



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พืชไร่)

ปริญญา

พืชไร่	พืชไร่นา
สาขา	ภาควิชา

เรื่อง การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตสูง และเมล็ดมีคุณภาพดี
โดยวิธีบันทึกประวัติ ร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก

Rice Breeding for Photoperiod Insensitivity, High Yield and Good Grain Quality
by Pedigree Method and Marker Assisted Selection

นามผู้วิจัย นางสาวปาริฉัตร รัตนผล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ธานี ศรีวงศ์ชัย, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ประภา ศรีพิจิตร, D.Agr.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เฉลิมพล ภูมิไชย, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์รังสฤษดิ์ กาวิตะ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตสูง และเมล็ดมีคุณภาพดี
โดยวิธีบันทึกประวัติ ร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก

Rice Breeding for Photoperiod Insensitivity, High Yield and Good Grain Quality by
Pedigree Method and Marker Assisted Selection

โดย

นางสาวปาริฉัตร รัตนผล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชไร่)

พ.ศ. 2555

ปาริฉัตร รัตนผล 2555: การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตสูง และเมล็ดมีคุณภาพดี โดยวิธีบันทึกประวัติ ร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชไร่) สาขาพืชไร่ ภาควิชาพืชไร่นา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์ธานี ศรีวงศ์ชัย, วท.ด. 99 หน้า

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตสูง และเมล็ดมีคุณภาพดี โดยวิธีบันทึกประวัติ ร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก ดำเนินการโดยการผสมข้ามระหว่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่เป็นข้าวคุณภาพดี กับพันธุ์ Qiqnizhan ที่มีลักษณะรูปทรงต้นข้าวแบบใหม่ และมีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง หลังจากการผสมข้ามพันธุ์ และได้ลูกผสมชั่วที่ 1 แล้ว ปลูกลูกชั่วที่ 2 เพื่อคัดเลือกลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง และใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 และ OSR19 ช่วยในการคัดเลือกลักษณะความหอม และปริมาณอะมิโลสต่ำตามลำดับ จากนั้นปลูกลูกชั่วที่ 3 เพื่อคัดเลือกลักษณะความหอมด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 อีกครั้ง แล้วคัดเลือกลักษณะทรงต้นรูปแบบใหม่ด้วยสายตาในลูกชั่วที่ 3 และลูกชั่วที่ 4 สามารถคัดเลือกได้สายพันธุ์ลูกชั่วที่ 4 จำนวนทั้งหมด 6 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง มีปริมาณอะมิโลสต่ำ เมล็ดมีกลิ่นหอม และให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ชัชนาท1 ซึ่งเป็นพันธุ์เปรียบเทียบที่ให้ผลผลิตสูงที่สุดในการทดสอบ เฉลี่ย 19.67 กรัมต่อต้น โดยสายพันธุ์ ATN0701-227-1-2 เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงที่สุด 23.67 กรัมต่อต้น

นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เฉพาะกับการทำหน้าที่ของยีนความหอม เพื่อใช้ในการช่วยคัดเลือกลักษณะความหอมในข้าว เครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้นมาใหม่นี้ออกแบบให้คล่อมตำแหน่งที่มีเบสขาดหายไป 8 เบสใน exon 7 ของยีน *Badh2* ซึ่งเป็นบริเวณที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของลักษณะความหอมในข้าว โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้นมาเป็นเครื่องหมายแบบ co-dominance และสามารถจำแนกพันธุกรรมที่ควบคุมความหอมของเมล็ดข้าวทั้งที่เป็นแบบ homozygous dominance, heterozygous และ homozygous recessive จึงเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีประสิทธิภาพและมีความแม่นยำในการตรวจสอบเหมาะสมสำหรับการใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

___ / ___ / ___

Parichut Rattanapol 2012: Rice Breeding for Photoperiod Insensitivity, High Yield and Good Grain Quality by Pedigree Method and Marker Assisted Selection. Master of Science (Agronomy), Major Field: Agronomy, Department of Agronomy. Thesis Advisor: Mr. Tanee Sreewongchai, Ph.D. 99 pages.

Rice breeding for photoperiod insensitivity, high yield and good grain quality using pedigree method and marker assisted selection was conducted by crossing between Khao Dawk Mali105 (KDML105) rice variety which has good grain quality and Qiqnizhan rice variety which has new plant type (NPT) and high yield potential. The F_1 hybrid plants were obtained after crossing. Then the F_2 progenies were planted and selection was made for photoperiod insensitive plants. DNA marker Naro1 and OSR19 were used for assisted selection for aroma and low amylose content in F_2 progenies. The F_3 progenies were planted and reselection was done for aroma using DNA marker Naro1. Visual selection for new plant type was applied in F_3 and F_4 progenies. A total of 6 lines were selected from F_4 progenies. These lines were photoperiod insensitive with aroma and low amylose content in their grains. Moreover, they gave higher yield than the highest yielding variety CNT1 which exhibited the yield of 19.67 g/plant. Among then, the ATN0901-227-1-2 showed the highest yield of 23.67 g/plant.

Moreover, the DNA marker was developed to identify the function of aromatic gene and it was used for assisting selection. This marker was designed to cover the position of 8 base pairs deletion of exon 7 in the *Badh2* gene, which related to the expression of aromatic trait in rice grain. The newly developed DNA marker is a co-dominance marker that could identify homozygous dominance, heterozygous and homozygous recessive genotype of this trait. This marker can be use for assisting selection in rice for this trait with high efficiency and accuracy.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

___/___/___

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ธานี ศรีวงศ์ชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รศ.ดร.ประภา ศรีพิจิตร และ ผศ.ดร.เฉลิมพล ภูมิไชย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำทั้งในด้านการศึกษา การทำงานวิจัย ตลอดจนตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สำเร็จสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ดร.กาญจนา กล้าแข็ง และ ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย รศ.ดร. รังสฤษดิ์ กาวิตะ ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆ ในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ทุกท่าน ที่ได้ถ่ายทอดความรู้ ตลอดจนประการณ์ต่างๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งที่ผู้วิจัยได้นำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์กับการดำเนินการวิจัยและจัดทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือ ตลอดจนเป็นกำลังใจที่ดี ที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลงด้วยดี และขอขอบคุณเจ้าของผลงานวิจัยทุกท่านที่ข้าพเจ้าได้นำผลงานวิจัยของท่านมาใช้เป็นเอกสารอ้างอิงในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการค้นคว้าและวิจัยประเภทวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2554 และทุนสนับสนุนงานวิจัยจากคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ และคุณแม่ รวมไปถึงญาติพี่น้องทุกท่านที่ให้ความรัก ให้กำลังใจ และสนับสนุนกำลังใจทรัพย์ จนกระทั่งสำเร็จการศึกษา และสำเร็จเป็นวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ประโยชน์และความดีที่พึงได้จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ จึงขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ ผู้ให้กำเนิดชีวิต เลี้ยงดู สักสอน เป็นแบบอย่างที่ดี และอยู่เบื้องหลังความสำเร็จทั้งหมด ตลอดจนกระทั่งครูบาอาจารย์ ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชา ความรู้และอบรมสั่งสอนตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

ปาริฉัตร รัตนผล

พฤษภาคม 2555

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	23
อุปกรณ์	23
วิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	38
สรุปและข้อเสนอแนะ	62
สรุป	62
ข้อเสนอแนะ	63
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	64
ภาคผนวก	75
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	99

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ความเข้มข้นและปริมาตรสารที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR	29
2 เงื่อนไขในการตั้งค่าการทำปฏิกิริยา PCR	29
3 การแบ่งประเภทของข้าวตามปริมาณอะมิโลส	35
4 ลักษณะการสลายตัวของเมล็ดข้าวสารในต่าง	36
5 การประเมินค่าอุณหภูมิแป้งสุกจากค่าการสลายของเมล็ดข้าวสารในต่าง	36
6 การกระจายตัวของต้นข้าวที่มีลักษณะไม่วิต่อช่วงแสงกับต้นที่มีลักษณะ ไวต่อช่วงแสงในลูกข้าวที่ 2	38
7 เครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับคัดเลือกลักษณะความหอมของข้าว	40
8 ข้อมูลลักษณะทางพันธุกรรม และลักษณะที่ปรากฏของข้าวหอม และไม่หอม ที่ใช้ในการทดลอง	40
9 ผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางเกษตรของลูกข้าวที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่มีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์พันธุ์ แม่ พ่อ และพันธุ์ เปรียบเทียบจำนวน 3 พันธุ์	50
10 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะ ทางการเกษตรบางอย่างของลูกข้าวที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์	52
11 คุณภาพทางกายภาพของเมล็ดของลูกข้าวที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์ที่มี ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เปรียบเทียบชัณหาที่ 1 พันธุ์ แม่ พ่อ และพันธุ์เปรียบเทียบ จำนวน 3 พันธุ์	55
12 คุณภาพการหุงต้มและรับประทานของเมล็ดข้าวลูกข้าวที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์ที่มีผลผลิตสูงกว่าชัณหาที่ 1 พันธุ์พ่อ และพันธุ์เปรียบเทียบ จำนวน 3 พันธุ์	58
13 ขั้นตอนและวิธีการที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะต่างๆ ในลูกข้าวต่างๆ ของ การปรับปรุงพันธุ์แบบบันทึกประวัติร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ช่วยคัดเลือก	61

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
1 ผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางการเกษตรของลูกข้าวที่ 4 จำนวน 54 สายพันธุ์	79
2 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 และ OSR19 ช่วยคัดเลือกใน ลูกข้าวที่ 2	83
3 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ช่วยคัดเลือกในลูกข้าวที่ 3	92

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างของยีนบีเทนอัลดีไฮด์ดีไฮโดรจิเนส (<i>Badh2</i>)	22
2 การกำจัดละอองเกสรตัวผู้ (emasculation) (ก) ตัดส่วนปลายของดอกข้าวออกประมาณหนึ่งในสามของดอก (ข) ลักษณะของดอกข้าวหลังจากตัดปลายดอกออก (ค) กำจัดเกสรตัวผู้โดยใช้ปากคีบดึงเกสรตัวผู้ออก (ง) ลักษณะของดอกข้าวหลังกำจัดเกสรตัวผู้ (จ) ฉีดพ่นน้ำให้กับดอกข้าว และ(ฉ) กลุ่มช่อดอกข้าวโดยใช้ขวดพลาสติกใสเจาะรูขนาดเล็ก	26
3 การผสมเกสรข้ามต้น การเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษาเมล็ดข้าว (ก) เลือกต้นพ่อแม่ที่มีช่อดอกข้าวที่อยู่ในระยะดอกบาน (ข) นำช่อดอกของต้นพ่อและต้นแม่มาคลุมด้วยขวดพลาสติกใสเข้าด้วยกัน (ค) ลักษณะเมล็ดข้าวที่ติดอยู่กับรวงหลังจากการผสมข้ามนาน 1 สัปดาห์ (ง) หลังจากการผสมเกสรไปนาน 4-5 สัปดาห์เก็บเมล็ดแล้วนำมาทำลายการพักตัวของเมล็ดโดยการตากแดดนาน 1 สัปดาห์ (จ) ลักษณะเมล็ดข้าวที่ได้จากการผสมข้าม และ(ฉ) การเก็บรักษาเมล็ดข้าวโดยเก็บไว้ในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส	27
4 การปลูกข้าวแบบเร่งข้าวอายุในภาคหลุม	28
5 การทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ Naro1 ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และพันธุ์ Qiqnizhan	41
6 ขนาด PCR products จากไพรเมอร์ Naro1 ของข้าวหอม และไม่หอม	41
7 เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro 1 ที่ใช้คัดเลือกลักษณะความหอม	43
8 เครื่องหมายดีเอ็นเอ OSR 19 ที่ใช้คัดเลือกลักษณะปริมาณอะมิโลส	44
9 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ช่วยในการคัดเลือกลักษณะความหอมในลูกข้าวที่ 2	45
10 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ OSR19 ช่วยในการคัดเลือกลักษณะปริมาณอะมิโลสต่ำในลูกข้าวที่ 2	45
11 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ช่วยในการคัดเลือกลักษณะความหอมในลูกข้าวที่ 3	46

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- | | | |
|----|--|----|
| 12 | ทรงต้นของข้าวพันธุ์แม่ พ่อ และลูกชั่วที่ 4 ที่คัดเลือกทั้ง 6 สายพันธุ์ (ก) พันธุ์แม่ขาวดอกมะลิ105 (ข) พันธุ์พ่อ Qiqnizhan (ค) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 (ง) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 (จ) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-46-10-1 (ฉ) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-63-1-1 (ช) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901- 83-1-1 และ(ซ) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-227-1-1 | 47 |
| 13 | เปอร์เซ็นต์อะมิโลสของลูกชั่วที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่มีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์แม่ พ่อ และพันธุ์เปรียบเทียบกับจำนวน 3 พันธุ์ | 56 |
| 14 | การสลายเมล็ดข้าวสารในต่างของลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ พันธุ์แม่ พันธุ์พ่อ และพันธุ์เปรียบเทียบกับ 3 พันธุ์ (ก) พันธุ์ชัยนาท1 (ข) สายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 ATN0901-227-1-2 พันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 และ สุพรรณบุรี1 และ (ค) สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 และพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 | 59 |

ภาพผนวกที่

- | | | |
|---|--|----|
| 1 | ความยาวของช่วงแสงในเวลากลางวันของจังหวัดต่างๆ ในประเทศไทย ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง เดือนกรกฎาคม ของปี พ.ศ. 2553 | 77 |
| 2 | ทรงต้นของลูกชั่วที่ 3 ที่คัดเลือกไว้ทั้ง 11 สายพันธุ์ (ก) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-1-1 (ข) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-34-1 (ค) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-36-2 (ง) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-46-3 (จ) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-46-6 (ฉ) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-46-10 (ช) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-46-11 (ซ) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-63-1 (ฌ) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-83-1(ญ) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-86-1 (ฎ) ลูกชั่วที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-227-1 | 78 |

**การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตสูง และเมล็ดมี
คุณภาพดี โดยวิธีบันทึกประวัติ ร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ
ช่วยในการคัดเลือก**

**Rice Breeding for Photoperiod Insensitivity, High Yield and Good Grain
Quality by Pedigree Method and Marker Assisted Selection**

คำนำ

ข้าวเป็นพืชอาหารหลักสำหรับประชากรครึ่งหนึ่งของโลก พื้นที่การผลิตข้าวกว่าร้อยละ 90 อยู่ในทวีปเอเชีย โดยประเทศไทยถือเป็นประเทศที่มีการผลิตและส่งออกข้าวเป็นอันดับต้นๆ ของเอเชียและของโลก ในปี พ.ศ. 2554 ประเทศไทยส่งออกข้าวเป็นอันดับ 1 ของโลก โดยส่งออกข้าวสารประมาณ 10.7 ล้านตันข้าวสาร คิดเป็นมูลค่าประมาณ 196,000 ล้านบาท ซึ่งข้าวคุณภาพดีของไทยที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศคือ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ประเทศไทยส่งออกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ประมาณ 2.4 ล้านตัน คิดเป็น 22.4 เปอร์เซ็นต์ ของข้าวที่ส่งออกทั้งหมด มีมูลค่าประมาณ 63,584 ล้านบาท คิดเป็นรายได้ 32.4 เปอร์เซ็นต์ของการส่งออกข้าวทั้งหมด (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีลักษณะพิเศษคือ เมล็ดมีกลิ่นหอม และเมื่อนำมาหุงต้มแล้วจะมีลักษณะเหนียว นุ่มน่ารับประทาน ถือว่าเป็นข้าวที่มีลักษณะคุณภาพการหุงต้มและรับประทานดี ส่วนลักษณะทางกายภาพของเมล็ดนั้น เมล็ดมีลักษณะเรียวยาว เมล็ดข้าวกล้องและข้าวสารใสมีความเลื่อมมัน ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีของข้าวสาร ที่เป็นที่ต้องการของตลาด ทำให้ขายได้ในราคาสูง แต่ลักษณะประจำพันธุ์ที่เป็นข้อจำกัดของพันธุ์นี้คือ เป็นข้าวไวต่อช่วงแสงจึงสามารถปลูกได้เพียงปีละหนึ่งครั้ง ต้นสูงลำต้นอ่อนหักล้มได้ง่าย และอ่อนแอต่อโรคและแมลง ทำให้ได้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ (สถาบันวิจัยข้าว, 2533) ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ข้าวที่มีคุณภาพดีผลผลิตสูง และสามารถปลูกได้มากกว่าปีละหนึ่งครั้ง (ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง) จึงเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตข้าวคุณภาพดีเข้ามาเพิ่มโอกาสการแข่งขันในตลาดได้

การปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวทำได้หลายวิธีเช่น การปรับปรุงพันธุ์และคัดเลือกโดยวิธีปกติ (conventional breeding and selection) การปรับปรุงพันธุ์ลูกผสม (hybrid breeding) การปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก (wide hybridization) การใช้วิธีการทางชีวโมเลกุล (molecular biology) มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์และการปรับปรุงรูปทรงของต้นข้าว (ideotype breeding) (Khush, 2005) ซึ่งการปรับปรุงรูปทรงของต้นข้าวเป็น

วิธีการหนึ่งที่จะทำให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นได้โดยในปีค.ศ. 1989 สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ได้เสนอรูปทรงของต้นข้าวแบบใหม่ (new plant type หรือ NPT) ซึ่งเป็นรูปทรงของต้นข้าวที่เพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตที่สูงขึ้น รูปทรงของต้นข้าวแบบ NPT มีลักษณะที่สำคัญคือแตกกอแน่นแต่ทุกหน่อสามารถให้รวงได้ ลำต้นแข็งแรงไม่หักล้มง่าย รวงมีขนาดใหญ่ และมีเมล็ดจำนวนมาก (Peng *et al.*, 1994)

นอกจากการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตแล้ว การปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ข้าวที่มีคุณภาพดีก็เป็นสิ่งสำคัญเช่นกัน โดยคุณภาพที่มีความสำคัญต่อผู้บริโภค คือลักษณะคุณภาพการหุงต้มและรับประทาน เนื่องจากข้าวที่เมื่อนำมาหุงต้มแล้วมีลักษณะของข้าวสุกที่น่ารับประทาน มีรสอร่อย และมีกลิ่นหอมนั้น เป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภค และมีมูลค่าในตลาดสูง การปรับปรุงพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์ข้าวให้มีคุณภาพตรงตามความต้องการโดยวิธีปกตินั้นจะต้องใช้ระยะเวลาหลายชั่วในการคัดเลือก ซึ่งใช้เวลานานหลายปี เนื่องจากคุณภาพการหุงต้มและรับประทานนั้นไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องมีการวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อตรวจสอบคุณภาพการหุงต้มและรับประทานในแต่ละลักษณะ โดยการวิเคราะห์นั้นจำเป็นต้องใช้เมล็ดในการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงต้องวิเคราะห์หลังการเก็บเกี่ยวแต่ด้วยความก้าวหน้าทางด้านชีวโมเลกุลที่นำเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจสอบ และคัดเลือกลักษณะทางพันธุกรรม ทำให้สามารถคัดเลือกลักษณะคุณภาพการหุงต้มและรับประทานที่ต้องการได้โดยไม่ต้องรอเก็บเกี่ยวเมล็ด เป็นการลดระยะเวลาในการดำเนินการ อีกทั้งยังประหยัดงบประมาณ เพราะสามารถเลือกใช้ส่วนต่างๆ ของข้าวในทุกระยะการเจริญเติบโตมาตรวจสอบ และสามารถทดสอบได้ที่หลายๆ ลักษณะพร้อมกัน สามารถทดแทนการทดสอบในสภาพจริงซึ่งกระทำได้ยากในบางลักษณะ (อรรถน์, 2548) ดังนั้นการใช้เครื่องมือและความรู้ทางด้านชีวโมเลกุลเข้ามาช่วยในการคัดเลือกร่วมกับการปรับปรุงพันธุ์และคัดเลือกโดยวิธีปกตินั้นจึงเป็นการเพิ่มศักยภาพในการคัดเลือกให้ได้ลักษณะตรงตามความต้องการ และยังเป็นการลดระยะเวลาในการคัดเลือกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตสูง และเมล็ดมีคุณภาพดี โดยวิธีบันทึกประวัติ ร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก และคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีรูปทรงต้นข้าวแบบใหม่ (New plant type, NPT) จากคู่ผสมระหว่าง ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และข้าวพันธุ์ Qiqnizhan

2. เพื่อพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดที่มีความเฉพาะเจาะจงกับการทำงานของยีนความหอมในข้าว

การตรวจเอกสาร

ข้าว (rice) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* L. อยู่ในวงศ์ Gramineae หรือ Poaceae สำหรับพืชในสกุล *Oryza* มีทั้งหมด 23 ชนิด แบ่งเป็นข้าวปลูก 2 ชนิดและข้าวป่า 21 ชนิด สำหรับข้าวปลูก 2 ชนิด คือ *O. sativa* ซึ่งปลูกมากในเอเชียและ *O. glaberrima* ปลูกมากในแอฟริกา (Eizenga and Rutger, 2003) ข้าวปลูก (cultivated rice) *O. sativa* แบ่งออกเป็น 2 subspecies คือ indica และ japonica (Kato *et al.*, 1928) ต่อมา Morinaga (1954) ได้เสนอ ข้าวกลุ่มที่ 3 คือ javanica ซึ่งได้แก่ข้าว bulu และ gundil ของอินโดนีเซีย สำหรับข้าวในกลุ่มนี้ปัจจุบันใช้ชื่อว่า tropical japonica เนื่องจากผลการวิเคราะห์ isozyme โดย Glaszmann (1987) นั้นพบว่าข้าว javanica อยู่ในกลุ่มเดียวกับ japonica แต่เนื่องจากแหล่งที่ปลูกเป็นเขต tropical จึงเรียกว่า tropical japonica ส่วนข้าว japonica ที่ปลูกในเขต temperate เรียกว่า temperate japonica ข้าวทั้ง 3 กลุ่มดังกล่าวมีลักษณะต่างๆ (Chang, 1976) ดังนี้

1. ข้าว indica เป็นข้าวที่มีทรงต้นสูง ลำต้นไม่แข็งแรง ใบยาวและห้อยลง ใว้ต่อช่วงแสงและอุณหภูมิที่ต่ำ เมล็ดมีรูปร่างยาวเรียวยาวหล่นง่าย เมล็ดมีการพักตัวที่ยาวนาน ข้าวกลุ่มนี้นิยมปลูกมากในประเทศแถบร้อน เช่น ไทย เมียนมา และปากีสถาน
2. ข้าว japonica หรือ temperate type เป็นข้าวที่มีทรงต้นเตี้ย (short straw) ช่วยป้องกันการหักล้มของต้นได้ ใบสั้นและตั้งตรง แดกกอปานกลาง ทนทานต่อสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำ เมล็ดสั้นและกลม มีปริมาณอะมิโลสต่ำทำให้ข้าวสุกมีลักษณะเหนียวเกาะติดกัน ข้าวกลุ่มนี้นิยมปลูกมากในประเทศเขตอบอุ่น เช่น ประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และไต้หวัน
3. ข้าว javanica หรือ tropical japonica เป็นข้าวที่มีทรงต้นสูง ลำต้นใหญ่และแข็งแรง ใบกว้างแข็ง แดกกอน้อย รวงยาว เมล็ดเหนียวไม่ร่วงหล่นง่าย เมล็ดมีรูปร่างป้อม (bold grain) ขนาดใหญ่ ส่วนใหญ่นิยมปลูกในประเทศอินโดนีเซีย

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

ข้าวเป็นพืชล้มลุก มีรากแบบระบบรากฝอย รากแบ่งออกเป็นสองชุด ชุดแรกเป็นรากที่อยู่ชั่วคราวซึ่งมี 2 ชนิด ได้แก่ รากที่งอกออกมาจากเมล็ดเรียก radicle และรากที่งอกออกมาจาก scutellar node ซึ่งจะอยู่ชั่วคราวในระยะต้นกล้าเรียกว่า seminal root ทำหน้าที่ดูดน้ำและลำเลียงอาหาร ส่วนรากชุดที่สองเป็นรากที่แตกออกมาจาก coleoptilar node และข้อใต้ดินเรียก adventitious root ในส่วนของลำต้นมีลักษณะทรงกลม ประกอบด้วยข้อและปล้องจำนวนมาก

ปล้องมีลักษณะกลวง ลำต้นห่อหุ้มด้วยกาบใบ ใบเกิดสลับสองทิศทางบนลำต้น ส่วนประกอบของใบที่สำคัญคือ กาบใบ และแผ่นใบ ซึ่งมีลักษณะแบนบางและแคบ ส่วนที่เชื่อมระหว่างกาบใบและแผ่นใบเรียกว่าคอใบ (collar) บริเวณคอใบมีเยื่อกันน้ำ (ligule) และเขี้ยวกันแมลง (auricle) และใบสุดท้ายที่เกิดก่อนต้นข้าวจะออกรวงมีชื่อเรียกว่า ใบธง (flag leaf) ข้าวจะมีการแตกหน่อ (tillering) หรือเรียกว่าแตกกอ ซึ่งกอข้าวจะประกอบด้วยลำต้นหลัก (main culm) และหน่อ (tiller) ลำต้นหลักหรือ main culm ของข้าวเจริญจากจุดเจริญ (growing point) ของ embryo ซึ่งห่อหุ้มด้วย coleoptile ที่บริเวณข้อจะมีกาบใบ และในซอกของกาบใบจะมีตา (bud) ซึ่งโดยทั่วไปตาที่อยู่บริเวณข้อส่วนล่างจะเจริญเป็นหน่อ หน่อที่แตกออกจาก main culm เรียกว่า หน่อชุดแรก (primary tiller) และหน่อที่แตกจากหน่อชุดแรกเรียกว่า หน่อชุดที่สอง (secondary tiller) และหน่อชุดที่สองก็จะมีการแตกหน่อเป็นชุดที่สาม (tertiary tiller) เป็นต้น (จำรัส, 2534; ประสutti, 2524; เรวัต, 2541; วาสนา, 2523; Moldenhauer and Gibbons, 2003)

ช่อดอกข้าวเป็นแบบช่อกระจุก (panicle) ประกอบด้วยดอกย่อย (spikelet) จำนวนมาก บริเวณฐานของดอกย่อยมีร่องรอยของใบประดับ ดอกลักษณะเป็นตุ่มเล็กๆ 2 อันเรียกว่ากาบย่อย (rudimentary glume) อยู่ข้างละอัน แต่ละดอกย่อยประกอบด้วยดอกย่อยจำนวน 3 ดอก ดอกย่อยล่าง 2 ดอกไม่สมบูรณ์เพศ และลดรูปเหลือเพียงใบประดับรูปหอก เรียก empty lemma หรือ sterile lemma ยาวประมาณ 1 ใน 4 ส่วนของช่อดอกย่อย ส่วนอีก 1 ดอกย่อย เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ประกอบด้วย ใบประดับสองอันเหลื่อมซ้อนกันอยู่ ใบประดับอันนอก มีขนาดใหญ่ เรียกกาส่าง (lemma) มีเส้นตามยาว 5 เส้น ใบประดับอันในมีขนาดเล็ก เรียกกาบบน (palea) มีเส้นตามยาว 3 เส้น ซึ่งกาบบนและกาบล่างทำหน้าที่หุ้มส่วนประกอบอื่นๆ ของดอกย่อยไว้ ปลายด้านล่างของกาบล่างและกาบบนติดอยู่กับกันสั้นๆ ซึ่งเรียกว่า rachilla ถัดเข้าไปเป็นวงกลีบรวมที่ลดรูปเหลือเป็นติ่งเล็กๆ เรียกกลีบเกล็ด (lodicule) ซึ่งช่วยในการบานของดอก โดยทำหน้าที่บังคับให้กาบล่างและกาบบนปิดเปิด ส่วนที่อยู่ภายในประกอบด้วยเกสรตัวผู้ (stamen) และเกสรตัวเมีย (pistil) เกสรตัวผู้ของข้าวมีทั้งหมด 6 อัน ประกอบด้วยอับเรณู (anther) มีลักษณะเป็นกระเปาะสี่เหลี่ยมติดอยู่บนก้านชูเกสรตัวผู้ (filament) ซึ่งแบ่งเป็น 2 กระเปาะ ภายในอับเรณูของเกสรตัวผู้มีละอองเกสร (pollen grains) ขนาดเล็กจำนวนมาก ส่วนเกสรตัวเมียนั้น ประกอบด้วย ที่รับละอองเกสรตัวผู้ (stigma) มีลักษณะคล้ายพู่หรือขนนกขนาดเล็ก (plumose stigma) แยกเป็น 2 แฉก ซึ่งเชื่อมติดกับรังไข่ (ovary) ด้วยก้านชูเกสรตัวเมีย (style) ภายในรังไข่ของข้าวมีไข่ (ovule) 1 อัน เมื่อได้รับการผสมแล้วจะกลายเป็นเมล็ดข้าว เนื่องจากดอกข้าวเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ดังนั้นการผสมเกสรส่วนใหญ่จึงเป็นการผสมตัวเอง (self pollination) โดยมีการผสมข้าม (cross pollination) เกิดขึ้นน้อยมากเพียง 0.5 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น เมล็ดข้าวเป็นรังไข่ที่สุกแก่แล้ว ประกอบด้วย ส่วนที่

สะสมอาหาร (endosperm) และคัพภะ (embryo) ที่ถูกห่อหุ้มด้วยเปลือกข้าว (hull) ซึ่งก็คือ ส่วนที่เป็นกาบล่างกับกาบบนนั่นเอง อาหารจะสะสมอยู่ในรูปแป้งข้าวซึ่งเป็นส่วนที่เราใช้บริโภค ส่วนของคัพภะเป็นส่วนที่มีชีวิตสามารถงอกออกมาเป็นต้นข้าวเมื่อนำเมล็ดข้าวไปปลูก (จำรัส, 2534; ประสูติ, 2524; เรวัต, 2541; วาสนา, 2523; Moldenhauer and Gibbons, 2003)

การเจริญเติบโตของข้าว

พัฒนาการของข้าวเริ่มจากเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนและพัฒนาเป็นต้นแก่ ออกรวง จนกระทั่งเมล็ดสุกแก่ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระยะ (ทวี, 2541; Moldenhauer and Gibbons, 2003) ได้แก่

1. ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative growth phase) เริ่มตั้งแต่เมล็ดงอก จนกระทั่งระยะสร้างช่อดอก (panicle initiation, PI) การเจริญเติบโตทางลำต้นของข้าวมีความสำคัญเกี่ยวกับการดำรงชีวิตและเตรียมสารอาหารเพื่อนำไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตของต้นข้าว และอีกส่วนหนึ่งนำไปสะสมไว้สำหรับใช้ในระยะเวลาการสืบพันธุ์ และระยะการยืดปล้อง จนถึงก่อนระยะกำเนิดช่อดอก สามารถแบ่งระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นออกเป็น 2 ระยะย่อย คือ

1.1 Basic vegetative phase (BVP) คือระยะที่ข้าวมีการเจริญเติบโตทางลำต้นซึ่งระยะ BVP นั้นถูกควบคุมด้วยพันธุกรรมซึ่งช่วงแสงไม่มีอิทธิพลต่อระยะนี้

1.2 Photoperiod sensitive phase (PSP) คือระยะที่มีการตอบสนองต่อช่วงแสงเพื่อกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนตายเป็นตาดอกได้

2. ระยะการสืบพันธุ์ (reproductive phase) เป็นช่วงการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะสร้างช่อดอก จนถึงระยะออกดอกหรือดอกบาน (flowering) ซึ่งมีระยะเวลาเฉลี่ยประมาณ 30 ถึง 35 วัน สามารถแบ่งออกเป็น 3 ระยะย่อย คือ

2.1 ระยะเริ่มสร้างช่อดอก เมื่อข้าวได้รับช่วงแสงที่เหมาะสมจะเริ่มยืดตัว ลักษณะลำต้นจะเปลี่ยนจากลำต้นแบนมาเป็นลำต้นกลม และจะเริ่มมีการสร้างปุ่มกำเนิดช่อดอก (primordium of panicle) และพัฒนาไปเป็นช่อดอก (panicle development)

2.2 ระยะตั้งท้อง (booting stage) เป็นระยะที่ช่อดอกอ่อนของข้าวเริ่มขยายตัว เติบโตขึ้นจนกระทั่งเป็นช่อดอกที่สมบูรณ์ ระยะนี้เป็นระยะปลายของพัฒนาการช่อดอกข้าว ซึ่ง จะเกิดหลังจากที่ช่อดอกข้าวปรากฏให้เห็น โดยที่ช่อดอกมีการเจริญขยายตัวขึ้นทำให้ต้นกาบใบ ธงให้โป่งออก

2.3 ระยะออกดอกและผสมพันธุ์ (flowering and fertilization stage) ระยะนี้เริ่ม ตั้งแต่รวงข้าวโผล่พ้นกาบใบธงออกมา (heading stage) และดอกข้าวจะเริ่มบานจากส่วนยอด ของช่อดอกก่อนแล้วตามด้วยส่วนกลางและส่วนล่างตามลำดับ จากนั้นจะเข้าสู่การผสมเกสรและ ปฏิสนธิซึ่งข้าวเป็นพืชที่มีการผสมเกสรในตัวเอง (self-pollination) เมื่อดอกข้าวบานอับเกสร ของดอกข้าวก็จะแตกทำให้ละอองเกสรจะหล่นลงบนยอดเกสรตัวเมีย จากนั้น lemma และ palea ก็จะปิด และละอองเกสรจะงอก pollen tube เข้าสู่รังไข่ ผสมกับไข่

3. ระยะการเจริญเติบโตของเมล็ด (ripening phase) หลังจากที่ยอดข้าวผสมติดแล้ว เมล็ดก็จะเริ่มเจริญเติบโตและพัฒนา ช่วงการเจริญเติบโตของเมล็ดเริ่มหลังจากผสมเกสรถึงการ สุกแก่ของเมล็ด ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระยะย่อย คือ

3.1 ราคาน้ำนม (milk stage) เป็นระยะหลังจากดอกข้าวผสมติดและเริ่มเจริญเป็น เมล็ดขนาดเล็ก เริ่มมีการสะสมแป้ง ระยะนี้ส่วนที่เป็นแป้งภายในเมล็ดมีลักษณะเป็นของเหลวสี ขาวคล้ายน้ำนม

3.2 ราคาน้ำอ่อน (dough stage) เป็นระยะที่เมล็ดมีการสะสมแป้งมากขึ้น แป้งเริ่ม มีการแข็งตัว

3.3 ราคาน้ำแก่ (maturation stage) เป็นระยะที่มีการสะสมแป้งจนเต็มเมล็ดและมี การพัฒนาขนาดของเมล็ดอย่างเต็มที่ สีของเปลือกเมล็ดจะเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง

การตอบสนองต่อช่วงแสงของข้าว

ความยาวของช่วงแสง (day length) ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของข้าวคือช่วงเวลา ตั้งแต่พระอาทิตย์ขึ้นจนกระทั่งถึงเวลาที่พระอาทิตย์ตก ซึ่งช่วงวันที่ยาวที่สุดในประเทศไทย อยู่ที่ปลายเดือนมิถุนายน ส่วนช่วงวันที่สั้นที่สุดอยู่ที่ปลายเดือนธันวาคม และช่วงที่กลางวันและ กลางคืนยาวเท่ากันจะมีสองช่วงคือ ช่วงเดือนมีนาคมและช่วงเดือนกันยายน (วรวิทย์ และคณะ, 2529)

ข้าวเป็นพืชวันสั้นจะออกดอกเมื่อได้รับช่วงแสงที่น้อยกว่าช่วงแสงวิกฤต (critical day length) พันธุ์ข้าวส่วนใหญ่มีช่วงแสงวิกฤตอยู่ในช่วง 11-14 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับแต่ละพันธุ์ สำหรับพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 นั้นมีช่วงแสงวิกฤตเท่ากับ 11.52 ชั่วโมง (วรวิทย์ และคณะ, 2529)

การจำแนกข้าวตามความไวต่อช่วงแสงแบ่งออกได้ 2 กลุ่ม (ทวี, 2541) คือ

1. ข้าวไวแสงหรือข้าวไวต่อช่วงแสง (photoperiod sensitive variety) คือข้าวที่ไม่สามารถออกดอกได้เมื่อได้รับช่วงแสงที่ยาวกว่าช่วงแสงวิกฤต และจะมีระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นนานขึ้น เมื่อได้รับช่วงแสงที่ยาวกว่าช่วงแสงวิกฤตเพิ่มขึ้น ทำให้ปลูกข้าวได้ในสภาพธรรมชาติเพียงปีละครั้ง อีกทั้งยังต้องได้รับช่วงแสงที่พอเหมาะหรือสั้นกว่าช่วงแสงวิกฤตครบตามจำนวนวันที่ต้องการ ซึ่งโดยส่วนมากแล้วพันธุ์ข้าวไวแสงในประเทศไทยจะต้องการช่วงแสงดังกล่าวติดต่อกันประมาณ 15 วัน หากไม่ได้ช่วงแสงที่พอเหมาะครบจำนวนวันตามที่ต้องการก็จะเจริญเติบโตทางลำต้นต่อไป (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2543) การตอบสนองต่อช่วงแสงของข้าวเป็นลักษณะทางพันธุกรรม ซึ่งยีนที่ควบคุมลักษณะความไวต่อช่วงแสงนั้นเป็นยีนเด่นข่มต่อลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง (สุวิษ, 2535) โดยมียีน heading date (*Hd1*) ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะการตอบสนองต่อช่วงแสงอยู่บนโครโมโซมที่ 6 (Yano *et.al.*, 2000) โดยมีเครื่องหมายดีเอ็นเอ RM 8225 และ RM 8226 วางตัวอยู่ใกล้กับยีนดังกล่าว (วรารักษ์ และคณะ, 2551)

2. ข้าวไม่ไวแสงหรือข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง (photoperiod insensitive variety) คือข้าวที่ออกดอกตามอายุเนื่องจากการออกดอกไม่ขึ้นอยู่กับความยาวของช่วงแสง ข้าวชนิดนี้สามารถปลูกได้ตลอดปีหากมีน้ำเพียงพอและสภาพแวดล้อมเหมาะสม

ข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105

ข้าวขาวดอกมะลิ105 เป็นข้าวปลูกชนิด *O. sativa* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มอินดิกา เป็นพันธุ์หนึ่งที่ถูกเก็บรวบรวมมาจาก อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา จำนวน 199 รวง แล้วนำมาปลูกคัดเลือกเพื่อคัดพันธุ์ให้บริสุทธิ์ และร่วมกับการประเมินผลผลิต ซึ่งได้ถูกส่งไปปลูกคัดพันธุ์บริสุทธิ์ที่สถานีทดลองข้าวโคกสำโรง จ.ลพบุรี ในปี พ.ศ. 2498 ผลการปลูกคัดเลือกได้รวงที่ 105 เป็นสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก โดยมีลักษณะพิเศษคือ มีกลิ่นหอม และเมล็ดมีลักษณะเหนียวนุ่มเมื่อนำมาหุงต้ม จึงได้มีการส่งเสริมให้ชาวนาปลูกเป็นพันธุ์ปลูกในปี พ.ศ. 2502 เป็นต้นมา ข้าวขาวดอกมะลิ105 มีลักษณะประจำพันธุ์คือ เป็นข้าวไวต่อช่วงแสง ออกดอกประมาณวันที่ 20-25 ตุลาคม สุกแก่เก็บเกี่ยวได้ประมาณวันที่ 20-25 พ.ย. ของทุกปี มีลำต้นสีเขียวจาง ต้นสูงประมาณ 140-150 เซนติเมตร การแตกกอดีและมีใบค่อนข้างเล็ก ลักษณะเมล็ดข้าวเปลือก มี

เมล็ดเรียวยาว ปลายเมล็ดโค้งเล็กน้อย สีฟาง ข้าวกลิ้งใส มีความเลื่อมมัน จมูกข้าวเล็ก (ส่วนที่เป็นคัพพะ) ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีของข้าวสาร เป็นข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ ข้าวสุกมีลักษณะเหนียว นุ่ม และมีกลิ่นหอม ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค เป็นพันธุ์ข้าวที่ทนทานกลางต่อสภาพแล้ง ดินเปรี้ยว และดินเค็ม คุณภาพการขัดสีดี เมล็ดข้าวสารใส แกร่ง นวดง่าย เนื่องจากเมล็ดหลุดร่วงจากรวงได้ง่าย นอกจากนี้ยังเป็นที่ต้องการของโลกและขายได้ราคาดีอีกด้วย ส่วนข้อด้อยของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ได้แก่ ผลผลิตค่อนข้างต่ำ ลำต้นอ่อนล้มง่าย ไม่ต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง โรคใบหิก เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว แมลงบัว และหนอนกอ (สถาบันวิจัยข้าว, 2533; วาสนา, 2538; กรมส่งเสริมการเกษตร, 2542)

รูปทรงต้นข้าว

รูปทรงของต้นข้าว (plant type หรือ ideotype) มีความสัมพันธ์กับผลผลิตข้าวเนื่องจากต้นข้าวที่มีรูปทรงดีจะให้ผลผลิตสูง จึงมีการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อพัฒนาให้ต้นข้าวมีรูปทรงดีขึ้นเพื่อเป็นการยกระดับผลผลิตของข้าวให้สูงขึ้น รูปทรงของต้นข้าวแบ่งได้เป็น 3 แบบ (Virk *et al.*, 2004) คือ

1. รูปทรงต้นข้าวพันธุ์พื้นเมือง (traditional plant type) เป็นรูปทรงของต้นข้าวที่มีลักษณะต้นสูง ลำต้นอ่อนหรือฟางอ่อนล้มง่าย ใบยาวมุมใบกว้าง แดกกอน้อย เป็นลักษณะที่พบได้ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั่วไป โดยลักษณะต้นสูงฟางอ่อนนั้นทำให้เกิดการหักล้มง่าย ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ดีทำให้ข้าวมีผลผลิตต่ำ พันธุ์ข้าวที่มีรูปทรงของต้นข้าวลักษณะนี้ส่วนใหญ่จะเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมือง

2. รูปทรงต้นข้าวแบบมหัศจรรย์ (miracle rice หรือ modern rice) เป็นรูปทรงต้นข้าวที่มีลักษณะต้นเตี้ย ลำต้นแข็งแรงหรือฟางแข็ง ใบตั้ง แดกกอมาก ซึ่งสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ประสบความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวจนได้พันธุ์ข้าวที่มีรูปทรงดังกล่าวในปี 1966 คือ พันธุ์ IR8 มีลักษณะต้นเตี้ย แดกกอดี ไม่ไวต่อช่วงแสง ให้ผลผลิตสูง แต่รูปทรงของต้นข้าวแบบมหัศจรรย์ก็ยังมีข้อด้อยคือ ถึงแม้จะมีการแตกกอมากแต่มีหน่อที่สามารถให้รวงได้เพียง 60% ส่วนหน่อที่เหลือไม่สามารถให้รวงได้

3. รูปทรงต้นข้าวแบบใหม่ (new plant type: NPT) เป็นรูปทรงต้นข้าวที่สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติได้พัฒนาขึ้นเพื่อเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตของข้าว รูปทรงแบบใหม่ของต้นข้าวที่เสนอโดยสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติมีลักษณะที่สำคัญ (Peng *et al.*, 1994; Khush, 1995) ดังนี้

- แดกกอน้อย ในกรณีที่ปลูกแบบหว่านให้จำนวนต้นต่อกอประมาณ 3-4 ต้น และปลูกแบบปักดำให้จำนวนต้นต่อกอประมาณ 8-10 ต้น แต่ทุกหน่อสามารถให้รวงได้ ในปัจจุบันพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูงส่วนใหญ่จะแดกกอดีมีจำนวนหน่อประมาณ 20-25 ต้นต่อกอแต่มีต้นที่สามารถให้รวงได้เพียง 60% เท่านั้น

- รวงมีขนาดใหญ่ มีเมล็ดมากประมาณ 200-250 เมล็ด
- ต้นเตี้ย สูงประมาณ 90-100 เซนติเมตร
- ลำต้นแข็งแรงหรือฟางแข็งไม่หักล้ม
- ระบบรากแข็งแรงสมบูรณ์ สามารถดูดธาตุอาหารจากดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ
- ต้านทานต่อโรคและแมลงหลายๆ ชนิด (multiple resistance)
- มีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 110-130 วัน
- มีดัชนีเก็บเกี่ยว (harvest index หรือ HI) สูงประมาณ 0.6 (ข้าวผลผลิตสูงในปัจจุบันมีค่า HI ประมาณ 0.4)
- มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงประมาณ 13-15 ตันต่อเฮกตาร์

การที่ข้าว NPT มีการแดกกอน้อยจัดว่าเป็นลักษณะที่ดีเนื่องจากทำให้สามารถปลูกข้าวได้ในระยะชิดกันมากขึ้น ซึ่งจะมีผลทำให้จำนวนต้น หรือจำนวนรวงต่อพื้นที่สูงขึ้นด้วย จึงเหมาะสมกับวิธีปลูกแบบหว่าน (broadcasting) แต่อย่างไรก็ตามจะปลูกแบบปักดำก็สามารถทำได้ ซึ่งต้นข้าวรูปทรงแบบใหม่นั้นยังใช้น้ำน้อยกว่า เนื่องจากมีการแดกกอน้อยจึงต้องการน้ำในการเจริญเติบโตน้อยกว่า

วัตถุประสงค์ที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวนั้น เพื่อเป็นการเพิ่มผลผลิตข้าวเนื่องจากความต้องการอาหารที่เพิ่มขึ้น จากการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากร ซึ่งสวนทางกับพื้นที่การผลิตข้าวที่ลดลง ดังนั้นสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติจึงพัฒนาข้าว NPT ขึ้น ซึ่งมีเป้าหมายเพื่อเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตให้เพิ่มขึ้น 20 – 25% (Khush, 1995)

ในปี 1989 สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติได้รวบรวมพันธุ์ข้าวกว่า 2,000 ชนิด จากธนาคารพันธุกรรมข้าวของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI germplasm bank) เพื่อต้องการคัดเลือกข้าว NPT สำหรับลักษณะที่ต้องการนั้นคือ แดกกอน้อย มีรวงขนาดใหญ่ ลำต้นแข็งแรง ระบบรากแข็งแรง และต้นเตี้ย พบว่าลักษณะตามที่ต้องการนั้นส่วนใหญ่อยู่ในข้าวประเภท tropical japonica เมื่อได้เชื้อพันธุกรรมที่ต้องการแล้วจึงได้นำมาใช้สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป (Khush, 1995)

ต่อมาในปี 1990 สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติได้เริ่มปรับปรุงพันธุ์จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ที่คัดเลือกได้ในข้างต้น จำนวนมากกว่า 2,000 คู่ผสม สามารถผลิตสายพันธุ์ (pedigree lines) จำนวน 100,000 สายพันธุ์ ซึ่งนำทั้งหมดมาคัดเลือกเอาเฉพาะลักษณะข้าว NPT ได้สายพันธุ์ข้าว NPT ที่ต้องการ จำนวน 500 สายพันธุ์ซึ่งสายพันธุ์ข้าว NPT ในชั่วแรกๆ นั้นมีลักษณะเหมือนกับข้าว tropical japonica (new plant type – tropical japonica: NPT-TJ) จากการเก็บข้อมูลสายพันธุ์ข้าว NPT-TJ ที่ปรับปรุงได้ในชั่วแรกๆ พบว่ามีลักษณะรวงใหญ่ จำนวนหน่อที่ไม่ให้รวงน้อย และต้านทานการหักล้ม อย่างไรก็ตามผลผลิตที่ได้นั้นยังไม่ได้เท่าที่ควรเนื่องจากเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดต่ำ (Peng and Khush, 2003) จากการที่มีจำนวนกอน้อย ทำให้ผลผลิตชีวมวล (biomass) ต่ำ ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงต่ำ ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดต่ำ ดังนั้นจึงเป็นปัญหาหลักของสายพันธุ์ข้าว NPT ในชั่วแรกๆ ของการปรับปรุงพันธุ์ (Yamagishi *et al.*, 1996)

จากปัญหาในการผลิตสายพันธุ์ข้าว NPT-TJ ในชั่วแรกๆ นักวิจัยได้พบสาเหตุที่ทำให้เกิดลักษณะการติดเมล็ดต่ำนั้นมาจากเชื้อพันธุกรรมของพันธุ์ใดบ้าง จึงได้แก้ปัญหาโดยการเลือกใช้พันธุ์ที่ให้เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดสูงสำหรับการผสมพันธุ์ในภายหลัง โดยในปี 1995 นั้นมีการพัฒนาสายพันธุ์ NPT โดยนำสายพันธุ์ข้าว NPT-TJ ที่ผลิตได้ในชั่วแรกๆ มาผสมกับข้าวประเภท indica พบว่าพันธุกรรมของข้าว indica ช่วยพัฒนาสายพันธุ์ข้าว NPT ให้มีลักษณะดีขึ้นเช่น คุณภาพของเมล็ด เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดเพิ่มขึ้น ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นด้วย และสามารถต้านทานโรคและแมลงได้ดีกว่า เมื่อนำไปทดสอบผลผลิตเบื้องต้นโดยเปรียบเทียบกับพันธุ์เปรียบเทียบพบว่าผลผลิตเพิ่มขึ้นประมาณ 10% (Peng *et al.*, 2008)

การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวนอกจากการนำพันธุ์ที่ดีเข้ามาปลูกแล้ว การคัดเลือกและการผสมพันธุ์ก็มีบทบาทสำคัญในการสร้างพันธุ์ที่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งการคัดเลือก ถือว่าเป็นพื้นฐานสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ ความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์จึงขึ้นอยู่กับความสามารถที่จะเลือกเอาต้นที่ดีไว้ใช้เป็นพันธุ์ที่ดีต่อไป การคัดเลือกจะประสบความสำเร็จมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับความผันแปรในพันธุ์ที่ใช้คัดเลือก ถ้าความผันแปรภายในพันธุ์มีน้อย ซึ่งก็คือ พืชแต่ละต้นภายในพันธุ์นั้นมีความคล้ายคลึงกันมากโอกาสที่จะคัดเลือกได้ต้นที่มีลักษณะตรงตามความต้องการก็มีน้อย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาพันธุ์อื่นซึ่งอาจมีลักษณะที่ต้องการมาผสมพันธุ์กันเพื่อสร้างความผันแปรขึ้น จากนั้นจึงนำวิธีการคัดเลือกต่างๆ มาช่วยคัดเลือกพันธุ์ที่ดีต่อไป (สุทัศน์, 2552)

การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ (pedigree method) เป็นแนวคิดของ Love (1927) มีหลักการสำคัญคือคัดเลือกต้นพืชที่มีลักษณะตรงตามความต้องการจากประชากรในชั่วที่มีการกระจายตัวของลักษณะต่างๆ สูงสุด นั่นก็คือประชากรในชั่วที่ 2 (F_2) หลังจากนั้นนำต้นที่ถูกคัดเลือกไปปลูกในชั่วต่อไป จนกว่าพืชจะมีความคงตัวทางพันธุกรรม (homozygosity) ซึ่งการคัดเลือกแบบบันทึกประวัตินั้นเป็นการคัดเลือกที่มีการบันทึกประวัติของสายพันธุ์ในทุกขั้นตอนของการคัดเลือก เป็นวิธีที่สามารถติดตามรายละเอียดของสายพันธุ์ในแต่ละขั้นตอนได้อย่างต่อเนื่อง

พันธุ์ข้าวในประเทศไทยที่เกษตรกรนิยมปลูกส่วนใหญ่ั้นได้มาจากการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ เช่น พันธุ์ข้าวเจ้าหอมปทุมธานี 1 กรมวิชาการเกษตรได้ประกาศรับรองพันธุ์ เมื่อปี พ.ศ. 2543 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ได้จากการผสมระหว่างสายพันธุ์ข้าวหอม BKN6-18-3-2 กับสายพันธุ์ PTT85061-86-3-2-1 โดยดำเนินการวิจัยที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ปลูกคัดเลือกข้าวลูกผสมชั่วที่ 2 ถึง 6 โดยวิธีคัดเลือกแบบบันทึกประวัติจนได้สายพันธุ์ PTT90071-93-8-1-1 เป็นข้าวหอมไม่ไวต่อช่วงแสง มีอายุเก็บเกี่ยว 104-126 วัน คุณภาพการหุงต้มและรับประทานคล้ายข้าวขาวดอกมะลิ 105 และให้ผลผลิตเฉลี่ย 650-774 กิโลกรัมต่อไร่ (สถาบันวิจัยข้าว, 2543)

นงเยาว์ (2553) ใช้การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพจากคู่ผสมระหว่างข้าว tropical japonica ซึ่งจะใช้เป็นพันธุ์แม่ และ indica เป็นพันธุ์พ่อ จำนวน 12 คู่ คัดเลือกแบบบันทึกประวัติจนถึงชั่วที่ 4 สามารถคัดเลือกต้นข้าวที่ต้องการได้ 33 สายพันธุ์ เพื่อนำมาทดสอบผลผลิตเบื้องต้นพบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ซึ่งเป็นพันธุ์เปรียบเทียบที่ให้ผลผลิตสูงสุดมีจำนวน 4 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ PTT07288-20-1 PTT07288-11-4 PTT07288-20-3 และ PTT07288-14-2 ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย 979 กิโลกรัมต่อไร่ คุณภาพเมล็ดเป็นข้าวที่มีลักษณะเมล็ดยาวปานกลาง รูปร่างค่อนข้างเรียวยาว มีท้องไขเล็กน้อยถึงค่อนข้างมาก ส่วนคุณภาพการหุงต้มและรับประทานนั้น มีปริมาณอะมิโลสปานกลางถึงสูง เมื่อหุงสุกแล้วจะมีลักษณะนุ่มและค่อนข้างเหนียวจนไปถึงร่วนแข็ง

Sreewongchai *et al.* (2010) ใช้การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ ร่วมกับการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอเพื่อรวมยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าว โดยผสมระหว่างข้าวพันธุ์ IR64 และพันธุ์เจ้าหอมนิล เพื่อคัดเลือกต้นข้าวที่มียีนต้านทานโรคไหม้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกในชั่วที่ 2 และชั่วที่ 3 และใช้การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติจนกระทั่งถึงชั่วที่ 6 ทำการทดสอบผลผลิตเบื้องต้นเปรียบเทียบกับพันธุ์แม่ พ่อ และพันธุ์การค้า คือ ชัยนาท 1 ปทุมธานี 1

และ สุพรรณบุรี1 สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีผลผลิตสูงสุดได้ 3 สายพันธุ์ คือ P280-2-1 P280-8-3 และ P280-8-4

การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก

เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) หมายถึง ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายติดตามหน่วยพันธุกรรมหรือยีนของสิ่งมีชีวิต ใช้ศึกษาการจัดเรียงตัวของดีเอ็นเอในส่วนต่างๆ ของจีโนม หรือการทำแผนที่ยีนประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ ตรวจสอบสายพันธุ์พ่อแม่ ทดสอบลูกผสม และตรวจสอบหรือบ่งชี้ลักษณะจำเพาะ เช่น ความต้านทานโรค เป็นต้น การตรวจสอบความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตในระดับดีเอ็นเอ มีประสิทธิภาพกว่าการตรวจสอบในระดับอื่นๆ คือสามารถใช้ทุกส่วน และทุกระยะการเจริญเติบโตของพืชสำหรับการวิเคราะห์ได้โดยไม่จำกัด นอกจากนั้นสภาพแวดล้อมจะไม่มีผลต่อการตรวจสอบ การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอใช้หลักการที่ว่าโมเลกุลดีเอ็นเอสามารถจำลองตัวเองได้อย่างถูกต้องแม่นยำเพื่อถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมไปสู่เซลล์ลูก และคงสภาพที่เหมือนเดิมตลอดไป แต่บางครั้งเนื่องจากสภาพแวดล้อมหรือข้อผิดพลาดของเซลล์เองทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสภายในสายดีเอ็นเอ หรือเปลี่ยนแปลงในระดับของโครโมโซม เช่น มีบางส่วนของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่หายไป (deletion) หรือมีบางส่วนของดีเอ็นเอที่เพิ่มเข้ามา (insertion) มีการจัดเรียงตัวใหม่ของโครโมโซม (rearrangement) หรือมีการเปลี่ยนแปลงตำแหน่งดีเอ็นเอบางส่วนภายในโครโมโซมหรือต่างโครโมโซม (transposition) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้ทำให้เกิดความหลากหลายภายในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด (สุรินทร์, 2545)

วิธีการตรวจสอบความแตกต่างของดีเอ็นเอ (DNA polymorphism) ทำได้โดยการหาลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (DNA sequencing) หรือตรวจสอบด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การไฮบริดดิเซชันด้วยวิธี RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) การใช้วิธีพีซีอาร์เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยมีวิธีที่แตกต่างกันไป เช่น RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) (Williams *et al.*, 1990) AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Vos *et al.*, 1995) และ SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) (Li and Quiros, 2001) เป็นต้น

เครื่องหมายดีเอ็นเอ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ co-dominant marker และ dominant marker เครื่องหมายแบบ co-dominance จะปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ขนาดแตกต่างกันสามารถแยกแยะระหว่างต้นที่มีพันธุกรรมเป็นโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัสได้ ส่วนเครื่องหมายดีเอ็นเอ

แบบ dominant นั้นจะปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ซึ่งเครื่องหมายชนิดนี้ไม่สามารถแยกพันธุกรรมแบบโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัสได้ (Collard *et al.*, 2005)

เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite marker) เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบจำเพาะ สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้ครั้งละ 1 ตำแหน่ง (single-locus marker) ซึ่งลำดับเบสแบบไมโครแซทเทลไลท์พบได้มากมายและกระจายตัวอยู่ทั่วจีโนม โดยลำดับเบสของไมโครแซทเทลไลท์ มักเป็นลำดับเบสจำเพาะ มีเพียงจุดเดียวในจีโนม (unique sequence) ดังนั้นการออกแบบสังเคราะห์ไพรเมอร์ (primer) จากลำดับเบสที่อยู่สองข้างของส่วนไมโครแซทเทลไลท์ สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีพีซีอาร์ จะเป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตำแหน่งที่จำเพาะเพียงตำแหน่งเดียว และเนื่องจากบริเวณของไมโครแซทเทลไลท์ เป็นส่วนที่มีการกลายพันธุ์โดยการลดลงหรือเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดซ้ำได้ง่าย การตรวจสอบดีเอ็นเอโดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตำแหน่งที่รวมเอาส่วนของไมโครแซทเทลไลท์ไว้ภายใน จึงทำให้มีโอกาสได้ขนาดดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน เนื่องจากจำนวนชุดซ้ำที่ไม่เท่ากัน เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ เมื่อตรวจสอบจะพบความแตกต่างกันค่อนข้างสูง นอกจากนี้เครื่องหมายดีเอ็นเอแบบไมโครแซทเทลไลท์ยังสามารถแสดงแถบดีเอ็นเอแบบข่มร่วมกัน (co-dominance) จึงสามารถแยกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัสได้ (สุรินทร์, 2552)

การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก (marker assisted selection, MAS) เพื่อเลือกต้นพืชที่มีจีโนไทป์ที่ต้องการนั้นมี 2 แบบคือ การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่อยู่ใกล้กับยีนที่ต้องการช่วยในการคัดเลือก (indirect MAS; iMAS หรือ linked marker หรือ flanking markers) และการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำแนกส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของยีนช่วยในการคัดเลือก (direct MAS; dMAS หรือ functional marker assisted selection; fMAS) ซึ่งเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด iMAS นั้นจะมีความแม่นยำในการคัดเลือกน้อยกว่าเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด fMAS เนื่องจากมีโอกาสที่จะเกิด crossing over ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอกับตำแหน่งยีนที่ต้องการได้ทำให้เกิดการผิดพลาดในการคัดเลือกขึ้น ส่วนในเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด fMAS นั้นมีความแม่นยำมากเนื่องจากการใช้ตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของยีนที่ต้องการมาเป็นเครื่องหมายช่วยในการคัดเลือก การนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการคัดเลือก ซึ่งนักปรับปรุงพันธุ์สามารถคัดเลือกต้นพืชโดยการสกัดดีเอ็นเอจากส่วนใดส่วนหนึ่งของต้นพืชแต่ละต้นในขณะที่ต้นพืชยังไม่โตเต็มที่โดยไม่มีข้อจำกัดเกี่ยวกับอายุของพืชชนิดของเนื้อเยื่อหรือผลกระทบจากสิ่งแวดล้อม ทำให้สามารถคัดเลือกต้นพืชที่มีพันธุกรรมตรงตามความต้องการ และช่วยลดจำนวนประชากรต้นพืชที่จะใช้ในการคัดเลือกในขั้นตอนหลังๆ ด้วย เนื่องจากสามารถคัดเลือกพืชตั้งแต่ระยะต้นๆ (earlier selection)

