วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

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

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกร่วมกับการทดสอบกลิ่นเพื่อปรับปรุงลักษณะความหอมในข้าวก่ำเจ้าไม่ไวต่อช่วงแสง

Using molecular marker assisted selection and aroma sensory test for Breeding non-glutinous, photoperiod insensitive purple rice for aroma

ธนัชพร วิรัตนชัยวรรณ[1], ต่อนภา ผุสดี[1,2], ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย[1,2] และ ศันสนีย์ จำจด[1,2]*

Thanatchaphon Wirattanachaiwan[1], Tonapha Pusadee[1,2], Chanakan Thebault Prom-u-thai[1,2] and Sansanee Jamjod[1,2]*

[1] *ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200*
[1] *Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand*
[2] *ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200*
[2] *Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand*

บทคัดย่อ: ปัจจุบันผู้บริโภคข้าวเพื่อสุขภาพมีความต้องการในการบริโภคข้าวก่ำเจ้ามากขึ้น เนื่องจากมีประโยชน์ต่อสุขภาพในการลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหลายชนิดที่สำคัญ แต่พบว่า ข้าวก่ำเจ้าที่ปรับปรุงได้ในปัจจุบันยังมีข้อด้อยคือมีลักษณะที่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตและคุณภาพของเมล็ดต่ำ โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกข้าวก่ำเจ้าให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตสูงและมีความหอม โดยศึกษาในประชากรลูกผสมระหว่างสายพันธุ์ก้าวหน้าข้าวก่ำเจ้าต้นเตี้ยไม่ไวต่อช่วงแสง (KDK-10) พันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ต้นเตี้ยไม่ไวแสง และเป็นข้าวเจ้าที่มีกลิ่นหอม ประเมินลักษณะลูกผสมในชั่วที่ 1 และคัดเลือกในชั่วที่ 2 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล และประเมินความหอมโดยวิธีดมกลิ่นในชั่วที่ 3 ผลการทดลองพบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 มีต้นเตี้ยเหมือนพ่อแม่ อายุออกดอก 109 วัน มีจำนวนหน่อต่อต้น จำนวนรวงต่อต้นและน้ำหนัก 1,000 เมล็ด น้อยกว่าพันธุ์พ่อแม่ น้ำหนักเมล็ดต่อต้นของลูกผสมไม่แตกต่างจากพันธุ์แม่ แต่น้อยกว่าพันธุ์พ่อ ลูกผสมชั่วที่ 2 กระจายตัวในลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดในสัดส่วนสีดำต่อสีขาวเท่ากับ 9 ต่อ 7 เลือกวิเคราะห์ดีเอ็นเอเฉพาะต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่วางในตำแหน่งยีนที่ควบคุมความหอม *badh2* คัดเลือกเฉพาะต้นที่มีอัลลีลเป็นชนิดพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 ได้ทั้งหมด 23 ต้น เป็นตัวแทน family ไปปลูกประเมินในชั่วที่ 3 family ละ 5 ต้น คัดเลือกเบื้องต้นโดยแกะดูสีเยื่อหุ้มเมล็ดพบเยื่อหุ้มเมล็ดมีสีดำทุกต้น จำนวน 5 family นำเมล็ดจากทุกต้นของทั้ง 5 family มาประเมินความหอม โดยวิธีการดมโดยอาสาสมัคร เทียบกับพันธุ์แม่ (KDK-10, ไม่หอม คะแนน 0) พันธุ์พ่อ (PTT1, หอมปานกลาง คะแนน 1) และพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105, หอม คะแนน 2) สามารถคัดเลือกต้นที่มีค่าเฉลี่ยความหอมมากกว่า 1 คะแนน ได้ทั้งหมด 11 ต้น มีค่าเฉลี่ยความหอมระหว่าง 1.1-1.8 อายุออกดอก 95-101 วัน ทุกต้นที่คัดเลือกเป็นชนิดต้นเตี้ยเหมือนพ่อแม่ มีผลผลิตระหว่างพันธุ์พ่อแม่ มีเปอร์เซ็นต์อไมโลสระหว่าง 8.7-14.1% ต้นที่คัดเลือกเหล่านี้จะสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวก่ำเจ้าหอมที่ไม่ตอบสนองต่อช่วงแสงและมีผลผลิตสูงได้ในอนาคต

คำสำคัญ: ข้าวก่ำเจ้า; ความหอม; ไม่ไวต่อช่วงแสง; เครื่องหมายโมเลกุล

ABSTRACT: The demand of health-conscious consumers to consume purple rice is increasing due to the benefit to human health by reducing the risk of several serious diseases. However, the available purple rice varieties are mostly photo sensitive with low grain yield and quality. This study aimed to select for non-glutinous purple rice, photoperiod insensitive, high yield and aroma characteristics by evaluation of F_1 and used molecular marker assisted selection

* Corresponding author: sansanee.cm@gmail.com

Received: date; March 18, 2021 Accepted: date; August 27, 2021 Published: date; February 5, 2022

for aroma in F_2 before sensory testing was applied in F_3 generation. The study was carried out in population derived from a cross between advanced line of semi-dwarf, photoperiod insensitive, non-glutinous purple rice (KDK-10) and semi-dwarf, photoperiod insensitive white fragrant Pathum Thani 1 (PTT1) variety. Evaluation of F_1 hybrids found that the hybrid had the same height as parents, flowering at 109 days, number of tillers and panicles per plant and 1000 grain weight less than the parents. Grain yield of the F_1 was the same as KDK-10, but less than PTT1. In F_2 population, pericarp color was segregating into black and white color at 9:7 ratio. Plants with black pericarp were selected and analyzed DNA by using functional marker which located in gene controlling aroma (BADH2). Twenty-three F_2 plants with PTT1 allele type were found and selected and represented F_3 families. The F_3 families were sown, 5 plants per family. At maturity, each plant within family was inspected for pericarp color. Families with all plants having black pericarp were further tested for aroma by sensory testing. Aroma of each plant was tested and compared with female (KDK-10, non-aromatic, score 0) male (PTT1, moderately aromatic, score 1) and standard aroma variety (KDML 105, aromatic, score 2). Eleven plants with average aroma score higher than 1, between 1.1-1.8, were selected. The selected F_3 plants were flowering between 95-101 days. All plants had semi-dwarf type with grain yield between parents with 8.7-14.1% amylose. The selected plants will represent promising lines and use as source of material to develop aroma, photoperiod insensitive purple rice with high yield in the future.
Keywords: aroma; molecular marker; non-glutinous purple rice; photoperiod insensitive.

