ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

พืชไร่นา	พืชไร่นา
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง การถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อสภาพแล้งจากข้าวป่า (*Oryza nivara* Sharma et Shastry) ไปยังข้าวปลูก (*O. sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงคัพภะและการผสมกลับ

Introgression of Drought Resistance from Wild Rice (*Oryza nivara* Sharma et Shastry) to Cultivated Rice (*O. sativa* L.) by Embryo Culture and Backcrossing

นามผู้วิจัย นายอภิชาติ สายยศ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์ประภา ศรีพิจิตต์, D.Agr.)

กรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ, Ph.D.)

กรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์ยิ่งยง ไพสุขศานติวัฒนา, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(รองศาสตราจารย์รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

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

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อสภาพแล้งจากข้าวป่า (*Oryza nivara* Sharma et Shastry) ไปยังข้าวปลูก (*O. sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงคัพภะและการผสมกลับ

Introgression of Drought Resistance from Wild Rice (*Oryza nivara* Sharma et Shastry) to Cultivated Rice (*O. sativa* L.) by Embryo Culture and Backcrossing

โดย

นายอภิชาติ สายยศ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
พ.ศ. 2551

อภิชาติ สายยศ 2551: การถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อสภาพแล้งจากข้าวป่า (*Oryza nivara* Sharma et Shastry) ไปยังข้าวปลูก (*O. sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงคัพภะและการผสมกลับ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชไร่นา ภาควิชาพืชไร่นา ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ประภา ศรีพิจิตต์, D.Agr. 72 หน้า

ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานต่อสภาพแล้งโดยการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อสภาพแล้งจากข้าวป่า (*O. nivara* Sharma et Shastry) ไปยังข้าวปลูก(*O. sativa* L.) พันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1โดยวิธีการผสมกลับร่วมกับการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อน ขั้นตอนแรกได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า เพื่อผลิตลูกผสมระหว่างชนิดจำนวน 2 คู่ผสม พบว่า อัตราการผสมข้ามติดเมล็ดของคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และ ชัยนาท 1/*O. nivara* เป็น 50.00 และ 48.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หรือเฉลี่ย 49.00 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นช่วยชีวิตคัพภะ (เมล็ด) ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ที่ได้จากการผสมข้ามโดยการเพาะเลี้ยงคัพภะบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS พบว่า อัตราการงอกเป็นต้นอ่อนของลูกผสมชั่วที่ 1 ของคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และ ชัยนาท 1/*O. nivara* เป็น 61.5 และ 61.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หรือเฉลี่ย 61.45 เปอร์เซ็นต์ ปลูกต้นลูกผสมชั่วที่ 1 ของทั้ง 2 คู่ผสมจนกระทั่งออกดอกแล้วผสมกลับไปยังข้าวปลูก จำนวน 3 ครั้งเพื่อผลิตลูกผสมกลับชั่วที่ 1 (BC_1F_1) 2 (BC_2F_1) และ 3 (BC_3F_1) พบว่า เมื่อจำนวนครั้งของการผสมกลับเพิ่มขึ้น อัตราการผสมติดเมล็ดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และอัตราการงอกเป็นต้นอ่อนของเมล็ด (คัพภะ) ลูกผสมกลับเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นกัน จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางเกษตรของลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับในชั่วต่างๆ พบว่า ลูกผสมชั่ว 1 มีลักษณะส่วนใหญ่อยู่กึ่งกลางระหว่างพ่อแม่ ยกเว้น ลักษณะมีหางของเมล็ดและการร่วงหล่นของเมล็ดจากรวงได้ง่ายนั้นใกล้เคียงกับพันธุ์ป่า ส่วนลูกผสมกลับในชั่วต่างๆ มีความแปรปรวนในลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางเกษตร เนื่องจากการกระจายตัวของจีโนไทป์ แต่ลูกผสมกลับชั่ว 2 และ 3 สามารถนำลักษณะที่ดีของพันธุ์ปลูกกลับคืนมาได้ เช่น ลักษณะเมล็ดไม่มีหาง จากการทดสอบความต้านทานต่อสภาพแล้งของลูกชั่วที่ 3 (F_3) และลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นโดยการให้คะแนนอาการใบม้วน ใบแห้ง และการฟื้นตัวจากแล้งด้วยสายตา พบการกระจายตัวของต้นที่ไม่ต้านทานแล้งจนถึงต้นที่ต้านทานแล้ง แต่ต้นส่วนใหญ่ไม่ต้านทานแล้ง และการผสมกลับไปยังข้าวปลูกที่ไม่ต้านทานแล้งมีแนวโน้มทำให้ลูกผสมกลับมีความต้านทานแล้งลดลง อย่างไรก็ตามสามารถคัดเลือกต้นที่มีความต้านทานแล้งสูง จำนวน 13, 5, 4 และ 12 ต้นจากลูกชั่วที่ 3 และลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ในคู่ผสมทั้งสองตามลำดับ

/ /

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Apichat Seiyot 2008: Introgression of Drought Resistance from Wild Rice (*Oryza nivara* Sharma et Shastry) to Cultivated Rice (*O. sativa* L.) by Embryo Culture and Backcrossing. Master of Science (Agriculture), Major Field: Agronomy, Department of Agronomy. Thesis Advisor: Associate Professor Prapa Sripichitt, D.Agr. 72 pages.

The objective of this study was to improve rice resistance to drought stress by transferring drought resistant character from wild rice (*O. nivara* Sharma et Shastry) to cultivated rice (*O. sativa* L.) varieties RD23 and CN1 using backcross method and immature embryo culture. Firstly, hybridization between cultivated rice and wild species was made to produce 2 interspecific hybrids. It was shown that seed setting of the crosses RD23/*O. nivara* and CN 1/*O. nivara* were 50.00 and 48.00 %, respectively with the average of 49 %. The F_1 hybrid seeds (embryos) obtained were rescued by culturing on ½ MS medium. Germination rate of the F_1 hybrid embryos of the crosses RD23/*O. nivara* and CN 1/*O. nivara* were 61.50 and 61.40 %, respectively with the average of 49 %. The F_1 hybrid seedlings of both crosses were grown until flowering and backcrossed to cultivated rice for 3 times to produce backcross progenies BC_1F_1, BC_2F_1 and BC_3F_1.When the number of backcrossing increased, seed setting and germination rate of the seeds of backcross progenies culturd on ½ MS medium tended to increase. Morpho-agronomic characters of the F_1 hybrids and backcross progenies (BC_1F_1, BC_2F_1 and BC_3F_1) were investigated. It was found that most of the morpho-agronomic characters of the F_1 hybrids were intermediate between their parent except the awn of seed and easy threshability of panicles were closer to wild parent. Whereas the backcross progenies manifested variation in morpho-agronomic characters due to the segregation of the genotypes. However, the BC_2F_1 and BC_3F_1 could restore the good morpho-agronomic characters of the cultivated rice parents such as the awnless of seed. The F_3, BC_1F_3, BC_2F_3 and BC_3F_3 F_1 were screened for drought resistance at vegetative growth stage by visual scoring of leaf rolling, leaf drying and plant recovery. Segregation for susceptible and resistant plants were observed among the progenies, however, most of them were not resistant to drought. Drought resistance of the backcross progenies tended to decrease after backcrossing to the cultivated rice parent which were drought susceptible. However, selection was made for 13, 5, 4 and 12 with highly resistant to drought from F_3, BC_1F_3, BC_2F_3 and BC_3F_3 progenies of both crosses, respectively.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประภา ศรีพิจิตต์ ประธานกรรมการ รองศาสตราจารย์ ดร. รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ กรรมการวิชาเอก และรองศาสตราจารย์ ดร. ยิ่งยง ไพสุขศานติวัฒนา กรรมการวิชารอง ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำในการทดลองและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้สมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ อภิสิทธิวาณิช ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทดลองและอำนวยความสะดวกตลอดเวลาที่ทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ พี่ เพื่อน แห่งภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และน้องๆ โรงเรียนบ้านนาดี อำเภอสนม จังหวัดสุรินทร์ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือตลอดช่วงเวลาที่ทดลอง

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อผดุงชัย คุณแม่อำนวย สายยศ ที่ให้โอกาสในการศึกษาระดับปริญญาโท และให้การสนับสนุนตลอดระยะเวลาที่ศึกษาอยู่

อภิชาติ สายยศ

ตุลาคม 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	23
อุปกรณ์	23
วิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	30
สรุป	56
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	58
ภาคผนวก	69
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	72

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ข้าวป่าชนิดต่างๆ และลักษณะที่เป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์	6
2	อัตราการผสมข้ามชนิดระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า	30
3	อัตราการงอกของคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS	32
4	อัตราการงอกของคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่าที่มีอายุแตกต่างกันภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS	35
5	อัตราการผสมกลับครั้งที่ 1 (BC_1), 2 (BC_2) และ 3 (BC_3) ของลูกผสมชั่วที่ 1 ไปยังข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1	36
6	อัตราการงอกของคัพภะข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1 ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ½ MS	38
7	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทางเกษตรของลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1 ที่ปลูกในสภาพเรือนปลูกพืช	40
8	ความแปรปรวนในลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางเกษตรของลูกชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับ BC_1F_2, BC_2F_2 และ BC_3F_2 ที่ปลูกในสภาพแปลงทดลองในระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2551	47
9	คะแนนของลักษณะการม้วนใบ, ใบแห้ง และการฟื้นตัวจากแล้งของลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3, พันธุ์มาตรฐานที่ต้านทานและไม่ต้านทานต่อสภาพแล้ง	53

ตารางผนวกที่

1	คะแนนของของลักษณะ การม้วนใบ ใบแห้ง และการฟื้นตัวจากแล้งของสายพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 3, สายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ที่คัดเลือกไว้ในคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และ ชัยนาท 1/*O. nivara* ภายหลังการงดให้น้ำ	70

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	คัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า ที่อายุ 12 วันหลังจากการผสมเกสร	33
2	การงอกของคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ไปนาน 8 วัน	33
3	ก. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 (กลาง) ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก พันธุ์กข 23 (ซ้าย) กับข้าวป่า *O.nivara* (ขวา)	42
	ข. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 (กลาง) ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก พันธุ์ชัยนาท 1 (ซ้าย) กับข้าวป่า *O. nivara* (ขวา)	42
4	ก. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_1 (กข 23/*O. nivara*/กข 23)	43
	ข. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_1 (ชัยนาท 1/*O. nivara*/ชัยนาท 1)	43
5	ก. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_2F_1 (กข 23/*O. nivara*//กข 23)	44
	ข. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_2F_1 (ชัยนาท 1/*O .nivara*//ชัยนาท 1)	44
6	ก. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_3F_1 (กข 23/*O. nivara*///กข 23)	45
	ข. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_3F_1 (ชัยนาท 1/*O. nivara*///ชัยนาท 1)	45
7	ลูกชั่วที่ 3 (F3) ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3, BC_3F_3 ของคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และชัยนาท1/ *O. nivara* แสดงการม้วนใบหลังจากงดให้น้ำ 38 วัน	55
8	ลูกชั่วที่ 3 (F3) ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3, BC_3F_3 ของคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และชัยนาท1/ *O. niv*ara แสดงอาการใบแห้งหลังจากงดให้น้ำ 48 วัน	55
9	ลูกชั่วที่ 3 (F3) ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3, BC_3F_3 ของคู่ผสม กข 23/ *O. nivara* และชัยนาท1/ *O. nivara* แสดงการฟื้นตัวจากแล้งหลังจากให้น้ำใหม่ 10 วัน	55

การถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อสภาพแล้งจากข้าวป่า (*Oryza nivara* Sharma et Shastry) ไปยังข้าวปลูก (*O. sativa* L.) โดยการเพาะเลี้ยงคัพภะและการผสมกลับ

Introgression of Drought Resistance from Wild Rice (*Oryza nivara* Sharma et Shastry) to Cultivated Rice (*O. sativa* L.) by Embryo Culture and Backcrossing

คำนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่สุดของประเทศไทย เนื่องจากข้าวเป็นอาหารหลักที่สำคัญที่สุดของคนไทย และเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้กับประเทศสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสินค้าส่งออกทางการเกษตรอื่นๆ ในปีพ.ศ. 2550/51 ประเทศไทยผลิตข้าวได้ทั้งหมด 29.90 ล้านตัน ข้าวเปลือก คิดเป็นข้าวสาร 19.93 ล้านตัน (1.5 ตันข้าวเปลือกเท่ากับ 1 ตันข้าวสาร) ใช้บริโภคภายในประเทศ 10.73 ล้านตันข้าวสาร และส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ 9.20 ล้านตันข้าวสาร คิดเป็นมูลค่าถึง 119,304 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2551)

ข้าวเป็นพืชที่มีพื้นที่ปลูกมากที่สุดในประเทศไทย ในปีการเพาะปลูก 2550/51 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าว 66.95 ล้านไร่ และสามารถแบ่งพื้นที่ปลูกข้าวของประเทศไทยออกได้เป็น 2 ประเภท โดยอาศัยแหล่งที่มาของน้ำ คือ พื้นที่ปลูกข้าวในเขตชลประทาน ซึ่งเป็นระบบการทำนาที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงสุดโดยอาศัยน้ำจากเขื่อนและอ่างเก็บน้ำ และพื้นที่ปลูกข้าวนอกเขตชลประทานหรือเขตน้ำฝนซึ่งเป็นระบบการทำนาที่อาศัยน้ำฝนเป็นหลัก โดยปกติพื้นที่ปลูกข้าวส่วนใหญ่ของประเทศไทยประมาณ 67.76 เปอร์เซ็นต์จะอยู่นอกเขตชลประทาน ส่วนที่เหลืออีกประมาณ 32.24 เปอร์เซ็นต์จะอยู่ในเขตชลประทาน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2551) ซึ่งการเพาะปลูกข้าวนอกเขตชลประทานโดยอาศัยน้ำฝนในฤดูนาปีมักจะประสบกับปัญหาความแห้งแล้งอันเนื่องมาจากความแปรปรวนในการตกของฝน เช่นฝนตกล่าช้า ฝนตกทิ้งช่วง การกระจายของ ฝนไม่ดี ปริมาณน้ำฝนน้อย เป็นต้น ทำให้ผลผลิตข้าวได้รับความเสียหาย โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งมีพื้นที่ปลูกข้าวมากที่สุด 32.71 ล้านไร่ และเป็นพื้นที่เขตนาน้ำฝนถึงประมาณ 23.39 ล้านไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2551) ดังนั้นการพัฒนาพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อสภาพแล้งนับว่าเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยลดความเสียหายของต้นข้าวเนื่องจากปัญหาสภาพแล้งได้

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อสภาพแล้งโดยใช้แหล่งพันธุกรรมจากข้าวปลูก (cultivated rice) นั้นมีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นเพื่อเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมของลักษณะดังกล่าว การนำข้าวป่า (wild rice) และพืชสกุลใกล้เคียง (related genera) ที่มีลักษณะต้านทานแล้งมาถ่ายทอดให้กับข้าวปลูกจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวได้ แต่เนื่องจากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่าซึ่งเป็นข้าวต่างชนิดกันจะทำให้คัพภะ (embryo) ในเมล็ดที่เกิดขึ้นไม่สามารถเจริญเติบโตจนเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์และงอกได้ในสภาพธรรมชาติ จึงได้นำคัพภะอ่อนของลูกผสมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เพื่อชักนำให้คัพภะอ่อนงอกเป็นต้นและเจริญเติบโตได้อย่างปกติ จากนั้นนำต้นลูกผสมที่ได้ออกปลูกแล้วผสมกลับ (backcross) ไปยังพันธุ์ปลูกหลายๆ ครั้ง เพื่อให้ได้ต้น/สายพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานแล้งจากข้าวป่า และยังคงลักษณะทางเกษตรที่ดีของข้าวปลูกไว้ได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอัตราการผสมข้ามติดเมล็ดระหว่างข้าวปลูก (*O. sativa*) กับข้าวป่า (*O. nivara*)

2. เพื่อศึกษาช่วงอายุของคัพภะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำคัพภะลูกผสมระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าให้เจริญเป็นต้น

3. เพื่อถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อสภาพแล้งจากข้าวป่า ไปยังข้าวปลูกโดยการผสมกลับร่วมกับการเพาะเลี้ยงคัพภะ

การตรวจเอกสาร

ข้าวเป็นพืชล้มลุกที่จัดอยู่ในวงศ์หญ้า (Gramineae หรือ Poaceae) สกุล *Oryza* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ข้าวแบ่งเป็น 2 พวก คือ ข้าวปลูก (cultivated rice) และข้าวป่า (wild rice) ข้าวปลูกมี 2 ชนิด (species) คือ ข้าวปลูกเอเชีย (*Oryza sativa* L.) และข้าวปลูกแอฟริกา (*Oryza glaberrima* Steud.) ส่วนข้าวป่ามีทั้งหมด 21 ชนิด (Eizenga and Rutger, 2003) (ตารางที่ 1)

ข้าวป่า

ข้าวปลูกทั้งสองชนิดมีสภาพเป็นดิพลอยด์ (diploid) (2n=2x=24) โดยมีจีโนมเป็น *AA* ข้าวป่าที่ใกล้ชิดกับข้าวปลูกซึ่งเป็นดิพลอยด์และมีจีโนมเป็น *AA* เหมือนกันมี 6 ชนิดคือ *O. nivara* Sharma et Shastry, *O. rufipogon* Griff., *O. breviligulata* A. Chev. et Roehr, *O. longistaminata* A. Chev. et Roehr, *O. meridionalis* Ng และ *O. glumaepatula* Steud. ข้าวป่า บางชนิดมีสภาพเป็นดิพลอยด์แต่มีจีโนมต่างจากจีโนม *AA* คือ *O. punctata* Steud. ซึ่งมีจีโนมเป็น *BB O. officinalis* Wall. ex. Watt, *O. rhizomatis* Vaughan และ *O. eichingeri* A. Peter มีจีโนมเป็น *CC O. australiensis* Domin มีจีโนมเป็น *EE O. brachyantha* A. Chev. et Roehr. มีจีโนมเป็น *FF* และ *O. granulate* Nees et Arn. Ex Watt และ *O. meyeriana* (Zoll.et Morrill ex. Steud.) Baill มีจีโนมเป็น *GG* นอกจากนี้ยังมีข้าวป่าที่เป็นเตตราพลอยด์ (tetraploid) ที่มีจีโนมเป็น *BBCC* คือ *O. minuta* J.S. Presl. ex. C.B. Presl. ที่มีจีโนมเป็น *CCDD* คือ *O. latifolia* Desv., *O. alta* Swallen และ *O. grandiglumis* (Doell.) Prod ที่มีจีโนมเป็น *HHJJ* คือ *O. longiglumis* Jansen และ *O. ridleyi* Hook.F. (Eizenga and Rutger, 2003) และ *O. schlechteri* Pilger มีจีโนมเป็น *HHKK* (Brar and Khush, 2002; Wing *et al*., 2005)

ในประเทศไทยมีข้าวป่าขึ้นอยู่ทุกภาคของประเทศ แต่ที่พบมีเพียง 6 ชนิดคือ *O. rufipogon* Griff. (2n=2x=24, *AA*) ซึ่งพบในทุกภาคของประเทศและเป็นข้าวป่าชนิดที่ผสมกับข้าวปลูกได้ง่าย เพราะมีบรรพบุรุษร่วมกับข้าวปลูก *O. nivara* (2n=2x=24, *AA*) พบทุกภาคของประเทศ *O. minuta* Presl. (2n=4x=48, *BBCC*) พบเพียงตัวอย่างเดียวจากสุโขทัย *O. officinalis* Wall. ex. Watt (2n=2x=24, *CC*) พบในจังหวัดนนทบุรี ชุมพร กรุงเทพฯ เชียงราย และสระบุรี *O. granulata* Ness. พบทางภาคเหนือบริเวณจังหวัดน่าน เชียงใหม่ อุตรดิตถ์ ข้าวป่าชนิดสุดท้ายที่พบในประเทศไทยคือ

O. ridleyi Hook. (2n=4x=48) พบในจังหวัดนนทบุรี สระบุรี สงขลา สุรินทร์ และปราจีนบุรี นอกจากข้าวป่าที่กล่าวมาแล้ว ยังพบข้าวป่าที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างข้าวป่ากับข้าวปลูก หรือระหว่างข้าวป่าที่เป็นบรรพบุรุษข้าวปลูกด้วยกัน ข้าวป่าประเภทนี้ มีการกระจายตัวหรือแปรปรวนสูง ไม่สามารถจัดเป็นอีกชนิดได้ จึงเรียกว่า Spontanea forms (สงกรานต์, 2543)

ตารางที่ 1 ข้าวป่าชนิดต่างๆ และลักษณะที่เป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์

ชนิดของข้าวป่า	จำนวนโครโมโซม (2n)	จีโนม	ลักษณะที่เป็นประโยชน์
O. nivara	24	*AA*	ต้านทานต่อโรคเขียวเตี้ย โรคไหม้ และการเลี่ยงแล้ง
O. rufipogon	24	*AA*	ความสามารถในการยืดตัว ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง และลักษณะการเป็นหมันของเพศผู้เนื่องจากยีนในไซโตพลาสซึม (CMS)
O. breviligulata	24	A^gA^g	ต้านทานต่อเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียวโรคขอบใบแห้ง และการเลี่ยงแล้ง
O. longistaminata	24	A^gA^g	ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง และการเลี่ยงแล้ง
O. meridionalis	24	A^mA^m	ความสามารถในการยืดปล้อง และการเลี่ยงแล้ง
O. glumaepatula	24	$A^{gp}A^{gp}$	ความสามารถในการยืดปล้อง และลักษณะการเป็นหมันของเพศผู้เนื่องจากยีนในไซโตพลาสซึม (CMS)
O. punctata	24	*BB*	ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเพลี้ยจั๊กจั่นปีกลายหยัก
O. minuta	48	*BBCC*	ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว และโรคเหี่ยว
O. eichingeri	24	*CC*	ต้านทานต่อโรคใบด่างเหลือง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว และเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว
O. officinalis	24	*CC*	ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว และเพลี้ยกระโดดหลังขาว
O. rhizomatis	24	*CC*	การเลี่ยงแล้ง และความสามารถในการสร้างไรโซม (rhizome)
O. alta	48	*CCDD*	ต้านทานต่อหนอนกอแถบลาย และให้ผลผลิตชีวมวลสูง
O. grandiglumis	48	*CCDD*	ให้ผลผลิตชีวมวลสูง
O. latifolia	48	*CCDD*	ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว และเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว
O. australiensis	24	*EE*	ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และการเลี่ยงแล้ง

