วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

เทคนิค rapid generation advance ในการศึกษาพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสงในคู่ผสมระหว่างข้าวอายุสั้นพันธุ์ ULR368 และพันธุ์ กข6 ในการประเมินนอกฤดูปลูก

Rapid generation advance technique in the study of photoperiod sensitivity inheritance of early maturity genotype ULR368 and RD6 rice varieties for out season evaluation

สิริมาพร โคตะเสนา[1] จิรวัฒน์ สนิทชน[1] สมพงศ์ จันทร์แก้ว[1] และ ธิดารัตน์ มอญขาม[1]*

Sirimaporn Khotasena[1], Jirawat Sanitchon[1], Sompong Chankaew[1] and Tidarat Monkham[1]*

[1]สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40000
[1]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40000, Thailand

บทคัดย่อ: การศึกษาพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสงในข้าวได้มีการศึกษาในหลายงานทดลอง ซึ่งการศึกษาในข้าวที่ไวต่อช่วงแสงจำเป็นต้องมีการประเมินในฤดูกาลปลูก (นาปี) เนื่องจากการประเมินนอกฤดูอาจจะทำให้การศึกษาพันธุกรรมการถ่ายทอดมีความคลาดเคลื่อนเนื่องจากการออกดอกที่ไม่ปกติในกลุ่มพันธุ์ดังกล่าว ส่งผลให้การประเมินมีความล่าช้าเนื่องจากสามารถประเมินได้เพียงหนึ่งครั้งต่อปี ดังนั้นงานทดลองนี้จึงได้ศึกษาพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสงในข้าวพื้นเมืองพันธุ์ ULR368 ที่ไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุสั้น กับข้าวพันธุ์ กข6 ซึ่งเป็นพันธุ์ปรับปรุงที่ไวต่อช่วงแสงปานกลาง โดยใช้เทคนิค rapid generation advance **(RGA)** เป็นการควบคุมให้อยู่ในสภาพวันสั้น และเพื่อทดสอบความเป็นไปได้ในการนำเทคนิค RGA มาใช้ศึกษาพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสง และใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยทำการทดสอบความไวต่อช่วงแสงในลูกผสมชั่วที่ 1 และหาสัดส่วนของประชากรชั่วที่ 2 โดยใช้เทคนิค RGA ให้ข้าวได้รับแสงไม่เกิน 10 ชั่วโมงต่อวัน ผลการทดลองพบว่าเทคนิค RGA สามารถใช้ในการศึกษาพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสงระหว่างคู่ผสมพันธุ์ ULR368 และพันธุ์ กข6 ได้ โดยผลการทดสอบสามารถจำแนกต้นที่ไวต่อช่วงแสงและไม่ไวต่อช่วงแสงได้อย่างชัดเจน และเมื่อทดสอบในประชากรชั่วที่ 2 ในระหว่างเดือน มกราคม ถึงเดือน เมษายน ซึ่งเป็นฤดูนาปรัง โดยใช้เทคนิค RGA พบว่า ประชากรชั่วที่ 2 จำนวน 191 ต้น ไวต่อช่วงแสง และ 177 ต้น ไม่ไวต่อช่วงแสง ซึ่งตรงกับสัดส่วน 9 : 7 ($P<0.01$) แสดงให้เห็นว่า ลักษณะไวแสงเป็นลักษณะเด่น ข่มไม่ไวแสง และมียีนควบคุม 2 ยีน ที่มีการทำงานร่วมกันแบบ complementary gene และยีนเด่น 2 ตำแหน่งนี้มีปฏิกิริยาแบบข่มข้ามคู่ (epistasis) นอกจากนี้ยังสามารถคัดเลือกประชากรต้นที่ไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้นได้จำนวน 150 ต้น แสดงให้เห็นว่าการใช้เทคนิค RGA สามารถใช้ในการประเมินการแสดงออกของยีนในข้าวกลุ่มไวต่อช่วงแสงนอกฤดูการเพาะปลูกได้ และยังสามารถแยกกลุ่มสายพันธุ์ที่มีอายุสั้นและกลุ่มที่มีความไวแสงปานกลางออกจากกันได้ จึงเป็นเทคนิคที่สามารถใช้เป็นเครื่องมือ เพื่อย่นระยะเวลาในการประเมินลักษณะความไวต่อช่วงแสงในประชากรได้และสามารถนำมาใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ข้าวได้

คำสำคัญ: อายุดอกบาน; การปรับปรุงพันธุ์ข้าว; ข้าวไวต่อช่วงแสง; สภาพวันสั้น

ABSTRACT: Several studies of genetic inheritance of the photoperiod sensitivity trait in rice had been investigated. The evaluation of photoperiod sensitivity in rice was necessary to assessed in the normal growing season (wet season) due to off-season evaluation (dry season) was discrepancies, especially in the inheritance genetic studies. The evaluation was done once time per year. Therefore, the objectives of this study were to evaluate the

