



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

## แบบสรุ่ยอการวิจัย

### 1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

#### 1.1 ชื่อเรื่อง

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวคุณภาพโปรตีนสูง  
Improvement of Waxy Corn for High Quality Protein

#### 1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

##### 1.2.1 หัวหน้าโครงการวิจัย

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 ผู้ร่วมงานวิจัย

ดร. สุจินต์ เจนวีร์วัฒน์ ตำแหน่ง อาจารย์

Dr. Sujin Jenweerawat

หน่วยงาน ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

โทรศัพท์ 0-2579-3130 ext. 115, 08-1571-7225 โทรสาร 0-2579-8580

Email: agrsjj@ku.ac.th, sjenweerawat@yahoo.com

ดร. บุญฤทธิ์ สิ้นค่างาม ตำแหน่ง อาจารย์

Dr. Bunyarit Sinkangam

หน่วยงาน สำนักวิชาเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา อำเภอเมือง  
จังหวัดพะเยา 65000

โทรศัพท์ 054-466666 ต่อ 3156 โทรสาร 054-466663

Email: sin\_bunyarit@hotmail.com



## 2. ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย

ประเทศไทยมีการปลูกข้าวโพดหลายชนิดเพื่อการค้าได้แก่ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดฝักอ่อน และข้าวโพดข้าวเหนียว เป็นต้น ซึ่งสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรมากกว่าสามแสนครอบครัว ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นข้าวโพดส่วนใหญ่ที่เกษตรกรปลูก และใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ภายในประเทศ นอกจากนี้ข้าวโพดยังนำไปใช้ในอุตสาหกรรมแป้ง น้ำมัน น้ำตาล และผลิตภัณฑ์อื่นๆ อีกด้วย ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดโดยการเพิ่มคุณค่าทางอาหาร จึงเป็นงานวิจัยที่น่าสนใจ ปกติแล้วโปรตีนในข้าวโพดจะมีคุณภาพต่ำ เนื่องจากมีปริมาณกรดอะมิโนที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต (essential amino acid) คือ ทริปโตแฟน (tryptophan) และไลซีน (lysine) ต่ำ มีทริปโตแฟนอยู่ประมาณ 0.45 เปอร์เซ็นต์ในโปรตีน (percent in protein) อย่างไรก็ตาม ในช่วงทศวรรษ 1960 นักวิทยาศาสตร์ จากมหาวิทยาลัย Purdue ได้ค้นพบยีน *opaque-2* ในข้าวโพดกลายพันธุ์ (mutant) ทำให้เมล็ดข้าวโพดมีปริมาณกรดอะมิโนทริปโตแฟนและไลซีนสูงขึ้นประมาณสองเท่าของข้าวโพดพันธุ์ปกติ ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด *opaque-2* ปัจจุบันพันธุ์ข้าวโพด *opaque-2* หรือเป็นที่รู้จักกันในชื่อ quality protein maize (QPM) ปรับปรุงพันธุ์โดยศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวสาลีนานาชาติ (CIMMYT) เป็นพันธุ์ข้าวโพดที่เป็นที่ยอมรับของหลายๆ ประเทศทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มประเทศที่ใช้ข้าวโพดเป็นอาหารมนุษย์โดยตรง ข้าวโพดชนิดนี้จะปลูกร่วมกับข้าวโพดชนิดอื่นไม่ได้ เนื่องจากยีนที่ควบคุมลักษณะนี้เป็น recessive gene ดังนั้นถ้ามีการผสมเกสรจากข้าวโพดปกติ จะทำให้มีปริมาณทริปโตแฟนต่ำ หรือการแสดงออกจะเป็นข้าวโพดปกติ เนื่องจากอิทธิพลของ Xena effect ดังนั้นการปลูกข้าวโพด QPM จะต้องมีพื้นที่ปลูกเฉพาะ ทำให้ข้าวโพดไร่ QPM ในประเทศไทยยังไม่มีมีการปลูกเพื่อการค้า นอกจากนี้ระบบการรับซื้อข้าวโพดไร่ยังใช้เกณฑ์ด้านปริมาณเป็นหลัก จึงขาดแรงจูงใจให้เกษตรกรหันมาปลูกข้าวโพดชนิดนี้