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของข้าวป่า	จำนวนโครโมโซม (2n)	จีโนม	ลักษณะที่เป็นประโยชน์
O. brachyantha	24	*FF*	ต้านทานต่อหนอนกอสีครีม หนอนมวนใบข้าว หนอนแมลงวันเจาะยอดข้าว และทนทานต่อดินที่มีธาตุเหล็กสูง
O. granulata	24	*GG*	ทนทานต่อสภาพร่มเงา และปรับตัวให้สามารถอยู่ได้ในดินที่ขาดออกซิเจน
O. meyeriana	24	*GG*	ทนทานต่อสภาพร่มเงา และปรับตัวให้สามารถอยู่ได้ในดินที่ขาดออกซิเจน
O. longiglumis	48	*HHJJ*	ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง และโรคไหม้
O. ridleyi	48	*HHJJ*	ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง หนอนเจาะลำต้น หนอนแมลงวันเจาะยอดข้าว และโรคไหม้
O. schlechteri	48	*HHKK*	ความสามารถในการสร้างไหลเพื่อการขยายพันธุ์ (stoloniferous)

ที่มา: Eizenga and Rutger (2003)

ลักษณะที่เป็นประโยชน์ของข้าวป่า

พืชในสกุล *Oryza* ซึ่งประกอบด้วยข้าวป่าประมาณ 21 ชนิดนั้นเป็นแหล่งพันธุกรรมของลักษณะที่มีประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์พืชมากมาย (ตารางที่ 1) เช่น ความต้านทานโรคและแมลงหลายชนิด ความต้านทานต่อสภาพแล้ง ความทนทานต่อสภาพร่มเงา ความสามารถในการยืดปล้องของลำต้น ความสามารถในการสร้างไรโซม (rhizome) เพื่อการขยายพันธุ์และการอยู่รอดในฤดูแล้ง ลักษณะ เพศผู้เป็นหมัน เป็นต้น (Brar and Khush, 2002; Somantri, 2002; Eizenga and Rutger, 2003)

Khush and Ling (1974) รายงานว่า *O. nivara* มียีนเด่นที่ควบคุมลักษณะต้านทานต่อโรคเขียวเตี้ยที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส (grassy stunt virus) โดยมีเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด (biotype) ที่ 1 เป็นพาหะ นอกจากนั้น *O. nivara* acc. no. 105623 ยังต้านทานต่อสภาพแล้งเนื่องจากมีระบบรากที่ดี (Abdullah *et al*., 2003)

Vermani and Shinjyo (1988) พบว่าบาง accession ของ *O. rufipogon* จากศรีลังกาสามารถทนทาน (tolerance) ต่อสภาพดินเค็มได้และยังใช้เป็นแหล่งของยีนที่ควบคุมการเกิดลักษณะเพศผู้เป็นหมันได้ด้วย

IRRI (1990) รายงานว่ามีข้าวป่าหลายชนิดเช่น *O. rhizomatis* ที่มีไรโซม ซึ่งทำให้สามารถอยู่รอดได้ในฤดูแล้ง และข้าวป่าบางชนิดเช่น *O. rufipogon* สามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีกรดซัลฟูริคปริมาณสูงๆ ซึ่งข้าวปลูกไม่สามารถเจริญเติบโตได้

IRRI (1991) รายงานว่า *O. officinalis* Wall. ex. Watt สามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมของความต้านทานต่อโรคใบสีส้ม (tungro) ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส เช่น rice tungro bacilliform virus และ rice tungro spherical virus นอกจากนั้น *O. officinalis* ยังต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเพลี้ยกระโดดหลังขาว (Tan *et al*., 2004)

Rongbai (1994) ได้ศึกษาความต้านทานต่อโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยกระโดดหลังขาวของข้าวป่าบางชนิด พบว่า *O. rufipogon* 23 accession และ *O. officinalis* 15 accession ต้านทานต่อโรคไหม้ *O. rufipogon* 16 accession และ *O. officinalis* 11 accession ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งเชื้อสายพันธุ์ (races) ที่ I-V *O. rufipogon* 20 accession ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชีวชนิดที่ 1 และ 2 ส่วน *O. officinalis* 117 accession ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดหลังขาว

Rongbai *et al*. (2001) รายงานว่า *O. rufipogon* สามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมของความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิดที่ 2 อยู่ในระดับต้านทานสูง

Yan *et al*. (2002) รายงานว่า *O. eichingeri* acc. no. 105159 และ 105163 สามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมของความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวได้

Multani *et al*. (2003) รายงานว่า *O. latifolia* สามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมของความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเพลี้ยกระโดดหลังขาว

Brar and Khush (2006) รายงานว่า *O. rufipogon* สามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมอายุเก็บเกี่ยวสั้น (90-100) ต้านทานต่อดินเป็นกรดซัลเฟท และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การผสมพืชข้ามชนิด

จากการปรับปรุงพันธุ์พืชตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบันชี้ให้เห็นว่าความสำเร็จของการปรับปรุงพันธุ์พืชขึ้นอยู่กับความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่มีอยู่ในพืชนั้น แต่เมื่อความแปรปรวนในพืชชนิดเดียวกันมีอยู่น้อยหรือมีความแปรปรวนที่ไม่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ก็สามารถที่จะสร้างขึ้นมาใหม่ได้โดยวิธีการอื่นๆ เช่น การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) นอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่นที่น่าสนใจอีกวิธีหนึ่งคือ การผสมพันธุ์ระหว่างพืชต่างชนิดกัน (ไพศาล, 2527)

การผสมพืชข้ามชนิด หมายถึงการผสมพันธุ์ระหว่างพืชต่างชนิด (interspecific hybridization) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อถ่ายทอดยีนบางตัวที่ควบคุมลักษณะที่มีประโยชน์และลักษณะใหม่ๆ ให้กับพืชที่ต้องการปรับปรุง ซึ่งลักษณะต่างๆ ดังกล่าวอาจได้มาจากพืชป่า ข้าวก็เป็นพืชหนึ่งที่สามารถทำการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีนี้ได้เนื่องจากข้าวปลูกและข้าวป่ามียีโนมรวมกันทั้งหมดถึง 9 แบบคือ *A* ถึง *J* ซึ่งเมื่อรวมกันเป็นดิพลอยด์และเตตราพลอยด์แล้ว ทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม จึงสามารถคัดเลือกพันธุกรรมที่ต้องการได้ อย่างไรก็ตามแม้ว่าข้าวป่าจะมีลักษณะทางพันธุกรรมที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มาก แต่การนำไปใช้เพื่อปรับปรุงพันธุ์ยังไม่แพร่หลายนัก (Toeninessen, 1990)

การถ่ายทอดลักษณะที่ต้องการจากข้าวป่าไปยังข้าวปลูก

ในปัจจุบันได้มีการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกที่มีจีโนมเป็น *AA* และข้าวป่าซึ่งมีจีโนมเป็น *CC*, *EE*, *FF*, *GG*, *BBCC* และ *CCDD* เพื่อถ่ายทอดลักษณะที่ดีต่างๆ จากข้าวป่าสู่ข้าวปลูก (IRRI, 1993) เช่น ความต้านทานต่อโรคและแมลง ความต้านทานต่อสภาพแล้ง ความทนทานต่อร่มเงา ความสามารถในการยืดปล้อง เป็นต้น

ชูศักดิ์ (2536) ได้ผสมข้ามชนิดระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า *O. minuta* เพื่อถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว พบว่าลูกผสมที่ได้มีลักษณะค่อนไปทางข้าวป่า ทุกต้นมีจีโนมเป็น *ABC* จึงเป็นหมัน แต่มีความต้านทานต่อเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว

สุพรรณญิกา (2539) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ กข 7 กับข้าวป่า *O. minuta* (*BBCC*) เพื่อถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าวป่าไปยังข้าวปลูก พบว่าลูกชั่วที่ 3 แสดงลักษณะความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล นอกจากนี้ วัชรีวรรณ

(2540) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ทีบอนเนต กับข้าวป่า *O. minuta* (GS.8173) พบว่าต้นกล้าชั่วที่ 2 จำนวน 36.03 เปอร์เซ็นต์ มีความต้านทานสูงต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และส่วนที่เหลือเกือบทั้งหมดต้านทานระดับปานกลาง

บวรพนธ์ (2544) ได้ผสมข้ามชนิดระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และคลองหลวง 1 กับข้าวป่า *O. officinalis* เพื่อถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากข้าวป่าไปยังข้าวปลูกทั้งสองพันธุ์ พบว่าลูกผสมชั่วแรกมีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอยู่ในระดับต้านทานดีมากซึ่งเป็นระดับเดียวกับที่พบใน *O. officinalis*

Sitch *et al*. (1990) ได้ผสมข้ามระหว่าง *O. sativa* (*AA*) กับ *O. brachyantha* (*FF*) acc. no. 101231, 101232, 101233 และ105151 เพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานต่อหนอนกอสีขาวหรือหนอนกอสีครีม พบว่าลูกผสมชั่วแรกที่ได้มีโครโมโซมอยู่ในสภาพ 24 univalent ในระยะ diakinesis และ metaphase I ของการแบ่งเซลล์แบบ meiosis จึงเป็นหมัน และได้ทำการผสมกลับไปยังข้าวปลูก ได้ลูกผสมกลับชั่วที่ 1 จำนวน 82 ต้น และจากการทดสอบพบว่าลูกผสมกลับชั่วที่ 1 (*AAF*, 2n=36) ทุกต้นมีความต้านทานต่อหนอนกอสีครีม

Ye and Saxena (1990) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก 2 พันธุ์ (IR54742 และIR54751) กับ *O. officinalis* เพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดหลังขาว เมื่อนำลูกผสมกลับ BC_2F_6 จำนวน 243 สายพันธุ์ ไปทดสอบความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดหลังขาว พบว่า สายพันธุ์ IR54742-23-1-29-18 และ IR54751-2-41-10-5 มีลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดหลังขาว *Sogatella furcifera* (Horvath)

Amante-Border *et al*. (1992) ทำการปรับปรุงพันธุ์ข้าวปลูกสายพันธุ์ (IR31917-45-3-2) ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งและโรคไหม้โดยใช้แหล่งพันธุกรรมจากข้าวป่า *O. minuta* (acc. no. 101141) ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 48 แท่ง และมีชนิดของจีโนมเป็น *BBCC* พบว่า ลูกผสมชั่วที่หนึ่งสามารถต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งและโรคไหม้ได้ แต่มีละอองเกสรเป็นหมันอย่างสมบูรณ์

IRRI (1993) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า 4 ชนิดคือ *O. granulata*, *O. rhizomatis*, *O. officinalis* และ *O. ridleyi* แล้วเพาะเลี้ยงคัพภะลูกผสมเพื่อช่วยชีวิต จากนั้นนำลูกผสมที่ได้ผสมกลับไปยังข้าวปลูกเพื่อถ่ายทอดยีนต้านทานโรคไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจาก *O. granulata* และ *O. rhizomatis* ยีนต้านทานโรคเน่าจาก

O. officinalis IRGC acc. no. 101399 ยีนต้านทานต่อไวรัสสาเหตุของโรคใบสีส้มจาก *O. officinalis* IRGC acc. no. 105220 และยีนต้านทานต่อหนอนเจาะลำต้นจาก *O. ridlryi* IRGC acc. no. 100821 ไปยังข้าวปลูก

Mariam *et al*. (1996) ได้ผสมข้ามชนิดระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า *O. minuta* เพื่อถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อ *Xanthomonas campestris* pv. *Oryzae* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในข้าว จากนั้นนำลูกผสมที่ได้ผสมกลับไปยังข้าวปลูก 2 ครั้ง พบว่าลูกผสมชั่วแรก (F_1) และลูกผสมกลับชั่วที่ 1 (BC_1) ทุกต้นมีความต้านทานต่อ *Xanthomonas campestris* pv. *Oryza* ทั้ง 5 สายพันธุ์ ส่วนลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2) มีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง 24 ถึง 37 แท่ง และมีการกระจายตัวของลักษณะความต้านทานต่อ *Xanthomonas campestris* pv. *Oryzae* ตั้งแต่ระดับมีความต้านทานจนถึงระดับค่อนข้างอ่อนแอ ยกเว้นในต้นที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 24 แท่ง ซึ่งมีความต้านทานต่อ *Xanthomonas campestris* pv. *Oryzae* ทั้ง 4 สายพันธุ์

Rongbai *et al*. (2001) ได้ผสมข้ามชนิดระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า *O. rufipogon* เพื่อถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่า สายพันธุ์ 94-42-5-1 มียีนใหม่ที่ได้จาก *O. rufipogon* โดยยีนใหม่ที่พบมีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิดที่ 2 อยู่ในระดับต้านทานสูง

Yan *et al*. (2002) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวป่า *O. eichingeri* acc. no. 105159 และ105163 ซึ่งมีจีโนมเป็น *CC* กับข้าวปลูกสายพันธุ์ 02428 เพื่อถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากนั้นได้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (DNA cloning) ที่ได้จาก *O. eichingeri* acc. no. 105163 ซึ่งดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้นี้มีขนาด 325-366 คู่เบส และมีจำนวนเบสซ้ำประมาณ 5,000 ซ้ำต่อ 1 จีโนม และพบดีเอ็นเอขนาดเดียวกันในสายพันธุ์ข้าว 25 สายพันธุ์ จากลำดับเบสที่มีจำนวนซ้ำมากนี้ แสดงให้เห็นว่าข้าวป่าที่มีจีโนมเป็น *CC* จะมีความจำเพาะสูง

Multani *et al*. (2003) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า O. *latifolia* acc. no. 100914 เพื่อถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเพลี้ยกระโดดหลังขาว เมื่อได้ลูกผสมกลับ BC_3F_3 ทั้งหมด 2,295 ต้น แล้วนำไปทดสอบ พบว่า ลูกผสมกลับ BC_3F_3 จำนวน 309 ต้นมีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ส่วนอีกจำนวน 188 ต้นมีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดหลังขาวและโรคขอบใบแห้ง และมีอยู่ 4 ต้น ที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยกระโดดหลังขาว

อุปสรรคของการผสมข้ามระหว่างพืชต่างชนิด

ในการผสมข้ามระหว่างพืชต่างชนิดกันนั้นมีอุปสรรคมากมายหลายประการ (กฤษฎา, 2546; Brar and Khush, 1986) ซึ่งสามารถแบ่งอุปสรรคที่ขัดขวางไม่ให้พืชต่างชนิดผสมกันได้ออกเป็น 2 พวก ดังนี้

1. อุปสรรคก่อนการปฏิสนธิระหว่างสเปิร์มกับไข่

อุปสรรคก่อนการปฏิสนธิระหว่างสเปิร์มกับไข่เกิดขึ้นได้จากสาเหตุหลายประการ ถึงแม้ว่าจะมีการถ่ายละอองเกสรเกิดขึ้นแต่ละอองเกสรตัวผู้ไม่สามารถงอกบนเกสรตัวเมียของพืชต่างชนิดหรืองอกได้ช้าทำให้ไข่สลายตัวไปก่อนที่สเปิร์มจะเข้าไปปฏิสนธิ เช่น Sree Rumla *et al*. (1979) ได้ผสมข้ามระหว่าง *Nicotiana* sp. กับ *Lycopersicon* sp. พบว่าการเจริญของท่อละอองเกสร (pollen tube) ไปยังไมโครไพล์เกิดขึ้นช้า เช่นเดียวกับที่พบในการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 นางมลเอส 4 และไออาร์ 58 กับข้าวป่า *O. minuta* (ผ่องพรรณ, 2538) หรือท่อละอองเกสรงอกเข้าไปในรังไข่ (ovary) แล้วปลายท่อละอองเกสรโค้งขดงอในการผสมข้ามระหว่างข้าวบาร์เลย์กับข้าวไรย์ (Kho and Bear, 1970; Bannikra and Khredynich, 1974) และท่อละอองเกสรแตกกิ่งก้านสาขาในการผสมข้ามชนิดในผักโขม (spinach) (Ramana, 1975)

Sitch (1990) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก สายพันธุ์ IR 31917-45-9-2 กับข้าวป่า 5 ชนิดคือ *O. officinalis* (*CC*), *O. eichingeri* (*CC*), *O. minuta* (*BBCC*), *O. alta* (*CCDD*) และ *O. brachyantha* (*FF*) แล้วตรวจดูการงอกของละอองเกสรและท่อละอองเกสรในก้านเกสรตัวเมีย พบว่าข้าวป่าทั้ง 5 ชนิดงอกท่อละอองเกสรเพื่อส่งสเปิร์มเข้าไปยังรังไข่ได้ แต่ *O. brachyantha* งอกท่อละอองเกสรได้น้อยที่สุดและไม่มีการปฏิสนธิเกิดขึ้น ส่วน *O. alta* มีเปอร์เซ็นต์การปฏิสนธิสูงสุด 35 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ *O. officinalis* 24 เปอร์เซ็นต์ *O. minuta* 11 เปอร์เซ็นต์ และ *O. eichingeri* 2 เปอร์เซ็นต์

2. อุปสรรคหลังการปฏิสนธิ

เมื่อไข่ได้รับการผสมกับสเปิร์มได้เป็นไซโกต (zygote) แล้ว ไซโกตไม่สามารถมีชีวิตรอดหรืออ่อนแอ ทั้งนี้มีสาเหตุมาจากความแตกต่างในจำนวนชุดโครโมโซมหรือยีโนมของพืชที่นำมาผสม (Sitch, 1990) หรือมีความผิดปกติในการกระจายตัวของโครโมโซม และการแบ่งเซลล์ใน

นิวเคลียสของเอนโดสเปิร์มที่ผิดปกติ ส่งผลให้การพัฒนาของเอนโดสเปิร์มผิดปกติ ทำให้เมล็ดลีบ ฝ่อ และคัพภะตาย (Cooper and Brink, 1944) หรือการสลายตัวของคัพภะและเอนโดสเปิร์ม เนื่องมาจากมียีนมรณะ (lethal gene) ชุดหนึ่งที่รบกวนการแบ่งเซลล์ของไซโกตลูกผสมชั่วแรกและมีผลกระทบต่อการพัฒนาในช่วงแรกของเอนโดสเปิร์ม (Chu *et al*., 1969) หรือไซโกตของลูกผสมไม่ปกติเพราะการพัฒนาของเอนโดสเปิร์มล้มเหลวในช่วงแรกเนื่องจากมียีน *Cif* ในเพศเมียและยีน *cim* ในเพศผู้ ที่ทำให้การผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก (*O. sativa*) และข้าวป่า (*O. rufipogon*) ได้ไซโกตที่ไม่สมบูรณ์ (Matsubara *et al*., 2003)

Miura *et al*. (2008) พบว่าอุปสรรคของการสืบพันธุ์ในการสร้างลูกผสมต่างสปีชีส์ระหว่างข้าวพันธุ์ปลูก *O. sativa* พันธุ์ Koshihikari กับข้าวป่า *O. nivara* เกิดจากการควบคุมของยีน *hbdl(t)* ซึ่งอยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 2 ของ *O. nivara* โดยยีนนี้ถูกถ่ายทอดมายังลูกผสม ทำให้ลูกผสมอ่อนแอ เจริญเติบโตไม่ดีและตายไปก่อนที่จะออกรวง

การช่วยชีวิตคัพภะอ่อนของลูกผสมระหว่างชนิด

การเพาะเลี้ยงคัพภะ (embryo culture) หมายถึงการนำคัพภะที่เกิดจากต้นพืชในสภาพธรรมชาติในถุงรังไข่มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพที่ปลอดเชื้อ เพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้นพืชทั้งต้นโดยตรง หรือโดยผ่านการเป็นแคลลัสเสียก่อน (รังสฤษดิ์, 2540)

ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงคัพภะมีหลายอย่าง เช่น ช่วยแก้ปัญหาการไม่งอกของเมล็ดพืชบางชนิดที่มีอาหารสะสมในเมล็ดไม่เพียงพอ ช่วยในการเจริญและพัฒนาของคัพภะที่ไม่ได้รับการผสม สามารถขยายพันธุ์ได้พืชจำนวนมากได้ในเวลาอันรวดเร็ว ผลิตพืชที่มีจำนวนชุดโครโมโซมและจีโนมแบบต่างๆ ประหยัดเวลาในการปรับปรุงพันธุ์โดยช่วยทำลายการพักตัวของเมล็ด ผลิตเมล็ดพืชเทียมหรือเมล็ดพืชสังเคราะห์ และใช้ในการช่วยชีวิตคัพภะลูกผสมที่ได้จากการผสมข้ามชนิดหรือผสมข้ามสกุล ซึ่งปกติแล้วคัพภะลูกผสมเหล่านี้ถ้าอยู่ในสภาพธรรมชาติคัพภะจะตายแต่ถ้านำมาเพาะเลี้ยงจะสามารถอยู่รอดและงอกเป็นต้นได้ การเพาะเลี้ยงคัพภะมักใช้ในการเลี้ยงลูกผสมระหว่างชนิดของพืชพวก ถั่ว ลิลลี่ ฝ้าย มะเขือเทศ ข้าวบาร์เลย์ และข้าว (Pierik, 1987)