* Corresponding author: tidamo@kku.ac.th

Received: date; May 18, 2021 Accepted: date; November 10, 2021 Published: date; January 15, 2022

inheritance of photoperiod sensitivity in indigenous rice ULR368, insensitive and early maturity, and the cultivated medium-sensitive variety RD6 using rapid generation advance (RGA) technique that it controlled under short daylength and to evaluated the possibility of RGA technique in photoperiod-sensitivity inheritance evaluation and variety selection in breeding program. The day to flowering in F_1 generation and the ratio of F_2 population were evaluated using RGA techniques with less than 10 hours daylength/day. The result found that RGA technique was suitable for photoperiod sensitivity inheritance study between ULR368 and RD6 populations. The results were able to clearly identify photoperiod and non-photoperiod genotypes. In F_2 population, they were evaluated during January to April that dry season (long daylength) using RGA technique and found that 191 plants were sensitive to photoperiod, and 177 were insensitive to photoperiod with the ratio of 9:7. The result indicated that photoperiod sensitivity was controlled by two dominant complementary genes with epistasis interaction. In addition, 150 plants were identified as insensitive to photoperiod and early maturity genotypes. So, the RGA technique could be used to assess gene expression for the photosensitive in dry season or off-season and can be separated the early maturity and medium-photoperiod sensitive genotypes. This technique can be used as a tool to shorten the assessment time in photoperiod sensitivity trait in rice breeding program.

Keywords: flowering time; rice breeding; photoperiod-sensitive rice cultivar; short day condition

บทนำ

ข้าวพันธุ์ กข6 เป็นข้าวเหนียวพันธุ์ปรับปรุงที่เกษตรกรนิยมปลูกมาก โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เนื่องจากเป็นพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูง เมล็ดมีคุณภาพการหุงต้มดี และมีกลิ่นหอม (กรมการข้าว, 2560ก) อย่างไรก็ตาม ข้าวพันธุ์ กข6 เป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสงปานกลาง ซึ่งมีข้อจำกัดเรื่องช่วงเวลาการเพาะปลูก โดยปลูกได้เพียงปีละหนึ่งครั้งในฤดูนาปี ดังนั้น การปรับปรุงข้าวพันธุ์ กข6 ให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้น จะทำให้สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปีในพื้นที่การปลูกแบบอาศัยน้ำชลประทาน นอกจากนี้ สามารถออกดอกและเก็บเกี่ยวได้เร็ว เพื่อลดความเสี่ยงจากสภาวะแล้งในช่วงปลายฤดูปลูกในพื้นที่อาศัยน้ำฝน ทั้งนี้ การปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ลักษณะดังกล่าว จำเป็นต้องผสมกับข้าวพันธุ์ที่มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้น ซึ่งข้าวพันธุ์ ULR368 เป็นข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่ไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้น โดยมีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 100 วัน ซึ่งเป็นลักษณะที่น่าสนใจในการนำมาผสมกับข้าวพันธุ์ กข6 เพื่อพัฒนาพันธุ์ข้าว กข6 ให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงและมีอายุเก็บเกี่ยวสั้นลง

การปรับปรุงพันธุ์ข้าว กข6 เพื่อให้ได้พันธุ์ที่ไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้น จำเป็นต้องศึกษาพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสง เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งเคยมีการศึกษาและมีการรายงานว่า ความไวต่อช่วงแสงถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1-2 ตำแหน่ง (Chandraratna, 1995; Poonyarit et al., 1989) ในขณะเดียวกันมีการศึกษาที่รายงานว่า ยีนที่ควบคุมความไวต่อช่วงแสงมีทั้งที่เป็นยีนด้อยและยีนเด่น โดยมีทั้ง 1 และ 2 ตำแหน่ง แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์และระดับความไวต่อช่วงแสงของพันธุ์พ่อและแม่ (Sampath and Seshu, 1961; ธีรภัทร์ และ ธีรวัฒน์, 2555) เช่น การผสมระหว่างข้าวอินดิกาที่พ่อและแม่มีระดับความไวต่อช่วงแสงต่างกัน ก็มีการแสดงออกที่แตกต่างกันในแต่ละคู่ผสม นอกจากนี้ การผสมระหว่างข้าวจาปอนิกากับข้าวอินดิกา ลูกผสมมักจะแสดงลักษณะเช่นเดียวกับพ่อหรือแม่ที่เป็นจาปอนิกาซึ่งเป็นลักษณะเด่นที่ข่มการแสดงออกของข้าวอินดิกา (Sampath and Seshu, 1961) ทั้งนี้ ข้าวเป็นพืชวันสั้น (short day plant) ซึ่งมีการตอบสนองต่อช่วงแสงโดยจะออกดอกเมื่อได้รับช่วงแสงสั้นกว่า 12 ชั่วโมง แต่ข้าวในประเทศไทยมีการตอบสนองต่อช่วงแสงแตกต่างกัน 2 กลุ่ม คือพันธุ์ที่ออกดอกได้ในเดือนที่มีความยาวของกลางวัน 11 ชั่วโมง 40-50 นาที เป็นข้าวที่มีความไวต่อช่วงแสงน้อย (weakly sensitive to photoperiod) และ พันธุ์ที่ออกดอกเฉพาะในเดือนที่มีความยาวของกลางวันประมาณ 11 ชั่วโมง 10-20 นาที เป็นพันธุ์ที่มีความไวต่อช่วงแสงมาก (strongly sensitive to photoperiod) (กรมการข้าว, 2560ข) อย่างไรก็ตาม อายุดอกบาน (flowering time) และความไวต่อช่วงแสง (photoperiod sensitivity) เป็นลักษณะที่ซับซ้อน (Jiang et ai., 2007) ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และสภาพแวดล้อม (Shahidullah et al., 2009) โดยฉพาะช่วงแสงหรือความยาววัน มีอิทธิพลอย่างมากในพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสง นอกจากนี้ วิธีการ รวมถึงช่วงเวลาในการทดสอบ ยังมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะความไวต่อช่วงแสงอีกด้วย

