



รายงานการวิจัย

การตรวจหายีน *Sub1A* และลักษณะทนน้ำท่วมในสายพันธุ์ข้าวไทย

(The screening for *Sub1A* gene and flood tolerance phenotype
in Thai rice varieties)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

การตรวจหายีน *Sub1A* และลักษณะทนน้ำท่วมในสายพันธุ์ข้าวไทย

(The screening for *Sub1A* gene and flood tolerance phenotype in Thai rice varieties)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดวงกมล แม่นศิริ

ผู้ร่วมวิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. หนูเดือน เมืองแสน

สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กันยายน 2561

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ศูนย์วิจัยข้าวนครราชสีมา จ.นครราชสีมา ในการเอื้อเฟื้อตัวอย่าง เมล็ดพันธุ์ข้าวสำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณนางสาวสุตารัตน์ เสงบุญมี นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีในฐานะผู้ช่วยวิจัยที่ช่วยทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติและมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำหรับการให้ทุนสนับสนุนการวิจัยนี้

คณะผู้วิจัย

กันยายน 2561



บทคัดย่อ

ยีน *Sub1A* อัลลีล *Sub1A-1* มีความสัมพันธ์กับลักษณะทนน้ำท่วมของข้าว ดังนั้น งานวิจัยนี้ จึงได้ทำการตรวจหา ยีนนี้ในข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 36 สายพันธุ์ โดยในกลุ่มนี้มีสายพันธุ์พื้นเมือง อยู่ด้วย พบว่ามีข้าวเพียง 8 สายพันธุ์ที่มียีน *Sub1A* ได้แก่ หอมชลสิทธิ์ ขาวหลุดหน้ ไรซ์เบอร์รี่ เพชรบุรี 1 กข 43 กข 27 ลูกปลา และชัยนาท1 และในกลุ่มนี้ไม่มีสายพันธุ์ใดเลยที่มียีน *Sub1A-1* ยกเว้นสายพันธุ์หอมชลสิทธิ์ซึ่งเป็นสายพันธุ์อ้างอิงที่ทราบอยู่แล้วว่ามียีนอัลลีลนี้ อีก 7 สายพันธุ์ตรวจพบมีอัลลีล *Sub1A-2* ซึ่งเป็นอัลลีลที่พบในสายพันธุ์ที่ไม่ทนน้ำท่วม เลือกข้าวจำนวน 7 สายพันธุ์ซึ่งมียีนที่เกี่ยวข้องกับความทนท่วมแตกต่างกันดังนี้ กลุ่มที่มียีน *Sub1A-1* คือ หอมชลสิทธิ์ กลุ่มที่มียีน *Sub1A-2* คือ ขาวหลุดหน้ ไรซ์เบอร์รี่ และเพชรบุรี 1 และกลุ่มที่ไม่มียีน *Sub1A* คือ ขาวดอกมะลิ 105 กข6 และ กข25 มาศึกษาการเจริญเติบโต ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณเอทิลีน รวมไปถึงกายวิภาคของรากในสภาวะน้ำท่วม พบว่าหลังจากผ่านไป 7 วัน ข้าวทุกสายพันธุ์ในกลุ่มที่ถูกน้ำท่วมมีความสูงเพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับความยาวราก เมื่อศึกษาน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง พบว่ากลุ่มที่ถูกน้ำท่วมมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงขึ้นและสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับผลในเรื่องความสูงและความยาวราก ทุกสายพันธุ์ที่ถูกน้ำท่วมมีปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงแล้วเพิ่มขึ้นอีก ปริมาณแป้งในกลุ่มที่ถูกน้ำท่วมมีค่าลดลงแล้วเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลของปริมาณคลอโรฟิลล์ คาดว่าเป็นผลจากการที่พืชใช้เวลาในการปรับตัวและยืดยาวขึ้นในภายหลัง ปริมาณน้ำตาลในหอมชลสิทธิ์และเพชรบุรี 1 มีปริมาณลดต่ำลงเมื่อถูกน้ำท่วม ในขณะที่สายพันธุ์อื่นมีแนวโน้มสูงขึ้นหลังวันที่ 4 ปริมาณเอทิลีนของข้าวทุกสายพันธุ์เพิ่มสูงขึ้นเมื่อถูกน้ำท่วม แต่หอมชลสิทธิ์มีปริมาณเอทิลีนที่ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม ซึ่งอาจเป็นสิ่งที่อธิบายการยืดยาวของต้นข้าวทั้งที่โดยทั่วไปข้าวที่มี *Sub1A-1* น่าจะมีการยืดตัวต่ำ เมื่อเอทิลีนมีน้อย ยีน *Sub1A-1* ซึ่งเป็นยีนที่ตอบสนองต่อเอทิลีนอาจไม่ถูกกระตุ้น ส่งผลให้ไม่มีการสร้างโปรตีนที่ยับยั้งการใช้พลังงานและหยุดการเจริญเติบโต สำหรับลักษณะกายวิภาคของรากพบว่า ข้าวทุกสายพันธุ์เกิดแอแรงคิมา ยกเว้นขาวหลุดหน้ โดยหอมชลสิทธิ์มีช่องอากาศขนาดใหญ่มากที่สุดในแอแรงคิมาที่เกิดขึ้น เนื่องจากปริมาณเอทิลีนในสายพันธุ์นี้ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม จึงเป็นไปได้ว่าการเกิดแอแรงคิมาของหอมชลสิทธิ์อาจไม่ได้เกิดเนื่องจากการตอบสนองต่อเอทิลีนเหมือนสายพันธุ์อื่น การทดลองครั้งนี้ คงระยะลึกของน้ำไว้ที่ 50 เซนติเมตร ในขณะที่งานวิจัยอื่นที่ศึกษาข้าวที่มี *Sub1A-1* ทดลองในข้าวที่โดนน้ำท่วมมิด เป็นที่น่าสนใจว่าในกรณีนี้ อาจมีการแสดงออกของยีนอื่นที่เกี่ยวข้องกับบางลักษณะที่ช่วยให้ข้าวรอดชีวิตได้ เช่น การเกิดแอแรงคิมา เป็นต้น และเพื่อให้ทราบชัดเจน งานวิจัยเพื่อยืนยันอาจสามารถทำได้โดยการติดตามวัดปริมาณโปรตีนที่เกิดเนื่องจากการแสดงออกของ *Sub1A-1* เปรียบเทียบกรณีน้ำท่วมมิด และท่วมบางส่วน

คำสำคัญ: *Sub1A*, ลักษณะทนน้ำท่วม, *Oryza sativa*, aerenchyma

Abstract

Sub1A gene in *Sub1A-1* allele is closely linked to flood tolerance phenotype of rice. This research therefore aimed to screen for this gene in 36 varieties of rice. Within this number, there are some domestic Thai rice varieties. The screening revealed 8 varieties with *Sub1A* gene including Homchonlasid, Khawhludhnee, Riceberry, Phetburi1, Luk Bplaa, RD43, RD27, and Chainat1. None of them has *Sub1A-1* allele except Homchonlasid which is the reference variety since it is known to have the allele. The other 7 varieties contain *Sub1A-2* allele which is the allele found in flood sensitive varieties. Characteristics of rice under flood were further studied in 7 rice varieties with different genotypes – Homcholasid with *Sub1A-1*, Khawhludhnee, Riceberry, Phetburi1 with *Sub1A-2* and KDML105, RD6 and RD25 without *Sub1A* gene. Growth, carbohydrate content, chlorophyll content, ethylene content and anatomy of root were monitored. It was found that after having been flooded for 7 days, all varieties under flooded condition increased their height more than plants in control group. This is the same for root length. Fresh and dry weight determination revealed similar results – rice under flood showed higher values. Chlorophyll content dropped and increased again so as did carbohydrate content. The plants probably required time to acclimatize before they could cope with the condition and extend their stem again. Sugar content decreased in flooded Homchonlasid and Phetburi1 while it increased after day 4 in other varieties. All rice varieties showed increased ethylene level when flooded except in Homchonlasid. This may explain why the plants grew tall under flooding condition instead of reducing stem extension like rice with *Sub1A-1* in most reports. Ethylene in normal amount may not be able to activate the ethylene responsive gene *Sub1A-1* leading to no production of the protein halting energy consumption and growth. Aerenchyma formation was observed in all varieties under flooding condition except in Khawhludhnee. The largest air space was found in aerenchyma of flooded Homchonlasid. Since the amount of ethylene in experiment plant was not different from control plant for Homchonlasid, it is suggested that aerenchyma formation may have not been caused by ethylene like in other varieties. The water depth was kept at 50 centimeter in this research while rice plants were completely submerged in other reports from *Sub1A-1* study. Characteristics that benefited the survival like aerenchyma formation may be resulted by the expression of other genes. To confirm, the comparison of *Sub1A-1* protein from rice plants under complete submergence and partial submergence may be compared.

Key words: *sub1A*, flood tolerance, *Oryza sativa*, aerenchyma

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อ.....	ข
Abstract.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม.....	3
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	8
3.1 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและการปลูก.....	8
3.2 การตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับการทนน้ำท่วม.....	9
3.2.1 การสกัดดีเอ็นเอ.....	9
3.2.2 การวัดปริมาณดีเอ็นเอ.....	9
3.2.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PCR).....	10
3.2.4 การเตรียม 2% agarose gel.....	11
3.2.5 การตรวจผลปฏิกิริยา PCR ด้วย agarose gel.....	11
3.2.6 การตัด ดีเอ็นเอ ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ.....	12
3.3 การวัดค่าการเจริญเติบโต	12
3.3.1 ความยาวต้นและราก.....	12
3.3.2 น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง.....	12
3.3.3 การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์.....	12
3.4 การวัดปริมาณคาร์โบไฮเดรต.....	13
3.4.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง.....	13
3.4.2 การวิเคราะห์น้ำตาล.....	13
3.4.3 การวิเคราะห์แป้ง.....	14

สารบัญ

	หน้า
3.5 การวัดปริมาณเอทิลีน.....	14
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	14
3.7 การวิเคราะห์กายวิภาคของรากข้าว	15
บทที่ ผลการวิจัย.....	16
4.1 การศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการทนน้ำท่วม.....	16
4.1.1 ยีนใน <i>Sub1</i> QTL ในสายพันธุ์ข้าวที่ศึกษา.....	16
4.2 การเจริญเติบโตของข้าวที่มีจีโนไทป์ต่างกันภายใต้สภาวะน้ำท่วม.....	20
4.2.1 ผลของน้ำท่วมที่มีต่อความยาวราก.....	20
4.2.2 ผลของน้ำท่วมที่มีต่อความยาวลำต้น.....	23
4.2.3 ผลของน้ำท่วมที่มีต่อน้ำหนักสดของข้าว.....	28
4.2.4 ผลของน้ำท่วมที่มีต่อน้ำหนักแห้งของข้าว.....	32
4.2.5 ปริมาณคลอโรฟิลล์.....	35
4.2.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต.....	38
4.2.7 เอทิลีน.....	44
4.3 กายวิภาคของรากข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม.....	48
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	50
เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย.....	51
ประวัตินักวิจัย	56

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1.1 ลักษณะของข้าว <i>O. sativa</i> 3 สายพันธุ์.....	3
ตารางที่ 3.1 สายพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา.....	8
ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบในปฏิกิริยาPCR	10
ตารางที่ 3.3 ข้อมูลที่ใช้ ไพรมเมอร์ในการศึกษา	11
ตารางที่ 3.4 เงื่อนไขของปฏิกิริยา PCR และจำนวนรอบในแต่ละขั้นตอน	11
ตารางที่ 4.1 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบความยาวราก	23
ตารางที่ 4.2 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบความยาวลำต้น	27
ตารางที่ 4.3 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบน้ำหนักสด	31
ตารางที่ 4.4 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบน้ำหนักแห้ง	32
ตารางที่ 4.5 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์	35
ตารางที่ 4.6 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบน้ำตาลรวม	41
ตารางที่ 4.7 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบปริมาณแป้ง	44
ตารางที่ 4.8 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบปริมาณเอทิลีน	47

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1 กลไกการตอบสนองของข้าวที่ทนน้ำท่วมแต่ละแบบ.....	6
รูปที่ 2.2 แสดงตำแหน่งโครโมโซมของยีน <i>Sub1A</i>	7
รูปที่ 4.1 <i>Sub1A</i> QTL และตำแหน่งจับของไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบหายีน <i>Sub1A</i>	16
รูปที่ 4.2 การตรวจสอบเพื่อระบุอัลลีลของยีน <i>Sub1A</i>	17
รูปที่ 4.3 ผลผลิต PCR จากการใช้ไพรเมอร์ <i>GnS2</i>	18
รูปที่ 4.4 ผลการตัดผลผลิต PCR ที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ <i>GnS2</i> ด้วยเอนไซม์ <i>AluI</i>	18
รูปที่ 4.5 ผลผลิต PCR จากการใช้ไพรเมอร์ <i>Sub1A203</i>	19
รูปที่ 4.6 ผลผลิต PCR จากการใช้ไพรเมอร์ <i>AEX</i>	20
รูปที่ 4.7 ความยาวเฉลี่ยของรากข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม.....	21
รูปที่ 4.8 แสดงความยาวเฉลี่ยของลำต้นเมื่อถูกน้ำท่วม.....	25
รูปที่ 4.9 แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม.....	29
รูปที่ 4.10 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม.....	33
รูปที่ 4.11 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิลล์ของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม.....	36
รูปที่ 4.12 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลรวมของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม.....	39
รูปที่ 4.13 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณแป้งของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม.....	42
รูปที่ 4.14 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเอทิลีนของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม.....	45
รูปที่ 4.15 แสดงการเปรียบเทียบการเกิด aerenchymy ของสายพันธุ์หอมชลสิทธิ์.....	48
รูปที่ 4.16 แสดงการเปรียบเทียบการเกิด aerenchyma ของสายพันธุ์ขาวหูดหน้.....	48
รูปที่ 4.17 แสดงการเปรียบเทียบการเกิด aerenchyma ของสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่.....	49
รูปที่ 4.18 แสดงการเปรียบเทียบการเกิด aerenchyma ของสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105.....	49

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ข้าว จัดเป็นพืชที่เป็นอาหารหลักของคนไทย และในบางประเทศของโลก นอกจากนี้ข้าวยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย รวมถึงข้าวยังมีความเชื่อมโยงทางวัฒนธรรมและวิถีชีวิตของคนไทยอีกด้วย แต่เนื่องจากในปัจจุบันสภาพแวดล้อมของโลกมีการเปลี่ยนแปลงไปมาก อันเป็นผลมาจากภาวะต่าง ๆ เช่น ภาวะเรือนกระจก และภาวะโลกร้อน เป็นต้น ภาวะเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อการทำเกษตรกรรมของประเทศ โดยเฉพาะข้าว ดังเช่นเมื่อปี พ.ศ. 2555 ประเทศไทยได้ประสบกับปัญหาอุทกภัยในหลายจังหวัดของประเทศ มีรายงานพบว่าความเสียหายของพื้นที่ที่มากกว่า 7.21 ล้านไร่ ส่งผลให้ต้นข้าวที่ถูกน้ำท่วมล้มตาย สร้างความเสียหายให้แก่เกษตรกรและเศรษฐกิจของประเทศเป็นจำนวนมาก เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่ปลูกข้าวมาช้านาน มีสายพันธุ์ข้าวจำนวนมากถึงแม้ในปัจจุบันจะทำการเพาะปลูกสายพันธุ์เศรษฐกิจอยู่ไม่กี่สายพันธุ์ก็ตาม การสำรวจพันธุ์กรรมข้าวสายพันธุ์ของไทยเพื่อหาลักษณะพิเศษรวมถึงลักษณะทนน้ำท่วมเป็นการเตรียมความรู้เกี่ยวกับแหล่งพันธุ์กรรมเพื่อให้เกิดความเข้าใจและองค์ความรู้ที่สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาพันธุ์ข้าวเพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีความทนทานต่อน้ำท่วม เป็นการสร้างความมั่นคงให้กับเกษตรกรผู้ปลูกข้าวและความมั่นคงของเศรษฐกิจในประเทศ

มีรายงานจำนวนมากเกี่ยวกับการกำหนดลักษณะทนน้ำท่วมของยีน *Sub1A* ในข้าว ข้าวที่มียีน *Sub1A* จะมีลักษณะทนน้ำท่วม โดยวิธีการหยุดยีนลำดับต้นเพื่ออนุรักษ์การใช้คาร์โบไฮเดรต ทำให้ข้าวฟื้นตัวได้ดีกว่าเมื่อน้ำลด ความสัมพันธ์ระหว่างการมีอยู่ของยีนและฟีโนไทป์ดังกล่าวค่อนข้างชัดเจน การตรวจหายีนนี้ในข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่เคยมีรายงานมาก่อนพบว่า ข้าวที่มี *Sub1A* จะทนน้ำท่วมได้มากกว่าข้าวที่ไม่มี *Sub1A* อย่างมีนัยสำคัญ (Fukao et al., 2011) ดังนั้นข้าวสายพันธุ์ไทยที่มี *Sub1A* ก็น่าจะทนน้ำท่วมได้เช่นกันซึ่งสามารถยืนยันได้จากการตรวจลักษณะทนน้ำท่วมของข้าวสายพันธุ์ที่ศึกษา

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อตรวจหายีนที่กำหนดลักษณะทนน้ำท่วม *Sub1A* ในข้าวสายพันธุ์ไทย
2. เพื่อตรวจหาลักษณะทนน้ำท่วมในข้าวสายพันธุ์ไทย

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ทำการตรวจหายีนที่กำหนดลักษณะทนน้ำท่วม *Sub1A* ในข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยขอความอนุเคราะห์สายพันธุ์ข้าวจากศูนย์วิจัยข้าว จ.หนองคาย ในการตรวจหายีนจะใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับยีน

Sub1A และแยกอัลลีล *Sub1A-1* และ *Sub1A-2* โดยการใช้ข้อมูลในบริเวณที่มี polymorphism ในสองอัลลีลตามรายงานที่มีมาก่อน ทำการตรวจลักษณะทนน้ำท่วมในข้าวทุกสายพันธุ์เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการมีอยู่ของยีนและลักษณะทนน้ำท่วม

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลสำคัญเกี่ยวกับแหล่งพันธุกรรมข้าวที่มีอยู่แล้ว ในประเด็นของพันธุกรรมที่ทำให้ข้าวทนน้ำท่วมและลักษณะทนน้ำท่วมได้ของข้าวเหล่านั้น ทำให้ได้ความรู้ในทรัพยากรธรรมชาติของชาติที่มากขึ้นเพื่อการเตรียมพร้อมรับการเปลี่ยนแปลงทางสิ่งแวดล้อม นับเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในเชิงของการเพิ่มข้อมูลของแหล่งพันธุกรรมข้าวของไทย นอกจากข้อมูลทางพันธุกรรมแล้ว ยังจะได้ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทนน้ำท่วมทำให้ทราบว่าข้าวสายพันธุ์ไทยมีศักยภาพในการเป็นคลังพันธุกรรมสำรองสำหรับอนาคต อีกทั้งงานวิจัยนี้จะได้สนับสนุนการศึกษาวิจัยของนักศึกษาระดับปริญญาเอกเป็นระยะเวลา 1 ปี จึงถือว่าได้ใช้งบประมาณในการพัฒนาทรัพยากรบุคคลอีกทางหนึ่ง



บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

ข้าวจัดอยู่ในพืชล้มลุกวงศ์หญ้า (Gramineae หรือ Poaceae) สกุล *Oryza* เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่นเดียวกับหญ้า สามารถเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น (สถาบันข้าว, 2538)

ข้าวสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ *Oryza glaberrima* ที่จะมีการเพาะปลูกกันเฉพาะในเขตร้อนของแอฟริกาเท่านั้น และ *Oryza sativa* ซึ่งมีการเพาะปลูกทั่วไปทุกประเทศ ข้าวชนิด *Oryza sativa* ยังสามารถแยกออกได้ เป็น 3 สายพันธุ์ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1.1 ลักษณะของข้าว *O. sativa* 3 สายพันธุ์

ลักษณะ	<i>indica</i>	<i>japonica</i>	<i>javanica</i>
แหล่งกำเนิด	อินเดีย	ญี่ปุ่น	อินโดนีเซีย
ความสูงของต้น	ต้นสูง	ต้นแคระ	ต้นสูง
ลักษณะใบ	ใบกว้าง บาง สีเขียวอ่อน	ใบแคบ สีเขียวแก่	ใบกว้าง แข็ง สีเขียวอ่อน
การแตกกอ	แตกกอมาก	แตกกอปานกลาง	แตกกอน้อย
เมล็ด	เมล็ดเรียวยาว	เมล็ดเล็กกลม	เมล็ดกว้าง ผิวขรุขระ

(พรเทพ และคณะ, 2547)

ในประเทศไทยจะนิยมปลูกข้าวสายพันธุ์ *Indica* ซึ่งจะสามารถแบ่งออกได้เป็นข้าวเจ้าและข้าวเหนียว และมีการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ตั้งแต่อดีตจนถึงในปัจจุบัน เพื่อให้มีความหลากหลายทั้งทางรสชาติและการทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ

กล่าวโดยทั่วไป น้ำท่วมเป็นสภาวะที่เป็นอันตรายแก่พืชบก มีผลกระทบต่อกระบวนการเจริญเติบโต และอาจทำให้พืชตายได้ เนื่องจากน้ำท่วมส่งผลให้มีการแลกเปลี่ยนก๊าซระหว่างพืชกับอากาศลดลง ก๊าซ O_2 , CO_2 และเอธิลีนแพร่ได้ช้าในน้ำ ส่งผลให้ระดับ O_2 ในเซลล์ลดต่ำลงจนยับยั้งการหายใจแบบใช้ O_2 (Gibbs and Greenway, 2003) ปริมาณ CO_2 ขึ้นกับชนิดของเนื้อเยื่อและปริมาณแสง โดยอาจเพิ่มขึ้นในยอดเมื่อไม่ได้รับแสงและในราก (Greenway et al., 2006) หรือลดลงในยอดที่ได้รับแสง (Mommer and Visser, 2005) และเกิดการสะสมฮอร์โมนเอธิลีนในเนื้อเยื่อที่ถูกน้ำท่วม (Jackson, 2008; Voesenek et al., 2006) นอกจากนี้ น้ำที่ท่วมจนมิดต้นพืชยังเป็นการลดความเข้มแสงที่พืชจะได้รับ ส่งผลเสียถึงกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Vervuren et al., 2003) ดินอาจขาดออกซิเจนจนถึงระดับที่เป็นพิษแก่พืช (Blom and Voesenek, 1996) ดังนั้น จึงกล่าวโดยรวมได้ว่า น้ำท่วมนำมาซึ่ง

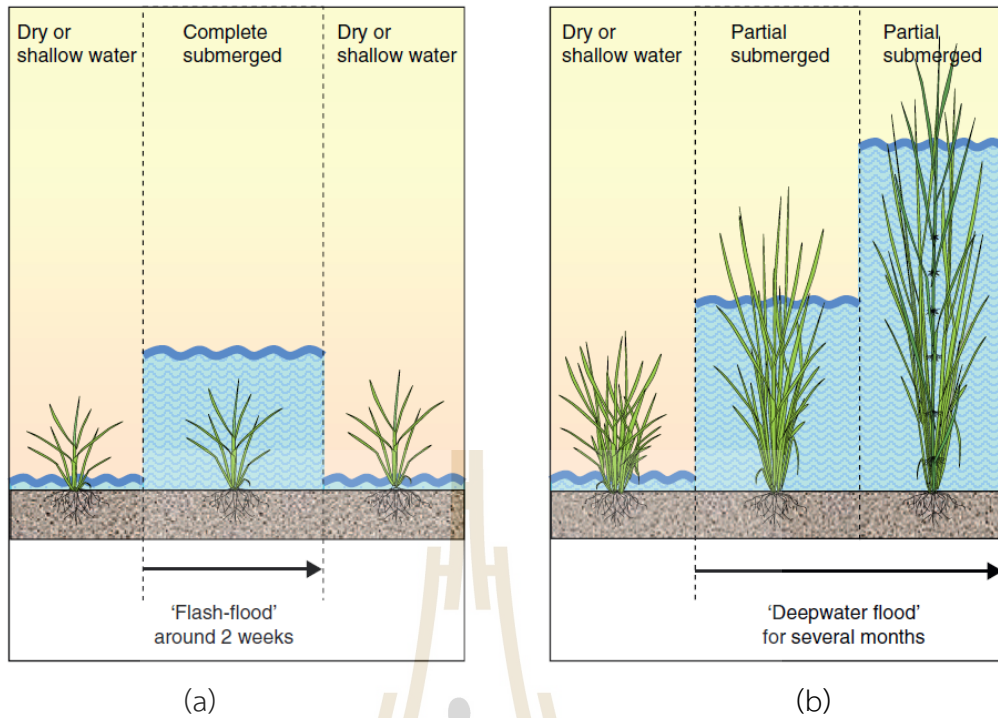
ความเครียดหลายอย่างแก่พืช ระดับ O_2 ที่ลดต่ำลงทำให้เกิดการยับยั้งการสร้าง ATP และการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต จนการเจริญเติบโตได้รับผลกระทบทางลบ และพืชอาจตายในที่สุด

