



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

แบบสรุปผู้บริหาร (Executive Summary)

1. รายละเอียดเกี่ยวกับแผนงานวิจัย

แผนงานวิจัยเรื่อง การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวคุณภาพโปรตีนสูง
Improvement of Waxy Corn for High Quality Protein

ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยประจำปี 2554 จำนวนเงิน 1,468,000 บาท (หนึ่งล้านสี่แสนหกหมื่นแปดพันบาทถ้วน)
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี เริ่มทำการวิจัยเมื่อ กรกฎาคม 2554 ถึง 30 มิถุนายน 2555

โครงการประกอบด้วย 2 โครงการย่อย

1. การเพิ่มปริมาณทริปโตเฟนในเอนโดสเปิร์มของข้าวโพดข้าวเหนียวด้วยยีนโอเพกทู

An Increase in Tryptophan Content in Endosperm of Waxy Corn by Opaque-2 Gene

ได้รับทุนอุดหนุนวิจัย จำนวนเงิน 1,000,000 บาท (หนึ่งล้านบาทถ้วน)

2. การปรับปรุงพันธุ์สังเคราะห์ข้าวโพดเทียน

The Synthetic Variety Improvement of Tein Corn (*Zea mays* L. Sub species *caratina*)

ได้รับทุนอุดหนุนวิจัย จำนวนเงิน 318,000 บาท (สามแสนหนึ่งหมื่นแปดพันบาทถ้วน)

ส่วนบริหารโครงการ ได้รับทุนอุดหนุนวิจัย จำนวนเงิน 150,000 บาท (หนึ่งแสนห้าหมื่นบาทถ้วน)

รายนามคณะผู้วิจัย พร้อมทั้งหน่วยงานที่สังกัด และหมายเลขโทรศัพท์

1.1 ผู้อำนวยการแผนงาน

ดร. ชูศักดิ์ จอมพุก

ตำแหน่ง รองศาสตราจารย์

หน่วยงาน ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต

กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

ศูนย์ความเป็นเลิศทางวิชาการด้านข้าวโพด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

กรุงเทพฯ 10900

โทรศัพท์ 034-351887, 086-9818658 โทรสาร 034-281266

Email: agrcsj@ku.ac.th

1.2 ผู้ร่วมงานวิจัย

1.2.1 หัวหน้าโครงการวิจัยที่ 1

ดร. ชูศักดิ์ จอมพุก

ตำแหน่ง รองศาสตราจารย์

หน่วยงาน ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต

กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

ศูนย์ความเป็นเลิศทางวิชาการด้านข้าวโพด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน
กรุงเทพฯ 10900

โทรศัพท์ 034-351887, 086-9818658 โทรสาร 034-281266

Email : agrcsj@ku.ac.th

1.2.2 หัวหน้าโครงการวิจัยที่ 2

นาย กิตติ บุญเลิศนิรันดร์

ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์

หน่วยงาน สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัย

เทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ อ. พระนครศรีอยุธยา

จ.พระนครศรีอยุธยา

โทรศัพท์ 089-0506418

โทรสาร 0-3532-3621

Email : kitti.v@rmutsb.ac.th

1.3 ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

ดร. กฤษณา สัมพันธ์รักษ์

ตำแหน่ง ศาสตราจารย์

Dr. Krisda Samphantharak

หน่วยงาน ข้าราชการบำนาญ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บางเขน จตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

สถานที่ติดต่อ 17/47 ซินเขต ซอย 1/35 ถ.งามวงศ์วาน แขวงทุ่งสองห้อง เขตหลักสี่ กรุงเทพฯ

โทรศัพท์ 02-5894588

โทรสาร -

Email: agrkds@ku.ac.th

2. สรุปแผนงานวิจัย

ภายใต้สมมติฐานของการนำข้าวโพดข้าวเหนียว (waxy gene; *wxwx*) ซึ่งเมล็ดมีปริมาณอมิโลเปกติน (amylopectin) ในแอนโดสเปิร์มสูงมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ แต่มีปริมาณทริปโตเฟน (tryptophan) ในโปรตีนประมาณ 0.45 เปอร์เซ็นต์ มาผสมพันธุ์กับข้าวโพดโอเพกทู (*opaque-2* gene; *o₂o₂*) ซึ่งมีปริมาณทริปโตเฟนในโปรตีนมากกว่า 0.7 เปอร์เซ็นต์ เพื่อคัดเลือกข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีอินโอเพกทูรวมอยู่ด้วยกันซึ่งเรียกว่า “ข้าวโพดข้าวเหนียวโอเพกทู” ที่มีอมิโลเปกตินไม่น้อยกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณทริปโตเฟนในโปรตีนไม่น้อยกว่า 0.80 เปอร์เซ็นต์ (CIMMYT ใช้เกณฑ์ทริปโตเฟนมากกว่า 0.7% จัดเป็นข้าวโพดคุณภาพโปรตีน หรือ quality protein maize ซึ่งเป็นข้าวโพดไร้มียีนโอเพกทู; Nurit *et al.*, 2009)