โดยทั่วไป การทดสอบความไวต่อช่วงแสงจะทดสอบในสภาพความยาววันปกติ (natural daylength) ซึ่งการทดสอบในสภาพดังกล่าวใช้เวลานานและสามารถทดสอบได้เพียงปีละ 1 ครั้ง เนื่องจากพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสงไม่สามารถออกดอกได้เมื่ออยู่ในสภาพวันยาว

ปัจจุบัน การใช้เทคนิคเร่งอายุหรือ rapid generation advanced (RGA) โดยการควบคุมความยาววันให้ข้าวได้รับช่วงแสงสั้น (Vergara et al., 1982) ทำให้พันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสงสามารถออกดอกได้ ซึ่งเทคนิคนี้ ถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวอย่างแพร่หลาย ไม่ว่าจะเป็นการทดสอบผลผลิตรวมถึงอายุดอกบาน เนื่องจากช่วยลดระยะเวลาการทดสอบ ประหยัดทรัพยากรและต้นทุน รวมทั้งเพิ่มรอบการปรับปรุงพันธุ์ให้มีความก้าวหน้าเร็วขึ้น (Collard et al., 2017) ยีนควบคุมการการออกดอกมีการควบคุมจากหลายยีนไม่ว่าจะเป็น *Ehd1, Hd3a, RFT1, Hd1* ซึ่งจะแตกต่างกันไปเมื่อพืชได้รับช่วงวันสั้น หรือวันยาว (Komiya et al., 2009; Kojima et al., 2002; Yano et al., 2000; Tsuji et al., 2011; Hori et al., 2016) โดยในข้าวพื้นเมืองไทยส่วนใหญ่ยังไม่มีรายงานยีนที่ควบคุมการออกดอกแต่อย่างใด อย่างไรก็ตามการประเมินพันธุกรรมการถ่ายทอด โดยเฉพาะการถ่ายทอดความไวต่อช่วงแสงยังมีการประเมินในสภาพแสงปกติ เนื่องจากต้องการหลีกเลี่ยงความคลาดเคลื่อนเนื่องการการเร่งอายุ เพื่อให้ยีนที่ควบคุมความไวต่อช่วงแสงสามารถแสดงออกได้ถูกต้อง ทำให้การประเมินลักษณะดังกล่าวต้องรอช่วงเวลาในการประเมินที่เหมาะสม ส่งผลให้รอบของการปรับปรุงพันธุ์ล่าช้าออกไป โดยเฉพาะในข้าวกลุ่มไวแสง ดังนั้น การศึกษานี้จึงทำการทดสอบพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสงในคู่ผสมระหว่างพันธุ์ ULR 368 และข้าวพันธุ์ กข6 โดยใช้เทคนิค RGA ควบคุมความยาววันให้ข้าวได้รับช่วงแสงสั้น เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเทคนิค RGA ต่อการแสดงออกของลักษณะความไวต่อช่วงแสง และใช้ในการคัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้นใกล้เคียงกับพันธุ์ ULR368 เพื่อนำไปเป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว กข6 ต่อไป

วิธีการศึกษา

พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ใช้ข้าวไร่พื้นเมืองพันธุ์ ULR 368 ซึ่งเป็นข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้น (อายุดอกบานเฉลี่ย 70 วัน) และข้าวนาสวนพันธุ์ปรับปรุงที่เกษตรกรนิยมปลูกคือพันธุ์ กข6 ซึ่งเป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสงปานกลาง (ออกดอก 50% ประมาณวันที่ 23-25 ตุลาคม)

การสร้างลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1 hybrid) และการสร้างประชากรชั่วที่ 2 (F_2 population)

ปลูกข้าวไร่พันธุ์ ULR368 เป็นพันธุ์พื้นเมืองที่ไม่ไวต่อช่วงแสงและข้าวนาสวนพันธุ์ กข6 ซึ่งเป็นพันธุ์ปรับปรุงที่ไวต่อช่วงแสง เพื่อผสมพันธุ์ให้ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1 hybrid) ดำเนินการในช่วงเดือนมกราคม-เมษายน 2562 โดยปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 5 นิ้ว พันธุ์ละ 4 กระถาง และปลูกจำนวน 1 ต้นต่อกระถาง จากนั้นนำเมล็ดประชากรชั่วที่ 1 กับพันธุ์แม่ (ULR368) และพันธุ์พ่อ (กข6) ไปปลูกเพื่อตรวจสอบการออกดอก โดยปลูกพันธุ์แม่และพันธุ์พ่อ พันธุ์ละ 4 กระถาง ลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 2 ต้น ปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 5 นิ้วและปลูกกระถางละ 1 ต้นเช่นเดียวกับการปลูกเพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 1 ดำเนินการในช่วงเดือน มิถุนายน 2562 และเก็บเกี่ยวเมล็ดได้ประชากรชั่วที่ 2 (F_2 population) จำนวน 368 ต้น (**Figure 1**)