ข้าวมีความแปรผันของลักษณะทนน้ำท่วมค่อนข้างมาก ข้าวส่วนใหญ่จะตายภายในสองสัปดาห์ หากถูกน้ำท่วมจนมิด ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการสูญเสียผลผลิตข้าวในเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Xu et al., 2006) ถึงแม้ข้าวจะเป็นพืชกึ่งน้ำ (semi-aquatic plant) ซึ่งปรับตัวผ่านวิวัฒนาการให้สามารถอยู่ในสภาพที่มีน้ำได้หลายรูปแบบ ทั้งดินปกติทั่วไปที่มีอากาศ และดินที่ขาดอากาศเนื่องจากมีน้ำท่วมขัง อย่างไรก็ตาม ทั่วโลกการเอาตัวรอดของข้าวไม่เพียงพอสำหรับสภาพที่มีน้ำท่วมต้นเป็นระยะเวลานานสองสามสัปดาห์ถึงหนึ่งเดือนอย่างเช่นในกรณีที่มีน้ำท่วมขัง หรือแม้แต่ในกรณีน้ำท่วมสูงอย่างรวดเร็วในระยะเวลาเพียงสองสัปดาห์ (Colmer, 2014) (น้ำท่วมจึงยังถือเป็นปัญหาสำคัญของกระบวนการผลิตข้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และปัญหานี้ดูจะเป็นปัญหาที่หนักขึ้นในระยะหลังเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ ไม่ว่าจะในระดับน้ำทะเลที่สูงขึ้น การเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล หรือสภาพอากาศที่รุนแรง (Coumou and Rahmstorf, 2012) แต่เนื่องจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวทำให้มีการค้นพบข้าวสายพันธุ์ที่สามารถทนน้ำท่วมแบบต่าง ๆ ได้ และสายพันธุ์เหล่านี้ก็ได้ถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวสายพันธุ์ใหม่ ๆ ที่ทนน้ำท่วมและให้ผลผลิตสูง (Mackill et al., 2012; Ismail et al., 2013) ทั้งการพัฒนาสายพันธุ์ที่ทนน้ำท่วมในระยะงอกถึงระยะกล้า และระยะที่มีการเติบโตของต้นและใบ (Miro and Ismail, 2013)

ข้าวเป็นพืชที่สามารถงอกได้ในสภาพที่มีออกซิเจนต่ำ หรือไม่มีออกซิเจน แต่สายพันธุ์ที่ทนต่อการสภาพขาดออกซิเจนเท่านั้นที่ coleoptile สามารถยืดยาวออกอย่างรวดเร็ว และเกิดการสร้างรากภายใต้ที่น้ำท่วม (Ismail et al., 2009) ส่วนสายพันธุ์อ่อนแอ แม้จะงอกได้ แต่จะไม่มีการเจริญต่อไปที่เป็นเช่นนั้น เพราะการยืดยาวของ coleoptile เกิดจากการที่เซลล์ยืดขยายขนาด ใน 48 ชั่วโมงแรกของการงอกเป็นช่วงที่เกิดการแบ่งเซลล์ และเป็นช่วงที่เมล็ดต้องการออกซิเจนมากที่สุด ดังนั้นระยะนี้จึงเป็นระยะที่สำคัญในการควบคุมการยืดออกของ coleoptile ภายใต้สภาวะขาดออกซิเจน (Atwell et al., 1982) มีรายงานว่ายีน *EXPA2* และ *EXPA4* แสดงออกใน coleoptile ที่จมน้ำ แต่ไม่แสดงออกใน coleoptile ที่ได้รับอากาศปกติ หรือขาดอากาศ (Huang et al., 2000) *EXPA7* และ *EXPA12* แสดงออกมากใน coleoptile ที่งอกในสภาพขาดอากาศ (Lasanthi-Kudahettige et al., 2007) ยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีน expansin อื่นที่มีรายงานว่าถูกชักนำให้มีการแสดงออกภายใต้ที่น้ำท่วมได้แก่ *EXPA1*, *EXPB11* และ *EXPB17* (Takahashi et al., 2011) นอกจากนี้ยังพบยีนอื่นที่เกี่ยวข้องในกระบวนการแบ่งเซลล์ เช่นยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ tubulin ซึ่งเป็นองค์ประกอบของ microtubule ได้แก่ tubulin α -1 chain (*TUBA1*) และยีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการประกอบเส้นใย actin ได้แก่ chain depolymerization factor 4 (*ADF4*) ยีนทั้งสองนี้มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในเมล็ดที่งอกในสภาพขาดอากาศ (Sadiq et al., 2011)

น้ำท่วมอาจแบ่งได้เป็นสองประเภท ได้แก่ น้ำท่วมแบบฉับพลัน (flash flood) และน้ำท่วมสูงเป็นระยะเวลานาน (deep water flood) และพบว่าข้าวมีการปรับตัวเพื่อให้อยู่รอดเมื่อเจอน้ำท่วมทั้งสองแบบโดยใช้กลไกที่ต่างกัน ตัวอย่างเช่น ในพื้นที่ที่มีน้ำท่วมสูงเป็นเวลานาน โดยระดับน้ำอาจสูงถึง 2-3 เมตร และขังอยู่เป็นเวลา 2-3 เดือน เป็นประจำทุกปี ซึ่งเป็นสถานะที่พืชอื่นไม่สามารถรอดชีวิตได้ แม้แต่ข้าวที่เป็นสายพันธุ์ทนทานต่อน้ำท่วมฉับพลัน แต่ข้าวสายพันธุ์ข้าวลอย (deep water rice) สามารถรอดชีวิตได้ เนื่องจากมีการปรับตัวใช้กลไกการยึดปล้องให้ยาวออกเพื่อหนีน้ำ และสร้างเนื้อเยื่อ aerenchyma ที่ปล้อง โดยพบว่าโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการยึดปล้องนี้ควบคุมโดยโปรตีนกลุ่มที่เป็น DNA binding protein ได้แก่ APETALA2/Ethylene Response Factor (AP2/ERF) และโปรตีน SNORKEL1 (SK1) และ SK2 (Hattori et al., 2009) ในขณะที่ข้าวนาลุ่ม (lowland rice) บางสายพันธุ์ที่ทนท่วมได้ จะใช้กลไกการชะลอการยึดยาวของต้นเพื่อลดการใช้คาร์โบไฮเดรตและสงวนคาร์โบไฮเดรตไว้ใช้เมื่อน้ำลด การปรับตัวนี้ควบคุมโดย polygenic *SUBMERGENCE1* (*sub1*) locus ซึ่งมียีนได้ถึงสามยีนใน locus นี้ ได้แก่ *Sub1A*, *Sub1B* และ *Sub1C* (Fakao, et al., 2006; Xu et al., 2006) โดยยีนที่ถูกชักนำให้แสดงออกเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อข้าวถูกน้ำท่วมได้แก่ *Sub1A* รูปที่ 2.1 แสดงกลไกการตอบสนองของข้าวต่อน้ำท่วมแต่ละแบบ ข้าวสายพันธุ์ที่ทนต่อน้ำท่วมฉับพลันจะหยุดการเจริญเติบโตเมื่อน้ำท่วม และน้ำท่วมแบบนี้มักท่วมอยู่เป็นเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ หลังจากนั้น ต้นข้าวจะกลับมาเติบโตอีกครั้ง ในขณะที่ข้าวสายพันธุ์ที่ทนต่อน้ำท่วมสูง (50 เซนติเมตร ถึง 4 เมตร) เป็นระยะเวลานาน (2-3 เดือน) จะใช้กลไกการหนีน้ำโดยการยึดปล้องให้ยาวออกเพื่อให้ยอดพ้นน้ำ เมื่อน้ำลง ต้นข้าวจะทอดลงพื้นแล้วงอกรากและแตกแขนงใหม่ (Hattori et al., 2011)

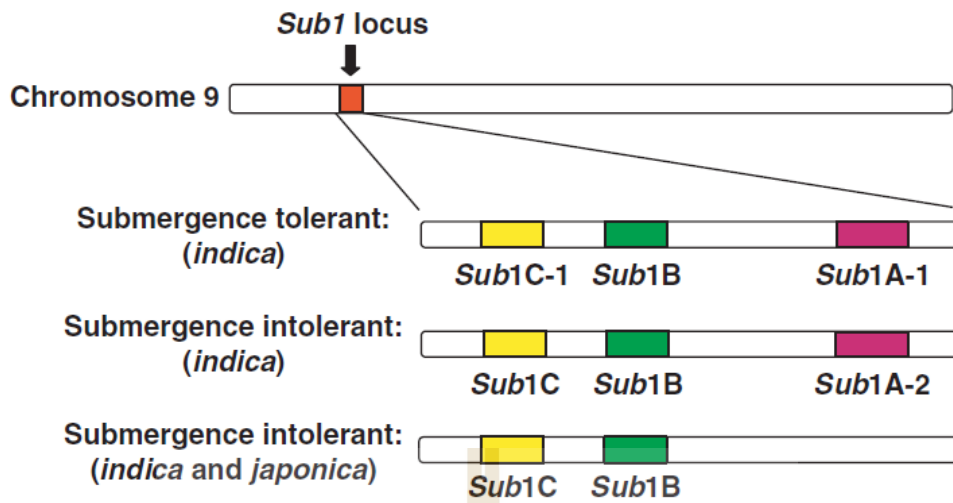
ความสามารถในการทนน้ำท่วม (submergence tolerance) ของข้าวนาลุ่มคือความสามารถของข้าวในการรอดชีวิตจากการถูกน้ำท่วมมิดเป็นเวลา 10-14 วัน และสามารถเจริญเติบโตได้หลังจากน้ำลดแล้ว ซึ่งการตอบสนองนี้มียีนที่เกี่ยวข้องหลักอยู่บนโครโมโซมที่ 9 ใน quantitative trait loci (QTL) ชื่อ *Submergence 1* (*Sub1*) (Xu and Mackill 1996; Nandi et al., 1997; Septiningsih et al., 2009) การศึกษาลำดับ DNA ใน *Sub1* locus ทำให้พบยีนที่กำหนดการสังเคราะห์โปรตีนที่เป็น ethylene responsive transcription factor 3 ยีนซึ่งถูกตั้งชื่อว่า *SUB1A-1*, *SUB1B-1* และ *SUB1C-1* (Xu et al., 2006) โดยมีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า *Sub1A* เป็นยีนที่มีบทบาทหลักในการกำหนดลักษณะทนน้ำท่วม ยีนนี้มีสองอัลลีลได้แก่ *Sub1A-1* และ *Sub1A-2* อัลลีล *Sub1A-1* ทำให้เกิดลักษณะทนน้ำท่วมในข้าว transgenic ที่ได้รับยีนนี้ไป (Xu et al., 2006)



รูปที่ 2.1 กลไกการตอบสนองของข้าวที่ทนน้ำท่วมแต่ละแบบ: (a) น้ำท่วมแบบฉับพลัน (b) น้ำท่วมสูงและนาน (Hattori et al., 2011)

ในขณะที่พบยีน *Sub1B* และ *Sub1C* ในข้าว *indica* และ *japonica* ที่ศึกษาทุกตัวอย่าง แต่ข้าว *japonica* ทุกสายพันธุ์ไม่พบว่ามี *Sub1A* อยู่ และพบ *Sub1A* ในข้าว *indica* บางสายพันธุ์เท่านั้น (Xu, et al., 2006) และข้าว *indica* ที่ไม่มี *Sub1A* ล้วนแต่อ่อนแอต่อน้ำท่วมทั้งสิ้น (Xu et al., 2006) เมื่อน้ำท่วมข้าว *Sub1A* ซึ่งเป็นยีนที่ตอบสนองต่อ ethylene มีการแสดงออกมากขึ้น และกระตุ้นการถอดรหัสเพื่อให้ได้ mRNA และแปลรหัสให้โปรตีน SLENDER RICE1 (SLR1) และ SLR1-like1 (SLRL1) ซึ่งยับยั้ง gibberellic acid (GA) signaling ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการใช้พลังงานและหยุดการเจริญเติบโต (Fukao et al., 2006; Fukao and Bailey-Serres, 2008)

รูปที่ 2.2 แสดงทฤษฎีเกี่ยวกับวิวัฒนาการของยีนใน *Sub1* gene cluster พบว่า ยีนทั้งสามน่าจะเกิดจาก tandem duplication ของยีนบรรพบุรุษ เนื่องจากยีนทั้งสามมีความใกล้ชิดทางวิวัฒนาการกันมากกว่าที่จะใกล้ชิดกับยีนอื่นในกลุ่ม ethylene responsive gene ในข้าว (Nakano et al., 2006) *Sub1* และ *Sub1A* น่าจะเกิดจาก duplication ของ *Sub1B* เนื่องจากการมีลำดับ DNA ที่แสดงความใกล้ชิดกับ *Sub1B* มากกว่า *Sub1C* แนวคิดที่ว่า *Sub1A* เป็นยีนที่มีวิวัฒนาการมาจากยีนที่มีอยู่ก่อนสอดคล้องกับข้อเท็จจริงที่พบ *Sub1A* ในข้าว *indica* บางสายพันธุ์เท่านั้น ยีน *Sub1A* สองอัลลีล ได้แก่ *Sub1A-1* และ *Sub1A-2* มีความแตกต่างกันที่นิวคลีโอไทด์สองตำแหน่งเท่านั้น (Xu et al., 2006)



รูปที่ 2.2 แสดงตำแหน่งโครโมโซมของยีน *Sub1A* (Fukao et al., 2009)

จากการใช้ molecular marker ในการตรวจพันธุกรรมข้าว 76 สายพันธุ์ และการศึกษา ลักษณะทนน้ำท่วม พบว่าข้าวสายพันธุ์ที่ทนน้ำท่วมมีอัลลีล *Sub1A-1* ของยีน *Sub1A* อยู่ ข้าวสายพันธุ์ที่ไม่มี *Sub1A* ไม่ทนน้ำท่วม มีข้าวเพียงหนึ่งสายพันธุ์ที่มี *Sub1A-2* แต่แสดงความสามารถในการทนน้ำท่วมได้ปานกลาง อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้พบข้าวบางสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อน้ำท่วมแต่มีอัลลีล *Sub1A-1* (Singh, et al., 2010) ข้าว *O. sativa* สายพันธุ์ที่ถูกระบุว่าเป็นสายพันธุ์ทนน้ำท่วมโดย IRRI (International Rice Research Institute) อายุ 30 วันสามารถทนน้ำท่วมได้ประมาณ 1 เดือน ซึ่งเมื่อเทียบกับ *O. glaberrima* จะพบว่าสามารถทนน้ำท่วมได้น้อยกว่า (Sakagami et al., 2009) แต่เนื่องจากข้าวเศรษฐกิจของไทยเป็นข้าว *O. sativa* ความรู้เกี่ยวกับพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการทนน้ำท่วมจะเป็นประโยชน์ในการจัดการวางแผนการเพาะปลูกข้าวตามสภาพพื้นที่ได้อย่างเหมาะสมในอนาคต

ประโยชน์ของการตรวจพันธุกรรมหายีนที่กำหนดลักษณะพิเศษได้แก่ ทำให้ได้ความรู้เกี่ยวกับแหล่งพันธุกรรมเพิ่มมากขึ้น พันธุกรรมที่เป็นทรัพยากรธรรมชาติเหล่านี้เปรียบเสมือนคลังของเครื่องมือทางธรรมชาติในการรับมือกับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว งานวิจัยนี้จะทำการสำรวจหายีน *Sub1A* ในข้าวสายพันธุ์ไทย โดยอาศัยข้อมูลเกี่ยวกับ molecular marker ที่จำเพาะต่อ *Sub1A* ที่ถูกพัฒนาขึ้นในรายงานวิจัยของ Neeraja et al. (2007) และ Septiningsih et al. (2009) และการหาลำดับดีเอ็นเอ นอกจากนี้จะทำการตรวจลักษณะความสามารถในการทนน้ำท่วมในข้าวสายพันธุ์ที่ศึกษานอกจากนี้จากการได้ข้อมูลเกี่ยวกับพันธุกรรมว่ามีหรือไม่มี *Sub1A* แล้ว ยังจะได้ทราบศักยภาพของสายพันธุ์ข้าวเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการศึกษาลึกซึ้งเพื่อประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้ต่อไป

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาและการปลูก

พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ ได้รับความอนุเคราะห์จาก ศูนย์วิจัยข้าววนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 36 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สายพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์
1	ข้าวหอมชลสิทธิ์	19	หางลอย
2	กข6	20	กข31(ปทุมธานี80)
3	ขาวดอกมะลิ	21	กข29
4	กข41	22	เล็บช้าง
5	กข25 (เขียวพัทลุง)	23	หมยหนอง 62 เอ็ม
6	ชัยนาท 1	24	ลั่นยุง
7	เหลืองปะทิว 123	25	อยุธยา 1
8	กข49	26	หางทอง
9	ไรซ์เบอร์รี่	27	ลูกปลา
10	หอมสุรินทร์	28	เหลืองดง
11	เพชรบุรี 1	29	ขาวหลุดหนี
12	กข47	30	กข33
13	กข37	31	กข43
14	กข27	32	กข39
15	กข35	33	บางแตน
16	เล้าหัก	34	แจ๊กเซยกาบเขียว
17	กุ่มเมือง	35	พิษณุโลก 2
18	กข45	36	หอมกุหลาบแดง

ในการทดลองนี้จะทำการปลูกข้าวภายในเรือนทดลองของฟาร์มมหาวิทยาลัย ภายใต้การดูแลของสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จะทำการปลูกข้าวด้วยการแช่เมล็ดในน้ำประปาประมาณ 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะดำเนินการปลูกในกระถางจำนวน 50 เมล็ดต่อสายพันธุ์ต่อกระถาง เป็นเวลา 30 วัน ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ โดยแบ่งข้าวแต่ละสายพันธุ์แบ่ง 2 ชุดการทดลอง (2 กระถาง) คือชุดการทดลองควบคุมที่จะรดน้ำในปริมาณ 50 มิลลิลิตรทุกวัน วันละ 1 ครั้ง ในช่วงเช้าประมาณ 8.00 น. และชุดการทดลองที่ถูกรดน้ำท่วมจะจำลองสภาวะน้ำท่วมที่ระดับความลึกประมาณ 50 เซนติเมตร เป็นเวลา 7 วัน (Siangliw et al., 2003)

3.2 การตรวจหาอินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการทนน้ำท่วม

3.2.1 การสกัดดีเอ็นเอ

การศึกษาในครั้งนี้ใช้ข้าวจำนวน 36 สายพันธุ์ ทำการสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าว 0.2 กรัม โดยเริ่มต้นจากการบดเนื้อเยื่อใบ เติมไนโตรเจนเหลวลงบนใบที่สับใส่ในโถง และบดให้ละเอียด นำตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วใส่หลอดทดลองแล้วเติม CTAB ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปปั่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นเติม chloroform : isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ดูดสารส่วนบนใส่ในหลอดทดลองใหม่ เติม RNase ปริมาตร 5 ไมโครลิตร นำไปปั่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เติม chloroform : isoamyl (24:1) อัตราส่วน 1:1 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารส่วนบนใส่หลอดทดลองใหม่ เติม sodium acetate เข้มข้น 3 โมลาร์ pH 5.0 ปริมาตร 1/10 volume และ 1 volume isopropanol เย็นจัด จากนั้นทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ค่อย ๆ เทส่วนที่เป็นสารละลายทิ้ง จะพบตะกอนดีเอ็นเอที่ส่วนล่างของหลอดทดลอง หลังจากนั้นให้ล้างดีเอ็นเอด้วยแอลกอฮอล์ 70% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที แล้วเทแอลกอฮอล์ 70% ทิ้ง เปิดฝาหลอดทดลองแล้วคว่ำปากหลอดลงบนกระดาษชำระที่วางบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส รอจนแห้ง เติม TE (พีเอช 8.0) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปปั่นที่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เก็บสารสกัดดีเอ็นเอที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2.2 การวัดปริมาณดีเอ็นเอ

การหาความเข้มข้นของดีเอ็นเอทำได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร (A260) และ 280 นาโนเมตร (A280) ด้วยเครื่อง nanodrop spectrophotometer

3.2.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PCR)

ปฏิกิริยา PCR เป็นปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอให้มากขึ้น โดยเริ่มจากการเตรียม master mix ที่ประกอบด้วย 10x beffer, dNTP, forward primer, reverse primer, *Taq* DNA polymerase การเตรียมสารละลายต่าง ๆ ทำโดยการปิเปตสารแต่ละชนิดลงในหลอดทดลองใหม่เพื่อเป็นการเตรียม master mix ควรปฏิบัติงานอย่างรวดเร็วและระมัดระวัง สารทุกชนิดต้องอยู่ในความเย็นขณะปฏิบัติงาน เมื่อเตรียม master mix เรียบร้อย ทำการปิเปตสารลงหลอดทดลองแต่ละหลอด หลังจากนั้นเติม DNA template แต่ละตัวอย่างลงไปและเริ่มปฏิบัติการด้วยเครื่อง thermal cycler ต่อไป โดยส่วนประกอบของปฏิกิริยา PCR และไพรเมอร์ ที่ใช้แสดงในตารางที่ 3.2 และ 3.3 ตามลำดับ โดยไพรเมอร์ที่ใช้ในการจำแนกข้าวตามการมีอยู่ของยีนใน *Sub1* QTL ใช้ตาม Singh et al. (2010), Neeraja et al. (2007) และ Septiningsih et al. (2009)

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบในปฏิกิริยา PCR

	ความเข้มข้น	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
DNA	50 ng/ul	1
dNTP	-	2
10x buffer	-	2
Forward primer	5 uM	0.5
Reverse primer	5 uM	0.5
<i>i-Taq</i> plus	-	0.5
Deionized water	-	13.5
Total		20

ตารางที่ 3.3 ข้อมูลไพรเมอร์ ที่ใช้ในการศึกษา

การตรวจสอบ	Locus name	Forward primer	Reverse primer
การมีอยู่ของ <i>Sub1A</i>	Sub1A203	5'-cttcttgctcaacgacaacg-3'	5'-aggctccagatgtccatgtc-3'
Tolerant allele <i>Sub1A-1</i>	AEX	5'-aggcggagctacgagtacca-3'	5'-gcagagcggctgcga-3'
Intolerant allele <i>Sub1A-2</i> จะ ถูกตัดได้ด้วย <i>AluI</i>	GnS2	5'-cttcttgctcaacgacaacg-3'	5'-tcgatgggtcttgatctct-3'

เมื่อผสมส่วนประกอบดังกล่าวลงในหลอดทดลอง PCR เรียบร้อยแล้วนำเข้าเครื่อง thermal cycler และปรับอุณหภูมิในแต่ละช่วงปฏิกิริยาดังแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 เงื่อนไขของปฏิกิริยา PCR และจำนวนรอบในแต่ละขั้นตอน

Denature	94 องศาเซลเซียส	30 วินาที	35 cycles
Annealing	56 - 66 องศาเซลเซียส	30 วินาที	
Extension	72 องศาเซลเซียส	30 วินาที	

3.2.4 การเตรียม 2% agarose gel

ชั่งผง agarose gel 2 กรัม ลงในสารละลาย 1x TBE ปริมาตร 100 มิลลิลิตร หลอมผง agarose ในเตาอบไมโครเวฟให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับ 1x TBE รอให้เย็นลงจนอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส จึงนำไปเทลงในถาด agarose gel ที่เตรียมไว้ รอน gel แปรสภาพเป็นของแข็งแล้ว จึงไปใช้เพื่อแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าต่อไป

3.2.5 การตรวจผลปฏิกิริยา PCR ด้วย agarose gel

นำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR มาตรวจสอบด้วย 2% agarose gel โดยใช้ผลผลิต PCR 5 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อมดีเอ็นเอ 1.5 ไมโครลิตร เติมนลงในช่อง agarose gel ที่ละตัวอย่างจนครบ จากนั้นทำการแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยเครื่อง electrophoresis โดยใช้แรงดันไฟฟ้า 100v เป็น

เวลา 15 นาที และ 75v เป็นเวลา 40 นาที นำไปตรวจผลบนเครื่องฉาย UV และบันทึกภาพการเรืองแสงของดีเอ็นเอด้วยกล้องดิจิทัล

3.2.6 การตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ

เตรียมปฏิกิริยาการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *AluI* โดยเตรียมปฏิกิริยาที่มีปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร และมีองค์ประกอบได้แก่ ผลิตภัณฑ์ PCR 5 ไมโครลิตร เอนไซม์ *AluI* 0.5 ไมโครลิตร 10X buffer 2 ไมโครลิตร และน้ำ deionized 12.5 ไมโครลิตร บ่มหลอดทดลองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.3 การวัดค่าการเจริญเติบโต

3.3.1 ความยาวต้นและราก

นำตัวอย่างข้าวกลุ่มละ 3 ต้น/สายพันธุ์ มาทำความสะอาดโดยการล้างด้วยประปาและน้ำกลั่นตามลำดับ จากนั้นใช้ใบมีดตัดเพื่อแยกส่วนใบรวมทั้งลำต้นและส่วนรากออกจากกัน แล้วนำมาวัดความยาวด้วยไม้บรรทัด บันทึกผลความยาวของทั้งส่วนใบและราก

3.3.2 น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

นำตัวอย่างพืชจากข้อ 3.3.1 มาชั่งน้ำให้แห้งและชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บันทึกผลน้ำหนักสดของส่วนใบและราก จากนั้นนำทั้งสองส่วนใส่ในอุปกรณ์สำหรับเข้าอบ นำเข้าตู้อบเพื่อกำจัดความชื้นออกโดยใช้อุณหภูมิในการอบที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากครบกำหนดเวลานำตัวอย่างออกมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บันทึกผลน้ำหนักแห้ง

3.3.3 การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

นำใบสดของต้นข้าวปริมาณ 0.1 กรัม เติมน้ำไตรเจนเหลวแล้วบดให้ละเอียดในโถงปรับปริมาตรตัวอย่างให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วย 80% อะซิโตน แล้วนำกระดาษฟอล์มาหุ้มหลอดเพื่อป้องกันแสงทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง (สังเกตกากของใบจะเป็นสีขาว) หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงในเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่ 4000-5000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนใสแล้วปรับปริมาตรด้วย 80% อะซิโตน ให้ได้ 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บี

$$\text{Chlorophyll a} = (9.78 \times A_{663}) - (0.99 \times A_{645})$$

$$\text{Chlorophyll b} = (21.4 \times A_{645}) - (4.65 \times A_{663})$$

3.4 การวัดปริมาณคาร์โบไฮเดรต

3.4.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

นำตัวอย่างใบข้าว 0.2 กรัม เติมไนโตรเจนเหลวและบดให้ละเอียดด้วยโกร่ง แล้วนำตัวอย่างใส่ในหลอดทดลอง เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 80% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องเซนตริฟิวส์ที่ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทสารละลายส่วนใสลงขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และเติมเอทิลแอลกอฮอล์ 80% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีตะกอนอยู่เขย่าเล็กน้อย แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง เทสารละลายส่วนใสลงในขวดปรับปริมาตรเดิม ทำจำนวน 2 ครั้ง จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 80% และเก็บสารละลายไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อจะได้นำไปวิเคราะห์น้ำตาลต่อไป ส่วนกากตะกอนที่เหลือจากการสกัดให้นำไปอบที่ 60 องศาเซลเซียส เพื่อใช้วิเคราะห์แป้งต่อไป

