การพัฒนาข้าว กข47 และ กข49 ให้มีความหอมและปริมาณอมิโลสต่ำ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือก

Improvement of RD47 and RD49 for Aroma and Low Amylose Content through Marker-Assisted Selection

เปรมกมล มูลนิลตา[1),*] อลิษา เสนานุสย์[1)] จิรพงศ์ ใจรินทร์[2)]

Preamkamon Moonninta[1),*] Alisa Senanood[1)] Jirapong Jairin[2)]

Abstract

RD47 and RD49, irrigated rice varieties, produced high yields but have non-aromatic and high amylose content. This research aimed to develop those irrigated rice varieties for aroma and low amylose content. The breeding work was conducted through backcrossing and marker-assisted selection (MAS) for targeted genes *badh2* and *Wx*^{b}. The F_1-BC_3F_1 populations were planted, and heterozygous individuals carrying all targeted genes were selected. The BC_3F_2-BC_3F_5 populations were grown, and homozygous genotypes that carried aroma and low amylose targets or only some of the targeted genes were also selected. Promising lines were chosen for amylose content and yield trial evaluation. Six groups of BC_3F_5 population were selected, including (1) eight and six lines carried homozygous alleles of which genes *badh2* and *Wx*^{b}, with genetic backgrounds of RD47 and RD49, respectively, (2) thirteen lines carried homozygous alleles of which genes *badh2* and *Wx*^{a} (intermediate amylose content), (3) forty lines carried homozygous alleles of which genes *badh2* and *Wx*^{a} (high amylose content), (4) one lines carried homozygous alleles of which genes *Badh2* and *Wx*^{b}, (5) two lines carried homozygous alleles of which genes *Badh2* and *Wx*^{a} (intermediate amylose content) and (6) twenty-four lines carried homozygous alleles of which genes *Badh2* and *Wx*^{a} (high amylose content). The promising line (BC_3F_5) PSL17018-19-1-2-3, with the RD49 genetic background and carrying homozygous alleles for targeted genes *badh2* and *Wx*^{b}, gave the highest yield of 1,156 kg/rai.

Keywords: rice, RD47, RD49, marker-assisted selection, aroma, low amylase

บทคัดย่อ

พันธุ์ข้าว กข47 และ กข49 เป็นพันธุ์ข้าวผลผลิตสูง นิยมปลูกในนาชลประทาน แต่ไม่มีความหอม และมีปริมาณอมิโลสสูง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาพันธุ์ข้าว กข47 และ กข49 ให้มีความหอมและปริมาณอมิโลสต่ำ สำหรับใช้ปลูกในพื้นที่นาชลประทาน ดำเนินการโดยวิธีการผสมกลับและใช้เครื่องหมายโมเลกุล aroma (*badh2*) ในการคัดเลือกลักษณะความหอม ลักษณะอมิโลสใช้เครื่องหมายโมเลกุล Waxy (*Wx*^{b}) การพัฒนาประชากรโดยวิธีการผสมกลับ ประชากรชั่ว F_1-BC_3F_1 คัดเลือกลักษณะพันธุกรรมแบบ heterozygous และในประชากร BC_3F_2-BC_3F_5 คัดเลือกลักษณะพันธุกรรมแบบ homozygous ในตำแหน่งยีนเป้าหมาย ผลการคัดเลือกยีนความหอม และปริมาณอมิโลส สามารถแบ่งสายพันธุ์ข้าวได้เป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มที่มียีนความหอม และปริมาณอมิโลสต่ำ (*badh2*, *Wx*^{a}) มี 14 สายพันธุ์ มาจาก กข47 จำนวน 8 สายพันธุ์ และจาก กข49 จำนวน 6 สายพันธุ์ (2) กลุ่มที่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสปานกลาง (*badh2, Wx*^{a}) 13 สายพันธุ์ (3) กลุ่มที่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสสูง (*badh2, Wx*^{a}) 40 สายพันธุ์