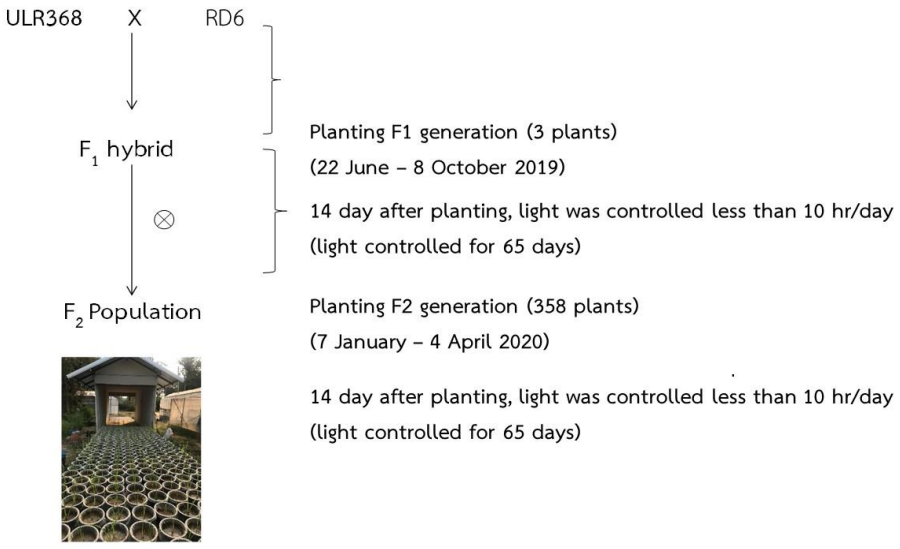

Figure 1 Schematic of F_1 hybrid and F_2 population derived from a crossed between ULR368 and RD6

การตรวจสอบการออกดอกของลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1 hybrid) และประชากรชั่วที่ 2 (F_2 Population)

ตรวจสอบการออกดอกของประชากรชั่วที่ 1 โดยนำลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมระหว่างพันธุ์ ULR368 และพันธ์ กข6 รวมทั้งพันธุ์พ่อและแม่มาปลูกในเดือน มิถุนายน 2562 โดยปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 5 นิ้ว ปลูก 1 เมล็ดต่อกระถาง หลังปลูก 14 วัน นำไปกระตุ้นให้ออกดอกในห้องมืดโดยใช้เทคนิค rapid generation advanced (RGA) ให้ได้รับแสงวันละไม่เกิน 10 ชั่วโมง (Vergara et al., 1982) (ในช่วงรับแสงคือนำข้าวออกจากห้องมืดได้รับแสงในสภาพธรรมชาติ (Natural daylength)) จากนั้นบันทึกข้อมูลอายุดอกบาน 50% (days to 50% flowering) ของข้าวทุกกระถาง และการตรวจสอบการออกดอกของประชากรชั่วที่ 2 ดำเนินการเช่นเดียวกับลูกผสมชั่วที่ 1 โดยทำการปลูกข้าวชั่วที่ 2 จำนวน 368 ต้น พันธุ์แม่และพันธุ์พ่อ พันธุ์ละ 10 ต้น ทดสอบในเดือน มกราคม 2563 และบันทึกข้อมูลอายุดอกบาน 50% ของข้าวทุกกระถาง

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลอายุดอกบาน 50% ของประชากรชั่วที่ 2, ลูกผสมชั่วที่ 1, พันธุ์ ULR368 และพันธุ์ กข6 มาวิเคราะห์หาพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะความไวต่อช่วงแสงและสัดส่วนของประชากรชั่วที่ 2 โดยการคำนวณหาค่าไคสแควร์ (Chi-square) เพื่อทดสอบ Goodness of Fit ของสัดส่วนตามสมมติฐานว่าเป็นยีน 1 ตำแหน่งในสัดส่วน 3 : 1 หรือเป็นยีน 2 ตำแหน่ง ในสัดส่วน 9 : 7 (Poonyarit et al., 1989) ซึ่งการตรวจสอบจะเริ่มจากยีน 1 ตำแหน่ง แล้วจึงเพิ่มจำนวนยีนขึ้นทีละ 1 ตำแหน่ง จนได้ค่าไคสแคว์ที่ยอมรับสมมติฐาน ค่าไคสแคว์คำนวณตามวิธีของ Gomez and Gomez (1983) จากสูตร: $X^2 = \sum (Oi - Ei)^2/Ei$

โดยที่ O = จำนวนต้นที่มีลักษณะไวต่อช่วงแสง (Observed number)

E = จำนวนคาดหมายของต้นที่มีลักษณะไวต่อช่วงแสง (Expected number)

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

อายุดอกบานของลูกผสมชั่วที่ 1, ข้าวพันธุ์ ULR368 และพันธุ์ กข6

การตรวจสอบการออกดอกของลูกผสมชั่วที่ 1 เปรียบเทียบกับพันธุ์ ULR368 ซึ่งเป็นพันธุ์แม่และพันธุ์ กข6 ซึ่งเป็นพันธุ์พ่อ จากการทดสอบในสภาพห้องมืดโดยใช้เทคนิค RGA เพื่อกระตุ้นการออกดอก พบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 มีอายุดอกบานเฉลี่ย 77 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับพันธุ์พ่อคือพันธุ์ กข6 ที่มีอายุดอกบานเฉลี่ย 77 วัน ส่วนพันธุ์แม่คือพันธุ์ ULR368 มีอายุดอกบานเฉลี่ย 72 วัน (**Table 1**)