อย่างไรก็ตาม สำหรับข้าวโพดชนิดอื่นๆ เช่น ข้าวโพดหวาน และข้าวโพดข้าวเหนียว ปกติจะต้องปลูกแยกตามชนิดเพื่อป้องกันการผสมละอองเกสรข้ามชนิดพันธุ์ ทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะปลูกข้าวโพดที่มียีน *opaque-2* ควบคุมได้ เช่น ข้าวโพดข้าวเหนียว และข้าวโพดเทียน (*waxy corn*) ซึ่งเป็นข้าวโพดที่ปลูกและบริโภคฝักสดกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย และเป็นสินค้าที่กำลังเป็นที่ต้องการสูงทั้งในประเทศและหลายประเทศในเอเชีย เช่น จีน เวียดนาม ใต้หวัน เกาหลีใต้ คาดว่ามีชาวเอเชียบริโภคข้าวโพดทั้งสองชนิดนี้ไม่ต่ำกว่าปีละ 300-600 ล้านคน ดังนั้น บริษัทผู้ค้าเมล็ดพันธุ์นานาชาติ ไม่ว่าจะในประเทศ จีน เวียดนาม อินเดีย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย รวมทั้งไทย สนใจเร่งพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวโพดกันอย่างเต็มที่ โดยปัจจุบันไทยมียอดส่งออกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวไม่ต่ำกว่าปีละ 70-80 ล้านบาท

งานวิจัยนี้จึงมีสมมติฐานว่า ถ้านำข้าวโพดข้าวเหนียวยีน *waxy (wxwx)* ที่ทำให้มีปริมาณอมิโลเปกตินในเอนโดสเปิร์มสูงไม่น้อยกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ แต่มีปริมาณทริปโตแฟนในโปรตีนประมาณ 0.45 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผสมพันธุ์กับข้าวโพดที่มียีน *opaque-2* และสามารถเลือกพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวและมียีน *opaque-2* ร่วมอยู่ด้วย (ข้าวโพดข้าวเหนียว-*opaque-2*) น่าจะมีอมิโลเปกตินไม่น้อยกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณทริปโตแฟนในโปรตีนไม่น้อยกว่า 0.80 เปอร์เซ็นต์ (CIMMYT ใช้เกณฑ์มากกว่า 0.7 % จัดเป็นข้าวโพด QPM; Nurit *et al.*, 2009) ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ โดยการเพิ่มทริปโตแฟนในเอนโดสเปิร์มให้มีปริมาณไม่น้อยกว่า 0.80 เปอร์เซ็นต์ในโปรตีน เป็นงานวิจัยที่เป็นไปได้ และในปัจจุบันยังไม่มีพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดเทียนที่มียีน *opaque-2* ร่วมอยู่ด้วย ดังนั้นถ้าการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดชนิดนี้ประสบความสำเร็จ จะเป็นประโยชน์โดยตรงต่อผู้บริโภคข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดเทียนฝักสด โดยจะได้รับทริปโตแฟนเพิ่มขึ้นจากเดิมไม่น้อยกว่า 2 เท่าเมื่อบริโภคข้าวโพดในปริมาณเท่าเดิม ในขณะเดียวกันไลซีนซึ่งมีความสัมพันธ์กับทริปโตแฟนในทางบวกก็จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน

### 3. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 3.1 เพิ่มปริมาณทริบิโตแฟนในเอนโดสเปิร์มของข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดเทียนด้วยยีนโอเปกทู (*opaque-2*)
- 3.2 ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) มาช่วยในการคัดเลือกข้าวโพดข้าวเหนียว (*waxy*) และข้าวโพดเทียนที่มียีนโอเปกทูในรุ่นลูกข้าวต่างๆ