บทนำ

ข้าวก่ำ (purple rice) หรือข้าวเหนียวดำ (black glutinous rice) มีสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง มีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างจากข้าวทั่วไปคือมีการปรากฏของสีม่วงบนส่วนต่างๆ ของต้น เช่น กาบใบ แผ่นใบ กลีบรองดอก เปลือกเมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ด (ดำเนิน และคณะ, 2554; Hui et al., 2010) ส่วนใหญ่นิยมปลูกมากในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ข้าวเหนียวก่ำพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดเป็นข้าวพันธุ์ปรับปรุง ซึ่งคัดเลือกมาจากประชากรพันธุ์พื้นเมือง ขึ้นทะเบียนพันธุ์โดยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มีปริมาณสารแอนโทไซยานินและ gamma oryzanol สูง เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวก่ำพันธุ์อื่น ๆ (ดำเนิน และศันสนีย์, 2543) ดังนั้น ดำเนิน และคณะ (2554) จึงได้สร้างลูกผสมระหว่างพันธุ์ข้าวเหนียวก่ำพันธุ์ดอยสะเก็ดและพันธุ์ข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 เพื่อคัดเลือกลักษณะข้าวก่ำชนิดข้าวเจ้าที่มีปริมาณ amylose ต่ำ ให้ชื่อพันธุ์คือ ก่ำเจ้า มช.107 และขึ้นทะเบียนขอรับการคุ้มครองพันธุ์เป็นข้าวพันธุ์ใหม่ แต่ข้าวพันธุ์ดังกล่าวยังเป็นพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสง ปลูกได้ปีละครั้ง ต้นสูงและให้ผลผลิตต่ำเมื่อเทียบกับพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ที่ให้ผลผลิตสูง หลังจากนั้นได้มีการสร้างลูกผสมระหว่างพันธุ์ข้าวเหนียวก่ำพันธุ์ดอยสะเก็ดและพันธุ์ข้าวเจ้าปทุมธานี 1 ซึ่งเป็นพันธุ์สมัยใหม่ โดยเริ่มศึกษาและคัดเลือกพันธุ์ในชั่วที่ 2 และ 3 เพื่อให้ได้ลูกผสมที่ไม่ไวต่อช่วงแสงและมีปริมาณแอนโทไซยานินสูง ทั้งชนิดข้าวเหนียวและข้าวเจ้า (ปาริฉัตร และคณะ, 2555; พีรนันท์ และคณะ, 2557) ขณะที่ธรรมนูญ และคณะ (2559) ได้ใช้เมล็ดพันธุ์จากประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 ที่มีสีเยื่อหุ้มม่วงทั้งเมล็ดมาเป็นประชากรตั้งต้น คัดเลือกต่อในชั่วที่ 5-6 และประเมินสายพันธุ์ในชั่วที่ 7 ได้สายพันธุ์ก้าวหน้าชนิดข้าวเจ้าก่ำที่มีลักษณะต้นเตี้ย มีปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูง และไม่ตอบสนองต่อช่วงแสง คัดเลือกเก็บแยกเมล็ดได้สายพันธุ์ก้าวหน้าทั้งหมด 10 สายพันธุ์และคัดเลือกขยายพันธุ์สายพันธุ์ที่ 10 (KDK-10) อย่างไรก็ตาม แม้ว่าสายพันธุ์ก้าวหน้าชนิดข้าวเจ้าก่ำเป็นพันธุ์ที่มีปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูง ไม่ไวต่อช่วงแสง แต่ยังขาดลักษณะทางคุณภาพ เช่น ความหอม ความอ่อนนุ่มและผลผลิตสูง การศึกษานี้จึงได้สร้างลูกผสมระหว่างข้าวสายพันธุ์ก้าวหน้าข้าวเจ้าก่ำกับข้าวหอมพันธุ์สมัยใหม่ปทุมธานี 1 เพื่อสร้างข้าวก่ำสายพันธุ์ใหม่ให้ได้ผลผลิตสูง มีคุณภาพดี และมีกลิ่นหอม

ดังนั้นงานทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2 โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกลักษณะความหอม นำไปประเมินและคัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 3 เปรียบเทียบพันธุ์พ่อแม่ ซึ่งผลการทดลองที่ได้สามารถใช้เป็นฐานพันธุกรรมในการคัดเลือกเพื่อได้พันธุ์ใหม่ และสามารถนำไปใช้ในการวางแผนแนวทางในโครงการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์พืชและการคัดเลือกต่อไป

วิธีการทดลอง

พันธุ์และลูกผสม

สร้างสายพันธุ์ก้าวหน้าโดยผสมพันธุ์ระหว่างข้าวเหนียวก่ำดอยสะเก็ด (KDK) ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ ไวต่อช่วงแสง ต้นสูง ผลผลิตปานกลางเป็นแม่พันธุ์กับข้าวเจ้าขาวพันธุ์ปทุมธานี 1 (PTT1) เป็นข้าวหอม มีต้นเตี้ย ไม่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตสูงเป็นพ่อพันธุ์ คัดเลือก

ลูกผสมแบบสืบตระกูลชั่วที่ 2-7 ระหว่างปี 2555-2557 โดยคัดต้นเดี่ยวที่มีลักษณะต้นเตี้ย ชนิดข้าวเจ้า เยื่อหุ้มเมล็ดสีดำทุกชั่ว และลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงในฤดูนาปรัง (ธรรมนูญ และคณะ, 2559) คัดเลือกได้สายพันธุ์ก้าวหน้าข้าวก่ำเจ้าไม่ไวต่อช่วงแสงแต่ไม่หอม (KDK-10) ขยายพันธุ์และใช้เป็นพันธุ์แม่ในการทดลองครั้งนี้ สายพันธุ์พ่อใช้พันธุ์ปทุมธานี 1 (PTT1) ปลูกลูกผสมชั่วที่ 1 ขยายพันธุ์ในกระถางเพาะปลูกในเรือนทดลองเพื่อผลิตเมล็ดชั่วที่ 2 (**Figure 1**)