แสดงให้เห็นว่าพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสงในคู่ผสมระหว่างพันธุ์ ULR368 และพันธุ์ กข6 ลักษณะความไวแสงเป็นลักษณะเด่นข่มไม่ไวแสงจึงทำให้ลูกผสมชั่วที่ 1 ทุกต้นมีอายุดอกบานใกล้เคียงกับพันธุ์พ่อคือ กข6 ที่เป็นพันธุ์ไวต่อช่วงแสง

Table 1 Days to 50% flowering of F_1, ULR368 and RD6 under short day condition using rapid generation advance (RGA) technique

F_1, parent	Ave. days to flowering	Number of plant			Total plant
		70-73	74-77	78-81	
ULR368 (female)	71.3	3	-	-	3
RD6 (male)	77.7	-	2	1	3
F_1-hybrid	77.0	-	1	1	2

อายุดอกบานของประชากรชั่วที่ 2, พันธุ์ ULR368 และพันธุ์ กข6

การตรวจสอบการออกดอกของประชากรชั่วที่ 2 เปรียบเทียบกับพันธุ์ ULR368 ซึ่งเป็นพันธุ์แม่และพันธุ์ กข6 ซึ่งเป็นพันธุ์พ่อ พบว่า ประชากรชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของอายุดอกบานตั้งแต่ 54 – 88 วัน และมีอายุดอกบานเฉลี่ย 66 วัน ในขณะที่พันธุ์แม่ คือ ULR368 ซึ่งไม่ไวต่อช่วงแสงมีอายุดอกบานเฉลี่ย 70 วัน ส่วนพันธุ์พ่อคือ กข6 ซึ่งเป็นพันธุ์ไวต่อช่วงแสงมีอายุดอกบานเฉลี่ย 62 วัน จะเห็นได้ว่าอายุดอกบานเฉลี่ยของพันธุ์พ่อน้อยกว่าพันธุ์แม่เมื่อทดสอบช่วงเดือนมกราคม เนื่องจากการปลูกทดสอบเป็นการปลูกในสภาพห้องมืดซึ่งควบคุมให้ข้าวได้รับช่วงแสงสั้นกว่า 10 ชั่วโมงต่อวัน และทดสอบในช่วงเดือนมกราคมซึ่งเป็นช่วงที่ความยาววันสั้น (short daylength) ทำให้พันธุ์พ่อซึ่งเป็นพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสงได้รับการกระตุ้นจากช่วงแสงสั้นตั้งแต่เริ่มงอก จึงออกดอกเร็วกว่าการปลูกในช่วงเดือนมิถุนายน ส่งผลให้พันธุ์พ่อออกดอกเร็วกว่าพันธุ์แม่แตกต่างจากการทดสอบในช่วงเดือนมิถุนายน ทั้งนี้ เกี่ยวข้องกับกลไกการออกดอกของข้าวแต่ละพันธุ์ โดยพันธุ์พ่อ ประชากรชั่วที่ 1 และประชากรชั่วที่ 2 (191 ต้น) ที่ไวต่อช่วงแสงจะมีกลไกการตอบสนองต่อช่วงแสงหรือความยาววันซึ่งส่งผลต่อกลไกการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการออกดอกในข้าว โดยเมื่อได้รับแสงสั้นกว่า 12 ชั่วโมง (วันสั้น) ยีนสำคัญหลักที่ทำให้ข้าวออกดอกได้ คือ *Hd1*, *Ehd1*, *RFT1* และ *Hd3a* จะได้รับการกระตุ้นให้ข้าวมีการเปลี่ยนจากตาใบเป็นตาดอก (Endo-Higashi and Izawa, 2011) ในขณะที่พันธุ์แม่และประชากรชั่วที่ 2 (177 ต้น) ซึ่งไม่ไวต่อช่วงแสงมักจะมีกลไกการการสะสมอุณหภูมิ (degree days) เพื่อเปลี่ยนระยะการเจริญเติบโตจากระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตทางด้านสืบพันธุ์ โดยเริ่มสะสมอุณหภูมิตั้งแต่ข้าวเริ่มงอก ทั้งนี้ข้าวแต่ละพันธุ์จะต้องการอุณหภูมิสะสมต่างกันในการออกดอก (Yoshida, 1981) นอกจากนี้ ยังต้องอาศัยการทำงานของยีนที่ควบคุมการออกดอกเช่นกัน โดยยีนที่มีบทบาทสำคัญที่ทำให้ข้าวออกดอกในสภาพวันยาวได้ คือ *Ehd1* ((Endo-Higashi and Izawa, 2011) ซึ่งจะเป็นตัวกระตุ้นการแสดงออกของ *Hd3a* หรือ *RFT1* ทำให้ข้าวออกดอกได้ แต่ในสภาพวันยาวต้องอาศัยการกระตุ้นจากหลายยีนมากกว่าในสภาพวันสั้น (Hori et al., 2016) จะเห็นได้ว่า *Ehd1* เป็นยีนสำคัญที่มีบทบาทการออกดอกทั้งในสภาพวันยาวและวันสั้นในขณะที่ *Hd1* จะยับยั้งการออกดอกในสภาพวันสั้น (Zong et al., 2021) อย่างไรก็ตาม การทดสอบความไวต่อช่วงแสงในประชากรชั่วที่ 2 พบว่า ประชากรส่วนมากมีลักษณะไวต่อช่วงแสงและอายุดอกบานใกล้เคียงกับพันธุ์ กข6 ซึ่งเป็นพันธุ์พ่อ (**Table 2**) นอกจากนี้ ยังพบว่ามีประชากรในชั่วที่ 2 บางต้นที่ออกดอกเร็วกว่าพันธุ์พ่อที่เป็นพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสงปานกลาง กล่าวคือมีการกระจายตัวแบบ transgressive ซึ่งมักจะพบต้นที่มีการกระจายตัวเช่นนี้ในการประเมินลักษณะอายุดอกบานโดยใช้เทคนิค RGA สอดคล้องกับการรายงานของ Collard et al. (2017) นอกจากนี้ อายุดอกบานของข้าว อาจเกิดจากอิทธิพลของยีนอื่น ซึ่ง Arit (1987) พบว่า อายุดอกบานของข้าวที่ไวต่อช่วงแสง จะได้รับอิทธิพลจากปัจจัยอื่นๆ ไม่ว่าเป็นการเจริญเติบโตทางลำต้น (basic vegetative phase) ความไวต่อช่วงแสง (photoperiod sensitivity) ยีนควบคุมความยาววันวิกฤต (critical daylength) ยีนขัดขวาง (inhibitors genes) และยีนบิดผัน (modifying genes) รวมถึงสภาพแวดล้อม จึงส่งผลให้ข้าวแต่ละต้นมีอายุดอกบานแตกต่างกัน