### 4. ระเบียบวิธีวิจัย

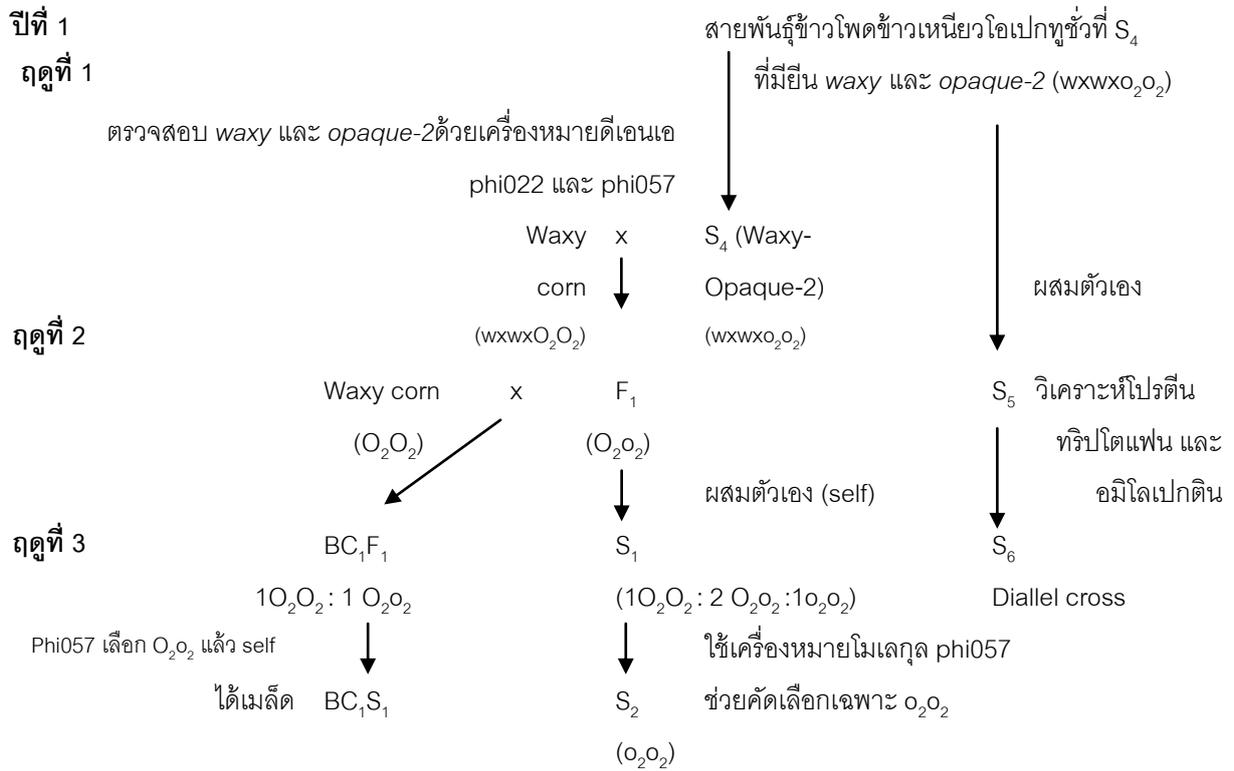
โครงการวิจัยนี้ มีงานหลักแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ

#### 4.1 การพัฒนาข้าวโพดข้าวเหนียวโอเปกทู เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุ์กรรมและสกัดสายพันธุ์แท้

ปลูกสายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวโอเปกทู (*waxy-opaque-2*) ผสมตัวเองชั่วที่ 4 ( $S_4$ ) ที่มีแหล่งพันธุ์กรรมของยีน *waxy* และยีน *opaque-2* ( $wxwxo_2o_2$ ) จากโครงการวิจัย ‘การปรับปรุงคุณภาพโปรตีนของข้าวโพดข้าวเหนียวโดยใช้เทคนิคการกลายพันธุ์ร่วมกับการใช้โมเลกุลเครื่องหมายในการคัดเลือก’ โครงการวิจัยปีงบประมาณ 2550-2552 จำนวน 15 สายพันธุ์ แล้วตรวจสอบยีน *waxy* ( $wxwx$ ) และ *opaque-2* ( $o_2o_2$ ) ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล phi022 และ phi057 ตามลำดับ แล้วผสมตัวเอง 2 ชั่ว ได้สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 ( $S_6$ ) ในฤดูปลูกที่ 3 ปลูกสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 ( $S_6$ ) ที่คัดเลือกแล้วว่ามีปริมาณทริบิโตแฟนสูงเพื่อผสมตัวเองต่อ และเลือกสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 จำนวน 10 สายพันธุ์ ผสมพันธุ์แบบพบกันหมดได้ลูกผสม จำนวน 45 คู่ผสม รายละเอียดแสดงในภาพที่ 2-1