3.4.2 การวิเคราะห์น้ำตาล

เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรลงในสารละลายที่สกัดได้จากข้อ 3.4.1 ปริมาณ 20 ไมโครลิตร จากนั้น เติมสารละลายฟินอล 5% 1 มิลลิลิตร ตามด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร (ใส่อย่างรุนแรงเพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์) ผสมสารในหลอดให้เข้ากันทันทีด้วยเครื่องวอร์เท็กซ์ (vortex) ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเขย่าให้เข้ากันอีกครั้งด้วยเครื่องวอร์เท็กซ์อีกหนึ่งรอบ แช่หลอดทดลองในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำสารละลายที่ผ่านการทำปฏิกิริยาแล้วไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร blank ที่ใช้ได้แก่สารละลายตัวอย่างจากข้อ 3.4.1 ปริมาณเท่ากับปริมาณสารละลายตัวอย่างที่ใช้ทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร แล้วดำเนินการตั้งระดับขั้นตอนการเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตรเหมือนตัวอย่างที่เติมฟินอลทุกประการ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ของแต่ละตัวอย่างมาลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของ blank ของแต่ละตัวอย่าง จากนั้นนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน แล้วนำมาคำนวณหาความเข้มข้นของน้ำตาลตามสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{ความเข้มข้นของน้ำตาล} = \frac{X \times D \times F}{FW} \text{ มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักสด}$$

X = ค่าความเข้มข้นที่ได้จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

D = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

F = ปริมาตรที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 80% (25 มิลลิลิตร)

FW = น้ำหนักที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 80% (2 กรัม)

3.4.3 การวิเคราะห์แป้ง

เจือจางสารละลายที่ได้จากขั้นตอนการสกัดตัวอย่างพืช ปริมาตร 25 เท่า นำสารละลายที่เจือจางแล้วมา 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์ที่แช่เย็นรอไว้ในกล่องน้ำแข็ง เติมสารละลายแอนโทรน (Anthrone) 5 มิลลิลิตร ผสมสารในหลอดด้วยเครื่องวอร์เท็กซ์ แล้วนำหลอดไปแช่ในอ่างน้ำร้อน ควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียสทันที บ่มนาน 7.5 นาที จากนั้นนำไปแช่น้ำแข็งเพื่อลดอุณหภูมิ แล้วนำหลอดออกมาตั้งไว้ข้างนอกเพื่อปรับอุณหภูมิของสารละลายให้ใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นของแป้งตามสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณแป้ง (X)} = \text{ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ได้จากการเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน} \times 0.9$$

$$\text{ความเข้มข้นของแป้งต่อน้ำหนักแห้ง} = \frac{X \times F \times d}{1,000 \times D} \text{ มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง}$$

X = ความเข้มข้นของแป้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

F = ปริมาตรที่ใช้ในขั้นตอนการย่อยสลายโดยน้ำ (hydrolysis)

d = จำนวนเท่าที่เจือจาง

D = น้ำหนักแห้งที่นำมาสกัด (กรัม)

3.5 การวัดปริมาณเอทิลีน

นำตัวอย่างต้นข้าว (ทั้งต้นรวมราก) ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำจุกยาง (suba rubble seal) มาปิดปากขวดไว้ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อยเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาใช้ไซริงค์ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดแก๊สออกจากในขวดปรับปริมาตร แล้วนำไปวัดค่าด้วยเครื่อง gas chromatography (GC) บันทึกผล

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี analysis of variance (One-way ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS version 18.0

3.7 การวิเคราะห์กายวิภาคของรากข้าว

การวิเคราะห์สัณฐานวิทยาในครั้งนี้ จะทำการตรวจสอบการเกิดแอเรงคิมา (aerenchyma) ในรากข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, ขาวहुตหนี่, ไรซ์เบอร์รี่และหอมชลสิทธิ์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) โดยการนำรากข้าวมาตัดแบบตามขวางในบริเวณปลายราก (root tip) fix ตัวอย่างตัดตามขนาดที่ต้องการด้วย 1 % osmium tetroxide ใน 0.1 M PBS, pH 7.4 ที่ 4°C นาน 2 ชั่วโมง แล้วล้างด้วย 0.1M PBS, pH 7.4 จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ทำการดึงน้ำ (dehydrate) ด้วย ethyl alcohol ที่ความเข้มข้น 70%, 80%, 90%, 95% 2 ครั้ง และ 100% 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที ตามลำดับ จึงนำไปทำแห้ง ณ จุดวิกฤต ด้วยเครื่อง critical point drying และติดตัวอย่างบน stub แล้วเคลือบด้วยโลหะหนัก เก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น จนกว่าจะนำมาศึกษาด้วยกล้อง SEM



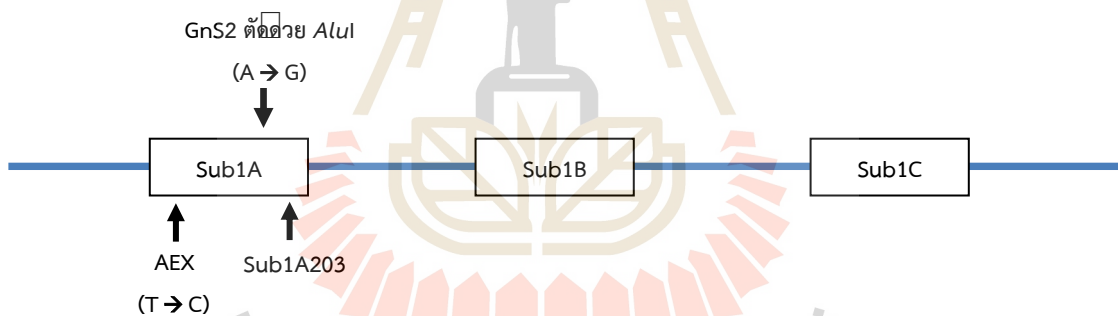
บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการทนน้ำท่วม

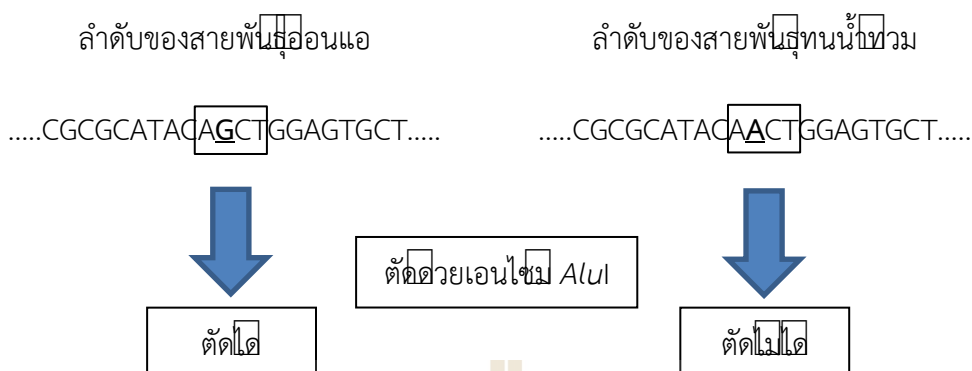
4.1.1 ยีนใน *Sub1* QTL ในสายพันธุ์ข้าวที่ศึกษา

Sub1 เป็น QTL หลักในการกำหนดลักษณะทนท่วมเป็นเวลาประมาณ 14 วันในข้าว เป็น QTL ที่อยู่บนโครโมโซมที่ 9 (Xu and Mackill 1996; Septiningsih et al., 2009) พบมียีนสามยีนที่กำหนดการสังเคราะห์โปรตีนที่เป็น ethylene responsive transcription factor ได้แก่ *Sub1A*, *Sub1B* และ *Sub1C* โดยยีนที่ได้รับความสนใจในฐานะยีนที่พบความสัมพันธ์กับลักษณะทนน้ำท่วมมากที่สุดได้แก่ *Sub1A* ซึ่งมีสองอัลลีลได้แก่ *Sub1A-1* และ *Sub1A-2* ข้าวที่ทนน้ำท่วมได้มีอัลลีล *Sub1A-1* ในขณะที่ *Sub1A-2* เป็นอัลลีลที่พบในสายพันธุ์ที่ไม่ทนน้ำท่วม (Xu et al., 2006) การศึกษานี้ได้ดำเนินการตรวจสอบการมีอยู่ของยีนที่ทนน้ำท่วม *Sub1A* จากข้าวสายพันธุ์ไทยจำนวน 36 สายพันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์ GnS2, Sub1A203 และ AEX ซึ่งมีตำแหน่งการเข้าจับกับต้นแบบดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 *Sub1* QTL และตำแหน่งจับของไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบหายีน *Sub1A*

ในการระบุอัลลีลใดของยีน *Sub1A* มีอยู่ในจีโนมที่ศึกษา สามารถทำได้โดยใช้ไพรเมอร์ GnS2 ซึ่งจำเพาะกับลำดับดีเอ็นเอที่ขนาดตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ตัดจำเพาะซึ่งจะพบเฉพาะใน intolerant allele *Sub1A-2* ได้แก่ ตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ *AluI*: AG/CT หรือ *PvuII*: CAG/CTG ตำแหน่งจดจำนี้ไม่พบใน tolerant allele *Sub1A-1* เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงแทนที่ในบริเวณดังกล่าว (Neeraja et al., 2007) รูปที่ 4.2 แสดงแนวคิดของการตรวจสอบเพื่อระบุอัลลีลของยีน *Sub1A* ในจีโนมข้าวด้วยเทคนิค cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) โดยใช้ไพรเมอร์ GnS2

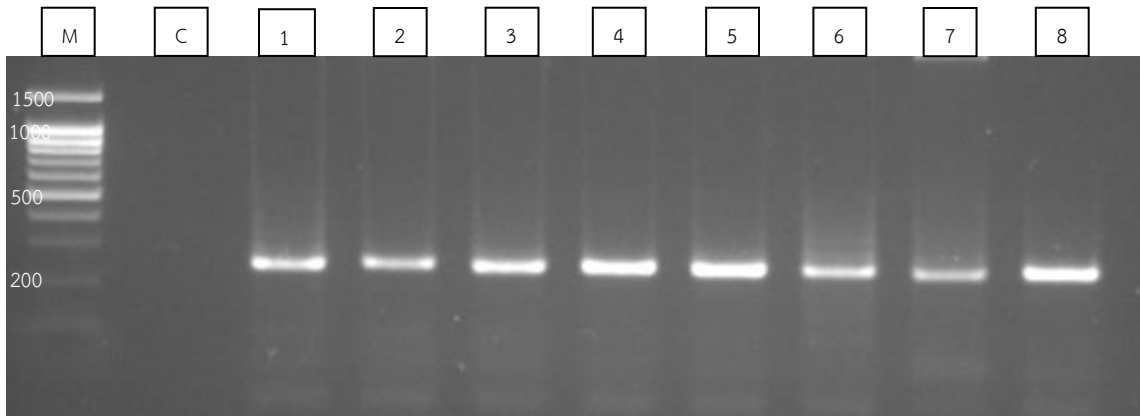


รูปที่ 4.2 การตรวจสอบเพื่อระบุอัลลีลของยีน *Sub1A* ในจีโนมข้าวด้วยเทคนิค CAPS โดยใช้ไพรเมอร์ GnS2

ผลผลิต PCR ที่จะได้จากการใช้ไพรเมอร์ GnS2 เท่ากับ 242 คู่เบส และหากเอนไซม์ *AluI* ตัดผลิตภัณฑ์ที่ได้ จะทำให้ได้ชิ้นดีเอ็นเอจากการตัดที่มีขนาด 132 คู่เบสและ 110 คู่เบส (Neeraja et al., 2007) การตรวจสอบยีนโดยใช้ไพรเมอร์ GnS2 ให้ผลว่า จาก 36 สายพันธุ์ที่ทดสอบ สายพันธุ์ที่มียีน *Sub1A* ได้แก่ หอมชลสิทธิ์ ขาวหุดหนี่ ไرش์เบอร์รี่ เพชรบุรี 1 กข43 ลูกปลา กข27 และชัยนาท 1 ซึ่งในกลุ่มนี้มีเพียงหอมชลสิทธิ์เท่านั้นที่มีอัลลีล *Sub1A-1* ของยีน *Sub1A* ผลการทำ PCR ให้ขนาดที่คาดหวัง กล่าวคือ ได้ผลผลิตที่มีขนาดเท่ากับ 242 คู่เบส และหากเอนไซม์ *AluI* ตัดผลผลิต PCR ที่ได้ จะทำให้ได้ชิ้นดีเอ็นเอจากการตัดที่มีขนาด 132 คู่เบสและ 110 คู่เบส (รูปที่ 4.3 และ 4.4) เงื่อนไขของปฏิกิริยาที่เหมาะสมสำหรับทำ PCR ที่ใช้ไพรเมอร์ GnS2 ได้แก่ปฏิกิริยาที่ใช้ annealing temperature ที่ 94 องศาเซลเซียส annealing temperature ที่ 59.5 องศาเซลเซียส และ extension temperature ที่ 72 องศาเซลเซียส

ข้าวหอมชลสิทธิ์เป็นข้าวลูกผสมของข้าวทวนน้ำท่วมแบบฉบับพลันจากต่างประเทศกับข้าวหอมมะลิ 105 ทำให้มีคุณภาพหุงต้มแบบข้าวขาวดอกมะลิ แต่สามารถทนน้ำท่วมได้นานถึง 2 สัปดาห์ (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว ห้องปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว:

<http://dna.kps.ku.ac.th/index.php/news-articles-rice-rsc-rgdu-knowledge/rice-breeding-lab/homchonlasit-rice-variety>)



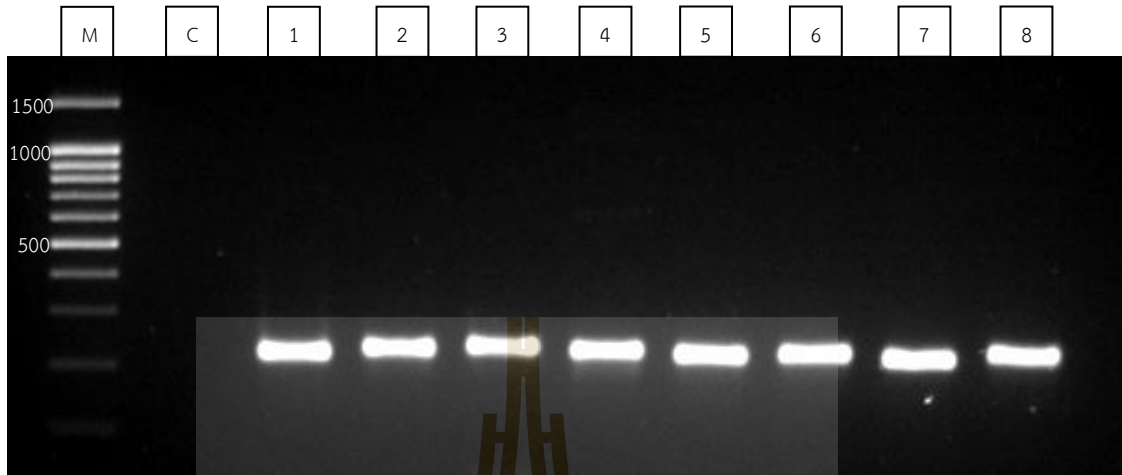
รูปที่ 4.3 ผลผลิต PCR จากการใช้ไพรเมอร์ GnS2: M = 100 bp marker, C = Negative control, 1 = หอมชลิทธี, 2 = ขาวหลุดหนี, 3 = โรซเบอรี่, 4 = เพชรบุรี 1, 5 = กข43, 6 = ลูกปลา, 7 = กข27, 8 = ชัยนาท 1



รูปที่ 4.4 ผลการตัดผลผลิต PCR ที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ GnS2 ด้วยเอนไซม์ *Alu1*: M = 100 bp marker, C = Negative control, 1 = หอมชลิทธี, 2 = ขาวหลุดหนี, 3 = โรซเบอรี่, 4 = เพชรบุรี 1, 5 = กข43, 6 = ลูกปลา, 7 = กข27, 8 = ชัยนาท 1

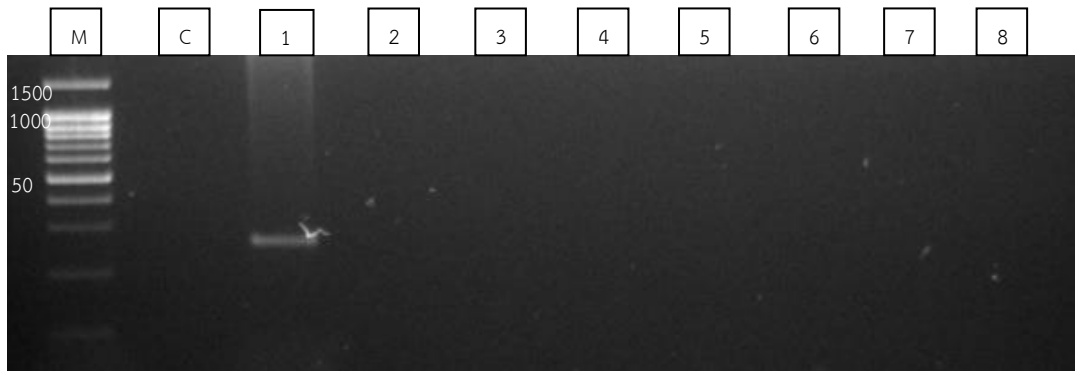
การมีอยู่ของยีน *Sub1A* ถูกยืนยันด้วยการใช้ไพรเมอร์ *Sub1A203* ซึ่งจำเพาะกับบริเวณหนึ่งใน exon ของ *Sub1A* ผลการทำ PCR แสดงในรูปที่ 4.5 ขนาดของผลผลิต PCR ที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ *Sub1A203* มีเท่าขนาดที่ขนาดที่คาดหวัง ได้แก่ 203 คู่เบส (Septiningsih et al., 2009) ซึ่งแสดงว่าทั้ง 8 พันธุ์มียีน *Sub1A* ปฏิบัติการ PCR ที่ใช้ไพรเมอร์ *Sub1A203* คือปฏิบัติการที่ใช้ denature

temperature ที่ 94 องศาเซลเซียส annealing temperature 56 องศาเซลเซียส และ extension temperature ที่ 72 องศาเซลเซียส จำนวน 35 รอบ



รูปที่ 4.5 ผลผลิต PCR จากการใช้ไพรเมอร์ Sub1A203: M = 100 bp, C = Negative control, 1 = หอมชลิทธี, 2 = ขาวหลุดหนึ่, 3 = โรซเบอริ้, 4 = เพชรบุรี 1, 5 = กข43, 6 = ลูกปลา, 7 = กข27, 8 = ชัยนาท 1

ไพรเมอร์ AEX มีความจำเพาะกับบริเวณที่เกิด single nucleotide polymorphism ทางด้านปลาย 3' ของยีน *Sub1A* โดยไพรเมอร์ นี้จะสามารถเพิ่มปริมาณ DNA จากปฏิกิริยา PCR เมื่อใช้ DNA ต้นแบบจากสายพันธุ์ทนน้าท่วมเท่านั้น และมีขนาดผลผลิต PCR ที่คาดหมายเท่ากับ 231 คู่เบส (Septiningsih et al., 2009) รูปที่ 4.6 แสดงผลผลิต PCR เมื่อใช้ ไพรเมอร์ AEX พบว่ามีแต่ข้าวสายพันธุ์ชลิทธีเท่านั้นที่มีผลผลิต PCR เกิดขึ้น จากปฏิกิริยาที่ใช้ denature temperature ที่ 94 องศาเซลเซียส annealing temperature ที่ 66 องศาเซลเซียส และ extension temperature ที่ 72 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.6 ผลผลิต PCR จากการใช้ไพรเมอร์ AEX: M = 100 bp, C = Negative control, 1 = หอมชลสิทธิ์, 2 = ขาวหลุดหน้, 3 = โรสเบอร์รี่, 4 = เพชรบุรี 1, 5 = กข43, 6 = ลูกปลา , 7 = กข27, 8 = ชัยนาท 1

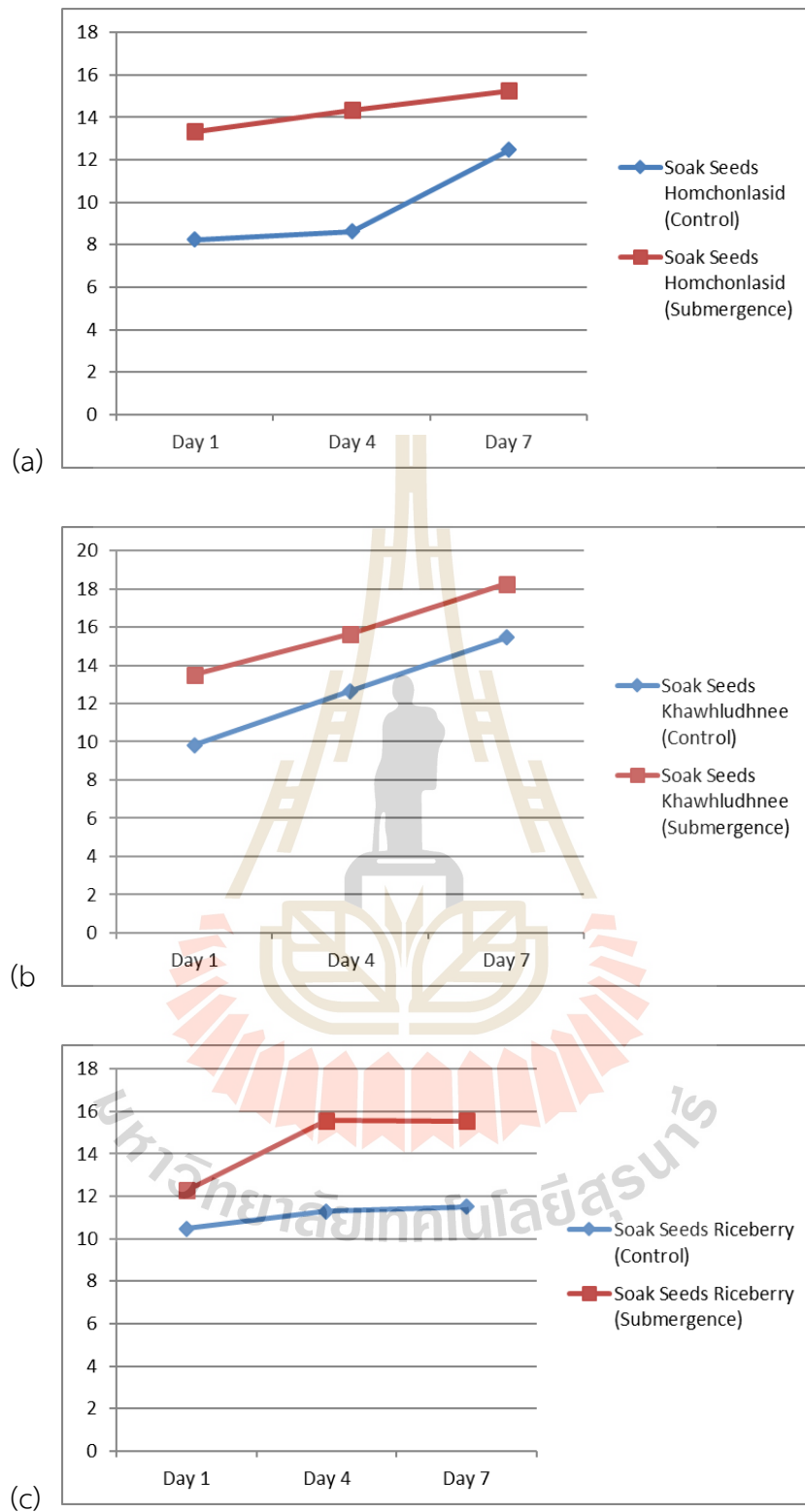
จากผลการศึกษาลำดับของยีน *Sub1A* พบว่ามีเพียง 8 สายพันธุ์ที่มียีน *Sub1A* ได้แก่ หอมชลสิทธิ์ ขาวหลุดหน้ โรสเบอร์รี่ เพชรบุรี 1 กข43 ลูกปลา กข27 และ ชัยนาท 1 และมีเพียงหอมชลสิทธิ์ที่มีอัลลีล *Sub1A-1* ของยีนนี้ ที่เหลือ 7 สายพันธุ์มียีน *Sub1A-2*

เพื่อศึกษาการตอบสนองของข้าวต่อสภาวะถูกร้ำท่วม จึงเลือกข้าวจำนวน 7 สายพันธุ์ซึ่งมียีนที่เกี่ยวข้องกับความทนท่วมแตกต่างกันดังนี้ กลุ่มที่มียีน *Sub1A-1* คือ หอมชลสิทธิ์ กลุ่มที่มียีน *Sub1A-2* คือ ขาวหลุดหน้ โรสเบอร์รี่ และเพชรบุรี 1 และกลุ่มที่ไม่มียีน *Sub1A* คือ ขาวดอกมะลิ 105 กข6 และ กข25