การดูแลรักษา

ก่อนปลูกแต่ละพันธุ์นำเมล็ดใส่แก้วพลาสติกแช่น้ำ 2 วัน โดยให้น้ำท่วมเมล็ด หลังจากนั้นนำเมล็ดที่แช่น้ำแล้วห่อด้วยผ้าขาวบางแล้ววางในที่ร่ม ไม่ให้ถูกแสงแดดโดยตรง พอเมล็ดเริ่มงอกประมาณ 3 วัน ย้ายปลูกในกระถางพลาสติกบรรจุดิน สูง 30 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 28 ซม. ปริมาตร 18,463 ซม.^{3} โดยปลูกในสภาพน้ำขัง หลังจากนั้นใส่ปุ๋ย 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 หลังปลูก 30 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 20 กก./ไร่ และครั้งที่ 2 หลังปลูก 60 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 25 กก./ไร่

การประเมินลูกผสมชั่วที่ 1

ปลูกลูกผสมชั่วที่ 1 และพันธุ์พ่อแม่ ในกระถางในโรงเรือนทดลองระหว่างเดือน สิงหาคม-ธันวาคม 2559 ปลูกพันธุ์ละ 3 กระถาง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ปลูกในกระถางพลาสติกบรรจุดิน สูง 14 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 17 ซม. กระถางละ 1 ต้น เมื่อถึงระยะออกดอก บันทึกจำนวนวันออกดอก เมื่อถึงระยะสุกแก่ บันทึกลักษณะทางพืชไร่ของลูกผสมชั่วที่ 1 และพันธุ์พ่อแม่ เช่น ความสูง จำนวนหน่อ จำนวนรวง และผลผลิตต่อต้น และสีเปลือกเมล็ด และสีเยื่อหุ้มเมล็ด

การคัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2

ทดลองในฤดูนาปี ระหว่างเดือนสิงหาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2560 โดยปลูกพันธุ์พ่อแม่ และลูกผสมในแปลงทดลองศูนย์วิจัยสาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ โดยปลูกพันธุ์พ่อ 50 ต้น พันธุ์แม่ 50 ต้น และลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 320 ต้น ใช้ระยะปลูก 25×25 ซม. เมื่อถึงระยะแตกกอเก็บตัวอย่างใบ พับใส่ถุงกระดาษเก็บตัวอย่างใส่ในภาชนะปิดที่มี silica gel เพื่อรักษาสภาพดีเอ็นเอไว้ เมื่อตัวอย่างใบแห้ง นำตัวอย่างใบเก็บไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บเกี่ยวแยกแต่ละต้น สุ่มแกะดูสีเยื่อหุ้มเมล็ด คัดเลือกเฉพาะต้นที่มีสีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำและกลับไปนำตัวอย่างใบของต้นที่คัดเลือกมาวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

การคัดเลือกในระดับโมเลกุลโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

การสกัดดีเอ็นเอ และปฏิกิริยาพีซีอาร์

บดตัวอย่างใบข้าวให้ละเอียดโดยใช้ไนโตรเจนเหลวก่อนสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี CTAB ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Doyle and Doyle (1987) และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (polymerase chain reaction: PCR) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วย ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ที่มีความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 10X buffer ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 25 มิลลิโมลของ $MgCl_2$ ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร, 25 มิลลิโมล ของ dNTP ปริมาตร 0.08 ไมโครลิตร, Forward และ Reverse primer (100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร) อย่างละปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร, 5 ยูนิตต่อไมโครลิตรของ *taq*-DNA polymerase (Thermo scientific) ปริมาตร 0.05 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นบริสุทธิ์ (ddH_2O) ปริมาตร 8.0 ไมโครลิตร ใช้ไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับยีน (functional marker) ความหอมที่มีการขาดหายไปบริเวณเอกซอน 7 ที่สามารถระบุได้ว่ายีนมีการขาดหายไป 8 นิวคลีโอไทด์ซึ่งทำให้เกิดลักษณะความหอม (FM*Badh2*-E7; Forward primer: GGTTGCATTTACTGG; Reverse primer: CAGTGAAACAGGCTG) (Shi et al.,2008, Jin et al., 2010; Shao et al., 2011, กมลวรรณ และคณะ, 2556) โดยเริ่มปฏิกิริยาพีซีอาร์ในขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 2 นาที ตามด้วย 40 รอบของ 94 องศาเซลเซียส 45 วินาที, 53 องศาเซลเซียส 45 วินาที และ 72 องศาเซลเซียส 1 นาที และขั้นตอน final extension ที่ 72 องศาเซลเซียส 5 นาที ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วยการแยกขนาดของแถบดีเอ็นเอ (band) โดยอาศัยเทคนิค 3% agarose gel electrophoresis จากนั้นตรวจสอบขนาดของแถบดีเอ็นเอจากการย้อมสี MaestroSafe^{TM} Nucleic Acid Stains (MAESTROGEN, Taiwan) ภายใต้เครื่อง BLooK LED transilluminator (GeneDireX) โดยดูลักษณะของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (Ladder)

แบ่งชนิดของการเกิดแถบดีเอ็นเอเป็น 3 ชนิด ได้แก่ P_1 คือ ลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนพันธุ์แม่ (*Badh2/Badh2*), P_2 คือ ลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนพันธุ์พ่อ (*badh2/badh2)* และ H คือลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterozygote (*Badh2/badh2*)

คัดเลือกเฉพาะต้นที่มีชนิดของการเกิดแถบดีเอ็นเอชนิด P_2 จำนวน 23 ต้น จากนั้นกลับไปเอาเมล็ดของต้นที่คัดเลือกใช้เป็นตัวแทนเพื่อปลูกในชั่วที่ 3 โดยเมล็ดของแต่ละต้นเป็นตัวแทนของแต่ละ family

