ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์)

ปริญญา

พันธุศาสตร์	พันธุศาสตร์
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง การปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยวิธีผสมกลับ

Breeding of Rice KDML 105 for Bacterial Blight Resistance by Backcross Method

นามผู้วิจัย นายพีระพงษ์ เคหัง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(ศาสตราจารย์ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, Dr.Agr.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์เลิศลักษณ์ เงินศิริ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่..... **เดือน**..... **พ.ศ.**.....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยวิธีผสมกลับ

Breeding of Rice KDML 105 for Bacterial Blight Resistance by Backcross Method

โดย

นายพีระพงษ์ เคหัง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์)
พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พีระพงษ์ เคหัง 2553: การปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยวิธีผสมกลับ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุศาสตร์) สาขาวิชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ศาสตราจารย์ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, วท.ม. 66 หน้า

ตรวจสอบการคงอยู่ของยีน *xa5* ของลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่ได้จากการผสมข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์ IRBB5 ซึ่งมียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง *xa5* และนำลูกผสมรุ่นที่ 1 ผสมกลับไปยัง ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และผสมตัวเองต่อมาจนได้ลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ RG556 พบว่าปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 1,600 คู่เบส ในทุกสายพันธุ์ และ เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpy* CH4 IV พบแถบดีเอ็นเอ ขนาด 1,000 และ 300 คู่เบส เช่นเดียว กับในพันธุ์ IRBB5 ซึ่งต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในลูกผสมกลับทั้ง 14 สายพันธุ์ โดยลูกผสมกลับทั้งหมดมีจีโนไทป์ของยีน *xa5* อยู่ในสภาพโฮโมไซกัส เมื่อทดสอบความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งด้วยวิธีการปลูกเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สายพันธุ์ 0701 ให้กับใบอ่อนของต้นกล้าอายุ 45 วัน พบว่าลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์มีความต้านทานต่อเชื้อดังกล่าวในระดับต้านทาน (R) ภายหลังตรวจสอบองค์ประกอบทางพันธุกรรมระหว่างลูกผสมกลับ BC_1F_5 แต่ละสายพันธุ์กับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้เทคนิค AFLP พบว่าลูกผสมกลับสายพันธุ์ B1, B3, B5, B6, B13 และ B14 มีพันธุกรรมใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มากที่สุด คือ 99.06% จากผลการตรวจสอบองค์ประกอบผลผลิต คุณภาพเมล็ดทางกายภาพและคุณภาพเมล็ดทางเคมี สามารถคัดเลือก ลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ที่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดี มีผลผลิตต่อไร่เทียบเท่าหรือมีแนวโน้มที่สูงกว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (449.03 กิโลกรัมต่อไร่) คือ สายพันธุ์ B7, B8 และ B11 ซึ่งทั้ง 3 สายพันธุ์มีผลผลิต 493.3, 526.49 และ 447.83 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ และมีลักษณะประจำพันธุ์คล้ายคลึงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยที่ทั้ง 3 สายพันธุ์มีพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เท่ากับ 96.7, 96.7 และ 97.64% และมียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง *xa5* ซึ่งจะนำทั้ง 3 สายพันธุ์ไปทดสอบเปรียบเทียบพันธุ์ต่อไป

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Perapong Kehung 2010: Breeding of Rice KDML 105 for Bacterial Blight Resistance by Backcross Method. Master of Science (Genetics), Major Field: Genetics, Department of Genetics. Thesis Advisor: Professor Pradit Pongtongkam, M.S. 66 pages.

Identification of *xa5* gene was done using RG556 marker in 14 hybrid rice (BC_1F_5) lines derived from the cross between KDML 105 rice and IRBB5 (a bacterial blight resistant variety carrying *xa5* gene), backcrossed to KDML 105 followed by selfing for 4 generations. It was found that all BC_1F_5 lines contained 1,600 bp band. Upon treating these bands with restriction enzyme *Hpy* CH4 IV, all BC_1F_5 lines gave 1,000 bp and 300 bp similar to those of IRBB5, a bacterial blight resistant line. The results indicated that the tested BC_1F_5 lines had resistance *xa5* gene, in homozygous condition. The level of bacterial blight resistance was also determined by inoculation with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* race 0701 on 45 day young seedling leaves. The results showed resistant level (R) in all BC_1F_5 lines. Using AFLP technique, B1, B3, B5, B6, B13 and B14 of BC_1F_5 lines showed 99.06% genetic similarity to KDML105. Test of agronomic and quality traits, the results indicated B7, B8 and B11 lines had yields of 493.3, 526.49 and 447.83 Kg/Rai, respectively. Their yields were par or higher than KDML 105 (449.03 Kg/Rai). Genetic composition of B7, B8 and B11 lines were 96.7, 96.7 and 97.64% similar to that of KDML 105. These three selected lines will be further used for quality and yield testing.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ ประธานกรรมการที่ให้โอกาสข้าพเจ้าได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาพันธุศาสตร์ ซึ่งท่านได้ให้การอบรมสั่งสอน ตลอดจนถึงคำแนะนำต่างๆ ตลอดระยะเวลาที่ได้รับการศึกษามาเป็นอย่างดี และขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล ที่ถ่ายทอดความรู้และคำแนะนำทั้งด้านการศึกษาและงานวิจัยตลอดจนถึงการเขียนวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ ภาควิชาพันธุศาสตร์ทุกท่าน ที่ถ่ายทอดความรู้และอบรมสั่งสอนตลอดระยะเวลาที่ได้รับการศึกษา ขอขอบพระคุณ คุณสุนิยม ตราปราบ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในพื้นที่ทำงานวิจัยที่ศูนย์ข้าวปทุมธานี ขอขอบพระคุณ คุณสุพรรณญิกา เส็งสายที่ให้ความรู้และคำปรึกษาตลอดการทำงานวิจัย และขอขอบพระคุณ คุณนงรัตน์ นิลพานิชย์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการถ่ายเชื้อ *Xoo* แก่ใบอ่อนของข้าว

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ร่วมรหัส 50 และพี่ๆ น้องๆ ในภาควิชาพันธุศาสตร์ทุกท่าน สำหรับคำปรึกษาและมิตรภาพที่ดีตลอดมา และเพื่อนสนิทจากเชียงใหม่ทั้ง 2 ท่านที่คอยช่วยเหลือตลอดมา

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณมารดา นางศิริพร เคหัง และ บิดา นายพิชาญ เคหัง ที่คอยอบรมสั่งสอน และเลี้ยงดูข้าพเจ้า รวมถึงให้โอกาสทางการศึกษาแก่ข้าพเจ้า ซึ่งท่านเป็นแบบอย่างในความพยายาม และความมุ่งมั่นให้แก่ข้าพเจ้าตลอดมา

พีระพงษ์ เคหัง

พฤษภาคม 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	22
อุปกรณ์	22
วิธีการ	22
ผลและวิจารณ์	30
สรุปและข้อเสนอแนะ	45
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	47
ภาคผนวก	53
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	66

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลำดับเบสของไพรเมอร์แต่ละชนิด	25
2	ระดับคะแนนเฉลี่ยและระดับความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งที่ควบคุมด้วยยีน *xa5* ตามระบบ Standard Evaluation System (SES) (IRRI, 1996)	31
3	เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 เมื่อเทียบจากการปรากฏของแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกับพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105	32
4	วันออกดอกที่ 75% , ความสูง, จำนวนต้นต่อกอ, จำนวนรวงต่อกอ, ความยาวรวง เมล็ดดี, และผลผลิตที่ความชื้นมาตรฐาน 14% (กิโลกรัมต่อไร่)	38
5	ข้อมูลการตรวจลักษณะทางกายภาพของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5	41
6	ข้อมูลการตรวจลักษณะทางเคมีของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5	44

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แถบดีเอ็นเอที่พบในลูกผสมกลับ BC_1F_5	30
2	ตัวอย่างลายพิมพ์ AFLP ที่ได้จากคู่ไพรเมอร์ E-AAC/M-CAG และไพรเมอร์ E-AGG/M-CTC	33

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยวิธีผสมกลับ

Breeding of Rice KDML 105 for Bacterial Blight Resistance by Backcross Method

คำนำ

ข้าว เป็นธัญพืชที่มนุษย์ใช้เป็นอาหารก่อนยุคประวัติศาสตร์ ปัจจุบันประชากรเกือบครึ่งโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก พื้นที่ปลูกข้าวทั่วโลกมีประมาณ 906 ล้านไร่ ผลผลิตข้าวรวมประมาณ 460 ล้านเมตริกตัน แหล่งผลิตข้าวที่สำคัญคือ ทวีปเอเชีย พื้นที่ปลูกข้าวในทวีปเอเชียทั้งหมดประมาณ 814 ล้านไร่ หรือคิดเป็นร้อยละ 90 ของพื้นที่ปลูกข้าวทั่วโลก ในประเทศไทยข้าวเป็นผลผลิตหลักของประเทศ จากพื้นที่ถือครองทางการเกษตรทั้งหมด 132.49 ล้านไร่ เป็นพื้นที่ปลูกข้าว 62.97 ล้านไร่ พบว่า การเพาะปลูกข้าวในฤดูนาปี มีพื้นที่ปลูก 56.74 ล้านไร่ ได้ผลผลิต 18.66 ล้านตันข้าวเปลือก สำหรับในฤดูนาปรังมีพื้นที่ปลูก 6.23 ล้านไร่ ได้ผลผลิต 4.34 ล้านตันข้าวเปลือก รวมผลผลิตข้าวทั้งปี ประมาณ 23 ล้านตัน จากผลผลิตข้าวที่ได้นี้ ใช้ประโยชน์ในประเทศถึง 13.39 ล้านตัน โดยส่วนใหญ่ประมาณ 10.3 ล้านตันใช้เพื่อการบริโภคของประชากรในประเทศ ส่วน 0.9 ล้านตันใช้ทำพันธุ์ และ 2.19 ล้านตันใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์และแปรรูปรวมทั้งอาหารสัตว์ สำหรับส่วนที่เหลือจากการใช้ในประเทศประมาณ 10.09 ล้านตันข้าวเปลือกหรือ 6.66 ล้านตันข้าวสารจะส่งเป็นสินค้าออกสู่ตลาดโลก ในปี 2542 การส่งออกข้าวสารและผลิตภัณฑ์จากข้าว คิดเป็นมูลค่ารวมสูงถึงประมาณ 74,918 ล้านบาท (กรมวิชาการเกษตร, 2544) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับประเทศที่เป็นคู่แข่งขายข้าวที่สำคัญของไทย เช่น เวียดนาม อินเดีย ปากีสถาน และพม่า ถึงแม้ผลผลิตข้าวของไทยจะอยู่ในระดับเดียวกับประเทศเหล่านี้ แต่ผลผลิตเฉลี่ยของไทยยังต่ำกว่าประเทศเหล่านี้ค่อนข้างมาก โอกาสที่ประเทศไทยจะสูญเสียตลาดข้าวให้แก่ประเทศเหล่านี้ก็จะเพิ่มมากขึ้น ฐานะความเป็นอยู่ของเกษตรกรผู้ปลูกข้าวของไทยก็จะด้อยลง โอกาสที่จะรักษาตลาดข้าวของไทยไว้ให้ได้ คือ ต้องเพิ่มปริมาณการขายข้าวของไทยให้มากขึ้น เพื่อที่จะได้อยู่ในระดับเดียวกับประเทศคู่แข่ง แต่คุณภาพข้าวของไทยจะต้องดีกว่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของพันธุ์ข้าวให้สูงขึ้น ที่สะดวกและลงทุนไม่มาก คือ วิธีการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมพันธุ์ ในขณะนี้มีพันธุ์ข้าวที่ได้มาจากการผสมพันธุ์มากมาย มีพันธุ์ข้าวต้นเตี้ยที่ปลูกได้ตลอดปี หรือที่เรียกว่าพันธุ์นาปรังถึง 22 พันธุ์ เช่น พันธุ์ชัยนาท 1 และสุพรรณบุรี 1 ทั้ง 2 พันธุ์ให้ผลผลิตสูงถึงไร่ละ 100 ถัง ในข้าวนาปีมีพันธุ์ที่ส่งเสริมทั้งหมดประมาณ 60 พันธุ์ เช่น พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105, กข 6, ขาวตาแห้ง และ เหลืองประทิว (วรวิทย์, 2546) แต่ในการปลูกข้าวมักจะประสบปัญหาการเข้าทำลายของโรคและแมลง สร้างความเสียหายให้กับต้นข้าว เช่นโรคกาบใบเน่า โรคกาบใบแห้ง โรคขอบใบแห้ง ซึ่งทำให้ผลผลิตข้าวลดลง ในประเทศอินเดียมีรายงานว่าโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) ทำให้สูญเสียผลผลิตข้าวสูงถึง 50% (Sundaram *et al*., 2007) วิธีการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมพันธุ์นี้เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถใช้สร้างพันธุ์ต่างๆ ที่ให้ผลผลิตสูง ต้านทานต่อโรคและแมลง ทนทานต่อสภาพความแห้งแล้ง และความหนาวเย็นให้ดีขึ้นได้ ซึ่งจะส่งผลให้ผลผลิตข้าวของประเทศไทยสูงขึ้น และมีคุณภาพสูงกว่าประเทศคู่ค้าข้าว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

ปรับปรุงพันธุ์ข้าวลูกผสมที่มีลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งให้มีพันธุกรรมใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

ลักษณะพฤกษศาสตร์ของข้าว

ข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้า (Family Gramineae) สกุล *Oryza* มีลำต้นเป็นไม้เนื้ออ่อน (herbaceous or non-woody plant) และส่วนใหญ่เป็นพืชล้มลุกที่มีอายุอยู่ได้แค่ปีเดียว (annual grass) เป็นพวกใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledon) มีรากเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) สามารถเจริญได้ดีในเขตร้อน ซึ่งเป็นเขตมรสุม แต่ก็มีความสามารถเจริญได้ดีในเขตอบอุ่น (ประภา, 2542) เท่าที่พบและเป็นที่ยอมรับจากนักพฤกษศาสตร์มีอยู่ 22 ชนิดทั้งที่เป็นพวกที่มีชุดโครโมโซม 2 ชุด (diploid, 2n = 2x = 24) และพวกที่มีชุดโครโมโซม 4 ชุด (tetraploid, 2n = 4x = 48) แบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ ข้าวป่า (wild rice) มีลักษณะเป็นวัชพืชเมล็ดเล็ก ร่วงง่าย และเมล็ดมีหาง (awn) มีทั้งพวกข้าวป่าปีเดียว (wild annual) และข้าวป่าข้ามปี (wild perennial) มีทั้งหมด 20 ชนิด เช่น *Oryza perennis* , *Oryza officinalis* , *Oryza spontanea* และ *Oryza nivara* เป็นต้น ส่วนอีกประเภทหนึ่ง คือข้าวปลูก (cultivated rice) มีวิวัฒนาการมาจากข้าวป่า *Oryza perennis* มีอยู่ 2 ชนิดได้แก่ *Oryza sativa* ซึ่งปลูกมากในเอเชียและปลูกทั่วโลก และ *Oryza glaberrima* พบได้ในแถบตะวันตกของทวีปแอฟริกา ข้าวปลูกชนิด *Oryza sativa* สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิดย่อย คือ ข้าวอินดิคา (Indica) จะพบทั่วไปในเอเชียเขตร้อน ปลูกมากในประเทศอินเดีย พม่า เวียดนาม อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และประเทศไทย เป็นข้าวต้นสูง ฟางอ่อน เมล็ดยาวเรียว ข้าวจาโปนิคา (Japonica) จะพบในเขตอบอุ่น เช่น ประเทศญี่ปุ่น เกาหลี จีน และทางตะวันออกของประเทศอเมริกา เป็นข้าวต้นเตี้ย ฟางแข็ง เมล็ดน้อย ข้าวจาวานิคา (Javanica) ข้าวพันธุ์นี้ปลูกน้อยมาก พบในประเทศอินโดนีเซีย สำหรับพวกที่มีหาง เรียกว่า บูลา (Bula) พวกไม่มีหาง เรียกว่า กันดิล (Gundil) ทั้ง 2 พวกพบปลูกแถว จาฝะ เกาะชวา และบาลิ เกาะบาหลี นอกจากนี้ยังมีปลูกบ้างในฟิลิปปินส์ อินเดีย ข้าวป่าที่สำรวจพบในประเทศไทย และเก็บรวบรวมไว้ที่ศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเชื้อพันธุ์แห่งชาติ อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี มี 6 ชนิดได้แก่ *Oryza granulata* , *Oryza minuta* , *Oryza rufipogon* , *Oryza officinalis* , *Oryza nivara* และ *Oryza ridleyi* (ประณีต, 2531; พัชราภรณ์, 2539)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การจำแนกชนิดของข้าว

มีคำเรียกข้าวแตกต่างกันมากมาย บ่งบอกถึงชนิดของข้าวตามหลักเกณฑ์ที่ใช้ในการจำแนกชนิดของข้าว (ทวี, 2541) เช่น

1. จำแนกตามวิวัฒนาการ

1.1 ข้าวป่า หมายถึงข้าวที่ขึ้นเองตามธรรมชาติ ไม่ได้ผ่านการปรับปรุงพัฒนาพันธุ์โดยมนุษย์ มักพบเห็นตามบริเวณหนองน้ำ คู คลอง เป็นต้น

1.2 ข้าวปลูก หมายถึงข้าวที่คนนำมาปลูก คัดเลือก และพัฒนาปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้เหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ และปลูกต่อกันมาจนถึงปัจจุบัน

2. จำแนกตามแหล่งกำเนิด

2.1 ข้าวเอเชีย หมายถึง ข้าวที่มีแหล่งปลูกในทวีปเอเชีย ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิดย่อยที่สำคัญ คือ ข้าวอินดิคา (ข้าวอินเดีย) ข้าวจาปอนิคา (ข้าวญี่ปุ่น) และข้าวจาวานิคา (ข้าวชวา)

2.2 ข้าวแอฟริกา หมายถึง ข้าวที่มีแหล่งกำเนิดในทวีปแอฟริกา

3. จำแนกตามนิเวศการปลูก

3.1 ข้าวไร่ หมายถึง ข้าวที่ปลูกในที่ดอน บริเวณไหล่เขา หรือที่นาที่ไม่มีน้ำขัง

3.2 ข้าวนาสวน หมายถึง ข้าวที่ปลูกในนาที่มีน้ำขังระดับน้ำตั้งแต่ 1 ซ.ม. ถึงไม่เกิน 50 ซ.ม.