4.2 การเจริญเติบโตของข้าวที่มีจีโนไทป์ต่างกันภายใต้สภาวะน้ำท่วม

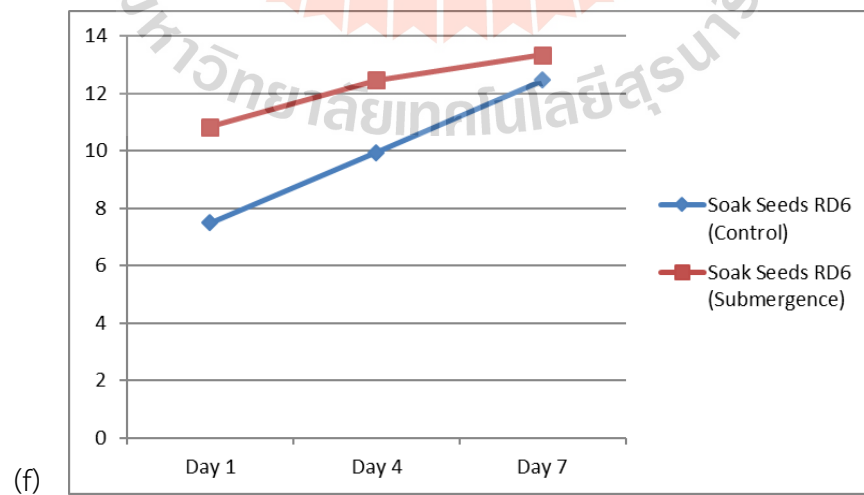
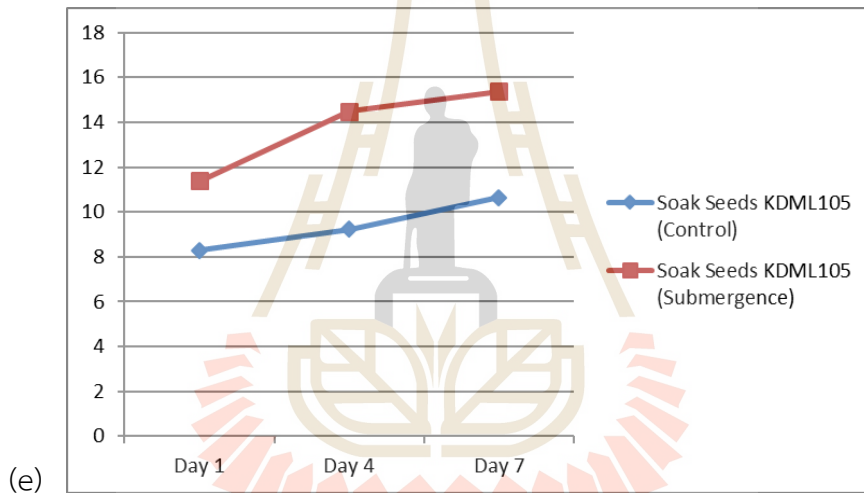
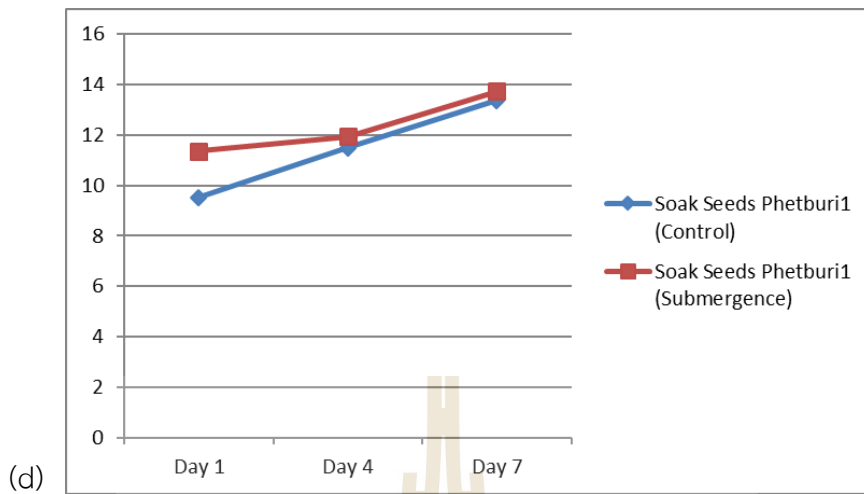
4.2.1 ผลต่อน้ำท่วมที่มีต่อความยาวราก

ผลของน้ำท่วมที่มีต่อความยาวรากจากการศึกษาผลกระทบของน้ำท่วมที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าวทั้ง 3 กลุ่ม พบว่า หลังจากข้าวถูกน้ำท่วมเป็นเวลา 7 วันนั้น การยืดยาวของรากข้าวมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยในสายพันธุ์ขาวหลุดหน้ มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 18.27 (รูปที่ 4.7 และตารางที่ 4.1) การยืดยาวของรากเป็นข้อบ่งชี้การเติบโตและการอยู่รอดของข้าว ซึ่งพบว่าข้าวทุกสายพันธุ์ยกเว้นโรสเบอร์รี่มีแนวโน้มที่รากยาวออกมากขึ้นภายใต้สภาวะน้ำท่วม



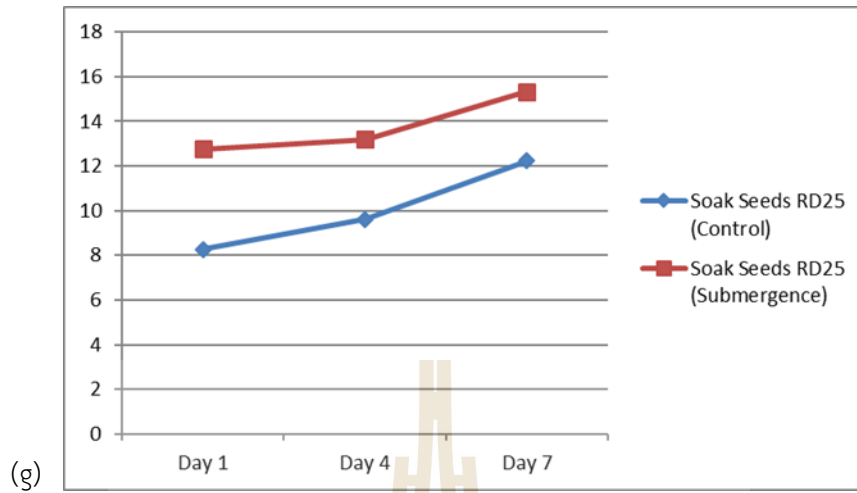
รูปที่ 4.7 ความยาวเฉลี่ยของรากข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหนี่

(c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25



รูปที่ 4.7 ความยาวเฉลี่ยของรากข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวहुคหนี่

(c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)



รูปที่ 4.7 ความยาวเฉลี่ยของรากข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหุดหนี่ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)

ตารางที่ 4.1 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบความยาวรากระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ถูกน้ำท่วม

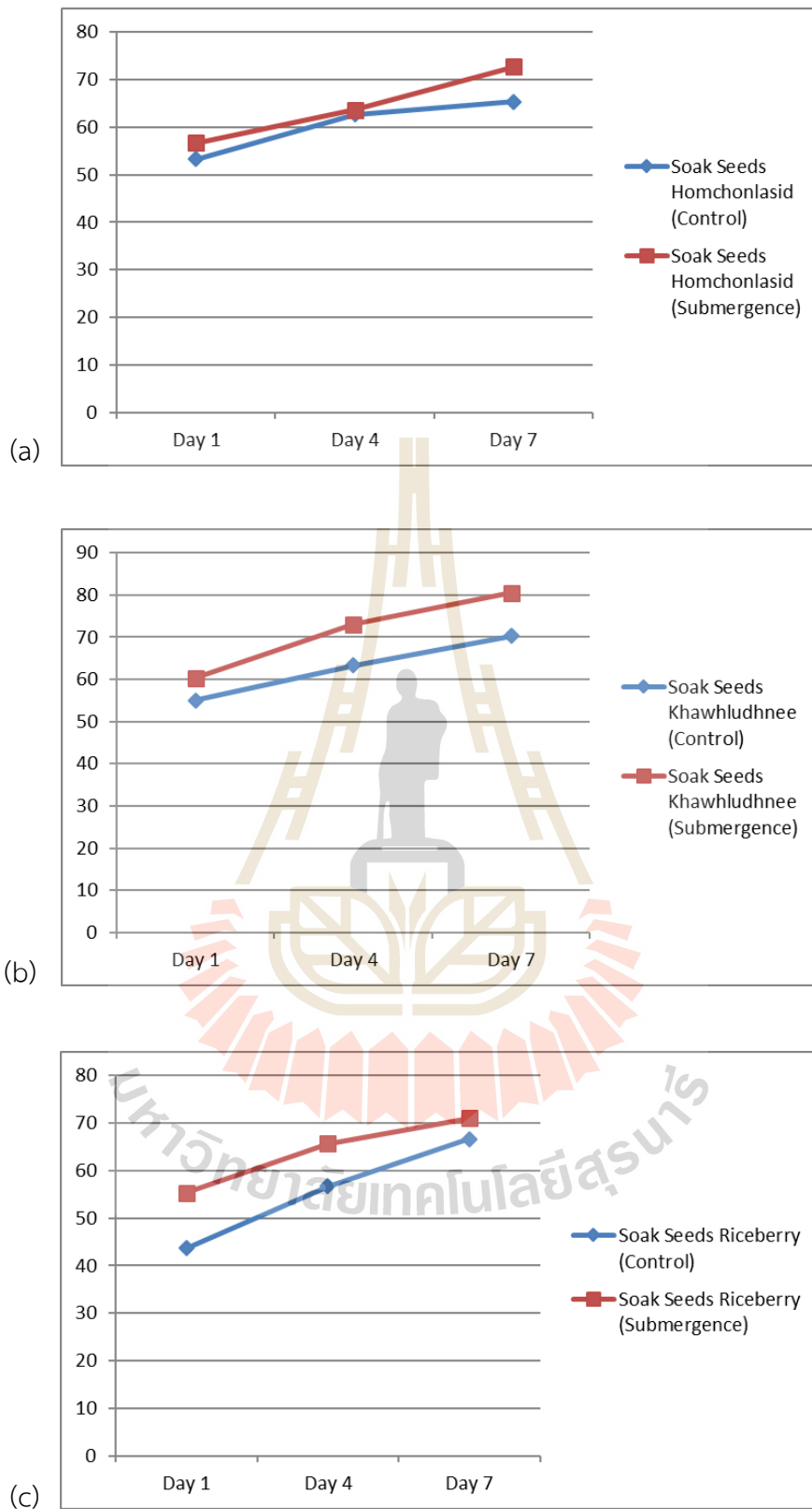
สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย					
	กลุ่มควบคุม			กลุ่มทดลอง		
	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7
หอมชลสิทธิ์	7.5250 ^a	8.2333 ^a	12.4667 ^c	9.3333	12.3333 ^c	15.2667 ^b
ขาวหุดหนี่	10.8333 ^b	12.4667 ^b	14.4667 ^e	11.5000 ^c	13.6333 ^d	18.2667 ^c
ไรซ์เบอร์รี่	10.4667 ^b	9.5333 ^b	11.5000 ^b	12.2667 ^b	15.5667 ^d	15.5333 ^b
เพชรบุรี 1	9.5333 ^b	9.8333 ^b	13.3667 ^d	11.3667 ^a	11.9333 ^a	13.7333 ^a
ขาวดอกมะลิ 105	8.2333 ^a	8.3333 ^a	10.6333 ^a	9.4000 ^a	14.5000 ^c	15.3667 ^b
กข6	7.5000 ^a	8.3000 ^a	12.4667 ^c	8.8333 ^a	11.4667 ^{ab}	13.3333 ^a
กข25	8.2667 ^a	8.2667 ^a	12.2333 ^c	10.7667 ^{bc}	12.2000 ^b	14.3333 ^b

4.2.2 ผลต่อน้ำท่วมที่มีต่อความยาวลำต้น

หลังจากข้าวถูกน้ำท่วมเป็นเวลา 7 วัน การยืดยาวของลำต้นในทุกสายพันธุ์มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยในสายพันธุ์ขาวหุดหนี่ มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 80.5 และ กข25 มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 64.67 เมื่อพิจารณาความชันของ

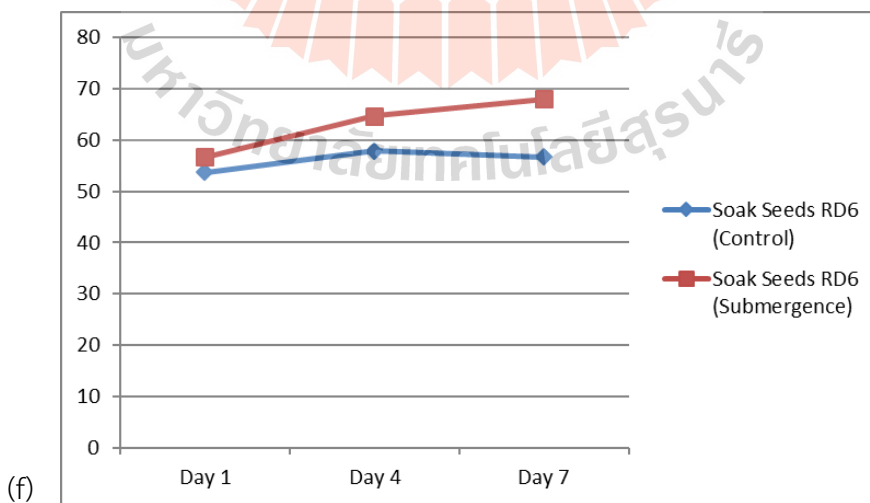
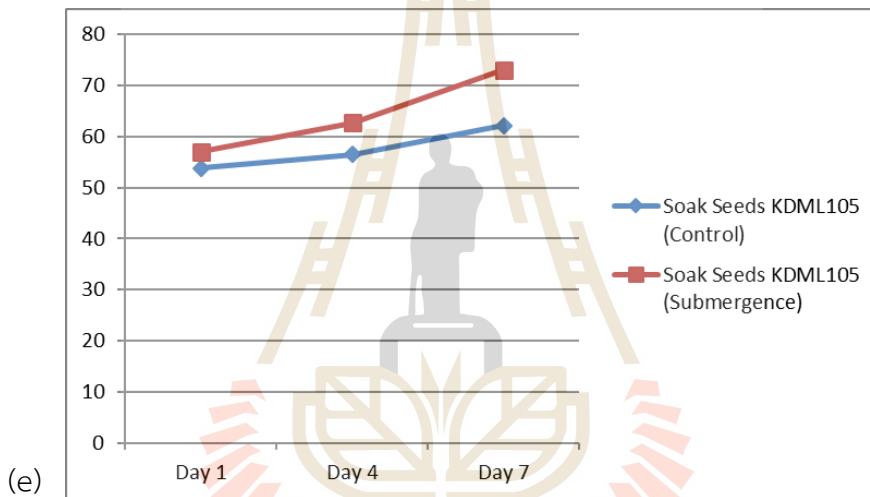
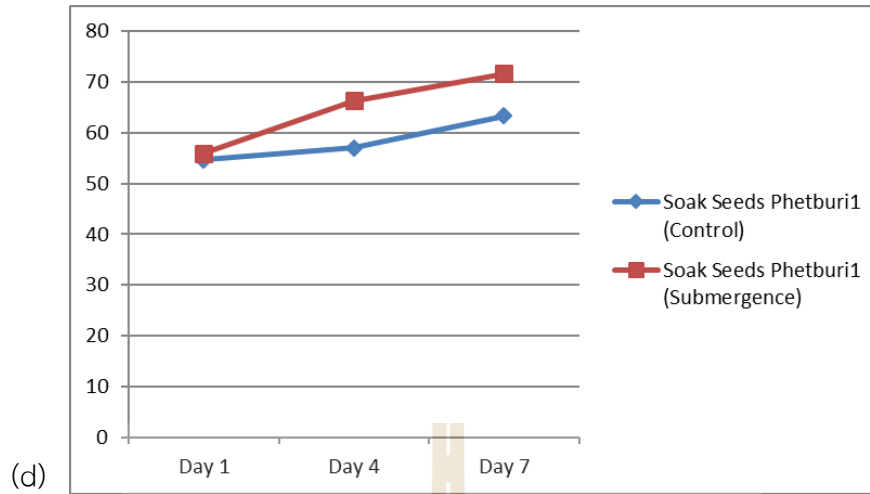
กราฟ (รูปที่ 4.8 และตารางที่ 4.2) พบว่าหอมชลสิทธิ์ และชาวดอกมะลิ 105 แสดงแนวโน้มของการยืดยาวของลำต้นในอัตราที่สูงกว่าสายพันธุ์อื่น ถึงแม้ความเข้าใจทั่วไปเกี่ยวกับข้าวที่ทนน้ำท่วมคือการหยุดการยืดยาวของยอดเมื่อน้ำท่วม แต่ก็มีรายงานเกี่ยวกับความเกี่ยวข้องของความสามารถในการยืดของลำต้นเพื่อการอยู่รอดภายใต้สภาวะน้ำท่วมเช่นกัน (Mohanty et al., 2000) ลักษณะเช่นนี้ทำให้ข้าวอยู่รอดในกรณีที่น้ำท่วมแบบคงระยะความลึก หรือน้ำท่วมแล้วลดระดับลงเล็กน้อย หรือน้ำลดแล้วระดับเพิ่มขึ้นไปอีก ซึ่งสอดคล้องกับเงื่อนไขในการทดลองครั้งนี้ที่คงระดับความลึกของน้ำที่ 50 เซนติเมตร และจากการทดลองนี้พบว่า หอมชลสิทธิ์ซึ่งเป็นสายพันธุ์ทนน้ำท่วมมีอัตราการยืดยาวออกของลำต้นสูงกว่าสายพันธุ์อื่น ในขณะที่เดียวกัน ก็เป็นที่น่าสนใจว่าข้าวพันธุ์ชาวดอกมะลิ 105 ก็มีอัตราการยืดลำต้นที่สูงกว่าสายพันธุ์อื่นเช่นกัน ซึ่งคงยังสรุปไม่ได้ว่าอัตราการยืดลำต้นนี้จะส่งผลต่อข้าวในระยะยาว หรือกรณีที่น้ำท่วมแบบจมมิดหรือไม่ เนื่องจากการหยุดการยืดยาวของลำต้นเป็นลักษณะหนึ่งที่พบในสายพันธุ์ทนน้ำท่วมเพราะหากต้นข้าวยืดสูงขึ้นเรื่อย ๆ ตามระดับน้ำจะทำให้ต้นข้าวล้มเมื่อน้ำลด อีกทั้งเป็นการใช้คาร์โบไฮเดรตเพื่อการสร้างพลังงานสำหรับการยืดลำต้นแทนที่จะสงวนไว้ใช้เพื่อความอยู่รอดภายใต้สภาวะน้ำท่วม (Sarkar et al., 1996; Setter and Laureles, 1996) หรือใช้ในการฟื้นตัวเมื่อน้ำลด (Das et al., 2005) สายพันธุ์ทนน้ำท่วมจึงมักหยุดสูงเมื่อน้ำท่วมมิด



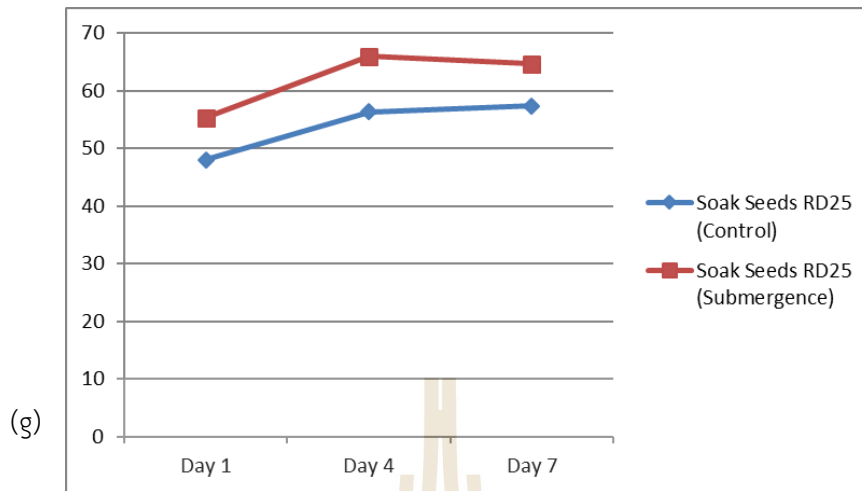


รูปที่ 4.8 แสดงความยาวเฉลี่ยของลำต้นเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหนี่

(c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25



รูปที่ 4.8 แสดงความยาวเฉลี่ยของลำต้นเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหนี่ (c) ไโรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)



รูปที่ 4.8 แสดงความยาวเฉลี่ยของลำต้นเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหนี่ (c) ไโรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)

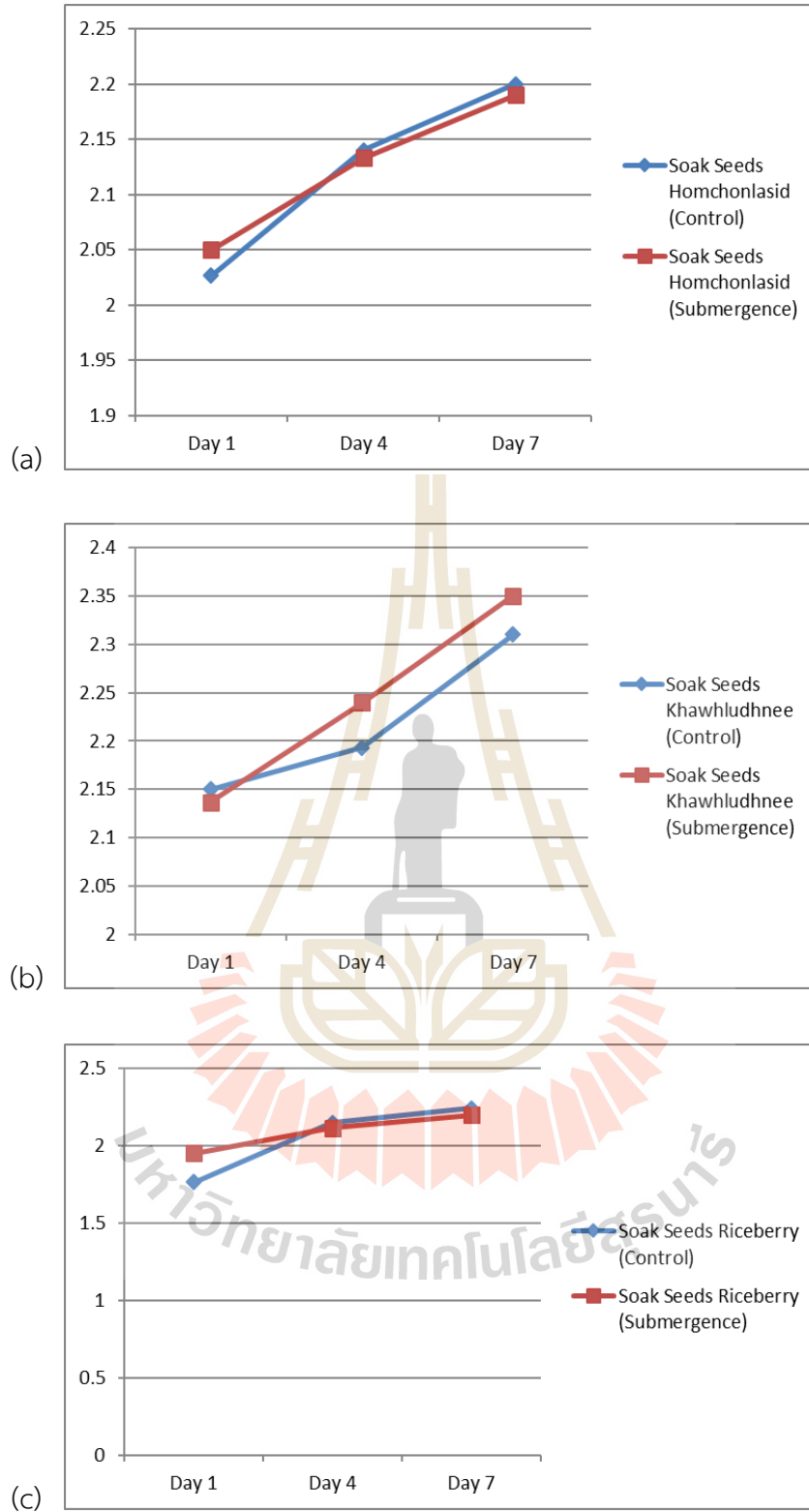
ตารางที่ 4.2 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบความยาวลำต้น

สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย					
	กลุ่มควบคุม			กลุ่มทดลอง		
	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7
หอมชลสิทธิ์	53.3333 ^c	62.6667 ^b	65.3333 ^{cd}	56.6667 ^{ab}	63.6667 ^{ab}	72.6667 ^c
ขาวหลุดหนี่	55.0000 ^c	63.3333 ^b	70.3333 ^e	60.3333 ^b	73.0000 ^d	80.5000 ^d
ไโรซ์เบอร์รี่	43.6667 ^a	56.6667 ^a	66.6667 ^d	55.3333 ^a	65.6667 ^{bc}	71.0000 ^{bc}
เพชรบุรี 1	54.6667 ^c	57.0000 ^a	63.3333 ^{bc}	56.0000 ^{ab}	66.3333 ^c	71.6667 ^c
ขาวดอกมะลิ 105	53.8333 ^c	56.5000 ^a	62.1000 ^b	57.0000 ^{ab}	62.6667 ^a	73.0000 ^c
กข6	53.6667 ^c	57.8333 ^a	56.6667 ^a	54.6667 ^{ab}	56.6667 ^{abc}	58.0000 ^{ab}
กข25	48.0000 ^b	56.3333 ^a	57.3333 ^a	55.3333 ^a	66.0000 ^{bc}	64.6667 ^a

