at *P* ≤ 0.05.

Results and Discussion

Leaf rolling score

After 7 days of water withholding, all rice varieties exhibited altered leaf shape. According to recorded leaf rolling score, Pathumthani 1, Rai Sai

and Hua Nadum showed the lowest leaf rolling score of 3.00, 3.67 and 3.67, respectively. Chana maintained the highest leaf rolling score of 9.00 (Table 2). These results were similar to those reported by Swapna and Shylaraj (2017). The range of leaf rolling score of 3.00-9.00 was observed in the 17 Indian rice varieties exposed to 28 days of non-irrigation. The long period of water withholding was reported by Swapna and Shylaraj (2017) was possible as the greenhouse used in the screening is open system which might allow some humidity for

rice seedling. Our results indicated the wide variation among rice varieties in terms of responses to water deficit which subsequently allowed for selection.

Table 2 Average leaf rolling score of rice varieties under drought condition

Varieties	Average leaf rolling score
Kilo	6.33 ^{b1/}
Hua Nadum	3.67 ^c
Eaw Moddeang	4.33 ^c
Chana	9.00 ^a
Rai Sai	3.67 ^c
Look Pla	4.33 ^c
Kao Dum	7.00 ^b
Pathumthani 1	3.00 ^c

^{1/} Average numbers with different letters indicate significant differences at $P \leq 0.05$ according to DMRT.

Root:shoot ratios

All the varieties showed consistent trend for root:shoot ratios in drought condition. Water deficit induced the increased root:shoot ratio. In control irrigation treatment, no significant difference between root:shoot ratios among 8 varieties was observed. The variation of root:shoot ratios was found in drought condition (Figure 1). The most dramatically enhanced root:shoot ratio in response to water deprivation was detected in Chana followed by Rai Sai (Table 3). Xu *et al.* (2015)

proposed that drought-triggered root:shoot ratio increment was closely associated with the higher proportion of dry matter and soluble sugar in roots stemming from the increase in leaf sucrose-phosphate synthase and root invertase activity, which allowed for more sucrose available for transport from leaves to roots. The high root:shoot ratio indicates well adaptive mechanism of plant under water deficit condition to maintain high rates of absorption of water. Therefore, Chana and Rai Sai were preferred varieties.

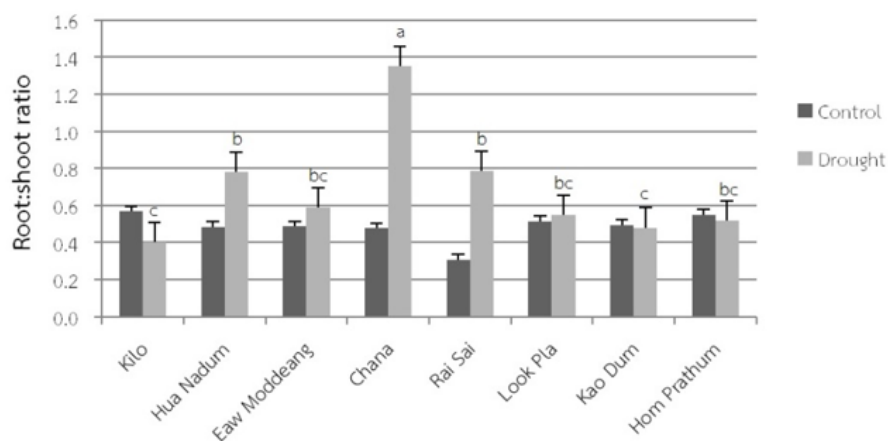


Figure 1 Root:shoot ratios of 8 rice varieties under drought and irrigation conditions

Data are presented as means of three replicates \pm SD. Bars with different letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$) according to DMRT among varieties under drought treatment.

Proline content

Accumulation of proline content following exposure to drought was observed in all rice varieties. Under control condition, significant

difference of proline content was found among varieties but generally low (Figure 2). Under drought treatment, Kao Dum, Kilo, Eaw Moddeang and Chana showed the highest fold increase of proline

content while Hua Nadum showed the lowest (Table 3). Proline generally acts as osmoprotectant and accumulation of proline following stress has been documented in various plants, especially in tolerant genotypes (Fedina et al., 2002). The proline

content of drought stress seedling in Thai rice varieties including KDML105, Dang and PT1 were 56.6%, 72.6% and 19.1%, respectively, higher than control (Chutipajit et al., 2011).