Table 2 Days to 50% flowering of F_2, ULR368 and RD6 under short day condition

F_2, parent	Ave. days to 50 % flowering	Number of plants							Total
		54-60	61-65	66-70	71-75	75-80	81-85	86-88	
ULR368 (female)	70	-	-	8	2	-	-	-	10
RD6 (male)	62	1	9	-	-	-	-	-	10
F_2-population	66	31	160	118	32	12	9	6	368

จำนวนยีนและการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะความไวต่อช่วงแสงในประชากรชั่วที่ 2 ในสภาพวันสั้น

การทดสอบหาจำนวนยีนและการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะความไวต่อช่วงแสงภายใต้สภาพวันสั้น ในประชากรชั่วที่ 2 จำนวน 368 ต้น พบว่า 191 ต้น มีลักษณะไวต่อช่วงแสง มีอายุดอกบานตั้งแต่ 54 - 65 วัน และ มีประชากรที่ไม่ไวต่อช่วงแสง 171 ต้น ซึ่งมีอายุดอกบานมากกว่า 66 วันขึ้นไป แสดงให้เห็นว่า ลักษณะการแสดงกราฟเบ้ (skewness) ในชั่วที่มีการกระจายทางพันธุกรรม มีแนวโน้มที่จะเป็นการแสดงออกออกของยีนที่ไม่ใช่แบบบวก (predominant role of non-additive gene action) โดยสัดส่วนของประชากรและจำนวนยีนที่ควบคุมลักษณะความไวต่อช่วงแสง มีการรายงานในคู่ผสมที่พ่อและแม่มีความไวต่อช่วงแสงแตกต่างกัน พบว่าความไวต่อช่วงแสงถูกควบคุมด้วย ยีนเดียว หรือ 2 ยีน (Poonyarit et al., 1989) กรณียีนเดียวการทดสอบสัดส่วนของประชากรยอมรับในสัดส่วน 3 : 1 และกรณี 2 ยีน มีทั้งสัดส่วน 15 : 1 (Sampath and Seshu, 1961) และ 9 : 7 (Poonyarit et al., 1989) แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความไวต่อช่วงแสงของพันธุ์พ่อและแม่ ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ จะเห็นได้ว่าการทดสอบไคสแควร์ในประชากรชั่วรุ่นที่ 2 พบว่า ต้นที่ไวต่อช่วงแสง : ไม่ไวต่อช่วงแสง ยอมรับในสัดส่วน 9 : 7 (**Table 3**) แสดงให้เห็นว่า ข้าวพันธุ์ กข6 มียีนเด่น 2 ยีน ควบคุมความไวต่อช่วงแสงและข่มลักษณะไม่ไวแสงในข้าวพันธุ์ ULR368 และจากสัดส่วน 9 : 7 แสดงให้เห็นว่ายีนเด่นทั้ง 2 ยีนมีการทำงานร่วมกันแบบ complementary gene action (Poonyarit et al., 1989; ประดิษฐ์, 2554) และมีปฏิกิริยาแบบข่มข้ามคู่ (epistasis) สอดคล้องกับการรายงายของ ธีรภัทร์ และ ธีรวัฒน์ (2555) ที่พบว่า ลักษณะไวต่อช่วงแสงในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มียีนเด่น 2 ตำแหน่งควบคุม (2 major dominant gene) และข่มยีนที่ควบคุมความไม่ไวต่อช่วงแสงในข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ทำให้ประชากรชั่วรุ่นที่ 2 มีลักษณะไวแสงข่มไม่ไวแสงในสัดส่วน 9 : 7 และปฏิกิริยาของยีนเป็นแบบข่มข้ามคู่เช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจาก ข้าวพันธุ์ กข6 ได้มาจากการกลายพันธุ์ของข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยการใช้รังสี (กรมการข้าว, 2560) จึงทำให้มีพันธุกรรมบางส่วน เช่น ลักษณะความไวต่อช่วงแสงที่ใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในขณะที่ การศึกษาของ Poonyarit et al. (1989) พบว่า ในคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสงปานกลางกับข้าวพันธุ์ที่ไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้น ความไวต่อช่วงแสงเป็นลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยยีนด้อย โดยทั้ง 2 การศึกษาได้มีการทดสอบในฤดูปลูกปกติ คือปลูกในสภาพวันยาว อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทดสอบภายใต้สภาพวันสั้นโดยการใช้เทคนิค RGA ซึ่งพบว่า ค่าเฉลี่ยอายุดอกบานของประชากรชั่วที่ 2 อายุดอกบานของพันธุ์ ULR368 และพันธุ์ กข6 สามารถแยกและจัดกลุ่มความไวต่อช่วงแสงได้อย่างชัดเจน ถึงแม้ว่าจะมีการประเมินในช่วงเดือนมกราคมที่ความยาวช่วงวันยังสั้น และข้าวได้รับแสงสั้นตั้งแต่เริ่มงอก ร่วมกับการใช้เทคนิค RGA ก็ยังสามารถแยกประชากรกลุ่มที่อายุสั้น และกลุ่มที่ไวแสงออกได้ โดยประชากรชั่วที่ 2 ที่อายุดอกบานไม่เกิน 65 วัน จัดเป็นกลุ่มที่ไวต่อช่วงแสง มีจำนวน 191 ต้น