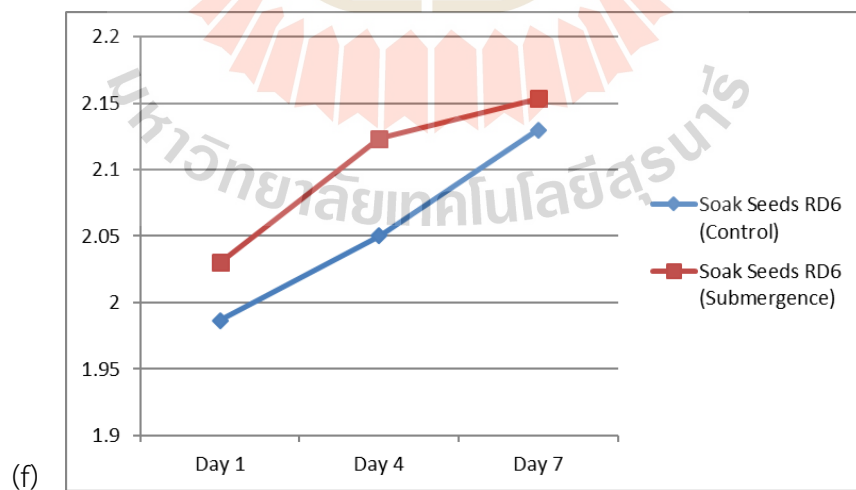
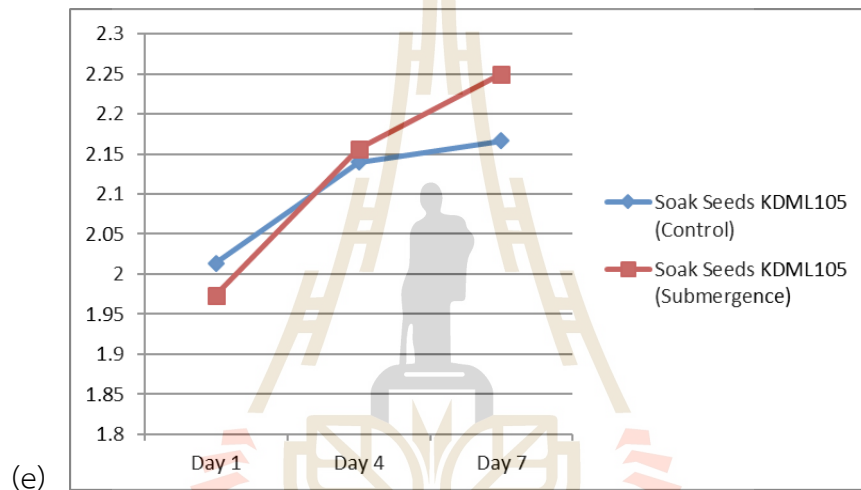
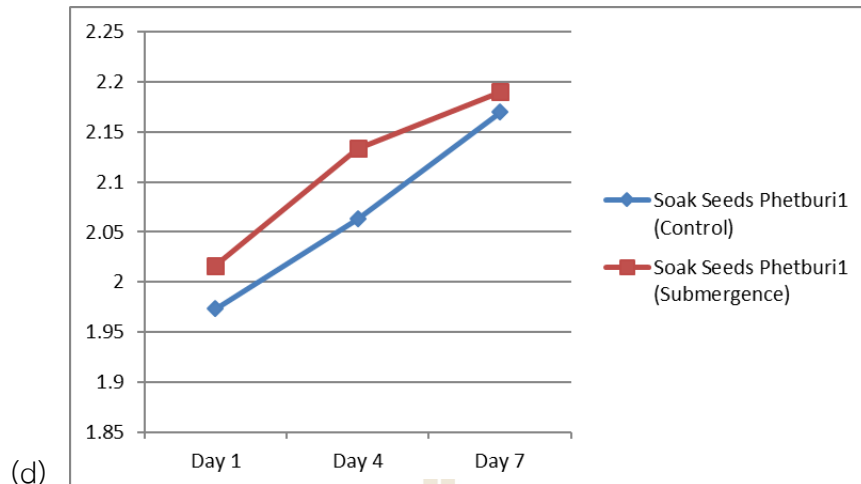
4.2.3 ผลของน้ำท่วมที่มีต่อน้ำหนักสดของข้าว

เมื่อพิจารณาการทดลองหลังจากข้าวถูกน้ำท่วมเป็นเวลา 7 วัน (รูปที่ 4.9) พบว่าผลของน้ำท่วมที่มีต่อน้ำหนักสด ค่าเฉลี่ยในกลุ่มทดลองสูงกว่าค่าเฉลี่ยในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่จะมีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จากการสังเกตลักษณะของต้นข้าวพบว่า ต้นข้าวมีลำต้นสูงขึ้นแต่ไม่มีลักษณะต้นที่อวบขึ้น จึงอาจทำให้น้ำหนักของต้นไม่ได้เพิ่มขึ้นมากจากกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.3)

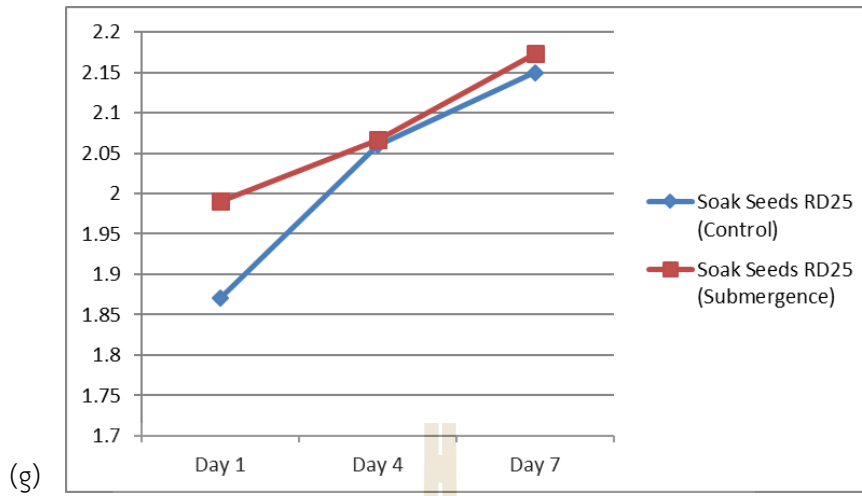




รูปที่ 4.9 แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหน้ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25



รูปที่ 4.9 แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ข้าวหลดหิน (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ข้าวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)



รูปที่ 4.9 แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ข้าวหลอคนั้น (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ข้าวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)

ตารางที่ 4.3 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบน้ำหนักสด

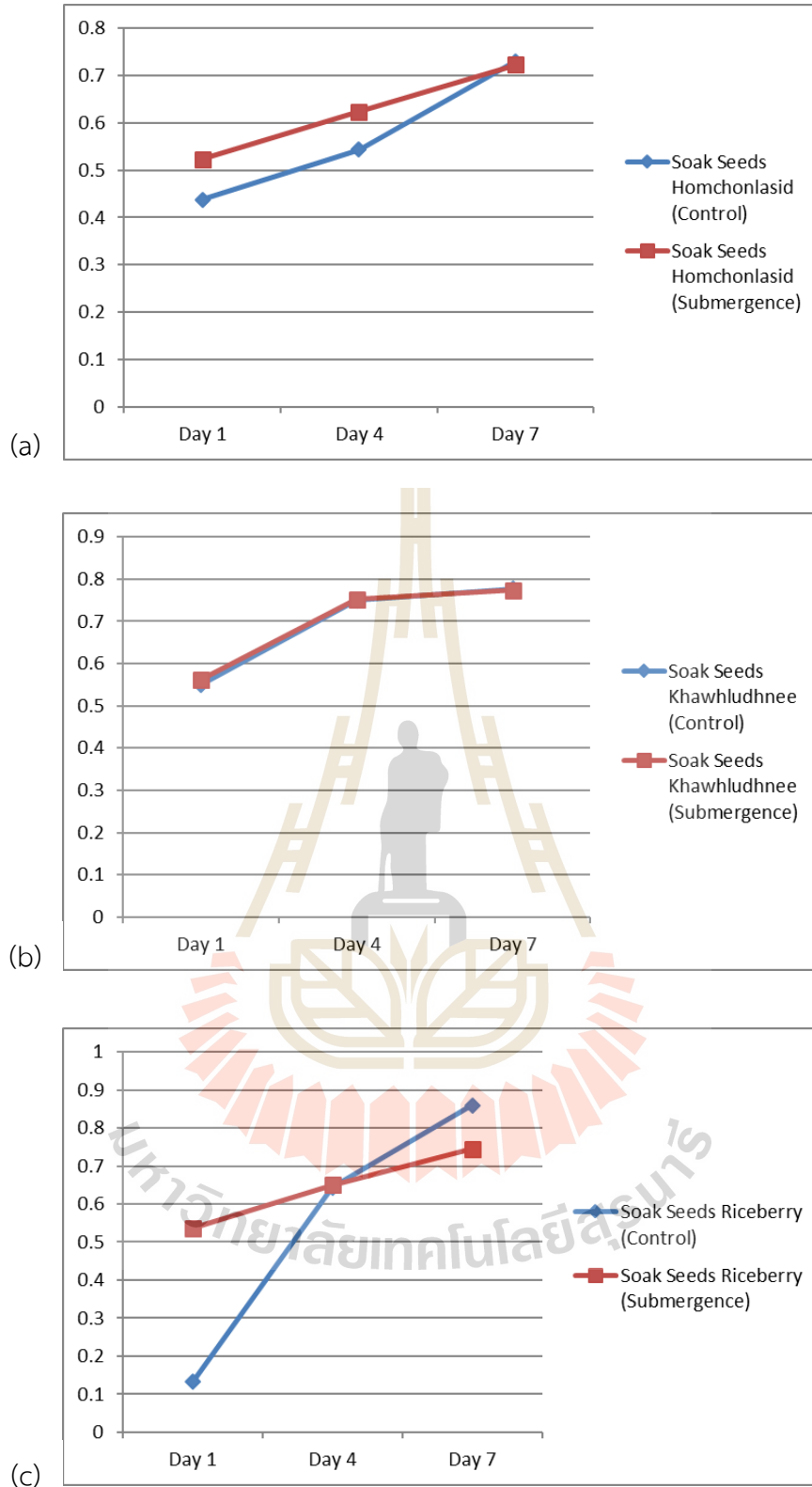
สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย					
	กลุ่มควบคุม			กลุ่มทดลอง		
	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7
หอมชลสิทธิ์	2.0267 ^d	2.1400 ^b	2.2000 ^c	2.0500 ^e	2.1333 ^b	2.2900 ^b
ข้าวหลอคนั้น	2.1500 ^e	2.1933 ^c	2.3100 ^e	2.1367 ^f	2.2400 ^c	2.3500 ^d
ไรซ์เบอร์รี่	1.7667 ^a	2.1500 ^b	2.2433 ^d	1.9533 ^a	2.1167 ^b	2.2900 ^b
เพชรบุรี 1	1.9733 ^c	2.0633 ^a	2.1700 ^b	2.0167 ^{cd}	2.1333 ^b	2.1900 ^b
ข้าวดอกมะลิ 105	2.0133 ^{cd}	2.1400 ^b	2.1667 ^b	1.9733 ^{ab}	2.1567 ^b	2.2500 ^c
กข6	1.9867 ^{cd}	2.0500 ^a	2.1300 ^a	2.0300 ^{de}	2.1233 ^b	2.1533 ^a
กข25	1.8700 ^b	2.0600 ^a	2.1500 ^{ab}	1.9900 ^{bc}	2.0667 ^a	2.1733 ^{ab}

4.2.4 ผลของน้ำท่วมที่มีต่อน้ำหนักแห้งของข้าว

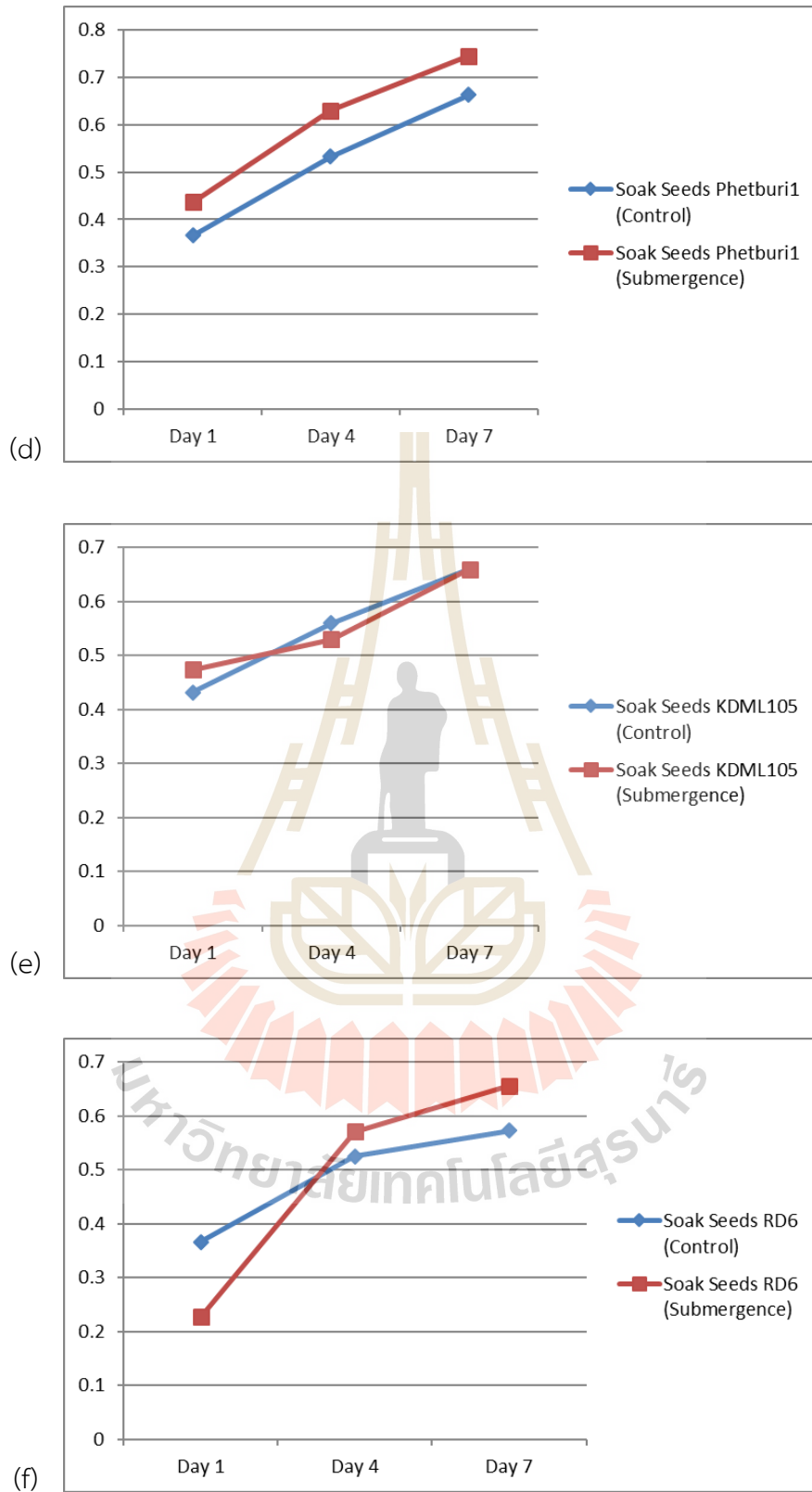
เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของข้าวในทุกสายพันธุ์ (ตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.10) พบว่า น้ำหนักแห้งของข้าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่จะสังเกตว่าค่าเฉลี่ยของทั้งสองกลุ่มไม่ได้มีความแตกต่างกันมากนัก เนื่องจากค่าน้ำหนักแห้งเป็นค่าที่แสดงถึงชีวมวลที่แท้จริงของเนื้อเยื่อพืช นั้นแสดงว่า ผลของน้ำท่วมไม่ได้ทำให้ข้าวมีการเจริญเติบโตมากเท่าไรนัก แต่อาจมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านความสูงของลำต้นในบางสายพันธุ์ เพื่อให้มีส่วนใดส่วนหนึ่งได้สัมผัสกับอากาศบนผิวน้ำ

ตารางที่ 4.4 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบน้ำหนักแห้ง

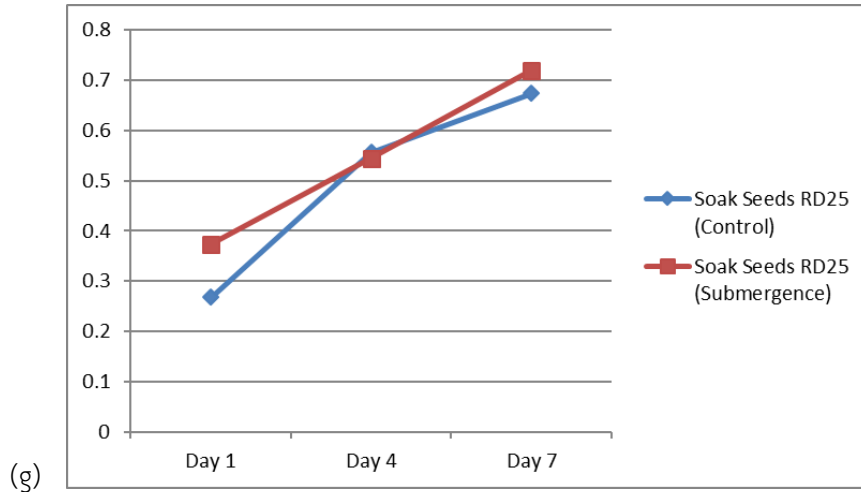
สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย					
	กลุ่มควบคุม			กลุ่มทดลอง		
	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7
หอมชลสิทธิ์	0.4383 ^d	0.5430 ^a	0.7300 ^c	0.5233 ^d	0.6233 ^c	0.7333 ^b
ขาวหิวดิน	0.5503 ^e	0.7500 ^c	0.7667 ^c	0.5623 ^d	0.7520 ^d	0.7733 ^b
ไรซ์เบอร์รี่	0.1333 ^a	0.6433 ^b	0.7200 ^d	0.5367 ^d	0.6507 ^c	0.7450 ^b
เพชรบุรี 1	0.3667 ^c	0.5333 ^a	0.6630 ^b	0.4667 ^c	0.6303 ^c	0.7450 ^b
ขาวดอกมะลิ 105	0.4317 ^d	0.5600 ^a	0.6600 ^b	0.4733 ^c	0.5293 ^a	0.6600 ^a
กข6	0.3667 ^c	0.5253 ^a	0.5730 ^a	0.2267 ^a	0.5710 ^b	0.6557 ^a
กข25	0.2677 ^b	0.5560 ^a	0.6733 ^b	0.3733 ^b	0.5447 ^{ab}	0.7200 ^b



รูปที่ 4.10 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหุดหนึ่ (b) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25



รูปที่ 4.10 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ข้าวหุดหนี่ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ข้าวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)



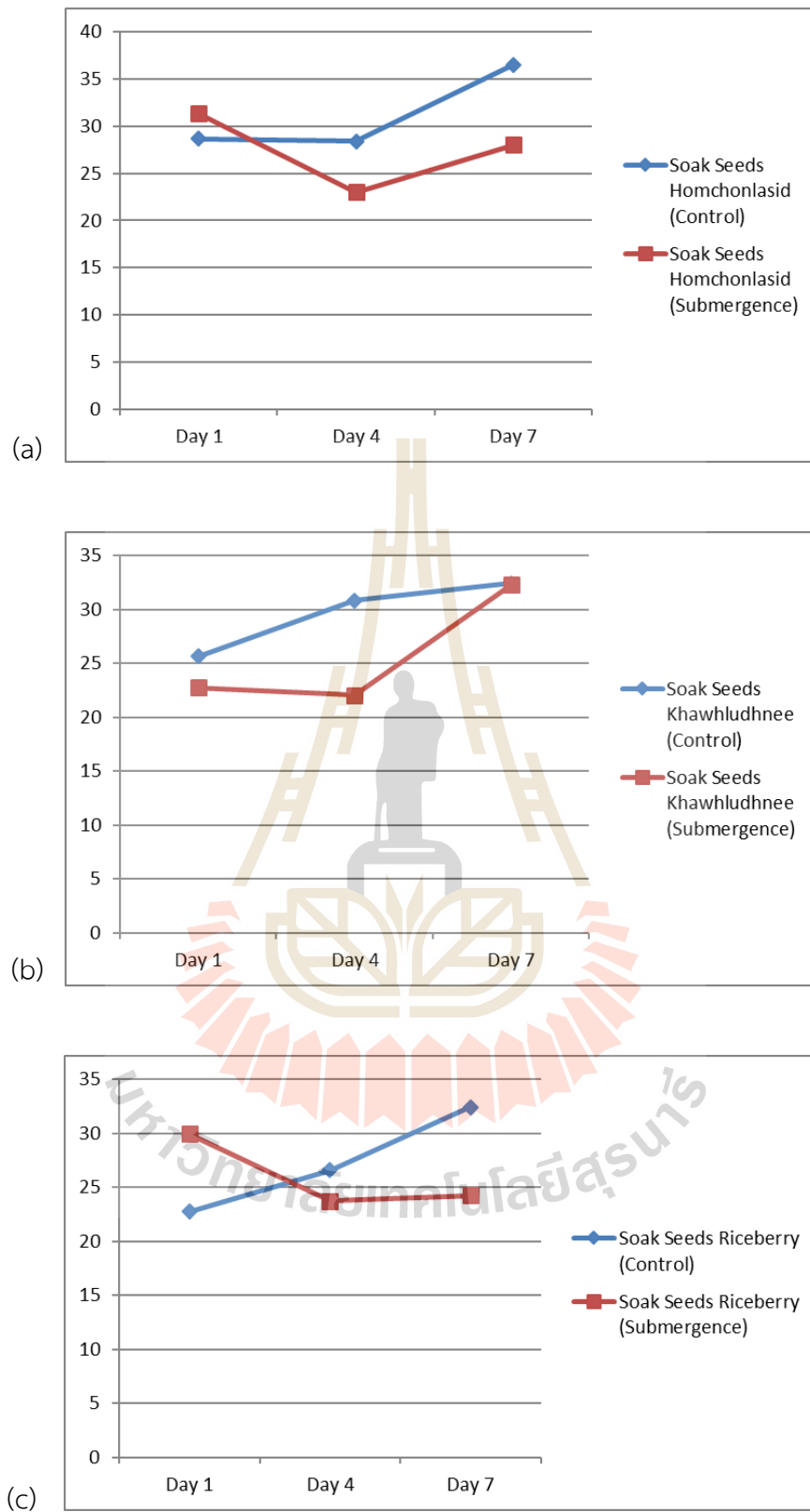
รูปที่ 4.10 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ข้าวหลดหน้ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ข้าวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)

4.2.5 ปริมาณคลอโรฟิลล์

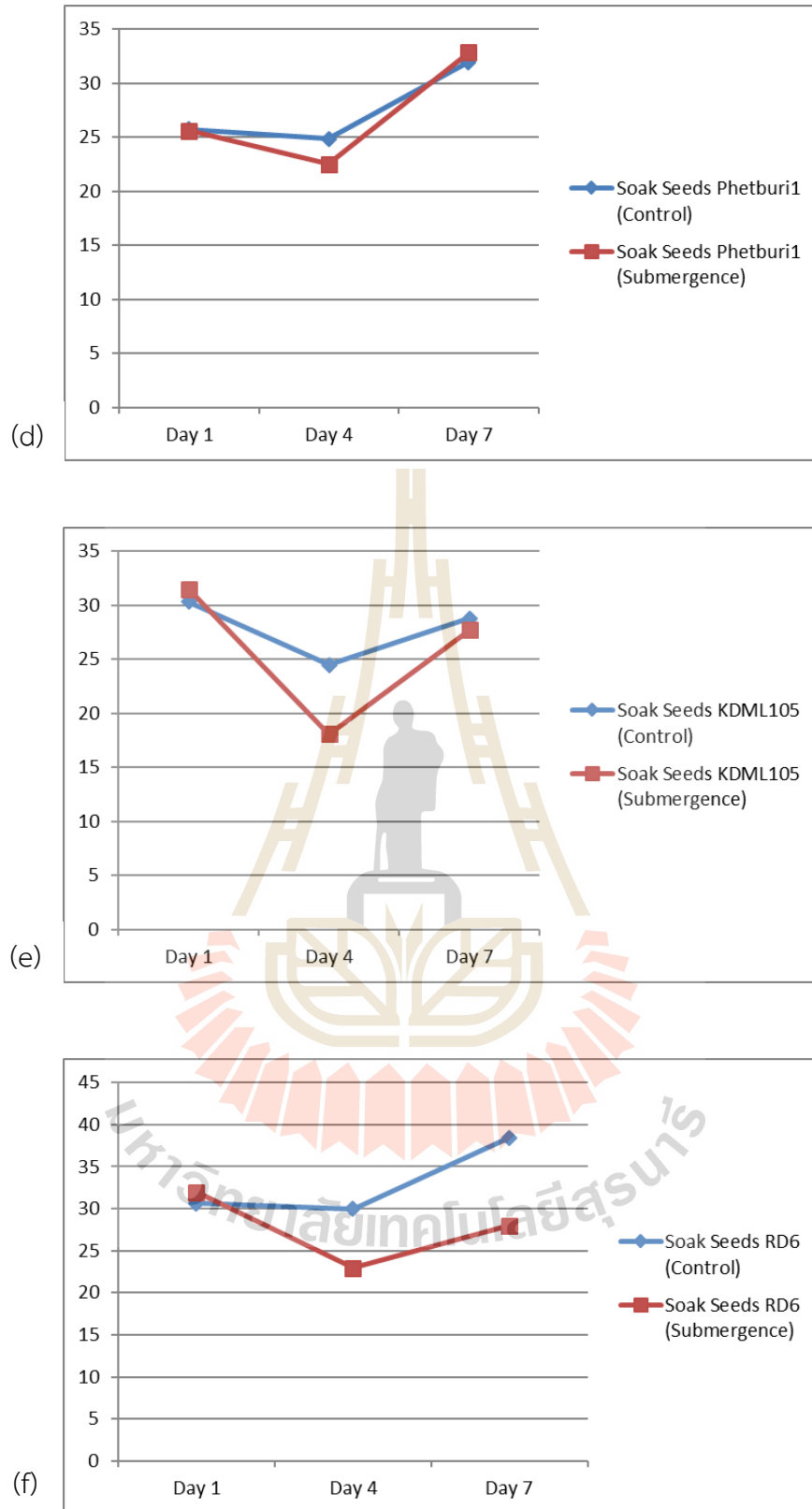
จากการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยหลังจากข้าวถูกน้ำท่วม 7 วัน พบว่าในเกือบทุกสายพันธุ์ของข้าวที่ทดลองมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับปริมาณคลอโรฟิลล์เฉลี่ยของกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.11) ยกเว้นในสายพันธุ์ข้าวหลดหน้ ที่มีค่าเฉลี่ยสูงขึ้น อาจเนื่องมาจาก การที่ข้าวสายพันธุ์นี้มีการยึดลำต้นที่สูงเหนือผิวน้ำ จึงสามารถสัมผัสกับอากาศบริเวณผิวน้ำ ส่งผลให้สามารถสังเคราะห์แสงได้มากกว่าข้าวสายพันธุ์อื่น ๆ