* corresponding author E-mail: preamkamo.m@rice.mail.go.th

Received: October 22, 2023/ Revised: October 29, 2023, 2023/ Accepted: December 1, 2023

[1)] ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 65130 โทร. 0-5531-3134

Phitsanulok Rice Research Center, Wang Thong, Phitsanulok 65130 Tel. 0-5531-3134

[2)] กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทร. 0-2579-7892

Division of Rice Research and Development, Rice Department, Chatuchak, Bangkok 10900 Tel. 0-2579-7892

(4) กลุ่มที่ไม่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสต่ำ (*Badh2, Wx*^{b}) 1 สายพันธุ์ (5) กลุ่มไม่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสปานกลาง (*Badh2, Wx*^{a}) 2 สายพันธุ์ และ (6) กลุ่มไม่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสสูง (*Badh2, Wx*^{a}) 24 สายพันธุ์ และได้สายพันธุ์ PSL17018-19-1-2-3 ที่มีความหอม ปริมาณอมิโลสต่ำ และมีฐานพันธุกรรมเหมือน กข49 ให้ผลผลิตสูง 1,156 กิโลกรัมต่อไร่

คำสำคัญ: ข้าว กข47 กข49 การคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ความหอม อมิโลสต่ำ

คำนำ

ข้าวหอม เป็นข้าวที่มีคุณสมบัติเฉพาะและเป็นปัจจัยหลักในการผลิตข้าวคุณภาพเพื่อการบริโภคและการส่งออก โดยเฉพาะข้าวหอมมะลิไทย ที่ประกอบด้วยข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ กข15 ซึ่งเป็นที่นิยมทั้งเกษตรกร ผู้ประกอบการ และผู้บริโภคภายในประเทศ รวมถึงตลาดต่างประเทศ แต่ด้วยเป็นข้าวไวต่อช่วงแสงจึงปลูกได้เพียงปีละครั้ง ส่วนพันธุ์ข้าวหอมไม่ไวต่อช่วงแสงมีเพียงพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่สามารถส่งออกและสร้างมูลค่าให้กับข้าวไทย โดยมีปริมาณการส่งออกในปี พ.ศ. 2564 มากถึง 6 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 107,000 ล้านบาท (กรมการค้าต่างประเทศ, 2566) ข้าวปทุมธานี 1 มีคุณภาพหุงต้มและรับประทานรองจากข้าวหอมมะลิ ผลิตทั้งเพื่อการบริโภคภายในประเทศและส่งออกเป็น “ข้าวหอมปทุม” หรือ “ข้าวหอมไทย” ซึ่งพื้นที่ปลูกต้องเป็นพื้นที่ที่มีระบบการจัดการน้ำชลประทาน จึงจะสามารถปลูกให้ได้ผลดี

กลิ่นหอมเป็นลักษณะพิเศษของข้าวบางพันธุ์ซึ่งเป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ ข้าวหอมสามารถผลิตสารหอมชนิดที่เรียกว่า popcorn-like scent เก็บสะสมไว้ในส่วนต่างๆ ของต้น โดยเฉพาะเมล็ด ซึ่งกลิ่นของข้าวหอมนั้นเกี่ยวข้องกับสารระเหยกว่า 114 ชนิด โดยสารสำคัญที่ทำให้ข้าวมีกลิ่นหอม คือ 2-acetyl-1-pyrroline (Buttery *et al*.,1983) ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์ข้าวหอมให้มีคุณภาพการหุงต้มรับประทานที่ดีควบคู่กันไป อันอาจจะนำไปสู่การเพิ่มรายได้ของเกษตรกรและเพิ่มปริมาณผลผลิตข้าวหอมของประเทศ ให้สอดคล้องกับแนวโน้มการขยายตัวของตลาดการค้าข้าวหอมโลก และการเพิ่มมูลค่าให้กับชนิดสินค้าข้าวต่างๆ