3.3 ข้าวน้ำลึก หมายถึง ข้าวที่ปลูกในนาน้ำลึก ระดับน้ำในนามากกว่า 50 ซ.ม. แต่ไม่เกิน 100 ซ.ม. เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 เดือน

3.4 ข้าวขึ้นน้ำ หมายถึง ข้าวที่ปลูกในนาน้ำลึกมาก ระดับน้ำมากกว่า 100 ซ.ม. เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 เดือน

4. จำแนกตามฤดูการปลูก

4.1 ข้าวนาปี หมายถึง ข้าวที่ปลูกในฤดูฝน

4.2 ข้าวนาปรัง หมายถึง ข้าวที่ปลูกในฤดูแล้งหรือนอกฤดูฝน

5. จำแนกตามความไวแสง

5.1 ข้าวไวต่อช่วงแสง หมายถึง ข้าวที่ปลูกโดยมีวันออกดอกและวันเก็บเกี่ยวตามปฏิทินเพราะการออกดอกถูกควบคุมด้วยความยาวช่วงแสง ทำให้สามารถปลูกได้ผลดีในสภาพธรรมชาติเพียงปีละครั้ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.2 ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง หมายถึง ข้าวที่ปลูกโดยมีอายุนับจากวันปลูกถึงวันเก็บเกี่ยวคงที่ เพราะการออกดอกไม่เกี่ยวข้องกับความยาวของช่วงแสง จึงสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปีหากมีน้ำพอเพียงและสภาพแวดล้อมเหมาะสม

6. จำแนกตามวิธีทำนา

6.1 ข้าวนาดำ หมายถึง ข้าวที่ปลูกโดยวิธีปักดำ

6.2 ข้าวนาหว่าน หมายถึง ข้าวที่ปลูกโดยวิธีหว่าน อาจเป็นการหว่านข้าวงอกหรือหว่านข้าวแห้ง

6.3 ข้าวนาหยอด หมายถึง ข้าวที่ปลูกโดยวิธีการหยอดเมล็ดลงหลุมเช่น การปลูกข้าวไร่

7. จำแนกตามชนิดเนื้อแป้งในเมล็ดข้าว

7.1 ข้าวเหนียว หมายถึง ข้าวที่มีปริมาณ อมิโลสอยู่ในแป้งข้าวสารเพียงเล็กน้อย

7.2 ข้าวเจ้า หมายถึง ข้าวที่มีปริมาณ อมิโลสอยู่ในแป้งข้าวสารมากกว่าข้าวเหนียว

8. จำแนกตามอายุข้าว

8.1 ข้าวเบา หมายถึงข้าวที่มีอายุการเจริญเติบโตนับตั้งแต่งอกจนถึงวันเก็บเกี่ยวสั้นไม่เกิน 100 วัน สำหรับข้าวไม่ไวแสง และวันเก็บเกี่ยวประมาณก่อนกลางเดือนพฤศจิกายนสำหรับข้าวไวต่อช่วงแสง

8.2 ข้าวกลาง หมายถึง ข้าวที่มีอายุการเจริญเติบโตนับตั้งแต่งอกจนถึงวันเก็บเกี่ยวไม่สั้นไม่ยาวเกินไป ประมาณ 100 - 130 วัน สำหรับข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง และวันเก็บเกี่ยวตั้งแต่ประมาณกลางเดือนพฤศจิกายนถึงกลางเดือนธันวาคมสำหรับข้าวไวต่อช่วงแสง

8.3 ข้าวหนัก หมายถึง ข้าวที่มีอายุเจริญเติบโตนับตั้งแต่งอกจนถึงวันเก็บเกี่ยวยาวกว่า 130 วัน สำหรับข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง และวันเก็บเกี่ยวตั้งแต่กลางเดือนธันวาคมเป็นต้นไปสำหรับข้าวไวต่อช่วงแสง

9. จำแนกตามความยาวของเมล็ด

9.1 ข้าวเมล็ดสั้น หมายถึง ข้าวที่มีเมล็ดสั้น ความยาวของเมล็ดข้าวกล้องน้อยกว่า 5.5 ม.ม.

9.2 ข้าวเมล็ดยาวปานกลาง หมายถึง ข้าวที่มีเมล็ดยาวปานกลาง ความยาวของเมล็ดข้าวกล้องระหว่าง 5.51 - 6.6 ม.ม.

9.3 ข้าวเมล็ดยาว หมายถึง ข้าวที่มีเมล็ดยาว ความยาวของเมล็ดข้าวกล้องระหว่าง 6.61 - 7.5 ม.ม.

9.4 ข้าวเมล็ดยาวมาก หมายถึง ข้าวที่มีเมล็ดยาวมาก ความยาวของเมล็ดข้าวกล้องเกิน 7.5 ม.ม.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเลือกพันธุ์ข้าวปลูก

สมบัติประจำตัวบางประการของพันธุ์ข้าวมีส่วนทำให้การปลูกข้าวได้ผลผลิตที่ดีหรือไม่ดี การเลือกพันธุ์ข้าวปลูกที่ดีจะทำให้ได้ผลผลิตที่ดีและน่าพอใจ แนวทางวิธีการเลือกพันธุ์ข้าวปลูกเพื่อให้ได้พันธุ์ดีนั้นพิจารณาได้จากลักษณะต่างๆ ดังนี้ (อรรควุฒิ, 2530)

1. เมล็ดพันธุ์ข้าว (rice seed) เมล็ดพันธุ์ที่จะนำมาเป็นพันธุ์ข้าวปลูกจะต้องมีน้ำหนักเมล็ดดี ขนาดใหญ่ และตรงตามพันธุ์ ทั้งนี้เพราะน้ำหนักที่ดีและขนาดของเมล็ดที่ดี แสดงออกถึงความสมบรูณ์ของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งเมื่อนำมาปลูกอัตราการรอดจะมีมาก การเจริญเติบโตและพัฒนาการเป็นไปอย่างรวดเร็ว

2. การแตกกอ (tillering) จำนวนต้นต่อกอ เป็นตัวแปรสำคัญที่จะทำให้พันธุ์ข้าวที่ปลูกให้ผลผลิตสูงหรือต่ำ ถ้ามีการแตกกอดีโอกาสที่จะได้ผลผลิตสูงมากกว่าข้าวพันธุ์ที่แตกกอน้อย เพราะข้าวพันธุ์ที่แตกกอมาก มีแนวโน้มที่จะให้จำนวนรวงต่อกอมากกว่าพันธุ์ที่แตกกอน้อย

3. ความต้านทานต่อโรคและแมลง (resistance to diseases and insects) การเลือกปลูกพันธุ์ข้าวที่บ่งบอกถึงความสามารถในการต้านทานโรคและแมลงบางชนิดจะได้เปรียบกว่าปลูกพันธุ์ที่ไม่ต้านทาน แม้ว่าพันธุ์ที่ไม่ต้านทานต่อโรคจะให้ผลผลิตสูง

4. ทรงต้น (plant type) ความสูงของต้นข้าวควรอยู่ในช่วงตั้งแต่ 100 - 120 เซนติเมตร เพื่อป้องกันการหักล้ม และต้องมีทรงต้นที่กระชับตัวดี มีลักษณะใบตั้งตรงไม่โค้งงอ (drooping) แผ่นใบไม่กว้างยาวจนเกินไป และมีใบสีเขียวเข้ม ลักษณะของใบธง (flag leaf) ถ้าต้นข้าวมีใบธงที่ตั้งตรงและมีสีเขียวจนกระทั่งใกล้เวลาเก็บเกี่ยว ถือว่าเป็นลักษณะพันธุ์ที่ดี

5. การปรับตัว (adaptability) การเลือกข้าวที่มีความสามารถในการปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น สามารถทนแล้งได้เมื่อฝนทิ้งช่วง ทนดินกรด ด่างหรือเกลือได้พอสมควร ก็จะทำให้สามารถนำไปปลูกได้ในบริเวณที่ความชุ่มชื้นและดินมีปัญหา

6. การตอบสนองต่อปุ๋ย (respone to fertilizer) ข้าวพันธุ์ที่ดีต้องมีการตอบสนองต่อปุ๋ยดีคือเมื่อใส่ปุ๋ยจำนวนหนึ่งลงในนา ผลผลิตที่ได้ต้องเพิ่มขึ้นในอัตราส่วนที่มากกว่าไม่ได้ใส่ปุ๋ยเลย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. วัฏจักรชีวิต (life cycle) ข้าวพันธุ์ดีต้องไม่ใช้เวลาตั้งแต่การปลูกจนถึงการเก็บเกี่ยวนานเกินไป ควรอยู่ในช่วง 100-120 วัน ทั้งนี้เนื่องจากสภาพการทำนาในประเทศไทย เป็นนาน้ำฝน ปริมาณน้ำเพื่อการทำนา จะเพียงพอเลี้ยงต้นข้าวอายุเก็บเกี่ยว 100 วันได้เป็นอย่างดี เนื่องจากข้าวต้องการน้ำตลอดการปลูก 1,500 - 1,800 มิลลิเมตร แต่ในประเทศไทยปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยเพียง 1,500 มิลลิเมตร ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม ซึ่งถ้าเลือกปลูกข้าวพันธุ์ที่มีอายุเก็บเกี่ยว 100-120 วัน โอกาสเสี่ยงในการทำนาน้ำฝนจะน้อยกว่าเลือกปลูกข้าวพันธุ์ที่มีอายุเก็บเกี่ยวมากกว่า 120 วัน

8. การร่วงของเมล็ด (shattering) พันธุ์ที่มีการร่วงหล่นของเมล็ดได้ง่าย แม้ยังแก่ไม่เต็มที่หรืออยู่ในช่วงเก็บเกี่ยวควรที่จะหลีกเลี่ยง เพราะในกระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวการสูญเสียเมล็ดข้าวเปลือกจะมีมาก แต่ก็ไม่ควรเลือกพันธุ์ที่มีเมล็ดติดเหนียวแน่นกับรวงมากเกินไป เพราะจะมีปัญหาในการนวด เนื่องจากเมล็ดหลุดออกจากรวงยาก ทำให้เสียเวลาในการนวด

9. คุณภาพการหุงต้ม (cooking quality) ถึงแม้ว่าจะคัดเลือกข้าวพันธุ์ที่ดีได้ แต่ถ้าเมล็ดข้าวที่ได้มีการหุงต้มไม่ดี ก็จะไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ข้าวที่มีค่าการหุงต้มที่ดีจะมีแป้งชนิด อมิโลส ประมาณ 20-25% จึงทำให้เมื่อสุกแล้วอ่อนนุ่มน่าบริโภค

10. ฤดูกาลปลูก (planting season) พันธุ์ข้าวที่ไม่ไวต่อแสง ถ้าปลูกไม่ตรงกับฤดูกาล ก็อาจจะทำให้เกิดการสูญเสียผลผลิตได้ เพราะช่วงเก็บเกี่ยวอาจจะตรงกับช่วงที่ฝนตกชุกได้ฉะนั้นจึงต้องระวังในการเลือกพันธุ์ข้าวให้ถูกฤดูกาล ในฤดูนาปีควรเลือกปลูกพันธุ์ข้าวที่ไวต่อแสง เพื่อจะได้เก็บเกี่ยวในช่วงปลายฝน

คุณภาพข้าวทางกายภาพ

การผลิตข้าวนอกจากจะให้ผลผลิตสูงแล้วยังต้องให้มีคุณภาพเมล็ดที่ดีด้วย ซึ่งคำว่าคุณภาพข้าวนั้นมีความหมายครอบคลุมทั้งสมบัติของเมล็ดทางกายภาพและทางเคมี ที่เกี่ยวข้องกับ การหุงต้ม ในการกำหนดมาตรฐานข้าวของประเทศขายข้าวทั้งหลาย มักใช้สมบัติของเมล็ดทางกายภาพในการจำแนกเกรดของข้าวทุกชนิด ทั้งนี้เพราะมีความชัดเจนและสามารถตรวจสอบได้รวดเร็ว ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวก็เช่นกัน สมบัติทางกายภาพก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ใช้จำแนกพันธุ์ข้าว เช่น ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีเปลือกสีฟาง เมล็ดยาว 7.4 มิลลิเมตร รูปร่างเมล็ดเรียวแหลม น้ำหนักข้าวเปลือก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

100 เมล็ด ประมาณ 2.77 กรัม พันธุ์ชัยนาท 1 มีเปลือกสีฟางก้นจุด เมล็ดยาว 7.7 มิลลิเมตร รูปร่างเมล็ดเรียว น้ำหนัก 100 เมล็ด ประมาณ 2.92 กรัม เป็นต้น ดังนั้นความหมายของคุณภาพเมล็ดทางกายภาพ หมายถึง สมบัติต่างๆ ของเมล็ดที่สามารถมองเห็นหรือชั่งตวงวัดได้ (กัญญา, 2541) ตัวอย่างเช่น

1. น้ำหนักเมล็ด (grain weight)

สามารถประเมินได้ 2 รูปแบบ คือ น้ำหนักต่อปริมาณ ประเมินเป็น กรัมต่อลิตร หรือ กิโลกรัมต่อถัง และ น้ำหนักต่อจำนวนเมล็ดประเมินเป็นน้ำหนัก 100 เมล็ด หรือ 1,000 เมล็ด เป็นต้น ซึ่งน้ำหนักเมล็ดจะมีความสัมพันธ์กับความยาวและความกว้างของเมล็ด

2. สีข้าวเปลือก (hull color)

สีของข้าวเปลือกเป็นลักษณะประจำพันธุ์ ซึ่งมีส่วนในการตั้งชื่อพันธุ์ในอดีต เช่น ขาวพวง ขาวนางเนย เนื่องจากมีเปลือกสีฟางหรือสีขาว เหลืองหอม เหลืองข้างรั้ว เนื่องจากมีเปลือกสีน้ำตาล หรือสีเหลือง เป็นต้น สีของเปลือกเมล็ดข้าวจะมีผลต่อสีของข้าวสาร ก่อนนึ่ง คือ เมล็ดข้าวที่มีเปลือกสีเข้ม ข้าวสารนึ่งจะมีสีเข้มด้วย สีของเมล็ดข้าวเปลือกที่พบจะมีทั้งสีขาว ฟาง น้ำตาลอ่อนถึงเข้ม ร่องน้ำตาล กระน้ำตาล น้ำตาลแดง ม่วงหรือดำ เป็นต้น

3.ขนาดและรูปร่าง (grain dimension)

ขนาดและรูปร่างเมล็ดของพันธุ์ข้าวเป็นลักษณะประจำพันธุ์ มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์และสภาพพื้นที่ปลูก ขนาดและรูปร่างเมล็ด ได้แก่ ความยาว ความกว้าง ความหนา และรูปร่างของเมล็ด เช่นข้าวพวกอินดิคา จะมีรูปร่างเมล็ดเรียว ค่อนข้างป้อม พวกจาโปนิคา มีรูปร่างเมล็ดสั้นและกลม ส่วนจาวานิคา มีเมล็ดกว้างและหนา เป็นต้น

4. สีข้าวกล้อง (pericarp color)

สีของข้าวกล้องจะแสดงออกที่เยื่อหุ้มผล สำหรับส่วนที่เป็นแป้ง (endosperm) ของข้าวทุกชนิดจะมีสีขาวเสมอ ข้าวกล้องมีสีต่างๆ กัน เช่น ขาว แดง น้ำตาลเข้ม น้ำตาลเทา และม่วงเกือบดำ สีข้าวกล้องมีผลต่อข้าวสารนึ่งเช่นเดียวกับสีของเมล็ดข้าวเปลือก และมีผลต่อคุณภาพการสี คือ การที่ข้าวกล้องมีสีเข้มต้องใช้เวลาขัดรำนานหรือใช้แรงกดมากเพื่อที่จะทำให้ส่วนของรำที่เป็นสีหลุดออกทำให้เกิดข้าวหักมาก ไม่เป็นที่ต้องการของพ่อค้าโรงสี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. ลักษณะท้องไข่ (chalkiness)

ท้องไข่ในเมล็ดข้าว หมายถึง จุดขุ่นขาวคล้ายชอล์คที่ส่วนที่เป็นแป้ง เกิดจากการจับตัวอย่างหลวมๆ ของเม็ดแป้งกับโปรตีน ลักษณะท้องไข่ไม่มีผลโดยตรงต่อคุณภาพการหุงต้มและรับประทาน แต่เป็นลักษณะที่ไม่ต้องการในวงการค้าข้าว เพราะเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่กำหนดคุณภาพ และราคาข้าว เนื่องจากข้าวที่เป็นท้องไข่มาก เมื่อนำไปสีจะหักมาก ลักษณะท้องไข่ในเมล็ดข้าวมี 3 ชนิด คือ white center คือ ท้องไข่ที่เกิดขึ้นตรงกลางของส่วนที่เป็นแป้งในเมล็ด white belly คือ ท้องไข่ที่เกิดขึ้นทางด้านข้างหรือ ด้านท้องของเมล็ดด้านเดียวกับเอ็มบริโอ และ white back คือ ท้องไข่ ที่เกิดทางด้านหลังของเมล็ดด้านตรงข้ามกับเอ็มบริโอ

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ เป็นข้าวปลูกชนิด *Oryza sativa* จัดอยู่ในกลุ่มอินดิคา มีชื่อเดิมว่าขาวดอกมะลิ 4-2-105 เป็นพันธุ์ข้าวเจ้าพื้นเมืองได้มาโดย นายสุนทร สีหะเนิน พนักงานเกษตรรวบรวมจากอำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา เมื่อ พ.ศ. 2493 จำนวน 199 รวง แล้วนำไปคัดเลือกแบบคัดพันธุ์บริสุทธิ์ โดยคัดพันธุ์ที่สถานีทดลองข้าวโคกสำโรงในปี พ.ศ. 2498 และนำไปปลูกในแปลงเปรียบเทียบพันธุ์ในปี พ.ศ.2500 และในปี พ.ศ. 2502 ได้ทำการเปรียบเทียบพันธุ์ท้องถิ่นภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในวันที่ 25 พฤษภาคม 2502 คณะกรรมการพิจารณาพันธุ์ให้ใช้ขยายพันธุ์ได้โดยให้ชื่อว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวเจ้า ลักษณะลำต้นที่เจริญเติบโตเต็มที่สูงประมาณ 140 เซนติเมตร ฟางอ่อนใบสีเขียวยาวและค่อนข้างแคบ ใบธงทำมุมกว้างกับรวง เป็นข้าวไวต่อช่วงแสง ปลูกได้ในที่ลุ่มทั่วไปที่มีระดับน้ำลึกไม่เกิน 80 เซนติเมตรและปลูกได้เฉพาะฤดูนาปี เก็บเกี่ยวประมาณกลางเดือน พฤศจิกายน ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 8 สัปดาห์ ข้าวเปลือกสีขาว (สีฟาง) น้ำหนัก 100 เมล็ด 2.77 กรัม เมล็ดข้าวกล้องยาว 7.4 มิลลิเมตร เมล็ดเรียวสวย เมล็ดข้าวสารใสดี คุณภาพการขัดสีดี และคุณภาพหุงต้มได้ข้าวหอมอ่อนนุ่ม ลักษณะดีของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 คือ เป็นข้าวต้นสูงเก็บเกี่ยวง่าย ทนแล้งได้ดีพอสมควร ปลูกเป็นข้าวไร่ได้ ทนสภาพดินเปรี้ยว และดินเค็ม นวดง่าย ข้อเสียของพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 คือ ข้าวอ่อนล้มง่าย ปลูกได้เฉพาะนาปีเท่านั้น น้ำหนักเมล็ดเบา ผลผลิตค่อนข้างต่ำ ไม่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง โรคใบไหม้ โรคใบสีส้ม และ โรคใบหงิก ไม่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และหนอนกอ ทรงกอแผ่ ถ้าสุกงอมเกินไป จะเกี่ยวยาก (ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง, 2534 ; กรมวิชาการเกษตร, 2535)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคและแมลงศัตรู

ในการปลูกพืชนั้น การใช้พันธุ์ต้านทานโรคและแมลงศัตรู เป็นวิธีการควบคุมศัตรูพืชที่มีประสิทธิภาพสูงสุด การปลูกข้าวก็เช่นเดียวกัน แต่การที่จะให้ได้มาซึ่งพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมแก่การส่งเสริมให้เกษตรกรปลูก นอกจากจะต้องมีความต้านทานต่อโรค และแมลงศัตรูข้าวที่เป็นปัญหาแล้วยังต้องมีลักษณะอื่นประกอบด้วย เช่น การให้ผลผลิตสูง เมล็ดมีคุณภาพดีเป็นที่ต้องการของตลาด ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์ให้ได้ลักษณะดีที่ต้องการหลายๆ อย่างให้อยู่ในพันธุ์เดียว เป็นสิ่งที่ทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากมีปัจจัยเกี่ยวข้องหลายประการด้วยกัน เช่น จำนวนยีนที่ควบคุมความต้านทานโรคและแมลงแต่ละชนิด ยีนควบคุมลักษณะทางกายภาพและเคมีของเมล็ด และยีนที่ควบคุมลักษณะการให้ผลผลิตสูง ตลอดจนเทคนิคที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ การคัดเลือก และทดสอบความต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูข้าว โดยทั่วไปการปรับปรุงพันธุ์ข้าวมีวิธีการต่างๆ ดังนี้ (พัชราภรณ์, 2539; ทัศนีย์, 2540)

1. การนำพันธุ์จากแหล่งอื่นมาปลูก (introduction)
2. การคัดเลือกพันธุ์ (selection)
3. การผสมพันธุ์และคัดเลือกข้าวพันธุ์ลูกผสม (hybridization and progeny selection)
4. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (induced mutation)
5. การใช้เทคโนโลยีชีวภาพ (biotechnology) และพันธุวิศวกรรม (genetic engineering)
6. การสร้างพันธุ์พืชสหพันธุ์ (multiline variety)

การผสมกลับ (backcross breeding)