ตารางที่ 4.5 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์

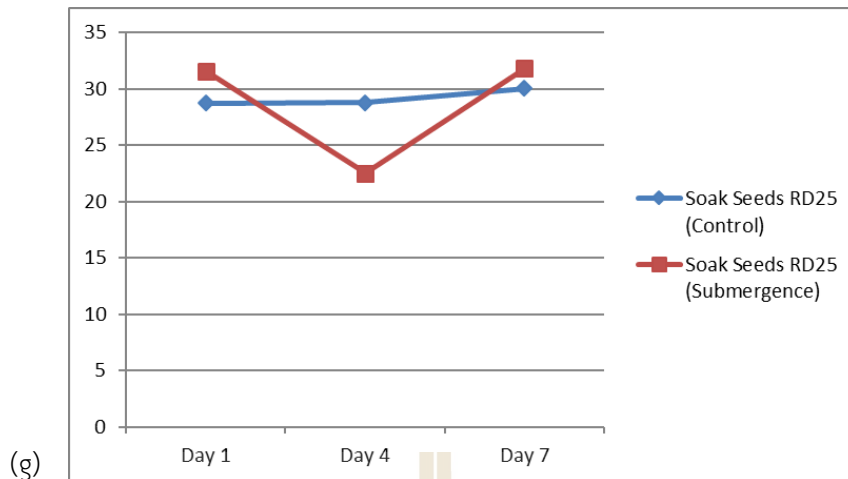
สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย					
	กลุ่มควบคุม			กลุ่มทดลอง		
	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7
หอมชลสิทธิ์	28.6900 ^d	28.4200 ^f	36.5333 ^b	31.3400 ^d	22.9933 ^e	28.0433 ^c
ข้าวหลดหน้	25.6267 ^b	30.8533 ^d	32.4400 ^f	22.7633 ^a	22.0367 ^b	32.2700 ^e
ไรซ์เบอร์รี่	22.7300 ^a	26.5600 ^b	32.4333 ^f	29.9600 ^c	23.7367 ^f	24.2233 ^a
เพชรบุรี 1	25.7567 ^c	24.8667 ^e	31.9500 ^a	25.5800 ^b	22.5233 ^c	27.8300 ^f
ข้าวดอกมะลิ 105	30.3167 ^f	24.4900 ^a	28.7667 ^d	31.4833 ^e	18.0600 ^a	27.7100 ^b
กข6	30.6333 ^g	29.9633 ^g	38.4500 ^e	31.9367 ^g	22.9233 ^d	28.0167 ^c
กข25	28.7533 ^e	28.7667 ^c	30.0233 ^c	31.5667 ^f	22.5133 ^c	28.8167 ^d



รูปที่ 4.11 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิลล์ของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหน้ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25



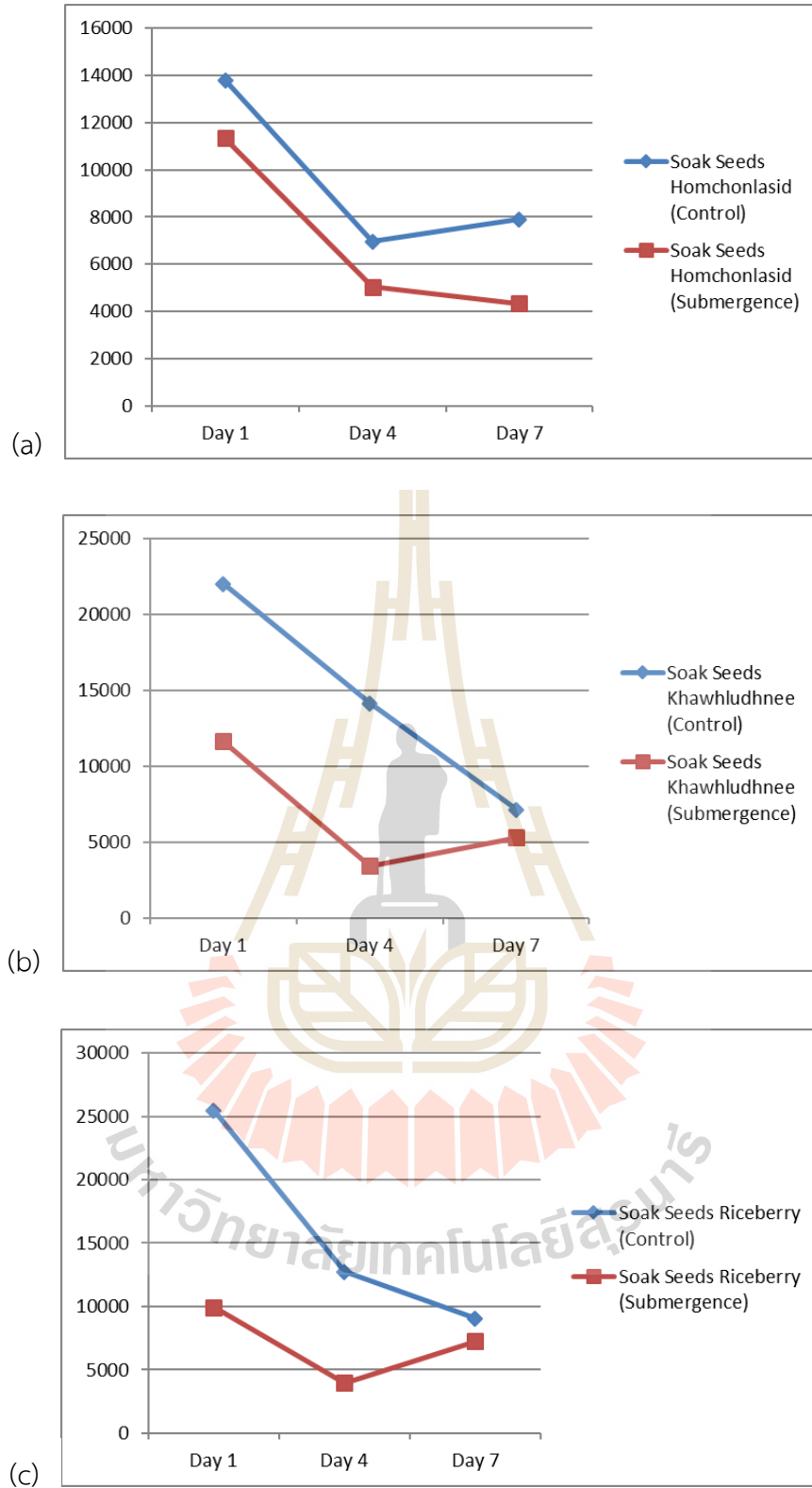
รูปที่ 4.11 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิลล์ของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหน้ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)



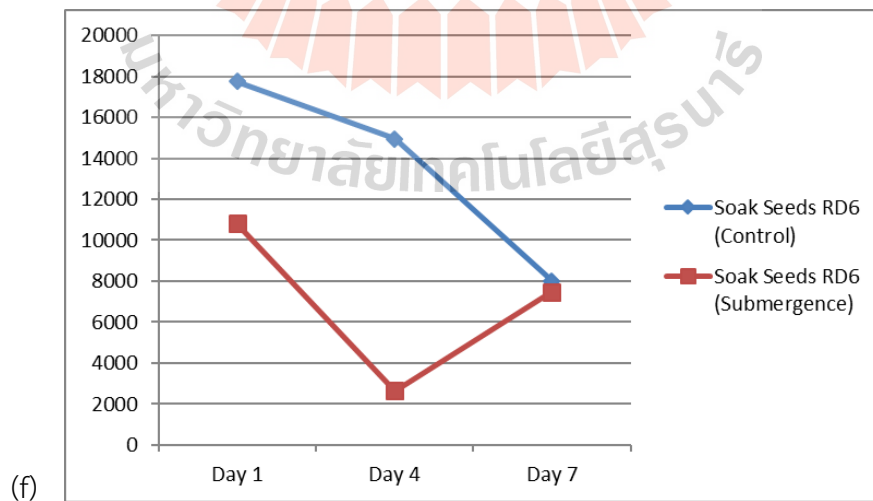
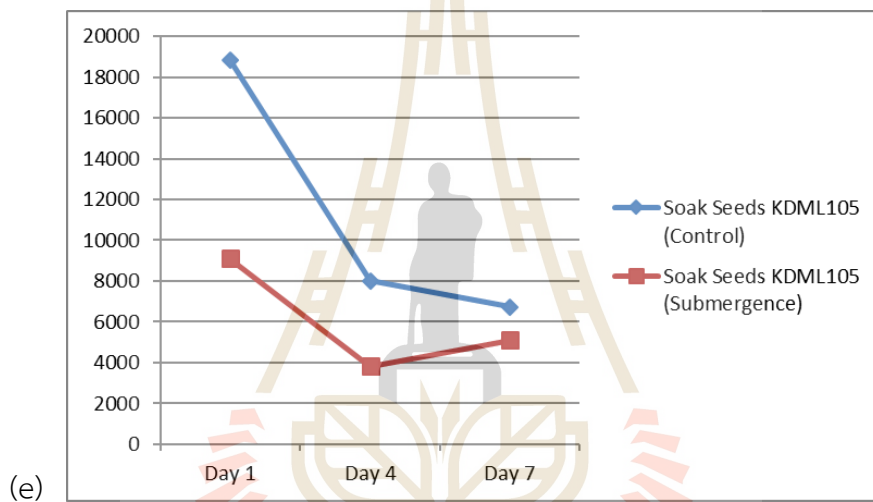
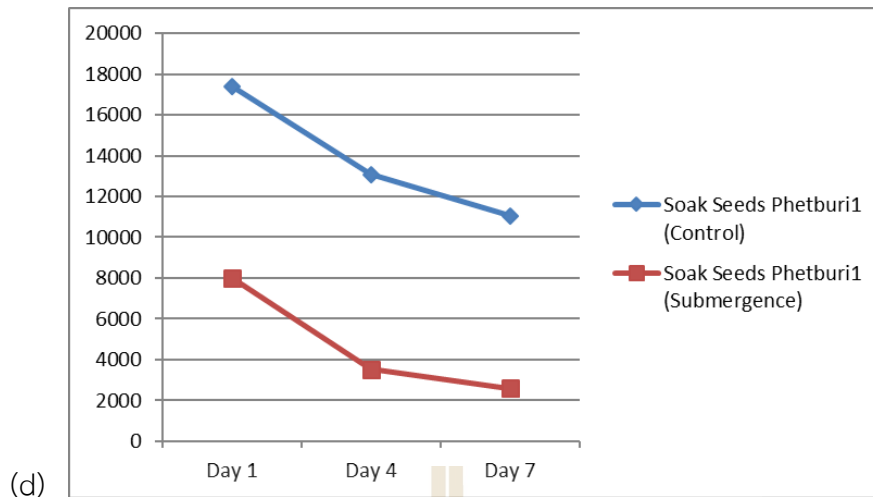
รูปที่ 4.11 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิลล์ของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหน้ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)

4.2.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต จากการศึกษาพบว่า ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในกลุ่มทดลองมีปริมาณลดลงเมื่อเทียบกับควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) นั่นอาจเป็นผลมาจากข้าวในทุกสายพันธุ์หลังถูกน้ำท่วมแล้วไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้เต็มที่ จึงต้องใช้พลังงานจากตัวเองเพื่อเป็นกลไกในการเอาชีวิตรอดในสภาวะที่มีความเครียดจากการถูกน้ำท่วม เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลรวม (รูปที่ 4.12 และตารางที่ 4.6) พบว่า สายพันธุ์หอมชลสิทธิ์และเพชรบุรี 1 มีระดับน้ำตาลลดลงต่อเนื่อง ในขณะที่สายพันธุ์อื่นมีระดับน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 7 เมื่อเทียบกับวันที่ 4 ถึงแม้จะเคยมีรายงานว่าข้าวในกลุ่มบางสายพันธุ์ที่ทนท่วมได้จะใช้กลไกการชะลอการยืดยาวของต้นเพื่อลดการใช้คาร์โบไฮเดรตและสงวนคาร์โบไฮเดรตไว้ใช้เมื่อน้ำลด และการพักตัวนี้ควบคุมโดย polygenic *SUBMERGENCE1* (*sub1*) locus ได้แก่ *Sub1A*, *Sub1B* และ *Sub1C* (Fakao, et al., 2006; Xu et al., 2006) แต่ก็มีผลการศึกษาในข้าวสายพันธุ์ FR13A มีปริมาณน้ำตาลภายในต้นสูงกว่าสายพันธุ์อ่อนแออย่างมากในการทดลองให้น้ำท่วมข้าวเป็นเวลา 12 วัน และ 17 วัน ในขณะที่สายพันธุ์อื่นที่ถูกพัฒนาจากสายพันธุ์ FR13A มีระดับน้ำตาลไม่ต่างหรือน้อยกว่าสายพันธุ์อ่อนแอ (Singh, et al., 2014) ซึ่งแสดงให้เห็นความเป็นไปได้ว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่เกี่ยวกับโครงสร้าง (nonstructural carbohydrate) อาจไม่มีความเกี่ยวข้องกับยีน *Sub1A-1* หรือได้รับผลกระทบจากยีนอื่นร่วมด้วย

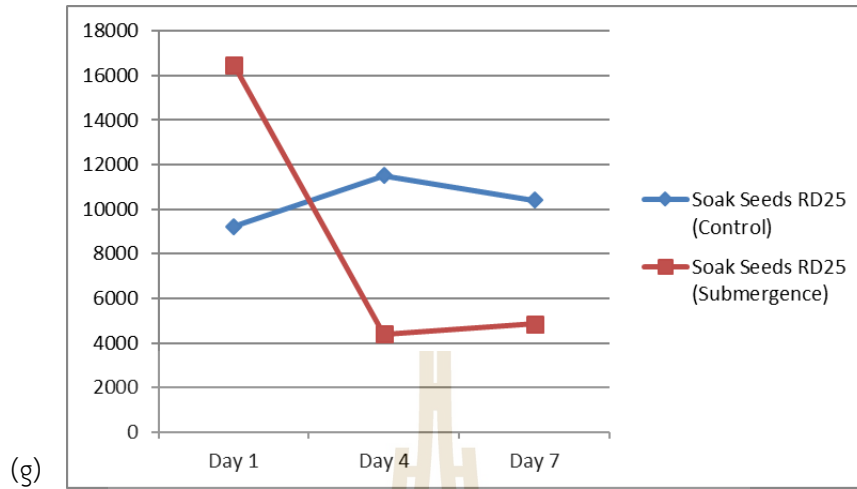


รูปที่ 4.12 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลรวมของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหน้ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25



รูปที่ 4.12 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำที่ดูดรวมของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ข้าวหลุคหนึ่

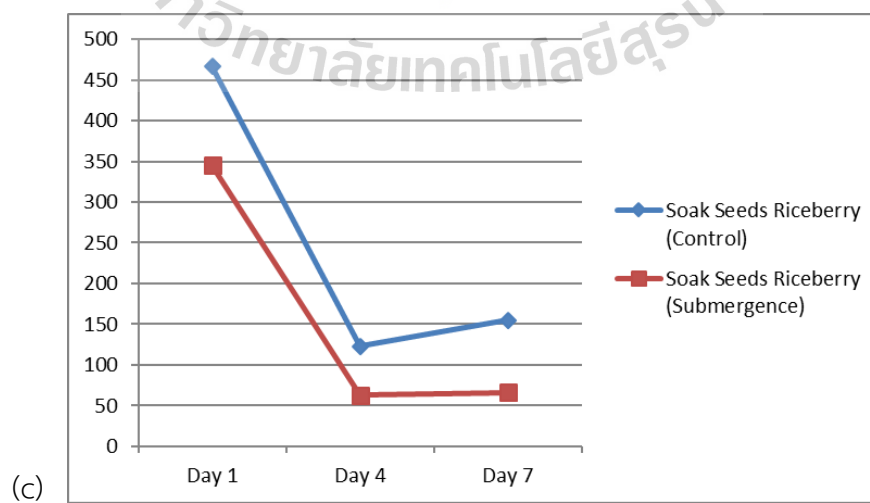
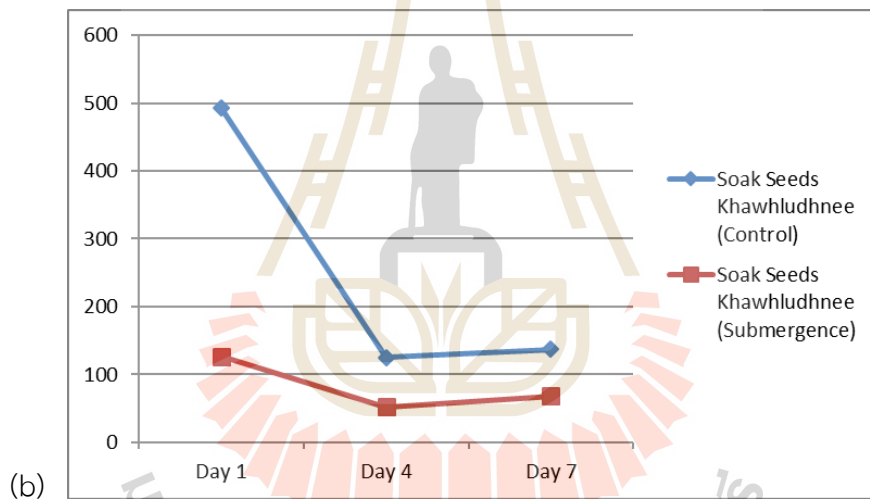
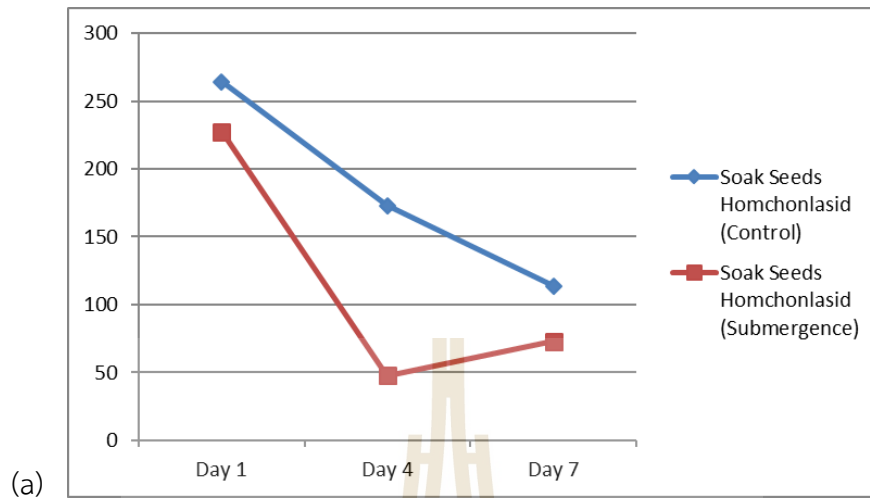
(c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)



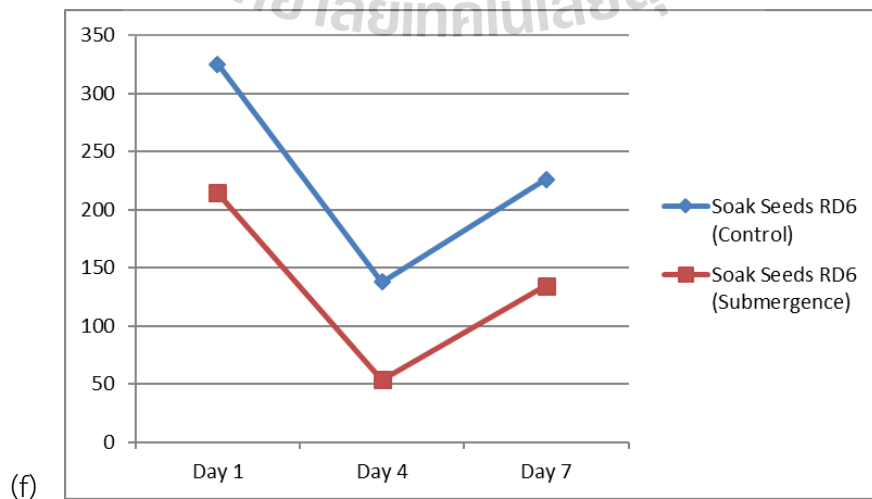
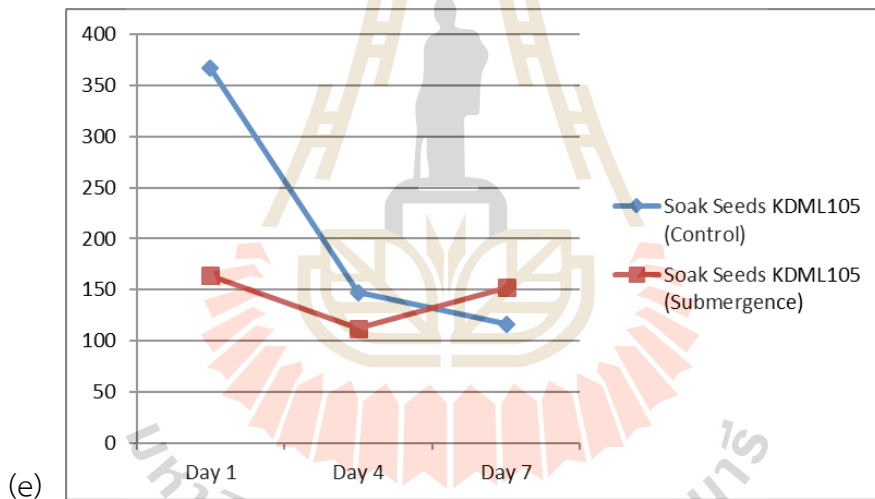
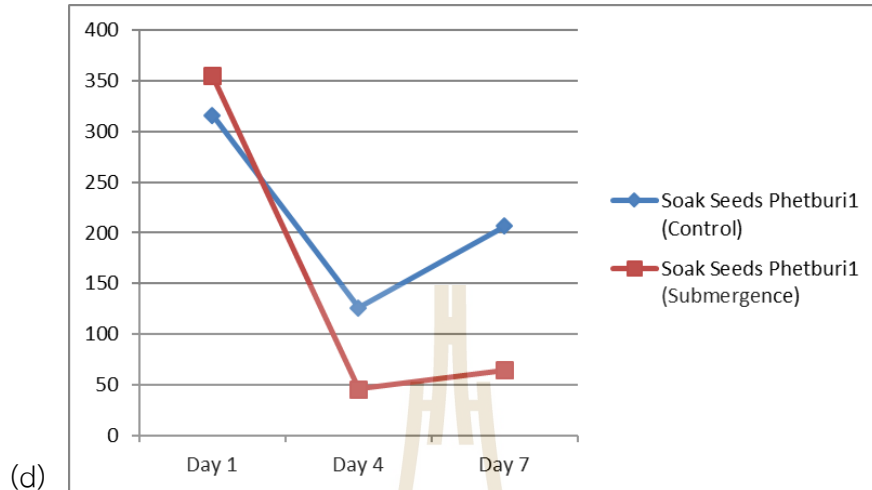
รูปที่ 4.12 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลรวมของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวहुลุดหนึ่ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)

ตารางที่ 4.6 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบน้ำตาลรวม

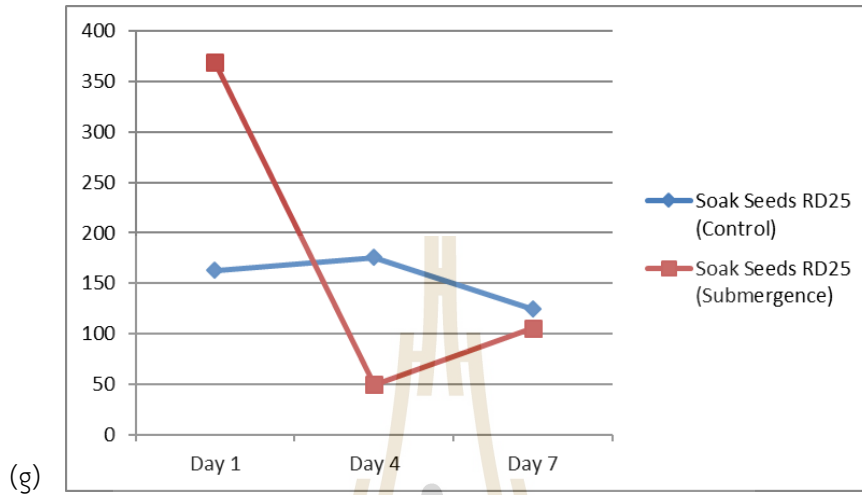
สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย					
	กลุ่มควบคุม			กลุ่มทดลอง		
	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7
หอมชลสิทธิ์	13788.0 ^b	6957.2 ^a	7895.9 ^c	11334.0 ^e	5033.3 ^s	4332.0 ^b
ขาวहुลุดหนึ่	22031.0 ^f	14144.0 ^f	7130.7 ^b	11632.0 ^f	3456.7 ^b	5323.8 ^e
ไรซ์เบอร์รี่	25452.0 ^s	12742.0 ^d	7242.5 ^e	9936.8 ^c	3984.8 ^e	7242.5 ^f
เพชรบุรี 1	17408.0 ^c	13089.0 ^e	11046.0 ^s	8014.2.0 ^a	3523.2 ^c	2588.3 ^a
ขาวดอกมะลิ 105	18856.0 ^e	8008.9 ^b	6725.6 ^a	9116.9 ^b	3808.7 ^a	5093.4 ^d
กข6	17756.0 ^d	14951.0 ^s	8005.7 ^d	10804.0 ^d	2645.1 ^a	7484.8 ^s
กข25	9235.2 ^a	11505.0 ^c	10404.0 ^f	16464.0 ^s	4395.9 ^f	4854.5 ^c