ส่วนงานวิจัยการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเทียนพันธุ์สังเคราะห์ ที่ทำการวิจัยเนื่องจากปัจจุบันข้าวโพดเทียนยังไม่มีพันธุ์ที่ดี ส่วนใหญ่จะเป็นพันธุ์ท้องถิ่นที่เกษตรกรเก็บเมล็ดพันธุ์และปลูกกันอย่างต่อเนื่อง ขาดการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเทียนอย่างแท้จริง ทำให้พันธุ์ท้องถิ่นแต่ละแหล่งมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมต่ำ เกิดความเสื่อมถอยทางพันธุกรรม (inbreeding depression) ภายในแต่ละพันธุ์ การปรับปรุงพันธุ์สังเคราะห์จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะทำให้พันธุกรรมมีความหลากหลายและใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมต่อไป

จากทั้งสองเป้าหมาย แผนงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ของการวิจัยคือ 1) ปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียว และข้าวโพดเทียน ให้มีปริมาณทริปโตเฟนในโปรตีนไม่น้อยกว่า 0.80 เปอร์เซ็นต์ ด้วยยีน *opaque-2* และ 2) ปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเทียนพันธุ์สังเคราะห์ที่มีผลผลิตสูง คุณภาพการรับประทานดี มีความสม่ำเสมอภายในพันธุ์

โดยมีโครงการวิจัย 2 โครงการวิจัย ดังนี้

1. โครงการวิจัยที่ 1 การเพิ่มปริมาณทริปโตเฟนในแอนโดสเปิร์มของข้าวโพดข้าวเหนียวด้วยยีนโอเพกทู

โครงการวิจัยนี้ มีงานหลักแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ

1.1 การพัฒนาข้าวโพดข้าวเหนียวโอเพกทู เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมและสกัดสายพันธุ์แท้

ปลูกสายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวโอเพกทู (*waxy-opaque-2*) ผสมตัวเองชั่วที่ 4 (S_4) ที่มีแหล่งพันธุกรรมของยีน *waxy* และยีน *opaque-2* (*wxwxo₂o₂*) จากโครงการวิจัย ‘การปรับปรุงคุณภาพโปรตีนของข้าวโพดข้าวเหนียวโดยใช้เทคนิคการกลายพันธุ์ร่วมกับการใช้โมเลกุลเครื่องหมายในการคัดเลือก’ โครงการวิจัยปีงบประมาณ 2550-2552 จำนวน 15 สายพันธุ์ แล้วตรวจสอบยีน *waxy* (*wxwx*) และ *opaque-2* (*o₂o₂*) ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล phi022 และ phi057 ตามลำดับ แล้วผสมตัวเอง 2 ชั่ว ได้สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 (S_6) ในฤดูปลูกที่ 3 ปลูกสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 (S_6) ที่คัดเลือกแล้วว่ามีปริมาณทริปโตเฟนสูง จำนวน 10 สายพันธุ์

สายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวโอเพกทูผสมตัวเองชั่วที่ 6 (S_6) จำนวน 10 สายพันธุ์ มีปริมาณทริปโตเฟนในโปรตีนอยู่ระหว่าง 0.66-1.21 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 0.94 เปอร์เซ็นต์ มีสายพันธุ์อินเบรต จำนวน 8 สายพันธุ์ ที่มีปริมาณทริปโตเฟนในโปรตีนมากกว่า 0.8 เปอร์เซ็นต์ และมีอมิโลเปกตินอยู่ระหว่าง 91.8-93.76 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 92.69 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์การค้าที่ไม่มียีนโอเพกทู มีเปอร์เซ็นต์ทริปโตเฟนในโปรตีนเฉลี่ย 0.47 เปอร์เซ็นต์ และมีอมิโลเปกตินเฉลี่ย 93.45 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 เหล่านี้ ได้ผสมพันธุ์แบบพบกันหมด (diallel cross) โดยใช้ Griffing’s method 4 ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1 -hybrid) จำนวนทั้งหมด 45 คู่ผสม สำหรับปลูกทดสอบผลผลิตในโครงการปีที่ 2