ในสถานการณ์ปัจจุบัน คุณภาพการหุงต้มรับประทานที่ดี คือ การมีปริมาณอมิโลสต่ำ เป็นคุณภาพที่ผู้บริโภคมีความนิยมเพิ่มขึ้น สามารถประเมินโดยจากคุณสมบัติเมล็ดทางเคมี โดยจะใช้ปริมาณอมิโลสเป็นตัวชี้วัด ซึ่งสัดส่วนของอมิโลสในเมล็ดข้าวที่แตกต่างกันมีผลต่อลักษณะของข้าวสุกที่แตกต่างกัน ปริมาณอมิโลส (amylose content) แป้งข้าวประกอบด้วย อมิโลเปคตินและอมิโลส แป้งข้าวมีอมิโลเปคตินมากกว่าอมิโลส โดยอัตราส่วนของอมิโลส และอมิโลเปคตินเป็นปัจจัยที่ทำให้ข้าวสุกมีคุณสมบัติแตกต่างกัน เช่น แป้งข้าวเหนียวมีปริมาณอมิโลสน้อย แป้งข้าวเจ้ามีปริมาณอมิโลสร้อยละ 10-34 ปริมาณอมิโลสเป็นองค์ประกอบที่ทำให้ข้าวสุกมีความนุ่ม และความเหนียวลดน้อยลงหรือแข็งและร่วนมากขึ้น แบ่งได้เป็น 3 ระดับ คือ อมิโลสต่ำ (low amylose) มีปริมาณอมิโลสต่ำกว่าร้อยละ 20 อมิโลสปานกลาง (intermediate amylose) มีปริมาณอมิโลสร้อยละ 20-25 อมิโลสสูง (high amylose) มีปริมาณอมิโลสร้อยละ 25-34

เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก (marker-assisted selection (MAS)) มีการนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเป็นการคัดเลือกที่มีประสิทธิภาพมีความแม่นยำสูง ย่นระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์ให้สั้นลง และสามารถคัดเลือกหลายลักษณะพร้อมกัน (ศรีสวัสดิ์ และคณะ, 2553; สุรีพร, 2557) ลักษณะที่ต้องการคัดเลือก ได้แก่ ความหอม และปริมาณอมิโลส ลักษณะความหอมเกิดจากสารที่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ถูกควบคุมด้วยยีนด้อย betaine aldehyde dehydrogenase homologue 2 (*badh2*) โครโมโซมคู่ที่ 8 ซึ่งสูญเสียหน้าที่จากการขาดหายไปของเบสจำนวน 8 เบส (8 bp deletion) ในเอ็กซอนลำดับที่ 7 (exon 7) เครื่องหมาย aromarker นี้จัดเป็น functional marker ที่สามารถคัดเลือกข้าวจากการทำงานของยีนโดยตรง (Wanchana *et al*., 2005)

ลักษณะคุณภาพการหุงต้มของข้าวเกิดจากองค์ประกอบทางกายภาพเคมีของแป้งในเอนโดสเปิร์ม ประกอบด้วย ปริมาณอมิโลส โดยยีน Waxy (*Wx*) บนโครโมโซมคู่ที่ 6 มีหน้าที่ควบคุมการ สังเคราะห์เอนไซม์

granule-bound starch synthase (GBSS = Wx protein) ที่มีบทบาทในการสร้างอมิโลสในเมล็ดข้าว (Ayres *et al*., 1997; Wang *et al*., 1995) ยีน waxy มีอัลลีลที่สำคัญ 3 อัลลีล (functional alleles) คือ Wx^a, Wx^b และ *wx* (Sano, 1984)