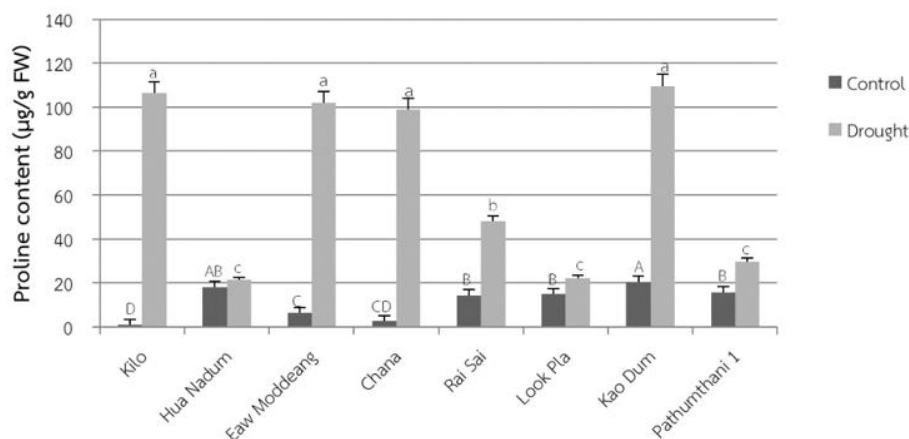


Figure 2 Proline content of rice varieties under drought and irrigation conditions. Data are presented as means of three replicates \pm SD. Bars with different capital and small letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$) according to DMRT among varieties under the control and drought treatment, respectively

Table 3 Percentage increase of proline content and root:shoot ratio in drought treatment in relative to control irrigation treatment of each rice variety

Varieties	Proline content (%)	Root:shoot ratio (%)
Kilo	11,979.55	-29.41
Hua Nadum	17.87	61.38
Eaw Moddeang	1,497.81	21.23
Chana	3,661.22	183.22
Rai Sai	236.22	156.52
Look Pla	50.37	6.49
Kao Dum	432.41	-2.70
Pathumthani 1	89.55	-6.06

Total chlorophyll content

The significant differences in total chlorophyll were demonstrated in all water-stressed rice varieties compared to those under irrigation except for Chana and Pathumthani 1. In the irrigation treatment, various levels of chlorophyll content were observed with Rai Sai showed the highest amount of chlorophyll. In the drought treatment, the lowest chlorophyll content was in Kao Dum (Figure 3). In term of percent

reduction of chlorophyll content, Kao Dum and Rai Sai showed the highest percent reduction of 43.01% and 36.98%, respectively (Table 4). As chlorophyll is important for photosynthesis, the ability to maintain high content of chlorophyll can be implied that photosynthetic rate of that plant is minimally affected. Therefore, Pathumthani 1 and Chana were preferable.

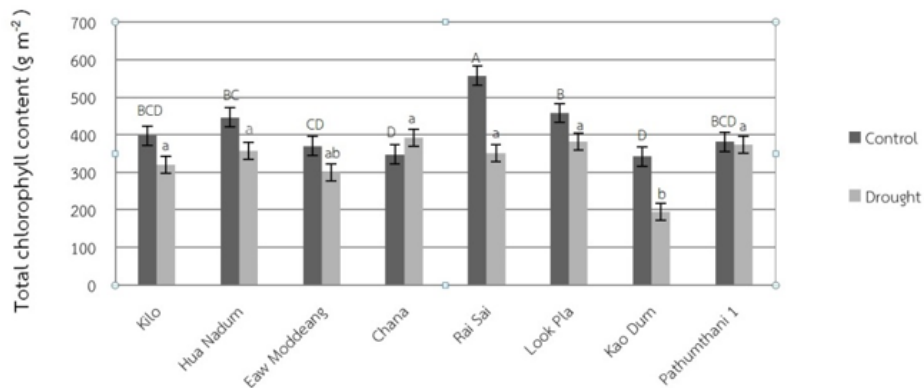


Figure 3 Total chlorophyll content of rice varieties under drought and irrigation conditions. Data are presented as means of three replicates \pm SD. Bars with different capital and small letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$) according to DMRT among varieties under the control and drought treatment, respectively

Relative water content

Water withholding for 7 days significantly reduced relative water content of Kilo, Eaw Moddeang, Chana, Rai Sai and Kao Dum. Hua Nadum, Look Pla, and Pathumthani 1 were capable of maintaining relative water content (Figure 4). Kao Dum and Kilo were severely affected by drought condition as relative water content was reduced for 92.11% and 78.85%, respectively (Table 4). Relative water content is a main indicator of the level of cell and tissue hydration, which was necessary for

advantageous physiological function and growth (Colom and Vazzana, 2003). Crop productivity under water stress is also dependent on relative water content and osmotic potential. The study of drought tolerant and susceptible rice varieties, PR-115 and Super-7, respectively, reported that relative water content was decreased by 25% in PR-115 and 33% in Super-7 during the 10 days of drought indicating that the drought tolerant variety was able to retain higher relative water content (Khan *et al.*, 2017).