ได้จึงมีผลทำให้ระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ลดลงด้วย (Collard *et al.*, 2005; Sreewongchai *et al.*, 2010)

Yi *et al.* (2009) ได้ปรับปรุงข้าวพันธุ์ Manawthukha ของประเทศเมียนมาให้มีคุณภาพการหุงต้มและรับประทานดี โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกร่วมกับการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับ กับพันธุ์ Basmati 370 ซึ่งเป็นข้าวที่เมล็ดมีกลิ่นหอม และเป็นที่ยอมรับของตลาดว่าเป็นข้าวพันธุ์ที่มีคุณภาพดี เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ช่วยในการคัดเลือกลักษณะดังกล่าวคือเครื่องหมายดีเอ็นเอ Aromarker สำหรับลักษณะเมล็ดมีกลิ่นหอม เครื่องหมายดีเอ็นเอ RM00 และ RM204 สำหรับปริมาณอะมิโลสปานกลาง ซึ่งต้นที่สามารถคัดเลือกได้ในชั่วที่ BC₄F₂ นั้นมีลักษณะเมล็ดมีกลิ่นหอม และปริมาณอะมิโลสปานกลางเหมือนพันธุ์ Basmati 370 และมีลักษณะทรงต้นและการให้ผลผลิตเหมือนกับข้าวพันธุ์ Manawthukha ซึ่งมีลักษณะต้นสูงปานกลาง การแตกกอมาก การหักล้มต่ำ และผลผลิตสูง

Jin *et al.* (2010) ได้ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์กับคุณภาพการหุงต้มและรับประทานในข้าว คือปริมาณอะมิโลส อุณหภูมิแป้งสุก และกลิ่นหอมของเมล็ดข้าว ช่วยในการคัดเลือกในประชากรผสมกลับระหว่าง II-32B และ Yixiang B คือเครื่องหมายดีเอ็นเอ Wx ที่มีความสัมพันธ์กับตำแหน่ง microsatellite allele (CT)₁₇ บน Wx gene เครื่องหมายดีเอ็นเอ SSIIa ที่มีความสัมพันธ์กับตำแหน่ง single nucleotide polymorphism TT allele บน SSIIa gene และเครื่องหมายดีเอ็นเอ fgr ที่มีความสัมพันธ์กับตำแหน่ง 8-bp deletion allele บน fgr gene ตามลำดับ ซึ่งต้นที่คัดเลือกได้จากการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกตั้งแต่ในชั่วที่ F₂ จนถึง BC₂F₂ นั้น เมื่อนำต้นที่คัดเลือกได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์คุณภาพการหุงต้มและรับประทานโดยวิธีการทางเคมีแล้วพบว่า ต้นข้าวที่คัดเลือกได้เมล็ดมีลักษณะปริมาณอะมิโลสต่ำประมาณ 14.4-15.5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิแป้งสุกต่ำอยู่ในช่วง 71.7-73.9 องศาเซลเซียส และเป็นข้าวที่เมล็ดมีกลิ่นหอม

การปลูกและคัดเลือกข้าวแบบเร่งชั่วอายุ

วัตถุประสงค์ของการปลูกแบบเร่งชั่วอายุ (rapid generation advance; RGA) คือ การย่นระยะเวลาการเจริญเติบโตในชั่วแรกๆ ของประชากรที่มีการกระจายตัวอยู่เพื่อเร่งรอบของการคัดเลือกให้เร็วขึ้น การลดระยะเวลาการเจริญเติบโตในข้าว ซึ่งมีวิธีการปฏิบัติโดยทั่วไป เช่น ลดธาตุอาหาร จัดระยะปลูกที่ชิดกัน ปรับอุณหภูมิให้สูง ปรับช่วงวันให้สั้น หรือการทำลายการพักตัวของเมล็ดเพื่อให้ได้เมล็ดสามารถปลูกเป็นชั่วใหม่ได้อย่างรวดเร็ว การปรับสภาพการปลูกบางอย่างจะสามารถที่จะเอาชนะข้อจำกัดของฤดูกาลได้ เช่น การกระตุ้นการออกดอกของข้าวไว

แสงด้วยห้องควบคุมช่วงแสง ซึ่งข้อดีของการปลูกแบบเร่งชั่วอายุคือ สามารถร่นระยะเวลาของการปรับปรุงพันธุ์ได้ โดยที่ Vergara *et al.* (1980) ปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ทนทานต่อสภาพอากาศเย็น ซึ่งสามารถปลูกและคัดเลือกจากลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ถึงลูกชั่วที่ 4 (F_4) ได้ภายใน 1 ปี ซึ่งปกติแล้วต้องใช้ประมาณเวลา 3 ถึง 4 ปี ในการปลูกและคัดเลือก และสามารถลดพื้นที่ของการปลูกได้ในชั่วแรกๆ ของประชากรที่มีการกระจายตัวอยู่

คุณภาพเมล็ดข้าว

การผลิตข้าวหรือการปรับปรุงพันธุ์ข้าวจะต้องคำนึงถึงผลผลิตและคุณภาพควบคู่กันไป เนื่องจากคุณภาพของเมล็ดข้าวจะเป็นตัวกำหนดมูลค่าของข้าว กล่าวคือข้าวคุณภาพดีจะมีราคาสูงนั่นเอง ดังนั้นข้าวพันธุ์ดีนอกจากจะให้ผลผลิตสูงแล้วยังต้องมีคุณภาพดีด้วย ซึ่งคุณภาพข้าวจะแบ่งออกเป็น 4 ประเภท (Juliano and Gonzales, 1989; Cruz and Khush, 2000) ดังนี้

1. คุณภาพทางกายภาพ (physical quality) หมายถึงคุณสมบัติต่างๆ ของเมล็ดที่สามารถมองเห็น หรือชั่ง ตวง วัด ได้ เช่น น้ำหนักเมล็ด สีของข้าวเปลือก สีของข้าวกล้อง ขนาดและรูปร่างของเมล็ด และความชุ่มชื้นของข้าวสาร เป็นต้น ลักษณะสำคัญที่มักคำนึงถึงในการปรับปรุงพันธุ์สำหรับคุณภาพทางกายภาพคือ ขนาดและรูปร่างของเมล็ด ซึ่งมาตรฐานข้าวไทยไม่มีการกำหนดรูปร่างเมล็ด เนื่องจากข้าวส่วนใหญ่มีเมล็ดยาวเรียวยาว และยึดถือข้าวที่มีความยาวเกิน 7.0 มิลลิเมตร เป็นข้าวคุณภาพดี อย่างไรก็ตามเนื่องจากในแต่ละภูมิภาคมีความต้องการหรือความชอบที่แตกต่างกันดังนั้นความต้องการในแต่ละท้องถิ่นจึงแตกต่างกันไป ทำให้สามารถแบ่งลักษณะความต้องการออกเป็นหลายกลุ่ม เช่น ในอินเดีย ข้าวที่ได้มาตรฐานและถือว่าเป็นคุณภาพทางกายภาพดีต้องเป็นข้าวที่มีลักษณะเมล็ดยาว ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้นิยมข้าวที่มีขนาดเมล็ดปานกลาง และในเขต temperate นิยมข้าวพันธุ์ที่มีลักษณะเมล็ดสั้น เป็นต้น (Cruz and Khush, 2000)

นอกจากลักษณะรูปร่างของเมล็ด ลักษณะทางกายภาพอื่นๆ ที่มีความสำคัญต่อราคาและความต้องการในตลาด (ประภาส, 2520) คือ

น้ำหนักเมล็ด (grain weight) คือน้ำหนักข้าวเปลือก 100 หรือ 1,000 เมล็ดที่ความชื้น 14% ซึ่งข้าวพันธุ์ดีของไทยที่ส่งเสริมให้ปลูกนั้นมีน้ำหนัก 100 เมล็ดอยู่ระหว่าง 2.25-3.67 กรัม

สีของข้าวเปลือก (hull color) มีทั้งสีขาว (white) สีฟาง (straw) สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม (light to dark brown) สีทอง (gold) สีน้ำตาลแดง (reddish brown) สีม่วงหรือดำ (purple or

sooty black) เป็นต้น สำหรับข้าวไทยส่วนใหญ่ข้าวเปลือกจะมีสีฟางและสีน้ำตาลซึ่งข้าวพันธุ์ที่ถือว่าเป็นข้าวคุณภาพดีของไทยเช่น ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 นั้นข้าวเปลือกมีสีฟาง

สีของข้าวกล้อง (pericarp color) จะแสดงออกที่เยื่อหุ้มผล (pericarp) ส่วน endosperm ของข้าวทุกชนิดเป็นสีขาวเสมอ ถึงแม้สีของข้าวกล้องจะเป็นสีอื่นก็ตาม สีของข้าวกล้องนั้นจะแตกต่างกันตั้งแต่สีขาว สีแดง สีน้ำตาลเข้ม สีน้ำตาลเทา และสีม่วงถึงเกือบดำ อย่างไรก็ตามสีของข้าวกล้องที่เป็นที่นิยมคือพวกที่มีสีอ่อน เช่น ขาวหรือน้ำตาล

ลักษณะท้องไข (chalkiness) หมายถึง จุดสีขาวขุ่นคล้ายขอล์ที่เกิดขึ้นใน endosperm เกิดจากการอัดตัวกันอย่างหลวมๆ ของเม็ดแป้ง (starch granule) กับโปรตีน (protein body) ลักษณะท้องไขในเมล็ดข้าวไม่มีผลโดยตรงต่อคุณภาพการหุงต้มและรับประทาน แต่เป็นลักษณะที่ไม่ต้องการเนื่องจากข้าวที่เป็นท้องไขมากเมื่อนำไปสีจะมีสัดส่วนของข้าวหักมาก

ความใสของข้าวสาร (grain translucency) หมายถึง ความทึบแสง (opaque) หรือความใส (translucency) ของเนื้อข้าวสารทั้งเมล็ดสามารถสังเกตเห็นความแตกต่างได้ในข้าวเจ้า ปัจจุบันยังไม่พบสาเหตุของความใสขุ่นของข้าวสาร แต่คาดว่าเนื่องมาจากทั้งพันธุ์ข้าวและสภาพแวดล้อมที่ปลูก เช่น ข้าวขาวดอกมะลิ105 ที่ปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะมีเมล็ดใสมากกว่าข้าวที่ปลูกในภาคกลาง

2. คุณภาพการสี (milling quality) ประเมินจากปริมาณข้าวเต็มเมล็ดและต้นข้าว ข้าวที่มีคุณภาพการสีดีเมื่อผ่านกระบวนการขัดสีแล้ว จะได้ข้าวเต็มเมล็ดและต้นข้าวสูง มีปริมาณข้าวหักน้อย ดังนั้น การประเมินคุณภาพการสีของข้าวจึงเกี่ยวข้องกับการแปรสภาพข้าว หรือการสีข้าว (Khush *et al.*, 1979) การจัดการหลังการเก็บเกี่ยวเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพการขัดสี กล่าวคือ ข้าวที่มีความชื้นสูงเมื่อนำไปขัดสีจะทำให้มีข้าวหักในปริมาณมาก (Juliano and Gonzales, 1989) นอกจากนั้นการขัดสียังมีผลต่อความขาวของข้าวสาร (whiteness of milled rice) กล่าวคือข้าวที่ขัดเบาๆหรือการขัดด้วยระดับการสีต่ำจะได้ข้าวสารสีขาวน้อยกว่าข้าวที่ขัดหนักๆหรือขัดด้วยระดับการสีสูงเนื่องจากยังมีชั้นรำติดอยู่บ้างและข้าวที่เก็บไว้นานๆเมื่อนำไปขัดสีจะได้ข้าวสารสีคล้ำลงกว่าข้าวที่เก็บมาใหม่ๆ (ประภาส, 2520)

3. คุณภาพทางโภชนาการ (nutritional quality) ประชากรกว่าครึ่งหนึ่งในโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก และเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ ซึ่งข้าวไม่เพียงแต่จะให้พลังงานยังประกอบไปด้วยโปรตีนประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ สำหรับข้าวสาร และในข้าวกล้องมีปริมาณโปรตีนประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ว่าโปรตีนในข้าวจะมีปริมาณค่อนข้างต่ำแต่โปรตีนของข้าวมีคุณค่า

ทางโภชนาการสูง เนื่องจากโปรตีนในข้าวนั้นมี lysine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) ต่อร่างกายในปริมาณที่สูง (Juliano, 1985a) และยังมีวิตามินที่จำเป็นต่อร่างกาย คือ วิตามินเอ วิตามินบี 1 และวิตามินบี 2 เป็นต้น (Chong, 1979)

4. คุณภาพการหุงต้มและรับประทาน (cooking and eating quality) ขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพและเคมีของแป้งที่ประกอบอยู่ในเอนโดสเปิร์ม ซึ่งมีปริมาณมากถึง 90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง คุณสมบัติทางเคมีของข้าวขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและคุณภาพแป้ง (Juliano, 1985b) ซึ่งคุณภาพการหุงต้มและรับประทานนั้นประกอบด้วย

4.1 ปริมาณอะมิโลส (amylose content: AC) ในเมล็ดข้าวประกอบด้วยแป้ง 2 ชนิด คือ อะมิโลส และอะมิโลเพคติน (Sanjiva *et al.*, 1952) อัตราส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพคตินเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ข้าวมีคุณสมบัติแตกต่างกัน โดยในเมล็ดข้าวที่มีอะมิโลเพคตินในอัตราส่วนที่มากกว่าอะมิโลส แต่การจำแนกประเภทของข้าวนั้นจะใช้ปริมาณอะมิโลสเป็นตัวชี้วัด ซึ่งสัดส่วนของอะมิโลสในเมล็ดข้าวที่แตกต่างกันมีผลต่อลักษณะของข้าวสุกที่ต่างกันคือ ในข้าวเหนียวมีปริมาณอะมิโลสน้อยมากหรือไม่มีอะมิโลสเป็นองค์ประกอบเลย ส่วนในข้าวเจ้านั้นแบ่งออกเป็น 4 ประเภท คือ ข้าวเจ้าอะมิโลสต่ำมาก มีปริมาณอะมิโลส 3-9% ข้าวสุกจะมีลักษณะเหนียว ข้าวเจ้าอะมิโลสต่ำ มีปริมาณอะมิโลส 10-19% ข้าวสุกจะมีลักษณะเหนียวนุ่ม ข้าวเจ้าอะมิโลสปานกลาง มีปริมาณอะมิโลส 20-25% ข้าวสุกจะมีลักษณะค่อนข้างนุ่ม แต่ไม่เหนียว และข้าวเจ้าอะมิโลสสูง มีปริมาณอะมิโลส มากกว่า 25% ข้าวสุกจะมีลักษณะร่วนแข็ง (Kumer and Khush, 1986) อย่างไรก็ตามข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสเท่ากันหรือใกล้เคียงกันก็ยังมี ความแตกต่างกันโดยเฉพาะความนุ่มของข้าวสุกซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับค่าการสลายเมล็ดในต่างอุณหภูมิแป้งสุก และความคงตัวของแป้งสุก (Juliano 1985b; Tan *et al.*, 1999)

4.2 ความคงตัวของแป้งสุก (gel consistency: GC) คุณสมบัติของแป้งสุกในเมล็ดข้าวนี้มีอัตราการคืนตัวไม่เท่ากัน ด้วยเหตุนี้จึงมีผลทำให้แป้งสุกมีความแข็งและอ่อนแตกต่างกัน ในข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสเท่ากันหรือใกล้เคียงกันอาจมีความนุ่มและแข็งของข้าวสุกแตกต่างกันก็เนื่องมาจากคุณสมบัติของความคงตัวของแป้งสุก สำหรับการพิจารณาคุณภาพข้าวโดยใช้ความคงตัวของแป้งสุก จะต้องพิจารณาบนพื้นฐานของข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสอยู่ในประเภทเดียวกัน เช่น หากมีข้าว 2 พันธุ์ที่มีปริมาณอะมิโลสสูงใกล้เคียงกันข้าวที่มีค่าความคงตัวของแป้งสุกอ่อนเมื่อหุงสุกแล้ว จะได้ข้าวที่แข็งกระด้างน้อยกว่าข้าวที่มีค่าความคงตัวของแป้งสุกแข็ง (Cangampang *et al.*, 1973; Tan *et al.*, 1999)

4.3 อุณหภูมิแป้งสุก (gelatinization temperature: GT) เป็นคุณสมบัติทางกายภาพของแป้ง หมายความว่าช่วงอุณหภูมิที่ให้แป้งกลายเป็นเจล (gel) และเปลี่ยนจากลักษณะทึบแสงเป็นโปร่งแสง อุณหภูมิแป้งสุกมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาในการหุงต้ม โดยทั่วไปการต้มข้าวให้สุกต้องใช้เวลา 13-24 นาที สามารถจำแนกประเภทข้าวตามอุณหภูมิแป้งสุกออกเป็น อุณหภูมิแป้งสุกต่ำ ที่ 55 ถึง 69 องศาเซลเซียส อุณหภูมิแป้งสุกปานกลาง ที่ 70 ถึง 74 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิแป้งสุกสูง จะมากกว่า 74 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถวิเคราะห์โดยวิธีการสลายเมล็ดในด่าง (alkali digestibility test) โดยข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกสูงต้องใช้เวลาในการหุงต้มนานกว่าข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกปานกลาง หรือต่ำ (Little *et al.*, 1958)

4.4 อัตราการยืดตัวของเมล็ดข้าวสุก (elongation ratio) ในระหว่างการหุงต้มเมล็ดข้าวจะขยายตัวโดยรอบโดยเฉพาะด้านยาว ในข้าวบางพันธุ์เมล็ดสามารถยืดตัวได้มาก การที่เมล็ดยืดตัวได้มากทำให้เมล็ดภายในโปร่งขึ้นไม่อัดแน่น และช่วยให้ข้าวนุ่มมากขึ้น และหากข้าวสุกไม่เหนียวติดกัน คุณสมบัตินี้จะช่วยเสริมให้ข้าวขึ้นหม้อได้ดียิ่งขึ้น พันธุ์ข้าวที่มีอัตราการยืดตัวของเมล็ดดีได้แก่พันธุ์ Basmati370 เมื่อนำไปหุงต้มสามารถยืดตัวได้มากกว่า 2 เท่าของความยาวเมล็ดข้าวสาร (งามชื่น, 2539)

4.5 กลิ่นหอม (aroma) เป็นลักษณะพิเศษของข้าวบางพันธุ์ซึ่งเป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ ทั้งในแถบเอเชีย ยุโรป และอเมริกาส่งผลให้ราคาข้าวหอมมีมูลค่าสูงกว่าข้าวที่ไม่หอม (Qiu and Zhang, 2003) ซึ่งข้าวที่มีกลิ่นหอมจะมีราคาสูงกว่าข้าวที่ไม่มีกลิ่นหอม ลักษณะที่สำคัญของข้าวหอมคือความสามารถพิเศษในการผลิตสารหอมชนิดที่เรียกว่า popcorn-like scent แล้วเก็บสะสมไว้ในส่วนต่างๆ ของต้นโดยเฉพาะเมล็ดจากการวิเคราะห์สารเคมีในเมล็ดข้าวกลิ่นของข้าวหอมนั้นเกี่ยวข้องกับสารระเหยกว่า 114 สาร โดยสารสำคัญที่ทำให้ข้าวมีกลิ่นหอมได้แก่ 2-acetyl-1-pyrroline หรือ 2AP (Buttery *et al.*, 1983) ซึ่งข้าวหอมจะมีสาร 2-acetyl-1-pyrroline มากกว่าข้าวทั่วไป ซึ่งสารดังกล่าวนี้พบในข้าวหอมพันธุ์ต่างๆ ปริมาณ 0.04-0.09 ไมโครกรัมต่อกรัม และในข้าวกล้องประมาณ 0.1-0.2 ไมโครกรัมต่อกรัม (Tanchotikul and Hsieh, 1991)

ทฤษฎีและหลักการของเทคนิคการทำปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

ปฏิกิริยา PCR เป็นวิธีการเพิ่มจำนวนหรือปริมาณของดีเอ็นเอเป้าหมาย (target DNA) ให้มีปริมาณมากขึ้นเป็นล้านเท่าภายในหลอดทดลองโดยใช้ระยะเวลาอันสั้น ดังนั้นจึงมีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า *in vitro* enzymatic amplification ปฏิกิริยา PCR ค้นพบครั้งแรกโดย Kary Mullis และคณะในปี 1983 โดยใช้หลักการเลียนแบบธรรมชาติของการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอโดยมีดี

เอ็นเอต้นแบบ (template DNA) เป็นจุดเริ่มต้นและมีเอนไซม์จำพวก DNA polymerase ช่วยสร้างสายดีเอ็นเอยาวออกไปโดยเลือกจับกับนิวคลีโอไทด์ตัวใดตัวหนึ่งใน 4 ชนิด คือ dATP, dGTP, dCTP และ dTTP เข้ามาต่อเป็นเบสคู่สมกับดีเอ็นเอต้นแบบ ส่วนประกอบต่างๆ ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอมีดังนี้ คือ ดีเอ็นเอต้นแบบ, thermostable DNA polymerase, deoxynucleotide triphosphate (dNTPs) ทั้ง 4 ชนิด oligonucleotide primers อย่างน้อย 1 คู่และบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมปริมาณดีเอ็นเอจะเพิ่มมากขึ้นได้ต้องอาศัยปฏิกิริยาที่ต่อเนื่องหลาย ๆ รอบซึ่งแต่ละรอบจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

1. ขั้นตอน denaturation เป็นขั้นตอนการทำให้ดีเอ็นเอสายคู่แยกเป็นสายเดี่ยวโดยอาศัยความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 90-95 องศาเซลเซียส
2. ขั้นตอน primer annealing เป็นขั้นตอนที่มีการลดอุณหภูมิลงมาที่ประมาณ 45-60 องศาเซลเซียส เพื่อให้ไพรเมอร์สามารถเกาะติดกับดีเอ็นเอต้นแบบสายเดี่ยวตรงบริเวณลำดับเบสคู่สม
3. ขั้นตอน primer extension เป็นขั้นตอนการขยายสายดีเอ็นเอ โดยการต่อลำดับ นิวคลีโอไทด์เข้าที่ปลาย 3' ของไพรเมอร์ แล้วขยายสายดีเอ็นเอสายใหม่จากทิศทาง 5' ไป 3' โดยอาศัยเอนไซม์ thermostable DNA polymerase เช่น *Taq* polymerase ซึ่งปกติใช้อุณหภูมิอยู่ในช่วง 70-75 องศาเซลเซียส

ถ้าพิจารณาสายดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นโดยเริ่มจากสายดีเอ็นเอต้นแบบ 1 คู่ เมื่อสิ้นสุดรอบที่ 1 จะได้สายดีเอ็นเอเป็น 2 คู่ เมื่อทำเช่นนั้นหลายๆ รอบของปฏิกิริยาดีเอ็นเอก็จะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของทุกรอบ โดยจะเพิ่มขึ้นในลักษณะทวีคูณเป็น 2^n เมื่อ n คือจำนวนรอบของปฏิกิริยาดังกล่าวเช่นถ้าปฏิกิริยาดำเนินไป 20 รอบจะได้ดีเอ็นเอ 2^{20} ชุดหรือมีปริมาณของดีเอ็นเอประมาณ 1 ล้านเท่า (จริยา และคณะ, 2540; สมพร, 2546)

พันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะคุณภาพการหุงต้มและรับประทาน

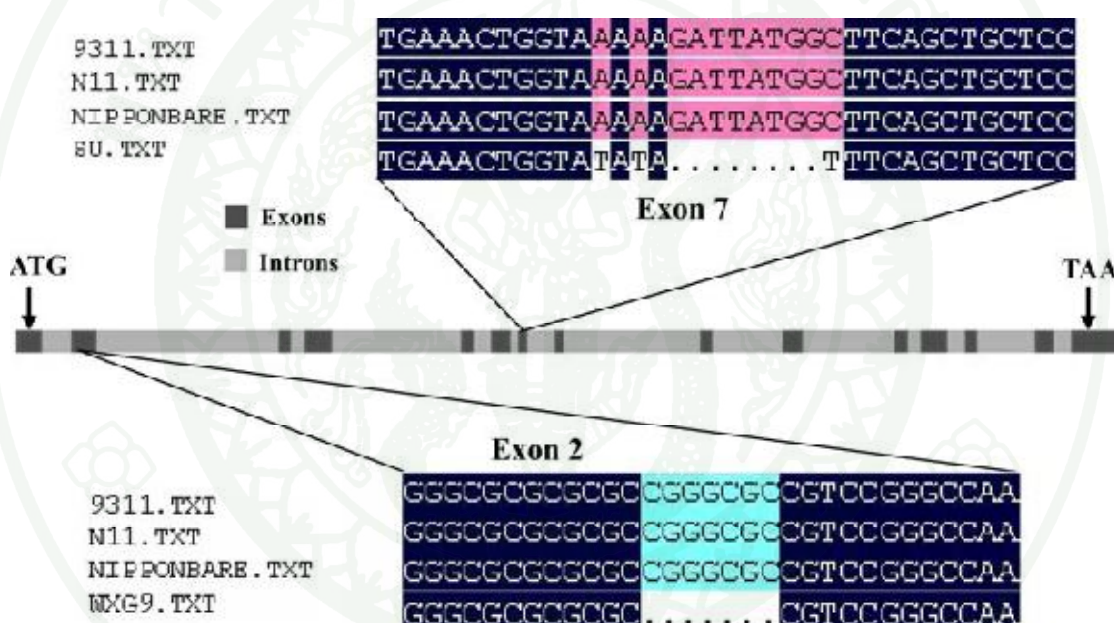
ลักษณะปริมาณอะมิโลส ถูกควบคุมด้วยยีน waxy ซึ่งมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ส่วนที่เป็นแขนสั้นจากการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน waxy หรือยีน granule-bound starch synthase (GBSS) โดยใช้ข้อมูลที่มีอยู่ใน GenBank (Accession number AF031162) พบว่ายีน waxy ประกอบด้วยดีเอ็นเอบริเวณที่เป็น exon จำนวน 14 exons และดีเอ็นเอส่วนที่เป็น intron จำนวน 13 intron ยีนนี้จะกำหนดการสร้างเอนไซม์ granule-bound starch synthase

(GBSS enzyme) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Waxy protein ตำแหน่งที่สามารถจำแนกความแตกต่างของปริมาณอะมิโลสในข้าวได้ คือตำแหน่งของ (CT)_n microsatellite ของยีน *waxy* บนโครโมโซมที่ 6 (Ayres *et al.*, 1997; Bao *et al.*, 2006a) โดย Li *et al.* (1995) ได้ศึกษาการแสดงออกของยีน *waxy* พบว่าการแสดงออกของยีน *waxy* นั้นถูกควบคุมในระดับการถอดรหัส และจากการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน *waxy* พบว่า ส่วนของอินทรอน 1 มีบทบาทส่งเสริมการแสดงออกของยีนนี้ ผลการศึกษาในลำดับต่อมาพบว่าเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นหลังจากการถอดรหัส (post-transcriptional events) มีบทบาทสำคัญในการควบคุมปริมาณหรือความเข้มข้นของโปรตีน *waxy* และปริมาณอะมิโลสในเมล็ดข้าว (Wang *et al.*, 1995)

Lanceras *et al.* (2000) ได้ศึกษาพันธุกรรมที่ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะคุณภาพการหุงต้มและรับประทานในข้าวจากประชากรลูกผสมข้ามระหว่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ CT9993 พบตำแหน่งที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะปริมาณอะมิโลสอยู่ 4 ตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 3, 4, 6, และ 7 โดยในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีตำแหน่งที่สัมพันธ์กับลักษณะปริมาณอะมิโลสอยู่ 2 ตำแหน่ง คือ บนโครโมโซมที่ 6 ระหว่างยีน *waxy* กับ เครื่องหมายดีเอ็นเอ RM204 และ โครโมโซมที่ 7 ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอ OSR22 กับ RM10 ตำแหน่งที่สัมพันธ์กับลักษณะความคงตัวของแป้งสุกมีอยู่ 2 ตำแหน่ง คือ บนโครโมโซมที่ 6 ระหว่างยีน *waxy* กับ เครื่องหมายดีเอ็นเอ RM225 และโครโมโซมที่ 7 ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอ OSR22 กับ RM10 และลักษณะอุณหภูมิแป้งสุก มีอยู่ 2 ตำแหน่งคือบนโครโมโซมที่ 6 ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอ RG73 กับ RM6 และบนโครโมโซมที่ 2 ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอ RM3 กับ RM238 ซึ่งตำแหน่งหลักที่ควบคุมลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกคือตำแหน่งของยีน starch synthase IIa (*SSIIa*) บนโครโมโซมที่ 6 (Bao *et al.*, 2006b; Gao *et al.*, 2003; Umemoto *et al.*, 2002; Waters *et al.*, 2006)

ยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะความหอมนั้น เป็นยีนแฝง (*fgr* gene) อยู่บนโครโมโซมที่ 8 (Sood and Siddiq, 1978; Huang *et al.*, 1994; Lorieux *et al.*, 1996; Jin *et al.*, 2003) ยีนบีเทนอัลดีไฮด์ดีไฮโดรจิเนส (*Badh2*) ประกอบไปด้วย 15 exons และ 14 introns ส่วนตำแหน่งที่เฉพาะต่อการแสดงออกถึงความหอมและไม่หอมในข้าว แบ่งออกเป็นตำแหน่งของ insertions/deletions หรือ InDels และ single nucleotide polymorphisms หรือ SNPs (Shi *et al.*, 2008) ซึ่ง InDels นั้นมี 2 ตำแหน่ง คือ 7-bp deletion (5'-CGGGCGC-3') ใน exon 2 (Shi *et al.*, 2008) และ 8-bp deletion (5'-GATTATGG-3') ใน exon 7 (Bradbury *et al.*, 2005) ส่วนตำแหน่งของ SNPs นั้นมี 3 SNPs ใน exon 7 (Bradbury *et al.*, 2005) (ภาพที่ 1)