อัลลีล Wx^a ส่วนใหญ่จะพบในข้าวปลูกอินดิกา (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) และข้าวป่า เป็นข้าวที่มีปริมาณอมิโลสสูง มีลำดับเบส AGGTATA ที่ตำแหน่ง 5'splice site ใน intron 1 ของยีน waxy ทำให้มีการแสดงออกของยีนแบบปกติ (common allele) ส่งผลให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ GBSS ที่สมบูรณ์ จึงทำให้ข้าวมีการสังเคราะห์อมิโลสในปริมาณสูง

อัลลีล Wx^b เกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) โดยธรรมชาติที่ตำแหน่ง 5'splice site ใน intron 1 จากเบส G ไปเป็น T (G-T polymorphism) ส่วนใหญ่จะพบในข้าวปลูกจาปอนิกา (*O. sativa* L. ssp. *japonica*) ซึ่งเป็นข้าวที่มีปริมาณอมิโลสต่ำ เนื่องจากการแทนที่ของเบส T ส่งผลให้มีการแสดงออกของยีนลดลง ส่งผลให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ GBSS ลดลง ทำให้ข้าวมีการสังเคราะห์อมิโลสในระดับต่ำ (Ayres *et al*., 1997) ซึ่งการแทนที่ของเบสในตำแหน่งดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในการจำแนกข้าวอมิโลสต่ำ (AGTTATA) ออกจากข้าวอมิโลสปานกลางถึงสูง (AGGTATA) ได้ (Wanchana *et al*., 2003)

การศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มลักษณะความหอมและปริมาณอมิโลสต่ำ ให้กับข้าวพันธุ์ กข47 และ กข49 โดยการชักนำยีน *badh2* และ Wx^b ด้วยการผสมกลับ และคัดเลือกประชากรในแต่ละชั่วโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล และคัดเลือกลักษณะทางการเกษตรให้ได้สายพันธุ์ข้าวที่มีความหอม และปริมาณอมิโลสต่ำ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. พันธุ์ข้าว

ประกอบด้วยพันธุ์ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง พันธุ์ กข47 และ กข49 และสายพันธุ์ข้าวที่มียีนความหอม และปริมาณ

Table 1 DNA markers used in this study

No.	Name	Traits	Polymorphism	References
1	aromarker	*badh2*	8 bp deletion (GATTAGGC)	Vanavichit *et al*., 2004
2	waxy	Wx^b	AGTTATA	Wanchana *et al*., 2003
		Wx^a	AGGTATA	