ชูศักดิ์ (2536) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวป่า *O. minuta* กับข้าวปลูก *O. sativa* 3 พันธุ์ คือ ขาวดอกมะลิ 105 นางมลเอส 4 และไออาร์ 58 แล้วนำคัพภะอ่อนของข้าวลูกผสมที่มีอายุ 9 ถึง 14 วันมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักเพียง ¼ เท่าของสูตรอาหารเดิม เติมน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์และวุ้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในคู่ผสมขาวดอกมะลิ 105/*O. minuta* มีอัตราการกู้คัพภะรอดสูงสุดเป็น 81.25 เปอร์เซ็นต์เมื่อคัพภะมีอายุ 13 วัน ส่วนคู่ผสมนางมลเอส 4/*O. minuta* และไออาร์ 58/*O. minuta* มีอัตราการกู้คัพภะรอดสูงสุดเป็น 87.50 และ 95.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับเมื่อคัพภะมีอายุ 12 วัน

ประดิษฐ์ และคณะ (2536) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวป่า *O. minuta* (2n=48, BBCC) กับข้าวปลูก 3 พันธุ์คือ IR70, IR72 และIR74 เมื่อนำคัพภะอ่อนซึ่งมีอายุต่างกันในแต่ละคู่ผสมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ ปรากฏว่า ในคู่ผสมของ IR70/ *O. minuta* คัพภะอายุ 11 วัน และ 13 วัน สามารถพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติมสารสกัดจากยีสต์ 1 กรัมต่อลิตร และ BAP 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับคู่ผสม IR72/*O. minuta* และคู่ผสม IR74/ *O. minuta* คัพภะที่มีอายุ 9 ถึง 12 วัน และ 13 ถึง 14 วัน คัพภะสามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ในอาหารสูตรเดียวกับคู่ผสม IR70/ *O. minuta*

สุพรรณญิกา (2539) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก (*O. sativa*, *AA)* พันธุ์ กข 7 กับข้าวป่า (*O. minuta*, *BBCC*) แล้วนำคัพภะอ่อนของข้าวลูกผสมที่มีอายุ 7 ถึง 13 วัน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าคัพภะที่อายุ 13 วันมีอัตราการกู้คัพภะสำเร็จสูงที่สุด คือร้อยละ 86.67

บวรพนธ์ (2544) ได้ผสมข้ามชนิดระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และคลองหลวง 1 กับข้าวป่า *O. officinalis* แล้วนำคัพภะอ่อนของข้าวลูกผสมที่มีอายุ 9 ถึง 14 วัน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก 25 เปอร์เซ็นต์ พบว่า คัพภะอายุ 11 วันของทั้งสองคู่ผสมมีอัตราการกู้คัพภะรอดสูงที่สุด 61.21 และ 75.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Jena and Khush (1986) ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า *O. officinalis* (*CC*) พบว่าคัพภะที่ได้พัฒนาไม่สมบูรณ์ จะเริ่มเหี่ยวและตายภายหลังการผสมเกสร 14 วัน แต่เมื่อนำคัพภะอ่อนที่มีอายุ 10 ถึง 14 วันหลังการผสมเกสรมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักเพียง ¼ เท่าของสูตรอาหารเดิม แล้วไปไว้ในที่มืดจนคัพภะงอก จึงนำออกมาให้ได้รับแสง พบว่าอัตราการงอกของคัพภะอ่อนอยู่ระหว่าง 56.5 ถึง 70.05 เปอร์เซ็นต์

IRRI (1991) ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า 5 ชนิดคือ *O. officinalis* (*CC*), *O. eichingeri* (*CC*), *O. latifolia* (*CCDD*), *O. granulata* (*GG*), และ *O. ridleyi* (*HHJJ*) แล้วนำคัพภะอ่อนที่ได้ภายหลังการผสมเกสร 10 ถึง 14 วัน ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักเพียง ¼ เท่าของสูตรอาหารเดิม จากนั้นนำไปไว้ในที่มืดจนคัพภะงอก จึงนำออกมาให้ได้รับแสง พบว่าคัพภะอ่อนดังกล่าวสามารถงอกและเจริญไปเป็นต้นได้

Multani *et al*. (1994) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวป่า *O. australiensis* (*EE*) กับข้าวปลูก แล้วนำคัพภะอ่อนที่มีอายุ 10 ถึง 14 วันหลังการผสมเกสรมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักเพียง ¼ เท่าของสูตรอาหารเดิม นำไปไว้ในที่มืดจนคัพภะงอกเป็นต้น จึงนำออกมาให้ได้รับแสง พบว่า อัตราการงอกของคัพภะอ่อนอยู่ระหว่าง 52.4 ถึง 62.9 เปอร์เซ็นต์

Clarke *et al*. (2005) ได้ศึกษาการช่วยชีวิตคัพภะของถั่ว chickpea ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างถั่วพันธุ์ปลูก(*Cicer arietinum* L.) และถั่วพันธุ์ป่า 2 ชนิด คือ *C. bijugum* และ *C. pinnatifidum* พบว่า ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการช่วยชีวิตคัพภะที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างถั่วพันธุ์ปลูกกับถั่วพันธุ์ป่า *C. bijugum* คือระยะ early globular (ประมาณ 2-7 วันหลังการผสมเกสร) ในทางตรงกันข้ามคัพภะของลูกผสมข้ามระหว่างถั่วพันธุ์ปลูกกับถั่วพันธุ์ป่า *C. pinnatifidum* จะตายภายหลังที่ระยะ heart-shape หรือ torpedo shape

Sah *et al*. (2007) ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก 2 พันธุ์ (IR 64 และ Radha 4) และสายพันธุ์ A (IR 69618 – CMS) กับข้าวป่า 3 ชนิดคือ *O. latifolia*, *O. minuta* และ *O. officinalis* แล้วนำคัพภะอ่อนที่ได้ภายหลังการผสมเกสร 10 วัน ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักเพียง ¼ เท่าของสูตรอาหารเดิม จากนั้นนำไปไว้ในที่มืดจนคัพภะงอก จึงนำออกมาให้ได้รับแสง พบว่า อัตราการงอกของคัพภะอ่อนอยู่ระหว่าง 43.75 ถึง 83.33 เปอร์เซ็นต์

การผสมกลับ (backcrossing)

วัตถุประสงค์ที่สำคัญของการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมกลับก็เพื่อต้องการที่จะปรับปรุงลักษณะอย่างหนึ่งอย่างใดในพันธุ์ข้าวที่ต้องการ โดยพันธุ์ข้าวที่ต้องการจะปรับปรุงนั้นจะเป็นพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะอื่นๆ ที่ดีพร้อมอยู่แล้ว ลักษณะที่ต้องการจะปรับปรุงโดยวิธีการผสมกลับนี้ควร

จะต้องเป็นลักษณะที่ควบคุมโดยยีนเพียงคู่เดียว โดยวิธีการนี้จะนำพันธุ์ข้าวสองพันธุ์ที่คัดเลือกไว้มาผสมพันธุ์กัน ข้าวพันธุ์หนึ่งจะเป็นพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะดี แต่ขาดลักษณะที่ต้องการเพียงอย่างหนึ่งอย่างใด เรียกว่าเป็น พันธุ์รับ (recurrent parent) ส่วนข้าวอีกพันธุ์หนึ่ง จะเป็นพันธุ์ข้าวที่มียีนซึ่งควบคุมลักษณะที่ตัวรับต้องการ เรียกว่าเป็น พันธุ์ให้ (donor parent) ข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 ของคู่ผสมนี้จะนำไปผสมพันธุ์กลับไปยังพันธุ์ข้าวซึ่งเป็นตัวรับ อีก 4-5 ครั้ง โดยทั่วไปหลังการทำการผสมกลับ 4 ครั้งแล้ว ต้นข้าวที่คัดเลือกไว้จะมียีนของพันธุ์รับประมาณ 97 เปอร์เซ็นต์ หลังการผสมกลับแล้วปล่อยให้พืชผสมตัวเอง แล้วนำเมล็ดพันธุ์ที่ได้ปลูกและคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ (วาสนา, 2545)

สุพรรณญิกา (2549) ได้ปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยการผสมกลับและเพาะเลี้ยงอับเรณูร่วมกับการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายทางโมเลกุล พบว่าลูกผสมกลับ BC_1F_1 ที่มียีนต้านทานโรคจำนวน 7 ต้น ซึ่งคัดเลือกด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ RG556 มีจีโนไทป์ของยีนต้านทานโรค xa5 อยู่ในสภาพเฮเทอโรไซกัส เมื่อนำลูกผสม BC_1F_2 จำนวน 318 ต้น ไปทดสอบความต้านทานโรคด้วยวิธีปลูกเชื้อ พบต้นที่ต้านทานโรคระดับต้านทานสูง และระดับต้านทาน รวม 13 ต้น โดยมีพันธุกรรมจากพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งศึกษาจากลายพิมพ์ AFLP ที่เกิดจากไพร์เมอร์ 15 คู่ อยู่ระหว่าง 67.12-82.19 เปอร์เซ็นต์ และมีจีโนไทป์ของยีนต้านทาน *xa5* อยู่ในสภาพโฮโมไซกัส

Chen *et al*. (2001) ได้ปรับปรุงข้าวพันธุ์ 6078 ให้ต้านทานโรคขอบใบแห้งโดยใช้ข้าวสายพันธุ์ IRBB21 เป็นพันธุ์ให้เพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้งที่ควบคุมด้วยยีนต้านทาน *Xa21* ไปสู่ข้าวพันธุ์ 6078 ซึ่งเป็นพันธุ์รับ โดยการคัดเลือกแบบ marker-assisted foreground selection ใช้ PCR-based marker ที่มีตำแหน่งอยู่ใกล้ชิดกับยีน *Xa21* ร่วมกับการปลูกเชื้อ (pathogen inoculation) และการคัดเลือกแบบ marker-assisted background selection โดยใช้เครื่องหมาย AFLP ที่แสดงแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ 6078 และ IRBB21 ในการคัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมกลับ และลูกที่เกิดจากการผสมตัวเอง พบว่า ลูกผสมกลับ BC_3F_2 ที่ได้คัดเลือกไว้มีชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดประมาณ 3.8 cM ในบริเวณของยีน *Xa21* region ซึ่งอยู่บนโครโมโซมที่ 11 จากพันธุ์ให้ มีพันธุกรรมของพันธุ์รับประมาณ 98.8 เปอร์เซ็นต์ มีระดับความต้านทานเช่นเดียวกับพันธุ์ให้ และมีลักษณะทางเกษตรเหมือนกับพันธุ์รับ

Singh *et al.* (2001) ได้ปรับปรุงพันธุ์ข้าว PR106 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้งโดยได้ทำการผสมข้ามกับพันธุ์ IRBB62 ที่มียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง *(xa5*, *xa13* และ *Xa21)* เมื่อได้ลูกผสมชั่วที่ 1 ทำการผสมกลับไปหาพันธุ์ PR106 ได้ลูกผสมกลับ BC_1F_1 และทำการผสมกลับต่อได้เป็น BC_2F_1 และให้ลูก BC_2F_1 ผสมตัวเอง 2 ครั้ง จนได้เป็น BC_2F_3 ในลูกผสมกลับแต่ละชั่วได้ทำการคัดเลือกเฉพาะต้นที่มียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งเท่านั้นมาทำการผสมกลับในแต่ละครั้งซึ่งในขั้นตอนการคัดเลือกได้ใช้เครื่องหมาย STS จำนวน 3 เครื่องหมาย (RG556, RG136 และ pTA248) มาช่วยในการคัดเลือก ทำให้สามารถคัดเลือกต้นที่มียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง และพบว่ายีนทั้ง 3 อยู่ในสภาพโฮโมไซกัส

Joseph *et al.* (2004) ได้ปรับปรุงพันธุ์ข้าว Pusa Basmati 1 ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยนำไปผสมกับสายพันธุ์ IRBB55 ซึ่งมียีนต้านทาน *xa13* และ *Xa21* และนำลูกชั่วที่ 1 ผสมกลับไปยังพันธุ์ Pusa Basmati 1 ได้ลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_1F_2 และ BC_1F_3 แล้วคัดเลือกต้นที่ต้านทานโรคด้วยการปลูกเชื้อ และนำต้นที่คัดเลือกได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมาย STS (RG136 และ pTA248) เพื่อคัดเลือกต้นที่มียีนต้านทาน *xa13* และ *Xa21* อยู่ในสภาพโฮโมไซกัสทั้งสองตำแหน่ง พบว่า สามารถคัดเลือกต้นลูกผสมกลับ BC_1F_3 ที่มีลักษณะดังกล่าวได้ทั้งหมด 21 ต้น จากนั้นจึงนำไปคัดเลือกต้นที่มีพันธุกรรมใกล้เคียงกับพันธุ์รับด้วยเครื่องหมาย AFLP พบว่า ต้นข้าวที่คัดเลือกไว้ทั้ง 21 ต้นมีพันธุกรรมเหมือนกับพันธุ์รับ (Pusa Basmati 1) อยู่ระหว่าง 80.40-86.72 เปอร์เซ็นต์

ความต้านทานต่อสภาพแล้ง

ความต้านทานต่อสภาพแล้งเป็นความสามารถในการปรับตัวของต้นพืช โดยพืชมีกลไกในการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะที่เกิดการขาดน้ำ ความสามารถในการปรับตัวให้ต้านทานต่อสภาพแล้งแบ่งออกเป็น 4 แบบ (Arraudeua, 1989; Zhang *et al*., 2001) ดังนี้

1. การหนีแล้ง (drought escape) เป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตอยู่จนครบวงจรชีวิต (life cycle) ก่อนที่จะกระทบกับสภาพแล้ง เช่น การมีอายุสั้น ความไวต่อช่วงแสง (photoperiod sensitivity) การออกดอกได้เร็วขึ้น การยืดระยะเวลาในการออกดอก เป็นต้น

2. การเลี่ยงแล้ง (drought avoidance) เป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตอยู่รอดได้โดยเพิ่มการดูดน้ำ และลดความสูญเสียน้ำภายในต้นพืช เมื่อประสบกับสภาพแล้ง เช่น การม้วนของใบ ใบมีไขเคลือบหนา ปากใบเปิดปิดได้รวดเร็วขึ้น มีระบบรากหนาแน่นและหยั่งลึก เป็นต้น

3. การต้านทานแล้ง (drought resistance) เป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตอยู่รอดได้เมื่อประสบกับสภาพแล้งโดยการลดศักย์ของน้ำ (water potential) เช่น การปรับแรงดันออสโมซิส (osmotic adjustment) โดยการปรับระดับความเข้มข้นของ solute ในเซลล์ เพื่อทำให้เซลล์เต่ง การยืดหยุ่นของผนังเซลล์ (cell wall elasticity) การลดขนาดของเซลล์ หรือลดสภาวะระดับน้ำวิกฤตที่จะทำให้พืชตาย

4. การฟื้นตัวจากแล้ง (drought recovery) เป็นความสามารถของพืชที่จะฟื้นตัวได้ใหม่หลังจากประสบกับสภาวะแล้ง ซึ่งอาจทำให้ส่วนใด ส่วนหนึ่งของต้นพืชเหี่ยวแห้งไป และเมื่อได้รับน้ำใหม่ก็สามารถฟื้นตัว แตกกิ่งแตกหน่อใหม่เจริญเติบโตต่อไปได้

พันธุกรรมของลักษณะความต้านทานต่อสภาพแล้งในข้าว

ความต้านทานต่อสภาพแล้งของพืชเป็นลักษณะที่สลับซับซ้อน เกิดจากผลรวมของหลายๆ ลักษณะ เช่น การออกดอกเร็วทำให้สามารถติดผลหรือเมล็ดก่อนประสบกับสภาพแล้ง การมีระบบรากที่หนาแน่นและหยั่งลึกทำให้สามารถดูดน้ำจากดินชั้นล่างได้เมื่อดินชั้นบนขาดน้ำ ใบมีไขเคลือบหนาเพื่อลดการสูญเสียน้ำจากใบ พืชมีความสามารถในการปรับแรงดันออสโมซิส เพื่อทำให้เซลล์เต่งเมื่อกระทบแล้ง และการม้วนใบซึ่งช่วยป้องกันการขาดน้ำเมื่อข้าวอยู่ในสภาพแล้ง เป็นต้น ซึ่งลักษณะต่างๆ เหล่านี้ถูกควบคุมด้วยยีนหรือกลุ่มยีน QTL (quatitative trait loci) จำนวนมาก และมีการถ่ายทอดลักษณะแบบต่างๆ

Singh and Mackill (1991) ได้ศึกษาลักษณะการม้วนใบซึ่งเป็นกลไกการเลี่ยงแล้งแบบหนึ่งที่ช่วยป้องกันการขาดน้ำเมื่อข้าวอยู่ในสภาพแล้ง โดยการผสมข้ามระหว่างข้าวที่ต้านทานต่อสภาพแล้ง 5 พันธุ์ ได้แก่ Salumpikit, MGL2, ITA 186, IR33353-64-1-2-1 และIR26702-155-2-3 กับข้าวที่ไม่ต้านทานต่อสภาพแล้ง 2 พันธุ์ ได้แก่ IR29725-22-3-3-3 และJR29692-65-2-3 พบว่า ในลูกชั่วที่ 2 มีอัตราการม้วนใบต่อการไม่ม้วนใบ เป็น 3:1 หรือลักษณะการม้วนใบถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่

Zhang *et al*. (2001) ศึกษาจีโนมข้าวที่เกี่ยวข้องกับความทนแล้ง โดยศึกษาในประชากร double haploid (*O.sativa* L.) 154 สายพันธุ์ พบว่ามี 41 QTL ที่อยู่ใกล้กับยีนควบคุมลักษณะ osmotic adjusment และลักษณะรากซึ่ง QTL ที่อยู่บนโครโมโซมที่ 4 จะเกี่ยวข้องกับยีนที่ควบคุมลักษณะต่างๆ ของราก

Robin *et al*. (2003) ได้พัฒนาข้าวลูกผสมกลับ BC_3F_3 โดยการผสมข้ามระหว่างข้าว Indica และข้าว Japonica โดยให้ข้าว Indica (IR62266-42-6-2) เป็นพันธุ์ให้และ ข้าว Japonica (IR60080-46A) เป็นพันธุ์รับ ได้ลูกผสมกลับ BC_3F_3 จำนวน 150 สายพันธุ์ จากนั้นทดสอบพันธุกรรมความต้านทานต่อสภาพแล้งของลูกผสมกลับ BC_3F_3 ทั้ง 150 สายพันธุ์ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ชนิด SSR และ RFLP จากการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ร่วมกับการดูลักษณะภายนอก ทำให้สามารถพบกลุ่มยีน QTL 14 กลุ่ม ที่ควบคุมความสามารถในการปรับแรงดันออสโมซิสทำให้ข้าวต้านทานต่อสภาพแล้ง ซึ่งกลุ่มยีนเหล่านี้มีตำแหน่งอยู่บน chromosome ที่ 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8 และ10

Ali *et al*. (2004) ได้ศึกษากลุ่มยีน QTL ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะความต้านทานต่อสภาพแล้งของราก 5 ลักษณะ ได้แก่ จำนวนรากทั้งหมด จำนวนรากลึก ดัชนีความลึกราก ความหนาแน่นรากลึกและความยาวรากลึก โดยศึกษาในประชากรลูกชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวพันธุ์ต้านทานต่อสภาพแล้ง IR58821-23-B-1-2-1 กับพันธุ์ไม่ต้านทานต่อสภาพแล้ง IR52561-UBN-1-1-2 พบว่ามีกลุ่มยีน QTL 28 กลุ่มที่เกี่ยวข้องกับลักษณะของราก 5 ลักษณะดังกล่าว ซึ่งอยู่บนโครโมโซมที่ 1, 2, 3, 4, 6, 7, 10 และ11

Punyawaew *et al*. (2004) ได้ศึกษากลุ่มยีน QTL ทั้งหมด 395 กลุ่ม ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะต้านทานต่อสภาพแล้งภายใต้สถานที่และปีที่แตกต่างกัน พบว่า มีกลุ่มยีน QTL อยู่ 40 กลุ่มที่ควบคุมลักษณะต่างๆ ที่ทำให้ต้นข้าวต้านทานต่อสภาพแล้ง และมีตำแหน่งกระจายอยู่ทั่วไปในจีโนม ซึ่งประกอบด้วย 16 กลุ่มที่ควบคุมลักษณะของราก 8 กลุ่มที่ควบคุมลักษณะของลำต้น และ 16 กลุ่มที่ควบคุมการให้ผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต กลุ่มยีน QTL ที่ควบคุมลักษณะราก ซึ่งส่งผลให้ต้นข้าวต้านทานต่อสภาพแล้ง ได้แก่ ระบบรากลึก น้ำหนักแห้งของราก ความหนาแน่นของราก และแรงดึงรากซึ่งมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 1, 2, 3, 4, 9 และ11

Liu *et al*. (2005) รายงานว่าข้าวพันธุ์ Moroberekan มียีนที่ควบคุมไม่ให้อับละอองเกสรแตกออกในระหว่างที่ข้าวมีการฟื้นตัวจากสภาพแล้ง ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้เป็นลักษณะความต้านทานต่อสภาพแล้งในระยะสืบพันธุ์

Zeng *et al*. (2006) ได้ศึกษายีนทนแล้งในข้าวโดยการทำแผนที่ QTL พบว่ายีนที่ควบคุมลักษณะทนแล้งในข้าวอยู่บนโครโมโซมที่ 1, 2, 4, 8 และ 9

การปรับปรุงพันธุ์พืชต้านทานต่อสภาพแล้ง

ในการปรับปรุงพันธุ์พืชต้านทานต่อสภาพแล้งจะปรับปรุงความสามารถในการต้านทานต่อสภาพแล้ง 3 แบบ (Chang *et al*., 1982) ดังนี้

1. การปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อหนีแล้ง เป็นการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีอายุการสุกแก่สั้นลง เพื่อลดปริมาณการสูญเสียน้ำจากการคายน้ำ โดยการคัดเลือกพืชที่ติดดอกออกผลก่อนที่จะเกิดการกระทบแล้ง หรือเป็นการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ออกดอกช้าทำให้พืชหนีจากสภาพแล้งที่เกิดขึ้นในช่วงต้นฤดูปลูก

2. การปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อเลี่ยงแล้ง เป็นการปรับปรุงพันธุ์พืชให้สามารถหลีกเลี่ยงความเสียหายจากการสูญเสียน้ำ หรือหลีกเลี่ยงการสูญเสียน้ำที่เกิดขึ้นภายในเนื้อเยื่อพืช เช่น การคัดเลือกพืชที่มีระบบรากลึกและหนาแน่น มีไขเคลือบผิวใบ มีขนปกคลุมผิวใบ การคัดเลือกพืชที่สามารถรักษาระดับน้ำในใบของต้นพืชโดยการวัดอุณหภูมิของทรงพุ่ม ภายใต้สภาพที่ขาดน้ำด้วย infrared thermometer วิธีการนี้อาศัยหลักการที่ว่าเมื่อต้นพืชอยู่ในสภาพขาดน้ำ และสามารถปิดปากใบได้เพื่อรักษาระดับน้ำในใบของต้นพืชจะทำให้อุณหภูมิของใบสูงขึ้น และการคัดเลือกพืชจากความสามารถในการรักษา water potential ของใบ โดยพืชที่สามารถรักษา water potential ของใบไว้ได้ในระดับสูงมักจะต้านทานต่อสภาพแล้งได้ดี

3. การปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานต่อสภาพแล้ง คือการปรับปรุงพันธุ์พืชให้เซลล์สามารถปรับแรงดันออสโมซิสได้ดีขึ้น โดยการสะสมกรดอะมิโนบางชนิด เช่น proline, glycine ฯลฯ ภายในเซลล์ ทำให้แรงดันออสโมซิสในเซลล์ลดลง ส่งผลให้เซลล์ดูดซับน้ำจากดินได้มากขึ้น เซลล์จึงสามารถรักษาความเต่งไว้ได้ พืชจึงไม่แสดงอาการใบเหี่ยว ใบม้วนหรือใบไหม้ หรือเป็นการคัดเลือกพืชที่มีความต้านทานต่อการสูญเสียน้ำ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากเซลล์เมมเบรนมีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทำให้ต้านทานการสูญเสียน้ำจากเซลล์

สรศักดิ์ (2542) ได้คัดเลือกพันธุ์ข้าวต้านทานต่อสภาพแล้งโดยการเพาะเลี้ยงแคลลัสจากคัพภะของข้าวพันธุ์ กข 23 บนอาหารสูตร MS ที่เติมวุ้นความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ที่ความเข้มข้นวุ้น 0.7 และ1.1 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสไม่สามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นวุ้นเป็น 1.5 และ 1.9 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากันคือ 8.3 เปอร์เซ็นต์ และลดลงเป็น 4.17 เปอร์เซ็นต์ เมื่อความเข้มข้นวุ้นเพิ่มขึ้นเป็น 2.3 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นได้คัดเลือก

พันธุ์ข้าวต้านทานต่อสภาพแล้งโดยลดปริมาณน้ำในเซลล์ด้วยการนำแคลลัสไปพักบนจานแก้วที่ระยะเวลาต่าง ๆ แล้วย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้แคลลัสพัฒนาไปเป็นยอด พบว่า การทำให้แคลลัสแห้งจาก 0 เป็น 7 และ 14 วัน ส่งผลให้อัตราการพัฒนาไปเป็นยอดเพิ่มขึ้นจาก 0.8 เป็น 12.94 และ 20.59 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาเป็น 21 และ 28 วัน อัตราการพัฒนาไปเป็นยอดลดลงเป็น 6.63 และ 2.20 เปอร์เซ็นต์ และนำยอดข้าวที่ได้ไปชักนำให้สร้างรากได้ต้นข้าว R_1 ปลูกต้นข้าว R_1 จนกระทั่งออกดอกและเก็บเมล็ด นำเมล็ด R_2 ที่ได้ไปปลูกทดสอบความต้านทานต่อสภาพแล้งโดยการให้คะแนนการม้วนใบ การคลายตัวของใบ การแห้งของใบ และการฟื้นตัวจากแล้ง พบว่า ข้าวบางสายพันธุ์มีความต้านทานแล้งสูงขึ้น โดยมีระดับคะแนนการม้วนใบ การคลายตัวของใบ การแห้งของใบ และการฟื้นตัวจากแล้ง ต่ำกว่าพันธุ์ต้นกำเนิด กข 23 แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

บุญหงษ์ (2545) ได้ปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานแล้งเพื่อปลูกในสภาพไร่ โดยการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 กับพันธุ์พะยอมซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวไร่ที่ต้านทานแล้ง นำเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ไปอาบรังสีแกมม่าอัตรา 20 กิโลแรดส์ (krads) ก่อนที่จะนำไปปลูกเพื่อให้สร้างอับละอองเรณู จากนั้นนำอับละอองเรณูของต้นลูก F_1 ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Modified SK-1 และสูตร MS จนพัฒนาเป็นต้นข้าว และนำต้นข้าวที่ได้ไปปลูกได้ต้นที่ไม่เป็นหมันจำนวน 80 สายพันธุ์ เมื่อนำสายพันธุ์ที่ได้ไปปลูกคัดเลือกความต้านทานแล้งในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพการขาดน้ำภายในโรงเรือน พบว่า มี 36 สายพันธุ์ที่ต้านทานแล้งได้ดี เมื่อนำสายพันธุ์เหล่านี้ไปปลูกในสภาพไร่ พบว่า มี 20 สายพันธุ์ที่ต้านทานแล้งและสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ และในจำนวนสายพันธุ์นั้นมี 4 สายพันธุ์ ที่มีน้ำหนักเมล็ดต่อกอมากกว่า 2 เท่าของพันธุ์พ่อแม่ คือ สายพันธุ์ L79 ที่มีลักษณะต้นสูงกว่าพันธุ์พ่อแม่ และสายพันธุ์ L46, L52 และ L55ที่ มีลักษณะต้นเตี้ยกว่าพันธุ์พ่อแม่

Jongdee *et al.* (2002) ได้ศึกษาลักษณะการรักษาศักย์ของน้ำในใบ (leaf water potential) และการปรับแรงดันออสโมซีส เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานต่อสภาพแล้งโดยตรวจสอบสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่าง Lemont กับ BK88-BR6 ซึ่งมีลักษณะการรักษาศักย์ของน้ำในใบ และการปรับแรงดันออสโมซีสแตกต่างกัน พบว่า ความแปรปรวนทางจีโนไทป์ของการรักษาศักย์ของน้ำในใบ และการปรับแรงดันออสโมซีส เกี่ยวข้องกับผลผลิตภายใต้สภาพขาดน้ำ อัตราของการขาดน้ำไม่ใช่ปัจจัยที่สำคัญสำหรับความแปรปรวนทางจีโนไทป์ของการรักษาศักย์ของน้ำในใบ แต่ระดับของการขาดน้ำ และระยะการพัฒนาทางฟีโนไทป์มีความสำคัญภายใต้

สภาพที่มีน้ำจำกัดในช่วงของการออกดอก ทำให้ผลผลิตลดลงเนื่องจากช่อดอกเป็นหมันเพิ่มขึ้น ส่วนความแปรปรวนของการปรับแรงดันออสโมซีสไม่สัมพันธ์กับผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าว

1.1 ข้าวปลูก (*Oryza sativa* L.) 2 พันธุ์ คือ กข 23 และชัยนาท 1 ซึ่งไม่ต้านทานต่อสภาพแล้ง

1.2 ข้าวป่า 1 ชนิด คือ *Oryza nivara* ซึ่งต้านทานต่อสภาพแล้งแบบเลี่ยงแล้ง (drought avoidance) (Eizenga and Rutger, 2003)

1.3 พันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ต้านทานต่อสภาพแล้ง (resistant check variety) คือ กข 19 และ Salumpikit

1.4 พันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ไม่ต้านทานต่อสภาพแล้ง (susceptible check variety) คือ Taichung Native 1

2. อุปกรณ์สำหรับปลูกและดูแลรักษาต้นข้าว เช่น กระถาง ปุ๋ยเคมีสูตร 16-20-0 ไม้ปักกระถาง ป้ายชื่อ

3. อุปกรณ์สำหรับผสมพันธุ์ข้าว เช่น ถุงกระดาษไข กรรไกร ปากคีบ คลิป

4. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงคัพภะ ได้แก่ เครื่องชั่งแบบละเอียด เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง เครื่องกวนและแม่เหล็ก เตาอบไมโครเวฟ หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ บีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพร้อมฝา ช้อนตักสารเคมี ปิเปต ตะเกียงแก๊ส ปากคีบ จานแก้ว

5. สารเคมี

5.1 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร เช่น สารละลายไอโอดีน (I_2KI) สไลด์ กระจกปิดสไลด์

5.2 สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของชิ้นส่วนพืช ได้แก่ เอธิลแอลกอฮอล์ คลอรอกซ์ และทวีน 20

5.3 สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เช่น NH_4NO_3, KNO_3, KCl

วิธีการ

1. การผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก (กข 23 และชัยนาท 1) กับข้าวป่า (*Oryza nivara*) เพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 1

1.1 ปลูกข้าวปลูก 2 พันธุ์คือ กข 23 และชัยนาท 1 เพื่อใช้เป็นต้นแม่ พร้อมกับปลูกข้าวป่า *O. nivara* เพื่อใช้เป็นต้นพ่อ โดยปลูกข้าวปลูก 2 พันธุ์ และข้าวป่าให้ออกดอกพร้อมกัน

1.2 เมื่อข้าวป่าและข้าวปลูก 2 พันธุ์ออกดอก ทำการผสมข้ามระหว่างข้าวป่ากับข้าวปลูกข้าว 2 พันธุ์ เพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 1

1.3 การเตรียมดอกตัวเมีย เลือกต้นข้าวที่มีช่อดอกโผล่ออกมาจากใบธง ตัดแต่งให้เหลือเฉพาะดอกที่เห็นว่าพร้อมที่จะผสมในเช้าวันรุ่งขึ้น โดยสังเกตได้จากเกสรตัวผู้ภายในดอกนั้นมีความยาวอยู่ระหว่างครึ่งดอก การทำลายเกสรตัวผู้ (emasculation) ของต้นข้าวป่า ควรทำในช่วงเวลาประมาณ 16.00-17.00 น. โดยการตัดขอบเปลือกของดอกข้าวทั้งสอง (lemma และ palea) ด้วยกรรไกร แล้วใช้ปากคีบดึงส่วนที่เป็นอับเกสรตัวผู้ ซึ่งมีจำนวนทั้งหมด 6 อันออกทีละดอก เสร็จแล้วคลุมด้วยถุงกระดาษไข

1.4 การผสมเกสร ทำได้โดยการนำถุงกระดาษไขที่คลุมช่อดอกของต้นแม่ออก เคาะดอกข้าวของต้นพ่อที่อยู่ในระยะดอกกำลังบาน โดยสังเกตจากกลีบดอกของข้าวบานอ้าและมีอับเกสรตัวผู้ซึ่งมีสีเหลืองอ่อนเจริญโผล่พ่นกลีบดอก ทำการผสมเกสรแต่ละช่อดอกในช่วงเช้าระหว่างเวลาประมาณ 9.00-12.00 น. เมื่อผสมเสร็จแล้วคลุมด้วยถุงกระดาษไขไว้พร้อมกับเขียนชื่อคู่ผสม และวันเดือนปีที่ผสมเกสร

2. การช่วยชีวิตคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1

2.1 เก็บคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 จากต้นแม่ที่มีอายุ 8 ถึง 14 วันหลังการผสมเกสร

2.2 นำคัพภะที่ได้มาฟอกฆ่าเชื้อโดยแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70 % นาน 5 นาที นำเมล็ดที่ได้แช่ในสารคลอรอกซ์ ที่ผสมทวีน 20 จำนวน 2-3 หยด นาน 20 นาที ทำการล้างเมล็ดด้วย น้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง

2.3 นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วไปเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS (Murashige and Skoog, 1962) เพื่อให้ได้ต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อ

2.4 วางขวดเพาะเลี้ยงคัพภะไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพที่ไม่มีแสงจนกระทั่งต้นอ่อนงอกออกมาจากคัพภะ จากนั้นจึงให้ได้รับแสง ต้นลูกผสมที่ได้ทั้งหมดนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3. การผสมกลับเพื่อผลิตลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1

3.1 ปลูกต้นข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 เพื่อใช้เป็นต้นแม่ พร้อมกับปลูกข้าวปลูก 2 พันธุ์คือ กข 23 และชัยนาท 1 เพื่อใช้เป็นต้นพ่อ

3.2 นำลูกผสมชั่วที่ 1 ของทั้ง 2 คู่ผสม ผสมกลับครั้งที่ 1 ไปหาข้าวปลูกเพื่อสร้างลูกผสมกลับ BC_1F_1

3.3 นำคัพภะลูกผสมกลับ BC_1F_1 ของทั้ง 2 คู่ผสมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS เพื่อชักนำให้คัพภะงอกเป็นต้น

3.4 ปลูกต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_1 เพื่อใช้เป็นต้นแม่พร้อมกับปลูกข้าวปลูก 2 พันธุ์ คือ กข 23 และชัยนาท 1 เพื่อใช้เป็นต้นพ่อ

3.5 นำลูกผสมกลับ BC_1F_1 ผสมกลับครั้งที่ 2 ไปหาข้าวปลูกเพื่อสร้างลูกผสมกลับ BC_2F_1

3.6 นำคัพภะลูกผสมกลับ BC_2F_1 ของทั้ง 2 คู่ผสมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS เพื่อชักนำให้คัพภะงอกเป็นต้น

3.7 ปลูกต้นข้าวที่ได้จากการผสมกลับ BC_2F_1 เพื่อใช้เป็นต้นแม่พร้อมกับปลูกข้าวปลูก 2 พันธุ์คือ กข 23 และชัยนาท 1 เพื่อใช้เป็นต้นพ่อ

3.8 นำลูกผสมกลับ BC_2F_1 ผสมกลับครั้งที่ 3 ไปหาข้าวปลูกเพื่อสร้างลูกผสมกลับ BC_3F_1

3.9 นำคัพภะลูกผสมกลับ BC_3F_1 ของทั้ง 2 คู่ผสมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS เพื่อชักนำให้คัพภะงอกเป็นต้น

4. การผลิตลูกชั่วที่ 2 (F_2) และ ลูกผสมกลับ BC_1F_2, BC_2F_2 และ BC_3F_2

4.1 ปลูกต้นข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 และ ลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1

4.2 เมื่อต้นข้าวออกดอก คลุมช่อดอกด้วยถุงกระดาษไขเพื่อป้องกันการผสมข้าม และป้องกันนกกัดกินช่อดอกและเมล็ด

4.3 เมื่อเมล็ดสุกแก่ เก็บเมล็ดลูกชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับ BC_1F_2, BC_2F_2 และ BC_3F_2 เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

5. การผลิตลูกชั่วที่ 3 (F_3) และ ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3

5.1 ปลูกต้นข้าวลูกผสมชั่วที่ 2 และ ลูกผสมกลับ BC_1F_2, BC_2F_2 และ BC_3F_2

5.2 เมื่อต้นข้าวออกดอก คลุมช่อดอกด้วยถุงกระดาษไขเพื่อป้องกันการผสมข้าม และป้องกันนกกัดกินช่อดอกและเมล็ด

5.3 เมื่อเมล็ดสุกแก่ เก็บเมล็ดลูกชั่วที่ 3 และลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

6. การตรวจสอบความสมบูรณ์พันธุ์ของเพศผู้ (male fertility)

6.1 การตรวจสอบความสมบูรณ์พันธุ์ของละอองเกสร (pollen fertility) ทำได้โดยการเก็บดอกข้าว (spikelet) ก่อนที่ดอกจะบาน (anthesis) จำนวน 5 ดอก จากต้นลูกผสมชั่วที่ 1 แต่ละต้น แล้วแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเลือกดอกตัวผู้ที่มีอับละอองเกสรแก่จัดจวนแตกใช้ปากคีบปลายแหลมดึงอับละอองเกสรประมาณ 2-3 อันออกจากดอก วางลงบนสไลด์หยดสีย้อมสารละลายไอโอดีนลงบนอับละอองเกสร 2-3 หยด เพื่อย้อมสีละอองเกสร ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วใช้ส่วนโคนของปากคีบเคาะเบาๆ ลงบนอับละอองเกสร เพื่อให้อับละอองเกสรแตก และปลดปล่อยละอองเกสรออกมา ตรวจดูความมีชีวิตของละอองเกสรจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 และ 40 เท่า ตามลำดับ โดยอาศัยลักษณะการติดสีของละอองเกสรที่ย้อมสีด้วยสารละลายไอโอดีน ละอองเกสรที่มีชีวิตจะติดสีน้ำตาล ส่วนละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตจะไม่ติดสี ภายหลังจากการตรวจดูความชีวิตของละอองเกสรแล้วให้นับจำนวนละอองเกสรทั้ง 2 ชนิด คือ ละอองเกสรที่ปกติกับละอองเกสรที่เป็นหมัน และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ละอองเกสรที่เป็นหมันจากละอองเกสรทั้งหมด

6.2 การตรวจสอบความสมบูรณ์พันธุ์ของเมล็ด หรืออัตราการติดเมล็ด (seed fertility) ทำได้โดยการสุ่มรวงจำนวน 3 รวงต่อต้น นับจำนวนเมล็ดดี และเมล็ดลีบในแต่ละรวง แล้วคำนวนเป็นเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีจากจำนวนเมล็ดทั้งหมดของแต่ละรวง

7. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางเกษตรของลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับชั่วต่างๆ

บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางเกษตรของลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับชั่วต่างๆ ตามระบบประเมินผลมาตรฐานสำหรับข้าวของ IRRI (2002)

7.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะของทรงต้น ใบ ดอก และเมล็ด

7.2 ลักษณะทางทางเกษตร ได้แก่ ความสูงต้นวัดจากโคนกอถึงปลายรวงที่สูงที่สุด อายุวันออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรวงต่อกอ ความสมบูรณ์พันธุ์ของละอองเกสร อัตราการติดเมล็ด การร่วงหล่นของเมล็ดจากรวง (panicle threshability)

8. การทดสอบความต้านทานต่อสภาพแล้ง

8.1 เพาะเมล็ดข้าวลูกชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3ของ 2 คู่ผสม (กข 23 x *Oryza nivara* และชัยนาท 1 x *Oryza nivara*) พันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ไม่ต้านทานต่อสภาพแล้ง 1 พันธุ์ คือ Taichung Native 1 พันธุ์ต้นกำเนิด 2 พันธุ์ คือ กข 23 และชัยนาท 1 และพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ต้านทานต่อสภาพแล้ง 2 พันธุ์ คือ กข 19 และ Salumpikit

8.2 เมื่อเมล็ดงอกเป็นต้นกล้าข้าว มีใบ 2-3 ใบ ย้ายไปปลูกในแปลงปลูก โดยปลูกเป็นแถว ระยะห่างระหว่างแถว 20 ซม. ระยะห่างระหว่างต้น 20 ซม. และปลูกข้าวพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ไม่ต้านทานต่อสภาพแล้ง พันธุ์ต้นกำเนิดและพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ต้านทานต่อสภาพแล้ง สลับทุกๆ 10 แถว

8.3 รดน้ำต้นข้าวติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน หลังจากนั้นงดให้น้ำจนกระทั่งพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ไม่ต้านทานต่อสภาพแล้ง แสดงอาการม้วนใบในระดับคะแนนสูงสุด บันทึกระดับคะแนนการม้วนตัวของใบข้าวแต่ละต้นในแต่ละสายพันธุ์ (แถว) เวลา 12.00 น. ตามวิธีการของ O' Toole and Cruz (1980) โดยดัดแปลงจากเกณฑ์ที่กำหนดโดย IRRI (2002) ดังนี้

<u>ระดับคะแนนการม้วนใบ</u>

0 = ไม่แสดงอาการ

1 = ใบส่วนใหญ่ในต้นข้าวแสดงอาการขอบใบโค้งเข้าหากันเล็กน้อย (เป็นรูปตัว V บานๆ)

3 = ใบส่วนใหญ่ในต้นข้าวแสดงอาการขอบใบโค้งเข้าหากันมากขึ้น (เป็นรูปตัว V)

5 = ใบส่วนใหญ่ในต้นข้าวแสดงอาการขอบใบโค้งเข้าหากันเป็นรูปตัว U

7 = ใบส่วนใหญ่ในต้นข้าวแสดงอาการขอบใบโค้งเข้าหากันจนชิด (เป็นรูปตัว O)

9 = ใบส่วนใหญ่ในต้นข้าวแสดงอาการขอบใบม้วนแน่น

8.4 หลังจากนั้นงดให้น้ำต่อไปอีกจนกระทั่งพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ไม่ต้านทานต่อสภาพแล้งแสดงอาการขาดน้ำอย่างรุนแรง โดยใบทั้งหมดเริ่มแห้งตายตั้งแต่ครึ่งหนึ่งของความยาวใบ บันทึกคะแนนอาการใบแห้งของข้าวแต่ละสายพันธุ์ (แถว) โดยดัดแปลงจากเกณฑ์ที่กำหนดโดย IRRI (2002) ดังนี้

<u>ระดับคะแนนของอาการใบแห้ง</u>

0 = ไม่แสดงอาการ

1 = 1-20 เปอร์เซ็นต์ ของใบข้าวทั้งหมดในต้นแสดงอาการใบแห้ง

3 = 21-40 เปอร์เซ็นต์ ของใบข้าวทั้งหมดในต้นแสดงอาการใบแห้ง

5 = 41-60 เปอร์เซ็นต์ ของใบข้าวทั้งหมดในต้นแสดงอาการใบแห้ง

7 = 61-80 เปอร์เซ็นต์ ของใบข้าวทั้งหมดในต้นแสดงอาการใบแห้ง

9 = 81-100 เปอร์เซ็นต์ ของใบข้าวทั้งหมดในต้นแสดงอาการใบแห้ง

8.5 หลังจากบันทึกคะแนนอาการใบแห้งแล้ว ให้น้ำต้นข้าวอีกครั้งจนชุ่มแล้วให้น้ำต่อไปอีก 10 วัน บันทึกคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งของข้าวแต่ละต้น ตามเกณฑ์ที่กำหนดโดย IRRI (2002) ดังนี้