การผสมกลับเป็นการปรับปรุงพันธุ์ในรูปแบบของการผสมพันธุ์และคัดเลือกข้าวพันธุ์ลูกผสม (hybridization and progeny selection) ซึ่งเป็นการนำพันธุ์พืชตั้งแต่ 2 พันธุ์ขึ้นไปมารวมกันเพื่อให้ได้ลักษณะที่ต้องการ การผสมกลับ คือ รูปแบบของการคัดเลือกเพื่อแทนที่แอลลีลของยีนที่ต้องการสำหรับลักษณะหนึ่ง ด้วยอีกแอลลีลหนึ่งจากพันธุ์ที่ต้องการ (ศิริพร, 2547) ซึ่งจะเป็นการผสมพันธุ์ระหว่างลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ของการผสมเดี่ยว กับพันธุ์พ่อหรือแม่เดิม วิธีการนี้เหมาะที่จะใช้ในการถ่ายทอดลักษณะที่ควบคุมด้วยยีนน้อยคู่ที่สามารถเห็นได้ชัด การผสมกลับจะทำต่อเมื่อต้องการเสริมลักษณะใดลักษณะหนึ่ง เข้าไปในพันธุ์ที่เห็นว่าดีอยู่แล้วให้สมบรูณ์ยิ่งขึ้น และจะต้องมีตัวรับ (recurrent parent) เป็นพ่อหรือแม่ที่จะนำเอาลูก หรือหลานของพันธุ์นั้นมาผสมเพื่อให้ได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลักษณะของพ่อหรือแม่ที่ต้องการเกือบทั้งหมดไว้ จึงต้องเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง สามารถปรับตัวได้ดีในบริเวณที่ปลูก ส่วนตัวให้ (donor parent) จะเป็นพันธุ์ที่มีลักษณะที่ต้องการซึ่งไม่มีในตัวรับ และต้องการจะถ่ายทอดลักษณะที่ต้องการนั้นไปให้ตัวรับ วิธีนี้จะให้ผลได้อย่างมีประสิทธิภาพก็ต่อเมื่อ มีตัวรับที่ดี ลักษณะที่ทำการถ่ายทอดจากตัวให้ จะต้องคงที่หลังจากการผสมกลับไปหลายๆ ครั้ง มีการแสดงออกของลักษณะที่ต้องการสูง และจำนวนครั้งของการผสมกลับจะต้องมากพอที่จะรักษาลักษณะของตัวรับได้ มีรายงานการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยใช้วิธีผสมกลับ ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวบาสมาติกับ IRBB55 ซึ่งมียีน *xa13* และ *Xa21* โดยผสม (IRBB55/Basmati (PB1)//Basmati (PB1)) ลูก BC_1F_5 มีลักษณะต้าน ทานต่อโรคขอบใบแห้ง (Gopalakrishnan *et al*., 2007)

โดยทั่วไปการผสมกลับอาจแบ่งขั้นตอนได้ดังนี้ (ทัศนีย์, 2540)

1. การคัดเลือกพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ที่จะใช้เป็นตัวรับ (A) มักจะเป็นพันธุ์ที่ใช้กันอยู่ในบริเวณนั้น ส่วนตัวให้ (B) เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะที่ต้องการบางอย่างเพื่อการถ่ายทอดไปให้ตัวรับ

2. ทำการผสมพันธุ์ระหว่าง A และ B แล้วนำลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ผสมกลับไปหา A จะได้ลูกผสมกลับรุ่นที่ 1 (BC_1)

3. นำเมล็ด BC_1 ที่ได้มาปลูกแล้วผสมกลับไปหา A จะได้ลูกผสมกลับรุ่นที่ 2 (BC_2) หลังจากทำการผสมกลับไปประมาณ 6 ครั้ง (BC_6) ก็จะได้พืชที่มีความคงตัวทางพันธุกรรมซึ่งมีลักษณะของ B เพิ่มเข้ามาใน A ตามที่ต้องการ

เทคนิคการผสมกลับนี้ได้นำมาใช้ปรับปรุงข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง (ศิลปชัย, 2544) ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง (สุพรรณญิกา, 2549) การถ่ายทอดลักษณะทนแล้งของข้าวป่า (*Oryza meridionalis* และ *Oryza nivara*) ให้กับข้าวพันธุ์ปลูก (*Oryza sativa* L.) (Thanh, 2006) อีกทั้งมีการปรับปรุงข้าว Samba Mahsuri (BPT5204)ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยใช้เทคนิคผสมกลับกับข้าวพันธุ์ SS113 ร่วมกับการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล (Sudaram *et al*., 2007) รวมถึงการถ่ายทอดยีน *Xa4, Xa7* และ *Xa21* โดยวิธีการผสม 3 ทางเพื่อต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน เนื่องจากการควบคุมโดยอุณหภูมิ เพื่อพัฒนาการปลูกข้าวลูกผสมแบบสองระบบ (Perez *et al*., 2008)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โรคขอบใบแห้ง (bacterial blight)

โรคขอบใบแห้ง เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* จัดเป็นโรคที่สำคัญมาก เนื่องจากทำความเสียหายในแหล่งเพาะปลูกข้าวที่สำคัญในทุกภาคของประเทศไทย แบคทีเรียนี้สามารถเข้าทำลายต้นข้าวทางแผลที่ใบ มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงทำให้ผลผลิตข้าวลดลง เมล็ดลีบ น้ำหนักเบา คุณภาพไม่ได้มาตรฐาน พบในพันธุ์ข้าวที่ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง เช่น กข1, กข9, กข10, กข11, กข15 และขาวดอกมะลิ 105 เป็นต้น โรคนี้มักพบในบริเวณที่ดินอุดมสมบรูณ์สูง มีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูง มีฝนและลมแรงทำให้เกิดแผลที่ใบข้าวหรือบริเวณที่มีน้ำท่วมแปลงนา โรคนี้มักจะเกิดหลังจากปักดำไปแล้ว พบตั้งแต่ระยะแตกกอ และระยะออกรวง อาการของโรค เชื้อแบคทีเรียเข้าทำลายท่อน้ำ ท่ออาหาร (vascular bundle) จึงจัดเป็นพวก systemic โดยเชื้อโรคเข้าทางบาดแผลหรือรูเปิดโดยธรรมชาติของใบ เข้าไปขยายพันธุ์ในท่อน้ำ (xylem) ทำให้เกิดอาการ 2 ลักษณะ คือ ลักษณะต้นแห้งตาย (kresek) และใบแห้ง (leaf blight) ลักษณะของ kresek คือทำให้ต้นข้าวเหี่ยวและแห้งตายอย่างรวดเร็ว ส่วนมากเกิดในข้าวที่มีอายุน้อยในแปลงกล้าหรือข้าวที่ปักดำใหม่ๆ แผลที่เกิดบนใบข้าวมักจะเป็นจุดช้ำบนขอบใบจะเห็นเป็นแถบช้ำชุ่มน้ำ ที่แผลมีหยดน้ำสีครีมคล้ายยางสน กลมๆ ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุด หยดน้ำนี้จะมีเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งขับออกมาทาง รูระบายน้ำของใบ สีของใบจะมีสีเทาแล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและแห้งภายใน 1-2 สัปดาห์ ลักษณะของใบแห้ง (leaf blight) ใบจะเริ่มแห้งจากขอบใบห่างจากปลายใบลงมาเล็กน้อย และจะขยายทั้งด้านกว้าง และ ด้านยาวขนานไปตามขอบใบข้าว บริเวณขอบแผลซึ่งติดกับส่วนปกติมีลักษณะไม่เรียบ หยักเป็นคลื่นและมีสีขาวหรือเหลือง แผลอาจจะเกิดที่ขอบใบข้างหนึ่งก่อนหรือทั้งสองข้างพร้อมกันก็ได้ (ทัศนีย์, 2540; สถาบันข้าวกรมวิชาการเกษตร, 2544)โรคนี้พบครั้งแรกในประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ.2500 บริเวณกิโลเมตรที่ 5 ถนนลาดพร้าว กรุงเทพมหานคร แสดงอาการบนข้าวพันธุ์ขาวเศรษฐี เขียวกานพลู ต่อมาในปี พ.ศ.2501 ได้มีการสำรวจโรคในเขตภาคกลาง ได้พบโรคขอบใบแห้งบริเวณกิโลเมตรที่ 6 ถนนพหลโยธินกรุงเทพมหานคร แสดงอาการบนข้าวพันธุ์ขาวเศรษฐี ขาวตาแห้ง พวงนาค และ ข้าวเหนียวแก่นจันทร์ โรคนี้มักจะระบาดหลังจากมีพายุฝน และลมแรง ทำให้เกิดแผลบนต้นข้าว เชื้อแบคทีเรียแพร่ไปกับเม็ดฝน เมื่อน้ำท่วมเชื้อจะเข้าทำลาย ต้นข้าวได้เร็ว (สมศักดิ์, 2544)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การประเมินอาการของโรค

การประเมินอาการของโรคใช้ระบบ SES หรือ Standard Evaluation System ของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ โดยให้คะแนนเป็น 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 ตามลำดับความเสียหายของข้าวซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์พื้นที่บนใบที่เกิดโรค โดยให้ 0-1 เป็น highly resistance 2 เป็น resistance 3 เป็น moderately resistance 4-6 เป็น moderately susceptible 7 เป็น susceptible และ 8-9 เป็น highly susceptible (IRRI, 1996)

ยีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้ง

ยีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของข้าวที่นำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวมีอย่างน้อย 24 ยีน โดยมีทั้งยีนที่แสดงออกแบบยีนเด่น (*Xa1*, *Xa2*, *Xa3*, *Xa4*, *Xa6*, *Xa7*, *Xa9*, *Xa10*, *Xa11*, *Xa12*, *Xa14*, *Xa16*, *Xa17*, *Xa18*, *Xa19*, *Xa21*, *Xa23*, *Xa24*, *Xa26*) และยีนที่มีการแสดงออกแบบยีนด้อย (*xa5*, *xa8*, *xa13*, *xa19*, *xa20*, *xa22*) มีการทำ physical mapping เพื่อศึกษายีนต้านทาน *xa5* และ *xa13* พบว่าการแสดงออกของลักษณะต้านทานนั้นมีกลไกลที่ซับซ้อนและควบคุมด้วยยีนมากกว่าหนึ่งยีน (Kottapali *et al*., 2007) รวมถึงการใช้แผนที่ยีน เพื่อกำหนดตำแหน่งของยีน *Xa7* ในข้าวกลุ่มอินดิคา (Chen *et al*., 2008) และมีการศึกษาหน้าที่ของยีน *Xa3* และ *Xa26* ในข้าวที่มีลักษณะต้านทานเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Cao *et al*., 2007) และการศึกษาข้าวพันธุ์ PR106 อยู่ในกลุ่มอินดิคา ซึ่งเป็นพันธุ์พื้นบ้านในรัฐปัญจาบ ประเทศอินเดีย โดยมีการรวมยีนต้านทาน *xa5*, *xa13* และ *Xa21* ร่วมกับการคัดเลือกโดยเครื่องหมายโมเลกุล (Singh *et al*., 2000) และยังมีการรวบรวมยีนต้านทาน *xa5*, *xa13* และ *Xa21* ในข้าวอินดิคา samba mahsuri (Sundaram *et al*., 2007) รวม ถึงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคขอบใบแห้งและโรคใบขีดโดยใช้ยีน *Xa23* และ *Rxo1* ในข้าวอินดิคา (Zhou *et al*., 2008) อีกทั้งการปรับปรุงพันธุ์ข้าวลูกผสมให้ต้านทานโรคขอบใบแห้ง โดยใช้ยีน *Xa4*, *Xa7* และ *Xa21* (Perez *et al*., 2008) ในประเทศไทยได้มีการนำพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้งต่างๆ มาทดสอบความต้านทานต่อเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae (Xoo)* พบว่า ข้าวสายพันธุ์ IRBB5 ที่มียีน *xa5* อยู่นั้นสามารถแสดงความต้านทานต่อเชื้อที่มีในประเทศไทย 5 สายพันธุ์ (กาญจนา, 2544) ซึ่งสอดคล้องกับ (Nilpanit *et al*., 2004) ได้ศึกษาความต้านทานของข้าว near isogenec line 9 พันธุ์ คือ IRBB3, IRBB4, IRBB5, IRBB7, IRBB8, IRBB10, IRBB13, IRBB14 และ IRBB21 (แต่ละพันธุ์มียีนต้านทาน *Xa3*, *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *Xa8*, *Xa10*, *Xa13*, *Xa14* และ *Xa21* ซึ่งต้านทานต่อเชื้อ *Xanthomonas*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

oryzae pv. *oryzae (Xoo)* ที่คัดแยกได้ในประเทศไทยตั้งแต่ปี 1975 ถึง 2003 ทั้งหมด 109 สายพันธุ์ พบว่า IRBB5 ที่มียีน *xa5* สามารถต้านทานต่อเชื้อก่อโรคที่มีอยู่ในประเทศไทยได้ดีกว่ายีนต้านทานทั้ง 8 ยีนที่ได้นำมาศึกษา

ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa5*

ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa5* เป็นยีนที่แสดงออกในรูปแบบยีนด้อย และจากการศึกษาพบว่ายีน *xa5* ประกอบด้วยส่วนที่สังเคราะห์โปรตีน 3 ชนิดคือ ABC transport, transcription factor IIAγ (TFIIAγ) และ ส่วนที่คาดว่าเป็นโปรตีน Q94HLE โดยที่หน่วยย่อย basal transcription factor IIAγ ซึ่งมีขนาด 5.9 kb เกี่ยวข้องกับลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง (Iyer and McCouch, 2004) ในยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa5* และยีนไม่ต้านทานโรค *Xa5* พบว่า เกิดจากการกลายของนิวคลีโอไทด์แบบการแทนที่เบสในตำแหน่งที่กำหนดกรดอะมิโนลำดับที่ 39 ในส่วนของยีน *xa5* จะเป็น กรดกลูตามิก และ *Xa5* นั้นจะเป็น วาลีน จากการ ศึกษา transcription factor IIAγ ของยีน *Xa5* และยีน *xa5* พบว่าส่วน transcription factor IIAγ ของยีน *xa5* ที่มีกรดอะมิโนลำดับที่ 39 เป็นกรดกลูตามิก นั้นเป็นส่วนที่แสดงลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง (Iyer, 2004 ; Jiang *et al*., 2006) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาพันธุกรรม และลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa5* ในข้าว ซึ่งพบว่าต้นที่ต้านทานจะมีจีโนไทป์เป็น *xa5xa5* และต้นที่ไม่ต้านทานมีจีโนไทป์แบบ *Xa5Xa5* หรือ *Xa5xa5* ซึ่งเป็นการข่มสมบรูณ์ (Iyer *et al*., 2007) จากสมมติฐานรูปแบบจำลองการทำงานของยีน *xa5* ได้อธิบายว่า เชื้อก่อโรคนั้นจะมีโปรตีน Avrxa5 ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็น nuclear localization signal และ acidic activation domain (AAD) ส่วนของยีน *xa5* ประกอบด้วยโปรตีน 3 ชนิดคือ ABC transport, TFIIAγ และ Q94HLE ซึ่งมีลักษณะเป็น nucleotide binding site-leucine -rich repeat ในกรณีที่มีจีโนไทป์ *xa5xa5* โปรตีนทั้ง 3 ชนิดจะจับกับ acidic activation domain (AAD) ของโปรตีน Avrxa5 ส่งผลให้เกิดการขัดขวางการถอดรหัสของยีนในพืชนั้น รวมถึงยับยั้งกลไกต่างๆ ภายในเซลล์ ส่งผลให้เซลล์ที่ถูกเชื้อรุกรานตายเพื่อยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อ ทำให้เกิดลักษณะต้านทาน ในกรณีที่มีจีโนไทป์ *Xa5xa5* จะสังเคราะห์โปรตีน 2 รูปแบบ คือ รูปแบบต้านทานของแอลลีล *xa5* และไม่ต้านทานของแอลลีล *Xa5* ซึ่งโปรตีนที่ต้านทานนั้นสามารถจับกับ AAD ของโปรตีน Avrxa5 ได้ แต่มีปริมาณไม่มากพอที่จะยับยั้ง จึงส่งผลให้เกิดลักษณะไม่ต้านทานและเกิดโรค ส่วนของจีโนไทป์ *Xa5Xa5* นั้น โปรตีนที่สังเคราะห์ได้ ไม่สามารถจับกับ AAD ของโปรตีน Avrxa5 ได้จึงส่งผลให้เกิดลักษณะไม่ต้านทานและเกิดโรค (Iyer and McCouch, 2004)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เครื่องหมายโมเลกุล

เครื่องหมาย (marker) ในที่นี้หมายถึง สิ่งที่บอกตำแหน่งบนโครโมโซมเพื่อบ่งชี้ความแตกต่างหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) ของสิ่งมีชีวิตทั้งทางปริมาณและคุณภาพ อาจเป็นการจำแนกความแตกต่างในระหว่างและภายในสปีชีส์ หรือระหว่างและภายในประชากร หรือระหว่างแต่ละตัวก็ได้ เครื่องหมายที่บอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตซึ่งเปรียบเทียบลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยาหรือทางสรีรวิทยา เรียกว่า เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological marker) และเครื่องหมายที่เป็นดีเอ็นเอซึ่งจะเป็นส่วนของยีนหรือไม่ใช่ยีนก็ได้ ที่มีรูปแบบของดีเอ็นเอเป็นพอลิมอร์ฟิซึม และสามารถจำแนกรูปแบบที่ต่างกันได้จากเทคนิคทางโมเลกุล เรียกเครื่องหมายชนิดนี้ว่า เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker หรือ DNA marker)

เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) หมายถึง ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง สายพันธุ์หนึ่ง สปีชีส์หนึ่ง หรือในระดับต่างสปีชีส์ เป็นดีเอ็นเอที่อยู่ที่ตำแหน่งหนึ่งบนโครโมโซมหรือดีเอ็นเอในออร์แกเนลล์ การที่สามารถใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายได้เนื่องจากเกิดความแปรปรวน (variation) ของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอหรือเกิดพอลิมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอนั่นเอง ชนิดของเครื่องหมายโมเลกุลได้แก่ restriction fragment length polymorphism (RFLP marker), random amplified polymorphic DNA (RAPD marker), amplified fragment length polymorphism (AFLP), sequence tag site (STS marker) และ microsatellite (STR marker) เป็นต้น (สุรินทร์, 2545 ; อมรา, 2546)

AFLP (amplified fragment length polymorphism) เป็นเทคนิคเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบหนึ่ง พื้นฐานของ AFLP คือการตรวจสอบชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ โดยการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR (Polymerase Chain Reaction) ดังนั้นจึงรวมเอาความน่าเชื่อถือของเทคนิค RFLP (restriction fragment length polymorphism) และประสิทธิภาพของ PCR เข้าด้วยกัน เทคนิค AFLP พัฒนาขึ้นโดย Zebeau และ Vos นักวิจัยของบริษัท Keygene N.V. ประเทศเนเธอร์แลนด์ และได้จดสิทธิบัตรในปี ค.ศ. 1993 หลักการทำ AFLP แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้ คือ ขั้นตอนที่หนึ่ง ใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด ตัด genomic DNA เอนไซม์ชนิดหนึ่งสามารถตัดดีเอ็นเอได้ถี่ซึ่งมักใช้ 4 base cutter enzyme เช่น เอนไซม์ *Mse*I, *Taq*I และอีกชนิดหนึ่งสามารถตัดดีเอ็นเอได้ด้วยความถี่น้อยกว่าโดยนิยมใช้ 6 - 8 base cutter enzyme เช่น *Eco*RI, *Pst*I จากนั้นนำ adapter ของเอนไซม์ทั้งสองมาเชื่อมต่อกับชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดได้ ขั้นตอนที่สอง ทำการเพิ่มปริมาณ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดีเอ็นเอในบริเวณที่ต้องการโดยการใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR ด้วยไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสทางปลาย 5/ เหมือนกับลำดับเบสของ adapter แต่ละชนิดและเพิ่ม selective base ในส่วนท้ายของไพรเมอร์จำนวน 2 - 3 เบสเพื่อเพิ่มความจำเพาะของชิ้นดีเอ็นเอบริเวณที่ต้องการเพิ่มปริมาณหรือต้องการตรวจสอบ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โดยใช้ไพรเมอร์ที่เพิ่มเบสที่ปลาย 3/ จะทำ 2 ครั้ง ครั้งแรกเรียกว่า preselective amplification และครั้งที่สอง เรียกว่า selective amplification ขั้นตอนที่สาม นำผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ไปแยกขนาดโดยใช้ denaturing polyacrylamide gel electrophoresis และตรวจสอบด้วย autoradiography หรือ silver staining แถบของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาโดยใช้ไพรเมอร์คู่หนึ่งๆ เรียกว่าลายพิมพ์เอเอฟแอลพี (AFLP fingerprint) ซึ่งมีลักษณะแบบสุ่ม ทั้งนี้แถบดีเอ็นเอในลายพิมพ์ของแต่ละตัวอย่างจะบ่งบอกถึงความแตกต่างของชิ้นดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ จึงสามารถใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอ เรียกว่าเครื่องหมายเอเอฟแอลพี หรือ AFLP marker (สุรินทร์, 2545)