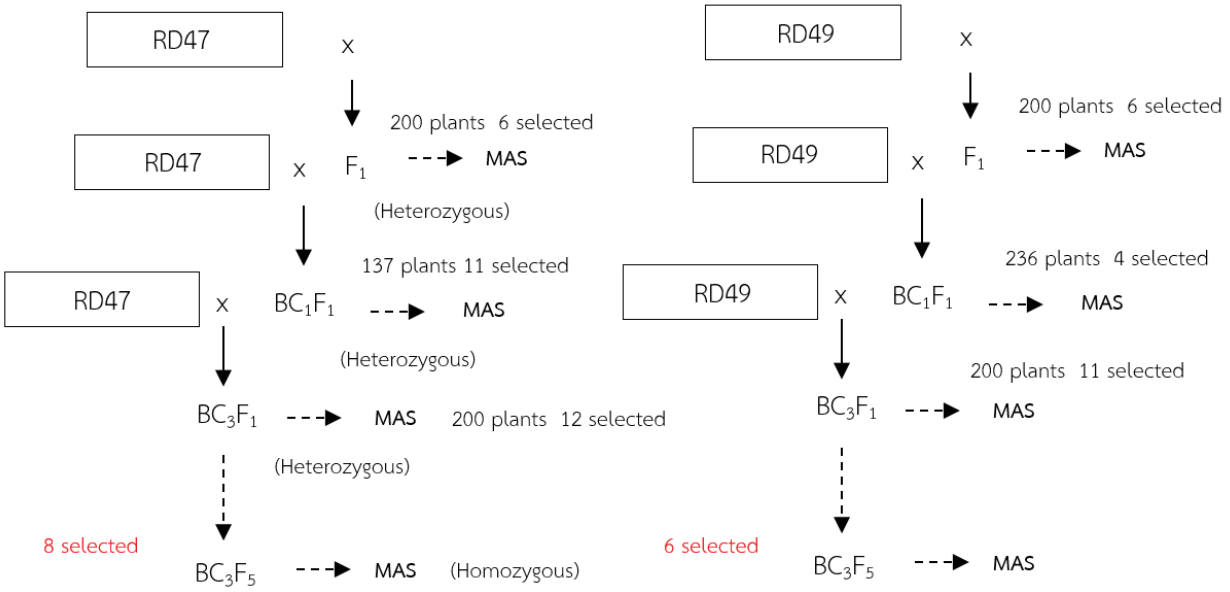


Fig. 1 Breeding scheme for improvement irrigated rice for aroma and low amylose content traits using molecular marker assisted selection

อมิโลสต่ำ ได้แก่ UBN03078-80-354-15 และ UBN03078-101-342-4-19

2. การผสมพันธุ์ข้าว

การผสมพันธุ์โดยใช้พันธุ์ข้าวเจ้าไม่ไวต่อช่วงแสง กข47 และ กข49 เป็นพันธุ์รับ และ UBN03078-80-354-15 และ UBN03078-101-342-4-19 ที่มียีนความหอม และมีปริมาณอมิโลสต่ำ (*badh2* และ *Wx*^{b}) เป็นสายพันธุ์ให้ โดยใช้วิธีการผสมกลับ (backcross) ถึงชั่วที่ 3 (BC_3F_1) ในแต่ละชั่วจะใช้ประชากรประมาณ 200-400 ต้น และปล่อยให้ผสมตัวเองเป็นประชากรชั่วที่ 5 (BC_3F_5) คัดเลือกต้นที่มียีนเป้าหมายโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล (Table 1) (Fig.1)

3. การคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

ตัดใบข้าวอายุประมาณ 14-20 วัน จากต้นข้าวแต่ละประชากรที่ต้องการคัดเลือก มาเจาะใบข้าวด้วยปากกาจำนวน 3 ชิ้น ใส่ลงใน PCR plate ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับสกัดดีเอ็นเอ และเตรียม PCR cocktail ปริมาตร 5 ไมโครลิตรต่อ 1 ตัวอย่างโดยใช้เทคนิค TaqMan สำหรับเครื่องหมายโมเลกุลสนิป (single nucleotide polymorphism (SNP)) ดังนี้

- สารละลายดีเอ็นเอ (DNA template) 1.5 ไมโครลิตร
- GT-express (2x) 2.5 ไมโครลิตร
- assay probe primer (40x) 0.125 ไมโครลิตร
- deionized water 0.875 ไมโครลิตร

การคัดเลือกลูกผสม ตรวจสอบโดยวิธี real-time PCR หรือ quantitative PCR (qPCR) ด้วยเครื่อง Quant Studio

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกลักษณะเป้าหมาย โดยนำตัวอย่างดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัว (polymerase chain reaction (PCR)) โดยคัดเลือกลักษณะที่สนใจด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะต่อยีน (specific gene marker) นำเข้าเครื่อง Quant Studio

การคัดเลือกโดยวิธี SNP โดยใช้เครื่องหมาย aromarker (*badh2*) ตรวจสอบความหอม และ waxy (*Wx*^{b}) ตรวจสอบอมิโลสต่ำ

วิเคราะห์ผลจัดกลุ่มประชากรโดยสามารถแบ่งออกเป็นลักษณะพันธุกรรมแบบ homozygous และลักษณะพันธุกรรมแบบ heterozygous เหมือนทั้งพันธุ์ให้และพันธุ์รับ