1.2 การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดเทียนเพื่อเพิ่มปริมาณทริปโตแฟนด้วยยีนโอเปกทู (o_2o_2)

ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีคุณภาพรับประทานฝักสดที่ดีเป็นพันธุ์แม่ จำนวน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์รัชตะ (จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) พันธุ์เหนียวสวรรค์ และพันธุ์บิ๊กไวท์ (Big white) จากบริษัทเอกชน และข้าวโพดเทียน 2 พันธุ์ คือ เทียนหันตรา (พันธุ์พื้นบ้าน จังหวัดอยุธยา) และเทียนสุโขทัย แล้วใช้สายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวโอเปกทูผสมตัวเองชั่วที่ 4 (S_4) เป็นพันธุ์พ่อ จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ I) (Kwi1 x Q53)- S_4 -2-8-1-2, II) (Kwi9 x Q53)- S_4 -13-73-4-1, III) (Kwi1 x Q53)-BC $_1$ S_4 -1-2-2-5-1, IV) (Kwi1 x Q53)-BC $_1$ S_4 -1-6-2-3-2 และ V) (Kwi1 x Q53)- S_4 -4-3-2-6 สร้างลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) จำนวน 8 คู่ผสม ในการผสมข้ามพันธุ์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อถ่ายทอดยีน *opaque-2* จากพันธุ์พ่อ มาไว้ในลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) จากนั้นคัดเลือกคู่ผสมที่มีลักษณะเกษตรดี มีความแข็งแรง เพื่อใช้ปรับปรุงพันธุ์ต่อ จำนวน 5 คู่ผสม คู่ผสมเหล่านี้ เมื่อถึงระยะออกดอก จะแยกดำเนินการเป็น 2 ส่วน คือ 1) ผสมตัวเอง (self) ได้สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1) และ 2) ผสมกลับ (backcross) ไปยังข้าวโพดพันธุ์แม่ (recurrent parent) ของแต่ละคู่ผสมได้สายพันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 1 (BC $_1$ F_1) ของทั้ง 5 คู่ผสม แล้วใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ (ϕ 057) เป็นเครื่องมือช่วยในการคัดเลือกยีนโอเปกทู

ผลการทดลอง การคัดเลือกสายพันธุ์อินเบรดข้าวโพดข้าวเหนียวโอเปกทูจากการผสมพันธุ์ใหม่ของทั้ง 5 คู่ผสม พบว่า สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1) เมื่อใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ *phi057* คัดเลือกได้ต้นที่มียีนโอเปกทูเป็น homozygous recessive (o_2o_2) ได้ทั้งหมด 166 สายพันธุ์ และสายพันธุ์เหล่านี้ได้ผสมตัวเองเป็น S_2 สำหรับการคัดเลือกต่อไป ในส่วนของการผสมกลับ (backcross) เพื่อเพิ่มระดับพันธุกรรมของพันธุ์รับ (recurrent parent) ได้สายพันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 1 (BC $_1$ F_1) ที่มียีนโอเปกทูเป็นเฮเทอโรไซกัส (O_2o_2) จำนวน 37 สายพันธุ์ จากทั้ง 5 คู่ผสม และผสมตัวเองได้เมล็ด BC $_1$ S_1 ทุกสายพันธุ์ ซึ่งแต่ละสายพันธุ์จะสามารถปลูกเป็นต้น BC $_1$ S_1 มากกว่า 100 ต้น/สายพันธุ์ สำหรับคัดเลือกยีนโอเปกทูที่เป็น homozygous recessive (o_2o_2) ต่อไป