เครื่องหมายดีเอ็นเอสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจสอบ พันธุกรรมของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่ปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง (กาญจนา, 2544) ใช้ในการตรวจสอบการกลายพันธุ์ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ ด้วยการฉายรังสี (จิรพรรณ, 2550) นอกจากนี้ยังมีการใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอวิเคราะห์การเกิดโรคขอบใบแห้งในข้าว Punjab ในตอนเหนือของประเทศอินเดีย (Singh *et al*., 2002) รวมถึงใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอศึกษาการกระจายของ เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (George *et al*., 1996) และใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการตรวจสอบยีน *xa5* ในข้าว (*Oryza sativa*, L.) (Pascuzzi and McCouch 2007) รวมถึงมีการใช้เครื่องหมาย RFLP ในการคัดเลือกต้นข้าวที่มีพันธุกรรมของยีนต้านทาน *xa5*, *xa13* และ *Xa2*1 (Huang *et al*., 1996)

การคัดเลือกพันธุ์พืชด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ (Marker assisted selection, MAS)

การคัดเลือกพันธุ์พืชด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ เป็นการประยุกต์ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่อยู่ใกล้กับยีนที่ควบคุมลักษณะที่สนใจ เพื่อช่วยในการคัดเลือกพันธุ์พืชหรือสัตว์ ที่มียีนนั้นๆ ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ โดยไม่จำเป็นต้องตรวจดู ฟีโนไทป์ของพืชหรือสัตว์ที่ต้องการ การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ควรอยู่ใกล้กับยีนที่สนใจ ยิ่งอยู่ใกล้มากเท่าใดประสิทธิภาพในการช่วยคัดเลือกลักษณะดังกล่าวก็ยิ่งสูง และมีความแม่นยำมากขึ้น(สุรินทร์, 2552) การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้กับยีนที่สนใจเพื่อติดตามลักษณะนั้นๆ หรือ marker assisted foreground selection ในการปรับปรุง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พันธุ์พืชที่ผสมตัวเอง พบว่ามีการใช้ marker assisted foreground selection ช่วยในการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งทำให้สะดวกและเพิ่มโอกาสในการคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะดีกว่าเดิมได้มากขึ้น (Liu *et al*., 2004) ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งนั้น ยีนหลักที่ได้มีการศึกษามาก่อนนั้นได้มีการทำแผนที่ยีน หรือถูกโคลน เพื่อประยุกต์ใช้เป็น MAS สำหรับปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง เช่น ยีนต้านทาน *Xa1* และ *Xa2* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 4, ยีนต้านทาน *Xa3* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 11, ยีนต้านทาน *Xa4* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 11, ยีนต้านทาน *xa5* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 5, ยีนต้านทาน *xa13* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 8, ยีนต้านทาน *Xa21* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 11 เป็นต้น (Zhang *et al*., 2006; Gopalakrishnan *et al*., 2007; Kottalli *et al*., 2007; Perez L.M. *et al*., 2008) จากข้อมูลของตำแหน่งเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับยีนเหล่านี้มีการประยุกต์ใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่างๆเช่น การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Npb181, RG556, RG136 และ pTA248 ในประชากรของข้าว 9 สายพันธุ์ที่ได้จากการผสมพ่อแม่ที่เป็น isogenic line เพื่อคัดเลือกลูกผสมที่มียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง *Xa4, xa5*, *xa13* และ *Xa21* รวมอยู่ในสายพันธุ์เดียว (Huang *et al*., 1996) จากการปรับปรุงพันธุ์ข้าว minghui 63 ซึ่งเป็น restorer line สำหรับการผลิตข้าวลูกผสม ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยผสมข้าว minghui 63 กับข้าว IRBB21 ซึ่งมียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง *Xa21* เมื่อได้ลูก F_1 ทำการผสมกลับไปหา minghui 63 จากนั้นใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ 248, 21 และ AB9 ช่วยในการคัดเลือกลูกผสมที่มียีน *Xa21*

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่กระจายตัวบนทุกโครโมโซมนั้น ยังสามารถประยุกต์ใช้ตรวจสอบการกระจายตัวของโครโมโซมพ่อแม่ หรือ จีโนไทป์ในรุ่นลูกหลานได้ การประยุกต์ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการตรวจสอบองค์ประกอบทางพันธุกรรมโดยรวมของลูกหลาน เรียกว่า marker assisted background selection เช่น Gopalakrishnan *et al*., (2007) ปรับปรุงพันธุ์ข้าว Pusa Basmati 1 (PB1) โดยการผสมพันธุ์ข้าว Basmati ที่มีคุณภาพการหุงต้มและรับประทานที่ดี กับ IRBB55 ที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa13* และ *Xa21* เพื่อผลิตพันธุ์ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งและมีลักษณะคุณภาพผลผลิตที่ดี รวมถึงคุณภาพในการหุงต้มและรับประทานที่มีลักษณะเหนือกว่าพันธุ์ Pusa Basmati 1 โดยใช้วิธีการผสมกลับร่วมกับวิธีสืบพันธุประวัติ และใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ STMS จำนวน 270 เครื่องหมาย ที่กระจายตัวทั่วทั้ง 12 โครโมโซม ซึ่งสามารถบอกถึงสัดส่วน ของจีโนมว่าโครโมโซมแท่งไหนมาจากพ่อหรือแม่ หรือบริเวณใดเกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนโครโมโซม ทำให้สามารถคัดเลือกข้าวลูกผสมที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง และมีพันธุกรรมใกล้เคียงกับ Pusa Basmati 1 ถึง 86.3% Chen *et al*., (2001) การปรับปรุงพันธุ์ข้าว 6078 ให้ต้านทานต่อโรคขอบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ใบแห้งโดยผสมกับข้าวพันธุ์ IRBB21 (*Xa21*) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ 21, C189 และ AB9 ในการติดตามยีนต้านทานโรค *Xa21* ร่วมกับการปลูกเชื้อ (pathogen inoculation) เพื่อคัดเลือกลูกที่มียีน *Xa21* ในการคัดเลือกลูกหลานที่มีพันธุกรรมคล้ายคลึงกับพันธุ์ 6078 หรือ background selection นั้นได้ใช้เครื่องหมาย AFLP ซึ่งแสดงความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างพันธุ์ 6078 และ IRBB21 จำนวน 129 แถบ ทำให้สามารถคัดเลือกข้าวพันธุ์ 6078 ที่มียีน *Xa21* โดยมีพันธุกรรมใกล้เคียงกับพันธุ์ 6078 เดิมถึง 98.8% และมีลักษณะทางการเกษตรเหมือนกับพันธุ์ 6078

คุณภาพข้าวสวย

การที่ข้าวแต่ละพันธุ์มีคุณภาพข้าวสวยแตกต่างกัน เนื่องจากในส่วนของเอนโดเสปิร์ม มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักประมาณ 84 - 93% โดยน้ำหนักแห้ง และมีโปรตีนอยู่ประมาณ 5 - 14% ในส่วนของแป้งข้าวสามารถแบ่งเป็นแป้ง 2 ชนิด คือ อมิโลเพคติน (amylopectin) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลของกลูโคสจำนวนมาก และมีโครงสร้างเชื่อมต่อเป็นกิ่งก้านสาขา (branched chain) อมิโลเพคตินเมื่อย้อมด้วยสารละลายไอโอดีน จะเป็นสีน้ำตาลแดง เมื่อทำให้สุกในน้ำเดือดจะค่อนข้างคงสภาพเดิมได้นาน และเป็นส่วนที่ทำให้ข้าวสุกเหนียวติดกัน ส่วน อมิโลส (amylose) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากการรวมตัวของกลูโคสจำนวนมากเช่นกัน แต่มีโครงสร้างต่อกันเป็นแนวยาว (linear chain) เมื่อย้อมด้วยสารละลายไอโอดีน จะมีสีน้ำเงิน เมื่อทำให้สุกในน้ำเดือดและทำให้เย็นลงจะเกิดการคืนตัวเป็นของแข็ง (retrogradation) ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำลดลง และ มีผลให้ข้าวสุกร่วน และแข็งกระด้างมากขึ้น ในแป้งข้าวจะมีอมิโลสเป็นส่วนรองโดยอยู่ปะปนกับอมิโลเพคติน (งามชื่น,2545)

คุณภาพการหุงต้มและรับประทาน

คุณภาพการหุงต้มและรับประทานของข้าว เป็นคุณภาพที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสินใจเลือกซื้อ ทั้งนี้เพราะความชอบของแต่ละคนแตกต่างกัน เช่น บางคนชอบข้าวแข็งร่วนหุงขึ้นหม้อ บางคนชอบข้าวเหนียวนุ่ม คุณภาพการหุงต้มและรับประทานนี้สามารถคาดคะเนโดยคุณสมบัติเมล็ดทางเคมี ปัจจัยที่ทำให้ข้าวพันธุ์ต่างๆ มีคุณภาพของข้าวสุกแตกต่างกันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. ปริมาณอมิโลส (apparent amylose content)

แป้งข้าวที่มีอมิโลเพคตินเป็นองค์ประกอบหลัก และมีอมิโลสเป็นองค์ประกอบรอง อัตราส่วนของอมิโลส ต่อ อมิโลเพคติน เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้คุณภาพข้าวสุกแตกต่างกัน คือ อมิโลเพคตินทำให้ข้าวสุกเหนียว ในขณะที่อมิโลสทำให้ความเหนียวของข้าวสุกลดลง เช่น ข้าวเหนียวมีอมิโลเพคตินสูงมีอมิโลสอยู่เพียง 0-2% เท่านั้นข้าวสุกจึงเหนียว ส่วนข้าวเจ้าที่มีอมิโลสสูง 25-30% ข้าวสุกมักร่วนและแข็งกว่าข้าวที่มีอมิโลสปานกลาง 20-25% ข้าวที่มีอมิโลสสูงในขณะหุงต้มจะดูดน้ำและขยายตัวได้มากกว่าข้าวที่มีอมิโลสต่ำ ในข้าวหอมมะลิ มีข้าวอยู่ 2 พันธุ์ที่มีลักษณะของคุณภาพใกล้เคียงกัน คือ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และกข 15 เป็นข้าวที่มีอมิโลสต่ำ ข้าวสุกจึงนุ่มและเหนียว อีกทั้งมีกลิ่นหอมจึงเป็นที่นิยมของผู้บริโภค

2. ความคงตัวของแป้งสุก (gel consistency)

แม้ว่า ปริมาณอมิโลสเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ข้าวสุกมีคุณภาพแตกต่างกัน แต่ข้าวบางพันธุ์ที่มีปริมาณอมิโลสใกล้เคียงกัน โดยเฉพาะข้าวที่มีอมิโลสสูง คุณภาพข้าวสุกยังแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาการคืนตัวของแป้งสุกเมื่อทำให้เย็นจะทำให้แป้งแข็งตัว และมีผลต่อความนุ่มของข้าวสุก ดังนั้นค่าความคงตัวของแป้งสุกจึงสามารถใช้คาดคะเนคุณสมบัติของข้าวสุกควบคู่ไปกับปริมาณอมิโลส

3. อุณหภูมิแป้งสุก (gelatinization temperature)

อุณหภูมิที่ทำให้แป้งกลายเป็นเจลและเปลี่ยนจากทึบแสงเป็นใส สมบัตินี้มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาหุงข้าวให้สุก ข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกสูง จะใช้เวลาในการหุงต้มนานกว่าข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ โดยทั่วไปการหุงข้าวให้สุกใช้เวลา 13-24 นาที ในการปรับปรุงพันธุ์มักใช้วิธีการหาค่าการสลายเมล็ดในด่างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 1.7% เนื่องจากสามารถวิเคราะห์ได้เร็วและทำได้หลายตัวอย่าง

4. อัตราการยืดตัวของเมล็ดข้าวสุก (elongation ratio)

ในระหว่างการหุงต้มเมล็ดข้าวจะขยายตัวโดยรอบ โดยเฉพาะด้านยาว ข้าวบางพันธุ์สามารถยืดตัวได้มาก ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษ เช่น ข้าวบาสมาติ 370 สามารถยืดตัวได้มากกว่า 2 เท่าของความยาวเมล็ดข้าวสาร การที่เมล็ดขยายตัวได้มากทำให้เนื้อภายในโปร่งใสขึ้น ไม่อัดแน่น ส่วนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ก็มีการยืดตัวดี ทำให้ข้าวสุกน่ารับประทาน แต่เนื่องจากเป็นข้าวที่มีอมิโลสต่ำข้าวสุกจึงเหนียวนุ่มติดกันทำให้ไม่ขึ้นหม้ออัตราการยืดตัวของเมล็ดข้าวสุก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หมายถึง อัตราส่วนระหว่างความยาวของเมล็ดข้าวสุกต่อความยาวของเมล็ดข้าวสาร ได้มีการแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ยืดปกติมีค่าน้อยกว่า 1.9 และยืดมากมีค่ามากกว่า 1.9

5. กลิ่นหอม (aroma)

กลิ่นหอมเป็นลักษณะพิเศษและเป็นลักษณะประจำพันธุ์ ข้าวที่มีกลิ่นหอมจะทำให้ความชอบของผู้บริโภคบางกลุ่มเพิ่มขึ้น ข้าวที่มีกลิ่นหอมจะมีสาร 2 acetyl-1-pyrroline มากกว่าข้าวทั่วไป ในข้าวสารของข้าวหอมพันธุ์ต่างๆ จะมีปริมาณสารดังกล่าว 0.04 - 0.09 ไมโครกรัมต่อกรัม (ละม้ายมาศ, 2544)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมกลับ ที่ได้จากการผสม KDML105//KDML105/IRBB5

2. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบยีน *xa5* และตรวจสอบพันธุกรรมในภาพรวม โดย เทคนิค AFLP

3. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบความต้านทานต่อเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

วิธีการ

1. การผลิตลูกผสม BC_1F_5 ที่ได้ปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง

เมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_3 ที่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง (สุพรรณญิกา, 2549) ได้จากการผสมข้าวพันธุ์ IRBB5 ซึ่งมียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง *xa5* กับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เมื่อได้ลูกผสม ทำการผสมกลับ (back cross) ไปยังข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ได้ลูกผสมกลับ BC_1F_1 คัดเลือกลูกผสมกลับ BC_1F_1 ที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง (*xa5*) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ RG556 (Huang *et al*., 1997; Sanchez *et al*., 2000) ข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_1 ที่มียีน *xa5* ซึ่งคัดเลือกได้จำนวน 7 ต้น นำออกปลูกโดยปล่อยให้มีการผสมตัวเองเพื่อสร้างลูกผสมกลับ BC_1F_2 นำไปทดสอบความต้านทานโรคด้วยวิธีปลูกถ่ายเชื้อ โดยใช้วิธี clipping technique และประเมินระดับความต้านทานโรคด้วยระบบ Standard Evaluation System (SES) ของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) พบว่าลูกผสมกลับ BC_1F_2 แสดงลักษณะต้านทานรวม 58 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นลักษณะต้านทานสูง (HR) 1 สายพันธุ์ ลักษณะต้านทาน (R) 12 สายพันธุ์ และลักษณะค่อนข้างต้านทาน (MR) 45 สายพันธุ์ นำสายพันธุ์ที่มีลักษณะต้านทานโรคระดับ HR และ R ทั้ง 13 สายพันธุ์ ออกปลูกเพื่อเก็บเมล็ด BC_1F_3 และสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนของลูกผสมกลับ BC_1F_2 ทั้ง 13 สายพันธุ์ นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากใบอ่อนมาตรวจสอบ ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ RG556 (Huang *et al*., 1997; Sanchez *et al*., 2000) พบว่ามียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งทั้ง13 สายพันธุ์ และมีจีโนไทป์ใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตำแหน่งของยีนต้านทานโรค *xa5* อยู่ในสภาพโฮโมไซกัส เมื่อวิเคราะห์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมโดยเทคนิค AFLP จากไพรเมอร์ 15 คู่ พบว่าทั้ง 13 สายพันธุ์มีพันธุกรรมเหมือนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 อยู่ระหว่าง 67.12 ถึง 82.19% งานวิจัยครั้งนี้ได้นำเมล็ดลูกผสมกลับ BC_1F_3 ที่มีพันธุกรรมเหมือนกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 อยู่ในช่วงดังกล่าวออกปลูกและปล่อยให้ผสมตัวเองอีก 2 ชั่วรุ่นและคัดเลือกลูกผสมกลับ BC_1F_5 มา 14 สายพันธุ์

2. การตรวจสอบการคงอยู่ของยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง (*xa5*) ของลูกผสมกลับ BC_1F_5

สกัดดีเอ็นเอจากใบของต้นข้าวลูกผสมทั้ง 14 สายพันธุ์ตามวิธีของ Agrawal *et al.*(1992) นำมาตรวจสอบการคงอยู่ของยีน *xa5* โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ RG556 (Huang *et al*., 1997; Sanchez *et al*., 2000) โดยการเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ RG556 F: 5′TAGCTGCTGCCGTGC TGTGC3′ และ RG556R : 5′AATATTTCAGTGTGCATCTC3′ และตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpy* CH4 IV เพื่อตรวจสอบการคงอยู่ของยีน *xa5* ในข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง14 สายพันธุ์

ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ใช้ปริมาณสารต่างๆ ดังนี้

จีโนมิกดีเอ็นเอ (50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร)	2	ไมโครลิตร
10XPCR buffer +$MgCl_2$	2	ไมโครลิตร
dNTP ความเข้มข้นชนิดละ 2 มิลลิโมลาร์	2	ไมโครลิตร
ไพรเมอร์ F (5 พิโคโมล ต่อไมโครลิตร)	1	ไมโครลิตร
ไพรเมอร์ R (5 พิโคโมล ต่อไมโครลิตร)	1	ไมโครลิตร
Ultrapure H_2O	11.9	ไมโครลิตร
Taq polymerase	0.1	ไมโครลิตร
ปริมาตรรวม	20.0	ไมโครลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นำเข้าเครื่อง PCR โดยใช้สภาวะดังนี้

ขั้นที่ 1 อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที

ขั้นที่ 2 อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที

อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที

อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที

ทำปฏิกิริยา 35 รอบ แล้วจึงบ่มต่อที่ 72 องศาเซลเซียส อีก 5 นาที

ขั้นที่ 3 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากนั้นนำผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ปริมาตร 5 ไมโครลิตร มาแยกขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยวิธี electrophoresis โดยใช้ agarose gel 1% ย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ และตรวจสอบภายใต้แสง UV แล้วจึงนำผลผลิตที่เหลือไปตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpy* CH4 IV โดยเติมเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpy* CH4 IV (10 U/µl) 1 ไมโครลิตร บัฟเฟอร์สำหรับเอนไซม์ 2 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 2 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ข้ามคืน แล้วนำไปแยกขนาดแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยวิธี electrophoresis โดยใช้ agarose gel 1% ย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ และตรวจสอบภายใต้แสง UV

3. การทดสอบความต้านทานโรคขอบใบแห้งของลูกผสมกลับ BC_1F_5

นำเมล็ดลูกผสม BC_1F_5 ส่วนหนึ่งออกปลูก โดยปล่อยให้มีการผสมตัวเองเพื่อสร้างลูกผสม BC_1F_6 และอีกส่วนหนึ่งนำมา ทดสอบความต้านทานโรคขอบใบแห้งโดยวิธีการปลูกถ่ายเชื้อ (pathogen inoculation) โดยปลูกข้าวลูกผสมกลับ ทั้ง 14 สายพันธุ์ พร้อมกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ไทชุงเนทีฟ 1 (TN1) เพื่อใช้เป็นพันธุ์ไม่ต้านทานมาตรฐาน (susceptible check variety) และพันธุ์ IRBB5 และ พันธุ์ กข23 เพื่อใช้เป็นพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน (resistant check variety) เมื่อต้นกล้าอายุได้ 45 วัน ดำเนินการปลูกถ่ายเชื้อ ด้วยวิธี clipping technique (Kauffman *et al*., 1973) โดยใช้กรรไกรจุ่มในเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สายพันธุ์ 0701 ของกองโรคพืชกรมวิชาการเกษตร แล้วนำไปตัดใบอ่อนทุกใบของต้นกล้าทุกต้นทั้ง 14 สายพันธุ์ และประเมินความต้านทานโรคที่ 14 วันหลังการปลูกเชื้อ ด้วยระบบ Standard Evaluation System (SES) ของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI, 1996) โดยให้คะแนนเป็น 1 , 2 , 3 , 4 , 5 , 6 , 7 , 8 และ 9 ตามระดับความเสียหายของข้าว ซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์พื้นที่บนใบที่เกิดโรค ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ระดับคะแนน	ความเสียหายจากการทำลายของโรค	ระดับความต้านโรค
1	0-3%	HR (highly resistant)
2	4-6%	R (resistant)
3	7-12%	MR (moderately resistant)
4	13-25%	MS (moderately susceptible)
5	26-50%	MS (moderately susceptible)
6	51-75%	MS (moderately susceptible)
7	76-87%	S (susceptible)
8	88-94%	HS (highly susceptible)
9	95-100%	HS (highly susceptible)