คัดเลือกลักษณะพันธุกรรมแบบ homozygous เหมือนพันธุ์ให้ นำไปดูแลรักษาและเก็บเมล็ดต่อไป

4. การศึกษาพันธุ์ขั้นสูง (4-row observation)

ฤดูนาปรัง 2565 ที่ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ปลูกข้าวสายพันธุ์ละ 4 แถว เลือกสายพันธุ์ที่มีลักษณะต่างๆ ตรงตามวัตถุประสงค์ และมีความสม่ำเสมอโดยเก็บเกี่ยว 2 แถวกลาง เว้นกอหัวท้าย เพื่อชั่งน้ำหนัก พร้อมทั้งเลือกเก็บเกี่ยวรวงจากแถวข้าง 2 แถว ประมาณ 100 รวง นำเมล็ดพันธุ์ส่วนนี้ไปเปรียบเทียบผลผลิตภายในสถานีต่อไป เพื่อพิจารณาข้อมูลผลผลิต การมีท้องไข่ คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความดีเด่น

5. การทดสอบปริมาณอมิโลส

ตัวอย่างข้าวจากการปลูกศึกษาพันธุ์นำไปวิเคราะห์ปริมาณอมิโลส ในเมล็ดข้าว ตามวิธีการของ Juliano (1971) โดยชั่งแป้ง 0.1 กรัม ใส่ขวดแก้วปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่แห้งสนิท เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล 9 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที ปล่อยไว้ให้เย็น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร จากนั้นดูดน้ำแป้งปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดที่เตรียมน้ำกลั่น 70 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

เตรียม blank โดยเติมสารละลายกรดเกลเชียลอะซิติกเข้มข้น 1 นอร์มัล 1 มิลลิลิตร และสารสะลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร วัดความเข้มข้นของสารละลายด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยอ่านค่าเป็นค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร หลังปรับเครื่องด้วย blank ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0 และนำค่าดูดกลืนแสงไปหาปริมาณอมิโลส (ร้อยละ) โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานที่เตรียมไว้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การผสมพันธุ์ข้าว

ผสมพันธุ์ข้าว เพื่อสร้างประชากรตั้งแต่ F_1, BC_1F_1,

BC_2F_1 และ BC_3F_1 ได้จำนวนเมล็ดจากคู่ผสมของ กข47 จำนวน 787 137 608 และ 161 เมล็ด ตามลำดับ และ กข49 จำนวน 1,276 236 713 และ 958 เมล็ด ตามลำดับ ปลูกเพื่อคัดเลือกต้นที่มียีน *badh2* และ Wx^b ที่ระบุใน Table 1 โดยในแต่ละชั่วปลูกจากคู่ผสมของ กข47 จำนวน 200 137 200 และ 160 ต้น ตามลำดับ กข49 จำนวน 200 236 200 และ 240 ต้น ตามลำดับ สามารถคัดเลือกประชากรที่มีลักษณะพันธุกรรมแบบ heterozygous ได้ F_1 จากประชากร กข47 และ กข49 ที่มีลักษณะพันธุกรรมได้จำนวน 155 และ 150 สายพันธุ์ ตามลำดับ และเลือกประชากรละ 6 สายพันธุ์ นำไปผสมกลับสร้างประชากร BC_1F_1 สามารถคัดเลือก BC_1F_1 จากประชากร กข47 และ กข49 ได้จำนวน 23 และ 6 สายพันธุ์ ตามลำดับ และเลือกประชากรละ 11 และ 4 สายพันธุ์ ตามลำดับ นำไปผสมกลับสร้างประชากร BC_2F_1 สามารถคัดเลือกจากประชากร กข47 และ กข49 ได้จำนวน 23 และ 15 สายพันธุ์ ตามลำดับ และเลือกประชากรละ 12 และ 11 สายพันธุ์ ตามลำดับ นำไปผสมกลับสร้างประชากร BC_3F_1 ได้ประชากร กข47 จำนวน 58 สายพันธุ์ และ กข49 จำนวน 37 สายพันธุ์ และปล่อยให้ผสมตัวเอง (Table 2) (Fig. 2a)