#### 4.2 การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดเทียนเพื่อเพิ่มปริมาณทริบิโตแฟนด้วยยีนโอเปกทู ( $o_2o_2$ )

ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีคุณภาพรับประทานฝักสดที่ดีเป็นพันธุ์แม่ จำนวน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์รัชตะ (จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) พันธุ์เหนียวสวรรค์ และพันธุ์บิกไวท์ (Big white) จากบริษัทเอกชน และข้าวโพดเทียน 2 พันธุ์ คือ เทียนหันตรา (พันธุ์พื้นบ้าน จังหวัดอยุธยา) และเทียนสุโขทัย แล้วใช้สายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวโอเปกทูผสมตัวเองชั่วที่ 4 ( $S_4$ ) (ดังภาพที่ 1-1) เป็นพันธุ์พ่อ จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ I) ( $Kwi1 \times Q53$ )- $S_4$ -2-8-1-2, II) ( $Kwi9 \times Q53$ )- $S_4$ -13-73-4-1, III) ( $Kwi1 \times Q53$ )- $BC_1S_4$ -1-2-2-5-1, IV) ( $Kwi1 \times Q53$ )- $BC_1S_4$ -1-6-2-3-2 และ V) ( $Kwi1 \times Q53$ )- $S_4$ -4-3-2-6 สร้างลูกผสมชั่วที่ 1 ( $F_1$ ) จำนวน 8 คู่ผสม ในการผสมข้ามพันธุ์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อถ่ายทอดยีน *opaque-2* จากพันธุ์พ่อ มาไว้ในลูกผสมชั่วที่ 1 ( $F_1$ ) จากนั้นคัดเลือกคู่ผสมที่มีลักษณะเกษตรดี มีความแข็งแรงเพื่อใช้ปรับปรุงพันธุ์ต่อ 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 ( $BC_1F_1$ ) ของทั้ง 5 คู่ผสม แล้วใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ (phi057) เป็นเครื่องมือช่วยในการคัดเลือกยีนโอเปกทู รายละเอียดแสดงในภาพที่ 2-1



ภาพที่ 2-1 แผนการดำเนินการผสมและคัดเลือกพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวเพื่อเพิ่มปริมาณทริปโตแฟนด้วยยีนโอเปกทู

5. ผลการวิจัย

คัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวโอเปกทู สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 ( $S_6$ ) ไว้ จำนวน 10 สายพันธุ์ ซึ่งมีปริมาณทริปโตแฟนในโปรตีนอยู่ระหว่าง 0.66-1.21 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 0.94 เปอร์เซ็นต์ มีสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 จำนวน 8 สายพันธุ์ ที่มีปริมาณทริปโตแฟนในโปรตีนมากกว่า 0.8 เปอร์เซ็นต์ และมีอมิโลเปกตินอยู่ระหว่าง 91.8-93.76 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 92.69 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์การค้าที่ไม่มียีนโอเปกทู มีเปอร์เซ็นต์ทริปโตแฟนในโปรตีนเฉลี่ย 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