การประเมินลูกผสมชั่วที่ 3

ทดลองในฤดูนาปี ระหว่างเดือนสิงหาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2561 โดยปลูกพันธุ์พ่อแม่ และลูกผสม ในแปลงทดลองศูนย์วิจัยสาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ ปลูกในกระถางพลาสติกบรรจุดิน เส้นผ่าศูนย์กลาง 30 ซม. ปริมาตร 18,463 ซม.^{3} โดยปลูกพ่อแม่ พันธุ์ละ 5 ต้น/กระถาง และลูกผสม family ละ 5 ต้น/กระถาง เมื่อถึงระยะออกดอก บันทึกจำนวนวันออกดอก เมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บเกี่ยวแยกแต่ละต้นบันทึกลักษณะ ความสูง จำนวนหน่อ จำนวนรวง ผลผลิตต่อต้น และสีเยื่อหุ้มเมล็ด คัดเลือก family ที่ทุกต้นมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ แต่ละต้นภายใน family ที่คัดเลือก วิเคราะห์หาปริมาณอมิโลส และทดสอบความหอมโดยวิธีการดังต่อไปนี้

ทดสอบความหอมด้วยวิธีการดม (Sensory test)

ประเมินความหอมขั้นต้นด้วยวิธีการดมกลิ่นโดยอาสาสมัคร ซึ่งอาสาสมัครได้ผ่านการฝึกประสาทสัมผัสการดมกลิ่นมาแล้วว่ามีประสาทสัมผัสที่สามารถจำแนกความแตกต่างกลิ่นหอมของข้าวได้ ก่อนคัดเลือกอาสาสมัครมาทดสอบกลิ่นใน การทดสอบครั้งนี้ (trained-panelists) โดยนำเมล็ดข้าวที่แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก จำนวน 1 ก. ใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มล. เติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 1.7% ปริมาณ 10 มล. ปิดหลอดทดลอง และแช่เมล็ดทิ้งไว้นาน 10 นาที (ดัดแปลงจากวิธีของ งามชื่น, 2545) จากนั้นนำมาทดสอบกลิ่น (aroma sensory test) โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 10 คน ดมกลิ่นหอมของข้าวทีละตัวอย่าง โดยทิ้งช่วงห่าง 10 วินาที บันทึกข้อมูลที่ได้จากผู้ทดสอบ โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนความหอม (aroma score) โดยเทียบกับพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานขาวดอกมะลิ 105 ดังนี้ คะแนน 2 มีกลิ่นหอมขึ้นจมูกหรือมีกลิ่นหอมคล้ายกลิ่นใบเตยเท่ากับพันธ์ขาวดอกมะลิ คะแนน 1 มีความหอมน้อยกว่าระดับคะแนน 2 เท่ากับพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 และคะแนน 0 ไม่มีกลิ่นหอม

การวิเคราะห์หาปริมาณอมิโลส

นำเมล็ดข้าวแต่ละตัวอย่างมาบดด้วยเครื่องบดให้เป็นแป้ง ชั่งแป้ง 0.1 ก. ใส่ในขวดแก้วปริมาตรขนาดความจุ 100 มล. เติมเอทิลแอลกอออล์ 95% ปริมาตร 1 มล. เขย่าเบาๆ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร 9 มล. แล้วนำไปปั่นกวนตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นกวนระบบแม่เหล็ก นาน 10 นาที ให้เป็นน้ำแป้งปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล. เตรียมขวดแก้วปริมาตรขนาดความจุ 100 มล. ชุดใหม่ เติมน้ำกลั่นประมาณ 70 มล. สารละลายกรดเกลเชียลอะซิติกปริมาตร 2 มล. และสารละลายไอโอดีนปริมาตร 2 มล. ดูดน้ำแป้ง ปริมาตร 5 มล. ใส่ในขวดแก้วปริมาตรที่เตรียมไว้ ปรับปริมาตร ด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล. แล้วตั้งทิ้งไว้ 10 นาที วัดความเข้มของสีของสารละลายด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยอ่านค่าเป็น absorbance ที่ความยาวคลื่นแสง 620 นาโนเมตร (nm) โดยจัดกลุ่มค่าอไมโลสต่ำ 10-19% ข้าวหุงสุกเหนียวนิ่ม อไมโลสปานกลาง 20-25% ข้าวหุงสุกค่อนข้างร่วนไม่แข็ง อไมโลสสูง 26-34% ข้าวหุงสุกร่วนแข็ง (Juliano, 1991)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างลักษณะของลูกผสมชั่วที่ 1 และพันธุ์พ่อแม่โดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทดสอบการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดในลูกผสมชั่วที่ 2 โดยใช้ chi-square test (χ^2 test) โดยทดสอบค่าสังเกตกับค่าคาดหมายของการกระจายตัวที่ 1 ยีน ที่สัดส่วน 3 ดำ: 1 ขาว หรือ 2 ยีน ที่สัดส่วน 15 ดำ: 1 ขาว ในกรณีที่ยีนแสดงออกแบบข่ม (dominant) หรือ 2 ยีน ที่สัดส่วน 9 ดำ: 7 ขาว ในกรณีที่ยีนแสดงออกแบบข่มข้ามคู่ (epistasis)

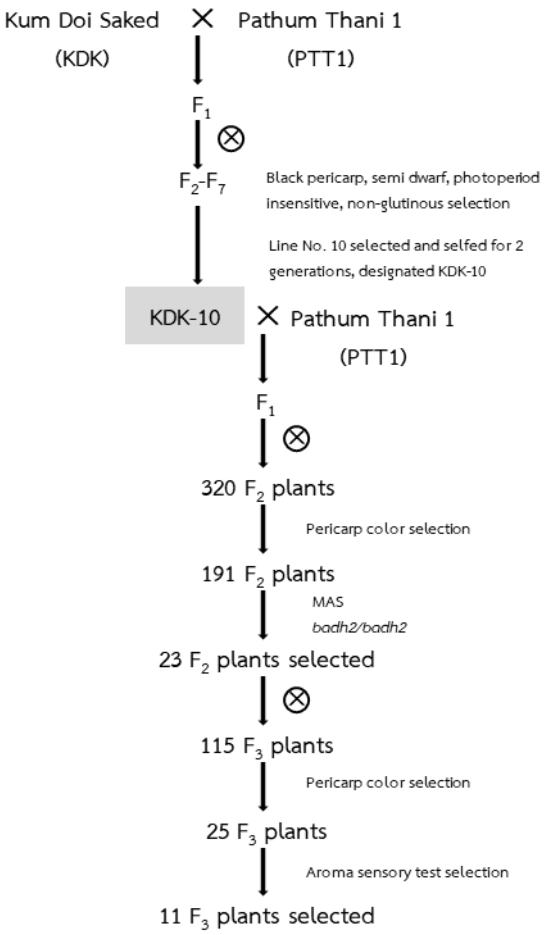

Figure 1 Source of advanced line KDK-10 and selection scheme in F_2 and F_3 generations between KDK-10 x PTT1 in this study