4. การตรวจสอบเพื่อเปรียบเทียบพันธุกรรมของลูกผสมกลับ BC_1F_5 กับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

การตรวจสอบความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง14 สายพันธุ์ โดยสกัดดีเอ็นเอ จากใบอ่อนของข้าวลูกผสมทั้ง 14 สายพันธุ์ แล้วนำมาตรวจสอบด้วยเทคนิค amplified fragment length polymorphism (AFLP) โดยใช้ไพรเมอร์ *Eco*RI+3 และ *Mse*I+3 ทั้งหมด 15 คู่ ได้แก่ E1/M1 , E1/M4, E1/M8, E2/M1 , E2/M3 , E3/M2 , E3/M4, E4/M6, E4/M7, E4/M8, E5/M6 , E5/M7 , E7/M1 , E8/M6 และ E8/M8 (สุพรรณญิกา, 2549) โดย ลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ปรากฏดังตารางที่1

ตารางที่ 1 ลำดับเบสของไพรเมอร์แต่ละชนิด

ไพรเมอร์ *Eco*RI	ไพรเมอร์ *Mse*I
E1 = GACTGCGTACCAATTC**AAC**	M1 = CAGGATTCCTGAGTAA**CAG**
E2 = GACTGCGTACCAATTC**AAG**	M2 = CAGGATTCCTGAGTAA**CAC**
E3 = GACTGCGTACCAATTC**ACA**	M3 = CAGGATTCCTGAGTAA**CAA**
E4 = GACTGCGTACCAATTC**ACT**	M4 = CAGGATTCCTGAGTAA**CTA**
E5 = GACTGCGTACCAATTC**AGC**	M6 = CAGGATTCCTGAGTAA**CTT**
E7 = GACTGCGTACCAATTC**ACG**	M7 = CAGGATTCCTGAGTAA**CAT**
E8 = GACTGCGTACCAATTC**AGG**	M8 = CAGGATTCCTGAGTAA**CTC**

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ 2 ขั้นตอน (preselective และ selective amplification) แล้ววิเคราะห์ขนาดของแถบดีเอ็นเอด้วยวิธี denaturing polyacrylamide gel electrophoresis (สุรินทร์, 2552)

5. การตรวจวัดองค์ประกอบผลผลิตของข้าวลูกผสม BC_1F_5

ตรวจวัดองค์ประกอบผลผลิต ของข้าวลูกผสม BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD (randomize complete block design) ที่แปลงทดลองข้าวของศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ซึ่งทำการปลูกจำนวน 3 ซ้ำ โดยมีระยะปลูก 25 x 25 เซนติเมตร แต่ละสายพันธุ์ปลูก 6 แถว เมื่อต้นข้าวเจริญเติบโต จดบันทึกวันออกดอก และวัดองค์ประกอบผลผลิต ในระยะติดเมล็ดซึ่งพร้อมที่จะเก็บเกี่ยวดังนี้

1. บันทึกวันออกดอกที่ 75%
2. ความสูง (ซ.ม.) จากโคนต้นจนถึงใบธง สุ่มวัด 10 กอ คำนวณหาค่าเฉลี่ยของแต่ละสายพันธุ์
3. จำนวนต้นต่อกอ สุ่มวัด 10 กอ คำนวณหาค่าเฉลี่ยของแต่ละสายพันธุ์
4. จำนวนรวงต่อกอ สุ่มวัด 10 กอ คำนวณหาค่าเฉลี่ยของแต่ละสายพันธุ์
5. ความยาวรวง (ซ.ม.) จากคอรวงถึงปลายรวง สุ่มวัด 5 รวง คำนวณหาค่าเฉลี่ยของแต่ละสายพันธุ์
6. เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีต่อรวง สุ่มวัด 5 รวง คำนวณหาค่าเฉลี่ยของแต่ละสายพันธุ์
7. น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (กรัม) สุ่มนับ 1,000 เมล็ดแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก
8. ผลผลิตเทียบเป็นกิโลกรัมต่อไร่ที่ความชื้นมาตรฐาน โดยชั่งน้ำหนักของผลผลิตที่เกี่ยวได้ ซึ่งในที่นี้เกี่ยว 4 แถวกลาง และวัดความชื้น ทำการปรับผลผลิตที่ความชื้นมาตรฐานที่ 14% จากสูตร

$$\text{ผลผลิตที่ความชื้นมาตรฐาน} = \frac{100 - \text{ความชื้นที่วัดได้}}{100 - \text{ความชื้นมาตรฐาน } 14\%} \times \text{น้ำหนักตัวอย่างที่ชั่งได้}$$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. การตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดข้าวทางกายภาพ

นำเมล็ดข้าวที่เก็บเกี่ยวจากต้นลูกผสม BC_1F_5 (BC_1F_6 seed) มาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่

1. ขนาดและรูปร่าง (grain size and shape) การกำหนดมาตรฐานขนาดของเมล็ดแตกต่างกันในแต่ละประเทศ การศึกษาครั้งนี้ใช้มาตรฐานของ สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ซึ่งได้กำหนดความยาวเมล็ดโดยใช้มาตรฐาน ของสหรัฐอเมริกา ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 ระดับ

ชนิดของเมล็ด	ความยาว (มม.)
Extra long grain	ยาวกว่า 7.50
Long grain	6.61-7.50
Medium grain	5.51-6.60
Short grain	สั้นกว่า 5.50

รูปร่างของเมล็ดข้าว เป็นค่าอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างซึ่งแบ่งออกเป็น ดังนี้

รูปร่างเมล็ด	ความยาว/ความกว้าง
เรียว (slender)	มากกว่า 3.0
ปานกลาง (medium)	2.1-3.0
ป้อม (bold)	1.1-2.0
กลม (round)	ต่ำกว่า 1.0

2. สีข้าวเปลือก (hull color) สีของข้าวกล้องจะแสดงออกที่เยื่อหุ้มผล ข้าวกล้องมีสีต่างๆ กัน เช่น ขาว แดง น้ำตาลเข้ม น้ำตาลเทา และม่วงเกือบดำ

3. ลักษณะท้องไข่ (chalkiness) ประเมินจากจุดสีขาวขุ่นคล้ายชอล์คที่เกิดขึ้นในเอนโดสเปิร์มของเมล็ดข้าวสาร ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 ระดับ ดังนี้

ลักษณะเมล็ด	ค่าท้องไข่
เมล็ดใส (clear grain)	0
ท้องไข่เล็กน้อย (slightly chalky)	น้อยกว่า 1
ท้องไข่ปานกลาง (moderately chalky)	1-1.5
ท้องไข่ค่อนข้างมาก (chalky)	1.6-2
ท้องไข่มาก (very chalky)	มากกว่า 2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. การตรวจสอบคุณภาพการหุงต้มและรับประทานของข้าว

นำเมล็ดข้าวที่เก็บเกี่ยวจากต้นลูกผสม BC_1F_5 (BC_1F_6 seed) มาวิเคราะห์คุณภาพการหุงต้มและรับประทานของข้าวได้แก่

1. ปริมาณอมิโลส (apparent amylose content) วิเคราะห์โดยอาศัยปฏิกิริยาทางเคมีเมื่ออมิโลสทำปฏิกิริยากับไอโอดีน จะได้สีน้ำเงินและวัดความเข้มของสีโดยใช้ สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 620 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานแป้งข้าวที่มีปริมาณอมิโลสที่ระดับต่างๆ ซึ่งสามารถแบ่งได้ดังนี้

ประเภทข้าว	% อมิโลส	ลักษณะข้าวสุก
ข้าวเหนียว	0 - 2	เหนียวมาก
ข้าวอมิโลสต่ำ	10 - 19	เหนียวและนุ่ม
ข้าวอมิโลสปานกลาง	20 - 25	เหนียวและนุ่มเล็กน้อย
ข้าวอมิโลสสูง	25 - 34	ร่วนค่อนข้างแข็ง

2. ความคงตัวของแป้งสุก (gel consistency) วิเคราะห์โดยอาศัยระยะทางที่แป้งสุกไหลไปเมื่อวางในแนวราบ ซึ่งจัดเป็น 3 พวกคือ

ประเภทแป้งสุก	ระยะทางที่แป้งไหล (มม.)
แป้งสุกแข็ง	น้อยกว่า 40
แป้งสุกอ่อนปานกลาง	41 - 60
แป้งสุกอ่อน	61 - 100

3. อุณหภูมิของแป้งสุก (gelatinization temperature) ประเมินได้จากค่าการสลายเมล็ดในด่าง ค่าการสลายเมล็ดข้าวในสารละลายด่าง (alkaline test) วิเคราะห์โดยการนำเมล็ดแช่ในสารละลาย KOH ความเข้มข้น 1.7% ตั้งทิ้งไว้นาน 23 ชั่วโมง แล้วจึงอ่านค่าการกระจายของเมล็ด

อุณหภูมิของแป้งสุก (^{o}C)	ประเภทอุณหภูมิแป้งสุก	ค่าการสลายเมล็ดในด่าง KOH 1.7%
ต่ำกว่า 69	ต่ำ	6 - 7
70-74	ปานกลาง	4 - 5
สูงกว่า 74	สูง	1 - 3

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การยืดตัวของเมล็ดข้าวสุก (elongation ratio) วิเคราะห์โดยสุ่มเมล็ดข้าวสาร วัดความยาว นำไปแช่น้ำนาน 30 นาที แล้วจึงนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาทีจากนั้นนำเมล็ดข้าวแช่เย็นและเลือกเมล็ดที่ตรง ทำการวัดความยาว อัตราการยืดตัวของเมล็ดข้าวสุก = ความยาวของเมล็ดข้าวสุก/ความยาวเฉลี่ยของเมล็ดข้าวสาร แบ่งอัตราการยืดตัวของเมล็ดข้าวสุกเป็น 2 กลุ่มคือ

ยืดตัวปกติ อัตราการยืดตัวน้อยกว่า 1.9

ยืดตัวมาก อัตราการยืดตัวมากกว่า 1.9

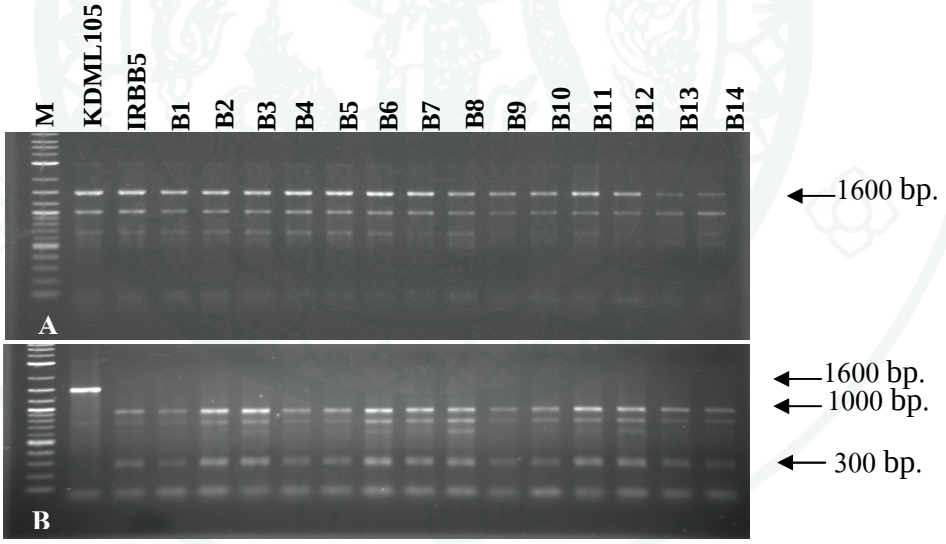
5. กลิ่นหอม (aroma) ชั่งเมล็ดข้าวสาร 2 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำเกลือ (NaCl) 10% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็น แล้วดมกลิ่นของสารระเหยโดยเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ละม้ายมาศ, 2544)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

การตรวจสอบการคงอยู่ของยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง (*xa5*) ของลูกผสมกลับ BC_1F_5

สกัดดีเอ็นเอจากต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทดสอบการคงอยู่ของยีนต้านทานโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ RG556 (Sanchez *et al*., 2000) พบว่า ทุกต้นมีแถบดีเอ็นเอขนาด 1,600 bp เหมือนกันและเมื่อตัดด้วยเอนไซม์ ตัดจำเพาะ *Hpy* CH4 IV พบว่าลูกผสมทั้ง 14 สายพันธุ์ ปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 1,000 bp และ 300 bp เช่นเดียวกับในพันธุ์ IRBB5 ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง ซึ่งควบคุมด้วยยีนด้อย *xa5* อยู่ในสภาพโฮโมไซกัส (ภาพที่1) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sengsai (2007) ซึ่งทดลองในลูกผสมกลับ BC_1F_2 ชี้ให้เห็นว่ายีนต้านทานโรค (*xa5*) สามารถถ่ายทอดจากรุ่น BC_1F_2 ไปสู่ลูกผสมกลับ BC_1F_5 และสามารถตรวจสอบด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ RG556 ได้



ภาพที่ 1 แถบดีเอ็นเอที่พบในลูกผสมกลับ BC_1F_5

A= แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณ ด้วยไพรเมอร์ RG556

B= แถบดีเอ็นเอที่ได้ภายหลังจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpy* CH4 IV

M คือ 1kb DNA marker, KDML 105 คือ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105,

IRBB5 คือ พันธุ์ IRBB5 และ B1-B14 คือดีเอ็นเอของลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ที่ 1-14

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การทดสอบความต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5

จากการเพาะเมล็ดลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ และพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ไทชุงเนทีฟ 1 (TN1) เพื่อใช้เป็นพันธุ์ไม่ต้านทานมาตรฐาน (susceptible check variety) รวมทั้งพันธุ์ IRBB5 และพันธุ์ กข23 เพื่อใช้เป็นพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน (resistant check variety) แล้วนำไปปลูกถ่ายเชื้อเพื่อทดสอบความต้านทานโรคด้วยวิธี clipping technique (Kauffman *et al*., 1973) พบว่าข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง14 สายพันธุ์ นั้นมีระดับความต้านทานต่อโรคอยู่ในระดับต้านทาน (resistance, R) ทั้งหมด และมีระดับต้านทานสูงกว่าพันธุ์ กข23 ซึ่งใช้เป็นพันธุ์ต้านทานมาตรฐานของกองโรคพืชกรมวิชาการเกษตร (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับรายงานการทดสอบข้าว PR106 ซึ่งเป็นพันธุ์พื้นบ้านในประเทศอินเดีย ซึ่งมียีน *xa5* พบว่าสามารถต้านทานเชื้อถึง 15 สายพันธุ์ของประเทศอินเดีย และ 5 สายพันธุ์ของประเทศฟิลิปปินส์ (Singh *et al*., 2000) ส่วนในประเทศไทยมีรายงานการทดสอบความต้านทานเชื้อ ของข้าวพันธุ์ IRBB5 ที่มียีน *xa5* นั้นสามารถแสดงความต้านทานต่อเชื้อที่มีในประเทศไทย 5 สายพันธุ์ (กาญจนา, 2544; Nilpanit *et al*., 2004)

ตารางที่ 2 ระดับคะแนนเฉลี่ยและระดับความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งที่ควบคุมด้วยยีน *xa5* ตาม ระบบ Standard Evaluation System (SES) (IRRI, 1996)

ตัวอย่าง	ระดับคะแนนเฉลี่ย	ระดับต้านทาน	ตัวอย่าง	ระดับคะแนนเฉลี่ย	ระดับต้านทาน
KDML105	6.6	S	B6	2.4	R
TN1	7.0	HS	B7	2.4	R
IRBB5	1.8	R	B8	2.0	R
กข23	3.9	MS	B9	2.1	R
B1	2.1	R	B10	2.1	R
B2	2.1	R	B11	1.9	R
B3	1.8	R	B12	2.1	R
B4	2.1	R	B13	2.3	R
B5	2.2	R	B14	2.1	R

S = susceptible MS= moderately susceptible HS= highly susceptible R= resistant

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

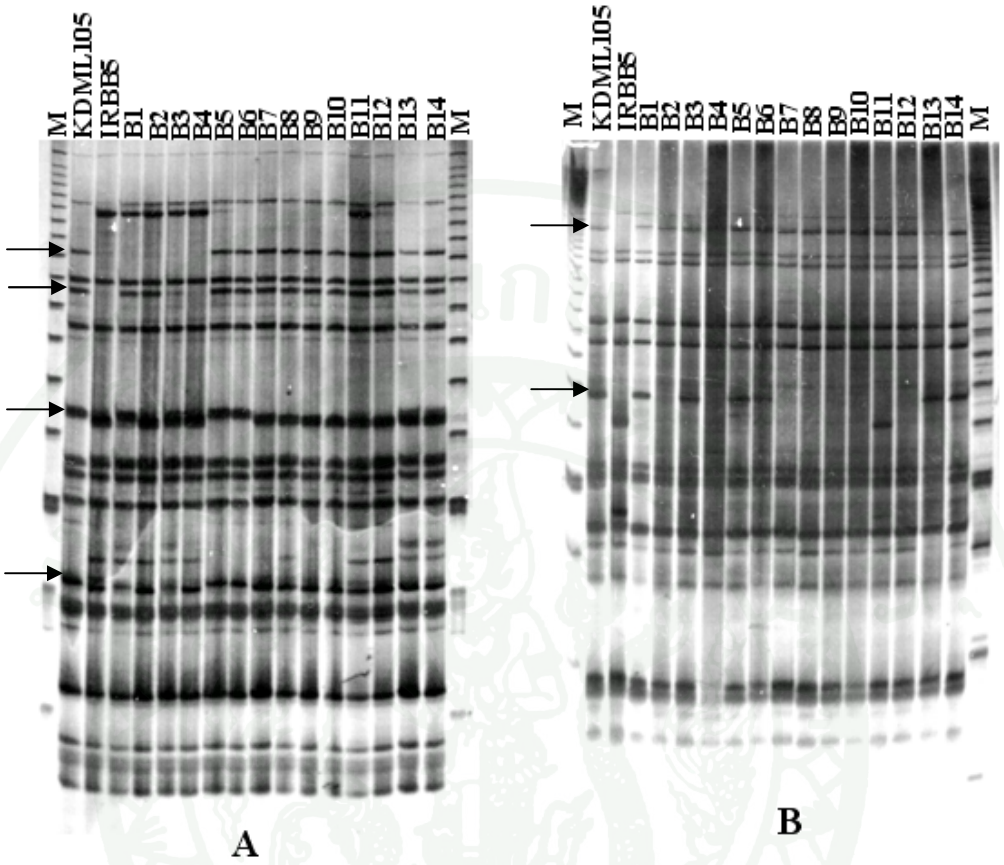
การตรวจสอบความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของลูกผสมกลับ BC_1F_5 กับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

จากการนำดีเอ็นเอของข้าวลูกผสมกลับทั้ง 14 สายพันธุ์มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางพันธุกรรม เปรียบเทียบกับ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้เทคนิค AFLP ด้วยไพรเมอร์ 15 คู่ พบว่าปรากฏแถบดีเอ็นเอที่สามารถตรวจนับได้ในพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ทั้งหมด 212 แถบ และนำมาเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ภาพที่2) เมื่อวิเคราะห์ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมพบว่าลูกผสม BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีพันธุกรรมใกล้เคียงกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ตั้งแต่ 96.23 - 99.06% โดยที่ลูกผสม B1, B3, B5, B6, B13 และ B14 มีพันธุกรรมใกล้เคียงมากที่สุดคือ 99.06% (ตารางที่3) ซึ่งคาดว่าลูกผสมเหล่านี้มีคุณภาพใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มากและมีความต้านทานโรคขอบใบแห้ง ซึ่งต้องนำสายพันธุ์เหล่านี้ไปทดสอบคุณภาพและผลผลิตต่อไป