รูปที่ 4.13 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณแป้งของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหุดหนี่ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25



รูปที่ 4.13 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณแป้งของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหนี (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)



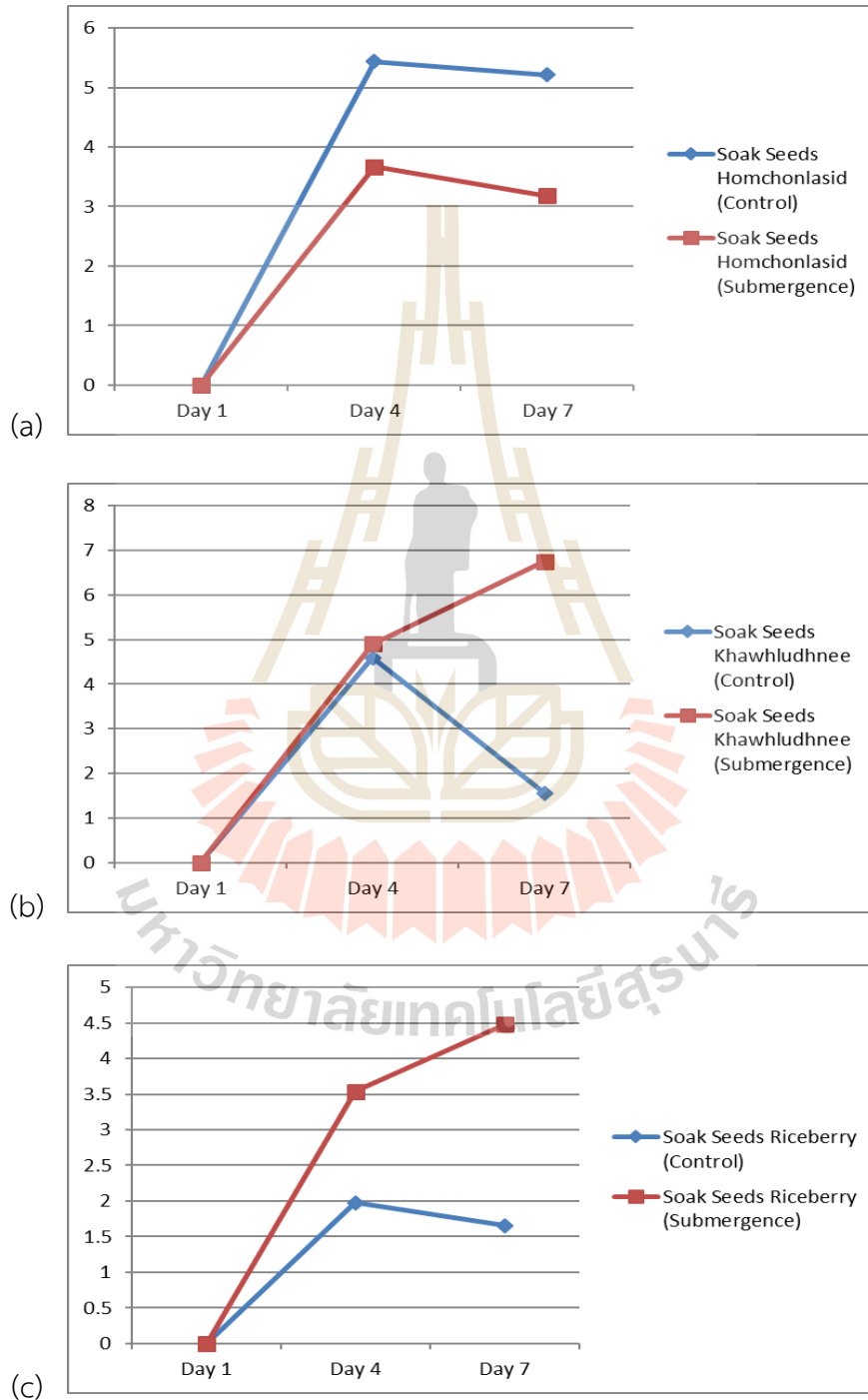
รูปที่ 4.13 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณแป้งของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหลุดหนี (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)

ตารางที่ 4.7 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบปริมาณแป้ง

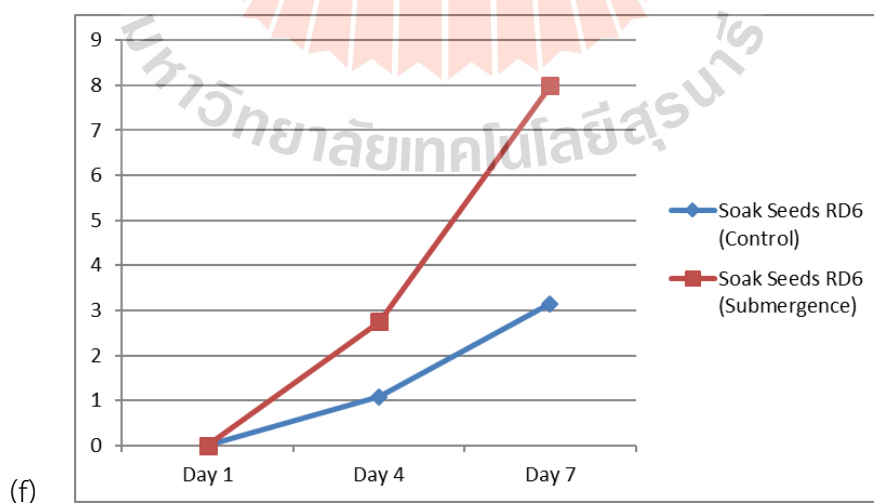
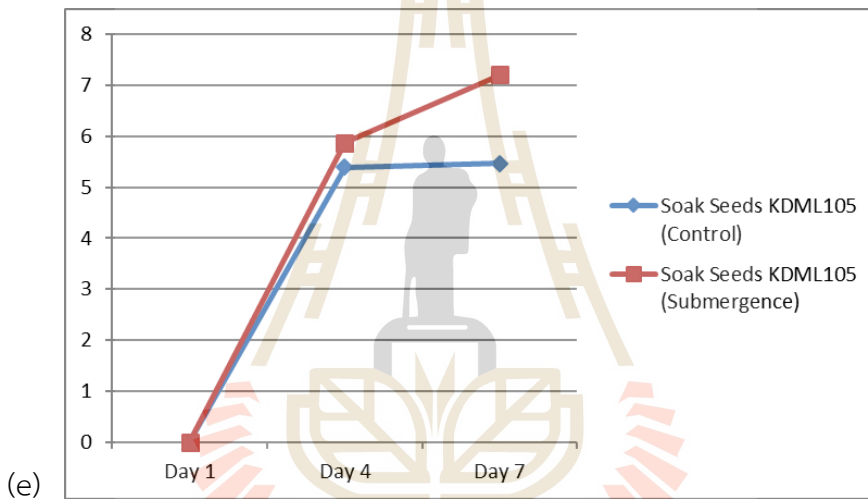
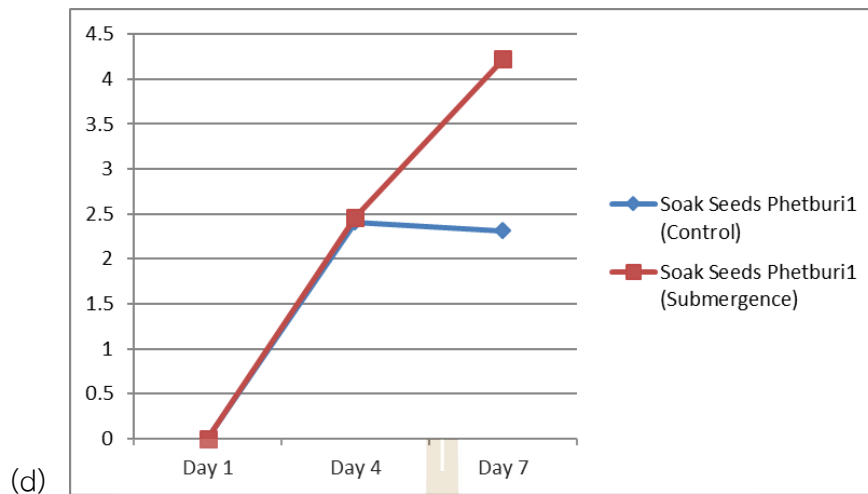
สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย					
	กลุ่มควบคุม			กลุ่มทดลอง		
	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7
หอมชลสิทธิ์	264.28 ^b	173.08 ^d	113.91 ^a	227.29 ^e	47.81 ^{ab}	72.78 ^d
ขาวหลุดหนี	493.42 ^f	125.19 ^a	136.80 ^c	126.83 ^f	52.18 ^{cd}	68.24 ^c
ไรซ์เบอร์รี่	466.69 ^g	122.96 ^a	154.71 ^d	344.72 ^c	62.99 ^e	65.87 ^{bc}
เพชรบุรี 1	316.29 ^c	125.96 ^a	206.59 ^e	354.93 ^a	45.826 ^a	64.38 ^a
ขาวดอกมะลิ 105	366.77 ^e	147.65 ^c	116.17 ^a	164.17 ^b	112.34 ^f	92.43 ^g
กข6	324.97 ^d	137.81 ^b	225.93 ^f	214.63 ^d	53.88 ^d	134.6 ^f
กข25	162.92 ^a	175.59 ^d	124.27 ^b	368.97 ^g	49.44 ^{bc}	105.53 ^e

4.2.7 เอทิลีน

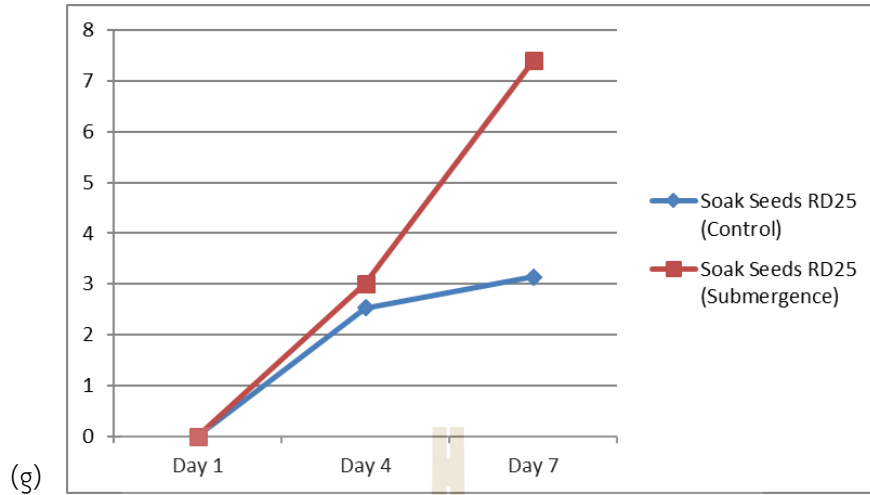
หลังจากถูกน้ำท่วมเป็นเวลา 7 วัน พบว่าปริมาณเอทิลีนมีการเพิ่มขึ้นในทุกสายพันธุ์ ยกเว้นหอมชลสิทธิ์อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นกลไกจากการที่หอมชลสิทธิ์มียีน *Sub1A-1* ที่ช่วยให้ข้าวสามารถทนน้ำท่วมแบบฉับพลันได้ในระยะสั้นๆ ซึ่งเป็นการอนุรักษ์พลังงานไว้ใช้สำหรับพักฟื้นหลังน้ำลด (Xu et al., 2006).



รูปที่ 4.14 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเอทิลีนของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหูลุดหนี่ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25



รูปที่ 4.14 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเอทิลีนของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ขาวหุดหนึ่ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ขาวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)



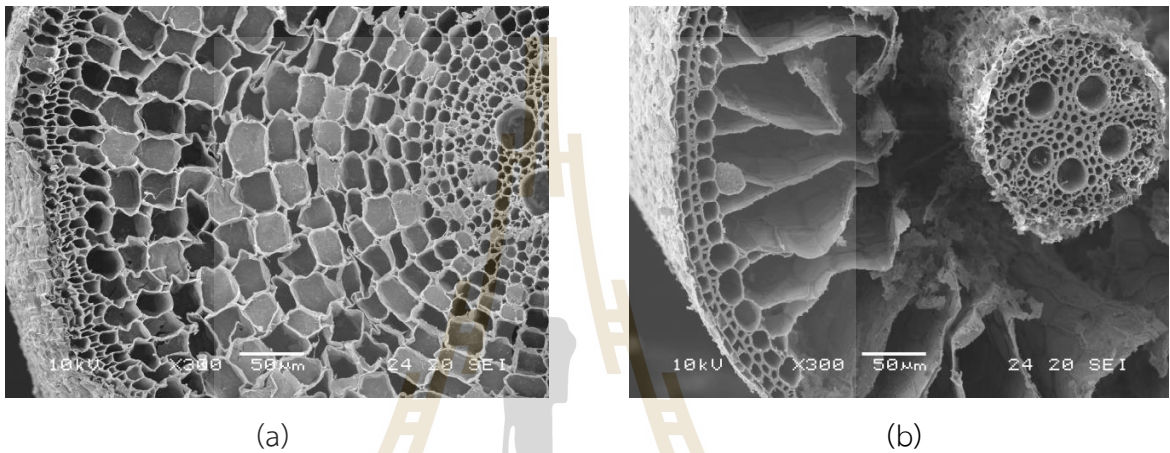
รูปที่ 4.14 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเอทิลีนของข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม (a) หอมชลสิทธิ์ (b) ข้าวหลุคหนึ่ (c) ไรซ์เบอร์รี่ (d) เพชรบุรี 1 (e) ข้าวดอกมะลิ 105 (f) กข6 (g) กข25 (ต่อ)

ตารางที่ 4.8 ตารางสรุปผลการเปรียบเทียบปริมาณเอทิลีน

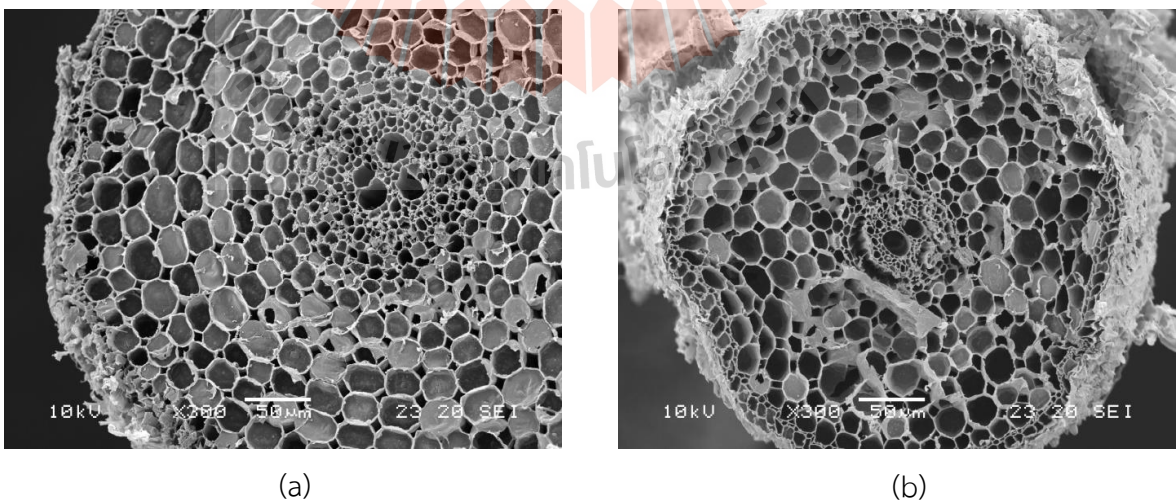
สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย					
	กลุ่มควบคุม			กลุ่มทดลอง		
	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7	วันที่ 1	วันที่ 4	วันที่ 7
หอมชลสิทธิ์	0	5.4400 ^s	5.2100 ^e	0	3.6667 ^e	3.1767 ^a
ข้าวหลุคหนึ่	0	4.5900 ^e	1.5567 ^a	0	4.9033 ^f	7.7500 ^d
ไรซ์เบอร์รี่	0	1.9767 ^b	1.6567 ^b	0	3.5670 ^d	4.4800 ^c
เพชรบุรี 1	0	2.4100 ^c	2.3100 ^c	0	2.4633 ^a	4.2200 ^b
ข้าวดอกมะลิ 105	0	5.3967 ^f	5.4667 ^f	0	5.8700 ^s	6.2067 ^e
กข6	0	1.0800 ^a	3.1500 ^d	0	2.7467 ^b	7.9833 ^s
กข25	0	2.5333 ^d	3.1433 ^d	0	3.0133 ^c	7.3967 ^f

4.3 ภาวะวิภาคของรากข้าวเมื่อถูกน้ำท่วม

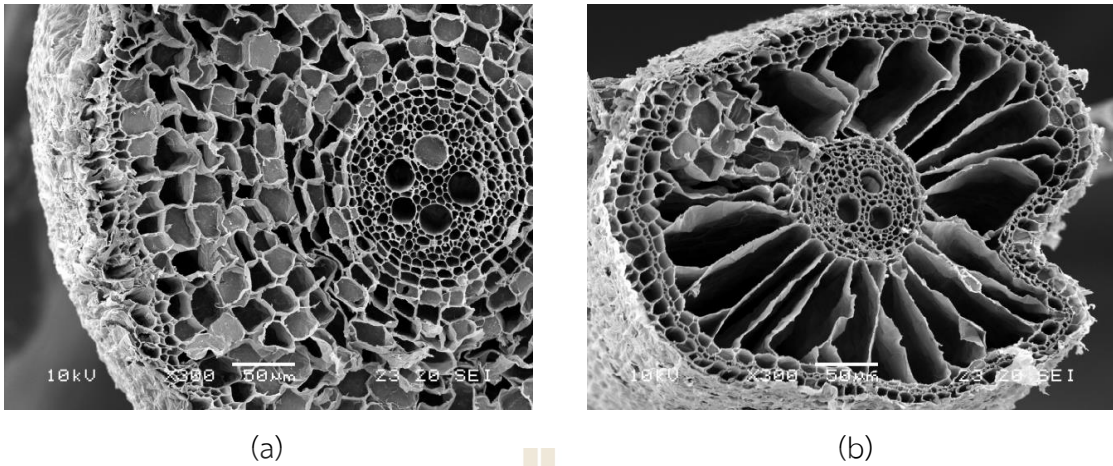
จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของรากข้าว พบว่ามีการเกิดแอเรงคิมา (aerenchyma) ขึ้น โดยเฉพาะในสายพันธุ์หอมชลสิทธิ์ที่มีการเกิดแอเรงคิมาอย่างชัดเจน เนื่องจากเป็นกลไกการรอดชีวิต ในช่วงที่ข้าวมีภาวะการขาดออกซิเจนจากการถูกน้ำท่วม และจากผลการศึกษาทางสรีรวิทยาข้างต้น พบว่าปริมาณเอทิลีนในสายพันธุ์หอมชลสิทธิ์ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองให้ผลที่แทบจะไม่แตกต่างกัน แต่ในขณะที่สายพันธุ์ขาวหุลุดหนี่มีค่าเฉลี่ยของปริมาณเอทิลีนสูงขึ้นมาในกลุ่มทดลอง นี่อาจเป็นสาเหตุของการเกิด aerenchyma ที่แตกต่างกันดังแสดงตามภาพ



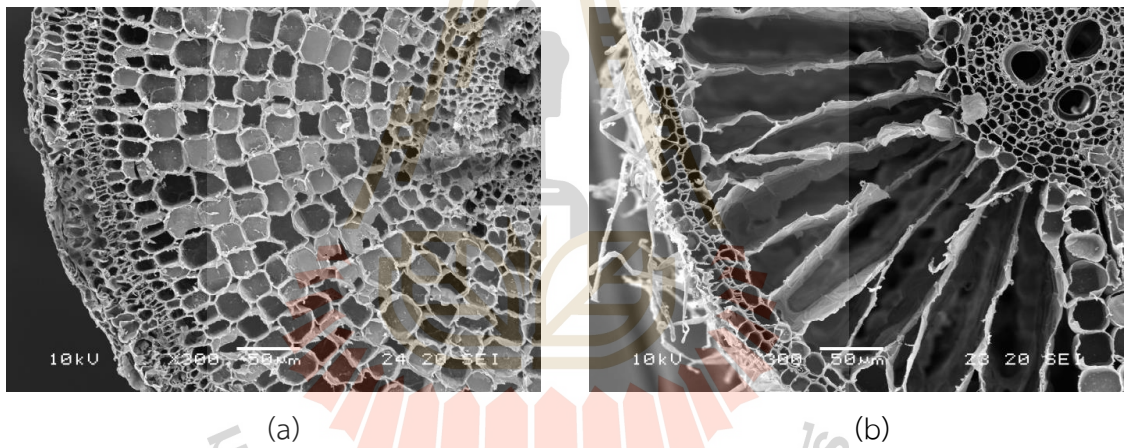
รูปที่ 4.15 แสดงการเปรียบเทียบการเกิด aerenchyma ของสายพันธุ์หอมชลสิทธิ์
(a) ควบคุม (b) น้ำท่วม



รูปที่ 4.16 แสดงการเปรียบเทียบการเกิด aerenchyma ของสายพันธุ์ขาวหุลุดหนี่
(a) ควบคุม (b) น้ำท่วม



รูปที่ 4.17 แสดงการเปรียบเทียบการเกิด aerenchyma ของสายพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่
(a) ควบคุมน้ำ (b) น้ำท่วม



รูปที่ 4.18 แสดงการเปรียบเทียบการเกิด aerenchyma ของสายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105
(a) ควบคุมน้ำ (b) น้ำท่วม

ข้าวที่ถูกลูกน้ำท่วมมีกลไกเพื่อการรอดชีวิตด้วยการสร้าง aerenchyma จากเซลล์ส่วนที่ตายแล้ว เพื่อให้เกิดการแลกเปลี่ยนก๊าซระหว่างส่วนรากและลำต้น (ปริยารัตน์ และคณะ, 2555) ในระหว่างที่พืช ถูกลูกน้ำท่วม จะมีปริมาณออกซิเจนลดลง ทำให้มีการสะสมเอทิลีนเพิ่มมากขึ้น ซึ่งทำให้เกิดการทำลาย เซลล์ของพืชในเยื่อหุ้มเซลล์ (He et al., 1996) แต่เนื่องจากปริมาณเอทิลีนในสายพันธุ์หอมชลสิทธิ์ในกลุ่มควบคุมน้ำและกลุ่มทดลองให้ผลที่แทบจะไม่แตกต่างกัน ทั้งที่มีช่องอากาศใน aerenchyma มากที่สุด จึงทำให้คิดได้ว่าการเกิด aerenchyma ในหอมชลสิทธิ์นั้นเกิดจากกลไกอื่นที่ไม่ใช่ผลจากเอทิลีน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของข้าวภายใต้สภาวะน้ำท่วมในข้าวกลุ่มทดลองเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จะพบว่า ในบางปัจจัยภาวะน้ำท่วมมีผลต่อการเจริญเติบโตของข้าว เช่น ปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น แต่พืชก็จะสร้างกลไกเพื่อการรักษาชีวิตรอดจากสภาวะเครียดต่างๆ เช่น การสร้าง aerenchyma การสงวนการใช้พลังงาน เป็นต้น จากผลการทดลอง พบว่า สายพันธุ์ข้าวหลอดนี้ ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวพื้นเมืองของจังหวัดนครราชสีมา มีความแตกต่างจากข้าวสายพันธุ์อื่นเมื่อถูกน้ำท่วม ไม่ว่าจะเป็นความสูง ความยาวราก และรูปแบบการเกิดแอโรจีนิม (aerenchyma)

เมื่อทำการตรวจสอบการมีอยู่ของยีนที่ทนน้ำท่วม (*Sub1A*) พบว่า มีเพียง 8 สายพันธุ์ที่มียีนดังกล่าว แต่มีเพียงสายพันธุ์เดียวเท่านั้น ที่มียีนที่ทนน้ำท่วม (*Sub1A-1*) นั่นคือ สายพันธุ์หอมชลสิทธิ์ ซึ่งก็สอดคล้องกับปริมาณเอทิลีน ที่มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง และการเกิดแอโรจีนิม ที่เนื้อเยื่อมีความเสียหายมากจึงทำให้เกิดช่องว่างขนาดใหญ่ภายในเซลล์ จากกลไกนี้อาจสรุปได้ว่า พืชที่มียีนทนน้ำท่วมจะใช้ quiescence strategy ในการเอาชีวิตรอด โดยจะทำการอนุรักษ์พลังงานในตัวเอง แต่ในขณะเดียวกันพืชที่ใช้กลไก escape strategy จะมีการใช้พลังงานต่างๆ เพื่อให้ตัวเองยืดยาวได้สัมผัสกับอากาศ แต่จากการสังเกตการศึกษาในครั้งนี้ หลังจากปล่อยน้ำออกให้พืชได้พบกับภาวะแวดล้อมปกติ พืชมีการฟื้นตัวที่ไม่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากการทดลองครั้งนี้ การปล่อยน้ำท่วมยังไม่ได้เป็นการปล่อยน้ำท่วมแบบสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

- ปรียาร์ตน์ สุวรรณโสภณ และ อรุณทัตย์ จำปีทอง. 2555. แอแรงคิมา: การพัฒนาของเนื้อเยื่อ รูปแบบ และหน้าที่. **วารสารพฤกษศาสตร์ไทย**: 125-138.
- พรเทพ ถนนวนแก้ว, อัศวิน วาณิชชัง, สุดารัตน์ ถนนวนแก้ว และปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์. 2547. **รายงานการวิจัย เรื่อง การแยกและการศึกษาคุณลักษณะบางประการของโปรตีนตอบสนองต่อความเค็มในข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105.**
- สถาบันวิจัยข้าว. (2538). **การทำน่าน้ำฝน**. กรุงเทพฯ: ชุมชนสหกรณ์เกษตรแห่งประเทศไทย.
- Atwell, B. J., Waters, I. and Greenway, H. 1982. The effect of oxygen and turbulence on elongation of submergence-tolerant and -intolerant rice cultivars. **Journal of Experimental Biology** 33: 1030-1044.
- Blom, C. W. P. M. and Voeselek, L. A. C. J. 1996. Flooding: the survival strategies of plants. **Trends in Ecology & Evolution** 11: 290-295.
- Colmer, T. D., Armstrong, W., Greenway, H., Ismail. A. M., Kirk, G. J. D. and Atwell. B. J. 2014. Physiological mechanisms of flooding tolerance of rice: transient complete submergence and prolonged standing water. In: **Progress in Botany**. U. Lüttge, W. Beyschlag and J. Cushman (Eds), Vol. 75, pp 225-307. Springer-Verlag, Germany.
- Coumou, D. and Rahmstorf, S. 2012. A decade of weather extremes. **Nature Climate Change** 2: 491-496.
- Das, K. K., Sarkar, R. K. and Ismail, A. M. 2005. Elongation ability and non-structural carbohydrate levels in relation to submergence tolerance in rice. **Plant Science** 168: 131-136.
- Fukao, T. and Bailey-Serres, J. 2008. Submergence tolerance conferred by Sub1A is mediated by SLR1 and SLR1L1 restriction to gibberellin responses in rice.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 105: 16814-16819.