<u>ระดับคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งหลังจากให้น้ำแล้ว 10 วัน</u>

1 = 80-100 เปอร์เซ็นต์ ของต้นข้าวทั้งหมด สามารถสร้างใบและหน่อใหม่

3 = 60-79 เปอร์เซ็นต์ ของต้นข้าวทั้งหมด สามารถสร้างใบและหน่อใหม่

5 = 40-59 เปอร์เซ็นต์ ของต้นข้าวทั้งหมด สามารถสร้างใบและหน่อใหม่

7 = 20-39 เปอร์เซ็นต์ ของต้นข้าวทั้งหมด สามารถสร้างใบและหน่อใหม่

9 = 0-19 เปอร์เซ็นต์ ของต้นข้าวทั้งหมด สามารถสร้างใบและหน่อใหม่

9. การวิเคราะห์ตัวเลขทางสถิติ

วิเคราะห์ตัวเลขที่ได้จากการเพาะเลี้ยงคัพภะของข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับชั่วต่างๆ โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

10. สถานที่ทำการทดลอง

10.1 ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

10.2 เรือนปลูกพืชทดลอง ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

10.3 แปลงนาเกษตรกร บ้านโนนธาตุ ต.หนองระฆัง อ.สนม จ.สุรินทร์

11. ระยะเวลาทำการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เริ่มตั้งแต่เดือน กันยายน พ.ศ. 2548 ถึง เดือน เมษายน พ.ศ. 2551

ผลและวิจารณ์

อัตราการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า

จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1 ซึ่งเป็นต้นแม่กับข้าวป่า *O. nivara* ซึ่งเป็นต้นพ่อ จำนวน 2,411 ดอก ได้เมล็ด (คัพภะ) ลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 1,181 เมล็ด (ตารางที่ 2) อัตราการติดเมล็ดของคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และคู่ผสม ชัยนาท 1/ *O. nivara* เป็น 50.00 และ 48.00 เปอร์เซ็นต์ หรือเฉลี่ย 49.0 เปอร์เซ็นต์ ในการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า อัตราการติดเมล็ดของแต่ละคู่ผสมจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของข้าวปลูกและข้าวป่าที่ใช้ (Brar *et al.,* 1991) ในการทดลองนี้อัตราการติดเมล็ดของคู่ลูกผสมระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1 กับข้าวป่า *O. nivara* เป็น 50.0 และ 48.0 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าอัตราการผสมข้ามติดเมล็ดขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวปลูก ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของบวรพนธ์ (2544) ที่ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และคลองหลวง 1 กับข้าวป่า *O. officinalis* พบว่ามีอัตราการติดเมล็ดเป็น 18.13 และ 22.01 เปอร์เซ็นต์และ ชูศักดิ์ (2536) ที่ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก 3 พันธุ์ คือ ขาวดอกมะลิ 105 นางมลเอส 4 และไออาร์ 58 กับข้าวป่า *O. minuta* พบว่าแต่ละคู่ผสมมีอัตราการติดเมล็ดเป็น 12.86, 11.00 และ 18.62 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 อัตราการผสมข้ามชนิดระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า

คู่ผสม	จำนวนดอกที่ได้รับการผสม	การติดเมล็ด	
		จำนวน	%
กข 23/*O. nivara*	1,192	596	50.00
ชัยนาท 1/*O. nivara*	1,219	585	48.00
รวม	2,411	1,181	49.00

อัตราการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่ายังขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์พันธุ์ของละอองเกสรของข้าวป่าซึ่งใช้เป็นพันธุ์พ่อ โดยปกติละอองเกสรของข้าวป่ามักจะเป็นหมันบางส่วน (partial sterility) (Chu *et al*, 1969) Tao and Sripichitt (2000) รายงานว่าอัตราการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่ามีความสัมพันธ์กับความสมบูรณ์พันธุ์ของละอองเกสรของข้าวป่าซึ่งใช้เป็นพันธุ์พ่อและละอองเกสรที่มีความสมบูรณ์พันธุ์สูงจะให้อัตราการผสมติดเมล็ดสูงด้วย ในการทดลองนี้อัตราการ

ผสมติดเมล็ดระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า *O. nivara* ค่อนข้างสูง (เฉลี่ย 49.0 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการผสมติดเมล็ดระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า *O. officinalis* และระหว่างข้าวปลูกกับ *O. minuta* ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 20.07 เปอร์เซ็นต์ (บวรพนธ์, 2544) และ 14.16 เปอร์เซ็นต์ (ชูศักดิ์, 2536) ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากละอองเกสรของข้าวป่า *O. nivara* มีความสมบูรณ์พันธุ์ค่อนข้างสูงถึง 88 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจสอบโดยใช้สารละลายไอโอดีน

อัตราการงอกของเมล็ด (คัพภะ) ลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า

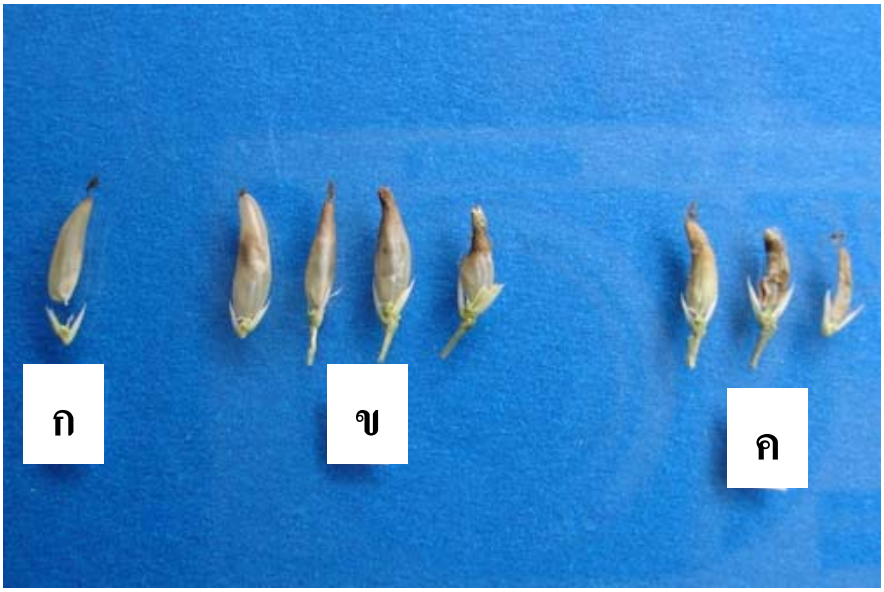
ในการผสมข้ามระหว่างพืชต่างชนิด (interspecific hybridization) ระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า เมล็ดหรือคัพภะที่ได้มักจะตายไปก่อนที่จะเจริญเป็นเมล็ดที่สุกแก่ (Bouharmont, 1961) ดังรายงานของ Miah *et al*. (1991) พบว่าเมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่ามีลักษณะลีบและไม่สามารถพัฒนาต่อไปจนเต็มเมล็ด โดยภายหลังจากการผสมข้าม 15 วันเมล็ดจะลีบเล็กลง คัพภะที่อยู่ภายในตายและไม่สามารถเพาะเมล็ดให้งอกได้เนื่องจากความผิดปกติในการพัฒนาของเอนโดสเปิร์ม ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของคัพภะ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องช่วยชีวิตคัพภะโดยการนำคัพภะอ่อนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์เพื่อให้คัพภะงอกเป็นต้นอ่อน ในการทดลองนี้ได้นำคัพภะอ่อนที่มีอายุ 8-14 วันหลังการผสมเกสรมาเพาะเลี้ยง คัพภะที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1 กับข้าวป่า *O. nivara* ในช่วงอายุดังกล่าวมีการเจริญและพัฒนาแตกต่างกัน ทำให้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เมล็ดมีลักษณะที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 1 ก) กลุ่มที่ 2 เมล็ดที่มีลักษณะทึบแสง (ภาพที่ 1 ข) และกลุ่มที่ 3 เมล็ดมีลักษณะทึบแสงและเหี่ยวย่น (ภาพที่ 1 ค) ได้คัดเลือกคัพภะในกลุ่มที่ 1 ที่มีลักษณะสมบูรณ์มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS ภายหลังการเพาะเลี้ยงไปนาน 2-3 วันคัพภะที่มีอายุมากกว่าจะงอกก่อนคัพภะที่มีอายุน้อยกว่าซึ่งต้องใช้เวลาในการงอก 5-6 วันหลังจากการเพาะเลี้ยง

จากการเพาะเลี้ยงคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1 กับข้าวป่า *O. nivara* คู่ผสมละ 420 เมล็ด พบว่า คัพภะของลูกผสม กข 23/*O. nivara* และชัยนาท 1/*O. nivara* งอกเป็นต้นอ่อนจำนวน 261 และ 258 ต้น หรือคิดเป็นอัตราการงอกของคัพภะเท่ากับ 61.50 และ 61.40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งจะเห็นได้ว่าอัตราการงอกของคัพภะของคู่ผสมทั้งสองใกล้เคียงกันมากถึงแม้ว่าพันธุ์ปลูกที่ใช้ทั้งสองพันธุ์จะแตกต่างกัน ผลการทดลองนี้ไม่สอดคล้องกับการทดลองของ Sitch *et al.* (1989) และ Brar *et al.* (1991) ที่ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกหลายพันธุ์กับข้าวป่าหลายชนิด และพบว่าคัพภะที่ได้จากการผสมข้ามเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงมีอัตราการงอกแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวปลูกกับชนิดของข้าวป่า นอกจากนี้

อัตราการงอกของคัพภะที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกทั้งสองพันธุ์กับข้าวป่า *O. nivara* มีค่าเฉลี่ยค่อนข้างสูง (61.45 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการงอกของคัพภะที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า *O. officinalis* และ *O. australiensis* ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 57.47 และ 57.89 เปอร์เซ็นต์ (Jena and Khush, 1984) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากข้าวปลูกและข้าวป่า *O. nivara* มีจีโนมเป็น *AA* เหมือนกัน ส่วนข้าวป่า *O. officinalis* และ *O. australiensis* มีจีโนมเป็น *CC* และ *EE* ซึ่งแตกต่างจากข้าวปลูกซึ่งมีจีโนมเป็น *AA* โดยข้าวปลูกและข้าวป่าที่มีจีโนมเหมือนกันจะมีอัตราการผสมข้ามสูง (Sitch *et al.*, 1989 and Kaushal and Ravi, 1998) และคัพภะที่ได้จากการผสมข้ามมีการเจริญและพัฒนาค่อนข้างสมบูรณ์ ดังนั้นเมื่อนำคัพภะไปเพาะเลี้ยงจึงมีอัตราการงอกสูง

ตารางที่ 3 อัตราการงอกของคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS

คู่ผสม	จำนวนคัพภะที่เพาะเลี้ยง	คัพภะที่งอก	
		จำนวน	%
กข 23/*O. nivara*	420	261	61.50
ชัยนาท 1/*O. nivara*	420	258	61.40
รวม	840	519	61.45



ภาพที่ 1 คัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า ที่อายุ 12 วัน หลังจากการผสมเกสร

ก. คัพภะที่มีลักษณะสมบูรณ์

ข. คัพภะที่มีลักษณะทึบแสง

ค. คัพภะที่มีลักษณะทึบแสงและเหี่ยวย่น

ภาพที่ 2 การงอกของคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่า ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ไปนาน 8 วัน

อัตราการงอกของคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่มีอายุแตกต่างกัน

จากการนำคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1 กับข้าวป่า *O. nivara* ซึ่งมีอายุอยู่ระหว่าง 8 ถึง 14 วันภายหลังการผสมเกสรมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS พบว่าอัตราการงอกของคัพภะคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และ ชัยนาท 1/*O. nivara* เพิ่มขึ้นเมื่ออายุของคัพภะมากขึ้น (ตารางที่ 4) และเพิ่มขึ้นสูงสุด (86.70 และ 85.00 เปอร์เซ็นต์) เมื่อคัพภะมีอายุ 14 วันหลังการผสมเกสร อัตราการงอกของคัพภะลูกผสมระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่าแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับอายุของคัพภะ และอายุของคัพภะที่เหมาะสมในการนำมาเพาะเลี้ยงยังแตกต่างกันไปในแต่ละคู่ผสม ในการทดลองนี้อายุของคัพภะลูกผสมระหว่างข้าวปลูก กข 23 และชัยนาท 1 กับข้าวป่า *O. nivara* ที่เหมาะสมสำหรับนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อช่วยชีวิตคัพภะคือ 14 วันหลังการผสมเกสรเพราะมีอัตราการงอกสูงสุด ชูศักดิ์ (2536) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวป่า *O. minuta* กับข้าวปลูก *O. sativa* 3 พันธุ์ คือ ขาวดอกมะลิ 105 นางมลเอส 4 และไออาร์ 58 แล้วนำคัพภะอ่อนลูกผสมที่มีอายุ 9 ถึง 14 วันมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS พบว่าคัพภะลูกผสมของคู่ผสมขาวดอกมะลิ 105/*O. minuta* ที่มีอายุ 13 วัน มีอัตราการงอกสูงสุดเป็น 81.25 เปอร์เซ็นต์ ส่วนคัพภะลูกผสมของคู่ผสมนางมลเอส 4/*O. minuta* และไออาร์ 58/*O. minuta* ที่มีอายุ 12 วัน มีอัตราการงอกสูงสุดเป็น 87.50 และ95.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สุพรรณญิกา (2539) ได้ผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก (*O. sativa*, *AA*) พันธุ์ กข 7 กับข้าวป่า (*O. minuta*, *BBCC*) แล้วนำคัพภะลูกผสมที่มีอายุ 7 ถึง 13 วัน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS พบว่าคัพภะที่มีอายุ 13 วันมีอัตราการงอกสูงสุด 86.67 เปอร์เซ็นต์ และบวรพนธ์ (2544) ได้ผสมข้ามชนิดระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และคลองหลวง 1 กับข้าวป่า *O. officinalis* แล้วนำคัพภะอ่อนลูกผสมที่มีอายุ 9 ถึง 14 วัน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS พบว่า คัพภะอายุ 11 วันของทั้งสองคู่ผสมมีอัตราการงอกสูงสุดเป็น 61.21 และ75.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 4 อัตราการงอกของคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างข้าวปลูกกับข้าวป่าที่มีอายุแตกต่างกันภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS

อายุคัพภะ[1/] (วัน)	อัตราการงอกของคัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 (%)	
	กข 23/*O. nivara*	ชัยนาท 1/*O. nivara*
8	40.00	38.30
9	43.30	43.30
10	50.00	55.00
11	65.00	60.00
12	65.70	70.00
13	80.00	78.00
14	86.70	85.00
เฉลี่ย	61.50	61.40

[1/] จำนวนวันหลังการผสมเกสร

อัตราการผสมกลับครั้งที่ 1, 2 และ 3 ของลูกผสมชั่วที่ 1 ไปยังข้าวปลูก

จากการนำลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก 2 พันธุ์ (กข 23 และชัยนาท 1) กับข้าวป่า *O. nivara* ผสมกลับไปยังพันธุ์รับซึ่งเป็นข้าวปลูกจำนวน 3 ครั้ง พบว่า การผสมกลับครั้งที่ 1 (BC_1) ครั้งที่ 2 (BC_2) และครั้งที่ 3 (BC_3) มีอัตราการติดเมล็ดเฉลี่ยเป็น 33.00, 32.52 และ 37.56 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ซึ่งจะเห็นได้ว่าอัตราการติดเมล็ดเฉลี่ยของการผสมกลับครั้งที่ 1 และ 2 ใกล้เคียงกันมาก แต่อัตราการติดเมล็ดของการผสมกลับครั้งที่ 3 มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการผสมกลับของลูกผสมไปยังพันธุ์รับซึ่งเป็นพันธุ์ปลูกยิ่งมีจำนวนครั้งมากขึ้นเท่าใด ก็ยิ่งทำให้ลูกผสมกลับมีพันธุกรรมใกล้เคียงกับพันธุ์ปลูกมากขึ้นเท่านั้น (กฤษฎา, 2529) จึงส่งผลให้อัตราการติดเมล็ดจากการผสมกลับครั้งที่ 3 ของลูกผสมไปยังพันธุ์รับซึ่งเป็นข้าวปลูกด้วยกันมีค่าสูงขึ้น ยิ่งกว่านั้นการผสมกลับยังทำให้ความสมบูรณ์พันธุ์ของละอองเกสรเพิ่มขึ้น (Heuer *et al.,* 2003) จึงส่งผลให้อัตราการติดเมล็ดสูงขึ้น

การผสมกลับครั้งที่ 1 และ 3 ของลูกผสมไปยังพันธุ์ปลูก กข 23 ให้อัตราการติดเมล็ดเป็น 35.01 และ 41.11 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าการผสมกลับไปยังพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ให้อัตราการติดเมล็ดเป็น

30.99 และ 34.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการผสมข้ามระหว่างข้าวป่า *O. nivara* กับข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 ที่ให้อัตราการติดเมล็ดเป็น 50.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าการผสมข้ามระหว่างข้าวป่า *O. nivara* กับข้าวปลูกพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ให้อัตราการติดเมล็ดเป็น 48.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) อย่างไรก็ตามการผสมกลับครั้งที่ 2 ของลูกผสมไปยังพันธุ์ปลูก กข 23 และชัยนาท 1 ให้อัตราการติดเมล็ดในทิศทางตรงกันข้ามกับการผสมกลับครั้งที่ 1 และ 3

การผสมกลับของลูกผสมไปยังพันธุ์รับซึ่งเป็นข้าวปลูกจำนวน 3 ครั้งให้อัตราการติดเมล็ดเฉลี่ย 34.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าอัตราการติดเมล็ดเฉลี่ย 49.00 เปอร์เซ็นต์ ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก 2 พันธุ์กับข้าวป่า *O. nivara* (ตารางที่ 2) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Jena and Khush (1986) ที่พบว่าการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก 3 พันธุ์กับข้าวป่า *O. officinalis* ให้อัตราการติดเมล็ดเฉลี่ย 12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะสูงกว่าอัตราการติดเมล็ดเฉลี่ย 1.3 เปอร์เซ็นต์ที่ได้จากการผสมกลับ

ตารางที่ 5 อัตราการผสมกลับครั้งที่ 1 (BC_1), 2 (BC_2) และ 3 (BC_3) ของลูกผสมชั่วที่ 1 ไปยังข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1 [1/]

คู่ผสมกลับ	จำนวนดอกที่ได้รับการผสม	การติดเมล็ด	
		จำนวน	%
กข 23/*O. nivara*/กข 23 (BC_1)	714	250	35.01
ชัยนาท 1/*O. nivara*/ชัยนาท 1 (BC_1)	768	238	30.99
รวม	1482	488	33.00
กข 23/*O. nivara*//กข 23 (BC_2)	368	114	30.98
ชัยนาท 1/*O. nivara*//ชัยนาท 1 (BC_2)	320	109	34.06
รวม	688	223	32.52
กข 23/*O. nivara*///กข 23 (BC_3)	180	74	41.11
ชัยนาท 1/*O. nivara*///ชัยนาท 1 (BC_3)	300	102	34.00
รวม	480	176	37.56
รวม	2,650	887	34.36

[1/] การปลูกลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับแต่ละชั่วไม่พร้อมกัน

อัตราการงอกของคัพภะข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1

ภายหลังจากการนำลูกผสมกลับชั่วที่ 1 ผสมกลับไปยังพันธุ์รับซึ่งเป็นพันธุ์ปลูก 3 ครั้งแล้ว ช่วยชีวิตคัพภะที่ได้จากการผสมกลับแต่ละครั้ง โดยการเพาะเลี้ยงคัพภะบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS เป็นเวลา 8 วัน พบว่าคัพภะของลูกผสมกลับครั้งที่ 1 (BC_1F_1) ครั้งที่ 2 (BC_2F_1) และครั้งที่ 3 (BC_3F_1) มีอัตราการงอกเฉลี่ยเป็น 44.00, 46.20 และ 47.30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 6) จะเห็นได้ว่าอัตราการงอกของคัพภะลูกผสมกลับเฉลี่ยเพิ่มขึ้นตามลำดับครั้งของการผสมกลับที่มากขึ้น ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากการผสมกลับของลูกผสมไปยังข้าวปลูกในจำนวนครั้งที่มากขึ้นจะทำให้ลูกผสมกลับมีพันธุกรรมใกล้เคียงกับข้าวปลูกมากขึ้น คัพภะลูกผสมกลับที่ได้จึงมีการเจริญและพัฒนาดีขึ้น ซึ่งส่งผลให้อัตราการงอกของคัพภะสูงขึ้น

อัตราการงอกของคัพภะลูกผสมกลับ กข 23/*O. nivara*//กข 23 (BC_2F_1) และ กข 23/*O. nivara*///กข 23 (BC_3F_1) เป็น 48.04 และ 48.56 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าอัตราการงอกของคัพภะลูกผสมกลับชัยนาท 1/*O. nivara*//ชัยนาท 1 (BC_2F_1) และชัยนาท 1/*O. nivara*///ชัยนาท 1 (BC_3F_1) ที่มีค่าเท่ากับ 45.00 และ 46.08 เปอร์เซ็นต์ หรืออาจกล่าวได้ว่าการผสมกลับไปยังข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 ทำให้อัตราการงอกของคัพภะลูกผสมกลับที่ได้สูงกว่าการผสมกลับไปยังข้าวปลูกพันธุ์ชัยนาท 1 ผลการทดลองที่ได้นี้เป็นไปในทำนองเดียวกันกับอัตราการติดเมล็ดที่ได้จากการผสมกลับไปยังข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 ที่สูงกว่าอัตราการติดเมล็ดที่ได้จากการผสมกลับไปยังข้าวปลูกพันธุ์ ชัยนาท 1 อย่างไรก็ตามอัตราการงอกของคัพภะลูกผสมกลับ กข 23/*O. nivara*/กข 23 (BC_1F_1) และ ชัยนาท 1/*O. nivara*/ชัยนาท 1 (BC_1F_1) เป็นไปในทิศทางตรงกันข้ามกับอัตราการงอกของคัพภะลูกผสมกลับ BC_2F_1 และ BC_3F_1 ของคู่ผสมกลับทั้งสองดังกล่าว

อัตราการงอกของคัพภะลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 45.96 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าอัตราการติดเมล็ดที่ได้จากการผสมกลับทั้ง 3 ครั้ง ที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 34.36 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Ram *et al*., (2003) ที่พบว่าอัตราการงอกของคัพภะลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1 ของข้าวปลูกพันธุ์ IR56 กับข้าวป่า *O. ridleyi* มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 68.09 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าอัตราการติดเมล็ดที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 58.70 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6 อัตราการงอกของคัพภะข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1 ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS [1/]

คู่ผสม	จำนวนคัพภะที่เพาะเลี้ยง	คัพภะที่งอก	
		จำนวน	%
กข 23/*O. nivara*/กข 23 (BC_1F_1)	235	101	43.00
ชัยนาท 1/*O. nivara*/ชัยนาท 1 (BC_1F_1)	229	103	45.00
รวม	464	204	44.00
กข 23/*O. nivara*//กข 23 (BC_2F_1)	102	49	48.04
ชัยนาท 1/*O. nivara*//ชัยนาท 1 (BC_2F_1)	100	45	45.00
รวม	202	94	46.52
กข 23/*O. nivara*///กข 23 (BC_3F_1)	74	36	48.65
ชัยนาท 1/*O. nivara*///ชัยนาท 1 (BC_3F_1)	102	47	46.08
รวม	176	83	47.37
รวม	842	381	45.96

[1/] การปลูกลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับแต่ละชั่วไม่พร้อมกัน

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทางเกษตรของลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางเกษตรของต้นลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากคู่ผสม กข 23/ *O. nivara* และ ชัยนาท 1/*O. nivara* ได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 และภาพที่ 3 ลูกผสมชั่วที่ 1 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางเกษตรส่วนใหญ่อยู่กึ่งกลางระหว่างพ่อและแม่ อย่างไรก็ตาม ลักษณะเมล็ดที่มีหางและการร่วงหล่นของเมล็ดจากรวงได้ง่ายนั้นใกล้เคียงกับพันธุ์ป่าซึ่งทำหน้าที่เป็นพันธุ์พ่อ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าลักษณะทั้งสองดังกล่าวของข้าวป่าแสดงออกเป็นลักษณะเด่น Tao and Sripichitt (2000) ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก 4 พันธุ์กับข้าวป่า 3 ชนิด พบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาอยู่กึ่งกลางระหว่างพ่อและแม่ แต่ค่อนไปทางข้าวป่าซึ่งเป็นพันธุ์พ่อ เช่น เมล็ดมีขนาดเล็ก มีหาง และหลุดร่วงจากรวงง่าย ใบธงและใบที่อยู่ใต้ใบธงของลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากคู่ผสม กข

23/*O. nivara* และ ชัยนาท 1/*O. nivara* มีความยาวมากกว่าพ่อแม่มาก ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการข่มเกิน (over dominance) ของลักษณะนี้ในลูกผสม ลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้งหมดออกดอกเร็วกว่าพ่อแม่มากทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากการข่มเกินของลักษณะการออกดอกเร็ว ซึ่งมีสาเหตุมาจากชุด (series) ของยีนเด่น *Ef* ที่ควบคุมระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นที่สั้น (Chang and Li, 1991) ความสมบูรณ์พันธุ์ของละอองเกสร (pollen fertility) ของลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากคู่ผสมทั้งสองมีค่าสูง (80-83 เปอร์เซ็นต์) ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดค่อนข้างสูง (56-60 เปอร์เซ็นต์) ด้วยลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1และ BC_3F_1 ของทั้งสองคู่ผสมมีความแปรปรวนในลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางเกษตร (ตารางที่ 7 และภาพที่ 4-6) โดยความแปรปรวนดังกล่าวอาจเกิดจากการกระจายตัวของจีโนไทป์ (genotypic segregation) ซึ่งมีสาเหตุมาจากการผสมกลับของลูกผสมที่มีจีโนไทป์เป็นแบบ heterozygous ไปยังพันธุ์ปลูกที่มีจีโนไทป์เป็นแบบ homozygous นอกจากนี้ลูกผสมกลับยังสามารถนำลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางเกษตรที่ดีของพันธุ์ปลูกกลับคืนมาได้ เช่น จำนวนรวงต่อกอที่เพิ่มขึ้น เมล็ดไม่มีหาง และการร่วงของเมล็ดยาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_1) และ 3 (BC_3F_1) สามารถรักษาลักษณะที่ดีของพันธุ์ปลูกได้มากกว่าลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับชั่วที่ 1(BC_1F_1) เนื่องจากจำนวนครั้งของการผสมกลับที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ลูกผสมกลับได้รับพันธุกรรมของข้าวปลูกซึ่งทำหน้าที่เป็นพันธุ์รับมากขึ้น และเป็นที่น่าสังเกตว่าความยาวของใบธงและใบที่อยู่ใต้ใบธง และอายุวันออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์ของลูกผสมกลับชั่วที่ 3 (BC_3F_1) มากกว่าพันธุ์พ่อแม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมกลับชั่วที่ 1(BC_1F_1) และ 2 (BC_2F_1)

ตารางที่ 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทางเกษตรของลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1 ที่ปลูกในสภาพเรือนปลูกพืช [1/]

ลูกผสมชั่วที่ 1 /ลูกผสมกลับ/ พันธุ์พ่อ-แม่	จำนวนต้น	ความกว้างใบ[1/] (ซม.)	ความยาวใบ[2/] (ซม.)	ความยาวใบธง(ซม.)	อายุวันออกดอก 50%[3/]	ความสมบูรณ์พันธุ์ของละอองเกสร (%)	การติดเมล็ดดี (%)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนรวงต่อกอ	หางเมล็ด	การร่วงของเมล็ด
กข 23/*O. nivara* (F_1)	230	1.40	42.00	41.50	70	83	60	108	19	มีหาง	ง่าย
ชัยนาท 1/*O. nivara* (F_1)	226	1.45	43.40	43.00	70	80	56	103	17	มีหาง	ง่าย
กข 23/*O. nivara*/กข 23 (BC_1F_1)	85	1.44	41.00	39.00	84	-	-	103.00	6	มีหาง-ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
		(1.30-1.60)	(38.50-42.50)	(37.50-41.00)	(75-95)			(95.00-124.00)	(4-9)		
C.V.(%)		0.01	1.27	1.14	24.34			72.28	1.16		
ชัยนาท 1/*O. nivara*/ชัยนาท 1 (BC_1F_1)	85	1.46	40.60	39.10	85	-	-	102.00	6	มีหาง-ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
		(1.30-1.70)	(38.50-43.00)	(38.00-42.00)	(75-98)			(92-124)	(4-8)		
C.V.(%)		0.01	1.50	1.02	28.67			62.22	0.80		
กข 23/*O. nivara*//กข 23 (BC_2F_1)	4	1.05	35.38	32.13	90	-	40.95	76.60	15	ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
		(1.00-1.10)	(31.00-43.00)	(23.50-41.00)	(84-96)		(38.71-44.25)	(68.68-84.11)	(1-23)		
C.V.(%)		6.70	18.70	28.50	5.50		6.50	8.60	67.40		
ชัยนาท 1/*O. nivara*//ชัยนาท 1 (BC_2F_1)	5	1.21	52.00	43.20	95	-	57.41	75.28	13	ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
		(1.10-1.30)	(48.00-57.50)	(37.50-46.50)	(91-104)		(43.28-64.39)	(61.44-85.13)	(4-17)		
C.V.(%)		6.10	6.40	8.00	7.00		16.50	14.60	56.80		

ตารางที่ 7 (ต่อ)

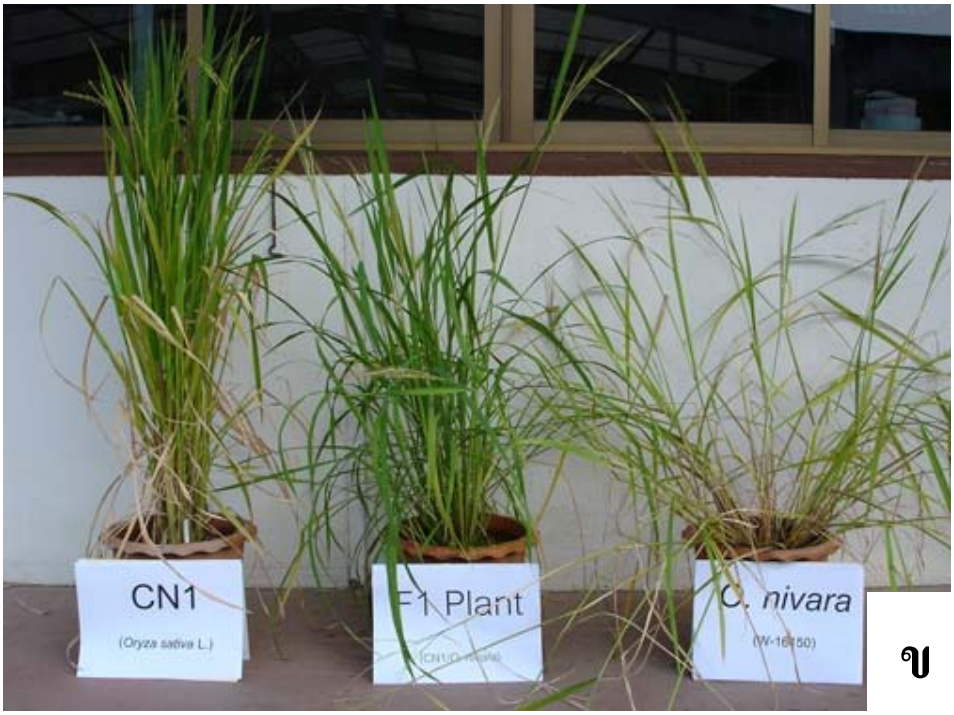
ลูกผสมชั่วที่ 1 /ลูกผสมกลับ/ พันธุ์พ่อ-แม่	จำนวนต้น	ความกว้างใบ[1/](ซม.)	ความยาวใบ[2/] (ซม.)	ความยาวใบธง(ซม.)	อายุวันออกดอก 50%[3/]	ความสมบูรณ์พันธุ์ของละอองเกสร (%)	การติดเมล็ดดี (%)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนรวงต่อกอ	หางเมล็ด	การร่วงของเมล็ด
กข 23/*O. nivara*///กข 23 (BC_3F_1)	14	1.07 (1.00-1.30)	57.92 (37.17-85.40)	45.96 (25.75-78.33)	99 (75-122)	-	35.43 (9.40-69.67)	103.47 (83.17-156.50)	27 (10-44)	ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
C.V.(%)		9.30	24.80	36.60	12.10		49.10	20.70	44.70		
ชัยนาท 1/*O. nivara*///ชัยนาท 1 (BC_3F_1)	6	1.40 (1.20-1.53)	57.64 (53.33-63.00)	40.64 (33.33-45.83)	112 (96-118)	-	57.26 (44.38-70.35)	124.01 (107.90-145.50)	25 (17-29)	ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
C.V.(%)		6.00	6.20	17.00	8.30		12.40	10.40	15.40		
กข 23	5	1.70	32.00	31.40	85	99	95	125	20	ไม่มีหาง	ยาก
ชัยนาท 1	5	1.80	38.00	37.20	93	97	91	115	18	ไม่มีหาง	ยาก
O. nivara	5	1.10	33.00	30.00	85	88	85	91	19	มีหาง	ง่าย

[1/] การปลูกลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับแต่ละชั่วไม่พร้อมกัน

[2/] ใบที่อยู่ใต้ใบธง

[3/] นับจากวันเพาะเลี้ยงเมล็ดจนถึงวันออกดอก 50%

ก



ข

ภาพที่ 3 ก. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 (กลาง) ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 (ซ้าย) กับข้าวป่า *O. nivara* (ขวา)

ข. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 (กลาง) ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ ชัยนาท 1 (ซ้าย) กับข้าวป่า *O. nivara* (ขวา)

ก

ข

ภาพที่ 4 ก. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_1 (กข 23/*O. nivara*/กข 23)

ข. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_1F_1 (ชัยนาท 1/*O. nivara*/ชัยนาท 1)

ก

ข

ภาพที่ 5 ก. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_2F_1 (กข 23/*O. nivara*//กข 23)

ข. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_2F_1 (ชัยนาท 1/*O. nivara*//ชัยนาท 1)

ก

ข

ภาพที่ 6 ก. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_3F_1 (กข 23/*O. nivara*///กข 23)

ข. ลักษณะของต้นข้าวลูกผสมกลับ BC_3F_1 (ชัยนาท 1/*O. nivara*///ชัยนาท 1)

ความแปรปรวนในลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางเกษตรของลูกชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับ BC_1F_2, BC_2F_2 และ BC_3F_2

ลูกชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับ BC_1F_2, BC_2F_2 และ BC_3F_2 มีความแปรปรวนในลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางเกษตรดังแสดงในตารางที่ 8 โดยความแปรปรวนดังกล่าวเกิดจากการกระจายตัวของจีโนไทป์อันเป็นผลเนื่องมาจากการผสมตัวเองของลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1 ความแปรปรวนในลักษณะส่วนใหญ่ของลูกชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับ BC_1F_2, BC_2F_2 และ BC_3F_2 สูงกว่าลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับ BC_1F_1, BC_2F_1 และ BC_3F_1 เมื่อดูแต่ละลักษณะ (ตารางที่ 7 และ8) เป็นที่น่าสังเกตว่าลูกชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับ BC_1F_2, BC_2F_2 และ BC_3F_2 มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดดีเฉลี่ย และจำนวนรวงต่อกอเฉลี่ยต่ำมาก ในขณะที่ข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1 ซึ่งทำหน้าที่เป็นพันธุ์รับก็มีค่าทั้งสองดังกล่าวค่อนข้างต่ำด้วยเช่นกัน ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากการระบาดของแมลงสิงในแปลงปลูก โดยแมลงสิงได้ดูดน้ำเลี้ยงจากช่อดอกในระยะออกดอกทำให้เมล็ดที่ได้ลีบ ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดดีต่ำ ส่วนจำนวนรวงต่อกอที่ต่ำนั้นเนื่องมาจากดินในบริเวณแปลงปลูกมีค่า pH สูง (8.5-9.0) ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวโดยทำให้ต้นข้าวแตกกอน้อย มีอาการใบและต้นเหลือง ส่งผลให้จำนวนรวงต่อกอเฉลี่ยต่ำ ค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวคือ 5.5-6.5 น้ำหนัก 100 เมล็ดของลูกผสมกลับ BC_1F_2, BC_2F_2 และ BC_3F_2 ที่ได้จากการผสมกลับไปยังพันธุ์ปลูกชัยนาท 1 มีน้ำหนัก 100 เมล็ดเฉลี่ยสูงกว่าลูกผสมกลับที่ได้จากการผสมกลับไปยังพันธุ์ปลูก กข 23 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะพันธุ์ปลูกชัยนาท 1 มีน้ำหนัก 100 เมล็ดสูงกว่าพันธุ์ปลูก กข 23 ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_2) และ 3 (BC_3F_2) ยังสามารถรักษาลักษณะเมล็ดที่ไม่มีหางไว้ได้ ในขณะที่ลูกผสมกลับชั่วที่ 1 (BC_1F_2) ยังมีการกระจายตัวทั้งลักษณะเมล็ดที่มีหางและไม่มีหางซึ่งแสดงว่าเมล็ดไม่มีหางมีความคงตัวทางพันธุกรรมตั้งแต่ในลูกผสมกลับชั่วที่ 2 แล้ว อย่างไรก็ตามการหลุดร่วงของเมล็ดจากร่วงง่าย-ยากยังคงมีการกระจายตัวของลักษณะในลูกผสมกลับชั่วที่ 1, 2 และ3

ตารางที่ 8 ความแปรปรวนในลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางเกษตรของลูกชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับ BC_1F_2, BC_2F_2 และ BC_3F_2 ที่ปลูกในสภาพแปลงทดลองในระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2551

ลูกชั่วที่ 2 /ลูกผสมกลับ / พันธุ์พ่อ-แม่	จำนวนต้น	ความกว้างใบ[1/] (ซม.)	ความยาวใบ[1/] (ซม.)	ความยาวใบธง(ซม.)	อายุวันออกดอก 50%	การติดเมล็ดดี(%)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนรวงต่อกอ	น้ำหนัก 100 เมล็ด	หางเมล็ด	การร่วงของเมล็ด
กข 23/*O. nivara* (F_2)	7	1.16	58.26	39.54	67	12.55	119.38	8	1.76	มีหาง	ง่าย
		(0.77-1.47)	(47.67-75.33)	(31.93-53.17)	(62-72)	(0.65-14.82)	(91.67-150.33)	(5-10)	(1.55-1.96)		
C.V.(%)		22.40	16.70	19.90	6.30	87.20	17.10	24.80	16.50		
ชัยนาท 1/*O. nivara* (F_2)	10	0.77	36.17	26.68	-[2/]	44.82	80.47	17	1.99	มีหาง	ง่าย
		(0.50-1.00)	(17.33-49.00)	(14.47-40.67)	-[2/]	(30.45-57.42)	(59.33-112.33)	(9-27)	(1.74-2.18)		
C.V.(%)		23.50	27.60	29.90	-[2/]	21.80	21.20	35.90	6.40		
กข 23/*O. nivara*/กข 23 (BC_1F_2)	22	1.25	46.91	31.81	65	22.23	108.21	6	2.06	มีหาง-ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
		(0.80-1.57)	(31.00-67.67)	(18.00-41.67)	(58-73)	(0.42-48.13)	(76.50-157.67)	(1-19)	(1.04-2.60)		
C.V.(%)		19.40	23.60	19.80	8.70	73.80	32.20	74.30	18.40		
ชัยนาท 1/*O. nivara*/ชัยนาท 1 (BC_1F_2)	21	1.11	53.55	36.11	67	11.39	108.52	6	2.21	มีหาง-ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
		(0.80-1.57)	(39.00-68.67)	(24.50-65.00)	(61-73)	(0.27-39.82)	(74.33-140.33)	(1-14)	(1.44-2.82)		
C.V.(%)		17.40	16.20	23.50	6.10	111.50	20.60	56.50	16.20		
กข 23/*O. nivara*//กข 23 (BC_2F_2)	17	1.23	57.03	35.75	60	17.86	118.29	9.00	2.30	มีหาง-ไม่มีหาง	ยาก
		(1.00-1.67)	(41.33-77.67)	(26.33-49.33)	(50-70)	(1.31-54.15)	(85.67-146.33)	(1-22)	(1.79-2.64)		
C.V.(%)		13.70	16.20	18.40	9.20	81.40	14.40	61.50	7.70		

ตารางที่ 8 (ต่อ)

ลูกชั่วที่ 2 /ลูกผสมกลับ / พันธุ์พ่อ-แม่	จำนวนต้น	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวใบ[1/] (ซม.)	ความยาวใบธง(ซม.)	อายุวันออกดอก 50%	การติดเมล็ดดี(%)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนรวงต่อกอ	น้ำหนัก 100 เมล็ด	หางเมล็ด	การร่วงของเมล็ด
ชัยนาท 1/*O. nivara*//ชัยนาท 1	27	1.28	51.54	36.05	66	12.73	106.07	6	2.50	ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
(BC_2F_2)		(0.93-1.73)	(41.50-68.33)	(25.67-60.00)	(53-75)	(0.92-51.18)	(78.00-123.00)	(2-12)	(1.79-3.41)		
C.V.(%)		15.50	12.60	21.70	8.20	94.30	10.20	45.00	15.70		
กข 23/*O. nivara*///กข 23 (BC_3F_2)	95	1.27	53.66	36.56	65	14.68	112.27	8	2.21	ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
		(0.33-1.93)	(13.33-84.33)	(9.67-59.00)	(52-93)	(0.12-52.62)	(28.00-165.33)	(1-38)	(1.54-2.78)		
C.V.(%)		18.70	20.10	28.50	12.50	99.80	21.50	81.50	14.30		
ชัยนาท 1/*O. nivara*///ชัยนาท 1	52	1.34	51.97	37.53	66	16.70	107.84	7	2.34	ไม่มีหาง	ง่าย-ยาก
(BC_3F_2)		(1.00-1.87)	(39.67-69.00)	(19.67-51.17)	(39-91)	(0.19-97.00)	(75.83-126.00)	(1-20)	(1.60-3.55)		
C.V.(%)		14.90	12.80	16.00	10.80	109.10	10.40	51.10	14.40		
กข 23	5	1.70	32.00	31.40	66	32.77	128	14	2.67	ไม่มีหาง	ยาก
ชัยนาท 1	5	1.80	38.00	37.20	69	50.67	120	12	2.38	ไม่มีหาง	ยาก
O. nivara	5	1.10	33.00	30.00	85	85	91	19	-	มีหาง	ง่าย

[1/] ใบที่อยู่ใต้ใบธง

[2/] อายุวันออกดอก 50% คลาดเคลื่อนเนื่องจากลูกชั่วที่ 2 (F_2) ของคู่ผสม ชัยนาท 1/*O.nivara* ได้ลูกย้ายปลูกถึงสองครั้งทำให้ต้นชะงักการเจริญเติบโต

การทดสอบความต้านทานต่อสภาพแล้งของสายพันธุ์ลูกชั่วที่ 3 และสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3

การทดสอบความต้านทานต่อสภาพแล้งของต้นข้าวในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative growth stage) โดยให้คะแนนการม้วนใบ ใบแห้ง และการฟื้นตัวจากแล้งด้วยสายตา สามารถแยกความแตกต่างในระดับความต้านทานต่อสภาพแล้งของต้นข้าว (O' Toole and Moya, 1978) และได้มีการนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวต้านทานต่อสภาพแล้งอย่างกว้างขวาง (Loresto *et al*., 1976; O' Toole and Cruz, 1980; O'Toole and Maguling, 1981; O'Toole and Moya, 1981; Theodore *et al.*, 1984; Malabuyoc *et al.*, 1985; Turner *et al.*, 1986; Singh and Mackill, 1991; Mitchell *et al.*, 1998; Singh *et al.*, 2004)