ในขณะที่กลุ่มที่มีอายุดอกบานมากกว่า 65 วัน จัดเป็นกลุ่มที่ไม่ไวต่อช่วงแสง และยังสามารถคัดเลือกประชากรชั่วที่ 2 ที่ไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้นใกล้เคียงกับพันธุ์ ULR368 ได้จำนวน 150 ต้น ที่มีอายุดอกบาน 66-70 วัน จะเห็นได้ว่าการใช้เทคนิค RGA ในการศึกษาพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสงในคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสงปานกลางกับพันธุ์ที่ไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้น มีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะการทดสอบนอกฤดูปลูกปกติ จะเห็นความแตกต่างและสามารถจำแนกกลุ่มพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสงและไม่ไวต่อช่วงแสงโดยไม่มีอิทธิพลของปัจจัยรบกวน (confound effect) ได้ดีกว่าการทดสอบในช่วงที่เป็นสภาพวันยาว ซึ่ง Collard et al. (2017) รายงานว่า RGA สามารถใช้ประเมินและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวในลักษณะทางเกษตรที่สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ดี เช่น ลักษณะอายุเก็บเกี่ยวสั้น (earliness)

ซึ่งเมื่อสามารถคัดเลือกกลุ่มพันธุ์ที่ต้องการได้ จะสามารถนำไปเข้าสู่โปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป และช่วยย่นระยะเวลาในการคัดเลือกได้ เช่น การผสมกลับ (backcross) กับข้าวพันธุ์ กข6 เพื่อปรับปรุงพันธุ์ให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้น โดยในขั้นตอนการปลูกเพื่อผสมกลับ สามารถใช้เทคนิค RGA ช่วยในการเร่งอายุให้สามารถเพิ่มรอบการปรับปรุงพันธุ์และลดระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์ในขั้นตอนต่อไปให้เร็วมากขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้เป็นการศึกษาเฉพาะในคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ ULR368 และพันธุ์ กข6 ซึ่งอาจมีการศึกษาในคู่ผสมอื่นๆ ในอนาคตเพื่อเปรียบเทียบกัน เนื่องจากในข้าวแต่ละพันธุ์มีพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะการถ่ายทอดความไวต่อช่วงแสงแตกต่างกัน

Table 3 Number of sensitive to photoperiod and insensitive to photoperiod plants and chi-square test for 3 : 1 and 9 : 7 ratio in F_2 population

F_2 population	No. of F_2 plants			χ^2	
	Photoperiod sensitive	Photoperiod insensitive	Total	3 : 1 ratio	9 : 7 ratio
F_2 (ULR368 x RD6)	191	177	368	104.71**	2.83ns

ns and ** is non-significant and significant at P< 0.01

χ^2 at 3 : 1 = accept 1 gene hypothesis, χ^2 at 9 : 7 = accept 2 genes hypothesis ,P<0.01

สรุป

พันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสงระหว่างคู่ผสมข้าวพันธุ์ ULR368 กับ กข6 พบว่า มียีนเด่น 2 ยีนควบคุมความไวแสง ประชากรชั่วที่ 2 มีสัดส่วน ไวแสง : ไม่ไวแสง เป็น 9 : 7 และยีนเด่น 2 ตำแหน่งทำงานร่วมกันแบบ complementary และมีปฏิกิริยาแบบข่มข้ามคู่ การใช้เทคนิค RGA เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการทดสอบพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความไวต่อช่วงแสงระหว่างคู่ผสมข้าวพันธุ์ ULR368 (ไม่ไวแสง อายุสั้น) และ กข6 (ไวแสงปานกลาง) และสามารถจัดกลุ่ม และคัดเลือกประชากรชั่วที่ 2 ที่มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงและอายุเก็บเกี่ยวสั้นได้ สามารถใช้เป็นเทคนิคร่วมในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อย่นระยะเวลาในการประเมินในฤดูกาลได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากเชื้อพันธุกรรมข้าวพื้นเมือง คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าว และสนับสนุนงบประมาณในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว. 2560ก. ข้าวพันธุ์ กข6. แหล่งข้อมูล: http://www.ricethailand.go.th/Rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=11.htm. ค้นเมื่อ 8 เมษายน 2564.