2. โครงการที่ 2 การพัฒนาสายพันธุ์อินเบรดข้าวโพดเทียนเพื่อสร้างพันธุ์สังเคราะห์

นำสายพันธุ์ข้าวโพดเทียนผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1) และสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 (S_2) เป็นสายพันธุ์เริ่มต้นของงานวิจัย ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 ของข้าวโพดเทียน 3 พันธุ์ คือ ข้าวโพดเทียนบ้านเกาะ (TBK) ข้าวโพดเทียนขอนแก่น (TKKU1) และข้าวโพดเทียนสวรรค์ (TSW) และเริ่มต้นจากสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 จากลูกผสมระหว่างพันธุ์ คือ 1) พันธุ์เทียนหันตรา x G1-2 (THT/G1-2), 2) เทียนสุโขทัย x E1-2 (TSK/E1-2) และ 3) พันธุ์อินทรี/TBK/TBK (INS/TBK/TBK) หลังจากการปลูกและคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีผสมตัวเองจำนวน 2 ครั้งใน 2 ฤดูปลูก ได้เมล็ดสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 3 (S_3) จำนวน 65 สายพันธุ์ กล่าวคือ จากพันธุ์ TBK จำนวน 10 สายพันธุ์ จากพันธุ์ TKKU1 จำนวน 25 สายพันธุ์ และจากพันธุ์ TSW จำนวน 30 สายพันธุ์ และสกัดสายพันธุ์จากประชากรลูกผสมของสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 (S_2) ได้เมล็ดสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 4 (S_4) จำนวน 125 สายพันธุ์ จากคู่ผสม THT/G1-2 จำนวน 30 สายพันธุ์ จากคู่ผสม TSK/E1-2 จำนวน 30 สายพันธุ์ จากคู่ผสม THT/CS-1 จำนวน 5 สายพันธุ์ และจากคู่ผสม INS/TBK/TBK จำนวน 60 สายพันธุ์ รวมทั้งสิ้นคัดเลือกไว้ 190 สายพันธุ์ นอกจากนี้ ได้ผสมพันธุ์แบบ topcross โดยใช้ตัวทดสอบ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ THT/G1-2 (S_3), INS/TBK/TBK (S_3) และ TSW (S_2) ผสมกับสายพันธุ์ทดสอบซึ่งเป็นสายพันธุ์ S_3 จากคู่ผสม THT/G1-2 (S_3), TSK/E1-2 (S_3), THT/CS-1 (S_3) และ คู่ผสม INS/TBK/TBK (S_3) และสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 (S_2) จากพันธุ์ TSW (S_2) ได้ลูก topcross จำนวน 260 สายพันธุ์ เพื่อนำไปทดสอบผลผลิตในโครงการปีที่ 2 ต่อไป

บทคัดย่อ

แผนงานวิจัยการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวคุณภาพโปรตีนสูงประกอบด้วย 2 โครงการ คือ 1) การเพิ่มปริมาณทริปโตแฟนในเอนโดสเปิร์มของข้าวโพดข้าวเหนียวด้วยยีนโอเปกทู ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มปริมาณทริปโตแฟนในเอนโดสเปิร์มของข้าวโพดข้าวเหนียว และข้าวโพดเทียนด้วยยีนโอเปกทูและใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) มาช่วยในการคัดเลือกข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดเทียนที่มียีนโอเปกทูในรุ่นลูกข้าวต่างๆ และ 2) การปรับปรุงพันธุ์สังเคราะห์ข้าวโพดเทียน ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโพดเทียนให้มีคุณภาพการบริโภคดี ฝักดก และผลผลิตสูง และคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดเทียนที่มีสมรรถนะการผสมดี สำหรับสร้างพันธุ์สังเคราะห์ ผลการทดลอง จากโครงการวิจัยที่ 1 สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 (S_6) ที่มียีนโอเปกทูด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ phi057 มีความแข็งแรง และมีลักษณะเกษตรที่ดี จำนวน 10 สายพันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์ทริปโตแฟนในโปรตีนอยู่ระหว่าง 91.8-93.76% มีค่าเฉลี่ย 0.94% มีเปอร์เซ็นต์อิมิโดเปกตินเฉลี่ย 92.69% ขณะที่ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์การค้ามีเปอร์เซ็นต์ทริปโตแฟนในโปรตีนเฉลี่ย 0.47% และมีเปอร์เซ็นต์อิมิโดเปกตินเฉลี่ย 93.45% สายพันธุ์ผสมตัวเองเหล่านี้ นำไปผสมพันธุ์แบบพหุคูณ (diallel cross) ตามวิธี Griffing's method 4 ได้ลูกผสมแบบพหุคูณทั้งหมด จำนวน 45 คู่ผสม ส่วนการคัดเลือกสายพันธุ์อินเบรตข้าวโพดข้าวเหนียวโอเปกทู จากการผสมพันธุ์ใหม่ของทั้ง 5 คู่ผสม พบว่า จากสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1) คัดเลือกได้ต้นที่มียีนโอเปกทูเป็น homozygous recessive (o_2o_2) ได้ทั้งหมด 166 สายพันธุ์ ในส่วนของการผสมกลับ (backcross) เพื่อเพิ่มระดับพันธุกรรมของพันธุ์รับ (recurrent parent) ได้สายพันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 1 (BC_1F_1) ที่มียีนโอเปกทูเป็นเฮเทอโรไซกัส (O_2o_2) จำนวน 37 สายพันธุ์ จากทั้ง 5 คู่ผสม และผสมตัวเองได้เมล็ด BC_1S_1 ของทุกสายพันธุ์ ในส่วนโครงการวิจัยที่ 2 จากการสกัดสายพันธุ์ข้าวโพดเทียน โดยการผสมตัวเอง 2 ครั้ง โดยเริ่มต้นจากสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1) ของข้าวโพดเทียน 3 ประชากร ได้เมล็ดผสมตัวเองชั่วที่ 3 (S_3) จำนวน 65 สายพันธุ์ และสกัดจากสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 (S_2) ของลูกผสมระหว่างพันธุ์ ได้ได้เมล็ดสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 4 (S_4) จำนวน 125 สายพันธุ์ รวมทั้งสิ้นคัดเลือกไว้ 190 สายพันธุ์ นอกจากนี้ ได้ผสมพันธุ์แบบ topcross โดยใช้ตัวทดสอบ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ THT/G1-2 (S_3), INS/TBK//TBK (S_3) และ TSW (S_2) ผสมกับสายพันธุ์ทดสอบซึ่งเป็นอินเบรต S_3 จากกลุ่มคู่ผสม THT/G1-2 (S_3), TSK/E1-2 (S_3), THT/CS-1 (S_3) และ INS/TBK//TBK (S_3) และสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 (S_2) จากพันธุ์ TSW (S_2) ได้ลูก topcross จำนวน 260 สายพันธุ์