- ปลูกประชากร BC_3F_2 จากประชากร กข47 ปลูกจำนวน 696 ต้น และประชากร กข49 จำนวน 444 ต้น คัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ประชากร กข47 พบลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterozygous (*Badh2/badh2*) จำนวน 350 สายพันธุ์ homozygous (*Badh2/Badh2*) จำนวน 196 สายพันธุ์ homozygous (*badh2/badh2*) จำนวน 150 สายพันธุ์ heterozygous (Wx^a/Wx^b) จำนวน 379 สายพันธุ์ homozygous (Wx^a/Wx^a) จำนวน 180 สายพันธุ์ homozygous (Wx^b/Wx^b) จำนวน 137 สายพันธุ์

ประชากร กข49 พบลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterozygous (*Badh2/badh2*) จำนวน 207 สายพันธุ์ homozygous (*Badh2/Badh2*) จำนวน 125 สายพันธุ์ homozygous (*badh2/badh2*) จำนวน 112 สายพันธุ์ heterozygous (Wx^a/Wx^b) จำนวน 222 สายพันธุ์ homozygous (Wx^a/Wx^a) จำนวน 139 สายพันธุ์ homozygous (Wx^b/Wx^b) จำนวน 83 สายพันธุ์

- คัดเลือกลักษณะพันธุกรรมแบบ homozygous (*badh2/badh2*) (Wx^b/Wx^b) ได้จำนวน 58 และ 37 สายพันธุ์ ตามลำดับ และนำไปปลูกเป็นประชากร BC_3F_3 จากประชากร กข47 จำนวน 58 สายพันธุ์ ปลูกสายพันธุ์ละ 10 ต้น รวม 580 ต้น ประชากร กข49 จำนวน 37 สายพันธุ์ ปลูกสายพันธุ์ละ 10 ต้น รวม 370 ต้น คัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ประชากร กข47 พบลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterozygous (*Badh2/badh2*) จำนวน 210 สายพันธุ์ homozygous (*Badh2/Badh2*) จำนวน 114 สายพันธุ์ homozygous (*badh2/badh2*) จำนวน 256 สายพันธุ์ heterozygous (Wx^a/Wx^b) จำนวน 213 สายพันธุ์ homozygous (Wx^a/Wx^a) จำนวน 130 สายพันธุ์ homozygous (Wx^b/Wx^b) จำนวน 237 สายพันธุ์

ประชากร กข49 พบลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterozygous (*Badh2/badh2*) จำนวน 105 สายพันธุ์ homozygous (*Badh2/Badh2*) จำนวน 67 สายพันธุ์ homozygous (*badh2/badh2*) จำนวน 198 สายพันธุ์ heterozygous (Wx^a/Wx^b) จำนวน 98 สายพันธุ์ homozygous (Wx^a/Wx^a) จำนวน 103 สายพันธุ์ homozygous (Wx^b/Wx^b) จำนวน 169 สายพันธุ์

- คัดเลือกลักษณะพันธุกรรมแบบ homozygous (*badh2/badh2*) (Wx^b/Wx^b) ได้จำนวน 237 และ 142 สายพันธุ์ ตามลำดับ และนำไปปลูกเป็นประชากร BC_3F_4 คัดประชากร กข47 พบลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterozygous (*Badh2/badh2*) จำนวน 52 สายพันธุ์ homozygous (*Badh2/Badh2*) จำนวน 125 สายพันธุ์ homozygous (*badh2/badh2*) จำนวน 60 สายพันธุ์ heterozygous (Wx^a/Wx^b) จำนวน 45 สายพันธุ์ homozygous (Wx^a/Wx^a) จำนวน 149 สายพันธุ์ homozygous (Wx^b/Wx^b) จำนวน 43 สายพันธุ์