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงทางพันธุ์กรรมของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 เมื่อเทียบจากการปรากฏของแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

สายพันธุ์	จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในขาวดอกมะลิ 105	จำนวนแถบดีเอ็นเอของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่ปรากฏเหมือนกับขาวดอกมะลิ 105	เปอร์เซ็นต์พันธุกรรมของขาวดอกมะลิ105 ในลูกผสมกลับ BC_1F_5
B1	212	210	99.06
B2	212	206	97.17
B3	212	210	99.06
B4	212	205	96.7
B5	212	210	99.06
B6	212	210	99.06
B7	212	205	96.7
B8	212	205	96.7
B9	212	205	96.7
B10	212	204	96.23
B11	212	207	97.64
B12	212	206	97.17
B13	212	210	99.06
B14	212	210	99.06

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 2 ตัวอย่างลายพิมพ์ AFLP ที่ได้จากคู่ไพรเมอร์ E-AAC/M-CAG (A) และ ไพรเมอร์ E-AGG/M-CTC (B) (ลูกศรชี้แสดงตำแหน่งของแถบที่ต่างกันในตำแหน่งเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105) สายพันธุ์ B1- B14 เป็นดีเอ็นเอจากต้นลูกผสมกลับ BC_1F_5

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

องค์ประกอบผลผลิตของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5

จากการปลูกข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ วัดองค์ประกอบผลผลิต วันออกดอก ความสูง จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ ความยาวรวง เมล็ดดี เมล็ดเสีย น้ำหนัก 1,000 เมล็ด ผลผลิตกิโลกรัมต่อไร่ที่ความชื้นมาตรฐาน 14% ได้ผลดังนี้

วันออกดอกที่ 75%

จากการเปรียบเทียบวันออกดอกของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยจดบันทึกวันออกดอกที่ 75% พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ B1, B2, B3 และ B4 มีวันออกดอกเร็วที่สุดคือ 76 วัน ซึ่งเร็วกว่า พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (98 วัน) และ พันธุ์ IRBB5 (93 วัน) รวมทั้งลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์อื่นๆ ซึ่งคาดว่าจะมีลักษณะที่ไม่ไวแสงเหมือนกับ พันธุ์ IRBB5 ส่วนลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ที่เหลือ มีวันออกดอกใกล้เคียงกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งอยู่ในช่วง 91- 100 วัน แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า สายพันธุ์ B7, B11 และ B12 นั้นมีวันออกดอกที่เร็วกว่าพันธุ์ IRBB5 คือ 88, 89 และ 83 วัน ตามลำดับ คาดว่าทั้ง 3 สายพันธุ์นี้อาจจะมีลักษณะไม่ไวแสงซึ่งจะได้ทำการปลูกทดสอบต่อไป (ตารางที่ 4)

ความสูงของต้น

จากการสุ่มวัดความสูงของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยที่สายพันธุ์ B5 มีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด 158.30 ซ.ม. ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ B6, B13, B14 และ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยมีความสูง 156.47, 154.30, 155.47 และ 158.10 ซ.ม. ตามลำดับ ตรงกันข้ามกับสายพันธุ์ B1, B2, B3 และ B4 ที่มีลักษณะต้นเตี้ย คือสูง 89.60, 88.43, 89.93 และ 89.83 ซ.ม. ตามลำดับ ซึ่งคล้ายคลึงกับพันธุ์ให้ คือ IRBB5 ซึ่งสูง 90.03 ซ.ม. (ตารางที่ 4)

จำนวนต้นต่อกอ

จากการสุ่มวัดจำนวนต้นต่อกอของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือ ข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ B2 มีจำนวนต้นต่อกอเฉลี่ยมากที่สุด คือ 16.27 ต้นต่อกอ ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ B1, B3, B4 และ IRBB5 ซึ่งมีจำนวนต้นต่อก่อเฉลี่ย15.23,

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

15.13, 15.13 และ 13.67 ต้นต่อกอตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าลักษณะการแตกกอมากหรือน้อยนั้นน่าจะมีปัจจัยมาจากพันธุกรรม โดยพันธุ์ IRBB5 จะมีการแตกกอมากกว่าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งมีการแตกกอน้อยที่สุดเพียง 11.17 ต้นต่อกอ แต่ใกล้เคียงกับข้าวลูกผสมสายพันธุ์ที่เหลือซึ่งมีค่าเฉลี่ยการแตกกอ อยู่ที่ 12.0 – 13.37 ต้นต่อกอ ลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ต่างก็มีการแตกกอที่ดีกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ตารางที่ 4) แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ลูกผสมกลับ BC_1F_5 (B1, B2, B3 และ B4) ที่มีลักษณะต้นเตี้ยเหมือนกับพันธุ์ IRBB5 มีลักษณะการแตกกอที่ไม่ดี คือ มีกอแผ่กระจายออกไม่กระชับเหมือนกับลูกผสมสายพันธุ์อื่น หรือพันธุ์พ่อแม่ (ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5)

จำนวนรวงต่อกอ

จากการสุ่มวัดจำนวนรวงต่อกอของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยที่สายพันธุ์ B2 มีจำนวนรวงเฉลี่ยต่อกอมากที่สุดคือ 15.73 รวงต่อกอ ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ B1, B3 และ B4 ซึ่งมีจำนวนรวงต่อกอเฉลี่ย 15.0, 15.0 และ 14.77 รวงต่อกอ ตามลำดับ แต่มากกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่มีจำนวนรวงต่อกอเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 10.13 รวงต่อกอ ซึ่งไม่มีความแตกต่างจาก ข้าวลูกผสมกลับสายพันธุ์อื่นๆ และ IRBB5 ที่มีจำนวนรวงเฉลี่ยต่อกอ 11.07 – 12.50 รวงต่อกอ (ตารางที่ 4)

ความยาวรวง

จากการสุ่มวัดความยาวรวงของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยที่สายพันธุ์ B13 มีความยาวรวงมากที่สุดคือ 28.15 ซ.ม. ยาวมากกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 (24.81 ซ.ม.) และ IRBB5 (25.54 ซ.ม.) ซึ่งมีความยาวรวงใกล้เคียงกับลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่มีลักษณะต้นสูง (B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, B13 และ B14) โดยที่ลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่มีลักษณะต้นเตี้ย (B1, B2, B3 และ B4) มีความยาวรวง 21.63, 22.31, 21.81 และ 21.35 ซ.ม. ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จำนวนเมล็ดต่อรวง

จากการสุ่มนับจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ B9 มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อรวงมากที่สุด คือ 134 เมล็ด ใกล้เคียงกับลูกผสมกลับ BC_1F_5 ซึ่งมีลักษณะต้นสูง (B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, B13 และ B14) และพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (110.67 เมล็ด) กับ IRBB5 (116.67 เมล็ด) ส่วนข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่มีลักษณะต้นเตี้ย (B1, B2, B3 และ B4) มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อรวงน้อยคือ 82.67, 92.0, 84.0 และ 85.0 เมล็ดต่อรวง ซึ่งน้อยกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 ที่เป็นพันธุ์พ่อแม่ (ตารางที่ 4)

เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีต่อรวง

จากการสุ่มนับจำนวนเมล็ดดีต่อรวงของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีต่อรวงของลูกผสมกลับ BC_1F_5 แต่ละสายพันธุ์เมื่อเทียบกับ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 นั้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ คือ มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีต่อรวงอยู่ที่ 62.85 ถึง 91.18 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

น้ำหนัก 1,000 เมล็ด

จากการสุ่มวัดน้ำหนัก 1,000 เมล็ด ของข้าวลูกผสม BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ คือน้ำหนัก 1,000 เมล็ดเฉลี่ย ของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ B5 และ B6 มีน้ำหนัก เฉลี่ยมากที่สุดคือ 27.63 และ 27.19 กรัมตามลำดับ ซึ่งมากกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (25.20 กรัม) ซึ่งมีน้ำหนักมากเป็นอันดับ 2 และ IRBB5 (22.07 กรัม) ซึ่งแตกต่างจากลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่มีลักษณะเตี้ย (B1, B2, B3 และ B4) โดยมีน้ำหนัก 1,000 เมล็ด เฉลี่ยอยู่ที่ 20.75 กรัม ถึง 21.97 กรัม ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีน้ำหนักเมล็ดเบา (ตารางที่ 4)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่)

ผลผลิตของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ปลูกในแปลงทดลองที่ศูนย์ข้าวปทุมธานีได้รับความเสียหายเนื่องจาก ฝนตกหนัก ทำให้ต้นข้าวหักล้ม และถูกนกเหยียบ จนเกิดความเสียหายมากในส่วนของแปลงทดลองในซ้ำที่ 3 และบางสายพันธุ์ในแปลงทดลองซ้ำที่ 1 คือ ข้าวลูกผสม BC_1F_5 สายพันธุ์ B5 ได้รับความเสียหายในแปลงทดลองซ้ำ 1 และอีก 7 สายพันธุ์ในแปลงทดลองซ้ำที่ 3 คือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, B5, B8, B9, B10, B11 และ B13 ทำให้ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตในแปลงทดลองดังกล่าวได้ ด้วยสาเหตุดังกล่าว จึงต้องวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของผลผลิตแบบจำนวนซ้ำไม่เท่ากัน โดยนำผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้มาชั่งน้ำหนัก และวัดความชื้นแล้วปรับน้ำหนัก ที่ชั่งได้ เป็นน้ำหนักผลผลิตที่ความชื้นมาตรฐาน 14% คำนวณผลผลิตที่ได้ทั้งหมดเป็นหน่วยกิโลกรัมต่อไร่ จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ คือ มีผลผลิตอยู่ที่ 323.15 กิโลกรัมต่อไร่ ถึง 526.49 กิโลกรัมต่อไร่ และมีลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ B7 และ B8 ที่มีแนวโน้มให้ผลผลิตมากกว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (449.03 กิโลกรัมต่อไร่) คือ 493.3 และ 526.49 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 4)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 วันออกดอกที่ 75% , ความสูง, จำนวนต้นต่อกอ, จำนวนรวงต่อกอ, ความยาวรวง, เมล็ดทั้งหมด, %เมล็ดดี, น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และผลผลิตที่ความชื้นมาตรฐาน14% (กิโลกรัมต่อไร่)

ตัวอย่าง	75% วันออกดอก	ความสูง	จำนวนต้นต่อกอ	จำนวนรวงต่อกอ	ความยาวรวง	เมล็ดทั้งหมด	% เมล็ดดี	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด	ผลผลิต (กก./ไร่)
KDML105	98 b	158.10 a	11.17 e	10.13 c	24.81 f	110.67 a-e	70.91 a	25.20 b	449.03 a
IRBB5	93 d	90.03 d	13.67 b-d	12.13 bc	25.54 ef	116.67 a-c	67.55 a	22.07 de	349.42 a
B1	76 i	89.60 d	15.23 ab	15.00 a	21.63 g	82.67 e	62.85 a	21.54 ef	388.82 a
B2	76 i	88.43 d	16.27 a	15.73 a	22.31 g	92. 00 c-e	65.28 a	21.50 ef	384.34 a
B3	76 i	89.93 d	15.13 a-c	15.00 a	21.81 g	84.00 e	65.85 a	20.75 f	323.15 a
B4	76 i	89.83 d	15.13 a-c	14.77 a	21.35 g	85.00 de	70.06 a	21.97 de	346.5 a
B5	96 c	158.30 a	12.3 d e	11.07 bc	26.15 b-f	116.33 a-c	66.48 a	27.63 a	-*
B6	98 b	156.47 a	12.00 de	10.60 bc	25.61 d-f	106.33 a-e	73.64 a	27.19 a	392.19 a
B7	88 g	145.60 b	12.93 c-e	11.20 bc	25.73 c-f	93.67 b-e	77.48 a	23.19 c	493.3 a
B8	91 e	144.76 b	12.43 de	11.40 bc	26.73 b-e	122.67 a-c	91.18 a	22.76 cd	526.49 a
B9	93 d	141.10 bc	13.30 b-e	12.50 b	26.94 a-d	134.00 a	78.93 a	22.82 cd	423.25 a

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ตัวอย่าง	75% วันออกดอก	ความสูง	จำนวนต้นต่อกอ	จำนวนรวงต่อกอ	ความยาวรวง	เมล็ดทั้งหมด	% เมล็ดดี	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด	ผลผลิต (กก./ไร่)
B10	93 d	143.37 bc	13.13 b-e	12.33 b	26.25 b-e	110.67 a-e	65.12 a	22.70 cd	316.46 a
B11	89 f	145.37 b	12.90 c-e	11.83 bc	27.08 a-c	123.00 ab	68.72 a	23.64 c	447.83 a
B12	83 h	136.87 c	12.97 c-e	11.87 bc	25.81 b-f	115.33 a-d	69.95 a	22.68 cd	353.46 a
B13	100 a	154.30 a	13.37 b-e	12.30 b	28.15 a	129.33 a	70.55 a	23.46 c	439.58 a
B14	100 a	155.47 a	12.47 de	11.43 bc	27.15 ab	105.67 a-e	69.41 a	25.07 b	438.27 a
CV=	1.15 E-14	3.73	10.1	9.99	3.25	17.16	11.95	2.76	20.16
LSD=	1.71 E-14	8.17	2.26	2.07	1.37	30.9		1.08	
Sig.	***	***	**	***	***	*		***	

Signif. codes: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1 เครื่องหมาย -* ของสายพันธุ์ B5 คือที่ไม่สามารถนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติได้

คุณภาพของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 (BC_1F_6 seed) ทางกายภาพ

จากการเก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 (BC_1F_6 seed) ทั้ง 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 ชั่งน้ำหนักเมล็ด 250 กรัม ส่งตรวจคุณภาพเมล็ดที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ทำการวัดคุณภาพเมล็ดข้าวทางกายภาพ คือ ขนาดรูปร่างเมล็ด สีของเมล็ดข้าวเปลือก และลักษณะท้องไข่ ได้ผลดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ขนาดรูปร่างเมล็ด

จากการชั่งน้ำหนักเมล็ดของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 จำนวน 250 กรัม ส่งวัดขนาดรูปร่างเมล็ด พบว่า ข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 มีความยาวของเมล็ดอยู่ในช่วง 7.06 – 7.50 มม. ซึ่งจำแนกได้ว่ามีเมล็ดยาว คล้ายคลึงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่มีความยาวเมล็ดคือ 7.41 มม. ยกเว้นข้าวลูกผสมสายพันธุ์ B7 และ B8 ที่มีความยาวของเมล็ดสั้นกว่าเล็กน้อยคือ 7.03 และ 6.92 มม. ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของเมล็ดค่อนข้างยาว และยังสั้นกว่าข้าว IRBB5 ที่มีความยาว 7.08 มม.ส่วนความกว้างของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีความกว้างอยู่ระหว่าง 2.02 - 2.26 มม. ซึ่งใกล้เคียงกับความกว้างของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 คือ 2.16 และ 2.12 มม. ตามลำดับ รูปร่างของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีรูปร่างเรียว อัตราส่วนความยาว/ความกว้าง มีค่ามากกว่า 3 มม. ซึ่งคล้ายคลึงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (3.43 มม.) และ IRBB5 (3.34 มม.) และความหนาของเมล็ดของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ก็ใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 (1.72 มม.) และ IRBB5 (1.68 มม.) คือ 1.68 - 1.84 มม. จากผลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าลักษณะขนาดรูปร่างของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีลักษณะคล้ายคลึงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มาก (ตารางที่ 5)

ลักษณะท้องไข่

จากการวัดคุณภาพของเมล็ดข้าวทางกายภาพของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 พบว่าลักษณะท้องไข่ของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 เกือบทุกสายพันธุ์ มีค่าน้อยกว่า 1 ซึ่งหมายความว่ามีท้องไข่เล็กน้อย (slightly chalky) เว้นแต่สายพันธุ์ B6 ที่มีท้องไข่ปานกลาง (1.29) คือมีค่าอยู่ในช่วง 1 - 1.5 อีกทั้งสายพันธุ์ B4, B13 และ B14 มี ลักษณะท้องไข่มากหรือขุ่น (มากกว่า 2) ซึ่งลักษณะท้องไข่ในเมล็ดข้าวไม่มีผลโดยตรงต่อคุณภาพการหุงต้มและรับ ประทาน แต่มีผลต่อราคาข้าวเนื่องจากข้าวที่มีท้องไข่มากเมื่อนำไปสีจะมีข้าวหักมาก ดังนั้น เมล็ดข้าวสายพันธุ์ B4, B13 และ B14 จึงมีคุณภาพการขัดสีที่ไม่ดี เมื่อเทียบกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 (0.27) และ IRBB5 (0.22) และสายพันธุ์อื่นๆ (ตารางที่ 5)

ลักษณะสีเปลือก

จากการตรวจดูลักษณะสีเปลือกของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 พบว่าลักษณะสีเปลือกของพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีสีฟาง ในขณะที่ข้าว IRBB5 มีสีฟางและมี awn 5% ซึ่งข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ B2, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, B13 และ B14 มีลักษณะสีเปลือกของเมล็ดข้าวสีฟาง ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยที่ B1 และ B3 มีสีเปลือกเมล็ดข้าว เหมือนกับ IRBB5 คือมีสีฟาง และมี awn 3% เป็นที่สังเกตว่าข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่มีลักษณะต้นสูง (B5-B14) มีลักษณะโดยรวมมาจากพันธุกรรมของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นส่วนมาก และ ข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่มีลักษณะต้นเตี้ย (B1-B4) นอกจากจะได้ลักษณะต้นเตี้ยมาจากข้าว IRBB5 แล้วลักษณะของสีเปลือกยังได้รับการถ่ายทอดมาด้วยในสายพันธุ์ B1 และ B3 (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ข้อมูลการตรวจลักษณะทางกายภาพของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5

ตัวอย่าง	ข้าวกล้อง			ยาว/กว้าง	ท้องไข่	สีเปลือก
	ยาว (มม.)	กว้าง (มม.)	หนา (มม.)			
KDML105	7.14	2.16	1.72	3.43	0.27	S
IRBB5	7.08	2.12	1.68	3.34	0.22	S/5%awn
B1	7.26	2.04	1.70	3.56	0.09	S/3%awn
B2	7.31	2.02	1.70	3.62	0.07	S
B3	7.38	2.04	1.67	3.62	0.08	S/3%awn
B4	7.35	2.07	1.68	3.55	ขุ่น	S
B5	7.49	2.25	1.84	3.33	0.71	S
B6	7.62	2.26	1.84	3.37	1.29	S
B7	7.03	2.16	1.69	3.25	0.51	S
B8	6.92	2.16	1.72	3.20	0.33	S
B9	7.06	2.11	1.72	3.35	0.47	S
B10	7.00	2.20	1.72	3.18	0.11	S
B11	7.09	2.17	1.73	3.27	0.08	S
B12	7.09	2.16	1.71	3.28	0.06	S
B13	7.33	2.11	1.76	3.47	ขุ่น	S
B14	7.39	2.14	1.74	3.45	ขุ่น	S

S = สีฟาง %awn = % เมล็ดข้าวที่มีหาง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คุณภาพทางเคมีของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5

จากการเก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 ชั่งน้ำหนักเมล็ด 250 กรัม ส่งตรวจคุณภาพเมล็ดที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ทำการวัดคุณภาพเมล็ดข้าวทางเคมี คือ ปริมาณอมิโลส (amylose content) ความคงตัวของแป้งสุก (gel consistency) อุณหภูมิของแป้งสุก (gelatinization temperature) อัตราการยืดตัวของเมล็ดข้าว (elongation ratio) และกลิ่นหอม (aroma) ได้ผลดังนี้

ปริมาณอมิโลส (amylose content)

จากการวัดปริมาณอมิโลส ของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 พบว่า ปริมาณอมิโลสไม่มีความแตกต่างกันคือ มีปริมาณอมิโลสอยู่ระหว่าง 15.09 - 15.61% ซึ่งสามารถบอกได้ว่าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, IRBB5 และข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีลักษณะข้าวสุกเหนียว และนุ่ม คือ มีอมิโลสอยู่ที่ 10 – 19% (ตารางที่ 6)

ความคงตัวของแป้งสุก (gel consistency)