กรมการข้าว. 2560ข. ชนิดของพันธุ์ข้าว. แหล่งข้อมูล: http://www.ricethailand.go.th/Rkb/varieties/ index.php.htm ค้นเมื่อ 2 ตุลาคม 2564.

ธีรภัทร์ ธรรมไชยางกูร และ ธีรวัฒน์ ศรุตโยภาส. 2555. พันธุกรรมควบคุมลักษณะการตอบสนองต่อช่วงแสงในข้าวพันธุ์ดีเด่นบางพันธุ์ของประเทศไทย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 30: 13-22.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2554. พันธุศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Arit, M.P. 1987. Genetics of basic vegetative phase, photoperiod sensitivity and critical daylength in rice. Ph.D. Thesis. University of the Philippines of Los Baños.

Collard, B.C.Y., J.C. Beredo, B. Lenaerts, R. Mendoza, R. Santelices, V. Lopena, H. Verdeprado, C. Raghavan, G.B. Gregorio, L. Vial, M. Demont, P.S. Biswas, K.M. Iftekharuddaula, M.A. Rahman, J.N. Cobb, and M.R. Islam. 2017. Revisiting rice breeding methods – evaluating the use of rapid generation advance (RGA) for routine rice breeding. Plant Production Science. 20: 337-352.

Chandraratna, M.F. 1995. Genetics of photoperiod sensitivity in rice. Journal of Genetics. 53: 215-223.

Endo-Higashi, N., and T. Izawa. 2011. Flowering time genes *Heading date 1* and *Early heading date 1* together control panicle development in rice. Plant Cell Physiology. 52: 1083-1094.

Gomez, K.A.ม and A.A. Gomez. 1984. Statistical Procedures for Agricultural Research, 2nd edn. New York: John Wiley & Sons.

Hori, K., K Matsubara, and M. Yano. 2016. Genetic control of flowering time in rice: integration of Mendelian genetics and genomics. Theoretical and Applied Genetics. 129: 2241-2252.

Jiang, L., J. Xu, X. Wei, S. Wang, J. Tang, H. Zhai, and J. Wan. 2007. The inheritance of early heading in the rice variety USSR5. Journal of Genetics and Genomics. 34: 46-55.

Kojima, S., Y. Takahashi, Y. Kobayashi, L. Monna, T. Sasaki, T. Araki, and M. Yano. 2002. *Hd3a*, a rice ortholog of the *Arabidopsis FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. Plant Cell Physiol. 43(10): 1096–1105.

Komiya, R., S. Yokoi, and K. Shimamoto. 2009. A gene network for long-day flowering activates *RFT1* encoding a mobile flowering signal in rice. Development. 136: 3443-3450.

Poonyarit, M., D.J. Mackill, and B.S. Vergara. 1989. Genetics of photoperiod sensitivity and critical daylength in rice. Crop Science. 29: 647-652.

Sampath, S., and D.V. Seshu. 1961. Genetics of photoperiod response in rice. Indian Journal of Genetics Plant Breeding. 21: 38-42.

Shahidullah, S.M., M.M. Hanafi, M. Ashrafuzzaman, M.A. Salam, and A. Khair. 2009. Flowering response and crop duration of aromatic rices in diverse environments. Comptes Rendus Biologies. 332: 909-916.

Tsuji, H., K.Taoka, and K. Shimamoto. 2011. Regulation of flowering in rice: two florigen genes, a complex gene network, and natural variation. Current Opinion in Plant Biology. 14: 45–52.

Vergara, B. S., G. Patena, and F. S. S. Lopez. 1982. Rapid Generation of Rice at the International Rice Research Institute. IRRI Research Paper Series No. 84. Los Baños: International Rice Research Institute.

Yano, M., Y. Katayose, M. Ashikari, U. Yamanouchi, L. Monna, T. Fuse, T. Baba, K. Yamamoto, Y. Umehara, Y. Nagamura, and T. Sasaki. 2000. *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene *CONSTANS.* The Plant Cell. 12: 2473–2483.

Yoshida, S. 1981. Fundamentals of Rice Crop Science. IRRI, Los Baños, Philippines, P.O. Box 933, Manila.

Zong, W., D. Ren, M. Huang, K. Sun, J. Feng, J. Zhao, D. Xiao, W. Xie, S. Liu, H. Zhang, R. Qiu, W. Tang, R. Yang, H. Chen, X. Xie, L. Chen, Y. Liu, and J. Guo. 2021. Strong photoperiod sensitivity is controlled by cooperation and competition among *Hd1, Ghd7* and *DTH8* in rice heading. New Phytologist. 229: 1635–1649.