ผลการศึกษา

ลักษณะทางพืชไร่ของลูกผสมชั่วที่ 1

ไม่พบความแตกต่างระหว่างพ่อแม่และลูกผสม ในลักษณะความสูงต้น จำนวนระแง้ต่อรวง จำนวนช่อดอกต่อรวง และเปอร์เซ็นต์เมล็ดดี ส่วนลักษณะที่เหลือ พบว่า มีความแตกต่างระหว่างพันธุกรรม โดยพบว่า พันธุ์พ่อปทุมธานี 1 (PTT1) ออกดอกช้ากว่าสายพันธุ์แม่ (KDK-10) มีความยาวรวงและผลผลิตสูงกว่า แต่น้ำหนัก 1,000 เมล็ด น้อยกว่าพันธุ์แม่ ส่วนจำนวนหน่อต่อต้น และจำนวนรวงต่อต้น ไม่พบความแตกต่างระหว่างพ่อแม่ เมื่อเปรียบเทียบลูกผสมระหว่างพ่อแม่ พบว่า ลูกผสมมีอายุออกดอก 109 วัน ความยาวรวง 25 ซม. และผลผลิต 22 ก./ต้น ซึ่งทั้ง 3 ลักษณะไม่แตกต่างจากพันธุ์แม่ แต่จำนวนหน่อต่อต้น จำนวนรวงต่อต้น และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด น้อยกว่าพันธุ์พ่อแม่ (**Table 1**)

การคัดเลือกในลูกผสมชั่วที่ 2 จากสีเยื่อหุ้มเมล็ดและเครื่องหมายโมเลกุล

พันธุ์แม่ KDK-10 มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ พันธุ์พ่อ PTT1 มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว ลูกผสมชั่วที่ 2 พบว่า กระจายตัวให้ต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำทั้งหมด 191 ต้น และเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว 129 ต้น สัดส่วนการกระจายตัวแตกต่างจากค่าคาดหมายของความแตกต่างระหว่างพ่อแม่ที่ 1 ยีนหรือ 2 ยีนที่การแสดงออกของยีนแบบข่ม (3 ดำ: 1 ขาว และ 15 ดำ: 1 ขาว) แต่ไม่แตกต่างจากค่าคาดหมายของการกระจายตัวที่ 2 ยีนแสดงออกแบบข่มข้ามคู่ที่ 9 ดำ: 7 ขาว (**Table 2**) คัดเลือกเฉพาะต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ 191 ต้น และกลับไปนำตัวอย่างใบที่เก็บไว้มาวิเคราะห์ดีเอ็นเอโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่วางบนตำแหน่งความหอม *badh2* พบว่า เป็นชนิด allele เหมือนพันธุ์แม่ KDK-10 ชนิด P_1 มีทั้งหมด 50 ต้น คิดเป็น 26% เหมือนพันธุ์พ่อ PTT1 ชนิด P_2 มีทั้งหมด 23 ต้น คิดเป็น 12% และเป็นชนิด

H ทั้งหมด 118 ต้น คิดเป็น 62% (**Table 3**) แสดงว่าในประชากรนี้ กลุ่มที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำที่คัดเลือกมาวิเคราะห์ดีเอ็นเอมีการกระจายตัวของ *badh2* ให้ allele ชนิด H มากกว่าและชนิด P_2 น้อยกว่าการกระจายตัวแบบอิสระของ P_1:H:P_2 ที่ 1:2:1 หรือ 25%:50%:25% คัดเลือกต้นที่มี allele P_2 ทั้งหมด 23 ต้น ปลูกประเมินในชั่วที่ 3

การประเมินสีเยื่อหุ้มเมล็ดและความหอมในชั่วที่ 3

สีเยื่อหุ้มเมล็ด

จาก 23 family พบ family ที่ทุกต้นภายในมีเยื่อหุ้มเมล็ดทุกต้นสีดำหมดทั้ง 5 ต้น จำนวน 5 family ได้แก่ 25, 60, 62, 167 และ 184 ส่วนที่เหลือ พบว่า ภายใน family มีทั้งต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำและสีขาวปนกันภายในต้น และต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว จำนวน 18 family แสดงว่ายังมีการกระจายตัวทางพันธุกรรมของสีเยื่อหุ้มเมล็ดอยู่ (**Table 4**) คัดเลือกเฉพาะ family ที่เป็นชนิดสีดำทั้งหมดไปประเมินความหอมแยกแต่ละต้น

การประเมินความหอม

เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อที่มีความหอมปานกลาง (คะแนน 1) และพันธุ์ข้าวหอมมาตรฐานขาวดอกมะลิ 105 (คะแนน 2) พบความแตกต่างทั้งระหว่างและภายใน family ในค่าเฉลี่ยของคะแนนความหอม แสดงว่ามีความแตกต่างในการสร้างสารหอม พบตั้งแต่ไม่หอมเลยเกือบทุกต้นภายใน family no. 60 (คะแนน 0-0.5) จนถึงหอมทุกต้นใน family no. 25 (คะแนน 1.2-1.8) ที่เหลือพบต้นที่มีค่าเฉลี่ยคะแนนความหอมมากกว่า 1 ขึ้นไปภายใน family ที่ 167 และ 184 (**Table 5**) คัดเลือกต้นเดี่ยวที่มีค่าเฉลี่ยความหอมมากกว่า 1 ได้ทั้งหมด 11 ต้น (**Table 6**) มีค่าเฉลี่ยความหอมระหว่าง 1.1-1.8 อายุออกดอก 95-101 วัน ความสูงต้น 53-66 ซม. มีผลผลิตระหว่าง 4.5-11.8 ก.ต่อต้น และมีเปอร์เซ็นต์อมิโลสระหว่าง 8.7-14.1%