ในการทดลองครั้งนี้ได้ทดสอบความต้านทานแล้งในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นของลูกชั่วที่ 3 (F_3) ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3, BC_3F_3 ของคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และ ชัยนาท1/ O. *nivara* พันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ไม่ต้านทานต่อสภาพแล้ง 3 พันธุ์ (กข 23, ชัยนาท 1 และ Taichung Native 1) และพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ต้านทานต่อสภาพแล้ง 2 พันธุ์ (Salumpikit และ กข 19) โดยการงดให้น้ำจนกระทั่งต้นข้าวพันธุ์ Taichung Native 1 ซึ่งเป็นพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ไม่ต้านทานต่อสภาพแล้งแสดงอาการม้วนใบในระดับคะแนนสูงสุดในช่วงเวลากลางวันซึ่งต้องใช้เวลาในการงดให้น้ำนาน 38 วัน จึงบันทึกระดับคะแนนการม้วนใบของลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ และพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ไม่ต้านทานและต้านทานต่อสภาพแล้ง (ภาพที่ 7) พบว่า ต้นลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ของคู่ผสมทั้งสองมีการกระจายตัวของคะแนนการม้วนใบตั้งแต่ 0 ถึง 9 (ตารางที่ 9) แต่ต้นที่มีคะแนนการม้วนใบในระดับสูง (ระดับ 7 ถึง 9) มีจำนวน (ความถี่) สูงกว่าต้นที่มีคะแนนการม้วนใบในระดับต่ำ (ระดับ 0 ถึง 5) จึงทำให้ลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ของคู่ผสมทั้งสองมีคะแนนการม้วนใบเฉลี่ยค่อนข้างสูง (6.0 ถึง 7.5) ส่วนพันธุ์มาตรฐานที่ไม่ต้านทานต่อสภาพแล้งทั้ง 3 พันธุ์ก็มีคะแนนการม้วนใบเฉลี่ยค่อนข้างสูง (5.6 ถึง 7.1) เช่นเดียวกัน ในทางตรงกันข้ามพันธุ์มาตรฐานที่ต้านทานแล้งทั้ง 2 พันธุ์ มีคะแนนการม้วนใบเฉลี่ยต่ำ (2.8 ถึง 3.4)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างระหว่างลูกผสมกลับชั่วต่างๆ พบว่า ลูกผสมกลับชั่วที่ 1 (BC_1F_3) มีคะแนนการม้วนใบเฉลี่ยต่ำกว่าลูกผสมกับชั่วที่ 2 (BC_2F_3) และชั่วที่ 3 (BC_3F_3) กล่าวคือการผสมกลับไปยังข้าวปลูกที่ไม่ต้านทานแล้ง ในจำนวนครั้งที่มากขึ้นจะทำให้ลูกผสมกลับมีคะแนนการม้วนใบสูงขึ้นหรือมีความต้านทานแล้งลดลง

หลังจากบันทึกคะแนนการม้วนใบแล้วงดให้น้ำต่อไปจนกระทั่งต้นข้าวพันธุ์ Taichung Native1 แสดงอาการใบแห้งในระดับคะแนน 5 ในช่วงเวลากลางวันจึงบันทึกคะแนนใบแห้ง ของลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ พันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ไม่ต้านทานและต้านทานต่อสภาพแล้ง (ภาพที่ 8) พบว่าลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ของคู่ผสมทั้งสองมีการกระจายตัวของคะแนนใบแห้งตั้งแต่ 0 ถึง 9 แต่ต้นที่มีคะแนนใบแห้งในระดับปานกลาง (ระดับ 3-5) มีจำนวน (ความถี่) สูงกว่าต้นที่มีคะแนนใบแห้งในระดับต่ำ (ระดับ 0-1) และสูง (ระดับ7-9) จึงทำให้ลูกชั่วที่ 3 และลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ของคู่ผสมทั้งสองมีคะแนนใบแห้งเฉลี่ยปานกลาง (3.6-5.1) ส่วนพันธุ์มาตรฐานที่ไม่ต้านทานแล้งทั้ง 3 พันธุ์ มีคะแนนใบแห้งเฉลี่ยปานกลาง (4.1-5.5) เช่นเดียวกัน ในทางตรงกันข้ามพันธุ์มาตรฐานที่ต้านทานแล้งทั้ง 2 พันธุ์ มีคะแนนใบแห้งเฉลี่ยต่ำ (2.8-3.6)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างลูกผสมกลับชั่วต่างๆ พบว่า ลูกผสมกลับชั่วที่ 1 (BC_1F_3) มีคะแนนใบแห้งเฉลี่ย 3.6 ซึ่งต่ำกว่าลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_3) และชั่วที่ 3 (BC_3F_3) ในคู่ผสมชัยนาท 1/*O.nivara* ที่มีคะแนนใบแห้งเฉลี่ย 4.0 และ 3.8 ตามลำดับหรืออาจกล่าวได้ว่า การผสมกลับไปยังข้าวปลูกที่ไม่ต้านทานแล้งในจำนวนครั้งที่มากขึ้น จะทำให้ลูกผสมกลับมีคะแนนใบแห้งสูงขึ้นหรือมีความต้านทานแล้งลดลง ในทางตรงกันข้ามในคู่ผสม กข 23/*O.nivara* การผสมกลับไปยังข้าวปลูกที่ไม่ต้านทานแล้งในจำนวนครั้งที่มากขึ้น จะทำให้ลูกผสมกลับมีคะแนนใบแห้งเฉลี่ยลดลง จาก 5.1 ใน BC_1F_3 ลดลงเป็น 4.4 ใน BC_2F_3 และ BC_3F_3หรือมีความต้านทานแล้งมากขึ้น

หลังจากบันทึกคะแนนใบแห้งแล้วจึงให้น้ำใหม่อีกเป็นเวลานาน 10 วัน แล้วบันทึกคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งของลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ พันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานที่ไม่ต้านทานและต้านทานต่อสภาพแล้ง (ภาพที่ 9) พบว่า ลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ของคู่ผสมทั้งสองมีการกระจายตัวของคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งตั้งแต่ 1 ถึง 9 แต่ต้นที่มีคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งในระดับต่ำ (ระดับ 1) มีจำนวน (ความถี่) สูงกว่าต้นที่มีคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งในระดับปานกลางถึงสูง (ระดับ 3-9) จึงทำให้ลูกชั่วที่ 3 และลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ของคู่ผสมทั้งสองมีคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งเฉลี่ยค่อนข้างต่ำ (1.4-2.6) ส่วนพันธุ์มาตรฐานที่ไม่

ต้านทานแล้งทั้ง 3 พันธุ์มีคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งเฉลี่ยค่อนข้างต่ำ (2.0-2.8) เช่นเดียวกัน แต่พันธุ์มาตรฐานที่ต้านทานแล้งทั้ง 2 พันธุ์มีคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งเฉลี่ยต่ำ (1.7-1.8)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างลูกผสมกลับชั่วต่างๆ พบว่า ลูกผสมกลับชั่วที่ 1 (BC_1F_3) มีคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งเฉลี่ยเป็น 1.4 ซึ่งต่ำกว่าลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_3) และลูกผสมกลับชั่วที่ 3 (BC_3F_3) ในคู่ผสมชัยนาท 1/*O. nivara* ซึ่งมีคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งเฉลี่ย 1.7 และ 1.9 ตามลำดับ หรืออาจกล่าวได้ว่า การผสมกลับไปยังข้าวปลูกที่ไม่ต้านทานแล้งในจำนวนครั้งที่มากขึ้น จะทำให้ลูกผสมกลับมีคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งสูงขึ้นหรือมีความต้านทานแล้งลดลง ในทางตรงกันข้ามในคู่ผสม กข 23/*O. nivara* การผสมกลับไปยังข้าวปลูกที่ไม่ต้านทานแล้งในจำนวนครั้งที่มากขึ้น จะทำให้ลูกผสมกลับมีคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งลดลงจาก 2.6 ใน BC_1F_3 ลดลงเป็น 2.0 ใน BC_2F_3 และBC_3F_3 หรือมีความต้านทานแล้งเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาโดยดูจากคะแนนการม้วนใบ ใบแห้ง และการฟื้นตัวจากแล้ง พบว่า ลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 มีการกระจายตัวของคะแนนการม้วนใบ ใบแห้ง และการฟื้นตัวจากแล้งตั้งแต่ระดับต่ำไปยังสูง (ระดับ 0 ถึง 9) แต่คะแนนการม้วนใบเฉลี่ยค่อนข้างสูง (6.0-7.4) คะแนนใบแห้งเฉลี่ยปานกลาง (3.6-5.1) และคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งเฉลี่ยค่อนข้างต่ำ (1.4-2.6) ส่วนพันธุ์มาตรฐานที่ไม่ต้านทานแล้งทั้ง 3 พันธุ์มีคะแนนการม้วนใบเฉลี่ยค่อนข้างสูง (5.6-7.1) คะแนนใบแห้งเฉลี่ยปานกลาง (4.1-5.5) และคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งเฉลี่ยค่อนข้างต่ำ (2.0-2.8) เช่นเดียวกัน ในขณะที่พันธุ์มาตรฐานที่ต้านทานแล้งทั้ง 2 พันธุ์มีคะแนนการม้วนใบเฉลี่ยต่ำ (2.8-3.4) คะแนนใบแห้งเฉลี่ยต่ำ (2.8-3.6) และคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งเฉลี่ยต่ำ (1.7-1.8) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 มีการกระจายตัวของต้นที่มีลักษณะไม่ต้านทานแล้งจนถึงต้นที่มีลักษณะต้านทานแล้ง แต่ต้นส่วนใหญ่ไม่ต้านทานแล้งเนื่องจากมีคะแนนการม้วนใบเฉลี่ยค่อนข้างสูง คะแนนใบแห้งเฉลี่ยปานกลาง และคะแนนการฟื้นตัวจากแล้งเฉลี่ยค่อนข้างต่ำ เช่นเดียวกับพันธุ์มาตรฐานที่ไม่ต้านทานต่อแล้ง ในขณะที่พันธุ์มาตราฐานที่ต้านทานแล้งมีคะแนนการม้วนใบ ใบแห้งและการฟื้นตัวจากการแล้งเฉลี่ยต่ำ พันธุ์หรือสายพันธุ์ข้าวที่ต้านทานแล้งจะสามารถปรับแรงดันออสโมซิส(osmotic adjustment) ได้สูงกว่าพันธุ์หรือสายพันธุ์ข้าวที่ไม่ต้านทานแล้ง (Hsiao *et al.,*1984) การปรับแรงดันออสโมซิสเกิดจากการสะสมสารพวก solvent บางชนิดเช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ กรดอะมิโน ฯลฯ ภายในเซลล์ทำให้แรงดันออสโมซิสในเซลล์ลดต่ำลง ส่งผลให้เซลล์สามารถดึงดูดน้ำจากดินได้มากขึ้น เมื่อภายในเซลล์มีปริมาณน้ำมากขึ้นเซลล์จะสามารถรักษาแรงเต่ง (turgor pressure) ไว้ได้ในสภาพขาดน้ำ (McCree *et al.,*1984, Fukai and Cooper, 1994) ส่งผลให้ต้นข้าวมีการม้วนใบและใบแห้งต่ำกว่า

พันธุ์หรือสายพันธุ์ที่ปรับแรงดันออสโมซิสได้ต่ำ(O'Toole and Moya, 1978) นอกจากนี้พันธุ์ข้าวที่มีการม้วนใบต่ำจะมีพื้นที่ใบในการสังเคราะห์แสงและสามารถสะสมน้ำหนักแห้งได้มาก ทำให้ได้ผลผลิตที่สูง (Ludlow and Muchow, 1990) ยิ่งกว่านั้นการสะสมสารพวก solvent ภายในเซลล์โดยการปรับแรงดันออสโมซิสระหว่างที่ข้าวขาดน้ำยังทำให้ต้นข้าวสามารถฟื้นตัวจากแล้งและเจริญเติบโต (regrowth) ต่อไปได้เมื่อได้รับน้ำใหม่อีกครั้ง (McCree *et al.,*1984)

ต้นลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ที่มีความต้านทานแล้งนั้นได้รับการถ่ายทอดลักษณะจากข้าวป่า *O. nivara* ที่มีความต้านทานแล้งแบบเลี่ยงแล้ง (Eizenga and Rutger, 2003) อย่างไรก็ตามการผสมกลับไปยังพันธุ์ปลูกที่ไม่ต้านทานแล้งในจำนวนครั้งที่มากขึ้นในคู่ผสมชัยนาท 1/*O. nivara* ทำให้ลูกผสมกลับที่ได้มีคะแนนการม้วนใบ ใบแห้ง และการฟื้นตัวจากแห้งแล้งสูงขึ้นหรือมีความต้านทานแล้งลดลง ส่วนการผสมกลับไปยังพันธุ์ปลูกที่ไม่ต้านทานแล้งในจำนวนครั้งที่มากขึ้นในคู่ผสม กข 23/*O. nivara* ทำให้ลูกผสมกลับที่ได้มีคะแนนการม้วนใบเฉลี่ยสูงขึ้น แต่คะแนนใบแห้งและการฟื้นตัวจากแล้งเฉลี่ยกลับลดลง จึงไม่อาจกล่าวได้ว่าการผสมกลับในจำนวนครั้งที่มากขึ้นจะทำให้ความต้านทานแล้งลดลงในคู่ผสม กข 23/*O. nivara* ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าการคัดเลือกพันธุ์ข้าวต้านทานแล้งสามารถกระทำได้ในลูกชั่วที่ 2 หรือ 3 หรือลูกผสมกลับชั่วที่ 1 โดยไม่จำเป็นต้องรอจนถึงลูกผสมกลับชั่วที่ 2 และ 3 เพียงแต่ในการคัดเลือกต้นที่ต้านทานแล้งควรคำนึงถึงลักษณะทางเกษตรที่ดีด้วย ในการศึกษาครั้งนี้สามารถคัดเลือกต้นข้าวที่มีความต้านทานแล้งสูงจำนวน 13, 5, 4 และ 12 ต้น จากลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ตามลำดับในคู่ผสมทั้งสอง โดยพิจารณาจากต้นที่มีคะแนนการม้วนใบ ใบแห้งและการฟื้นตัวจากแล้งในระดับต่ำ (ระดับ 0-1) (ตารางผนวกที่ 1)

ตารางที่ 9 คะแนนของลักษณะการม้วนใบ, ใบแห้ง และการฟื้นตัวจากแล้งของลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3, พันธุ์มาตรฐานที่ต้านทานและไม่ต้านทานต่อสภาพแล้ง

ลูกผสมชั่วที่ 3 / ลูกผสมกลับ / พันธุ์เปรียบเทียบ	จำนวนต้นที่ทดสอบ	ลักษณะอาการ	ความถี่ในการกระจายตัวของคะแนน						เฉลี่ย
			0	1	3	5	7	9	
กข 23/*O. nivara*									
F_3	80	การม้วนใบ	1	2	6	9	11	51	7.5
	80	ใบแห้ง	-	3	31	20	13	13	5.1
	80	การฟื้นตัว	-	62	2	2	2	12	2.5
BC_1F_3	162	การม้วนใบ	12	16	22	12	28	72	6.0
	162	ใบแห้ง	-	7	45	55	41	14	5.1
	162	การฟื้นตัว	-	115	10	9	7	21	2.6
BC_2F_3	178	การม้วนใบ	3	9	11	18	23	114	7.4
	178	ใบแห้ง	-	3	87	62	11	15	4.4
	178	การฟื้นตัว	-	149	6	3	5	15	2.0
BC_3F_3	377	การม้วนใบ	11	39	46	28	64	189	6.5
	377	ใบแห้ง	2	16	165	131	33	30	4.4
	377	การฟื้นตัว	-	308	17	9	13	30	2.0
ชัยนาท 1/*O. nivara*									
F_3	168	การม้วนใบ	2	12	25	13	10	106	7.0
	167	ใบแห้ง	2	42	30	13	40	40	5.0
	167	การฟื้นตัว	-	119	11	12	8	17	2.5
BC_1F_3	157	การม้วนใบ	3	15	18	32	44	45	6.0
	157	ใบแห้ง	1	14	102	25	11	4	3.6
	157	การฟื้นตัว	-	143	5	2	2	5	1.4
BC_2F_3	188	การม้วนใบ	2	6	8	27	52	93	7.3
	188	ใบแห้ง	-	18	102	41	16	11	4.0
	188	การฟื้นตัว	-	161	10	5	5	7	1.7
BC_3F_3	366	การม้วนใบ	3	11	35	85	81	151	6.7
	364	ใบแห้ง	1	23	236	63	18	23	3.8
	364	การฟื้นตัว	-	297	27	7	13	20	1.9

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ลูกผสมชั่วที่ 3 / ลูกผสมกลับ / พันธุ์เปรียบเทียบ	จำนวนต้นที่ทดสอบ	ลักษณะอาการ	ความถี่ในการกระจายตัวของคะแนน						เฉลี่ย
			0	1	3	5	7	9	
กข23	242	การม้วนใบ	12	35	40	26	44	85	5.6
(พันธุ์อ่อนแอ)	242	ใบแห้ง	1	9	109	76	26	21	4.5
	242	การฟื้นตัว	-	196	9	4	8	25	2.2
ชัยนาท1	244	การม้วนใบ	5	22	30	38	48	101	6.3
(พันธุ์อ่อนแอ)	244	ใบแห้ง	-	24	126	49	15	30	4.1
	243	การฟื้นตัว	-	204	8	3	4	24	2.0
Taichung Native1	206	การม้วนใบ	1	18	22	14	25	126	7.1
(พันธุ์อ่อนแอ)	206	ใบแห้ง	-	2	56	72	45	31	5.5
	206	การฟื้นตัว	-	147	12	3	9	35	2.8
กข19	235	การม้วนใบ	81	74	25	18	11	26	2.2
(พันธุ์ต้านทาน)	230	ใบแห้ง	3	61	133	24	5	4	2.8
	230	การฟื้นตัว	-	206	1	2	7	14	1.7
Salumpikit	232	การม้วนใบ	52	69	31	15	21	44	3.4
(พันธุ์ต้านทาน)	230	ใบแห้ง	2	34	130	36	19	9	3.6
	230	การฟื้นตัว	-	205	1	2	5	17	1.8

ภาพที่ 7 ลูกชั่วที่ 3 (F_3) ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3, BC_3F_3 ของคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และชัยนาท1/*O. nivara* แสดงการม้วนใบหลังจากงดให้น้ำ 38 วัน

ภาพที่ 8 ลูกชั่วที่ 3 (F_3) ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3, BC_3F_3 ของคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และชัยนาท1/*O. nivara* แสดงอาการใบแห้งหลังจากงดให้น้ำ 48 วัน

ภาพที่ 9 ลูกชั่วที่ 3 (F_3) ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3, BC_3F_3 ของคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และชัยนาท1/*O. nivara* แสดงการฟื้นตัวจากแล้งหลังจากให้น้ำใหม่ 10 วัน

สรุป

1. การผสมข้ามระหว่างข้าวปลูก (*O. sativa*) พันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1 กับข้าวป่า (*O. nivara*) มีอัตราการผสมติดเมล็ดเป็น 50 และ 48 เปอร์เซ็นต์ หรือเฉลี่ย 49 เปอร์เซ็นต์

2. คัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 และชัยนาท 1 กับข้าวป่า (*O. nivara*) มีอัตราการงอกของคัพภะเป็น 61.5 และ61.4 เปอร์เซ็นต์ หรือเฉลี่ย 61.45 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS

3. คัพภะลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 และ ชัยนาท 1 กับข้าวป่า (*O. nivara*) ที่มีอายุ 14 วันหลังการผสมเกสร เหมาะสมสำหรับนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS เพื่อช่วยชีวิตคัพภะให้สามารถงอกเป็นต้นอ่อนได้

4. อัตราการผสมติดเมล็ดภายหลังการผสมกลับของลูกผสมไปยังพันธุ์ปลูกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนครั้งของการผสมกลับเพิ่มขึ้น

5. อัตราการงอกของลูกผสมกลับภายหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนครั้งของการผสมกลับเพิ่มขึ้น

6. ลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างข้าวปลูกพันธุ์ กข 23 และ ชัยนาท 1 กับข้าวป่า (*O. nivara*) มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางเกษตรส่วนใหญ่อยู่กึ่งกลางระหว่างพ่อแม่ ยกเว้นลักษณะเมล็ดที่มีหาง และการร่วงหล่นของเมล็ดจากรวงได้ง่ายนั้นใกล้เคียงกับพันธุ์ป่าซึ่งเป็นพันธุ์พ่อ

7. ลูกผสมกลับไปยังข้าวพันธุ์ปลูกชั่วต่าง ๆ มีความแปรปรวนในลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางเกษตรเนื่องจากการกระจายตัวของจีโนไทป์ นอกจากนี้ลูกผสมกลับยังสามารถนำลักษณะที่ดีของพันธุ์ปลูกกลับคืนมาได้ภายหลังการผสมกลับในครั้งที่ 2 และ 3 เช่น ลักษณะเมล็ดที่ไม่มีหาง

8. จากการทดสอบความต้านทานแล้งในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น พบว่า ลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 มีการกระจายตัวของต้นที่ไม่ต้านทานแล้งจนถึงต้นที่

ต้านทานแล้ง แต่ต้นส่วนใหญ่ไม่ต้านทานแล้ง และความต้านทานแล้งของลูกชั่วที่ 3 และลูกผสมกลับได้รับการถ่ายทอดลักษณะจากข้าวป่า (*O. nivara*) ที่มีความต้านทานแล้งแบบเลี่ยงแล้ง

9. การผสมกลับไปยังข้าวปลูกที่ไม่ต้านทานแล้งในจำนวนครั้งที่มากขึ้น มีแนวโน้มทำให้ลูกผสมกลับมีความต้านทานแล้งลดลง

10. ในการศึกษาครั้งนี้สามารถคัดเลือกต้นที่มีความต้านทานแล้งสูง จำนวน 13, 5, 4 และ 12 ต้น จากลูกชั่วที่ 3 ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ของทั้งสองคู่ผสมตามลำดับ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กฤษฎา สัมพันธารักษ์. 2529. **ปรับปรุงพันธุ์พืช**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2546. **ปรับปรุงพันธุ์พืช: พื้นฐาน วิธีการ และแนวคิด**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชูศักดิ์ จอมพุก. 2536. **การถ่ายทอดลักษณะความต้านทานเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียวจากข้าวป่า (*Oryza minuta*) ไปยังข้าวปลูก (*Oryza sativa*).** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บวรพนธ์ ชลนิพัทธ์. 2544. **การใช้แหล่งพันธุกรรมจากข้าวป่า (*Oryza officinalis* Wall ex Watt) ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวปลูก (*Oryza sativa* L.) ให้ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อนร่วมกับการชักนำด้วยสารโคลชิซีน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญหงษ์ จงคิด. 2545. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานแล้งเพื่อปลูกในสภาพไร่. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (ภาษาไทย)** 10 (1): 26-33.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, กาญจนา กล้าแข็ง, เผดิม ระติสุนธร, เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา, สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, นิตย์ศรี แสงเดือน, ชัยฤกษ์ มณีพงศ์ และ หทัยรัตน์ อุไรวงศ์. 2536. การเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อนของข้าวลูกผสม. **ว.วิทย.กษ.** 27 (1): 15-19.