Shi *et al.* (1997) พบว่าคุณภาพหุงต้มถูกควบคุมโดยอิทธิพลจากพันธุกรรมเป็นหลัก และอีกส่วนหนึ่งมาจากอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมแต่จะมีผลเพียงเล็กน้อยโดยเฉพาะปริมาณอะมิโลสและอุณหภูมิแป้งสุก Shen *et al.* (1987) พบว่าลักษณะความคงตัวของแป้งสุกถูกควบคุมด้วยยีน 1 หรือ 2 ตัว มีความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะ (heritability) สูง แต่ภายในพันธุ์เดียวกันจะมีความแปรปรวนของลักษณะถึง 10% ขึ้นอยู่กับปัจจัยสภาพแวดล้อม ถ้าอุณหภูมิของอากาศสูงหลังจากที่ออกดอกจะทำให้อุณหภูมิแป้งสุกสูงด้วย แต่ถ้าอุณหภูมิของอากาศต่ำก็จะทำให้อุณหภูมิแป้งสุกต่ำด้วยเช่นเดียวกับลักษณะท้องไขที่ถูกควบคุมโดยอิทธิพลของพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม ซึ่งสภาพแวดล้อมจะมีผลต่อลักษณะนี้เป็นอย่างมากเช่นถ้าอุณหภูมิสูงในช่วงหลังจากที่ดอกบานแล้วจะทำให้เกิดท้องไขมากขึ้นด้วย (Resurreccion *et al.*, 1977)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของยีนบีเทนอัลดีไฮด์ดีไฮโดรจิเนส (*Badh2*)

ที่มา: Shi *et al.* (2008)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พันธุ์ข้าว

1.1 ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ซึ่งเป็นข้าวที่มีคุณภาพดี

1.2 ข้าวพันธุ์ Qiqnizhan ซึ่งเป็นข้าวที่มีทรงต้นแบบใหม่

1.3 ข้าวพันธุ์เปรียบเทียบ พันธุ์ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกข้าว ดูแลรักษา และการเก็บเกี่ยว ได้แก่ กระถาง กระบะ เพาะถุงกระดาษ ป้ายชื่อไม้ปักป้ายชื่อปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และ 46-0-0 สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น สตาร์เกิล แอสเซนด และโอไมท์ เป็นต้น

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมพันธุ์ข้าว ได้แก่ กรรไกร ขวดพลาสติกใส ปากคีบ ป้ายชื่อ และดินสอ

4. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล

4.1 ชุด Phire[®] Plant Direct PCR Kit เป็นชุดสำเร็จรูปที่สามารถทำ PCR ได้โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอก่อน

4.2 ไพร์เมอร์

4.2.1 ไพร์เมอร์ Naro1 ซึ่งเป็นไพร์เมอร์ที่มีความเฉพาะกับการทำหน้าที่ของยีนความหอมในข้าว (Rattanapol *et al.*, 2011)

4.2.2 ไพร์เมอร์ OSR19 ซึ่งเป็นไพร์เมอร์สำหรับจำแนกลักษณะปริมาณอะมิโลส (Akagi *et al.*, 1996)

4.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ผลจากการทำปฏิกิริยา PCR ได้แก่ ชุด polyacrylamide gel electrophoresis (ประกอบด้วย chamber กระจก comb spacer และ clamp) กระดาษ kim wipes ตัวหนีบ เครื่องเขย่า กระบะพลาสติก ปีกเกอร์ 2 ลิตร เทอร์โมมิเตอร์ dropper แถบอุณหภูมิหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร microtube rack micropipettes sterile tips กระบอใส่ tips และ tubes ที่ใช้แล้ว นาฬิกาจับเวลา ปากกาเขียนฉลาก กระดาษทิชชู และถุงมือยาง

4.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ผลจากการทำปฏิกิริยา PCR ได้แก่ แอลกอฮอล์ 95%, clear view, acetic acid, bind silane, 6% acrylamide gel, 10%APS (ammonium persulfate), TEMED (N,N,N',N' – tetramethylethylenediamine), PCR product, 1xTBE buffer, DNA marker, 10% abs ethanol, sterile H₂O, AgNO₃, 37% HCOH (formaldehyde) และ NaOH

5. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับบันทึกลักษณะทางการเกษตร ได้แก่ ตลับเมตร ไม้บรรทัด และเครื่องชั่งน้ำหนัก

6. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ด

6.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ด ได้แก่ เครื่องชั่งน้ำหนัก เครื่องวัดความชื้น โกร่ง (ครกบดยา) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) หลอดทดลอง เพลทแก้ว และขวดวัดปริมาตร (volumetric flask)

6.2 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ด ได้แก่ น้ำกลั่น อมิโลสบริสซูร์ สารละลายไอโอดีน (iodine) แอลกอฮอล์ 95% สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) กรดอะซิติก (acetic acid) และโปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI)

วิธีการ

1. การสร้างข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกชั่วต่อ ๆ มา

ฤดูที่ 1 (ม.ย. 52 – พ.ย. 52) ปลุกข้าวพันธุ์แม่ (KDML105) และพันธุ์พ่อ (Qiqnizhan) 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 1 สัปดาห์ โดยปลุกข้าวในกระถางๆ ละ 3 ต้น ผสมพันธุ์ระหว่างต้นแม่และพ่อ ที่มีการออกดอกพร้อมกันเพื่อผลิตเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1

ฤดูที่ 2 (พ.ย. 52 – มี.ค. 53) ปลูกเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ในกระถางๆ ละ 2 ต้น แล้วปล่อยให้ผสมตัวเองเมื่อเมล็ดสุกแก่เก็บเกี่ยวเก็บเป็นเมล็ดลูกชั่วที่ 2

ฤดูที่ 3 (มี.ค. 53 – ก.ค. 53) ปลูกลูกชั่วที่ 2 (F_2) ทั้งหมดในกระบะเพาะโดยปลูกหลุมละต้น และใช้วิธีการปลูกแบบเร่งชั่วอายุ (Rapid Generation Advance: RGA) โดยจะใช้ระยะเวลาในการปลูกจนถึงเก็บเกี่ยวประมาณ 120 วันเนื่องจากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นั้นเป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสง ดังนั้นเมื่อนำมาผสมพันธุ์กับข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสงแล้วจะได้ลูกผสมชั่วที่ 1 ซึ่งเป็นข้าวไวต่อช่วงแสงทั้งหมด เนื่องจากยีนที่ควบคุมลักษณะไวต่อช่วงแสงนั้นเป็นยีนเด่น ดังนั้น ในลูกชั่วที่ 2 จะมีการกระจายตัวของลักษณะไวต่อช่วงแสง และไม่ไวต่อช่วงแสง ซึ่งจะคัดเลือกเฉพาะข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง โดยปลูกลูกชั่วที่ 2 นี้ในฤดูที่มีช่วงแสงยาว จากข้อมูลของกรมอุตุนิยมวิทยาปี พ.ศ. 2553 (ภาพผนวกที่ 1) ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง เดือนสิงหาคม เป็นช่วงที่มีช่วงแสงยาวกว่าช่วงแสงวิกฤตของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ดังนั้นข้าวที่มีพันธุกรรมแบบไวต่อช่วงแสงจะไม่ออกดอก จึงคัดเลือกเฉพาะต้นที่ออกดอก หลังจากคัดเลือต้นที่ไม่ไวต่อช่วงแสงได้แล้ว จึงใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก ลักษณะความหอม และปริมาณอะมิโลสต่ำ จากนั้นนำต้นที่คัดเลือกได้ไปปลูกในกระบะเพาะ

ฤดูที่ 4 (ก.ย. 53 – ก.พ. 54) ปลูกลูกชั่วที่ 3 (F_3) ในกระบะเพาะ เมื่อเมล็ดงอกประมาณ 20 วันจึงเก็บใบข้าวสำหรับขั้นตอนการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกลักษณะความหอมอีกครั้งหนึ่ง จากนั้นแยกเอาเฉพาะต้นที่มีลักษณะตามต้องการปลูกในแปลงทดลอง แล้วเลือกต้นที่มีลักษณะทรงต้นรูปแบบใหม่ เมื่อสุกแก่เก็บเกี่ยวเมล็ดลูกชั่วที่ 4

ฤดูที่ 5 (มี.ค. 54 – ส.ค. 54) ปลูกลูกชั่วที่ 4 (F_4) ในแปลงทดลอง ร่วมกับพันธุ์เปรียบเทียบ 3 พันธุ์ ได้แก่ ปทุมธานี 1 สุพรรณบุรี 1 และชัยนาท 1 โดยปลูกแบบต้นต่อแถว ปักดำโดยใช้ระยะระหว่างแถวและกอเท่ากับ 20x20 เซนติเมตร ปักดำจึบละ 1 ต้น บันทึกข้อมูลลักษณะทางการเกษตรต่างๆ คัดเลือกต้นที่ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เปรียบเทียบที่ให้ผลผลิตสูงสุด แล้วนำต้นที่ได้บันทึกข้อมูลลักษณะทางการเกษตรต่างๆ และวิเคราะห์คุณภาพของเมล็ดของต้นที่คัดเลือกได้

2. การผสมพันธุ์ข้าว

เมื่อต้นข้าวพันธุ์แม่อยู่ในระยะ heading ถึงระยะก่อนดอกบานกำจัดเกสรตัวผู้ของพันธุ์แม่ออก (ภาพที่ 2) และในวันรุ่งขึ้นนำละอองเกสรของต้นพันธุ์พ่อมาผสมพันธุ์กับช่อดอกของต้นพันธุ์แม่ โดยจะดำเนินการในช่วงเช้าเวลาประมาณ 10.00-11.00 น. แล้วคลุมช่อดอกไว้ด้วย

ขวดพลาสติก หลังจากการผสมพันธุ์นาน 4-5 สัปดาห์ เก็บเมล็ดที่ได้จากการผสมมาทำลายการพักตัวของเมล็ด โดยตากแดดนาน 1 สัปดาห์ แล้วนำเมล็ดที่ได้ส่วนหนึ่งเก็บสำรองไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส (remnant seed) (ภาพที่ 3) และเมล็ดอีกส่วนมาปลูกในฤดูต่อไป



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

ภาพที่ 2 การกำจัดละอองเกสรตัวผู้ (emasculation) (ก) ตัดส่วนปลายของดอกข้าวออกประมาณหนึ่งในสามของดอก (ข) ลักษณะของดอกข้าวหลังจากตัดปลายดอกออก (ค) กำจัดเกสรตัวผู้โดยใช้ปากคีบดึงเกสรตัวผู้ออก (ง) ลักษณะของดอกข้าวหลังกำจัดเกสรตัวผู้ (จ) ฉีดพ่นน้ำให้กับดอกข้าว และ(ฉ) คลุมช่อดอกข้าวโดยใช้ขวดพลาสติกใสเจาะรูขนาดเล็ก



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)

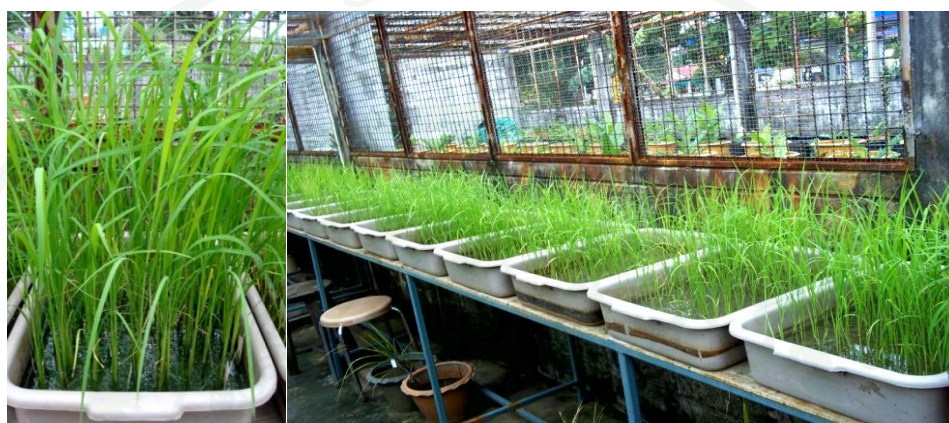


(ฉ)

ภาพที่ 3 การผสมเกสรข้ามต้น การเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษาเมล็ดข้าว (ก) เลือกต้นพ่อแม่ที่มีช่อดอกข้าวที่อยู่ในระยะดอกบาน (ข) นำช่อดอกของต้นพ่อและต้นแม่มาคลุมด้วยขวดพลาสติกใสเข้าด้วยกัน (ค) ลักษณะเมล็ดข้าวที่ติดอยู่กับรวงหลังจากการผสมข้ามนาน 1 สัปดาห์ (ง) หลังจากการผสมเกสรไปนาน 4-5 สัปดาห์เก็บเมล็ดแล้วนำมาทำลายการพักตัวของเมล็ดโดยการตากแดดนาน 1 สัปดาห์ (จ) ลักษณะเมล็ดข้าวที่ได้จากการผสมข้าม และ(ฉ) การเก็บรักษาเมล็ดข้าวโดยเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3. การปลูกข้าวแบบเร่งชั่วอายุ

การปลูกข้าวแบบเร่งชั่วอายุ เป็นการปลูกในพื้นที่จำกัด เพื่อให้ข้าวเข้าสู่ระยะเจริญพันธุ์ (reproductive) ได้เร็วขึ้น เนื่องจากพื้นที่ที่จำกัดทำให้ข้าวไม่สามารถแตกหน่อได้ซึ่งเป็นการลดระยะแตกกอ (tillering stage) โดยปลูกข้าวในถาดหลุมที่มีขนาดของหลุม $3 \times 3.2 \times 4.5$ เซนติเมตร ปลูก 1 ต้นต่อหลุม และควบคุมระดับน้ำไม่ให้ต่ำกว่าผิวดินเพื่อป้องกันการแตกหน่อของข้าว (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 การปลูกข้าวแบบเร่งชั่วอายุในถาดหลุม

4. การสกัดดีเอ็นเอ และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลอง (Polymerase Chain Reaction หรือ PCR)

ใช้ชุด Phire[®] Plant Direct PCR Kit ซึ่งเป็นชุด Kit ที่สามารถทำ PCR ได้โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอก่อน

4.1 นำใบข้าวมาเจาะด้วย Harris UNI-CORE[™] จะได้เนื้อเยื่อรูปวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร (จำนวน 5 ชิ้น) ใส่ลงใน PCR plate

4.2 เตรียมส่วนผสมที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR (master mixture) โดยต้องการปริมาตรรวมเท่ากับ 10 ไมโครลิตร (ตารางที่ 1)

4.3 เมื่อผสม master mixture ในหลอด PCR เรียบร้อยแล้วให้หยด mineral oil 1 หยด เพื่อป้องกันการระเหยออกระหว่างการทำ PCR

4.4 นำหลอด PCR ใส่ลงในเครื่อง PCR (thermal cycler) ปิดฝาแล้วเปิดเครื่อง ตั้งโปรแกรม ตามเงื่อนไข ดังตารางที่ 2

4.5 เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสิ้นลง นำหลอด PCR ออกจากเครื่องแล้วเติม sequencing dye 1 เท่า (10 ไมโครลิตร) จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่ตู้แช่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นและปริมาตรสารที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา PCR

Stock	ความเข้มข้นที่ใช้	ปริมาตรที่ใช้ (μl)
2x plant PCR buffer	1x	5
5μmol forward primer	0.5 μmol	1
5μmol reverse primer	0.5 μmol	1
Phire [®] Hot Start DNA polymerase	-	0.2
Sterile distilled H ₂ O	-	2.8
Total	-	10

ตารางที่ 2 เงื่อนไขในการตั้งค่าการทำปฏิกิริยา PCR

ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยา	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (วินาที)
First denature	98	300
Denature	98	5
Annealing	55	5
Extension	72	30
Final extension	72	60
Hold	16	∞

5. วิเคราะห์ผลจากการทำปฏิกิริยา PCR

5.1 การตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอด้วยวิธี Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE)

ดีเอ็นเอที่เกิดจากปฏิกิริยา PCR จะไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ ดังนั้นเพื่อตรวจหาดีเอ็นเอผลผลิตจะต้องนำตัวอย่างที่ทำ PCR มาแยกหาดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคที่เรียกว่า

polyacrylamide gel electrophoresis ซึ่งเป็นวิธีที่มีความสามารถในการแยกดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างของเบสเพียง 1 เบสได้ โดยมี polyacrylamide gel เป็นตัวกลาง โดยมีขั้นตอนดังนี้

5.1.1 เตรียมชุด polyacrylamide gel electrophoresis โดยการเช็ด chamber ด้วย 95% ethanol 3 ครั้ง เพื่อทำความสะอาด ตามด้วย clear view เพื่อป้องกันเจลเกาะติดกับ chamber ตามด้วย ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ อีก 2 ครั้ง เพื่อเกลี่ยสารให้ทั่ว และเช็ดกระจกด้วย ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ 3 ครั้ง เพื่อทำความสะอาด ตามด้วยสารผสม (0.5 Acetic acid + ethanol 95 เปอร์เซ็นต์) : bind silane ในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตร : 2 ไมโครลิตร แบ่งครึ่งเช็ด 2 ครั้ง ตามด้วย ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ อีก 2 ครั้ง หลังจากนั้นนำ chamber และกระจกมาประกอบเข้าชุดโดยวาง spacer ไว้ตรงขอบทั้งสองข้างของ chamber ก่อนที่จะวางกระจกทับ เพื่อให้เกิดช่องว่างระหว่าง chamber กับกระจก แล้ววางกระจกโดยหันด้านที่เช็ดเข้าหา chamber ใช้ clampหนีบกระจกเข้ากับ chamber

เตรียมเจลโดยมีส่วนประกอบคือ 6 เปอร์เซ็นต์ acrylamide gel 50 ml, 10 เปอร์เซ็นต์ APS 300 ไมโครลิตร และ TEMED 100 ไมโครลิตร เทเจลที่ผสมเรียบร้อยแล้วลงในช่องระหว่างกระจกกับ chamber จนเต็ม แล้วเสียบหัวด้านที่ไม่มีซีลแหลมลงไปตามบน ตั้งทิ้งไว้รอให้เจลเซตตัวประมาณ 2 ชั่วโมง

5.1.2 การตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอ มีขั้นตอนดังนี้ เมื่อเจลเซตตัวดีแล้ว ใช้ น้ำล้างกระจกด้านนอกให้สะอาด ประกอบ chamber เข้ากับตัวฐาน เท 1x TBE buffer ส่วนของ กระจกก่อน โดยเทให้ท่วมขอบ gel ส่วนที่เหลือให้เทที่ฐานเพื่อเป็นสะพานกระแสไฟฟ้า จากนั้น ดึงหรือออก ต่อสายไฟเข้ากับเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า pre-run โดยใช้กำลังไฟที่ 100 วัตต์ 30 นาที เมื่อครบเวลาปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า เสียบหัวโดยให้ด้านแหลมปักลงเจล หยอด ตัวอย่าง PCR product 2 ไมโครลิตร ลงในช่องแต่ละช่องจนครบ โดยเว้นช่องแรกไว้เพื่อหยอด DNA marker เปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าใช้กำลังไฟที่ 45 วัตต์ ประมาณ 15 นาที ดึงหรือออก แล้ว run ต่อประมาณ 1 ชั่วโมง 30 นาที หรือจนกระทั่งแถบสีของ dye ถึง 15 เซนติเมตรจาก ช่องหยอดเริ่มต้น จากนั้นปิดเครื่องแล้วเท buffer ออกนำกระจกออกจากเครื่อง แยกกระจกออกจาก chamber นำเจลที่ได้ไปย้อมเพื่อตรวจสอบแถบดีเอ็นเอ

5.1.3 ย้อมสีแถบดีเอ็นเอด้วย silver nitrate (AgNO_3) ตามวิธีการของ Benbouza *et al.* (2006) โดยนำกระจกที่มีเจลติดอยู่แช่ในสารละลาย fixer นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่า ทิ้งไว้ 5 นาที เมื่อครบเวลานำกระจกออกมาแช่สารละลาย silver nitrate เขย่าบนเครื่องเขย่า 7 นาที จากนั้นนำกระจกออกมาล้าง silver nitrate ส่วนเกินออก โดยนำกระจกจุ่มลงในน้ำกลั่นแล้วยก

กระจกขึ้นทันที ย้ายกระจกมาแช่ในสารละลาย developer เขย่าจนแถบดีเอ็นเอปรากฏ จากนั้นนำออกมาแช่ในสารละลาย fixer อีกประมาณ 1 นาที แล้วนำกระจกล้างน้ำกลั่นโดยเขย่าทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที และผึ่งให้แห้ง (ดูวิธีเตรียมสารละลายในภาคผนวกที่ 1)

6. การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เฉพาะกับการทำหน้าที่ของยีนความหอมในข้าว

6.1 หาข้อมูลลำดับเบสของตำแหน่งยีนบีเทนอัลดีไฮด์ดีไฮโดรจิเนส (*Badh2*) จาก <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> และออกแบบไพรเมอร์ให้คลุมตำแหน่ง 8-bp deletion ของยีน *Badh2* โดยใช้โปรแกรม primer 3 version 4.0 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>) โดยกำหนดเงื่อนไขในการออกแบบดังนี้ ความยาวของไพรเมอร์อยู่ระหว่าง 18-22 bp มี GC content อยู่ในช่วง 40-60 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ annealing อยู่ในช่วง 50-60 องศาเซลเซียส และขนาดของ PCR product อยู่ในช่วง 150-300 bp หลังจากออกแบบไพรเมอร์ได้ตามเงื่อนไขแล้วสังเคราะห์ไพรเมอร์ตามทีออกแบบ

6.2 ทำปฏิกิริยา PCR โดยชุด Phire[®] Plant Direct PCR Kit และใช้ตัวอย่างข้าว 10 พันธุ์ในการทดสอบ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ105 สุพรรณบุรี1 สุพรรณบุรี3 ชัยนาท1 พทุมธานี1 กข29 กข31 IR64 Qiqnizhan และ Yuexiangzhan ทำปฏิกิริยา PCR ตามเงื่อนไขซึ่งใช้อุณหภูมิ annealing แบบ gradient อุณหภูมิ annealing คือตั้งเงื่อนไขในการให้อุณหภูมิในแต่ละช่องไม่เท่ากันโดยจะใช้อุณหภูมิตั้งแต่ 57 องศาเซลเซียส ถึง 65 องศาเซลเซียส

6.3 วิเคราะห์ผลจากการทำปฏิกิริยา PCR โดยวิธี PAGE และย้อมสีแถบดีเอ็นเอด้วย silver nitrate (AgNO₃) ตามวิธีการของ Benbouza *et al.* (2006)

7. การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก

7.1 ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกต้นข้าวในประชากรชั่วที่ 2

7.1.1 ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 (Naro1F; 5'-AGGTTGCATTACTGGGAG-3' และ Naro1R; 5'-TGGCTACTAGAATGATGCT-3') คัดเลือกต้นที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และลักษณะทางพันธุกรรมแบบเฮเทอโรไซกัส

7.1.2 นำต้นที่คัดเลือกได้ในข้อ 7.1.1 มาคัดเลือกอีกครั้งโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ OSR19 (<http://www.gramene.org/>) (OSR19F; 5'-GCTACAAATAGCCACCCACACC-3'

และ OSR19R; 5'-CAACACAAGCAGAGAAGTGAAGC-3') โดยจะคัดเลือกเอาเฉพาะต้นที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 หลังจากเสร็จขั้นตอนการคัดเลือกในข้อนี้ ต้นข้าวที่คัดเลือกได้ตามลักษณะทางพันธุกรรมออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ทั้ง 2 ลักษณะ และกลุ่มที่ 2 มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ในลักษณะปริมาณอะมิโลส แต่ลักษณะความหน่อนั้นมีพันธุกรรมแบบเฮเทอโรไซกัส

7.2 นำต้นที่คัดเลือกได้ในข้อ 7.1.2 กลุ่มที่ 2 มาคัดเลือกต่อโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ซึ่งจะคัดเลือกเอาเฉพาะต้นที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 หลังจากเสร็จขั้นตอนการคัดเลือกจะได้ต้นข้าวที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ในทั้ง 2 ลักษณะ

8. การบันทึกลักษณะทางการเกษตร

บันทึกข้อมูลลักษณะทางการเกษตรรวมทั้งผลผลิตของข้าวแต่ละสายพันธุ์ของลูกชั่วที่ 4 ดังนี้

8.1 อายุวันออกดอก 50% เริ่มนับจำนวนวันตั้งแต่วันที่ตกกล้าจนถึงวันที่ช่อดอกข้าว โผล่พ้นใบธงและดอกบานจำนวนครึ่งหนึ่งในแต่ละสายพันธุ์

8.2 อายุวันเก็บเกี่ยว นับจำนวนวันตั้งแต่วันที่ตกกล้าจนถึงวันที่เก็บเกี่ยวได้

8.3 ความสูงต้น วัดความสูงเป็นเซนติเมตรของข้าวแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 5 ต้นต่อสายพันธุ์ วัดจากพื้นดินถึงปลายใบที่สูงที่สุด

8.4 ความยาวใบธง วัดความยาวเป็นเซนติเมตรของข้าวแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 5 ต้นต่อสายพันธุ์ โดยวัดจากคอใบธงถึงปลายใบธง

8.5 ความยาวรวง วัดความยาวรวงเป็นเซนติเมตรของข้าวแต่ละสายพันธุ์จำนวน 5 ต้นต่อสายพันธุ์ โดยวัดจากคอรวงถึงปลายรวง

8.6 การแตกกอ นับจำนวนหน่อของต้นข้าวในแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 5 ต้นต่อสายพันธุ์

8.7 จำนวนหน่อที่ให้รวง นับจำนวนหน่อที่ให้รวงของต้นข้าวในแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 5 ต้นต่อสายพันธุ์

8.8 จำนวนเมล็ดต่อรวง นับจำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อรวงในแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 5 ต้นต่อสายพันธุ์

8.9 เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด นับจำนวนเมล็ดดีต่อรวงเปรียบเทียบกับจำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อรวง แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ นับจำนวน 5 รวงต่อสายพันธุ์ โดยเลือกนับรวงที่ยาวที่สุดของแต่ละต้น

8.10 น้ำหนัก 1,000 เมล็ด สุ่มเมล็ดจาก 5 ต้นที่เก็บเกี่ยวในแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 1,000 เมล็ด แล้วชั่งน้ำหนักเป็นกรัม

8.11 ผลผลิตต่อต้น ชั่งน้ำหนักเมล็ดเป็นกรัม จากเมล็ดทั้งหมด 5 ต้นที่เก็บเกี่ยวในแต่ละสายพันธุ์

9. การวิเคราะห์คุณภาพเมล็ด

9.1 วิเคราะห์คุณภาพเมล็ดทางกายภาพของเมล็ดข้าวของลูกข้าวที่ 4

9.1.1 ขนาดและรูปร่างเมล็ดข้าวกล้อง (grain size and shape) การกำหนดมาตรฐานขนาดของเมล็ดข้าวกล้องจะแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ การศึกษครั้งนี้ใช้มาตรฐานของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI, 1988) ซึ่งได้กำหนดความยาวเมล็ดออกเป็น 4 ระดับ ดังนี้

ขนาด	ความยาว
ยาวมาก	ยาวกว่า 7.50 มิลลิเมตร
ยาว	6.61-7.50 มิลลิเมตร
ปานกลาง	5.51- 6.60 มิลลิเมตร
สั้น	สั้นกว่า 5.51 มิลลิเมตร

การจำแนกรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องสามารถจำแนกรูปร่างเมล็ดข้าวกล้องออกเป็น 4 แบบ ตามอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของเมล็ดข้าวกล้อง (IRRI, 1988) ดังนี้

รูปร่าง	อัตราส่วนความยาวต่อความกว้างเมล็ดข้าวกล้อง
เรียวยาว	มากกว่า 3.0
ปานกลาง	2.0-3.0
ป้อม	น้อยกว่า 2.0

9.1.2 ลักษณะท้องไข (chalkiness) ประเมินจากจุดสีขาวขุ่นที่เกิดขึ้นในเอนโดสเปิร์ม (endosperm) ของเมล็ดข้าวสารตามวิธีการของเคอรี่วัลย์ (2534) ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 ระดับ ดังนี้

ค่าท้องไข	ลักษณะ
0	เมล็ดใส (clear grain)
น้อยกว่า 1	ท้องไขเล็กน้อย
1.0 - 1.5	ท้องไขปานกลาง
1.6 – 2.0	ท้องไขค่อนข้างมาก
มากกว่า 2	ท้องไขมาก

9.2 วิเคราะห์คุณภาพการหุงต้มของเมล็ดข้าวของลูกข้าวที่ 4

9.2.1 ปริมาณอะมิโลส (amylose content; AC) วิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสในเมล็ดข้าวสาร โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Juliano (1971) ดังนี้

การเตรียมตัวอย่าง บดเมล็ดข้าวสารให้ละเอียดจนเป็นแป้งข้าว เมื่อได้แป้งข้าวแล้วชั่งแป้งข้าว 20 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เติมหเอทานอล 95% ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดแล้วเขย่าให้สารละลายเข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ตัวอย่าง นำสารละลายจากข้อ 1 (จากที่ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดกลาง เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรประมาณ 10 มิลลิลิตร ลงไปก่อนแล้วเติมกรดอะซิติก 1 โมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเติมสารละลายไอโอดีน 400 ไมโครลิตร จากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 20 นาที และทำเช่นเดียวกันนี้แต่ไม่ใส่สารตัวอย่างเพื่อใช้เป็นแบล็ก (blank) วัดความเข้มสีของสารละลายโดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร เพื่อวัดจากค่าการดูดกลืนแสง

การเตรียมสารละลายมาตรฐานอะมิโลสสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน โดยชั่งอะมิโลสบริสุทธิ์ 0.04 กรัม ใส่ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ ไม่ควรให้อะมิโลสเกาะผนังขวด แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน

การสร้างกราฟมาตรฐาน ดูดสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้จากข้างต้น ปริมาตร 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรประมาณ 50 มิลลิลิตร ในทุกขวด แล้วเติมกรดอะซิติก 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรที่มีสารละลายมาตรฐานตามลำดับ และเติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตรในทุกขวด จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายให้เข้ากันนำสารละลายในแต่ละขวด วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร และนำค่าที่อ่านได้มาเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณอะมิโลส (กรัม/แป้งข้าว 100 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 8 16 24 32 และ 40) กับค่าการดูดแสง