Table 1 Agronomic traits of F_1 hybrid compared with the female (P_1, KDK-10) and male (P_2, PTT1) parents

Traits	Genotype			F-test
	P_1 (KDK-10)	P_2 (PTT1)	F_1	
Days to flowering	108 b[1]	118 a	109 b	***
Plant height (cm)	62	63	63	ns
Tillers per plant	21 a	21 a	16 b	*
Panicles per plant	21 a	19 a	14 b	*
Panicle length (cm)	26 b	28 a	25 b	*
Branches per panicle	9	9	8	ns
Spikelets per panicle	123	120	124	ns
1000 grain weight (g)	25 a	23 b	21 c	*
Filled grain (%)	82	84	69	ns
Grain yield per plant (g)	24 b	31 a	22 b	*

Mean values followed by the same lowercase letters within each character are not significantly different at P<0.05 by LSD

Table 2 Segregation of pericarp colors in the F_2 population from a cross between KDK-10 and PTT1

Genotypes	Pericarp color		Total	χ^2	P (df=1)
	Black	White			
P_1 (KDK-10)	50		50		
P_2 (PTT1)		50	50		
F_2	191	129	320	-	-
Expected ratios					
Single gene (dominant) 3:1	240	80	320	40.1	***
Two genes (dominant) 15:1	300	20	320	633.6	***
Two genes (epistasis) 9:7	180	140	320	1.5	ns

*** indicates the difference between the observed data and expected ratio at P<0.001, while ns is not different

Table 3 Segregation of *badh2* alleles of the 191 selected F_2 plants with black pericarp from a cross between KDK-10 and PTT1

Genotypes	Number of individuals			
	P_1	H	P_2	Total
P_1 (KDK-10)	10			10
P_2 (PTT1)			10	10
F_2	50	118	23	191
%	26	62	12	100

P1 = *Badh2/Badh2* non-fragrant KDK-10 type, P2 =*badh2/badh2* fragrant PTT1 type and H = heterozygote (*Badh2/badh2*)

Table 4 Pericarp color within family of 23 selected F_3 families, 5 plants/family

Parents/F3	Number of family			
	Black	Segregating	White	Total
P_1 (KDK-10)	5[#]			5
P_2 (PTT1)			5	5
F_3	5	18		23

[#] All plant with black pericarp, family no. 25, 60, 62, 167 and 184

Table 5 Aroma score of sensory test by 10 panelists of 5 selected F_3 families, 5 plants per family compared with parents, and standard check KDML 105

Family	Plant	Panelist										Plant mean	Family mean
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
25	1	2	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1.5	
	2	2	0	1	2	2	2	1	2	1	1	1.4	
	3	2	0	1	2	2	2	1	2	1	1	1.4	
	4	2	1	1	1	2	1	1	2	1	0	1.2	
	5	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	1.8	1.5
60	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0.5	
	4	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0.7	
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2
62	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0.6	
	2	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0.4	
	3	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0.4	
	4	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0.3	
	5	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0.3	0.4
167	1	2	1	2	2	1	1	2	1	1	1	1.4	
	2	2	2	2	2	2	1	2	2	1	2	1.8	
	3	0	1	1	0	1	0	1	2	2	1	0.9	
	4	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.9	
	5	2	2	2	1	1	0	1	1	0	1	1.1	1.2
184	1	1	1	2	1	1	0	2	1	1	2	1.2	
	2	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1.2	
	3	2	1	2	1	2	0	0	1	0	0	0.9	
	4	0	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1.1	
	5	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0.3	0.7
P1 (KDK-10)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
P2 (PTT1)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
KDML105	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	

Aroma score: non aromatic = 0, moderately aromatic as PTT1 = 1 and aromatic as KDML 105 = 2

Table 6 Agronomic traits and amylose percentage of parents and 11 selected F_3 plants with black pericarp and aroma score>1

Parent/Selection	F_3 family	Plant	Aroma score	Days to flowering (days)	Culm height (cm)	Panicles/ plant	Panicle length (cm)	Spikelets/ panicle	Filled grain (%)	Grain yield (g/plant)	Amylose (%)
Parents	P_1 (KDK-10)		0	99.2 (2.7)[a]	62.4 (5.2)	3.8 (1.0)	25.3 (4.0)	95.5 (11.1)	76.0 (11.3)	6.0 (1.3)	13.3 (0.4)
	P_2 (PTT1)		1	114.8 (2.2)	68.2 (2.2)	7.6 (1.8)	26.9 (1.2)	112.1 (7.3)	99.2 (5.4)	13.6 (1.1)	12.9 (0.3)
Selection											
1	25	5	1.8	95	57	7	24	96	77	7.2	9.5
2	167	2	1.8	101	61	5	24	82	64	6.5	9.8
3	25	1	1.5	95	53	6	21	97	71	4.6	8.9
4	25	3	1.4	97	61	5	27	96	75	7.6	11.2
5	167	1	1.4	102	62	4	23	89	86	5.6	10.6
6	25	2	1.4	97	62	5	24	104	87	6.3	8.7
7	184	2	1.2	100	56	4	25	123	87	9.8	11.2
8	25	4	1.2	100	66	6	29	113	81	8.3	13.0
9	184	1	1.2	99	54	3	26	119	86	7.5	14.1
10	184	4	1.1	99	62	6	26	92	75	11.8	10.3
11	167	5	1.1	101	60	3	24	92	70	4.5	11.5
	Mean		1.4	98.5	59.5	5.3	24.9	100	79.3	8.0	11.2
	S.D.		0.2	2.4	4.2	1.7	2.0	12.3	7.8	2.9	1.7

[a] Mean and standard deviation from 5 plants

วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้เป็นการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวก่ำเจ้าสายพันธุ์ก้าวหน้าไม่ไวต่อช่วงแสง (KDK-10) ซึ่งเป็นข้าวก่ำเจ้าไม่ไวแสง นุ่ม สีดำ แต่ไม่หอม ผลผลิตปานกลาง (ธรรมนูญ และคณะ, 2559) ผสมกลับไปหาพันธุ์ปทุมธานี 1 (PTT1) ซึ่งมีผลผลิตสูงกว่า หอม แต่เมล็ดขาว ไม่มีแอนโทไซยานิน เพื่อต้องการให้ได้ข้าวก่ำสีดำไม่ไวต่อช่วงแสงมีลักษณะความหอมเพิ่มมา และสามารถคัดเลือกลักษณะ โดยใช้วิธีการคัดเลือกด้วยตาเปล่าในลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อลักษณะความหอมในชั่วที่ 2 ตามด้วยการคัดสีเยื่อหุ้มเมล็ดด้วยตาเปล่าแล้วคัดเลือกลักษณะความหอมโดยใช้การดมกลิ่นในชั่วที่ 3 สามารถคัดเลือกต้นที่เยื่อหุ้มเมล็ดสีดำมีกลิ่นหอมจำนวน 11 ต้น