จากการวัดความคงตัวของแป้งสุกของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 โดยดูจากระยะทางการไหลของแป้งสุกในแนวราบ พบว่า ทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์ แป้งสุกอ่อน คือมีระยะทางไหลของแป้งสุก อยู่ระหว่าง 61 – 100 มม. สามารถบอกได้ว่าข้าวที่ใช้ในงานวิจัยนี้เมื่อข้าวหุงสุก จะมีลักษณะเมล็ดอ่อนนุ่มไม่ร่วน เนื่องจากเปอร์เซ็นต์อมิโลสที่มีอยู่ในเมล็ดข้าว และข้าวสุกนุ่มเหนียวเกาะกัน ซึ่งเป็นลักษณะที่ต้องการของตลาดข้าว (ตารางที่ 6)

อุณหภูมิของแป้งสุก (gelatinization temperature)

จากการวัดอุณหภูมิของแป้งสุกของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 โดยหาค่าการสลายเมล็ดในด่างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ที่ 1.7% พบว่าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, IRBB5 และข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีค่าการสลายตัวในด่าง KOH 1.7% คือ 7 ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าข้าวที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ มีอุณหภูมิแป้งสุก (^{o}C) ต่ำกว่า 69 ^{o}C ซึ่งใช้ระยะเวลาหุงต้ม 12 – 17 นาที ข้าวก็จะสุกและรับประทานได้ (ตารางที่ 6)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อัตราการยืดตัวของเมล็ดข้าว (elongation ratio)

จากการวัดการยืดตัวของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 พบว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, IRBB5 และข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีค่าอัตราการยืดตัวน้อยกว่า 1.9 เท่า ซึ่งบอกได้ว่าข้าวที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ มีการยืดตัวปกติ การที่เมล็ดขยายตัวได้มากทำให้เนื้อภายในโปร่งขึ้น ไม่อัดแน่น สอดคล้องกับลักษณะการยืดตัวของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่มีการยืดตัวได้ดี (ต่ำกว่า 1.9) น้อยกว่าข้าวบาสมาติ 370 ซึ่งสามารถยืดตัวได้มากกว่า 2 เท่า แต่เนื่องจากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีอมิโลสต่ำ (10-19%) ข้าวสุกจะนุ่มเหนียวติดกัน จึงทำให้ไม่ขึ้นหม้อ ต่างจากข้าวบาสมาติที่เป็นข้าวร่วนค่อนข้างแข็ง ซึ่งมีค่าอมิโลสสูง (25-34%) (ละม้ายมาศ, 2544; Gopalakrishnan, 2007) (ตารางที่ 6)

กลิ่นหอม (aroma)

จากการวัดความหอมของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5 พบว่า ข้าว IRBB5 ไม่มีกลิ่นหอม (0) เนื่องจากไม่ใช่พันธุ์ข้าวหอม ส่วนพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีค่าความหอมเท่ากับ 2 จัดว่าหอม ในขณะที่ข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีค่าความหอมเท่ากับ 1 ซึ่งให้ความหอมอ่อน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีความหอมเหมือนกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ถึงแม้ว่าค่าความหอมจะน้อยกว่า เป็นที่น่าสังเกตว่าความหอมของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นั้น พื้นที่ปลูกหรือ สภาพแวดล้อมน่าจะมีผลต่อความหอมโดยเฉพาะสภาพพื้นที่ปลูก ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 หากปลูกในพื้นที่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะมีความหอมมากกว่าภาคกลาง และจากการวัดคุณภาพผลผลิตทางเคมีของต้นข้าว BC_1F_4 (BC_1F_5 seed) ทั้ง 14 สายพันธุ์ (ไม่ได้แสดงข้อมูล) พบว่าข้าวสายพันธุ์ B5 มีความหอมอยู่ในระดับ 2 และ สายพันธุ์ B6 มีความหอมอยู่ที่ระดับ 1 ส่วนสายพันธุ์อื่นไม่มีความหอมเลย (0) ทั้งที่เป็นข้าวสายพันธุ์เดียวกัน องค์ประกอบทางพันธุกรรมก็ใกล้เคียงกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 แต่พื้นที่ปลูกของทั้ง 2 รุ่น ต่างบริเวณกัน เมื่อทำการตรวจวัดในต้นข้าวรุ่น BC_1F_5 (BC_1F_6 seed) กลับพบว่าเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ที่ไม่มีความหอมนั้นกลับมีความหอม และสายพันธุ์ B5 ที่มีค่าความหอมเท่ากับ 2 กลับมีความหอมแค่ 1 จึงคาดว่าลูกผสมกลับ BC_1F_5 มีลักษณะความหอมซึ่งได้รับการถ่ายทอดจากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อยู่ทุกสายพันธุ์ แต่ระดับความหอมที่แสดงออกมา น่าจะมีผลมาจากปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกับสิ่งแวดล้อม อีกทั้งการวัดระดับความหอมใช้วิธี ดมกลิ่นซึ่งอาศัยความชำนาญของบุคคล ในการวัดแต่ละครั้งค่าความหอมอาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ (ตารางที่ 6)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการปลูกข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ ซึ่งได้ทำการวัดองค์ประกอบผลผลิตทางกายภาพ และตรวจวัดคุณภาพเมล็ดทางกายภาพและทางเคมี ผลการทดลองข้างต้นนำมาประกอบการพิจารณาการคัดเลือกข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 เพื่อที่จะใช้ทดสอบเปรียบเทียบพันธุ์ต่อไป ซึ่งได้คัดเลือกสายพันธุ์ B7, B8 และ B11 ไว้ด้วยเหตุผลที่ว่า มีวันออกดอกที่สั้น มีลักษณะต้นเตี้ย การแตกกอถึงแม้จะมีแนวโน้มที่มากกว่าแต่ก็ใกล้เคียงกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จำนวนรวงต่อกอใกล้เคียงกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่) มีแนวโน้มมากกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ลักษณะเมล็ดทางกายภาพมีความคล้ายคลึงกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 (ดังตารางที่ 5 และ 6) รวมถึงลักษณะคุณภาพเมล็ดทางเคมีเทียบเท่ากับข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่สำคัญ คือ ทั้ง 3 สายพันธุ์มียีน *xa5* ซึ่งแสดงลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง

ตารางที่ 6 ข้อมูลการตรวจลักษณะทางเคมีของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 (BC_1F_6 seed)

ตัวอย่าง	% Amylose	Gel	Alkali	E.R.	Aroma
KDML105	15.61	73	7.0	1.70	2
IRBB5	15.15	77	7.0	1.77	0
B1	15.40	69	7.0	1.66	1
B2	15.35	87	7.0	1.71	1
B3	15.37	80	7.0	1.53	1
B4	15.36	81	7.0	1.58	1
B5	15.59	80	7.0	1.60	1
B6	15.15	83	7.0	1.68	1
B7	15.33	80	7.0	1.71	1
B8	15.17	81	7.0	1.68	1
B9	15.57	80	7.0	1.64	1
B10	15.24	87	7.0	1.65	1
B11	15.09	87	7.0	1.60	1
B12	15.64	90	7.0	1.64	1
B13	15.27	77	7.0	1.61	1
B14	15.29	77	7.0	1.58	1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการตรวจสอบการคงอยู่ของยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง (*xa5*) ของข้าวลูกผสม BC_1F_5 โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นอ RG556 (Sanchez *et al*., 2000) และตัด PCR product ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Hpy* CH4 IV พบว่าลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง (*xa5*) อยู่ทุกสายพันธุ์ และอยู่ในสภาพโฮโมไซกัส เช่นเดียวกับข้าว IRBB5 คือมีแถบดีเอนเอขนาด 1,000 bp และ 300 bp ซึ่งยีนต้านทานนี้สามารถถ่ายทอดจากรุ่นหนึ่งไปสู่อีกรุ่นหนึ่งได้

จากผลทดสอบระดับความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สายพันธุ์ 0701 ของกองโรคพืชกรมวิชาการเกษตร ของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 โดยมีข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ไทชุงเนทีฟ 1 (TN1) เป็นพันธุ์ไม่ต้านทานมาตรฐาน (susceptible check variety) และ IRBB5 และพันธุ์ กข23 เป็นพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน (resistant check variety) หลังจากที่ถ่ายเชื้อ 14 วัน พบว่า ข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีระดับความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งอยู่ในระดับ ต้านทาน (R) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงระดับต้านทานต่อเชื้อก่อโรคที่ดีเทียบเท่ากับพันธุ์ IRBB5 (ซึ่งเป็นพันธุ์ให้) และระดับต้านทานต่อเชื้อก่อโรคที่สูงกว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (S), ไทชุงเนทีฟ 1 (HS) และ กข 23 (MS)

จากการตรวจสอบองค์ประกอบทางพันธุกรรมของข้าวลูกผสม BC_1F_5 เปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้เทคนิค AFLP พบว่าข้าวลูกผสม BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ มีพันธุกรรมใกล้เคียงกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 อยู่ในช่วงระหว่าง 96.23-99.06% โดยที่ลูกผสมสายพันธุ์ B1, B3, B5, B6, B13 และ B14 มีพันธุกรรมใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มากที่สุด คือ 99.06%

จากการตรวจวัดองค์ประกอบผลผลิตของข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ทั้ง 14 สายพันธุ์ สามารถแบ่งข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ได้ 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือกลุ่มต้นเตี้ย (B1-B4) ลักษณะคล้ายข้าว IRBB5 และกลุ่มต้นสูง (B5-B14) ลักษณะคล้ายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แต่มีสายพันธุ์ B7-B12 ที่เตี้ยกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ลักษณะทางการเกษตรอื่นๆ คือ จำนวนต้นต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ ความยาวรวง เมล็ดทั้งหมด %เมล็ดดี น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และ ผลผลิตกิโลกรัมต่อไร่นั้น เมื่อพิจารณาโดยรวมจะเห็นได้ว่าข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 มีหลายสายพันธุ์ที่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดีหรือมีแนวโน้มที่ดีกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยเฉพาะต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่มีลักษณะต้นสูง จากผลที่ได้นี้จึงคัดต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 ที่มีลักษณะต้นสูงไว้ โดยเหตุผลที่ว่า สายพันธุ์ต้นเตี้ย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีลักษณะการแผ่กอที่ไม่กระชับ กอแตก ถึงแม้จะมีการแตกกอมาก แต่เมล็ดที่ได้ค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ต้นสูงและพันธุ์เปรียบเทียบ (พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5)

จากผลการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดทางกายภาพและทางเคมี พบว่าข้าวลูกผสมสายพันธุ์ที่มีลักษณะต้นสูง (B5-B14) มีลักษณะของเมล็ดสีฟาง และรูปร่างเมล็ดเรียว ลักษณะท้องไข่ สายพันธุ์ B6 มีท้องไข่ปานกลาง (1.29) สายพันธุ์ B13 และ B14 มีลักษณะท้องไข่มากหรือขุ่น (มากกว่า 2) ส่วนลักษณะทางเคมีของเมล็ดข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_5 สายพันธุ์ที่มีลักษณะต้นสูง (B5-B14) มีลักษณะไม่แตกต่างจากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ยกเว้นเพียงกลิ่นหอมที่น้อยกว่า

จากข้อมูลองค์ประกอบของผลผลิต คุณภาพเมล็ดทางกายภาพและทางเคมี เมื่อพิจารณาจากผลผลิตกิโลกรัมต่อไร่ คัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตที่สูงใกล้เคียงหรือมีแนวโน้มที่จะให้ผลผลิตที่มากกว่า และมีลักษณะคุณภาพของเมล็ดที่คล้ายคลึงกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 สามารถคัดเลือกได้ 3 สายพันธุ์ คือ B7, B8 และ B11 ซึ่งจะต้องทดสอบเปรียบเทียบพันธุ์ต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กัญญา เชื้อพันธุ์. 2544. **คุณภาพเมล็ดข้าวทางกายภาพ**, น. 177-193. เทคโนโลยีการผลิตข้าวหอมมะลิคุณภาพดี กรมวิชาการเกษตรและกรมส่งเสริมสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

กาญจนา กล้าแข็ง. 2544. **การตรวจหาเครื่องหมายเชิงโมเลกุลที่ใช้บ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวด้วยวิธีเอเอฟแอลพี (AFLP) ของพันธุ์ Near Isogenic Line**. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

งานชื่น คงเสรี. 2545. **คุณภาพข้าวและการตรวจสอบข้าวปนในข้าวหอมมะลิไทย** กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

จิรพรรณ ทองสร้อย. 2550. **การปรับปรุงพันธุ์ข้าวทนเค็มโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการฉายรังสีแกมมา**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทวี คุปต์กาญจนากุล. 2544. **ความรู้เรื่องข้าวและเทคโนโลยีการผลิตข้าว**, น. 1-14. เทคโนโลยีการผลิตข้าวหอมมะลิคุณภาพดี กรมวิชาการเกษตรและกรมส่งเสริมสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ทัศนีย์ สงวนสัจ. 2540. **บทบาทของพันธุกรรมต้านทานโรคและแมลงกับการปรับปรุงข้าวของไทย**. ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก, สถาบันวิจัยข้าวกรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ประณีต จิระสุทัศน์. 2531. **ข้าว**. ภาควิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิยาศาสตร์และเทคโนโลยี วิทยาลัยครูพระนคร, กรุงเทพฯ.

ประภา กาหยี. 2542. **ข้าว**. โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏภูเก็ต, ภูเก็ต.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พัชราภรณ์ ตั่งมั่น. 2539. **เอกสารประกอบการสอนเทคโนโลยีการผลิตข้าว**. คณะเกษตรศาสตร์ บางพระ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลวิทยาเขตพิษณุโลก กระทรวงศึกษาธิการ, กรุงเทพฯ.

ละม้ายมาศ ยังสุข. 2544. **คุณภาพการหุงต้มและรับประทาน**, น. 171-176. เทคโนโลยีการผลิตข้าวหอมมะลิคุณภาพดี กรมวิชาการเกษตรและกรมส่งเสริมสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

วรวิทย์ พาณิชพัฒน์. 2546. **การปรับปรุงและขยายพันธุ์ข้าว** สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ

ศิริพร พงศ์สุภสมิทธิ์. 2537. **การปรับปรุงพันธุ์พืช** ภาควิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

ศิลปชัย ก่อเจริญ. 2544. **การปรับปรุงพันธุ์ข้าวหอมมะลิ105 ให้มีลักษณะไม่ไวต่อแสงโดยวิธีการผสมกลับ** วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง. 2539. **คู่มือข้อมูลข้าวไทย**, กรุงเทพฯ.

สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. 2535. **ข้าวพันธุ์ดี,** กรุงเทพฯ.

_____. 2544. **เทคโนโลยีการผลิตข้าวพันธุ์ดี,** กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ ทองดีแท้. 2544. **โรคและแมลงศัตรูพืช**, น. 81-139. เทคโนโลยีการผลิตข้าวหอมมะลิคุณภาพดี กรมวิชาการเกษตรและกรมส่งเสริมสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สุพรรณญิกา เส็งสาย. 2549. **การปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ105 ให้ต้านทานต่อเชื้อขอบใบแห้งโดยวิธีการผสมกลับและการเพาะเลี้ยงอับเรณูร่วมกับการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล** วิทยานิพนธ์ ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. **จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552. **เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อมรา คัมภิรานนท์. 2546. **พันธุศาสตร์มนุษย์** เท็กซ์ แอนด์ เจอนัลพับลิเคชั่น, กรุงเทพฯ.

อรรควุฒิ ทัศน์สองชั้น. 2530. **เรื่องของข้าว** ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Agrawal, R.K., R.N. Pandey and V.P. Agrawal. 1992. Isolation of DNA from *Choerospondias asillaris* leaves. **Biotech. Biodiv. Lett**. 2: 19-24.

Benbouza, H., J.M. Jacquemin, J.P. Baudin and G. Mergeai. 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR marker in polyacrylamide gel. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ**. 10: 77-81.

Cao, Y., L. Duan, H. Li, X. Sun, Y. Zhao, C. Xu, X. Li and S. Wang. 2007. Functional analysis of *Xa3/Xa26* family members in rice resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Theor. Appl. Genet**. 115: 887-895.

Chen, S., C.G. Xu, X.H. Lin and Q. Zhang. 2001 Improving bacterial blight resistance of `6078', an elite restorer line of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection. **Plant Breed**. 120: 133-137.

Chen, S., Z. Huang, L. Zeng, J. Yang, Q. Liu and X. Zhu. 2008. High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* resistance gene *Xa7*. **Mol. Breed**. 22: 433-441.

George, M.L. C., M. Bustamam, W.T. Cruz, J.E. Leach and R.J. Nelson. 1996. Movement of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Southeast Asia detected using PCR-based DNA fingerprinting. **Phytopathology** 87: 302-309.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Gopalakrishnan, S., R. K. Sharma, K. A. Rajkumar, M. Joseph, V. P. Singh, A. K. Singh, K. V. Bhat, N. K. Singh and T. Mohapatra. 2007. Integrating marker assisted background analysis with foreground selection for identification of superior bacterial blight resistant recombinants in Basmati rice. **Plant Breed**. 127: 131-139.

Huang, N., E.R. Angeles, J. Domingo, G. Magpantay, S. Singh, G. Zhang, N. Kumaravadivel, J. Bennett and G.S Khush. 1996. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice:marker-assisted selection using RFLP and PCR. **Theor. Appl. Genat**. 95: 313-320.

IRRI. 1996. **Standard Evaluation System for Rice**. The International Rice Research Institute, Manila, Philippines.

Iyer-Pascuzzi, A. S., H. Jiang, L. Huang and S. R. McCouch. 2007. Genetic and functional characterization of the rice bacterial blight disease resistance gene *xa5*. **Phytopathology**. 98: 289-295.

Iyer, A.S. and S. R. McCouch. 2004. The rice bacterial blight Resistance gene *xa5* encodes a novel form of disease resistance. **MPMI**. 17: 1348-1354.

Jiang, G.H., Z.H. Xia, Y.L. Zhou, J. Wan, D.Y. Li, R.S. Chen, W.X. Zhai and L.H. Zhu. 2006. Testifying the rice bacterial blight resistance gene xa5 by genetic complementation and further analyzing xa5 (Xa5) in comparison with its homolog TFIIAγ 1. **Mol. Gen. Genomics**. 275: 354-366.

Kottapalli, K.R., P. Kottapalli, G.K. Agrawal, S. Kikuchi and R. Rakwal. 2007. Recessive bacterial leaf blight resistance in rice: complexity, challenges and strategy. **Biochem. Bioph. Res. Co.** 355: 295-301.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kauffman, H.E., A.P.K. Reddy, S.P.Y. Hsieh and S.D. Merca. 1973. An improved technique for evaluating resistance of rice varities to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Plant Dis. Rep**. 57: 537-541.

Liu, P. J. Zhu and Y. Lu . 2004. Marker-assisted selection in segregating generations of self-fertilizing crops. **Theor. Appl. Genet.** 109: 370-376.

Nilpanit, N., N. Kositcharoenkul and R. Dhitikiattipong. 2004. Race distribution of *Xanthomas oryzae* pv. *oryzae* in Thailand. Paper presented at **The 1st International Conference on Bacterial Blight of Rice**, 17-19 March. Japan.

Pascuzzi, A.S. and S.R. McCouch. 2007. Functional markers for *xa5*-mediated resistance in rice (*Oryza sativa*, L.). **Mol. Breed**. 19: 291-296.

Perez, L.M., E.D. Redona, M.S. Mendioro, C.M.V. Cruz and H. Leung. 2008. Introgression of *Xa4* , *Xa7* and *Xa21* for resistance to bacterial blight in thermosensitive genetic male sterile rice (*Orya sativa* L.) for the development of two-line hybrids. **Euyphytica** 164: 627-636.

Thanh, P.T. 2006. **Transfer of Drought Resistant Character from Wild Rice (*Oryza meridionalis* and *Oryza nivara*) to Cultivated Rice (*Oryza sativa* L.) by Backcrossing and Immature Embryo Culture**. Master of Science, Kasetsart University.

Sanchez, A.C., D.S. Brar, N. Huang, Z. Li and G.S. Khush. 2000. Sequence tagged site marker-assisted selection for three bacterial blight resistance gene in rice. **Crop Sci**. 40: 792-797.

Sengsai, S., S. Peyachoknagul, P. sripichit, A. Thongpan, and P. Pongtongkarm. 2007. Anther culture of BC_1F_1 (KDML105//IRBB5/KDML105) hybrid to produce bacterial blight resistance double haploid rice. **Kasetsart J**. 41: 251-261.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Singh, S., J.S. Sidhu, N. Huang, Y. Vikal, Z. Li, D.S. Brar, H.S. Dhaliwa and G.S. Khush. 2000 Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106. **Theror. Appl. Genet**. 102: 1011-1015.