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน คิดเป็นร้อยละของปริมาณอะมิโลส แล้วจำแนกประเภทของข้าวตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การแบ่งประเภทของข้าวตามปริมาณอะมิโลส

ประเภทข้าว	ปริมาณอะมิโลส (เปอร์เซ็นต์)	ลักษณะ
ข้าวเหนียว	1 – 2	เหนียวมาก
ข้าวเจ้าอมิโลสต่ำมาก	3 – 9	เหนียว
ข้าวเจ้าอมิโลสต่ำ	10 – 19	เหนียว นุ่ม
ข้าวเจ้าอมิโลสปานกลาง	20 – 25	ค่อนข้างร่วน ไม่แข็ง
ข้าวเจ้าอมิโลสสูง	> 25	ร่วน แข็ง

ที่มา: Juliano (1971)

9.2.2 ค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในด่าง (alkaline test) วิเคราะห์ตามวิธีการของ Little *et al.* (1958) ดังนี้ สุ่มเมล็ดข้าวสาร 10 เมล็ด เรียงลงบนจานแก้วที่วางบนพื้นกระดาษสีเข้มเพื่อช่วยให้อ่านผลได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น เติมน้ำกลั่น 1.7 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยให้ข้าวสารทั้งเมล็ดจมอยู่ในสารละลายแล้วปิดฝาทิ้งไว้

23 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (ห้ามขยี้บจานหรือทำให้ข้าวสารขยี้บเขยื้อน) แล้วอ่านค่าการกระจายของเมล็ดที่ปรากฏซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 7 ระดับ (Cruz and Khush, 2000) ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ลักษณะการสลายตัวของเมล็ดข้าวสารในต่าง

คะแนน	ลักษณะการสลายตัวของเมล็ดในต่าง
1	เมล็ดไม่เปลี่ยนแปลง
2	เมล็ดพองตัว
3	เมล็ดพองตัว มีแป้งกระจายออกจากเมล็ดเล็กน้อย
4	เมล็ดพองตัว มีแป้งกระจายออกจากเมล็ดโดยรอบเป็นวงกว้าง
5	เมล็ดแตกปริทางขวางหรือทางยาว แป้งกระจายออกโดยรอบและกว้าง
6	เมล็ดสลายรวมกับแป้งที่กระจายออกมา
7	เมล็ดสลายจนหมด แป้งมีลักษณะใส

ที่มา: Cruz and Khush (2000)

9.2.3 อุณหภูมิแป้งสุก (gelatinization temperature) ประเมินได้จากค่าการสลายเมล็ดในต่างตามวิธีการของ Bernetti *et al.* (1990) ดังตารางที่ 5

9.2.4 กลิ่นหอม ดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์จาก IRRI (1971) โดยนำเมล็ดข้าวใส่ลงใน microtube เติมน้ำกลั่นลงไป นำไปต้มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำออกมาเปิดฝาและดมกลิ่น

ตารางที่ 5 การประเมินค่าอุณหภูมิแป้งสุกจากค่าการสลายของเมล็ดข้าวสารในต่าง

ค่าการสลายเมล็ดในต่าง	อุณหภูมิแป้งสุก	องศาเซลเซียส
1 – 3	สูง	> 74
4 – 5	ปานกลาง	70 – 74
6 – 7	ต่ำ	< 70

ที่มา: Bernetti *et al.* (1990)

สถานที่และระยะเวลาการทำวิจัย

1. สถานที่การทำวิจัย

1.1 โรงเรือนปลูกพืชทดลองภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
บางเขน กรุงเทพมหานคร

1.2 ห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
บางเขน กรุงเทพมหานคร

1.3 ห้องปฏิบัติการหน่วยพัฒนาทรัพยากรพันธุ์กรรมและการพัฒนาพันธุ์พืช อาคารว
ชิรานุสรณ์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร

2. ระยะเวลาการทำวิจัย

เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2552 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2554

ผลและวิจารณ์

การคัดเลือกลักษณะไม่วิต่อช่วงแสงในประชากรลูกชั่วที่ 2

จากการผสมข้ามระหว่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ซึ่งเป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสง และข้าวพันธุ์ Qiqnizhan ซึ่งเป็นข้าวไม่วิต่อช่วงแสง พบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 ทุกต้นแสดงลักษณะไวต่อช่วงแสง จึงได้ดำเนินการคัดเลือกในประชากรของลูกชั่วที่ 2 ซึ่งมีการกระจายตัวของลักษณะต่างๆ สูงสุด การคัดเลือกได้คัดเลือกด้วยสายตาโดยเลือกเอาเฉพาะต้นที่ออกดอก เนื่องจากฤดูที่ปลูกประชากรของลูกชั่วที่ 2 คือ ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง เดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2553 จากข้อมูลของกรมอุตุนิยมวิทยา (ภาคผนวกที่ 1) เป็นช่วงที่มีความยาวต่อช่วงแสงมากกว่าช่วงแสงวิกฤตของข้าวขาวดอกมะลิ105 คือ 11 ชั่วโมง 52 นาที ดังนั้นข้าวที่มีพันธุกรรมไวต่อช่วงแสงจึงไม่สามารถออกดอกได้เมื่อได้รับช่วงแสงที่ยาวกว่าช่วงแสงวิกฤต และมีระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นต่อไป ส่วนข้าวที่มีพันธุกรรมไม่วิต่อช่วงแสงนั้นสามารถออกดอกตามอายุเนื่องจากการออกดอกไม่ขึ้นอยู่กับความยาวของช่วงแสง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2543) จากการคัดเลือกประชากรลูกชั่วที่ 2 จำนวน 1,012 ต้น สามารถแบ่งลูกชั่วที่ 2 ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่แสดงลักษณะไม่วิต่อช่วงแสง และกลุ่มที่แสดงลักษณะไวต่อช่วงแสงจำนวน 784 และ 228 ต้นตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างต้นที่ไม่วิต่อช่วงแสง : ต้นที่ไวต่อช่วงแสง พบว่ามีค่าเท่ากับ 3:1 โดยมีค่า Chi-square เท่ากับ 3.29 ซึ่งเป็นที่ยอมรับในอัตราส่วนดังกล่าว (ตารางที่ 6) แสดงให้เห็นว่ายีนที่ควบคุมลักษณะความไวต่อช่วงแสงนั้นเป็นยีนเด่นข่มต่อลักษณะไม่วิต่อช่วงแสง

ตารางที่ 6 การกระจายตัวของต้นข้าวที่มีลักษณะไม่วิต่อช่วงแสงกับต้นที่มีลักษณะไวต่อช่วงแสงในลูกชั่วที่ 2

คู่ผสม	ลักษณะ (จำนวนต้น)		รวม	$\chi^2(3:1)$
	ไม่วิต่อช่วงแสง	ไวต่อช่วงแสง		
KDML 105 x Qiqnizhan	228	784	1,012	3.29 ^{ns}

หมายเหตุ ^{ns} คือ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เฉพาะกับการทำหน้าที่ของยีนความหอมในข้าว

การออกแบบเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดที่มีความเฉพาะกับการทำงานของยีนความหอมในข้าว นั้นนำมาใช้ช่วยในการคัดเลือกลักษณะข้าวที่เมล็ดมีกลิ่นหอมและไม่หอม ซึ่งการออกแบบไพรเมอร์ให้คลุมตำแหน่ง 8-bp deletion ที่ exon 7 ของยีนบีเทนอัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (*Badh2*) นั้นได้ forward primer (Naro1F) คือ 5'-AGGTTGCATTTACTGGGAG-3' ความยาว 19 bp มี GC content เท่ากับ 47 เปอร์เซ็นต์ มี annealing temperature เท่ากับ 56 องศาเซลเซียส และ reverse primer (Naro1R) คือ 5'-TGGCTACTAGAATGATGCT-3' ความยาว 19 bp GC content เท่ากับ 42 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ annealing เท่ากับ 54 องศาเซลเซียส และขนาดของ PCR product ที่ได้จากไพรเมอร์คู่นี้เท่ากับ 244 bp (ตารางที่ 7) เนื่องจากไพรเมอร์คู่ที่ได้จากการออกแบบครั้งนี้มีอุณหภูมิ annealing ต่างกัน ดังนั้นจึงได้ทดสอบหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำ PCR โดยกำหนดอุณหภูมิ annealing ให้อยู่ระหว่าง 57 ถึง 65 องศาเซลเซียส ผลจากการทดสอบพบว่า อุณหภูมิ annealing ที่เหมาะสมในการทำ PCR อยู่ที่ 57 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 5)

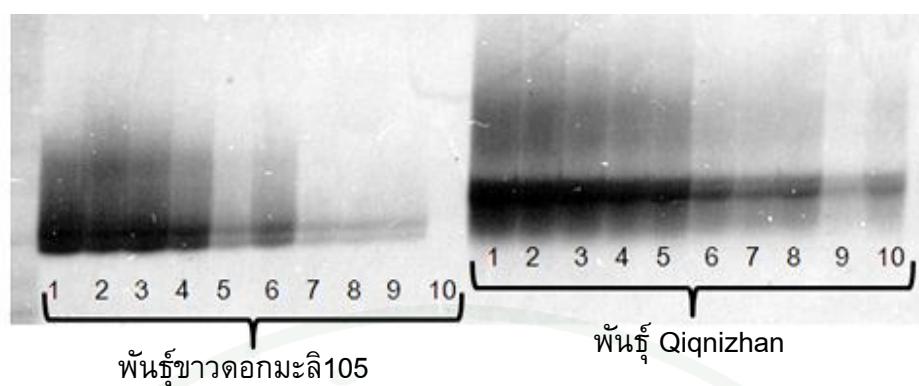
การทดสอบจีโนไทป์ของข้าวด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในข้าว 10 พันธุ์ คือ ข้าวดอกมะลิ105 สุพรรณบุรี1 สุพรรณบุรี3 ชัยนาท1 ปทุมธานี1 กข29 กข31 IR64 Qiqnizhan และ Yuexiangzhan ด้วยเงื่อนไขการทำ PCR ที่ได้และอ่านผลโดยการทำ PAGE พบว่าสามารถแบ่งข้าวทั้ง 10 พันธุ์ที่ใช้ในการทดลองออกได้เป็น 2 กลุ่ม ดังนี้ พันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ปทุมธานี1 และ Yuexiangzhan นั้นได้ PCR product ขนาด 236 bp ส่วนในพันธุ์ สุพรรณบุรี1 สุพรรณบุรี3 ชัยนาท1 กข29 กข31 IR64 และ Qiqnizhan ให้ PCR product ขนาด 244 bp (ภาพที่ 6) และเมื่อนำเมล็ดข้าวของแต่ละพันธุ์มาตรวจสอบความหอมพบว่าพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ปทุมธานี1 และ Yuexiangzhan นั้นเมล็ดมีกลิ่นหอม ส่วนในพันธุ์ สุพรรณบุรี1 สุพรรณบุรี3 ชัยนาท1 กข29 กข31 IR64 และ Qiqnizhan นั้นเมล็ดไม่มีกลิ่นหอม (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 เครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับคัดเลือกลักษณะความหอมของข้าว

ยีน	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')	PCR product	แหล่งอ้างอิง
<i>Badh</i>	Naro1F:	Naro1R:	236/244	Rattanapol
2 (<i>fgr</i>)	aggttgcatctactgggag	tggctactagaatgatgct	bp	<i>et al.</i> , (2011)
	1F:	1R:	267/275	Jin <i>et al.</i> ,
	ggagcttgctgatgtgtgtaaa	ggaaacaaaccttaaccatag	bp	(2010)
	2F:	2R:	260/268	Shi <i>et al.</i> ,
	gggtgcattactgggagtt	cagtgaacaggctgtcaag	bp	(2008)

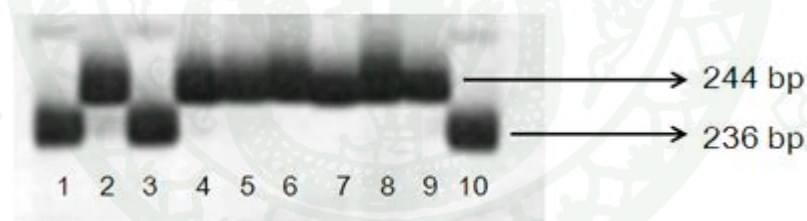
ตารางที่ 8 ข้อมูลลักษณะทางพันธุกรรม และลักษณะที่ปรากฏของข้าวหอม และไม่หอม ที่ใช้ในการทดลอง

พันธุ์ข้าว	ลักษณะทางพันธุกรรม (PCR product)	ลักษณะที่ปรากฏ
ขาวดอกมะลิ105	236 bp	หอม
Qiqnizhan	244 bp	ไม่หอม
Yuexiangzhan	236 bp	หอม
สุพรรณบุรี1	244 bp	ไม่หอม
สุพรรณบุรี3	244 bp	ไม่หอม
กข29	244 bp	ไม่หอม
กข31	244 bp	ไม่หอม
IR64	244 bp	ไม่หอม
ชัยนาท1	244 bp	ไม่หอม
ปทุมธานี1	236 bp	หอม



ตัวอย่างที่ 1	57	องศาเซลเซียส	ตัวอย่างที่ 6	62.5	องศาเซลเซียส
ตัวอย่างที่ 2	58.2	องศาเซลเซียส	ตัวอย่างที่ 7	63.2	องศาเซลเซียส
ตัวอย่างที่ 3	59.5	องศาเซลเซียส	ตัวอย่างที่ 8	64.4	องศาเซลเซียส
ตัวอย่างที่ 4	60.8	องศาเซลเซียส	ตัวอย่างที่ 9	64.7	องศาเซลเซียส
ตัวอย่างที่ 5	61.4	องศาเซลเซียส	ตัวอย่างที่ 10	65	องศาเซลเซียส

ภาพที่ 5 การทดสอบอุณหภูมิ annealing ของไพรเมอร์ Naro1 ในข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 และ พันธุ์ Qiqnizhan



ตัวอย่างที่ 1	พันธุ์ข้าวดอกมะลิ105	ตัวอย่างที่ 6	พันธุ์ กข29
ตัวอย่างที่ 2	พันธุ์ Qiqnizhan	ตัวอย่างที่ 7	พันธุ์ กข31
ตัวอย่างที่ 3	พันธุ์ Yuexiangzhan	ตัวอย่างที่ 8	พันธุ์ IR64
ตัวอย่างที่ 4	พันธุ์สุพรรณบุรี1	ตัวอย่างที่ 9	พันธุ์ชัยนาท1
ตัวอย่างที่ 5	พันธุ์สุพรรณบุรี3	ตัวอย่างที่ 10	พันธุ์ปทุมธานี1

ภาพที่ 6 ขนาด PCR products จากไพรเมอร์ Naro1 ของข้าวหอม และไม่หอม

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้นใหม่ให้คล่อมตำแหน่ง 8-bp deletion ของยีน *Badh2* นั้นสามารถใช้แยกความแตกต่างของลักษณะความหอมในข้าวได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Bradbury *et al.*, (2005) ที่พบว่าตำแหน่ง 8-bp deletion ของยีน *Badh2* มีความเกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ของยีนความหอมในข้าว ซึ่งการขาดหายไปของเบสตรงตำแหน่งดังกล่าวทำให้โปรตีนเปลี่ยนแปลงรูปแบบไป ทำให้เกิดการสะสมสารหอมขึ้น จึงแสดงออกถึงลักษณะความหอมในข้าว การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะต่อการทำหน้าที่ของยีนความหอมในข้าว นั้นเป็นประโยชน์ต่อการช่วยคัดเลือกลักษณะความหอมในข้าวซึ่งเป็นลักษณะที่ควบคุมด้วยยีนแฝง โดยการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอแบบ co-dominance ซึ่งเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สามารถแยกยีนในสภาพที่เป็นโฮโมไซกัสออกจากเฮเทอโรไซกัสได้ (Collard *et al.*, 2005) เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ที่ออกแบบในครั้งนี้เป็นเครื่องหมายประเภท co-dominance และยังเป็นเครื่องหมายที่จำแนกส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของยีนโดยตรงซึ่งมีประสิทธิภาพสำหรับใช้ช่วยในการคัดเลือก

การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกในลูกข้าวที่ 2

พันธุ์กรรมที่ควบคุมลักษณะความหอม และปริมาณอะมิโลสต่ำในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นั้นถูกควบคุมด้วยยีนแฝง ซึ่งเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ช่วยในการคัดเลือกลักษณะความหอมคือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro 1 ซึ่งมีตำแหน่งคล่อมตำแหน่ง 8-bp deletion ของยีนความหอมบนโครโมโซมที่ 8 (ภาพที่ 7) และเครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับช่วยในการคัดเลือกลักษณะปริมาณอะมิโลสต่ำคือ เครื่องหมายดีเอ็นเอ OSR19 ซึ่งเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite marker) โดยจะจำแนกความแตกต่างของดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง CT_(n) ในยีนแว็กซ์ (Waxy gene) ซึ่งอยู่บนโครโมโซมที่ 6 (Akagi *et al.*, 1996) (ภาพที่ 8)

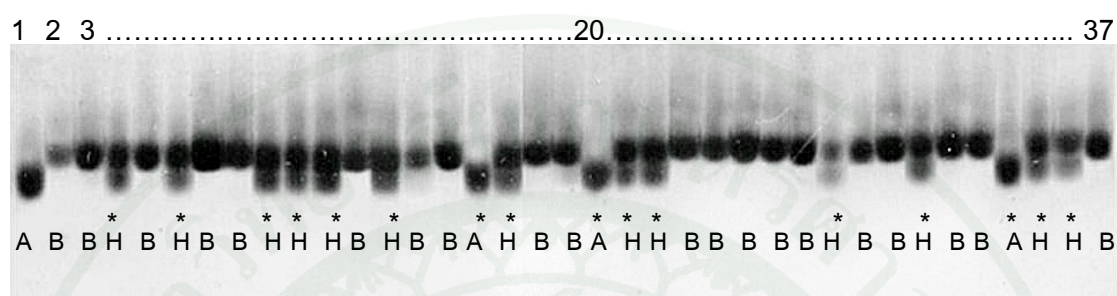
>ref|NC_008401.1|:20372487-20376231 *Oryza sativa* (japonica cultivar-group)
genomic DNA, chromosome 8

TTAATGTCATACCCATGCTAGTTGCAATGACATTTGATTTTAAAATGTTGTGGCAT
GTCCATGCTGCAAGCAATGTAATTTGAAATCTCTCTATCATTATTACCAGGAC
TTGTTTGGAGCTTGCTGATGTGTGTAAAGAGGTTGGTCTTCCTTCAGGTGTGCTA
AACATAGTGA CTGGATTAGGTTCTGAAGCCGGTGCTCCTTTGTCATCACACCCTG
GTGTAGACAAGGTACAGCTATTCTCTGTAATCATGTATACCCCATCAATGGAAA
Forward primer
 TGATATTCTCTCAATACATGGTTTATGTTTTCTGTT**AGGTTGCATTACTGGGAG**
 ตำแหน่ง 8-bp deletion
 TTATGAAACTGGTAAAAA**GATTATGG**CTTCAGCTGCTCCTATGGTTAAGGTTTGT
 TCCAAATTTCTGTGGATATTTTTGTTCTCTTCTACTAACTCTCTATTATCAATTCT
 CAATGTTGCTCTTTTCTTTTAACTCCTTTACTTTTAGAATTGTGATCAAGACACTTT
Reverse primer
 G**AGCATCATTCTAGTAGCCA**GTTCTATCCTGTTTCTTACCTTTTATGGTTCGTCT
 TTTCTTGACAGCCTGTTTCACTGGAACCTGGTGGAAAAAGTCCTATAGTGGTGT
 GATGATGTTGATGTTGAAAAAGGTACATGCCACTTGCTATGATTAACTAATTCTGA
 AGTGCGGGACTTTGTAAAGCACTTAACTGAGCTGGATGCTAGACCCCCAAAAGCC
 CTTTTTGGTGTCTTGGGCTTGTTCAGAAATACTGGTCCCAGACGAGCAGGATGC
 AAGAAAATTAATACTACTTTTGCCACTGATTAGTATTTCTTAGAAGTTACACCTCAAGG

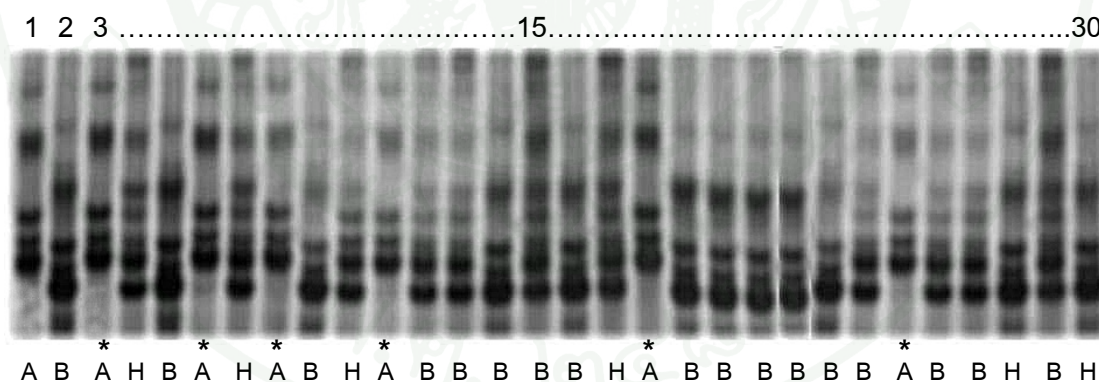
ภาพที่ 7 เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro 1 ที่ใช้คัดเลือกลักษณะความหอม

ที่มา: www.ncbi.nlm.nih.gov (2010)

จำแนกตามลักษณะทางพันธุกรรมได้เป็น 2 แบบ คือ ต้นที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนแม่ทั้ง 2 ลักษณะ มีจำนวน 4 ต้น และต้นที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนแม่ในลักษณะปริมาณ อะมิโลสต่ำ ส่วนในลักษณะความหอมของเมล็ดนั้นก็มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบเฮเทอโรไซกัส มีจำนวน 16 ต้น



ภาพที่ 9 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ช่วยในการคัดเลือกลักษณะความหอมในลูกชั่วที่ 2 (หมายเลข 1 คือ พันธุ์แม่ ขาวดอกมะลิ105; หมายเลข 2 คือ พันธุ์พ่อ Qiqnizhan; หมายเลข 3-37 คือ ลูกชั่วที่ 2; A คือ ลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนพันธุ์แม่; B คือ ลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนพันธุ์พ่อ; H คือ ลักษณะทางพันธุกรรมแบบเฮเทอโรไซกัส และ * คือ ลูกชั่วที่ 2 ที่ต้องการคัดเลือก)



ภาพที่ 10 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ OSR19 ช่วยในการคัดเลือกลักษณะปริมาณอะมิโลสต่ำในลูกชั่วที่ 2 (หมายเลข 1 คือ พันธุ์แม่ ขาวดอกมะลิ105; หมายเลข 2 คือพันธุ์พ่อ Qiqnizhan; หมายเลข 3-30 คือ ลูกชั่วที่ 2; A คือ ลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนพันธุ์แม่; B คือ ลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนพันธุ์พ่อ; H คือ ลักษณะทางพันธุกรรมแบบเฮเทอโรไซกัส และ * คือ ลูกชั่วที่ 2 ที่ต้องการคัดเลือก)

การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกในลูกข้าวที่ 3

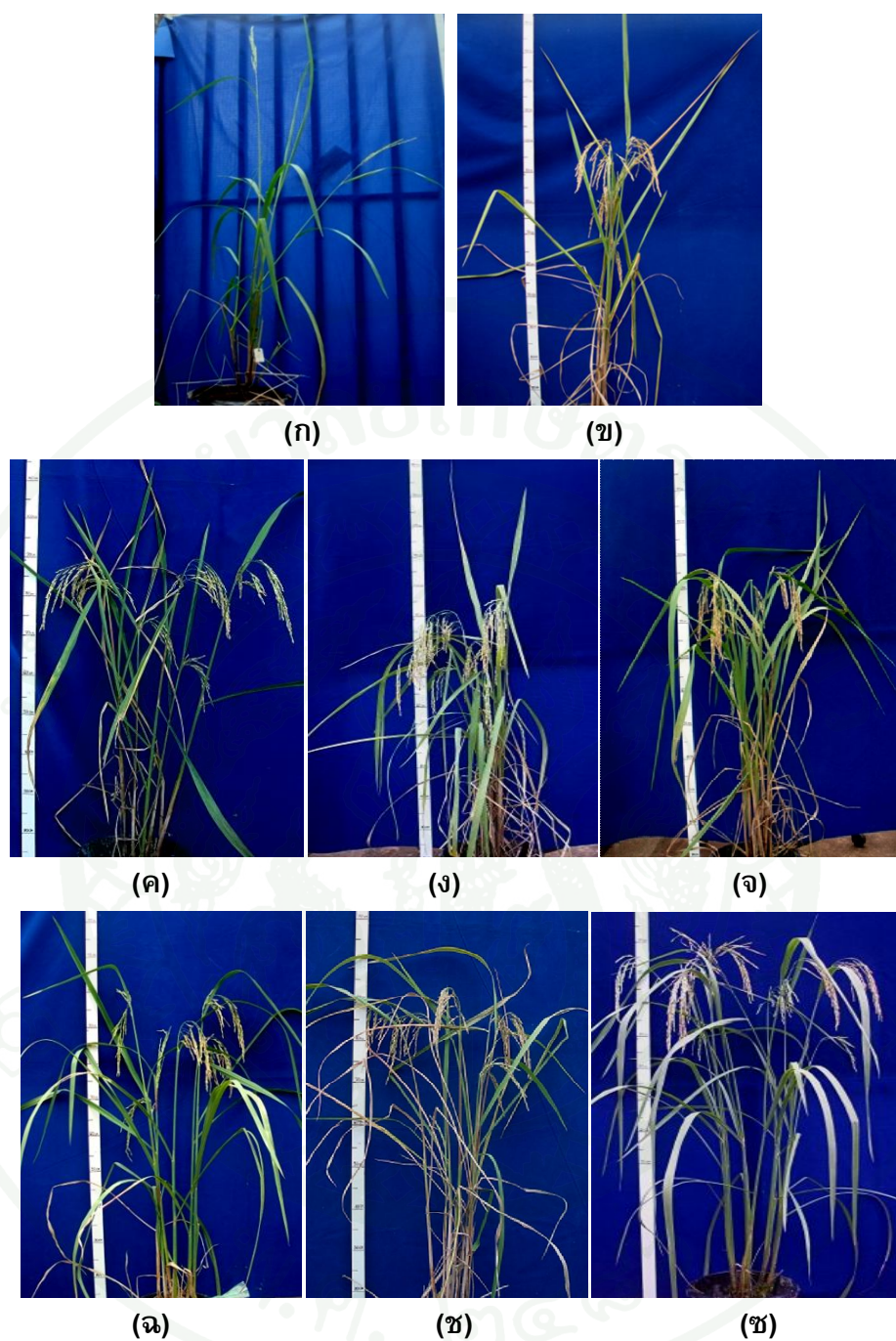
จากการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ช่วยในการคัดเลือกลักษณะทางพันธุกรรมในลูกข้าวที่ 3 ที่เมล็ดมีกลิ่นหอมเหมือนพันธุ์แม่ (ภาพที่ 11) โดยคัดเลือกต้นข้าวในลูกข้าวที่ 3 จำนวน 150 ต้น พบว่าสามารถคัดเลือกได้ต้นข้าวที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนพันธุ์แม่จำนวน 38 ต้น



ภาพที่ 11 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ช่วยในการคัดเลือกลักษณะความหอมในลูกข้าวที่ 3 (หมายเลข 1 คือ พันธุ์แม่ ข้าวดอกมะลิ 105; หมายเลข 2 คือ พันธุ์พ่อ Qiqnizhan; หมายเลข 3–46 คือ ลูกข้าวที่ 3; A คือ ลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนพันธุ์แม่; B คือ ลักษณะทางพันธุกรรมที่เหมือนพันธุ์พ่อ; H คือ ลักษณะทางพันธุกรรมแบบเฮเทอโรไซกัส และ * คือ ลูกข้าวที่ 3 ที่ต้องการคัดเลือก)

การคัดเลือกทรงต้นในประชากรลูกข้าวที่ 3 และ 4

การคัดเลือกทรงต้นของข้าวในลูกข้าวที่ 3 คัดเลือกต้นที่มีลักษณะทรงต้นรูปแบบใหม่ด้วยสายตา โดยต้นข้าวต้องมีลำต้นที่ใหญ่และแข็งแรงไม่หักล้ม ใบธงมีขนาดใหญ่และสีเขียวเข้ม มีรวงขนาดใหญ่และมีจำนวนเมล็ดมาก มีจำนวนหน่อประมาณ 5-7 หน่อ และทุกหน่อสามารถให้รวงได้ ซึ่งจากต้นของลูกข้าวที่ 3 จำนวน 75 สายพันธุ์ สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีลักษณะตามต้องการได้จำนวน 11 สายพันธุ์ (ภาพผนวกที่ 2) เก็บเมล็ดของลูกข้าวที่ 3 ทั้ง 11 สายพันธุ์แล้วนำไปปลูกเป็นลูกข้าวที่ 4 ต่อไป ซึ่งในลูกข้าวที่ 4 คัดเลือกลักษณะทรงต้นเช่นเดียวกับในลูกข้าวที่ 3 โดยคัดเลือกสายพันธุ์ละ 5 ต้น จากจำนวนลูกข้าวที่ 4 ทั้งหมด 230 สายพันธุ์ สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีลักษณะทรงต้นตามที่ต้องการได้ 54 สายพันธุ์ เก็บข้อมูลผลผลิตองค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางการเกษตรของทั้ง 54 สายพันธุ์ (ตารางผนวกที่ 1) เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เปรียบเทียบที่ให้ผลผลิตสูงสุด ซึ่งสามารถคัดเลือกได้จำนวน 6 สายพันธุ์ และให้รหัสพันธุ์ ดังนี้ ATN0901-1-1-3 ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 และ ATN0901-227-1-1 (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 ทรงต้นของข้าวพันธุ์แม่ พ่อ และลูกชั่วที่ 4 ที่คัดเลือกทั้ง 6 สายพันธุ์ (ก) พันธุ์แม่ขาวดอกมะลิ105 (ข) พันธุ์พ่อ Qiqnizhan (ค) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 (ง) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 (จ) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-46-10-1 (ฉ) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-63-1-1 (ช) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-83-1-1 และ(ซ) ลูกชั่วที่ 4 สายพันธุ์ ATN0901-227-1-1

ผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางการเกษตร ของสายพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 4

จากการทดสอบผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางการเกษตร ของลูกชั่วที่ 4 ที่คัดเลือกไว้จำนวน 6 สายพันธุ์ ร่วมกับพันธุ์ Qiqnizhan ซึ่งใช้เป็นพันธุ์พ่อ และพันธุ์ เปรียบเทียบจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 ได้ผลดังนี้

ผลผลิต ลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตตั้งแต่ 19.69 ถึง 23.67 กรัมต่อต้น (ตารางที่ 9) โดยสายพันธุ์ ATN0901-227-1-1 ให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 23.67 กรัมต่อต้น ในขณะที่สายพันธุ์ ATN0901-46-10-1 ให้ผลผลิตต่ำสุดเท่ากับ 19.69 กรัมต่อต้น สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 และ ATN0901-63-1-1 ให้ผลผลิต 19.77 22.81 19.67 และ 23.20 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ส่วนในพันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 ให้ผลผลิต 14.45 10.53 9.55 และ 19.69 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ซึ่ง จะเห็นได้ว่า สายพันธุ์ที่คัดเลือกทั้ง 6 สายพันธุ์ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ชัยนาท1 ซึ่งเป็นพันธุ์ เปรียบเทียบที่ให้ผลผลิตสูงสุด (19.67 กรัมต่อต้น) และให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ Qiqnizhan ที่เป็น พันธุ์พ่อซึ่งให้ผลผลิต 14.45 กรัมต่อต้น

จำนวนเมล็ดต่อรวง ลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีจำนวนเมล็ดต่อรวงตั้งแต่ 200 ถึง 313 เมล็ดต่อรวง (ตารางที่ 9) สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ให้จำนวนเมล็ดต่อรวงสูงสุดเท่ากับ 313 เมล็ดต่อรวง ในขณะที่สายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 ให้จำนวนเมล็ดต่อรวงต่ำสุดเท่ากับ 200 เมล็ดต่อรวง สายพันธุ์ ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 และ ATN0901-227-1-1 ให้จำนวนเมล็ดต่อรวง 248 229 209 และ 225 เมล็ดต่อรวง ตามลำดับ ส่วนในพันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 ให้จำนวนเมล็ดต่อรวง 333 204 188 และ 173 เมล็ดต่อรวงตามลำดับ

เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด ลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดตั้งแต่ 70.00 ถึง 86.69 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9) โดยสายพันธุ์ ATN0901-46-10-1 มีเปอร์เซ็นต์การติด เมล็ดสูงสุดเท่ากับ 86.69 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 มีเปอร์เซ็นต์การติด เมล็ดต่ำสุดเท่ากับ 70.00 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 และ ATN0901-227-1-1 มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด 75.08 83.84 82.30 และ 85.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในพันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 มี เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด 55.56 75.00 65.43 และ 68.21 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดจะ มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับจำนวนดอกข้าว (spikelet) และความสามารถในการลำเลียงอาหารจาก แหล่งผลิตไปยังแหล่งรับอาหารของข้าวแต่ละพันธุ์ และสภาพแวดล้อมที่ทำให้เกิดสภาวะเครียด

เช่น ความแห้งแล้ง ความเค็ม อุณหภูมิที่ต่ำหรือสูงเกินไป และพลังงานความร้อนจากแสงอาทิตย์ สิ่งต่างๆ เหล่านี้จะเป็นสาเหตุที่ทำให้เมล็ดลีบมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นการหักล้มก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เมล็ดลีบเพิ่มมากขึ้นด้วย (Mackill *et al.*, 1996)

น้ำหนัก 1,000 เมล็ด ลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีน้ำหนัก 1,000 เมล็ดตั้งแต่ 21.39 ถึง 25.00 กรัม (ตารางที่ 9) โดยสายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 มีน้ำหนัก 1,000 เมล็ดสูงสุดเท่ากับ 25.00 กรัม ในขณะที่สายพันธุ์ ATN0901-46-10-1 มีน้ำหนัก 1,000 เมล็ดต่ำสุดเท่ากับ 21.39 กรัม สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 และ ATN0901-227-1-1 มีน้ำหนัก 1,000 เมล็ด 21.91 23.39 23.84 และ 22.26 ตามลำดับ ส่วนในพันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 มีน้ำหนัก 1,000 เมล็ด 17.51 25.03 27.64 และ 25.08 ตามลำดับ น้ำหนักเมล็ดเป็นลักษณะที่คงที่มากที่สุด และถูกควบคุมโดยลักษณะทางพันธุกรรม ข้าวพันธุ์ดีของไทยที่รัฐบาลส่งเสริมให้ปลูกมีน้ำหนัก 1,000 เมล็ดอยู่ระหว่าง 22.5–36.7 กรัม (เครือวัลย์, 2534) ซึ่งลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์มี 3 สายพันธุ์ที่มีน้ำหนักเมล็ดอยู่ในช่วงดังกล่าวคือ ATN0901-46-3-2 ATN0901-63-1-1 และ ATN0901-83-1-1 ที่มีน้ำหนัก 1,000 เมล็ด 25.00 23.39 และ 23.84 ตามลำดับ

ความสูงต้น ลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีความสูงตั้งแต่ 133.00 ถึง 180.00 เซนติเมตร (ตารางที่ 9) โดยสายพันธุ์ ATN0901-227-1-1 มีความสูงต้นสูงที่สุดเท่ากับ 180.00 เซนติเมตร ในขณะที่สายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 มีความสูงต้นน้อยที่สุดเท่ากับ 133.00 เซนติเมตร สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 และ ATN0901-83-1-1 มีความสูงต้น 142.00 133.50 150.00 และ 166.00 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนในพันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 มีความสูงต้น 153.00 135.00 145.00 และ 138.50 เซนติเมตร ตามลำดับ

ความยาวรวง ลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีความยาวรวงตั้งแต่ 18.00 ถึง 32.50 เซนติเมตร (ตารางที่ 9) โดยสายพันธุ์ ATN0901-227-1-1 มีความยาวรวงยาวที่สุดเท่ากับ 32.50 เซนติเมตร ในขณะที่สายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 มีความยาวรวงสั้นที่สุดเท่ากับ 18 เซนติเมตร ส่วนสายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 และ ATN0901-83-1-1 มีความยาวรวง 29.50 28.50 28.00 และ 27.00 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนในพันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 มีความยาวรวง 32.00 33.60 21.00 และ 27.20 ตามลำดับ

ตารางที่ 9 ผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางเกษตรของลูกข้าวที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่มีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์พันธุ์ แม่ พ่อ และพันธุ์
เปรียบเทียบจำนวน 3 พันธุ์

สายพันธุ์/พันธุ์	ความสูงต้น (ซม.)	ความยาวรวง (ซม.)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง	การติดเมล็ด (%)	จำนวนหน่อ ต่อต้น	จำนวนหน่อที่ ให้รวงต่อต้น (%)	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (กรัม)	ผลผลิต (กรัม/ตัน)
ATN0901-1-1-3	142.00	29.50	313	75.08	7	100	21.91	19.77
ATN0901-46-3-2	133.00	18.00	200	70.00	7	100	25.00	22.81
ATN0901-46-10-1	133.50	28.50	248	86.69	7	100	21.40	19.69
ATN0901-63-1-1	150.00	28.00	229	83.84	7	100	23.39	23.20
ATN0901- 83-1-1	166.00	27.00	209	82.30	7	100	23.84	20.45
ATN0901-227-1-2	180.00	32.50	255	85.10	6	100	22.26	23.67
ขาวดอกมะลิ105 *	-	-	-	-	-	-	-	-
Qiqnizhan	153.00	32.00	333	55.56	6	100	17.51	14.45
ปทุมธานี1	135.00	33.60	204	75.00	6	83	25.03	10.53
สุพรรณบุรี1	145.00	21.00	188	65.43	4	100	27.64	9.55
ชัยนาท1	138.50	27.20	173	68.21	10	70.0	25.08	19.67

* หมายเหตุ เนื่องจากฤดูที่ปลูก (ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง เดือนกรกฎาคม) เป็นช่วงที่มีช่วงแสงยาวกว่าช่วงแสงวิกฤตของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105
ดังนั้นจึงไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ได้ ทำให้ไม่มีข้อมูลของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105

จำนวนหน่อต่อต้น ลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ ให้จำนวนหน่อต่อต้นจำนวน 6 และ 7 หน่อต่อต้น (ตารางที่ 9) โดยสายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 และ ATN0901-83-1-1 ให้จำนวนหน่อต่อต้นเท่ากัน 7 หน่อต่อต้น และสายพันธุ์ ATN0901-227-1-1 ให้จำนวนหน่อต่อต้นจำนวน 6 หน่อต่อต้น ส่วนในพันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 ให้จำนวนหน่อต่อต้น 6 6 4 และ 10 หน่อต่อต้น ตามลำดับ การแตกกอของต้นข้าวเป็นลักษณะทางเกษตรที่สำคัญ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการให้ผลผลิตข้าว การแตกกอของข้าวที่เพิ่มขึ้นนอกจากจะทำให้จำนวนรวงต่อกอเพิ่มขึ้นแล้วยังส่งผลให้ผลผลิตข้าวเพิ่มมากขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามการแตกกอของข้าวที่มากเกินไปไม่ได้หมายความว่าให้ผลผลิตสูงเสมอไป ผลผลิตที่ได้ขึ้นอยู่กับต้นข้าวที่สามารถให้รวงได้รวงมีขนาดใหญ่และติดเมล็ดดี ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวมักจะคัดเลือกข้าวที่มีความสามารถในการแตกกอปานกลาง แต่ละหน่อสามารถให้รวงได้ รวงมีขนาดใหญ่ และมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดดี (Yang and Hwa, 2008)

จำนวนหน่อที่ให้รวงต่อต้น ลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์ของจำนวนหน่อที่ให้รวงต่อต้น 100 เปอร์เซ็นต์ทั้ง 6 สายพันธุ์ (ตารางที่ 9) กล่าวคือ ต้นของลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ ทุกหน่อสามารถให้รวงได้หมด เช่นเดียวกับพันธุ์ Qiqnizhan ที่ใช้เป็นพันธุ์พ่อ มีเปอร์เซ็นต์ของจำนวนหน่อที่ให้รวง 100 เปอร์เซ็นต์เช่นเดียวกัน ส่วนในพันธุ์ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 มีเปอร์เซ็นต์ของจำนวนหน่อที่ให้รวงต่อต้น 83 100 และ 70 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งลักษณะที่ทุกหน่อสามารถให้รวงได้หมดนั้นเป็นลักษณะสำคัญของข้าวทรงต้นรูปแบบใหม่ ซึ่งถือว่าเป็นลักษณะที่มีประสิทธิภาพในการทำให้ผลผลิตสูง แตกต่างจากข้าวที่มีการแตกกอมากแต่มีหน่อที่ให้รวงไม่ครบทุกหน่อ จึงทำให้ประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตลดลง (Peng *et al.*, 1994; Khush, 1995)

ผลผลิตที่เพิ่มขึ้นของลูกข้าวที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อ Qiqnizhan และพันธุ์เปรียบเทียบกับที่ให้ผลผลิตสูงสุด คือ พันธุ์ชัยนาท1 เป็นผลมาจากการที่ต้นข้าวมีความสูงต้น จำนวนเมล็ดต่อรวง เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด จำนวนหน่อต่อต้น และจำนวนหน่อที่ให้รวงต่อต้นเพิ่มขึ้น ซึ่งจากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficients) ระหว่างองค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางการเกษตรกับผลผลิตพบว่า ผลผลิตมีความสัมพันธ์ในทางบวกกับความสูงต้น จำนวนเมล็ดต่อรวง เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด จำนวนหน่อต่อต้น และจำนวนหน่อที่ให้รวงต่อต้น โดยมีค่าเท่ากับ 0.263 0.104 0.432 0.518 และ 0.612 ตามลำดับ (ตารางที่ 10) ลักษณะที่มีอิทธิพลต่อการเพิ่มผลผลิตมากที่สุด คือ ลักษณะจำนวนหน่อที่ให้รวงต่อต้น รองลงมาคือลักษณะจำนวนหน่อต่อต้น และเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด กล่าวคือถ้าลักษณะเหล่านี้เพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

ตารางที่ 10 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางการเกษตรบางอย่างของลูกข้าวที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์

	ความสูง ต้น	ความยาว รวง	จำนวนเมล็ดต่อ รวง	การติด เมล็ด	จำนวนหน่อ ต่อต้น	จำนวนหน่อที่ให้ รวง	น้ำหนัก เมล็ด	ผลผลิต
ความสูงต้น	1	0.344 ^{ns}	0.226 ^{ns}	0.345 ^{ns}	-0.318 ^{ns}	-0.147 ^{ns}	-0.248 ^{ns}	0.263 ^{ns}
ความยาวรวง		1	0.504*	0.538*	0.071**	-0.031 ^{ns}	-0.575*	-0.074 ^{ns}
จำนวนเมล็ดต่อรวง			1	0.765*	-0.134 ^{ns}	-0.133 ^{ns}	-0.886**	0.104 ^{ns}
การติดเมล็ด				1	0.057 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	-0.677**	0.432*
จำนวนหน่อต่อต้น					1	0.915**	-0.155 ^{ns}	0.518*
จำนวนหน่อที่ให้รวง						1	-0.11 ^{ns}	0.612**
น้ำหนักเมล็ด							1	-0.235 ^{ns}
ผลผลิต								1

หมายเหตุ * คือ มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

** คือ มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

และ^{ns} คือ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

อย่างไรก็ตาม สายพันธุ์ลูกชั่วที่ 4 ที่ให้ผลผลิตสูงที่สุดคือ ATN0901-277-1-2 นั้นมีจำนวนหน่อต่อต้นน้อยที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดน้อยกว่าสายพันธุ์ลูกชั่วที่ 4 บางสายพันธุ์ ซึ่งสาเหตุที่ทำให้สายพันธุ์ดังกล่าวให้ผลผลิตสูงที่สุดนั้นอาจเนื่องมาจากลักษณะดังกล่าวถูกชดเชยจากลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดที่เพิ่มขึ้น ซึ่งยืนยันได้จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางการเกษตรกับผลผลิตที่พบว่า ลักษณะจำนวนหน่อต่อต้นกับจำนวนเมล็ดต่อรวง และลักษณะเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดกับน้ำหนักเมล็ด มีความสัมพันธ์กันในทางลบโดยมีค่าเท่ากับ -0.134 และ -0.677 ตามลำดับ (ตารางที่ 10) แสดงให้เห็นว่าถ้าลักษณะหนึ่งเพิ่มขึ้นอีกลักษณะหนึ่งจะลดลงหรือ ถ้าลักษณะหนึ่งลดลงอีกลักษณะหนึ่งจะเพิ่มขึ้นนั่นเอง ดังนั้นในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มผลผลิตนั้นจะต้องพิจารณาลักษณะต่างๆ ประกอบกันในการคัดเลือก

คุณภาพทางกายภาพของเมล็ดข้าวลูกชั่วที่ 4

จากการตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพของเมล็ดข้าวสายพันธุ์ลูกชั่วที่ 4 ที่คัดเลือกไว้จำนวน 6 สายพันธุ์ ร่วมกับพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ Qiqnizhan ซึ่งใช้เป็นพันธุ์แม่และพ่อ และพันธุ์เปรียบเทียบจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ ปทุมธานี 1 สุพรรณบุรี 1 และชัยนาท 1 ได้ผลการทดลองดังนี้

ความยาวของเมล็ดข้าวกล้อง สายพันธุ์ลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีความยาวเมล็ดตั้งแต่ 7.35 ถึง 7.83 มิลลิเมตร (ตารางที่ 11) โดยสายพันธุ์ ATN0901-83-1-1 มีความยาวเมล็ดมากที่สุดเท่ากับ 7.83 มิลลิเมตร ในขณะที่สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 มีความยาวเมล็ดน้อยที่สุดเท่ากับ 7.35 มิลลิเมตร จากการวัดความยาวเมล็ดทำให้สามารถจำแนกข้าวตามความยาวเมล็ดได้ ดังนี้ ขนาดเมล็ดยาว (6.61-7.50 มิลลิเมตร) ได้แก่ สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ATN0901-46-3-2 ได้แก่ และข้าวที่มีขนาดเมล็ดยาวมาก (ยาวกว่า 7.50 มิลลิเมตร) ได้แก่ สายพันธุ์ ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 และ ATN0901-227-1-2 ส่วนในพันธุ์พ่อ Qiqnizhan มีขนาดเมล็ดยาว พันธุ์แม่ ข้าวดอกมะลิ 105 และพันธุ์เปรียบเทียบ ปทุมธานี 1 สุพรรณบุรี 1 และชัยนาท 1 มีขนาดเมล็ดยาวมาก ซึ่งข้าวที่มีเมล็ดมาตรฐานดีต้องมีความยาวเฉลี่ยมากกว่า 7.0 มิลลิเมตร (งามชื่น, 2547) สายพันธุ์ลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์นั้นมีความยาวเมล็ดเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ดีตรงตามมาตรฐาน ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อคุณภาพนักปรับปรุงพันธุ์ควรทราบว่าผู้ผลิตและผู้บริโภคในพื้นที่เป้าหมายต้องการเมล็ดข้าวที่มีความยาวขนาดใดเพื่อจะได้ปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้เมล็ดมีความยาวตรงตามความต้องการของผู้ผลิตและผู้บริโภคในพื้นที่นั้นๆ สำหรับเกษตรกรผู้ปลูกข้าวส่วนใหญ่ในเอเชียนิยมปลูกข้าวที่มีเมล็ดยาวปานกลางถึง

ยาวและมีเพียงประเทศไทยเท่านั้นที่นิยมบริโภคข้าวที่เมล็ดมีความยาวมาก (Mackill *et al.*, 1996)

รูปร่างเมล็ด จากการวัดความยาวและความกว้างเมล็ดข้าวกล้องของสายพันธุ์ลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่ามีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของเมล็ดตั้งแต่ 3.99 ถึง 4.40 (ตารางที่ 11) โดยสายพันธุ์ ATN0901-83-1-1 มีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของเมล็ดสูงสุด เท่ากับ 4.40 ในขณะที่ สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 มีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของเมล็ดต่ำสุด เท่ากับ 3.99 ส่วนสายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 และ ATN0901-227-1-2 มีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของเมล็ดเฉลี่ย ดังนี้ 4.22 4.22 4.11 และ 4.30 ตามลำดับ และในพันธุ์แม่ ข้าวดอกมะลิ105 พันธุ์พ่อ Qiqnizhan และพันธุ์ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 มีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างเมล็ดเฉลี่ย 4.25 4.07 4.59 และ 4.42 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ รวมถึงพันธุ์แม่พันธุ์พ่อ และพันธุ์เปรียบเทียบกับทั้ง 3 พันธุ์ มีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างเมล็ดเฉลี่ย มากกว่า 3.0 ซึ่งจัดว่าเมล็ดมีรูปร่างเรียวยาว (IRRI, 1988)

ลักษณะท้องไข สายพันธุ์ลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์มีค่าท้องไข ตั้งแต่ 0.2 ถึง 1.1 (ตารางที่ 11) โดยสายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 มีค่าท้องไขสูงสุด เท่ากับ 1.1 ในขณะที่สายพันธุ์ ATN0901-227-1-2 มีค่าท้องไขต่ำสุด เท่ากับ 0.2 ส่วนสายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 และ ATN0901-83-1-1 มีค่าท้องไข เท่ากับ 0.5 0.3 0.6 และ 0.5 ตามลำดับ ข้าวที่มีคุณภาพดีควรมีค่าท้องไขไม่เกิน 0.5 ซึ่งสายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 (ค่าท้องไข 0.2) ATN0901-46-3-2 (ค่าท้องไข 0.4) และ ATN0901-63-1-1 (ค่าท้องไข 0.5) มีค่าท้องไขไม่เกิน 0.5 ถือว่าเป็นข้าวที่มีค่าท้องไขอยู่ในมาตรฐานของข้าวที่มีคุณภาพดี ลักษณะท้องไขถึงแม้จะไม่มีผลต่อคุณภาพการหุงต้มหรือรับประทานแต่มีผลต่อราคา เมล็ดข้าวที่ใสหรือมีท้องไขน้อยเมื่อนำไปสีจะได้ข้าวเต็มเมล็ดหรือตันข้าวมากส่วนข้าวหักจะน้อย จึงขายได้ราคาดี (เครือวัลย์, 2534) ลักษณะท้องไขในเมล็ดข้าวเกิดจากการจับตัวกันอย่างหลวมๆ ของเมล็ดแบ่งกับโปรตีนในส่วนที่เป็นแบ่งของเมล็ด (endosperm) มีลักษณะขาวขุ่น ลักษณะท้องไขเป็นลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยพันธุกรรมแต่สภาพแวดล้อมก็มีผลต่อลักษณะนี้ด้วยเช่นกัน ลักษณะท้องไขสามารถประเมินและคัดทิ้งได้ตั้งแต่เมล็ดที่ได้จากต้นลูกชั่วที่ 2 (Mackill *et al.*, 1996)

ตารางที่ 11 คุณภาพทางกายภาพของเมล็ดของลูกข้าวที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์ที่มีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เปรียบเทียบกับชนาท1 พันธุ์ แม่ พ่อ และพันธุ์เปรียบเทียบกับจำนวน 3 พันธุ์

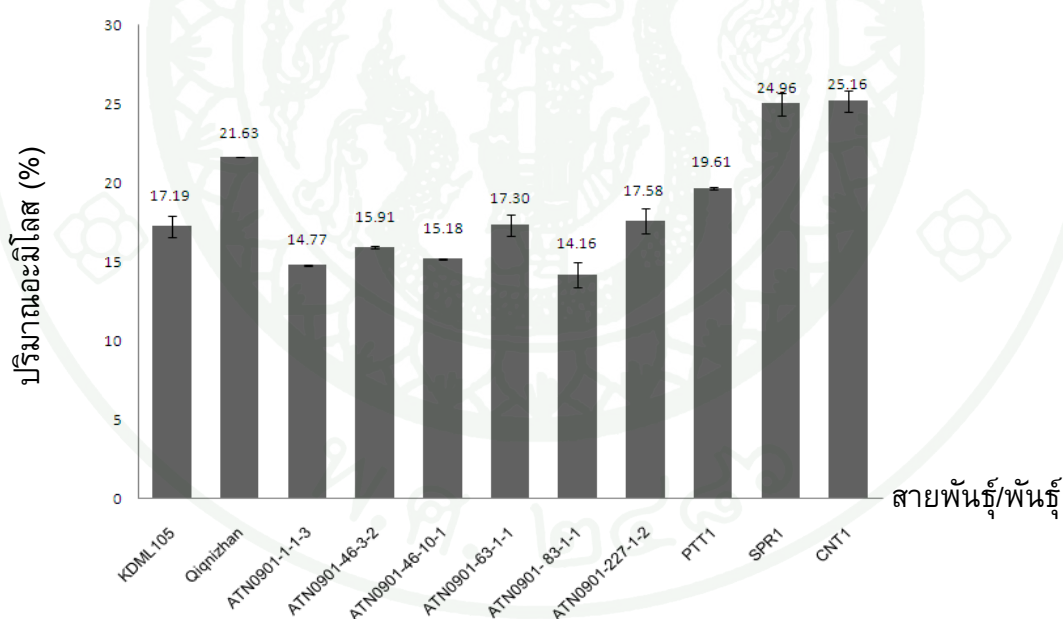
สายพันธุ์/พันธุ์	ความยาว	ความกว้าง	อัตราส่วน	รูปร่างเมล็ด	ค่าห้องไข
	เมล็ด (มม.)	เมล็ด (มม.)	ความยาว ต่อความกว้าง เมล็ด		
ATN0901-1-1-3	7.35	1.84	3.99	เรียวยาว	1.1
ATN0901-46-3-2	7.43	1.76	4.22	เรียวยาว	0.5
ATN0901-46-10-1	7.56	1.79	4.22	เรียวยาว	0.3
ATN0901-63-1-1	7.56	1.84	4.11	เรียวยาว	0.6
ATN0901- 83-1-1	7.83	1.78	4.40	เรียวยาว	0.5
ATN0901-227-1-2	7.63	1.77	4.31	เรียวยาว	0.2
ขาวดอกมะลิ105	8.03	1.89	4.25	เรียวยาว	0.2
Qiqnizhan	7.29	1.79	4.07	เรียวยาว	0.4
ปทุมธานี1	8.58	1.89	4.54	เรียวยาว	0.7
สุพรรณบุรี1	8.45	1.84	4.59	เรียวยาว	0.5
ชัยนาท1	8.35	1.89	4.42	เรียวยาว	1.2

คุณภาพการหุงต้มและรับประทานของเมล็ดข้าวลูกข้าวที่ 4

จากการตรวจสอบคุณภาพการหุงต้มและรับประทานของเมล็ดข้าวลูกข้าวที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์ ร่วมกับพันธุ์แม่ ขาวดอกมะลิ105 และพันธุ์พ่อ Qiqnizhan และพันธุ์เปรียบเทียบกับจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 ได้ผลการทดลองดังนี้

ปริมาณอะมิโลส สายพันธุ์ลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีปริมาณอะมิโลสตั้งแต่ 14.6 ถึง 17.58 เปอร์เซนต์ (ภาพที่ 13) โดยสายพันธุ์ ATN0901-227-1-2 มีปริมาณอะมิโลสสูงสุด เท่ากับ 17.58 เปอร์เซนต์ ในขณะที่สายพันธุ์ ATN0901-83-1-1 มีปริมาณอะมิโลสต่ำสุด เท่ากับ 14.16 เปอร์เซนต์ ส่วนสายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 และ ATN0901-63-1-1 มีปริมาณอะมิโลส 14.77 15.91 15.18 และ17.30 เปอร์เซนต์ตามลำดับ และพันธุ์แม่ ขาวดอกมะลิ105 พันธุ์พ่อ Qiqnizhan และพันธุ์เปรียบเทียบกับ ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1

และชั้นนาท1 มีปริมาณอะมิโลส 17.19 21.63 19.61 24.96 และ 25.16 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ จากค่าปริมาณอะมิโลสทำให้สามารถจำแนก สายพันธุ์/พันธุ์ ตามปริมาณอะมิโลสได้ 3 กลุ่ม (ตารางที่ 12) ได้แก่ 1) กลุ่มข้าวอะมิโลสต่ำ มีจำนวน 8 สายพันธุ์/พันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 ATN0901-227-1-2 พันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และปทุมธานี1 2) กลุ่มข้าวอะมิโลสปานกลาง มีจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Qiqnizhan และสุพรรณบุรี1 และ 3) กลุ่มข้าวอะมิโลสสูง มีจำนวน 1 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ชัยนาท1 ปริมาณอะมิโลสมีผลโดยตรงต่อความเหนียวนุ่มของข้าวสุก โดยปกติเมล็ดข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสสูงเมื่อหุงเป็นข้าวสุกจะมีความเหนียวนุ่มน้อยลงหรือข้าวสุกจะมีความร่วนมากขึ้น ส่วนข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำนั้นเมื่อหุงเป็นข้าวสุกแล้วจะมีความเหนียวนุ่มมากกว่าข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสสูงและปานกลางเนื่องจากคุณสมบัติของอะมิโลสเมื่อต้มให้สุกแล้วจะมีการคั่นตัวเปลี่ยนแปลงจากสภาพละลายน้ำได้ไปเป็นของแข็ง ดังนั้นข้าวที่มีอะมิโลสสูงจะมีคุณสมบัติการคั่นตัวได้มากกว่าข้าวที่มีอะมิโลสต่ำ ดังนั้นข้าวที่มีอะมิโลสสูงเมื่อหุงสุกแล้วจะร่วนและแข็ง ซึ่งต่างจากข้าวที่มีอะมิโลสต่ำเมื่อหุงสุกแล้วจะนุ่มและเหนียว (งามชื่น, 2531)



หมายเหตุ I แสดงค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ภาพที่ 13 เปอร์เซนต์อะมิโลสของลูกข้าวที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่มีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์แม่ พ่อ และพันธุ์เปรียบเทียบจำนวน 3 พันธุ์

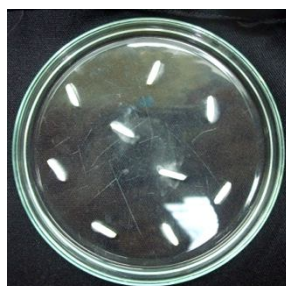
ค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่าง ลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างอยู่ที่ระดับ 4 ถึง 6 (ตารางที่ 12) โดยสายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 มีค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างสูงสุดอยู่ที่ระดับ 6 ในขณะที่ สายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 และ ATN0901-83-1-1 มีค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างต่ำสุดอยู่ที่ระดับ 4 ส่วนสายพันธุ์ ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 และ ATN0901-227-1-2 มีค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างอยู่ที่ระดับ 5 และในพันธุ์แม่ ขาวดอกมะลิ105 พันธุ์พ่อ Qiqnizhan พันธุ์ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 มีค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างที่ระดับ 6 5 5 5 และ 2 ตามลำดับ จากค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่าง ทำให้สามารถจำแนกสายพันธุ์/พันธุ์ข้าว ได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 มีค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างอยู่ในช่วง 1-3 มีจำนวน 1 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ชัยนาท1 (ภาพที่ 14 ก) กลุ่มที่ 2 มีค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างอยู่ในช่วง 4-5 มีจำนวน 8 สายพันธุ์/พันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 ATN0901-227-1-2 พันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 และ สุพรรณบุรี1 (ภาพที่ 14 ข) และ กลุ่มที่ 3 มีค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างอยู่ในช่วง 6-7 จำนวน 2 สายพันธุ์/พันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 และ พันธุ์ขาวดอกมะลิ105 (ภาพที่ 14 ค) ซึ่งค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างนั้นสามารถนำไปประเมินลักษณะอุณหภูมิแบ่งสุกได้ โดยจะจำแนกประเภทข้าวตามอุณหภูมิแบ่งสุกออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 ค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างระดับ 1-3 หมายถึงอุณหภูมิแบ่งสุกสูง (อุณหภูมิมากกว่า 74 องศาเซลเซียส) กลุ่มที่ 2 ค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างระดับ 4-5 หมายถึงอุณหภูมิแบ่งสุกปานกลาง (อุณหภูมิ 70 ถึง 74 องศาเซลเซียส) และกลุ่มที่ 3 ค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างระดับ 6-7 หมายถึงอุณหภูมิแบ่งสุกต่ำ (อุณหภูมิน้อยกว่า 70 องศาเซลเซียส) (Bernetti *et al.*, 1990)