คำสำคัญ: ข้าวโพดข้าวเหนียว, ข้าวโพดเทียน, ทริปโตแฟน, เครื่องหมายโมเลกุล (phi057, phi022), อิมิโดเปกติน, พันธุ์สังเคราะห์

Abstract

The improvement of waxy corn for high quality protein research program composed of two projects. The first project was an increase in tryptophan content in endosperm of waxy corn by opaque-2 gene. The objective of this project was to increase the tryptophan content in endosperm of waxy and tein corns by *opaque-2* gene and using DNA marker as marker assisted selection for *opaque-2* gene in inbred progenies. The second project was the synthetic variety improvement of tein corn. The objective of this study was to develop tein inbred lines for high consumer quality, prolific and high yield, and to select tein inbred line having high combining ability for synthetic variety. The results from the first project indicated that ten S_6 of waxy-opaque-2 lines were healthy and good agronomic characters. In selected S_6 inbred lines, the tryptophan in protein of endosperm ranged from 91.8 to 93.76% with an average about 0.94% and the percentage of amylopectin was about 92.69%. In control variety or normal waxy corn the percentage of tryptophan in protein was about 0.47% and amylopectin was about 93.45%. A diallel cross of ten selected S_6 inbred lines was made using Griffing's method 4 obtaining forty-five single cross hybrids. One hundred and sixty-six of S_1 inbred lines with *opaque-2* gene were obtained using *phi057* as marker-assisted selection from 5 crosses. On the other hand, backcross method was applied to increase the genetic background of recurrent parent. The heterozygous of *opaque-2* in BC_1F_1 plants were obtained about 37 lines from 5 crosses. Then, the selected lines were self-pollinated to get BC_1S_1 generation. For the second project, extract inbred lines by selfing selected plants were done for two generations. Sixty-five of S_3 inbred lines were obtained from S_1 inbred lines of 3 populations. Likewise, one hundred and twenty-five of S_4 inbred lines were extracted from the S_2 inbred line of crossing between varieties. The total of selected inbred lines was about 190 lines. Moreover, two hundred and sixty topcross hybrids were obtained using 3 tester inbred lines namely, THT/G1-2 (S_3), INS/TBK/TBK (S_3) and TSW (S_2) crossing with S_3 from the cross of THT/G1-2 (S_3), TSK/E1-2 (S_3), THT/CS-1 (S_3) and INS/TBK/TBK (S_3), and S_2 of TSW (S_2).

Key words: Waxy corn, Tein corn, Tryptophan, Molecular marker (*phi057*, *phi022*), Amylopectin, Synthetic variety