ลูกผสมชั่วที่ 2 พบการกระจายตัวของลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดในสัดส่วนสีดำต่อสีขาว อัตรา 9:7 เช่นเดียวกัน พิทวัส และคณะ (2560) ศึกษาสีเยื่อหุ้มเมล็ดในลูกผสมระหว่างข้าวก่ำพันธุ์ปิอิซู 037 กับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และพบว่า สีเยื่อหุ้มเมล็ดถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่ แสดงออกแบบ epistasis ในสัดส่วนสีดำ:น้ำตาลและขาว เท่ากับ 9 ต่อ 7 สอดคล้องกับรายงานว่าเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำในข้าวถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อย 2 ตัวคือ Pb และ Pp หรือ activator (A) และ chromagen (C) ยีน แสดงออกแบบ complementary epistasis (Wang et al. 2009, Maeda al. 2014) แสดงถึงการควบคุมของยีนแบบ epistasis 2 คู่ จากงานทดลองนี้ ปลูกลูกผสมจำนวน 320 ต้น กระจายตัวในสัดส่วนข้างต้นทำให้สามารถคัดกรองต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำได้ 191 ต้น ซึ่งขนาดประชากรใหญ่เพียงพอที่จะคัดเลือกในขั้นต่อไป แต่เมื่อใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกลักษณะความหอม พบต้นที่มีพันธุกรรมลักษณะคงตัวของความหอม (*badh2/badh2*) และมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำรวมทั้ง 2 ลักษณะได้เพียง 23 ต้น คิดเป็นสัดส่วน 12% ของ 191 ต้น หรือ 7.5% ของประชากร F_2 ทั้งหมด 320 ต้น เช่นเดียวกัน จันทร์จิรา และคณะ (2557) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกลักษณะในข้าว 2 ลักษณะ คือความหอมและปริมาณอมิโลสต่ำในประชากรชั่วที่ 2 จำนวน 600 ต้น จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ปทุมธานี 1 (PTT1) กับพันธุ์ CH4 คัดเลือกแบบทีละลักษณะ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro คัดเลือกต้นที่มีพันธุกรรมแบบคงตัวในลักษณะความหอมได้จำนวน 151 ต้น จากนั้นนำไปคัดเลือกปริมาณอมิโลสต่ำเช่นเดียวกับพันธุ์ปทุมธานี 1 ได้ต้นที่มีพันธุกรรมที่ต้องการทั้ง 2 แบบทั้งหมด 32 ต้น คิดเป็นสัดส่วน 5.3% จากผลการทดลองหากต้องการต้นเพื่อเข้าสู่การคัดเลือกในชั่วต่อไปเพื่อลักษณะอื่น ๆ มากกว่านี้จึงควรเพิ่มขนาดประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ให้มากกว่านี้

จากการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำที่มีอัลลีลชนิดพันธุ์พ่อ *badh2/badh2* ทั้ง 23 ต้นเมื่อคัดเลือกนำมาปลูกในรุ่น F_3 พบ family ที่ทุกต้นภายในมีเยื่อหุ้มเมล็ดทุกต้นสีดำหมดทั้ง 5 ต้น จำนวน 5 family ส่วนที่เหลือพบทั้งต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดทั้งสีดำและสีขาว และต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวภายใน family เดียวกัน จำนวน 18 family ถึงแม้จะคัดเลือกมาจากต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำแต่กระจายให้ลูกที่มีทั้งสีดำและสีขาวแสดงว่าพันธุกรรมยังเป็นชนิด heterozygote เพราะยังมีการกระจายตัวของลูกอยู่ จากผลทดสอบการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดพบว่า สอดคล้องกับการถูกควบคุมด้วย 2 ยีน จึงคาดว่าในชั่ว F_2 จะพบต้นเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำชนิด homozygous genotype ในสัดส่วน 1 ต่อ 16 หรือ 20 ต้นจากทั้งหมด 320 ต้น และคาดว่าเป็นชนิด *badh2/badh2* ในสัดส่วน 1 ต่อ 4 หรือ 5 ต้นจาก 20 ต้น จากการทดลองนี้จากทั้งหมด 23 family พบ 5 family มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำทุกต้นจึงคาดว่าพันธุกรรมเป็นชนิด homozygous genotype และสามารถคัดเลือกเมล็ดสีดำได้ในชั่วต้น ๆ จึงคัดเลือกทุกต้นภายใน family ทั้ง 5 family มาประเมินความหอมโดยมีผู้ประเมินทั้ง 10 คน คัดเลือกต้นที่มีความหอมตั้งแต่ระดับ 1 ขึ้นไปจำนวน 11 ต้น สำหรับประเมินและคัดเลือกต่อในรุ่นลูก ขณะที่พันธุ์พ่อปทุมธานี 1 มีคะแนนความหอมเท่ากับ 1 (Table 6) พบ 3 ต้นมีค่าเฉลี่ยคะแนนความหอมมากกว่าค่าเฉลี่ยประชากร โดย family ที่ 25-5 กับ 167-2 มีค่าเฉลี่ยระดับความหอมสูงที่สุด คือ 1.8 มีผลผลิตเท่ากับ 7.2 และ 6.5 ก.ต่อต้น อยู่ในระดับใกล้เคียงพันธุ์แม่หรือมากกว่า การที่มีค่าความหอมสูงกว่าพ่อแม่ อาจเกิดจากความแปรปรวนของสภาพแวดล้อมหรือความคลาดเคลื่อนในการทดลอง จึงควรมีการปลูกยืนยันในชั่วต่อไป นอกจากนั้นพบ 4 ต้น ที่มีคะแนนความหอมใกล้เคียงกับพันธุ์พ่อและมีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์แม่ ได้แก่ family 184-2 25-4 184-1 และ 184.4 มีผลผลิตระหว่าง 7.5-11.8 ก.ต่อต้น จึงสามารถเป็นตัวแทนสำหรับใช้คัดเลือกในชั่วหลังได้ ในลักษณะปริมาณอมิโลส ต้นที่คัดเลือกเหล่านี้ค่าใกล้เคียงพ่อแม่ (11-14%) จึงมีต้นที่มีคุณภาพหุงต้มดี เมล็ดหุงสุกอ่อนนุ่มสำหรับคัดเลือกในชั่วต่อไปหรือใช้เป็นฐานพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มเติมลักษณะอื่น