อุณหภูมิแบ่งสุก จากการประเมินอุณหภูมิแบ่งสุกโดยอาศัยค่าการสลายเมล็ดข้าวสารในต่างนั้น สามารถจำแนกลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้เป็น 2 ประเภทคือ ข้าวที่มีอุณหภูมิแบ่งสุกปานกลาง และต่ำ โดยสายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 และ ATN0901-227-1-2 มีอุณหภูมิแบ่งสุกปานกลาง (ตารางที่ 12) ในขณะที่สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 มีอุณหภูมิแบ่งสุกต่ำ ส่วนในพันธุ์แม่ พันธุ์พ่อ และพันธุ์เปรียบเทียบบสามารถจำแนกออกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ข้าวที่มีอุณหภูมิแบ่งสุกสูง ปานกลาง และต่ำ ซึ่งพันธุ์ชัยนาท1 มีอุณหภูมิแบ่งสุกสูง พันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 และสุพรรณบุรี1 มีอุณหภูมิแบ่งสุกปานกลาง และพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 มีอุณหภูมิแบ่งสุกต่ำ อุณหภูมิแบ่งสุกมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาหุงต้ม กล่าวคือ ถ้าข้าวมีอุณหภูมิแบ่งสุกสูงจะต้องการระยะเวลาในการหุงต้มนานกว่าข้าวที่มีอุณหภูมิแบ่งสุกต่ำ โดยทั่วไปการหุงข้าวให้สุกจะใช้เวลา 13-24 นาทีหรือมากกว่า ข้าวที่มีอุณหภูมิแบ่งสุกสูง ปานกลาง และต่ำจะใช้ระยะเวลาให้การหุงต้มต่างกันคือ มากกว่า 24 นาที 16 ถึง 24 นาที และ 12 ถึง 16 นาที ตามลำดับ (งามชื่น, 2531)

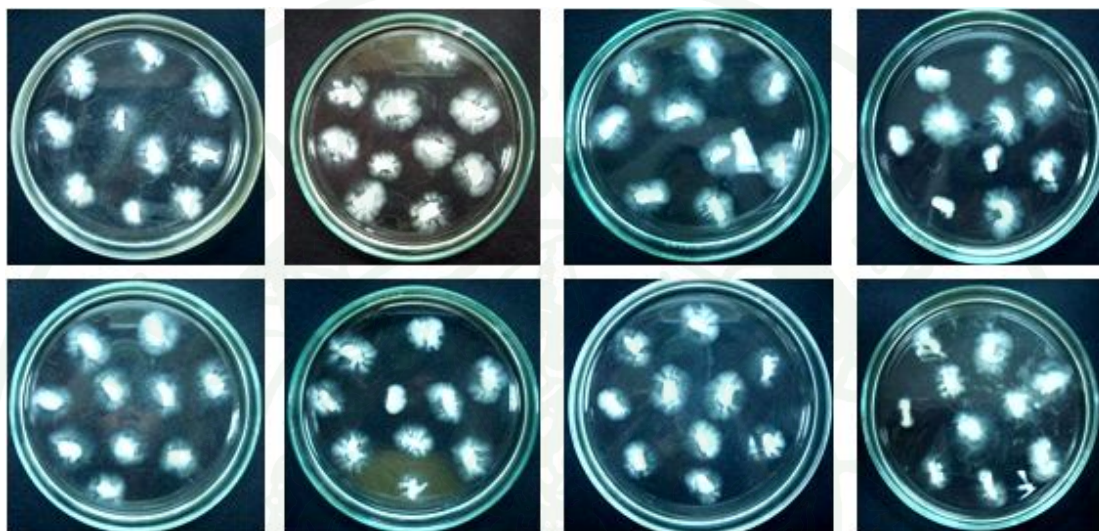
ความหอม ลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 และ ATN0901-227-1-2 นั้นเมล็ดมีกลิ่นหอมเหมือนพันธุ์แม่ข้าวดอกมะลิ105 และพันธุ์เปรียบเทียบ ปทุมธานี1 ส่วนในพันธุ์พ่อ Qiqnizhan พันธุ์สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 เมล็ดไม่มีกลิ่นหอม (ตารางที่ 12) ความหอมของข้าวจะมากหรือน้อยแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปริมาณของสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ในเมล็ด ซึ่งนอกจากในเมล็ดข้าวแล้วส่วนอื่นๆ เช่น ลำต้น หรือใบข้าว ก็มีสารหอมประเภทนี้อยู่ด้วย ดังนั้นคุณสมบัติพิเศษของข้าวหอม คือ มีกลิ่นหอมตั้งแต่ในระยะที่เป็นต้นกล้า ระยะแตกกอ ระยะออกรวง และเมล็ดที่สุกแก่ ตลอดจนเมื่อนำไปหุงต้มเพื่อบริโภค ความหอมเป็นลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยพันธุกรรม ร่วมกับสภาพแวดล้อมซึ่งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อความหอมของข้าว แต่ผลของสภาพแวดล้อมจะมีอิทธิพลเพียงเล็กน้อยต่อลักษณะความหอมของเมล็ดข้าวเท่านั้น (วาสนา, 2538)

ตารางที่ 12 คุณภาพการหุงต้มและรับประทานของเมล็ดข้าวลูกข้าวที่ 4 จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่มีผลผลิตสูงกว่าชัยนาท1 พันธุ์พ่อ และพันธุ์เปรียบเทียบจำนวน 3 พันธุ์

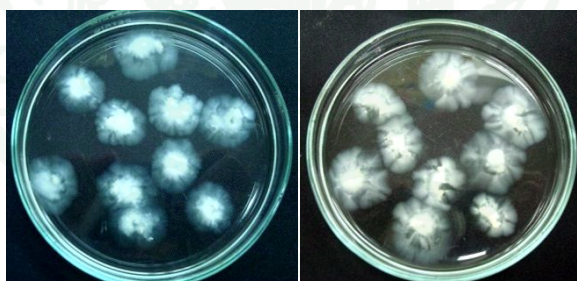
สายพันธุ์/พันธุ์	ปริมาณอะมิโลส	ค่าการสลายเมล็ดในด่าง	อุณหภูมิแป้งสุก	ความหอม
ATN0901-1-1-3	ต่ำ	6	ต่ำ	หอม
ATN0901-46-3-2	ต่ำ	4	ปานกลาง	หอม
ATN0901-46-10-1	ต่ำ	5	ปานกลาง	หอม
ATN0901-63-1-1	ต่ำ	5	ปานกลาง	หอม
ATN0901- 83-1-1	ต่ำ	4	ปานกลาง	หอม
ATN0901-227-1-2	ต่ำ	5	ปานกลาง	หอม
ข้าวดอกมะลิ105	ต่ำ	6	ต่ำ	หอม
Qiqnizhan	ปานกลาง	5	ปานกลาง	หอม
ปทุมธานี1	ต่ำ	5	ปานกลาง	หอม
สุพรรณบุรี1	ปานกลาง	5	ปานกลาง	ไม่หอม
ชัยนาท1	สูง	2	สูง	ไม่หอม



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 14 การสลายเมล็ดข้าวสารในต่างของลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ พันธุ์แม่ พันธุ์พ่อ และ พันธุ์เปรียบเทียบ 3 พันธุ์ (ก) พันธุ์ชัยนาท1 (ข) สายพันธุ์ ATN0901-46-3-2 ATN0901-46-10-1 ATN0901-63-1-1 ATN0901-83-1-1 ATN0901-227-1-2 พันธุ์ Qiqnizhan ปทุมธานี1 และ สุพรรณบุรี1 และ (ค) สายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 และ พันธุ์ขาวดอกมะลิ

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพโดยวิธีการคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ ร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพ ทำโดยการผสมข้ามระหว่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ซึ่งเป็นข้าวที่มีคุณภาพเมล็ดทางกายภาพ และคุณภาพการหุงต้มและรับประทานดี กับพันธุ์ Qiqnizhan ซึ่งเป็นข้าวที่มีทรงตันรูปแบบใหม่ มีลักษณะที่สำคัญคือ แดก กอแน่น แต่ทุกหน่อสามารถให้รวงได้ ลำต้นแข็งแรงไม่หักล้มง่าย มีรวงขนาดใหญ่และมีเมล็ดจำนวนมาก เป็นต้น ซึ่งเป็นทรงตันที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง ผสมข้ามพันธุ์โดยใช้พันธุ์ขาวดอกมะลิ105 เป็นพันธุ์แม่ และพันธุ์ Qiqnizhan เป็นพันธุ์พ่อ หลังจากผสมข้ามพันธุ์และได้ลูกผสมชั่วที่ 1 แล้วปลูกลูกผสมชั่วที่ 1 ในกระถาง ปล่อยให้ผสมตัวเอง และปลูกลูกชั่วที่ 2 โดยวิธีการปลูกแบบเร่งชั่วอายุในถาดหลุม เพื่อคัดเลือกลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง ซึ่งการปลูกแบบเร่งชั่วอายุในถาดหลุมเป็นการจัดระยะปลูกให้ชิดกันเพื่อลดระยะการเจริญเติบโตในระยะแรกๆ ของข้าว การปลูกโดยวิธีนี้สามารถลดระยะเวลาการเจริญเติบโตของข้าวให้สั้นลง เพื่อเป็นการเร่งรอบของการคัดเลือกให้เร็วขึ้น หลังจากคัดเลือกได้ต้นของลูกชั่วที่ 2 ที่มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงแล้ว นำเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 และ OSR19 มาช่วยในการคัดเลือกต้นข้าวของลูกชั่วที่ 2 ที่มีลักษณะเมล็ดมีกลิ่นหอม และปริมาณอะมิโลสต่ำตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 2) หลังจากนั้นปลูกลูกชั่วที่ 3 และคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 อีกครั้ง (ตารางผนวกที่ 3) ในขณะที่ต้นข้าวยังเป็นต้นกล้า เมื่อได้ต้นที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ต้องการแล้ว ย้ายปลูกลูกชั่วที่ 3 ที่คัดเลือกได้จำนวน 11 สายพันธุ์ ในแปลงทดลอง เพื่อคัดเลือกลักษณะทรงตัน โดยเลือกต้นที่มีลักษณะทรงตันรูปแบบใหม่ เมื่อคัดเลือกได้ต้นที่มีทรงตันที่ต้องการแล้ว ปลูกลูกชั่วที่ 4 ในแปลงทดลองร่วมกับพันธุ์พ่อ Qiqnizhan และพันธุ์เปรียบเทียบ 3 พันธุ์ได้แก่ พันธุ์ปทุมธานี1 สุพรรณบุรี1 และชัยนาท1 เก็บเกี่ยวสายพันธุ์ละ 5 ต้น เพื่อเก็บข้อมูลลักษณะทางการเกษตร คัดเลือกต้นที่มีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เปรียบเทียบที่มีผลผลิตสูงที่สุดคือพันธุ์ชัยนาท1 ได้ลูกชั่วที่ 4 ที่มีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ชัยนาท1 จำนวน 6 สายพันธุ์ (ตารางที่ 13) ซึ่งวิธีการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากเมื่อประเมินคุณภาพการหุงต้มและรับประทานของเมล็ดลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้พบว่า ลูกชั่วที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีปริมาณอะมิโลสต่ำ และเมล็ดมีกลิ่นหอม ดังนั้นการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 และ OSR19 จึงมีความแม่นยำในการคัดเลือก และการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการในชั่วแรกๆ ยังเป็นการลดระยะเวลาในการดำเนินการ เนื่องจากสามารถคัดเลือกได้ในระยะต้นกล้า และยังเป็นการลดจำนวนต้นที่ต้องปลูกลงไปเนื่องจากการคัดเลือกต้นที่ไม่ต้องการทิ้งไปก่อน

ตารางที่ 13 ขั้นตอนและวิธีการที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะต่างๆ ในลูกข้าวต่างๆ ของการปรับปรุงพันธุ์แบบบันทึกประวัติร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือก

ลักษณะ		ช่วงที่	วิธีการคัดเลือก	จำนวนต้น/ สายพันธุ์ ที่ปลูก	จำนวนต้น/ สายพันธุ์ ที่คัดเลือก	หมายเหตุ
ฟีโนไทป์	จีโนไทป์	คัดเลือก				
ไม่ไวต่อ ช่วงแสง		ช่วงที่ 2	ปลูกแบบเร่งข้าวอายุ ในช่วงวันยาว และคัดเลือกด้วยสายตา	1,012	228	
	เมล็ดมี กลิ่นหอม	ช่วงที่ 2	เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1	220	118	<i>badh2/badh2</i> (22) : <i>badh2/BADH2</i> (96) : <i>BADH2/BADH2</i> (102)
	อะมิโลส ต่ำ	ช่วงที่ 2	เครื่องหมายดีเอ็นเอ OSR19	118	20	<i>badh2/badh2/wx/wx</i> (4 ต้น นำไปปลูกในช่วงที่ 3 ได้ 37 สายพันธุ์) <i>badh2/BADH2/wx/wx</i> (16 ต้น นำไปปลูกในช่วงที่ 3 ได้ 150 สายพันธุ์)
	เมล็ดมี กลิ่นหอม	ช่วงที่ 3	เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1	150	38	
ทรงต้น รูปแบบใหม่		ช่วงที่ 3	คัดเลือกด้วยสายตา	75	11	
ทรงต้น รูปแบบใหม่		ช่วงที่ 4	คัดเลือกด้วยสายตา	230	54	
ผลผลิตสูง		ช่วงที่ 4	บันทึกข้อมูล ลักษณะทางการเกษตร	54	6	สายพันธุ์ที่คัดเลือก 6 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เปรียบเทียบ ที่ให้ผลผลิตสูงสุด (พันธุ์ชัยนาท1)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. จากการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวจากคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และพันธุ์ Qiqnizhan โดยวิธีการคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ สามารถคัดเลือกลูกข้าวที่ 4 ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงได้จำนวน 6 สายพันธุ์ ซึ่งให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เปรียบเทียบชั้นนาท1 ที่เป็นพันธุ์เปรียบเทียบที่ให้ผลผลิตสูงสุด ซึ่งศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงของลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ เป็นผลเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนหน่อที่ให้รวงต่อต้น จำนวนหน่อต่อต้น และเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด

2. จากการประเมินคุณภาพภาพเมล็ดของลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่า มีคุณภาพเมล็ดทางกายภาพดี กล่าวคือ มีเมล็ดยาวอยู่ในเกณฑ์ดีตรงตามมาตรฐาน รูปร่างเมล็ดเรียวยาว ท้องไข่น้อย แต่มี 2 สายพันธุ์ ที่มีค่าท้องไข่มากกว่า 0.5 ได้แก่ ATN0901-1-1-3 และ ATN0901-63-1-1 และเมื่อประเมินคุณภาพการหุงต้มและรับประทานของเมล็ดลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ลูกข้าวที่ 4 ทั้ง 6 สายพันธุ์ มีคุณภาพการหุงต้มและรับประทานดี กล่าวคือ มีปริมาณอะมิโลสต่ำ โดยมีเปอร์เซ็นต์อะมิโลสอยู่ระหว่าง 10 ถึง 19 เปอร์เซ็นต์ อุดหนุนมีแป้งสุกต่ำถึงปานกลาง โดยสายพันธุ์ ATN0901-1-1-3 มีอุดหนุนมีแป้งสุกต่ำ และอีก 5 สายพันธุ์มีอุดหนุนมีแป้งสุกปานกลาง และทั้ง 6 สายพันธุ์นั้นเมล็ดมีกลิ่นหอม

3. เครื่องหมายดีเอ็นเอแบบที่จำแนกส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของยีนโดยตรงที่พัฒนาขึ้นมีความเฉพาะเจาะจงกับการทำหน้าที่ของยีนความหอมในข้าว ซึ่งมีความแม่นยำสูง และสามารถใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกลักษณะกลิ่นหอมของเมล็ดในข้าวได้

4. การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 และ OSR19 ช่วยในการคัดเลือกลักษณะปริมาณอะมิโลสต่ำและเมล็ดมีกลิ่นหอม สามารถคัดเลือกได้ต้นที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำและเมล็ดมีกลิ่นหอมอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งต้นที่คัดเลือกได้เมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลส และกลิ่นหอมของเมล็ดด้วยวิธีการทางเคมี พบว่าต้นที่คัดเลือกได้มีปริมาณอะมิโลสต่ำและเมล็ดมีกลิ่นหอม

5. การคัดเลือกลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงซึ่งเป็นลักษณะที่ประเมินได้ง่ายเมื่อปลูกข้าวสายพันธุ์ทดสอบในช่วงเวลาที่มีช่วงแสงยาว (ฤดูร้อน) และสามารถคัดเลือกต้นที่มีพันธุกรรมไม่ไวต่อช่วงแสงได้ ส่วนลักษณะทรงต้นนั้นการคัดเลือกด้วยสายตาถึงแม้จะมีผลจาก

สภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องแต่ด้วยข้อจำกัดของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่จะมาช่วยในการคัดเลือกที่ยังไม่มีนั้น การคัดเลือกก็สามารถดำเนินการได้โดยการเปรียบเทียบกับพันธุ์แม่ พันธุ์พ่อ หรือพันธุ์เปรียบเทียบที่ใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ลูกชั่วที่ 4 ที่ได้ควรนำไปปลูกทดสอบในแปลงทดลองขนาดใหญ่ เพื่อประเมินการแสดงออกของสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ สำหรับนำไปพัฒนาต่อให้เป็นสายพันธุ์แท้
2. ลูกชั่วที่ 4 บางสายพันธุ์ เมื่อนำไปปลูกในสภาพแปลงทดลอง พบว่าแสดงอาการอ่อนแอต่อเชื้อราและโรคโคนเน่า ทำให้ได้ผลผลิตต่ำ และบางสายพันธุ์ไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ เนื่องจากข้าวพันธุ์ Qiqnizhan ที่ใช้เป็นพันธุ์พ่อเป็นพันธุ์จากประเทศจีน อาจไม่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของประเทศไทยได้ ดังนั้นจึงควรมีการปรับปรุงลักษณะความต้านทานต่อโรคและแมลงเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคและแมลง หรือเลือกพันธุ์ที่จะนำมาใช้เป็นพันธุ์แม่ และพันธุ์พ่อ ที่สามารถปรับตัวกับสภาพแวดล้อม และต้านทานต่อโรคและแมลงในประเทศไทยได้
3. การคัดเลือกหลายลักษณะควรใช้ประชากรเริ่มต้นสำหรับการคัดเลือกจำนวนมาก เพื่อให้เพียงพอกับการคัดเลือกในหลายๆ ลักษณะพร้อมกัน เพื่อให้ได้ต้นที่มีลักษณะตรงตามความต้องการจำนวนมาก

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2542. การปลูกข้าวขาวดอกมะลิ105. พิมพ์ครั้งที่ 5. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2543. ข้าวพันธุ์ดี. กลุ่มข้าว กองส่งเสริมพืชไร่และกองเกษตรสัมพันธ์, กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

กรมอุตุนิยมวิทยา. 2553. อุตุนิยมวิทยาเพื่อการเกษตร. กรมอุตุนิยมวิทยา กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร, กรุงเทพฯ.

เครือวัลย์ อัดตะวิริยะสุข. 2534. คุณภาพเมล็ดข้าวทางกายภาพและการแปรสภาพเมล็ด. ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

งามชื่น คงเสรี. 2531. คุณภาพการหุงต้มและรับประทานและปัจจัยที่เกี่ยวข้อง, น. 94-105. ใน การปรับปรุงคุณภาพข้าวสำหรับผู้ดำเนินธุรกิจโรงสี. สถาบันวิจัยข้าว, กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

_____. 2539. คุณภาพข้าวสารและข้าวสุก, น. 233. ใน เอกสารประกอบการบรรยาย สัมมนาเรื่องข้าวกับคน. 24 สิงหาคม 2539. โดยสมาคมโรงสีข้าวไทย. โรงแรมริเจนท์ ชะอำ เพชรบุรี.

_____. 2547. คุณภาพข้าวสวย, น.41-61. ใน คุณภาพและการตรวจสอบข้าวหอมมะลิไทย. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

จริยา ชมวารินทร์, ชาญวิทย์ สีสาววัฒน์ และเต็มดวง ลิ้มไพบูรณ์. 2540. **PCR Technology and Application.** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

จรัส โปร่งศิริวัฒนา. 2534. ความรู้เรื่องข้าว. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ทวี คุปต์กาญจนากุล. 2541. ความรู้เรื่องข้าวและเทคโนโลยีการผลิตข้าว, น. 1-13. ใน เอกสาร
ประกอบการบรรยายหลักสูตร เทคโนโลยีการผลิตข้าวหอมมะลิคุณภาพดี.

กรมวิชาการเกษตรและกรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

นงเยาว์ แก้ววิเศษ. 2553. การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพจาก
ผสม ระหว่างข้าว **Tropical Japonica** และ **Indica**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประกาศ วีระแพทย์. 2520. ลักษณะของข้าวที่สำคัญทางการเกษตร. **สารานุกรมไทยสำหรับ
เยาวชน**, เล่มที่ 3: 16-21. สำนักพิมพ์สำนักงานกลาง หอรัษฎากรพิพัฒน์
ในพระบรมมหาราชวัง กรุงเทพฯ.

ประสutti สิทธิสรวง. 2524. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับข้าว (สรุวิทยาของข้าวจากภาพ). กอง
การข้าวกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

เรวัต เลิศฤทัยโยธิน. 2541. ข้าว, น. 5 – 11. ใน **พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ**.
ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 220 น.

วรวิทย์ พาณิชย์พัฒน์, สุเทพ ลิ้มทองกุล และ สุเทพ นุชสวาท. 2529. ความรู้เรื่องข้าว,
น. 49-84. ใน **การทำนาห้ฝน**. ปรับปรุงและจัดพิมพ์ครั้งที่ 7. ฝ่ายฝึกอบรม
สถาบันวิจัยข้าว, กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

วราภรณ์ แสงทอง, สุภาภรณ์ ทิพย์พิทักษ์, วิลาวรรณ ศิริพูนวิวัฒน์, ประทีป พิณฑานนท์,
สมเกียรติ วัฒนกิจรานต์ และ นลินี รุ่งเรืองศรี. 2551. การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล
เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ให้ไม่ไวแสงโดยวิธีผสมกลับโดยใช้
เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**
26 (1): 96-110.

วาสนา ผลรักษ์. 2523. ข้าว. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น,
ขอนแก่น.

วาสนา วรมิตร. 2538. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวหอมของไทย. ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก
สถาบันวิจัยข้าวกรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 104 น.

สถาบันวิจัยข้าว. 2533. ข้าวนาสวนพันธุ์ดีปลูกได้ทั้งนาปีและนาปรังในเขตที่มีการชลประทาน หรือควบคุมน้ำได้ทุกภาค, น. 8. ใน เอกสารแนะนำข้าวและธัญพืชเมืองหนาว พันธุ์ดี 59 พันธุ์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สถาบันวิจัยข้าว. 2543. ข้าวเจ้าหอมปทุมธานี1. ฝ่ายถ่ายทอดเทคโนโลยี สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. 2552. การปรับปรุงพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมพร ประเสริฐสงสกุล. 2546. พันธุ์ศาสตร์โมเลกุล. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี วิทยาเขตปัตตานี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, ปัตตานี.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. พันธุ์วิศวกรรมเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2552. เครื่องหมายดีเอ็นเอ: จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุวิษ ทาเจริญ. 2535. ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น ระดับและพันธุกรรมของลักษณะ ความไวต่อช่วงแสงของข้าวหอม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตรปี 2554. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อรรถัน มงคลพร. 2548. เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. ภาควิชาพืชสวนมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki and T. Fujimura. 1996. Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. **Theor. Appl. Genet.** 93: 1071-1077.

- Ayres, N.M., A.M. McClung, P.D. Larkin, H.F.J. Bligh, C.A. Jones and W.D. Park. 1997. Microsatellites and a single-nucleotide polymorphism differentiate apparent amylose classes in an extended pedigree of US rice germ plasm. **Theor. Appl. Genet.** 94: 773–781.
- Bao, J.S., H. Corke and M. Sun. 2006a. Microsatellites, single nucleotide polymorphisms and a sequence tagged site in starch-synthesizing genes in relation to starch physicochemical properties in nonwaxy rice (*Oryza sativa* L.). **Theor. Appl. Genet.** 113: 1185–1196.
- _____, H. Corke and M. Sun. 2006b. Nucleotide diversity in starch synthase IIa and validation of single nucleotide polymorphisms in relation to starch gelatinization temperature and other physicochemical properties in rice (*Oryza sativa* L.). **Theor. Appl. Genet.** 113: 1171–1183.
- Benbouza, H., J.M. Jacquemin, J.P. Baudoin and G. Mergeai. 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ.** 10 (2): 77–81.
- Bernetti, R., D.A. Kochan, V.W. Trost and S.N. Young. 1990. Modern methods of analysis for food starches. **Cereal Food World** 35: 1100-1104.
- Bradbury, L.M.T., T.L. Fitzgerald, R.J. Henry, Q.S. Jin and D.L.E. Waters. 2005. The gene for fragrance in rice. **Plant Biotechnol. J.** 3: 363–370.
- Buttery, R.G., L.C. Ling, B.O. Juliano and J.G. Turnbaugh. 1983. Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline. **J. Agric. Food Chem.** 31: 823–826.
- Cangampang, G.B., C.M. Perez and B.O. Juliano. 1973. A gel consistency test for eating quality of rice. **J. Sci. Food Agric.** 24: 1589-1594.
- Chang, T.T. 1976. The origin, evolution, cultivation, dissemination, and diversification of Asian and African rices. **Euphytica** 25: 425-441.

- Chong, Y. H. 1979. Malnutrition, food patterns, and nutritional requirements in Southeast Asia. pp. 1-17 *In* **Proc. of a 1977 workshop held on the interfaces between agriculture, nutrition, and food science**. The United Nations University, Tokyo, and International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- Collard, B.C.Y., M.Z.Z. Jahufer, J.B. Brouwer, and E.C.K. Pang. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. **Euphytica** 142: 169–196.
- Cruz, N.D. and G.S. Khush. 2000. Rice grain quality evaluation procedures, pp. 15-27. *In* R.K. Singh, U.S. Singh and G.S. Khush, eds. **Aromatic Rices**. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, Calcutta, India.
- Eizenga, G.C. and J.N. Rutger. 2003. Genetics, cytogenetics, mutation, and beyond, pp. 153-175. *In* C.W. Smith and R.H. Dilday, eds. **Rice: Origin, History, Technology, and Production**. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken.
- Gao, Z.Y., D.L. Zeng, X. Cui, Y.H. Zhou, M. Yan, D. Huang, J.Y. Li and Q. Qian. 2003. Map-based cloning of the ALK gene, which controls the GT of rice. **Science in China C-Life Science** 46: 661–668.
- Glaszmann, J.C., 1987. Isozyme and classification of Asian rice varieties. **Theor. Appl. Genet.** 74: 21–30.
- Huang, N., S.R. McCouch, T. Mew, A. Parco and E. Guiderdoni. 1994. Development of an RFLP map from a doubled haploid population in rice. **Rice Genet. Newsl.** 11: 134–137.
- IRRI. 1971. **Annual Report 1970**. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines. 265 p.

- IRRI. 1988. **Standard Evaluation System for Rice**. 3rd ed. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- Jin, Q.S., D. Waters, G.M. Cordeiro, R.J. Henry and R.F. Reinke. 2003. A single nucleotide polymorphism (SNP) marker linked to the fragrance gene in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Sci.** 165: 359–364.
- Jin, L., Y. Lu, Y. Shao, G. Zhang, P. Xiao, S. Shen, H. Corke and J. Bao. 2010. Molecular marker assisted selection for improvement of the eating, cooking and sensory quality of rice (*Oryza sativa* L.). **J. Cereal Sci.** 51: 159–164.
- Juliano, B. O. 1971. A simplified assay for milled-rice amylose. **Cereal Sci. Today** 16: 334-340.
- _____. 1985a. Factors affecting nutritional properties of rice protein. **Trans. Natl. Acad. Sci. Technol.** 7: 205-216.
- _____. 1985b. Criteria and tests for rice grain qualities, pp. 443–524. *In* B. O. Juliano, ed. **Rice Chemistry and Technology**. The American Association of Cereal Chemists, St. Paul.
- _____. and L.A. Gonzales. 1989. Physicochemical and economic aspects of rice grain quality, pp. 275–290. *In* **Progress in Irrigated Rice Research: Selected papers and abstracts from the International Rice Research Conference 21 - 25 September 1987**. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- Kato S., H. Kosaka and S. Hara. 1928. On the affinity of rice varieties as shown by fertility of hybrid plants. **Bull. Sci. Fac. Agric.** 3:132-147.

- Khush, G. S., C. M. Paule and N. M. Cruz. 1979. Rice grain quality evaluation and improvement at IRRI. pp. 21-31. *In Proc. of the workshop on chemical aspects of rice grain quality*. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- _____. 1995. Breaking the yield frontier of rice. **Geo. J.** 35:329–332.
- _____. 2005. What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030. **Plant Mol. Bio.** 59:1 - 6.
- Kumar, I. and G. S. Khush. 1986. Gene dosage effects of amylose content in rice endosperm. **Jpn. J. Genet.** 61: 559–568.
- Lanceras, J.C., Z. Huang, O. Naivikul, A. Vanavichit, V. Ruanjaichon and S. Tragoonrung. 2000. Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai Jasmine rice (KDML 105). **DNA Res.** 7: 93-101.
- Li, G. and C.F. Quiros. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. **Theor. Appl. Genet.** 103: 455-461.
- Li, Y.Z., H.M. Ma, J.L. Zhang, Z.Y. Wang and M.M. Hong. 1995. Effects of the first intron of rice waxy gene on the expression of foreign genes in rice and tobacco protoplasts. **Plant Sci.** 108: 181-190.
- Little, R.R., G.B. Hilder and E.H. Dawson. 1958. Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. **Cereal Chem.** 35 (2): 111-126.
- Lorieux, M., M. Petrov, N. Huang, E. Guiderdoni and A. Ghesquiere. 1996. Aroma in rice: genetic analysis of a quantitative trait. **Theor. Appl. Genet.** 93: 1145–1151.