ในส่วนของการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดเทียนกับข้าวโพดข้าวเหนียวโอเปกทู ได้คัดเลือกสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 ( $S_1$ ) จากการผสมพันธุ์ใหม่ของทั้ง 5 คู่ผสม โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ phi057 สามารถคัดเลือกได้ต้นที่มียีนโอเปกทู เป็น homozygous recessive ( $o_2o_2$ ) ได้ทั้งหมด 166 สายพันธุ์ และสายพันธุ์เหล่านี้ได้ผสมตัวเองเป็น  $S_2$  สำหรับการคัดเลือกต่อไป ในส่วนของการผสมกลับ (backcross) เพื่อเพิ่มระดับพันธุกรรมของพันธุ์รับ (recurrent parent) ได้สายพันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 1 ( $BC_1F_1$ ) ที่มียีนโอเปกทูเป็นเฮเทอโรไซกัส ( $O_2o_2$ ) จำนวน 37 สายพันธุ์ จากทั้ง 5 คู่ผสม และผสมตัวเองได้เมล็ด  $BC_1S_1$  ทุกสายพันธุ์ ซึ่งแต่ละสายพันธุ์จะสามารถปลูกเป็นต้น  $BC_1S_1$  มากกว่า 100 ต้น/สายพันธุ์ สำหรับคัดเลือกยีนโอเปกทูที่เป็น homozygous recessive ( $o_2o_2$ ) ต่อไป

ในส่วนของการปรับปรุงสายพันธุ์อินเบรตข้าวโพดเทียนเพื่อสร้างพันธุ์สังเคราะห์ ได้เมล็ดสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 3 ( $S_3$ ) จำนวน 65 สายพันธุ์ กล่าวคือ จากพันธุ์ TBK จำนวน 10 สายพันธุ์ จากพันธุ์ TKKU1 จำนวน 25 สายพันธุ์ และจากพันธุ์ TSW จำนวน 30 สายพันธุ์ และจากการสกัดสายพันธุ์จากประชากรลูกผสมของสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 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

## 6. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

ข้าวโพดข้าวเหนียวโอเปกทู สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 ( $S_6$ ) ที่คัดเลือกไว้ 10 สายพันธุ์ และได้นำไปผสมพันธุ์แบบพบกันหมดได้ 45 คู่ผสม จะต้องมีการทดสอบสมรรถนะการผสม (combining ability) เพื่อต้องการหาสายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวโอเปกทูไปพัฒนาเป็นพันธุ์ลูกผสมต่อไป แต่ในบางกรณีที่สายพันธุ์  $S_6$  ให้ลูกผสมที่ดี แต่ผลผลิตของตัวเองไม่ดี (สายพันธุ์อินเบรตมีผลผลิตค่อนข้างต่ำ) ซึ่งจะมีผลต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม ก็สามารถนำไปปรับปรุงผลผลิตของสายพันธุ์อินเบรตใหม่ได้ ตามวิธีการสกัดสายพันธุ์อินเบรตตามวิธีปกติ โดยการผสมตัวเองของลูกผสมเดี่ยวที่ให้ผลผลิตสูง คุณภาพการรับประทานดี และมีปริมาณทริบโตแฟนสูง คัดเลือกสายพันธุ์อินเบรตปกติ

สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ( $S_2$ ) ที่ได้จากการผสมพันธุ์ใหม่ของทั้ง 5 คู่ผสม ที่มียีนโอเปกทูอยู่ในสภาพ homozygous recessive ( $o_2o_2$ ) ทั้ง 166 สายพันธุ์ จะต้องปลูกและคัดเลือกลักษณะทางการเกษตรที่ดี และต้องทดสอบสมรรถนะการผสม เพื่อจะคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีต่อไป

## 7. การนำไปใช้ประโยชน์

สายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีปริมาณกรดอะมิโนทริบโตแฟนในโปรตีนสูงขึ้นจากเดิมประมาณ 2 เท่า โดยมีทริบโตแฟนในโปรตีนไม่น้อยกว่า 0.80 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากยีน opaque-2 สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านโภชนาการโดยตรงต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับผู้ที่ไม่ม่อาหารโปรตีนจากสัตว์บริโภคอย่างเพียงพอ เช่น ชาวเขา ประชาชนในชนบทยากจน ดังนั้นการบริโภคข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีปริมาณทริบโตแฟน ก็จะช่วยให้ผู้บริโภคได้รับโปรตีนที่มีคุณภาพสูงได้เช่นกัน

สายพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวที่มียีน opaque-2 บางสายพันธุ์อาจมีศักยภาพในการผลิตลูกผสมเพื่อการค้า สำหรับลูกค้ากลุ่มเป้าหมายที่คำนึงถึงคุณค่าด้านโภชนาการจากข้าวโพด