ผ่องพรรณ จรัสจินดาวงศ์. 2538. **การงอกและการเจริญของละอองเรณูข้าว *Oryza* หลังจากการผสมตัวเองและการผสมข้ามชนิด**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2527. **หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช**. โรงพิมพ์ไทยนำ, สงขลา.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วาสนา วรมิศร์. 2545. การปรับปรุงพันธุ์ข้าว, น. 47-94. *ใน* ฝ่ายถ่ายทอดเทคโนโลยี. **การปรับปรุงพันธุ์ข้าว**. สถาบันวิจัยข้าว, กรมวิชาการเกษตร.

วัชรีวรรณ แจ่มบุญศรี. 2540. **การใช้แหล่งพันธุกรรมข้าวป่า *Oryza minuta* J.S. Presl ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวทีบอเนต ให้ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อนร่วมกับการชักนำด้วยสารโคลชิซิน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สงกรานต์ จิตรกร. 2543. ความหลากหลายทางชีวภาพของข้าวในประเทศไทย, น. 26-38. *ใน* **เอกสารประกอบการสัมนาทางวิชาการข้าวแห่งชาติ: การวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวด้วยเทคโนโลยีชีวภาพ** วันที่ 31 สิงหาคม-1 กันยายน 2543 ณ โรงแรมสีดารีสอร์ท, นครนายก.

สรศักดิ์ หวังสินสุจริต. 2542. **การคัดเลือกพันธุ์ข้าว (*Oryza sativa* L.) ต้านทานต่อสภาพแล้งโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2551. สถิติ. **สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร**. แหล่งที่มา: http://www.oae.go.th/oae_go_th/, 5 มิถุนายน 2551.

สุพรรณญิกา เนตรทัศน์. 2539. **การปรับปรุงพันธุ์ข้าว กข 7 ให้ต้านทานต่อ แมลงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยการเพาะเลี้ยงคัพภะอ่อนร่วมกับการชักนำด้วยโคลชิซีน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุพรรณญิกา เส็งสาย. 2549. **การปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยวิธีผสมกลับและการเพาะเลี้ยงอับเรณูร่วมกับการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล.** วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abdullah, B., M. Bustamam, T.S. Silitonga, A.H. Bahagiawati, D. Suardi, J. Prasetiyono, Tasliah, M. Amir and A. Nasution. 2003. Evaluasi ketahanan spesies padi liar terhadap cekaman biotik dan abiotik dan karakterisasi dengan menggunakan markah mikrosatelit. *In* **Prosiding Tahun.** Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman Bogor.

Ali, M.L, M.S. Pathan, G. Bai, Sarkarung and H.T. Nguyen. 2004. Mapping QTLs for root traits in a recombinant inbred population from two indica ecotypes in rice. **Theor. Appl. Genet**. 101(5-6): 756-766.

Amante-Border, A.D., L.A. Sitch, R. Nelson, R.D. Dalmacio, N.P. Oliva, H. Aswiinnoor and H. Leung. 1992. Transfer of bacterial blight and blast resistance from tetraploid wild rice *O. minuta* to cultivated rice, *O. sativa*. **Theor. Appl. Genet.** 84 (3-4): 345-354.

Arraudeua, M.A. 1989. Breeding strategies for drought resistance, pp. 107-116. *In* F.W.G. Baken, ed. **Drought Resistance in Cereals**. CAP International, Walling.

Bannikra, V.P. and O.A. Khredynich. 1974. Feature of fertilization in the course of remote hybridization in plant, pp. 301-307. *In* H.F. Linskens, ed. **Fertilization in Higher Plant**. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.

Bouharmont, L. 1961. Embryo culture of rice on sterile medium. **Euphytica** 10: 283-293.

Brar, D.S., and G.S. Khush. 1986. Wide hybridization and chromosome manipulation in cereal, pp. 211-263. *In* D.A. Evans, W.R. Sharp and P.V. Ammirato, eds. **Handbook of Plant Cell Culture**. Vol. 9. Macmillan Publishing Company, NewYork.

_____ and _____. 2002. Transferring genes from wild species into rice, pp. 197-217. *In* M.S. Kang, ed. **Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding**. CABI Publishing, NewYork.

_____ and _____. 2006. Cytogenetic manipulation and germaplasm enhancement of rice (*Oryza sativa* L.), pp. 115-158. *In* R.J. Singh and P.P. Jauhar, eds. **Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement**. Taylor & Francis Group, NewYork.

_____, R. Elloran, and G.S. Khush. 1991. Interspecific hybrids produced through embryo rescue between cultivated and eight wild species of rice. **Rice Genet. Newsl**. 8: 91-93.

Chang, T.T. and C.C. Li. 1991. Genetics and breeding, pp. 23-101. *In* L.S. Bor, ed. **Rice I: Production**. Van Nostrand Reinhold, New York.

_____, G.C. Loresto, J.C. O'Toole and J.L. Armenta-soto. 1982. Strategy and methology of breeding rice for drought prone area, pp. 214-244. *In* M.R. Vega, ed. **Drought Resistance in Crops with Emphasis on Rice**. IRRI, Manila.

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

Chu, Y.L., H. Morishima and H.I. Oka. 1969. Reproductive barriers distributed in cultivated rice species and their relatives. **Japan. J. Genet**. 44: 207-233.

Clarke, H.J., J.G. Wilson, I. Kuo, M.M. Lulsdorf, N. Mallikarjuna, J. Kuo and K.H.M. Siddique. 2005. Embryo rescue and plant regeneration *in vitro* of selfed chickpea (*Cicer arietinum* L.) and its wild annual relatives. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** 85 (2): 197-204.

Cooper, D.C. and R.A. Brink. 1944. Collapse of the seed flowering the mating of *Hordeum jubatum* x *Secale cereal*. **Genetices.** 29: 370.

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.

Fukai, S. and M. Cooper. 1994. Stress physiology in relation to breeding for drought resistance: A case study of rice, pp. 123-149. *In* **Proceedings of the International Conference on Stress Physiology of Rice.** 28 February-5 March 1996**.** Lucknow.

Heuer, S., K. Miezan, M. Sie and S. Gaye. 2003. Increasing biodiversity of irrigated rice in Africa by interspecific crossing of *Oryza glaberrima* (Steud.) × *O. sativa indica* (L.). **Euphytica**. 132 (1): 31-40.

Hsiao, T.C., J.C. O'Toole, E.B. Yambao and N.C. Turner. 1984. Influence of osmotic adjustment on leaf rolling and tissue death in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Physiol**. 75: 338-341.

IRRI. 1990. **Program Report for 1989**. IRRI, Manila. (p. 306).

_____. 1991. Wild species and land race, pp. 41-49. *In*. **Proceeding of Third International Workshop on Rice Germplasm Collecting, Preservation and Use.** 10-12 May 1990. IRRI, Manila.

_____. 1993. **Program Report for 1992**. IRRI, Manila. (p. 316).

_____. 2002. **Standard Evaluation System for Rice**. IRRI, Manila. (p. 56).

Jena, K.K. and G.S. Khush. 1984. Embryo rescue of interspecific hybrids and its scope in rice improvement. **Rice Genet. Newsl.** 1: 133.

_____ and _____. 1986. Production of monosomic alien addition line of *O. sativa* having a single chromosome of *O. officinalis*, pp. 199-208. *In* **Proceeding of International Rice Genetic Symposium.** 27-31 May 1985. IRRI, Manila.

Jongdee, B., S. Fukai and M. Cooper. 2002. Leaf water potential and osmotic adjustment as physiological traits to improve drought tolerance in rice. **Field Crops Res**. 76 (2-3): 153-163.

Joseph, M., S. Gopalakrisknan, R.K. Sharma, V.P. Singh, A.K. Singh, N.K. Singh and T. Mohapatra. 2004. Combining bacterial blight resistance and Basmati quality characteristics by phenotype and molecular marker-assisted selection in rice. **Mol. Breed.** 13: 377-387.

Kaushal, P. and RAVI. 1998. Crossability of wild species of *Oryza* with *O. sativa* cvs PR 106 and Pusa Basmati 1 for transfer of bacterial leaf blight resistance through interspecific hybridization. **Journal of Agricultural Science, Cambridge**. 130: 423-430.

Kho, Y.O. and J. Bear. 1970. Observing pollen tubes by means of fluorescence. **Euphytica**. 17: 289-302.

Khush, G.S. and K.C. Ling. 1974. Inheritance of resistance to grassy stunt virus and its vectors in rice. **J. Hered**. 65: 134-136.

Liu J.X., D.Q. Liao, R. Oane, L. Estenor, X.E. Yang, Z.C. Li and J. Bennett. 2005. Genetic variation in the sensitivity of anther dehiscence to drought stress in rice. **Field Crops Res**. 46 (1-2): 121-130.

Loresto, G.C., T.T. Chang and O. Tagumpay. 1976. Field evaluation and breeding for drought resistance. **Philipp. J. Crop Sci**. 1: 36-39.

Ludlow, M.M. and R.C. Muchow. 1990. Improving crop yields in water-limited environments. **Adv. In Agron**. 43: 107-153.

Malabuyoc, J.A., E.L. Aragon and S.K. De Datta. 1985. Recovery from drought-induced desiccation at the vegetative growth stage in direct-seeded rainfed rice. **Field Crops Res**. 10: 105-112.

Mariam, A.L., A.H. Zakri, M.C. Mahani and M.N. Normah. 1996. Interspecific hybridization of cultivated rice *Oryza sativa* L. with wild rice *O. minuta*. **Curr. Agr. Res**. 8: 21-23.

Matsubara, K., Khin-Thidar and Y. Sano. 2003. A gene block causing cross-incompatibility hidden in wild and cultivated rice. **Genetics**. 165: 343–352.

McCree, K.J., C.E. Kallsen and S.G. Richardson. 1984. Carbon balance of sorghum plants during osmotic adjustment to water stress. **Plant Physiol**. 76: 898-902.

Miah, M.A.A., M.S. Pathan, A.T. Barai, A.K. Saha and N.M. Niah. 1991. Application of embryo rescue technique in rice wide hybridization, pp. 50-57. *In* **Fifth Annual Meeting of the international Program on Biotechnology, October 2-5, 1991.** Bangladesh.

Mitchell, J.K., D. Siamhan, M.H. Wamala, J.B. Risimeri, E. Chinyamakobvu, S.A. Henderson and S. Fukai. 1998. The use of seedling leaf death score for evaluation of drought resistance of rice. **Field Crops Res.** 55: 129-139.

Miura, K., E. Yamamoto, Y. Morinaka, T. Takashi, H. Kitano, M. Matsuoka and M. Ashikari. 2008. The hybrid breakdown *1(t)* locus induces interspecific hybrid breakdown between rice *Oryza sativa* cv. Koshihikari and its wild relative *O. nivara*. **Breeding Sci.** 58 (2): 99-105.

Multani, D.S., K.K. Jena, D.S. Brar, B.G. Delos Reys, E.R. Angele and G.S. Khush. 1994. Development of monosomic alien addition line and introgression of gene from *O. australiensis* Domin. to cultivated rice *O. sativa* L. **Theor. Appl. Genet**. 88: 102-109.

_____, G.S. Khush, B.G. delos Reyes and D.S. Brar. 2003. Alien genes introgression and development of monosomic alien addition lines from *Oryza latifolia* Desv. to rice, *Oryza sativa* L. **Theor. Appl. Genet**. 107: 395-405.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. **Physiol. Plant**. 15: 473-479.

O' Toole, J.C. and K.T. Cruz. 1980. Response of leaf water potential stomatal resistance and leaf rooling to water stress. **Plant Physiol**. 65: 428-432.

_____ and M.A. Maguling. 1981. Greenhouse selection for drought resistance in rice. **Crop Sci.** 21: 325-327.

_____ and T.B. Moya. 1978. Genotypic variation in maintenance of leaf water potential in rice. **Crop Sci**. 18: 873-876.

_____ and _____. 1981. Water deficits and yield in upland rice. **Field Crops Res**. 4: 247-259.

Pierik, R.L.M. 1987. ***In vitro*** **Culture of Hingher Plant**. Kluwer Acadamic Publishers, Dordrecht.

Punyawaew, K., J.L. Sianagliw, N. Veanngam, T. Toojinda and A. Vanavichit. 2004. Quantitative trait loci (QTL) for drought tolerance in rice. p. 210. *In* **Proceedings 1st International Conference on Rice for the Future.** 31 August – 3 September 2004. Kasetsart University, Bangkok.

Ram, T., D. Mahapatra, J. Ramos, R. McNally and D.S. Brar. 2003. Production of advanced backcross progenies and monosomic alien addition lines from *O. sativa* x *O. ridleyi*. **Rice Genet. Newsl.** 20: 112-113.

Ramana, M.S. 1975. Pollen tube growth in *Spinica oleracea*. **Euphytica.** 24: 337-339.

Robin, S., M.S. Pathan, B. Courtois, R. Lafitte, S. Carandang, S. Lanceras, M. Amante, H.T. Nguyen and Z. Li. 2003. Mapping osmotic adjustment in an advanced back-cross inbred population of rice. **Theor. Appl. Genet**. 107 (7): 1288-1296.

Rongbai, L. 1994. Resistance of Quangxi wild rice to diseases and insect pest. **IRRN**. 19 (2): 8-9.

_____, Q. Xueyi, W. Sumei, M.P. Pandey, P.K. Pathak, H. Fenguan, L. Qing and L. Shanyu. 2001. Inheritance of resistance to brown planthopper in an *Oryza rufipogon* (Griff.) derived line in rice**. Current Sci**. 80 (11): 1421-1423.

Sah, B.P., R.K. Niroula and H.P. Bimp. 2007. Culture of embryo with a segment of ovary improved germination and crossabilty of distant hybrids in indica rice. **Scient. World**. 5 (5): 46-50.

Singh, A.K., S. Prasad, V.N. Singh, G.S. Chaturvedi and B.B. Singh. 2004. Morphological traits for vegetative stage drought tolerance in rice (*Oryza sativa*), pp. 188-190. *In* D. Poland, M. Sawkins, J. -M. Ribaut and D. Hoisiongton, eds. **Resilient crops for water limited environments.** May 24–28, 2004. CIMMYT, Cuernavaca Mexico.

Singh, B.N. and D.J. Mackill. 1991. Genetics of leaf rolling under drought stress, pp.159-165. *In* **Rice Genetics II: Proceedings of the Second International Rice Genetics Symposium.** May 14-18, 1990. IRRI, Manila, Philippines.

Sitch, L.A. 1990. Incompatibility barriers operating in crosses of *O. sativa* with relate species and gene, pp. 77-93. *In* J.P. Gustafson, ed. **Gene Manipulation in Crop Improvement**. Plenum Press, New York.

_____, R.D. Dalmacio and G. O. Romero. 1989. Crossability of wild *Oryza* species and their potential use for improvement of cultivated rice. **Rice Genet. Newsl.** 6: 58-60.

_____, _____, _____, R. Elloran, G.O. Romero, A.D. Amante, H. Leung, R. nelson and G.S. Khush. 1990. Wild hybridization for rice improvement, pp. 1. *In* **Abstracts of 4th Annual Meeting of the Rockefeller Foundation's International Program on Rice Biotechnology**. May 9-12, 1990. IRRI, Manila.

Singh, S., J.S. Sidhu, N. Huang, Y. Vikal, Z. Li, D.S. Brar, H.S. Dhaliwal, G.S. Khush. 2001. Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106. **Theor. Appl. Genet**. 102 : 1011–1015.

Somantri, I.H. 2002. Wild rice (*Oryza* sp.): Their existence and research in Indonesia. **Buletin AgroBio.** 5 (1): 14-20.

Sree Rumla, K., G.M.M. Bredemeijer and D. Dijkhuis. 1979. Mentor pollen effects on gametophytic incompatibility in *Nicotina*, *Oenothera* and *Lycopersicum*. **Theor. Appl. Genet**. 55: 215-218.

Tan, G.X., Q.M. Weng, X. Ren, Z. Huang, L.L. Zhu and G.C. He. 2004. Two whitebacked planthopper resistance genes in rice share the same loci with those for brown Planthopper resistance. **Heredity.** 92: 212-217.

Tao, D. and P. Sripichitt. 2000. Preliminary report on transfer traits of vegetative propagation from wild rice species to Oryza sativa via distant hybridization and embryo rescue. **Kasetsart J**. (Nat. Sci.). 34: 1-11.

Theodore, C. Hsiao, J.C. O'Toole, E.B. Yambao and N.C. Turner. 1984. Influence of osmotic adjustment on leaf rolling and tissue death in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Physiol.** 75: 338-341.

Turner, N.C., J.C. O'Toole, R.T. Cruz, O.S. Namuco and S. Ahmad. 1986. Responses of seven diverse rice cultivars to water deficits, 1: stress development, canopy temperature, leaf rolling and growth. **Field Crops Res.** 13: 257-271.

Toeninessen, G.H. 1990. Rice biotechnology: Progress and Prospects. **Paper Prepared for the SCI Conference on Pest Management in Rice**. June 4-7, 1990. London. (p. 25).

Vermani, S.S. and C. Shinjyo. 1988. Current status of analysis and symbol for male-sterile cytoplasm and fertility restoring gene. **Rice Genet. Newsl.** 5: 9-15.

Wing, R., J.S.S. Ammiraju, M. Luo, H. Kim, Y. Yu, D. Kudrna, J.L. Goicoechea, W. Wang, W. Nelson, K. Rao, D. Brar, D.J. Mackill, B. Han, C. Soderlund, L. Stein, P. SanMigue and S. Jackson. 2005. The *Oryza* map alignment project: The golden path to unlocking the genetic potential of wild rice species. **Plant Mol. Biol.** 59: 53-62.

Yan, H.H., G.Q. Liu, Z.K. Cheng, X.B. Li, G.Z. Liu, S.K. Min and L.H. Zhu. 2002. A genome-specific repetitive DNA sequence from *Oryza eichingeri*: characterization, localization, and introgression to *O. sativa*. **Theor. Appl. Genet**. 104 (2-3): 117-183.

Ye, Z.H and R. C. Saxena. 1990. Resistance to whitebacked planthopper in elite lines of cultivated x wild rice crosses. **Crop Sci**. 30: 1178-1182.

Zeng,H., Y. Zhong and L. Luo. 2006. Drought tolerance genes in rice. **Funct Integr Genomics**. 6: 338–341.

Zhang, J., H.G. Zheng, A. Aarti, G. Pantuwan, T.T. Nguyen, J.N. Tripathy, A.K. Sarial, S. Robin, R.C. Babu, B.D. Nguyen, S. Sakarung, A. Blum and H.T. Nguyen. 2001. Locating genomic regions associated with components of drought resistance in rice: Comparative mapping within and across species. **Theor. Appl. Genet**. 103: 19-29.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 คะแนนของของลักษณะ การม้วนใบ ใบแห้ง และการฟื้นตัวจากแล้งของสายพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 3, สายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_1F_3, BC_2F_3 และ BC_3F_3 ที่คัดเลือกไว้ในคู่ผสม กข 23/*O. nivara* และ ชัยนาท 1/*O. nivara* ภายหลังการงดให้น้ำ

พันธุ์หรือสายพันธุ์	ต้นที่	ระดับคะแนน		
		การม้วนใบ	ใบแห้ง	การฟื้นตัว
กข23/*O.nivara*				
F_3	1	0	1	1
BC_1F_3	1	0	1	1
	2	0	1	1
BC_2F_3	1	1	1	1
BC_3F_3	1	1	1	1
	2	1	1	1
	3	1	1	1
	4	0	0	1
	5	1	1	1
	6	1	1	1
	7	1	1	1
ชัยนาท1/*O.nivara*				
F_3	1	1	1	1
	2	1	1	1
	3	1	1	1
	4	1	0	1
	5	1	0	1
	6	1	1	1
	7	1	1	1
	8	1	1	1
	9	1	1	1
	10	1	1	1
	11	1	1	1
	12	1	1	1

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

พันธุ์หรือสายพันธุ์	ต้นที่	ระดับคะแนน		
		การม้วนใบ	ใบแห้ง	การฟื้นตัว
BC_1F_3	1	1	1	1
	2	1	1	1
	3	0	1	1
BC_2F_3	1	1	1	1
	2	0	1	1
	3	0	1	1
BC_3F_3	1	0	0	1
	2	1	1	1
	3	1	1	1
	4	0	1	1
	5	1	1	1

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายอภิชาติ สายยศ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	29 มีนาคม พ.ศ. 2522
สถานที่เกิด	อำเภอสนม จังหวัดสุรินทร์
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (2544)