- Love, H.H. 1927. A program selection and testing of small grain in successive generations following hybridization. **J. Amer. Soc. Agron.** 19 : 705-721.
- Mackill, D.J., W.R Coffman and D.P. Garrity. 1996. **Rainfed lowland rice improvement**. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- Moldenhauer, K.A.K. and J.H. Gibbons. 2003. Rice morphology and development, pp. 103-127. *In* C.W. Smith and R.H. Dilday, eds. **Rice: Origin, History, Technology, and Production**. John Wiley & Sons, Inc., USA.
- Morinaga, T. 1954. Classification of rice varieties on the basis of affinity, pp. 1-4. *In* **Reports for 5th Meeting of International Rice Commission's Working Party on Rice Breeding**. Ministry of Agric. And Forestry, Tokyo.
- Peng, S. and G.S. Khush. 2003. Four decades of breeding for varietal improvement of irrigated lowland rice in the International Rice Research Institute. **Plant Prod. Sci.** 6: 157–164.
- _____, G.S. Khush, P. Virk, Q. Tang and Y. Zou. 2008. Progress in ideotype breeding to increase rice yield potential. **Field Crops Res.** 108: 32-38.
- _____, G.S. Khush and K.G. Cassman. 1994. Evaluation of a new plant ideotype for increased yield potential. *In* breaking the yield barrier, pp. 5-20. *In* K.G. Cassman, ed. **Proc. Workshop on Rice Yield Potential in Favourable Environments**. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- Qiu, Z.J. and Y.S. Zhang. 2003. Why fragrance rice produced in Thailand can be sold worldwide? (Chinese). **World Agric. (China)**. 2: 33–36.

- Rattanapol, P., P. Sripichitt and T. Sreewongchai. 2011. Development of functional DNA marker specific to aromatic gene in rice, pp. 574-580. *In The Proceeding of 49th Kasetsart University Annual Conference*. 1-4 February, 2011. Kasetsart University, Bangkok, Thailand.
- Resurreccion, A.P., T. Hara, B.O. Juliano and S. Yoshida. 1977. Effect of temperature during ripening on grain quality of rice. **Soil Sci. Plant Nutr.** 23:109 – 112.
- Sanjiva, R.B., A.R. Vasudeva and R.S. Subrahmanya. 1952. The amylose and amylopectin content of rice and their influence on the cooking quality of cereals. **Proc. Indian Acad. Sci.** 368: 70–80.
- Shen G., K. Fan and Q. Chu. 1987. Genetic analysis of gelatinization temperature in rice cross combination. **Acta Agric.** 3(3) : 14.
- Shi C. H., J. Zhu, R.C. Zang and G.L. Chen. 1997. Genetic and heterosis analysis for cooking quality traits of indica rice in different environments. **Theor. Appl. Genet.** 95:294 – 300.
- Shi, W., Y. Yi, S. Chen and M. Xu. 2008. Discovery of a new fragrance allele and the development of functional markers for the breeding of fragrant rice varieties. **Mol. Breed.** 22: 185–192.
- Sood, B.C. and E.A. Siddiq. 1978. A rapid technique for scent determination in rice. **Indian J. Genet. Plant Breed.** 38: 268–271.
- Sreewongchai, T., T. Toojinda, N. Thanintorn, C. Kosawang, A. Vanavichit, D. Tharreau and P. Sirithunya. 2010. Development of elite indica rice lines with wide spectrum of resistance to Thai blast isolates by pyramiding multiple resistance QTLs. **Plant Breed.** 129: 176 - 180.

- Tan, Y.F., J.X. Li, S.B. Yu, Y.Z. Xing C.G. Xu and Q. Zhang. 1999. The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou 63. **Theor. Appl. Genet.** 99:642-648.
- Tanchotikul, U. and T.C.Y. Hsieh. 1991. An improved method for qualification of 2-acetyl-1 pyrroline a popcorn-like aroma, in aromatic rice by high-resolution gas chromatography/mass spectrometry/selected ion monitoring. **J. Agric. Food Chem.** 39: 944-947.
- Umemoto, T., M. Yano, H. Satoh, A. Shomura and Y. Nakamura. 2002. Mapping of a gene responsible for the difference in amylopectin structure between japonica-type and indica type rice varieties. **Theor. Appl. Genet.** 104: 1–8.
- Vergara, B.S., M.H. Heu, G.S. Chung, D.K. Kim and T. Sasaki. 1980. **Manual for Rapid Generation Advance of Rice at the International Rice Research Institute.** International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- Virk, P., G.S. Khush and S. Peng. 2004. Breeding to enhance yield potential of rice at IRRI: the ideotype approach. **IRRN** 29 :5-9.
- Vos, P., R. Hogers, M. Blecker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucl. Acids. Res.** 23: 4407-4414.
- Wang, Z.Y., F.Q. Zheng, G.Z. Shen, J.P. Gao, D.P. Snustad, M.G. Li, J.L. Zhang and M.M. Hong. 1995. The amylose content in rice endosperm is related to the post-transcriptional regulation of the waxy gene. **The Plant Jour.** 7: 613-622.
- Waters, D.L.E., R.J. Henry. R.F. Reinke and M.A. Fitzgerald. 2006. Gelatinization temperature of rice explained by polymorphisms in starch synthase. **Plant Biotechnological Journal** 4: 115–122.

Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.I. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucl. Acids. Res.** 18: 6231-6235.

www.ncbi.nlm.nih.gov. 2010.

Yamagishi, T., S. Peng, K.G. Cassman and R. Ishii. 1996. Studies on grain filling characteristics in “New Plant Type” rice lines developed in IRRI. **Jpn. J. Crop Sci.** 65 (Extra issue No. 2): 169–170.

Yang, X.C. and C.M. Hwa. 2008. Genetic control of rice plant architecture. **Heredity** 101: 396-404.

Yano, M., Y. Katayose, M. Ashikari, U. Yamanouchi, L. Monna, T. Fuse, T. Baba, K. Yamamoto, Y. Umehara, Y. Ngamuna and T. Sasaki. 2000. *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene CONSTANS. **Plant Cell** 12: 2473–2484.

Yi, M., K.T. Nwe, A. Vanavichit, W. Chai-arree and T. Toojinda. 2009. Marker assisted backcross breeding to improve cooking quality traits in Myanmar rice cultivar Manawthukha. **Field Crop Res.** 113: 178–186.



ภาคผนวกที่ 1 วิธีเตรียมสารละลายสำหรับย้อมสีแถบดีเอ็นเอ

ก. วิธีเตรียมสารละลาย fixer

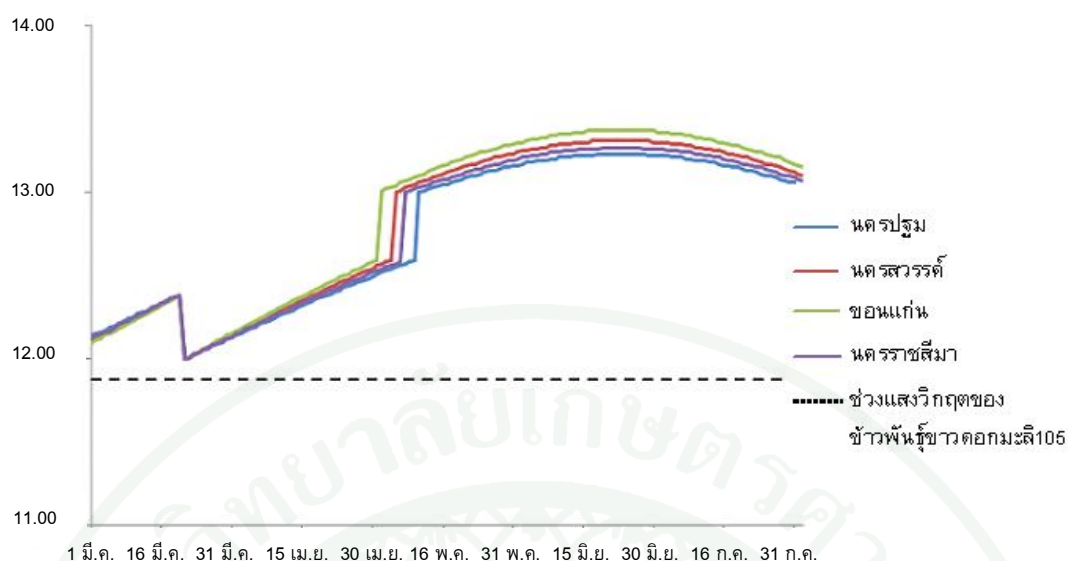
เทน้ำกลั่นประมาณ 500 มิลลิลิตรใส่ปิกร์พลาสติกสำหรับเตรียมสารละลาย จากนั้นเติมกรดอะซีติก 100% ปริมาตร 5 มิลลิลิตรเติมแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 105 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันพร้อมกับใส่เทอร์โมมิเตอร์เพื่อวัดอุณหภูมิลงไปในการละลายแล้วเก็บไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 40 นาที ดูที่เทอร์โมมิเตอร์จะได้สารละลายที่มีอุณหภูมิประมาณ 10 -12 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารละลายออกมาเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อรอนำไปใช้

ข. วิธีเตรียมสารละลาย silver nitrate

เทน้ำกลั่นประมาณ 500 มิลลิลิตรใส่ปิกร์พลาสติกสำหรับเตรียมสารละลาย จากนั้นชั่ง silver nitrate 1.5 กรัม ใส่ลงไป นำสารละลายไปปั่นจน silver nitrate ละลายจนหมด เมื่อ silver nitrate ละลายจนหมดเติมฟอร์มัลดีไฮด์ 37% ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นปั่นให้เข้ากันอีกครั้งเก็บสารละลายไว้ในขวดสีชาเพื่อรอนำไปใช้

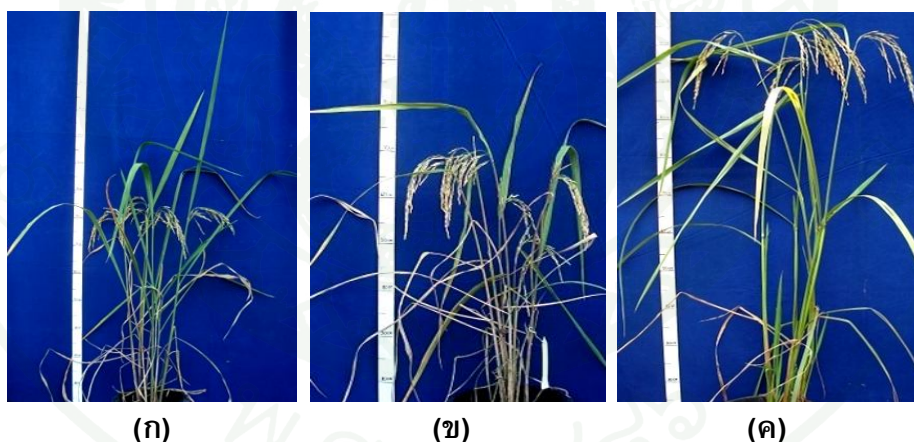
ค. วิธีเตรียมสารละลาย developer

เทน้ำกลั่นประมาณ 500 มิลลิลิตรใส่ปิกร์พลาสติกสำหรับเตรียมสารละลาย ชั่ง โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 15 กรัม ใส่ลงไป นำสารละลายไปปั่นจนโซเดียมไฮดรอกไซด์ ละลายจนหมด จากนั้นเติมฟอร์มัลดีไฮด์ 37% ปริมาตร 2 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นปั่นให้เข้ากันอีกครั้งเก็บสารละลายไว้ในขวดสีชาเพื่อรอนำไปใช้



ที่มา: กรมอุตุนิยมวิทยา (2553)

ภาพผนวกที่ 1 ความยาวของช่วงแสงในเวลากลางวันของจังหวัดต่างๆ ในประเทศไทย
ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง เดือนกรกฎาคม ของปี พ.ศ. 2553



ภาพผนวกที่ 2 ทรงต้นของลูกข้าวที่ 3 ที่คัดเลือกไว้ทั้ง 11 สายพันธุ์ (ก) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-1-1 (ข) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-34-1 (ค) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-36-2 ทรงต้นของลูกข้าวที่ 3 ที่คัดเลือกไว้ทั้ง 11 สายพันธุ์ (ง) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-46-3 (จ) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-46-6 (ฉ) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-46-10 (ช) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-46-11 (ซ) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-63-1 (ฌ) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-83-1 (ญ) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-86-1 (ฎ) ลูกข้าวที่ 3 สายพันธุ์ ATN0901-227-1



(ง)

(จ)

(ฉ)



(ช)

(ซ)

(ฅ)



(ญ)

(ฎ)

ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

ตารางผนวกที่ 1 ผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางการเกษตรของลูกข้าวที่ 4 จำนวน 54 สายพันธุ์

พันธุ์/สายพันธุ์	อายุวัน ออกดอก	ความ สูงต้น (ซม.)	ความ ยาวรวง (ซม.)	จำนวน เมล็ด ต่อรวง	จำนวน เมล็ดดี ต่อรวง	การ ติดเมล็ด (%)	จำนวน หน่อ ต่อต้น	จำนวน หน่อที่ ให้รวง	หน่อที่ให้ รวงต่อต้น (%)	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (กรัม)	ผลผลิต ต่อต้น (กรัม/ต้น)
	50%										
ATN0901-1-1-1	97	147.50	27.70	369	237	64.23	6	4	66.67	20.70	14.68
ATN0901-1-1-2	97	138.00	31.50	348	194	55.75	6	6	100	21.49	14.15
ATN0901-1-1-3	97	142.00	29.50	313	235	75.08	7	7	100	21.91	19.77
ATN0901-1-1-4	97	129.50	28.50	287	211	73.52	4	4	100	21.71	10.51
ATN0901-1-1-5	97	153.00	29.00	390	304	77.95	6	6	100	21.78	17.58
ATN0901-34-1-1	88	101	24	168	114	67.86	6	6	100	22.54	8.1
ATN0901-34-1-2	88	108	22	167	114	68.26	4	4	100	23.77	7.21
ATN0901-34-1-3	88	106	25.5	149	109	73.15	7	6	86	25.87	11.87
ATN0901-34-1-4	88	106	15.7	113	76	67.26	3	3	100	22.50	4.56
ATN0901-36-2-1	80	173	32.7	212	103	48.58	4	3	75	23.20	6.65
ATN0901-36-2-2	80	170	32.4	214	99	46.26	5	5	100	22.22	6.24
ATN0901-36-2-3	80	158.7	32.5	205	153	74.63	5	5	100	23.59	11.36
ATN0901-36-2-4	80	170	28	208	125	60.10	5	5	100	24.88	11.68

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

พันธุ์/สายพันธุ์	อายุวัน ออกดอก	ความ สูงต้น (ซม.)	ความ ยาวรวง (ซม.)	จำนวน เมล็ด ต่อรวง	จำนวน เมล็ดดี ต่อรวง	การ ติดเมล็ด (%)	จำนวน หน่อ ต่อต้น	จำนวน หน่อที่ ให้รวง	หน่อที่ให้ รวงต่อต้น (%)	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (กรัม)	ผลผลิต ต่อต้น (กรัม/ต้น)
	50%										
ATN0901-36-2-5	80	152	31	230	178	77.39	6	6	100	24.77	12.61
ATN0901-46-3-1	83	132	29.8	134	54	40.30	7	7	100	24.07	9.11
ATN0901-46-3-2	83	133	18	200	140	70.00	7	7	100	25.00	22.81
ATN0901-46-3-3	83	127	27	214	163	76.17	9	9	100	22.69	16.34
ATN0901-46-3-4	83	121.5	27.2	164	116	70.73	5	4	80	25.77	8.99
ATN0901-46-3-5	83	125	22.5	174	120	68.97	5	5	100	17.91	9.7
ATN0901-46-6-1	95	121	27.6	171	116	67.84	7	7	100	25.60	9.34
ATN0901-46-6-2	95	129.7	26.1	187	116	62.03	8	8	100	23.10	13.21
ATN0901-46-6-3	95	131.5	25.5	165	109	66.06	8	7	88	13.11	6.52
ATN0901-46-6-4	95	135	26	184	133	72.28	8	7	88	22.63	8
ATN0901-46-6-5	95	128	27.7	176	133	75.57	7	7	100	22.78	13.06
ATN0901-46-10-1	85	133.5	28.5	248	215	86.69	9	7	78	21.39	19.67
ATN0901-46-10-2	85	118	26	195	125	64.10	7	5	71	20.56	9.35

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

พันธุ์/สายพันธุ์	อายุวัน ออกดอก	ความ สูงต้น (ซม.)	ความ ยาวรวง (ซม.)	จำนวน เมล็ด ต่อรวง	จำนวน เมล็ดดี ต่อรวง	การ ติดเมล็ด (%)	จำนวน หน่อ ต่อต้น	จำนวน หน่อที่ ให้รวง	หน่อที่ให้ รวงต่อต้น (%)	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (กรัม)	ผลผลิต ต่อต้น (กรัม/ต้น)
ATN0901-46-10-5	85	117	25.5	191	64	33.51	6	6	100	18.58	6.74
ATN0901-46-11-1	75	107	25.5	221	181	81.90	5	5	100	19.67	6.16
ATN0901-46-11-2	75	123	26.7	257	191	74.32	6	6	100	20.94	16.06
ATN0901-46-11-3	75	104	24.5	168	119	70.83	6	5	83	22.27	9.37
ATN0901-46-11-4	75	113.5	23.5	200	128	64.00	6	6	100	20.94	12.95
ATN0901-46-11-5	75	120	23.6	187	109	58.29	5	5	100	20.18	8.22
ATN0901-63-1-1	101	150	28	229	192	83.84	7	7	100	23.39	23.2
ATN0901-63-1-2	101	140	28.7	229	187	81.66	5	5	100	23.85	14.35
ATN0901-63-1-3	101	143.4	27	235	121	51.49	6	6	100	21.40	5.89
ATN0901-63-1-4	101	137	27.5	166	23	13.86	6	3	50	19.13	0.81
ATN0901-63-1-5	101	135	26.4	183	32	17.49	7	3	43	15.63	0.82
ATN0901-83-1-1	70	166	27	209	172	82.30	7	7	100	23.84	20.45
ATN0901-83-1-2	70	153	27	180	106	58.89	4	4	100	21.51	9.11

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

พันธุ์/สายพันธุ์	อายุวัน ออกดอก	ความ สูงต้น (ซม.)	ความ ยาวรวง (ซม.)	จำนวน เมล็ด ต่อรวง	จำนวน เมล็ดดี ต่อรวง	การ ติดเมล็ด (%)	จำนวน หน่อ ต่อต้น	จำนวน หน่อที่ ให้รวง	หน่อที่ให้ รวงต่อต้น (%)	น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (กรัม)	ผลผลิต ต่อต้น (กรัม/ต้น)
	50%										
ATN0901-83-1-5	70	141	26.5	98	52	53.06	5	5	100	23.46	4.5
ATN0901-86-1-1	72	109	43	114	85	74.56	5	5	100	21.29	8.35
ATN0901-86-1-2	72	130	21	193	104	53.89	4	4	100	20.38	9.2
ATN0901-86-1-3	72	117	14	194	119	61.34	5	5	100	19.92	6.42
ATN0901-86-1-4	72	102	46	119	74	62.18	6	6	100	18.92	6.07
ATN0901-86-1-5	72	117	16.8	185	85	45.95	4	4	100	17.76	6.41
ATN0901-227-1-1	101	174	34	308	217	70.45	4	4	100	21.66	10.71
ATN0901-227-1-2	101	180	32.5	255	217	85.10	6	6	100	22.26	23.67
ATN0901-227-1-3	101	203	32	319	255	79.94	5	5	100	23.65	19.45
ATN0901-227-1-4	101	156	29	226	201	88.94	4	4	100	21.29	13.42
ATN0901-227-1-5	101	182	32	280	195	69.64	6	6	100	23.54	19.12

ตารางผนวกที่ 2 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 และ OSR19 ช่วยคัดเลือกในลูกชั่วที่ 2

ลำดับที่	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
	Naro1	OSR19	
KDML 105	A	A	
Qiqnizhan	B	B	
1	A	A	ต้นที่คัดเลือก
2	N/A	N/A	
3	B		
4	B		
5	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
6	B		
7	H		
8	B		
9	H		
10	B		
11	H		
12	B		
13	B		
14	A		
15	H		
16	H		
17	B		
18	B		
19	B		
20	B		
21	B		
22	H		
23	B		

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
	Naro1	OSR19	
24	B		
25	H		
26	B		
27	B		
28	A		
29	H		
30	H		
31	B		
32	B		
33	B		
34	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
35	B		
36	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
37	B		
38	B		
39	H		
40	H		
41	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในชั่วที่ 3
42	B		
43	H		
44	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในชั่วที่ 3
45	B		
46	A	A	ต้นที่คัดเลือก
47	B		
48	H		

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
	Naro1	OSR19	
49	B		
50	B		
51	B		
52	B		
53	B		
54	B		
55	H		
56	B		
57	B		
58	B		
59	H		
60	N/A	N/A	
61	B		
62	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
63	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
64	H		
65	B		
66	H		
67	B		
68	B		
69	B		
70	B		
71	B		
72	N/A	N/A	
73	B		

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
	Naro1	OSR19	
74	H		
75	B		
76	B		
77	B		
78	H		
79	B		
80	H		
81	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
82	H		
83	A	A	ต้นที่คัดเลือก
84	N/A	N/A	
85	H		
86	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
87	H		
88	B		
89	B		
90	H		
91	H		
92	B		
93	B		
94	H		
95	B		
96	H		
97	H		
98	H		

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
	Naro1	OSR19	
99	H		
100	N/A	N/A	
101	B		
102	B		
103	B		
104	B		
105	B		
106	B		
107	B		
108	B		
109	B		
110	B		
111	H		
112	H		
113	H		
114	B		
115	H		
116	H		
117	H		
118	B		
119	B		
120	A		
121	H		
122	H		
123	A		

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
	Naro1	OSR19	
124	B		
125	H		
126	H		
127	B		
128	B		
129	A		
130	H		
131	H		
132	B		
133	H		
134	A		
135	A		
136	A		
137	N/A	N/A	
138	H		
139	A		
140	A		
141	H		
142	H		
143	H		
144	B		
145	B		
146	H		
147	H		
148	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
	Naro1	OSR19	
149	H		
150	H		
151	H		
152	B		
153	H		
154	H		
155	B		
156	A		
157	B		
158	H		
159	B		
160	B		
161	B		
162	A		
163	H		
164	H		
165	H		
166	H		
167	H	A	ไม่ติดเมล็ด
168	A		
169	B		
170	B		
171	H		
172	B		
173	H		

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
	Naro1	OSR19	
174	H		
175	B		
176	H		
177	N/A	N/A	
178	H		
179	H		
180	B		
181	B		
182	H		
183	H		
184	B		
185	H		
186	H		
187	B		
188	B		
189	B		
190	A		
191	B		
192	B		
193	A		
194	B		
195	B		
196	B		
197	B		
198	B		

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
	Naro1	OSR19	
199	H		
200	H		
201	B		
202	B		
203	B		
204	B		
205	H		
206	B		
207	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
208	B		
209	H		
210	B		
211	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
212	A		
213	H		
214	H		
215	H	A	ไม่ติดเมล็ด
216	H		
217	A	A	ไม่ติดเมล็ด
218	B		
219	H		
220	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
221	H		
222	A		
223	B		

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
	Naro1	OSR19	
224	H		
225	H		
226	A		
227	H	A	นำไปคัดเลือกโดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ในลูกชั่วที่ 3
228	N/A	N/A	

ตารางผนวกที่ 3 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Naro1 ช่วยคัดเลือกในลูกชั่วที่ 3

ลำดับที่	สายพันธุ์	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
		OSR19	Naro1	
KDML 105	-	A	A	
Qiqnizhan	-	B	B	
1	5-1	A	B	
2	5-2	A	H	
3	5-3	A	H	
4	34-1	A	A	ต้นที่คัดเลือก
5	34-2	A	A	ต้นที่คัดเลือก
6	34-3	A	A	ต้นที่คัดเลือก
7	34-4	A	H	
8	34-5	A	H	
9	34-6	A	B	
10	34-7	A	B	
11	34-8	A	B	
12	34-9	A	H	

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่	สายพันธุ์	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
		OSR19	Naro1	
13	34-10	A	B	
14	34-11	A	H	
15	34-12	A	H	
16	34-13	A	A	ต้นที่คัดเลือก
17	34-14	A	A	ต้นที่คัดเลือก
18	36-1	A	B	
19	36-2	A	H	
20	36-3	A	H	
21	36-4	A	H	
22	36-5	A	A	ต้นที่คัดเลือก
23	36-6	A	H	
24	36-7	A	A	ต้นที่คัดเลือก
25	36-8	A	B	
26	36-9	A	A	ต้นที่คัดเลือก
27	36-10	A	A	ต้นที่คัดเลือก
28	36-11	A	B	
29	36-12	A	H	
30	36-13	A	A	ต้นที่คัดเลือก
31	36-14	A	B	
32	44-1	A	A	ต้นที่คัดเลือก
33	44-2	A	H	
34	44-3	A	B	
35	44-4	A	H	
36	44-5	A	H	
37	44-6	A	H	

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่	สายพันธุ์	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
		OSR19	Naro1	
38	44-7	A	H	
39	44-8	A	A	ต้นที่คัดเลือก
40	44-9	A	H	
41	62-1	A	H	
42	62-2	A	H	
43	62-3	A	H	
44	62-4	A	A	ต้นที่คัดเลือก
45	62-5	A	A	ต้นที่คัดเลือก
46	62-6	A	H	
47	62-7	A	H	
48	62-8	A	A	ต้นที่คัดเลือก
49	62-9	A	H	
50	62-10	A	H	
51	62-11	A	B	
52	62-12	A	H	
53	62-13	A	B	
54	62-14	A	H	
55	62-15	A	H	
56	62-16	A	H	
57	62-17	A	H	
58	62-18	A	A	ต้นที่คัดเลือก
59	62-19	A	A	ต้นที่คัดเลือก
60	62-20	A	H	
61	62-21	A	B	
62	62-22	A	B	

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่	สายพันธุ์	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
		OSR19	Naro1	
63	62-23	A	H	
64	62-24	A	H	
65	62-25	A	A	ต้นที่คัดเลือก
66	62-26	A	A	ต้นที่คัดเลือก
67	62-27	A	A	ต้นที่คัดเลือก
68	63-1	A	B	
69	63-2	A	H	
70	63-3	A	B	
71	63-4	A	H	
72	63-5	A	H	
73	63-6	A	A	ต้นที่คัดเลือก
74	63-7	A	B	
75	63-8	A	B	
76	63-9	A	B	
77	63-10	A	A	ต้นที่คัดเลือก
78	63-11	A	H	
79	63-12	A	B	
80	63-13	A	H	
81	63-14	A	B	
82	63-15	A	B	
83	63-16	A	H	
84	63-17	A	A	ต้นที่คัดเลือก
85	63-18	A	H	
86	63-19	A	A	ต้นที่คัดเลือก
87	63-20	A	B	

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่	สายพันธุ์	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
		OSR19	Naro1	
88	63-21	A	A	ต้นที่คัดเลือก
89	81-1	A	B	
90	81-2	A	H	
91	81-3	A	H	
92	81-4	A	H	
93	86-1	A	H	ต้นที่คัดเลือก
94	86-2	A	B	
95	86-3	A	A	
96	86-4	A	H	
97	86-5	A	H	
98	86-6	A	B	
99	86-7	A	H	
100	86-8	A	H	
101	86-9	A	H	
102	86-10	A	H	
103	86-11	A	N/A	ต้นที่คัดเลือก
104	86-12	A	H	
105	86-13	A	A	
106	86-14	A	H	
107	86-15	A	H	
108	86-16	A	H	ต้นที่คัดเลือก
109	86-17	A	H	
110	86-18	A	H	
111	86-19	A	H	
112	86-20	A	A	

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่	สายพันธุ์	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
		OSR19	Naro1	
113	86-21	A	H	
114	86-22	A	H	
115	86-23	A	H	
116	86-24	A	A	ต้นที่คัดเลือก
117	148-1	A	H	
118	148-2	A	B	
119	148-3	A	A	ต้นที่คัดเลือก
120	148-4	A	B	
121	148-5	A	B	
122	148-6	A	B	
123	148-7	A	H	
124	148-8	A	A	ต้นที่คัดเลือก
125	148-9	A	H	
126	148-10	A	H	
127	148-11	A	B	
128	148-12	A	A	ต้นที่คัดเลือก
129	148-13	A	A	ต้นที่คัดเลือก
130	148-14	A	H	
131	148-15	A	B	
132	148-16	A	H	
133	148-17	A	A	ต้นที่คัดเลือก
134	148-18	A	A	ต้นที่คัดเลือก
135	207-1	A	H	
136	207-2	A	H	
137	211-1	A	H	

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

ลำดับที่	สายพันธุ์	เครื่องหมายดีเอ็นเอ		หมายเหตุ
		OSR19	Naro1	
138	220-1	A	H	
139	220-2	A	B	
140	220-3	A	H	
141	220-4	A	H	
142	227-1	A	H	
143	227-2	A	A	ต้นที่คัดเลือก
144	227-3	A	H	
145	227-4	A	A	ต้นที่คัดเลือก
146	227-5	A	B	
147	227-6	A	B	
148	227-7	A	B	
149	227-8	A	H	
150	227-9	A	B	
151	227-10	A	A	ต้นที่คัดเลือก

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวปาริฉัตร รัตนผล
วัน เดือน ปี เกิด	9 มีนาคม พ.ศ.2529
สถานที่เกิด	จันทบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยนเรศวร
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	รางวัลชมเชย สาขาพืช ในการประชุมวิชาการครั้งที่ 49 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในหัวข้อเรื่องการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เฉพาะกับการทำหน้าที่ของยีนความหอมในข้าว
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนอุดหนุนการค้นคว้าและวิจัยประเภทวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2554
ผลงานตีพิมพ์ระหว่างการศึกษา	1. เรื่อง การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เฉพาะกับการทำหน้าที่ของยีนความหอมในข้าว ในงานประชุมวิชาการครั้งที่ 49 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2. เรื่อง เทคนิคการตรวจสอบปริมาณอะมิโลสโดยใช้ตัวอย่างปริมาณน้อย ในงานประชุมวิชาการครั้งที่ 50 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์