Fukao, T., Harris, T. and Bailey-Serres, J. 2009. Evolutionary analysis of the *Sub1* gene cluster that confers submergence tolerance to domesticated rice. **Annals of Botany** 103: 143-150.

Fukao, T., Xu, K., Ronald, P.C. and Bailey-Serres, J. 2006. A variable cluster of ethylene response factor-like genes regulates metabolic and developmental acclimation responses to submergence in rice. **Plant cell** 18: 2021-2034.

Gibbs, J., Greenway, H. 2003. Review: Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. **Functional Plant biology**. 30: 1-47.

Greenway, H., Armstrong, W. and Colmer, T. D. 2006. Conditions leading to high CO₂ (>5 kPa) in waterlogged- flooded soils and possible effects on root growth and metabolism. **Annals of Botany**. 98: 9-32.

Hattori, Y., Nagai, K. and Ashikari, M. 2011. Rice growth adapting to deepwater. **Current Opinion in Plant Biology** 14: 100-105.

Hattori, Y., Nagai, K., Furukawa, S., Song, X., Kawano, R., Sakakibara, H., Wu, J., Matsumoto, T., Yoshimura, A., Kitano, H., Matsuoka, M., Mori, H. and Ashikari, M. 2009. The ethylene response factors SNORKEL1 and SNORKEL2 allow rice to adapt to deep water. **Nature** 460: 1026-1030.

He, C. J., Finlayson, S. A., Drew, M. C., Jordan, W. R., and Morgan, P. W. (1996). Ethylene biosynthesis during aerenchyma formation in roots of maize subjected to mechanical impedance and hypoxia. **Journal of Plant Physiology**. 112: 1679-1685.

Huang, J., Tanako, T. and Akita, S. 2000. Expression of α -expansin genes in young seedlings of rice. **Planta** 211: 467-473.

- International Rice Research Institute. (2007). **Rice Production Course** [On-line]. Available: http://www.knowledgebank.irri.org/ericeproduction/bodydefault.htm#0.6Rice_Breeding.htm.
- Ismail, A. M., Ellea, E. S., Vergara, G. V. and Mackill, D. J. 2009. Mechanisms associated with tolerance to flooding during germination and early seedling growth in rice (*Oryza sativa*). **Annals of Botany** 103: 197-209.
- Ismail, A. M., Singh, U. S., Singh, S., Dar, M. H. and Mackill, D. J. 2013. The contribution of submergence-tolerant (Sub1) rice varieties to food security in flood-prone areas. **Field Crops Research** 152: 83–93.
- Jackson, M. B. 2008. Ethylene-promoted elongation: an adaptation to submergence stress. **Annals of Botany** 101: 229-248.
- Lasanthi-Kudahettige, R., Magneschi, L., Loreti, E., Gonzali, S., Licausi, F., Novi, G., Beretta, O., Vitulli, F., Alpi, A. and Perata, P. 2007. Transcript profiling of the anoxic rice coleoptile. **Plant Physiology** 144: 218-231.
- Mackill, D. J., Ismail, A. M., Singh, U. S., Labios, R. V. and Paris, T. R. 2012. Development and rapid adoption of submergence-tolerant (Sub1) rice varieties. **Advances in Agronomy** 115: 299–352.
- Miro, B. and Ismail, A. M. 2013. Tolerance of anaerobic conditions caused by flooding during germination and early growth in rice (*Oryza sativa* L.). **Frontiers in Plant Science** 4: Article 269.
- Mohanty, H. K., Mallik, S. and Grover, A. 2000. Prospects of improving flooding tolerance in lowland rice varieties by conventional breeding and genetic engineering. **Current Science** 78: 132-137.
- Mommer, L. and Visser E. J. W. 2005. Underwater photosynthesis in flooded terrestrial plants: a matter of leaf plasticity. **Annals of Botany** 96: 581-589.

- Nandi, S., Subudhi P. K., Senadhira, D., Manigbas N. L., Sen-Mandi, S. and Huang, N. 1997. Mapping QTL for submergence tolerance in rice by AFLP analysis and selective genotyping. **Molecular and General Genetics** 255: 1-8.
- Neeraja, C., Maghirang-Rodriguez, R., Pamplona, A., Heuer, S., Collard, B., Septiningsih, E., Vergara, G., Sanchez, D., Xu, K., Ismail, A. And Mackill, D. 2007. A marker assisted backcross approach for developing submergence- tolerant rice cultivars. **Theoretical and Applied Genetics** 101: 1100-1108.
- Nakano, T., Suzuki, K., Fujimura, T. and Shinshi, H. 2006. Genome-wide analysis of the ERF gene family in Arabidopsis and rice. **Plant Physiology** 140: 411-432.
- Sadiq, I., Fanucchi, F., Paparelli, E., Alpi, E., Bachi, T., Alpi, A. and Perata, P. 2011. Proteomic identification of differentially expressed proteins in the anoxic rice coleoptile. **Journal of Plant Physiology** 168: 2234-2243.
- Sakagami, J., Joho, Y. and Ito, O. 2009. Contrasting physiological responses by cultivars of *Oryza sativa* and *O. glaberrima* to prolonged submergence. **Annals of botany** 103: 171-180.
- Sarkar, R. K., De, R. N., Reddy, J. N. and Ramakrishnayya, G. 1996. Studies on submergence tolerance mechanism in relation to carbohydrate, chlorophyll and specific leaf weight in rice. **Journal of Plant Physiology** 149: 623-625.
- Septiningsih, E. M., Pamplona, A. M., Sanchez, D. L., Neeraja, C. N., Vergara, G. V., Heuer, S., Ismail, A. M. and Mackill, D. J. 2009. Development of submergence tolerant rice cultivars: the *Sub1* locus and beyond. **Annals of Botany** 103: 151-160.
- Setter, T. L. and Laureles, E. V. 1996. The beneficial effect of reduced elongation growth on submergence tolerance of rice. **Journal of Experimental Botany** 47: 1551-1559.

- Singh, N., Dang, T. T. M., Vergara, G. V., Pandey, D. M., Sanchez, D., Neeraja, C.N., Septiningsih, E. M., Mendioro, M., Tecson-Mendoza, E. M., Ismail, A.M., Mackill, D. J. and Heuer, S. 2010. Molecular marker survey and expression analyses of the rice submergence-tolerance gene *SUB1A*. **Theoretical and Applied Genetics** 121: 1441-1453.
- Singh, S., Mackill, D. J and Ismail A. M. 2014. Physiological basis of tolerance to complete submergence in rice involves genetics factors in addition to the *SUB1* gene. **AoB PLANTS** 6: plu060; doi:10.1093/aobpla/plu060.
- Takahashi, H., Saika, H., Matsumura, H., Nagamura, Y., Tsutsumi, N., Nishizawa, N. K. and Nakazono, M. 2011. Cell division and cell elongation in the coleoptile of rice alcohol dehydrogenase 1- deficient mutant are reduced under complete submergence. **Annals of Botany** 29: 721-738.
- Vervuren P. J. A., Blom, C. W. P. M. and de Kroon, H. 2003. Extreme flooding events on the Rhine and the survival and distribution of riparian plant species. **Journal of Ecology**. 91: 135-146.
- Voesenek, L. A. C. J., Jackson, M. B., Toebes, A. H. W., Vriezen, W. H. and Colmer, T. D. 2003. Desubmergence-induced ethylene production in *Rumex palustris*: regulation and ecophysiological significance. **The Plant Journal** 170: 213-226.
- Xu, K. and Mackill, D. J. 1996. A major locus for submergence tolerance mapped on rice chromosome 9. **Molecular Breeding** 343: 3-14.
- Xu, K., Xu, X., Fukao, T., Calas, P., Maghirang-Rodriguez, R. M., Heuer, S., Ismail, A. M., Bailey-Serres, J. B., Ronald, P. C. and Mackill, D. J. 2006. *Sub1A* is an ethylene-response-factor-like gene that confers submergence tolerance to rice. **Nature** 422: 705-708.

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางดวงกมล แม่นศิริ
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Duangkamol Maensiri
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 2299 00098 26 1
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)
สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
111 ถ. มหาวิทยาลัย ต. ในเมือง อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 044 224615 โทรสาร 044 224633
email: duangkamol@sut.ac.th
5. ประวัติการศึกษา
2538 วท.บ. (ชีววิทยา), มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2001 Ph.D. (Molecular Biology), University of Manchester
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ: gene identification and characterization, molecular cloning
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ
 - 7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: ชื่อแผนงานวิจัย
 - 7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย:
 - 7.2.1 ผลของสภาวะเพาะเลี้ยงต่อการสังเคราะห์ exopolysaccharide ของไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด (ทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น)
 - 7.2.2 การใช้ข้อมูลทางชีวโมเลกุลในการระบุตำแหน่งของพืชสกุล *Caulopkaempferia* (Zingiberaceae) (ทุนสนับสนุนจากศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น)
 - 7.2.3 การใช้เทคนิค PCR-RFLP ของดีเอ็นเอบริเวณ ITS ในการระบุพืชสกุล *Alpinia* (Zingiberaceae) (ทุนสนับสนุนจากศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น)
 - 7.2.4 ดีเอ็นเอบนผลึกเพชรนาโน (ทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น)
 - 7.2.5 การประเมินดีเอ็นเอบริเวณ *matK*, *trnH-psbA* intergenic spacer, *rpoB* และ *rpoC* ในการใช้เป็น DNA barcode สำหรับการระบุชนิดพืช

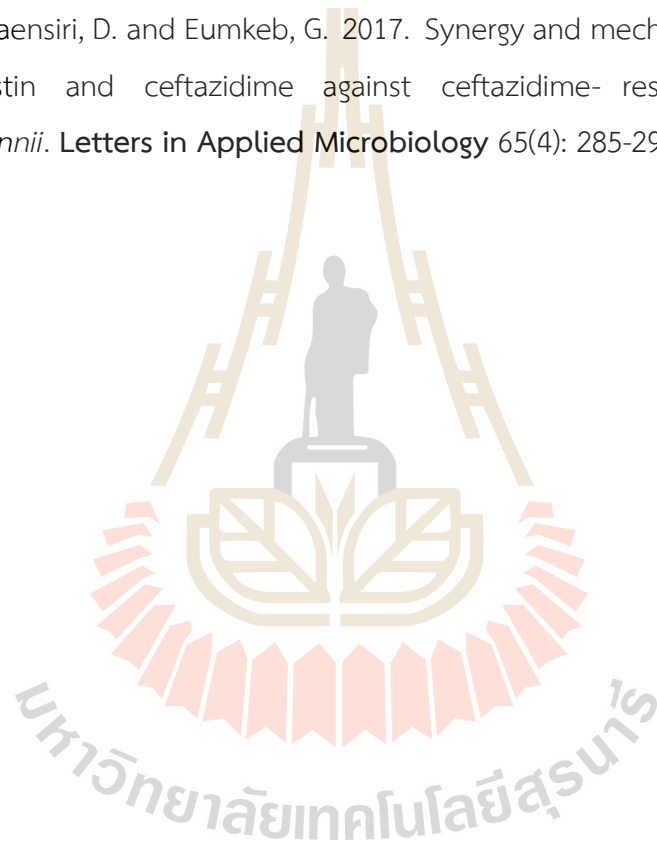
7.2.6 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมือง ทุนอุดหนุนทั่วไป
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

7.3 ผลงานวิจัย

- Pokpongsatien, P. and Thong-a-ram, D. 2005. The elimination of contaminating bacteria in *Spirulina platensis* by antibiotic treatment. In: **The Second National Conference on Algae and Plankton**, 23-25 March 2005, Chiangmai. p D-03. (In Thai)
- Seeprasert, T., Theerakulpisut, P., Chantaranothai, P. and Thong-a-ram, D. 2004. Pollen morphology and RAPD analysis of some closely related taxa of *Polygonum*. In: **The 30th Congress on Science and Technology of Thailand**. Bangkok, Thailand. B0129.
- Theerakulpisut, P., Chantaranothai, P., Thong-a-ram, D., Khampila, J., Triboun, P. and Mahakham, W. 2004. Interspecific relationship in *Zingiber* (Zingiberaceae) from northeast Thailand based on nuclear ribosomal DNA ITS sequences. In: **The 30th Congress on Science and Technology of Thailand**. Bangkok, Thailand. B0150.
- Theerakulpisut, P., Chantaranothai, P., Thong-a-ram, D., Khampila, J., Triboun, P. and Mahakham, W. 2005. Genetic variation of the genus *Zingiber* (Zingiberaceae) in Thailand detected by RAPD markers. In: **The 31st Congress on Science and Technology of Thailand**. Nakhonratchasima, Thailand. B0042.
- Theerakulpisut, P., Chantaranothai, P., Triboun, P., Thong-a-ram, D., Khampila, J. and Mahakham, W. 2006. Classification of the genus *Zingiber* (Zingiberaceae) based on ribosomal DNA sequences and RAPD markers. **4th International Symposium on the Family Zingiberaceae**, 3rd – 6th July 2006, Singapore Botanic Garden, Singapore.
- Kanawapee, N., Theerakulpisut, P., Bunnag, S., Maensiri, D. and P. Chantaranothai. 2006. DNA fingerprint and molecular diversity of four species of *Phyllanthus* assessed through RAPD analysis. In: The **The 31st Congress on Science and Technology of Thailand**. Bangkok, Thailand. B4_B0087.
- Theerakulpisut, P., Kanawapee, N., Maensiri, D., Bunnag, S. and Chantaranothai, P. 2006. Development of sequence characterized amplified region (SCAR) markers for identification of *Phyllanthus amarus*, *P. debilis* and *P. urinaria* (Phyllanthaceae). In: **The 1st Sino-Thai conference on traditional medicine and natural health**

- products proceeding**. 13-19 November 2006. Nanning, Guangxi, People Republic of China. pp. 118-122.
- Thong-a-ram, D., Namdee, K. and Mahakam, W. 2005. Classification of the genus *Caulokaempferia* K. Larsen (Zingiberaceae) based on the molecular phylogenetic analysis. **KKU Research Journal** 10(1): 5-12. (In Thai)
- Kultonlaksami, T. Maensiri, D. and Saensook, S. 2007. Variation of the internal transcribed spacer of ribosomal DNA among some *Alpinia* Roxb. (Zingiberaceae) species and its application for species identification. In: **The 9th symposium on graduate research, 19th January 2007**, Khon Kaen University, Thailand. BMP-6. (In Thai)
- Topon, O., Maensiri, D., Monthatong, M. and Amornkitbumrung, V. 2007. Diamond-like carbon film chip for biological molecule detection. In: **German-Thai symposium on nanoscience and nanotechnology** 27-28 September 2007, The Tide Resort, Chonburi. pp 183- 187. German- Thai Symposium on Nanoscience and Nanotechnology.
- Theerakulpisut, P., Kanawapee, N., Maensiri D., Bunnag, S. and Chantaranothai, P. 2008. Development of species- specific SCAR markers for identification of three medicinal species of *Phyllanthus*. **Journal of Systematics and Evolution** 46(4): 614-621.
- Chongka, M., Maensiri, D. and Saensook, S. 2009. *matK* and *trnH-psbA* intergenic spacer to be used as DNA barcodes: preliminary evaluation by the assessment of intraspecific sequence variation in *Alpinia galanga* (L.) Wild. **KKU Science Journal** 37(2): 173-182. (In Thai)
- Phannorit, S., Maensiri, D. and Montatong, M. 2009. Screening of EST-SSRs to develop genetic markers related to salt tolerance of rice. **KKU Research Journal (Graduate Studies)** 9(2): 22-29. (In Thai)
- Aiumsumang, S. and Maensiri, D. 2011. Exogenously applied ascorbic acid to increase salt stress tolerance in rice. In: **The 12th Symposium on Graduate Research, 28th January 2011**, Khon Kaen University. BM06.
- Petcha, N., Maensiri, D. and Saensouk, S. 2011. Assessment of the *rpoB* and *rpoC1* plastid DNA regions for their suitability as DNA barcodes for identification of plants in the genus *Alpinia* Roxb. (Zingiberaceae). In: **The 12th Symposium on Graduate Research, 28th January 2011**, Khon Kaen University. BM07.

- Theerakulpisut, P. , Triboun, P. , Mahakham, W. , Maensiri, D. , Khampila, J. and chantaranonthai, P. 2012. Phylogeny of the genus *Zingiber* (Zingiberaceae) based on nuclear ITS sequence data. **Kew Bulletin** 67: 389-395.
- Jantasee, A., Thumanu, K., Muangsan, N., Leraanaksiri, W. and Maensiri, D. 2014. Fourier transform infrared spectroscopy for antioxidant capacity determination in colored glutinous rice. **Food Analytical Methods** 7: 389-399.
- Nji, T., Maensiri, S. and Maensiri, D. 2017. The effect of green synthesized gold nanoparticles on rice germination and roots. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology** 8: 035008.
- Pimchan, T., Maensiri, D. and Eumkeb, G. 2017. Synergy and mechanism of action of α -mangostin and ceftazidime against ceftazidime- resistant *Acinetobacter baumannii*. **Letters in Applied Microbiology** 65(4): 285-291.



ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) ผศ. ดร.หนูเดือน เมืองแสน
(ภาษาอังกฤษ) Asst. Prof. Dr.Nooduan Muangsan
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-3017-01003-xxx
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์โทรสารและ E-mail
สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 044-224249, โทรสาร 044 – 224633, E-mail : nooduan@sut.ac.th
5. ประวัติการศึกษา
2546 Ph.D. (Plant Molecular Biology), North Carolina State University,
USA
2539 วท.บ. (ชีววิทยา เกียรตินิยม อันดับ 1) มหาวิทยาลัยขอนแก่น
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
Gene silencing, Plant transformation, Plant tissue culture, Genetics
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ
 - 7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย -ไม่มี-
 - 7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย
 - 1) แบคทีเรียก่อโรคจุดดำในไร่น้ำนางฟ้า.แหล่งทุน ศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นประจำปี 2549
 - 2) ฤทธิ์ของพืชสมุนไพรในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคจุดดำในไร่น้ำนางฟ้า.แหล่งทุน กองทุนสนับสนุนงานวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปี 2550
 - 3) การสกัดดีเอ็นเอและการศึกษาเชิงชีวโมเลกุลของพืชในวงศ์ขิงในเขตจังหวัดหนองคาย. แหล่งทุน ทุนอุดหนุนงบประมาณประจำปี 2551 มหาวิทยาลัยขอนแก่น และ IRPUS51
 - 4) ลักษณะการทนเค็มและการแสดงออกของยีนต้านอนุมูลอิสระในข้าว แหล่งทุน กลุ่มวิจัยจีโนมิกส์ และโปรตีโอมิกส์ของข้าวทนเค็ม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นประจำปี2552
 - 5) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเหนียวดำ. แหล่งทุน ทุนอุดหนุนมหาวิทยาลัยขอนแก่น งบประมาณประจำปี 2552
 - 6) การสำรวจความหลากหลายพืชหนามในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 2553. แหล่งทุน ทุนสนับสนุนการวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ 2553

- 7) การสำรวจความหลากหลายไลเคนในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. แหล่งทุน ทุนสนับสนุนการวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ 2553
- 8) เครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดีที่เกี่ยวข้องกับปริมาณน้ำมันสูงในทานตะวัน. หัวหน้าโครงการวิจัย. แหล่งทุน ทุนสนับสนุนการวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ 2553 เตรียมรายงานฉบับสมบูรณ์
- 9) การสำรวจพรรณไม้ในวัด ในเขตอำเภอเมือง จ.นครราชสีมา แหล่งทุน ทุนสนับสนุนการวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ 2554
- 10) ความหลากหลายของไลเคน และเห็ดรา ในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชอพ.สธ. เขื่อนน้ำพุง การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555
- 11) นิเวศวิทยาและความหลากหลายของไลเคนในสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช. แหล่งทุน ทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555-2556
- 12) ความหลากหลายชนิดของไลเคนในป่าชุมชนและโบราณสถานแห่งนครชัยบุรีรินทร์. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556
- 13) การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของทานตะวันโดยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด เอสเอสอาร์และอาร์เอพีดี แหล่งทุน ทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556
- 14) การใช้ไลเคนเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพอากาศบริเวณโดยรอบนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด จังหวัดระยอง ทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556
- 15) การเพาะเลี้ยงอับเรณูทานตะวันเพื่อผลิตสายพันธุ์แท้ แหล่งทุน ทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557
- 16) การอนุรักษ์ ขยายพันธุ์และใช้ประโยชน์พืชวงศ์ชิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจอย่างยั่งยืน ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี แหล่งทุน ทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

- 17) ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไลเคนสกุล *Graphis* ในประเทศไทย แหล่งทุน
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.
2557

7.3 ผลงานวิจัย

- 1) Peele, C., Jordan, C. V., Muangsan, N., Turnage, M., Egelkrout, E., Eagle, P., HanleyBowdoin, L., and Robertson, D. 2001. Silencing of a meristematic gene using geminivirus-derived vectors. **Plant J.** 27: 357-66.
- 2) Turnage, M. A., Muangsan, N., Peele, C. G., and Robertson, D. 2002. Geminivirus-based vectors for gene silencing in Arabidopsis. **Plant J.** 30: 107-14.
- 3) Muangsan N, Beclin C, Vaucheret H, and Robertson D. 2004. Geminivirus VIGS of endogenous genes requires SGS2/SDE1 and SGS3 and defines a new branch in the genetic pathway for silencing in plants. **Plant J.** 38: 1004-14.
- 4) Khampila, J., Theerakulpisut, P., Lertrat, K., Saksirirat, W., Sanitchon, J. and Muangsan, N. 2008. Identification of RAPD Markers for Northern Corn Leaf Blight Resistance in Waxy Corn (*Zea mays* var. *ceratina*). **Asian Journal of Plant Sciences** 7 (1): 18-21.
- 5) Khampila, J., Lertrat, K., Saksirirat, W., Sanitchon, J., Muangsan, N. and Theerakulpisut, P. 2008. Identification of RAPD and SCAR markers linked to northern leaf blight resistance in waxy corn (*Zea mays* var. *ceratina*). **Euphytica.** 164: 615-625.
- 6) Muangsan, N. and Suwanalai, J. 2008. The Use of 16S rRNA gene sequences in identification of bacteria Isolated from fairy shrimps. **KKU Sci J.** 36 (1):59-66. [In Thai]
- 7) Muangsan, N. and Senamontee, V. 2008. Antimicrobial effects of some medicinal plant extracts against bacteria associated with black disease. **Acta Horticulturae.** No.786: 73-76.
- 8) Kijwijan, B., Nokmai, J., and Muangsan, N. 2008. Effects of tyrosine and plant growth regulators on growth and development of *Gloriosa superba* Linn.in vitro. **Khon Kaen AGR. J.**, 36: 144-152. [In Thai]

- 9) Prajuabmon, A., Theerakulpisut, P., Kijwijan, B. and Muangsan, N. 2009. In Vitro investigation on salt tolerant characteristics of rice seedlings (*Oryza sativa* L.). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 28:423-427
- 10) Pimchun, O. and Muangsan, N. 2011. In Vitro Regeneration of Purple Glutinous Rice (*Oryza sativa* L.). *KKU Sci J*. 39(4): 621-630 [In Thai]
- 11) Krudnak, A., Muangsan, N. and Machikowa, T. 2013. High frequency callus induction through anther culture in high oil sunflower (*Helianthus annuus* L.). *KKU Res J*. 18(1):64-72 [In Thai]
- 12) Saensee K., Machikowa T. and Muangsan N. 2012. Comparative performance of sunflower synthetic varieties under drought stress. *International Journal of Agriculture and Biology*, vol. 14, pp. 929-.
- 13) Jantasee A., Thumanu K., Muangsan N., Leeanansaksiri W. and Maensiri, D. 2013. Fourier transform infrared spectroscopy for antioxidant capacity determination in colored glutinous rice. **Food Analytical Methods** Doi: 10.1007/s12161-013-9637-1.