สรุปผลการทดลอง

งานทดลองนี้ได้ปลูกและคัดเลือกลูกผสมระหว่างข้าวก่ำเจ้าไม่ไวต่อช่วงแสงและพันธุ์ปทุมธานี 1 คัดเลือกข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำทั้งหมดโดยใช้การประเมินด้วยสายตา และการมีลักษณะความหอมที่ประเมินโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกในชั่วที่ 2 ปลูกคัดเลือกชั่วที่ 3 และประเมินความหอมโดยการดมกลิ่น ทำให้สามารถคัดเลือกตัวแทนสายพันธุ์ข้าวก่ำเจ้า ไม่ไวแสงและมีกลิ่นหอมได้ทั้งหมด 11 สายพันธุ์ สายพันธุ์เหล่านี้จะใช้ในการคัดเลือกในชั่วถัดไปโดยวิธีการ pedigree selection ต่อไป รวมทั้งเป็นแหล่งพันธุกรรมในการพัฒนาพันธุ์ข้าวก่ำเจ้าหอมที่ไม่ตอบสนองต่อช่วงแสงและมีผลผลิตสูงได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

กมลวรรณ เรียบร้อย, ศรีสวัสดิ์ ขันทอง, ธีรยุทธ ตู้ จินดา, และสุรีพร เกตุงาม. 2556. ยีนความหอมและลักษณะพื้นฐานทางอณูพันธุศาสตร์ของข้าวหอม. วารสารสมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย. 6: 93-114.

งามชื่น คงเสรี. 2545. คุณภาพข้าวและการตรวจสอบข้าวปนในข้าวหอมมะลิ. เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรมกระทรวงอุตสาหกรรม.

จันทร์จิรา โรหิตเสถียร, ธานี ศรีวงศ์ชัย, ประภา ศรีพิจิตต์ และรังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2557. การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกลักษณะความหอมและปริมาณอมิโลสต่ำในการปรับปรุงพันธ์ข้าวแบบบันทึกประวัติ. น. 869-875. ใน:โครงการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาครั้งที่ 15. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ดำเนิน กาละดี และศันสนีย์ จำจด. 2543. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องพันธุศาสตร์การปรับปรุงพันธุ์และโภชนศาสตร์เกษตรของข้าวเหนียวดำ. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ดำเนิน กาละดี, ศันสนีย์ จำจด และประเทือง โชคประเสริฐ. 2554. การใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพข้าวก่ำ เพื่อสร้างนวัตกรรมเอกลักษณ์ข้าวก่ำไทย: แผนงานวิจัย (Utilization of Purple Glutinous Rice Biodiversity in Creating Unique Innovation of Thai Purple Rice). สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

ธรรมนูญ หัทยานันท์, ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย และศันสนีย์ จำจด. 2559. การคัดเลือกสายพันธุ์ก้าวหน้าพันธุ์ข้าวเจ้าก่ำไม่ไวต่อช่วงแสงและมีปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูง. วารสารเกษตร. 33(1): 81-90.

ปาริฉัตร รัตนผล. 2555. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงผลผลิตสูงและเมล็ดมีคุณภาพดีโดยวิธีบันทึกประวัติร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชไร่) สาขาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิทวัส สมบูรณ์, ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย, ต่อนภา ผุสดี และ ศันสนีย์ จำจด. 2560. การกระจายตัวทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวเหนียวดำจากที่สูงและข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ปลูกที่ลุ่มและที่สูง. วารสารเกษตร. 33(3): 323-332.

พีรนันท์ มาปัน. 2557. การควบคุมทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวเหนียวก่ำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

Doyle, J. J., and J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Focus. 12: 13-15.

Hui, C., Y. Bin, Y. Xiaoping, Y. Long, C. Chunye, M. Mantian, and L. Wenhua. 2010. Anticancer activities of an anthocyanin-rich extract from black rice against breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. Nutrition and cancer. 62(8): 1128-1136.

Jin, L., Y. Lu, Y. Shao, G. Zhang, P. Xiao, S. Shen, H. Corke, and J. Bao. 2010. Molecular marker assisted selection for improvement of the eating, cooking, and sensory quality of rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Cereal science. 51(1): 159-164.

Juliano, B., and B. Duff. 1991. Rice Grain Quality as an Emerging Priority in National Rice Breeding Programs. Rice Grain Marketing and Quality Issues, Los Banos, Laguna, IRRI.

Maeda, H., T. Yamaguchi, M. Omoteno, T. Takarada, K. Fujita, K. Murata, Y. Iyama, Y. Kojima, Morikawa M, H. Ozaki, N. Mukaino, Y. Kidani, and T. Ebitani. 2014. Genetic dissection of black grain rice by the development of a near isogenic line. Breeding Science. 64: 134–141.

Shao, G. N., A. Tang., S. Q. Tang, J. Luo, G.A. Jiao, J. L. Wu, and P. S. Hu. 2011. A new deletion mutation of fragrant gene and the development of three molecular markers for fragrance in rice. Plant Breeding. 130(2): 172-176.

Shi, W., Y. Yang, S. Chen, and M. Xu. 2008. Discovery of a new fragrance allele and the development of functional markers for the breeding of fragrant rice varieties. Molecular Breeding. 22(2): 185-192.

Wang X., Z. Ji, J. Cai, L. Ma, X. Li, and C. Yang. 2009. Construction of near isogenic lines for pericarp color and evaluation on their near isogenicity in rice. Rice Science. 16: 261-266.