Singh, S., M. Sodhi, Y. Vikal, M.L.C. George, G.S. Bala, G.S. Mangat, M.Garg, J.S. Sidhu and H.S. Dhaliwal. 2002. DNA fingerprinting and virulence analysis of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates from Punjab, northern India. **Euphytica** 130: 107-115.

Sundaram, R.M., M.R. Vishnupriya, S.K. Biradar, G.S. Laha, G.A. Reddy, N.S. Rani, N.P. Sarma and R.V. Sonti. 2007. Marker assisted introgression of bacterial blight resistance in Samba Mahsuri, an elite indica rice variety. **Euphytica** 160: 411-422.

Zhou, Y.L., J.L. Xu, S.C. Zhou, J. Yu, X.W. Xie, M.R. Xu, Y. Sun, L.H. Zhu, B.Y. Fu, Y.M. Gao and Z.K. Li. 2008. Pyramiding *Xa23* and *Rxo1* for resistance to two bacterial diseases into an elite indica rice variety using molecular approaches. **Mol. Breed**. 23: 279-287.

Zhang, J., X. Li, G. Jiang, Y. Xu and Y. He . 2006. Pyramiding of *Xa7* and *Xa21* for the improvement of disease resistance to bacterial blight in hybrid rice. **Plant Breed**. 125, 600-605.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. วิธีสกัดดีเอ็นเอ ดัดแปลงจาก Agrawal และคณะ (1992) มีขั้นตอนดังนี้

1.1 เตรียม extraction buffer (2XCTAB: 2% CTAB, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl, pH 8) 600 µl ผสม 2–mercaptoethanol 1.5 µl ในหลอด เซ็นตริฟิวจ์ขนาด 1.5 ml แล้วนำไปอุ่นก่อนใช้

1.2 นำใบสดของข้าวประมาณ 2 - 3 กรัม ใส่ลงในโกร่งโดยเติมไนโตรเจนเหลว แล้วบดให้ละเอียด ใส่ลงในหลอด extraction buffer ที่อุ่นเตรียมไว้ จากนั้นบ่มต่อที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที โดยกลับหลอดไปมา 2-3 ครั้งทุกๆ 10 นาที

1.3 เมื่อครบ 60 นาที นำหลอดมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วเติม คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) 600 µl ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยกลับหลอดเบาๆ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 g นาน 5 นาที

1.4 ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่ แล้วเติมไอโซโพรพานอลแช่เย็น 500 µl ผสมให้เข้ากันเบาๆ แล้วนำไปเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 g นาน 15 นาที

1.5 เทส่วนใสทิ้งเติม washing buffer 500 µl เคาะข้างหลอดเบาๆ เพื่อละลายเกลือออก เทส่วนใสทิ้ง คว่ำหลอดบนกระดาษซับให้แห้งแล้วละลายตะกอนด้วย RNase buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.0, 15 mM NaCl) 200 µl จากนั้นเติม RNase A 2 µl แล้วบ่ม ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

1.6 ใส่ฟีนอล: คลอโรฟอร์ม: ไอโซเอมิลแอลกอฮอลล์ (25:24:1) 200 µl ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 g นาน 5 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่เติมโซเดียมอะซิเตทเข้มข้น 3M pH 5.2 ปริมาตร 20 µl และ absolute ethanol 400 µl เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอซ้ำ แล้วนำไปเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที

1.7 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 g นาน 15 นาที เทส่วนใสทิ้งล้างตะกอนด้วย เอทานอล 70% ปริมาตร 500 µl แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง 1,200 g นาน 3 นาที เทส่วนใสทิ้งคว่ำหลอด บนกระดาษซับให้แห้ง แล้วละลายตะกอนด้วย TE buffer 50 µl เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะใช้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. วิธีการทำ AFLP

2.1 การตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Mse*I และ *Eco*RI

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากข้อ 1 มาปรับความเข้มข้นให้เป็น 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *Mse*I และ *Eco*RI โดยเติมดีเอ็นเอ (50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร) 5 µl และสารละลาย 10X buffer 2.5 µl, BSA (50 ng/ µl) 0.125 µl, *Mse*I (5U/ µl) 0.25 µl, *Eco*RI (5U/ µl) 0.125 µl และน้ำกลั่น 17 µl ปริมาตรรวม 25 µl ในหลอด 1.5 ml บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสข้ามคืน ตรวจสอบการตัดเอนไซม์โดยใช้ 1.5% agarose gel

2.2 การต่อ adapter

นำดีเอ็นเอที่ตัดไว้ในข้อ 2.1 มาเติมสารละลายที่มี adapter ของ *Mse*I (25 pmole/ µl) 4 µl, สารละลายที่มี adapter ของ *Eco*RI (5 pmole/µl) 4 µl, 5X buffer ของ T4-ligase 5 µl, T4-ligase (1U/ µl) 1 µl และน้ำกลั่น 11 µl ปริมาตรรวม 25 µl บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และบ่มที่อุณหภูมิห้องอีก 2 ชั่วโมง

2.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในขั้น preselective amplification

นำดีเอ็นเอที่ต่อ adapter แล้ว (ข้อ 2.2) มา 2 µl มาทำปฏิกิริยาโดยใส่สารต่างๆ ดังนี้ primer M-C (5 pmole/µl) 1 µl, primer E-A (5 pmole/µl) 1 µl, 10X buffer 2.5 µl, dNTP (2 mM) 2.5 µl, $MgCl_2$ (50 mM) 1 µl, *Taq* polymerase 0.1 µl และน้ำกลั่น 14.9 µl ปริมาตรรวม 25 µl นำเข้าเครื่อง PCR โดยใช้สภาวะดังนี้

ขั้นที่ 1 อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที
ขั้นที่ 2 อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที
อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที
ทำปฏิกิริยา 35 รอบแล้วจึงบ่มต่อที่ 72 องศาเซลเซียส อีก 5 นาที
ขั้นที่ 3 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
ตรวจผล PCR ด้วย 1.5% agarose gel

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.4 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในขั้น selective amplification

นำดีเอ็นเอ (ข้อ 2.3) เจือจาง 20 เท่า (PCR product 5 µl น้ำ 95 µl) 5 µl มาทำปฏิกิริยาโดยใส่สารต่างๆ ดังนี้ primer E-ANN (5 pmole/µl) 1 µl, primer M-CNN (5 pmole/µl) 1 µl, dNTP (2 mM) 2.5 µl, 10X buffer 2 µl, dNTP (2 mM) 2 µl, $MgCl_2$ (50 mM) 0.8 µl, *Taq* polymerase 0.1 µl และน้ำกลั่น 8.1 µl ปริมาตรรวม 20 µl นำเข้าเครื่อง PCR โดยวิธี touch down PCR ใช้สภาวะดังนี้

ขั้นที่ 1 อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที
ขั้นที่ 2 อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที
ทำ 1 รอบ ลดอุณหภูมิ ขั้น annealing ลงรอบละ 0.7 องศาเซลเซียส 12 รอบ
ขั้นที่ 3 อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที
อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที
ทำปฏิกิริยา 23 รอบแล้วจึงบ่มต่อที่ 72 องศาเซลเซียส อีก 5 นาที
ขั้นที่ 4 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การตรวจสอบผล AFLP ด้วยอิเล็กโทรโฟรีซิสในเจลโพลีอะคริลาไมด์

3.1 การเตรียมแผ่นกระจกสำหรับเจลโพลีอะคริลาไมด์

นำแผ่น กระจกสำหรับเตรียมเจลมาล้างให้สะอาดแล้วเช็ดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ให้สะอาดทั้ง 2 แผ่นเช็ดกระจกแผ่นหลังด้วย bind saline (bind saline 1.5 µl, glacial acetic acid 2.5 µl และเอทานอล 496 µl) เพื่อให้เจลเกาะติดกับกระจก ส่วนกระจกที่มีลักษณะเป็นหูกระต่ายนำมาเช็ดด้วย repel saline ให้ทั่วเพื่อไม่ให้เจลเกาะติดกระจก ปล่อยให้แห้งประมาณ 10-15 นาที แล้วนำกระจกทั้ง 2 แผ่นมาประกอบเข้าชุดโดยวาง spacer ขนาด 0.35-0.40 มิลลิเมตร ไว้ทั้ง 2 ข้างเพื่อให้เกิดช่องว่างระหว่างกระจกทั้งสอง โดยหันด้านที่ทา bind saline และ repel saline เข้าหากันโดยใช้คลิปหนีบ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 การเตรียมเจลโพลีอะคริลาไมด์ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์

ชั่งยูเรีย 6.75 กรัมใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม 5X TBE (89 mM Tris-borate, 2.5 mM EDTA) 3 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น 3.75 มิลลิลิตร ปิดด้วยแผ่นใสห่ออาหารเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำซึ่งจะทำให้ความเข้มข้นสารละลายเปลี่ยน นำไปอุ่นให้ยูเรียละลายจนหมด แล้วนำบีกเกอร์มาแช่น้ำให้อุณหภูมิลดลงเท่าอุณหภูมิห้อง เติม 30% acrylaminde (19:1) 3 ml, 10%APS 150 µl และ TEMED 7.5 µl เขย่าให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันอย่างรวดเร็ว ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ เทเจลใส่ลงในช่องระหว่างกระจกจนเต็มอย่าให้มีฟอง แล้วใส่หวีลงไปด้านบนปล่อยให้เจลแข็งตัวประมาณ 2 ชั่วโมง ถ้าปล่อยเจลไว้ข้ามคืนควรใช้แผ่นใสห่ออาหารปิดด้านบนและด้านล่างของเจลไว้เพื่อให้มีความชื้น

3.3 การทำ polyacrylamide gel electrophoresis

3.3.1 นำกระจกที่เจลแข็งตัวดีแล้วมาล้างทำความสะอาดด้านนอกด้วยน้ำประปาแล้วค่อยๆ ถอดหวีออก และประกอบกระจกเข้ากับชุดอิเล็กโทรโฟรีซิส เติมบัฟเฟอร์ 0.5XTBE ลงในช่องด้านขั้วบวก และขั้วลบ

3.3.2 ต่อสายไฟเข้ากับเครื่อง power supply ทำ pre-run 20-30 นาที ที่แรงเคลื่อนไฟฟ้าคงที่ 300 โวลต์ เตรียมผสม loading dye 3 µl กับดีเอ็นเอตัวอย่าง 10 µl ใส่หลอดเซ็นตริฟิวจ์ นำไปต้มบน heating block ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส และแช่น้ำแข็งทันที

3.3.3 เตรียม molecular weight marker (25bp) โดยดูดมา 2 µl ผสมกับน้ำกลั่น 5 µl และ loading dye 3 µl นำไปต้มบน heating block ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสและแช่น้ำแข็งทันที

3.3.4 ปิดเครื่อง power supply ใช้เข็มฉีดยาดูดบัฟเฟอร์มาไล่ฟองในหวีของเจลออกให้หมด หยอดตัวอย่างดีเอ็นเอใส่ลงไปในแต่ละช่องหวีของเจล และหยอด DNA marker ที่ทราบขนาดเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบขนาดดีเอ็นเอ

3.3.5 เปิดเครื่องที่แรงเคลื่อนไฟฟ้าเท่าเดิม เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง หรือจนกว่าสี xylene cyanol (สีบน) เคลื่อนตัวลงมาประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของเจล จากนั้นปิดเครื่องและนำกระจกออกจากเครื่องแยกกระจกทั้ง 2 แผ่น ออกจากกัน เจลจะติดอยู่ที่กระจกแผ่นสี่เหลี่ยม นำไปย้อมด้วยซิลเวอร์ไนเตรท

3.4 การย้อมเจลด้วยซิลเวอร์ไนเตรทใช้วิธีของ Benbouza *et al*. (2006)

3.4.1 นำกระจกที่มีเจลติดยู่ แช่ใน fixative (95% เอทานอล 33 มิลลิลิตร กรดอะซิติกเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 265.5 มิลลิลิตร) 5 นาที เขย่าเบาๆ บนเครื่องเขย่า

3.4.2 เตรียมสารละลายซิลเวอร์ ($AgNO_3$ 0.38 กรัม เติมน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร และ ฟอร์มัลดีไฮด์ 1 มิลลิลิตร) นำกระจกมาแช่เป็นเวลา 5-7 นาที เขย่าเบาๆ อย่างต่อเนื่อง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.4.3 นำกระจกมาจุ่มในน้ำกลั่นอย่างรวดเร็วแล้วนำไปใส่สารละลาย developer (น้ำ 250 มิลลิลิตร, โซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม) เขย่าจนกว่าจะเห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจน

3.4.4 แช่กระจกใน fixative 2 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. ผลการคำนวณค่าทางสถิติของลูกผสมกลับ BC_1F_5

ตารางผนวกที่ 1 ผลการคำนวณค่าทางสถิติของความสูง ของลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5

ANOVA

Sov	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	15	38241	2549	107.5376	< 2.2e-16 ***
rep	2	330	165	6.9683	0.003269 **
Residuals	30	711	24		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

CV = 3.732%

trt	means	M	N	std.err
B5	158.30000	a	3	5.2048055
KDML	158.10000	a	3	2.2810816
B6	156.46667	a	3	2.6909313
B14	155.46667	a	3	3.8141549
B13	154.30000	a	3	1.7559423
B7	145.60000	b	3	3.1134118
B11	145.36667	b	3	7.2144146
B8	144.70000	bc	3	2.6457513
B10	143.36667	bc	3	1.4881010
B9	141.10000	bc	3	3.7004504
B12	136.86667	c	3	0.7512952
IRBB5	90.03333	d	3	2.8938632
B3	89.93333	d	3	3.7860856
B4	89.83333	d	3	1.0203485
B1	89.60000	d	3	2.2479620
B2	88.43333	d	3	1.5559920

Alpha= 0.05

LSD = 8.16909

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 2 ผลการคำนวณค่าทางสถิติของจำนวนต้นต่อก่อ ของลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5

ANOVA

Sov	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	15	85.080	5.672	3.0945	0.004103 **
rep	2	0.551	0.276	0.1504	0.861033
Residuals	30	54.989	1.833		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

CV = 10.10349%

trt	means	M	N	std.err
B2	16.26667	a	3	0.14529663
B1	15.23333	ab	3	1.24141496
B3	15.13333	abc	3	0.28480012
B4	15.13333	abc	3	1.70228604
IRBB5	13.66667	bcd	3	0.80069414
B13	13.36667	bcde	3	0.26666667
B9	13.30000	bcde	3	0.52915026
B10	13.13333	bcde	3	0.66416196
B12	12.96667	cde	3	0.03333333
B7	12.93333	cde	3	0.93867519
B11	12.90000	cde	3	0.20816660
B14	12.46667	de	3	0.72188026
B8	12.43333	de	3	0.63333333
B5	12.30000	de	3	0.86216781
B6	12.00000	de	3	0.70945989
KDML	11.16667	e	3	0.43333333

Alpha= 0.05

LSD = 2.257612

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 3 ผลการคำนวณค่าทางสถิติของจำนวนรวงต่อก่อ ของลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5

ANOVA

Sov	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	15	133.238	8.883	5.7313	2.508e-05 ***
rep	2	6.585	3.292	2.1244	0.1371
Residuals	30	46.495	1.550		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

CV = 9.994364%

trt	means	M	N	std.err
B2	15.73333	a	3	0.6173420
B1	15.00000	a	3	1.2741010
B3	15.00000	a	3	0.3785939
B4	14.76667	a	3	1.6374099
B9	12.50000	b	3	0.4041452
B10	12.33333	b	3	0.6064468
B13	12.30000	b	3	0.1154701
IRBB5	12.13333	bc	3	0.2728451
B12	11.86667	bc	3	0.2848001
B11	11.83333	bc	3	0.3666667
B14	11.43333	bc	3	0.6641620
B8	11.40000	bc	3	0.5291503
B7	11.20000	bc	3	0.2309401
B5	11.06667	bc	3	1.1392005
B6	10.60000	bc	3	0.9291573
KDML	10.13333	c	3	0.4977728

Alpha= 0.05

LSD = 2.076031

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 4 ผลการคำนวณค่าทางสถิติของความยาวรวง ของลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5

ANOVA

Sov	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	15	215.615	14.374	21.4070	5.349e-12 ***
rep	2	3.098	1.549	2.3072	0.1169
Residuals	30	20.144	0.671		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

CV = 3.252699**%**

trt	means	M	N	std.err
B13	28.14667	a	3	1.09388198
B14	27.15333	ab	3	0.18414970
B11	27.08000	abc	3	0.53379147
B9	26.94000	abcd	3	0.08717798
B8	26.72667	bcde	3	0.86766609
B10	26.25333	bcde	3	0.42682289
B5	26.14667	bcdef	3	0.36956431
B12	25.80667	bcdef	3	0.24881943
B7	25.75333	cdef	3	0.35671339
B6	25.61333	def	3	0.44562067
IRBB5	25.54000	ef	3	0.26000000
KDML	24.81333	f	3	0.29242283
B2	22.31333	g	3	0.49400855
B3	21.80667	g	3	0.10088497
B1	21.63333	g	3	0.57205283
B4	21.35333	g	3	0.39603591

Alpha= 0.05

LSD = 1.365933

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 5 ผลการคำนวณค่าทางสถิติของจำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อรวง ของลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5

ANOVA

Sov	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	15	12000.7	800.0	2.3300	0.02369 *
rep	2	120.1	60.1	0.1749	0.84038
Residuals	30	10301.2	343.4		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

CV = 17.15772%

trt	means	M	N	std.err
B9	134.00000	a	3	13.503086
B13	129.33333	a	3	17.342946
B11	123.00000	ab	3	7.810250
B8	122.66667	abc	3	14.768585
IRBB5	116.66667	abc	3	6.173420
B5	116.33333	abc	3	4.333333
B12	115.33333	abcd	3	10.397649
B10	110.66667	abcde	3	4.096069
KDML	110.66667	abcde	3	10.682280
B6	106.33333	abcde	3	16.045075
B14	105.66667	abcde	3	5.666667
B7	93.66667	bcde	3	9.938701
B2	92.00000	cde	3	10.016653
B4	85.00000	de	3	4.163332
B3	84.00000	e	3	12.662280
B1	82.66667	e	3	3.527668

Alpha= 0.05

LSD = 30.90069

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 6 ผลการคำนวณค่าทางสถิติของ เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีต่อรวง ของลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5

ANOVA

Sov	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	15	2164.76	144.32	2.0132	0.050189 .
rep	2	893.00	446.50	6.2286	0.005464 **
Residuals	30	2150.55	71.69		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

CV = 11.94635%

ตารางผนวกที่ 7 ผลการคำนวณค่าทางสถิติของ น้ำหนัก 1,000 เมล็ดของลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5

ANOVA

Sov	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	15	174.054	11.604	27.8086	1.605e-13 ***
rep	2	1.473	0.736	1.7649	0.1885
Residuals	30	12.518	0.417		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

CV = 2.762313**%**

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

trt	means	M	N	std.err
B5	27.62667	a	3	0.5505250
B6	27.18667	a	3	0.3525778
KDML	25.20333	b	3	0.2274741
B14	25.06667	b	3	0.3347304
B11	23.64000	c	3	0.5774369
B13	23.46000	c	3	0.3810512
B7	23.18667	c	3	0.2313967
B9	22.81667	cd	3	0.3764896
B8	22.76333	cd	3	0.1783567
B10	22.70333	cd	3	0.1286252
B12	22.68333	cd	3	0.1217009
IRBB5	22.06667	de	3	0.6880245
B4	21.96667	de	3	0.3526251
B1	21.54000	ef	3	0.1252996
B2	21.49667	ef	3	0.1299145
B3	20.75000	f	3	0.6109283

Alpha= 0.05

LSD = 1.076803

ตารางผนวกที่ 8 ผลการคำนวณค่าทางสถิติของผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่) ที่ความชื้นมาตรฐาน 14% ของลูกผสมกลับ BC_1F_5 14 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IRBB5

ANOVA

Sov	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	14	137939	9853	1.5115	0.19056 .
rep	2	47646	23823	3.6547	0.04346 *
Residuals	21	136889	6519		

Signif. codes: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

CV = 20.15822%

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายพีระพงษ์ เคหัง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	5 พฤศจิกายน 2525
สถานที่เกิด	เชียงใหม่
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยาประยุกต์) มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์