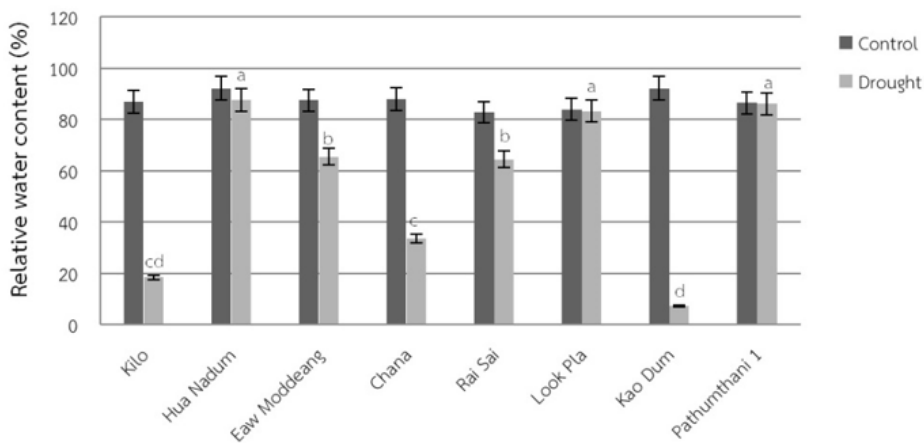


Figure 4 Relative water content of rice varieties under drought and irrigation conditions. Data are presented as means of three replicates \pm SD. Bars with different small letters indicate significant differences ($P < 0.05$) according to DMRT among varieties under drought treatment

Table 4 Percentage reduction of relative water content and total chlorophyll content under drought and control condition of 8 rice varieties

Varieties	Relative water content (%)	Total chlorophyll content (%)
Kilo	78.85	19.67
Hua Nadum	5.01	20.23
Eaw Moddeang	25.19	19.23
Chana	61.67	-12.63
Rai Sai	22.01	36.98
Look Pla	0.85	16.46
Kao Dum	92.11	43.01
Pathumthani 1	0.46	2.01

Conclusion

Water deficit generally decreases chlorophyll and relative water content but increased proline accumulation and root:shoot ratio. In case of physiological responses of eight varieties tested Hua Nadum, Look Pla and Pathumthani 1 showed drought tolerant potential as these varieties were able to maintain high chlorophyll and relative water content during drought period. Even though, root:shoot ratio and proline content of these varieties did not dramatically increase upon water deprivation, their ability to maintain water status within plant was still superior. In contrast, Kao Dum was sensitive to drought as total chlorophyll content and relative water content were severely reduced following dehydration. Also, root:shoot ratio remained unchanged under drought so that the ability to absorb water was not enhanced to survive or grow during drought condition.

Acknowledgements

This project was supported by Plant Genetic Conservation Project under the Royal initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn and the Royal Scholarships under Her Royal Highness Princess Maha Chkri Sirindhorn Education Project.

References

Amirjani, R.M. 2011. Effect of salinity stress on growth, sugar content, pigments and enzyme activity of rice. *International Journal of Botany* 7: 73-81.

Bates, L., Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.

Brar, D.S. and Khush, G.S. 2013. *Agricultural Sustainability*. PP. 151-175. New York: Academic Press.

Chutia, J. and Borah, S.P. 2012. Water stress effects on leaf growth and chlorophyll content but not the grain yield in traditional rice (*Oryza sativa* Linn.) genotypes of Assam, India II. Protein and proline status in seedlings under PEG induced water stress. *American Journal of Plant Sciences* 3(7): 971-980.

Chutipaijit, S., Cha-um, S and Sompornpailin, K. 2011. High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. *Indica*. *Australian Journal of Crop Science* 5(10): 1191:1198.

Colom M.R. and Vazzana, C. 2003. Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping love grassplants. *Environmental and Experimental Botany*. 49: 135-144.

Fang, Y. and Xiong, L. 2015. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 72(4): 673-89.

Fedina, L.S., Geogieva, K. and Grigorova, L. 2002. Light-dark changes in proline content of barley leaves under salt stress. *Biologia Plantarum* 45: 59-63.

- IRRI. 1996. Standard evaluation system for rice. 4th edition. Manila: IRRI. 52p.
- Jinmeng, Z., Shiqiao, Z., Min, C., Hong, J., Xiuying, Z., Changhui, P., Xuehe, L., Minxia, Z. and Jiabin, J. 2018. Effect of drought on agronomic traits of rice and wheat: A meta-analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15: 839-851.
- Khan, F, Upreti, P., Singh, R., Shukla, P.K. and Shirke, P.A. 2017. Physiological performance of two contrasting rice varieties under water stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 23: 85-97.
- Mackill, D.J., Coffman, W.R. and Garrity, D.P. 1996. Rainfed lowland rice improvement. International Rice Research Institute, Manila Philippines, 242 pp.
- Moran, R. 1982. Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with *N, N*-dimethylformamide. *Plant Physiology* 69: 1376-1381.
- Swapna, S. and Shylaraj, K. 2017. Screening for osmotic stress responses in rice varieties under drought condition. *Rice Science* 4(5): 253-263.
- Xu, W., Cui, K., Xu, A., Nie, L., Huang, J. and Peng, S. 2015. Drought stress condition increases root to shoot ratio via alteration of carbohydrate partitioning and enzymatic activity in rice seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum* 37(9). <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1760-0>
- Zhang, J. and Kirkham, M.B. 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedling. *New Phytologist* 132: 361-373.