ประชากร กข49 พบลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterozygous (*Badh2/badh2*) จำนวน 16 สายพันธุ์ homozygous (*Badh2/Badh2*) จำนวน 39 สายพันธุ์ homozygous (*badh2/badh2*) จำนวน 87 สายพันธุ์ heterozygous (Wx^a/Wx^b) จำนวน 23 สายพันธุ์ homozygous (Wx^a/Wx^a) จำนวน 47 สายพันธุ์ homozygous (Wx^b/Wx^b) จำนวน 72 สายพันธุ์

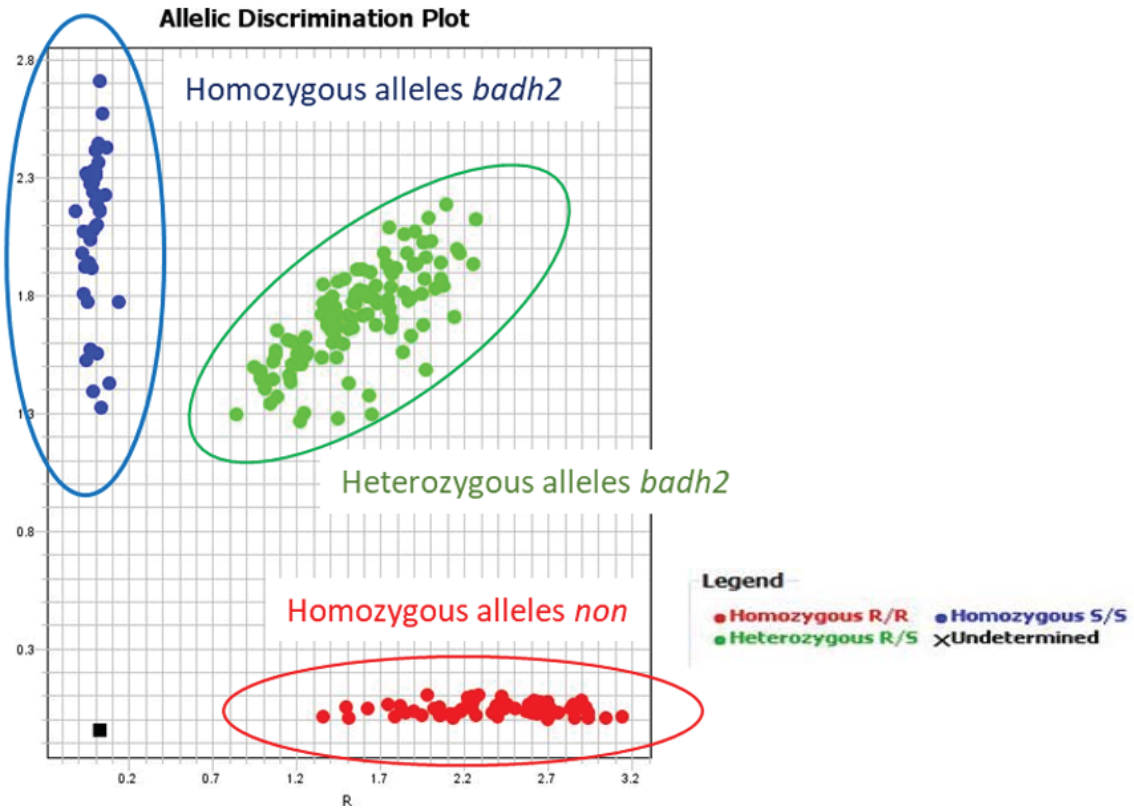
- คัดเลือกลักษณะพันธุกรรมแบบ homozygous (*badh2/badh2*) (Wx^b/Wx^b) ได้จำนวน 39 และ 69 สายพันธุ์

Table 2 Populations of selected by marker assisted selection

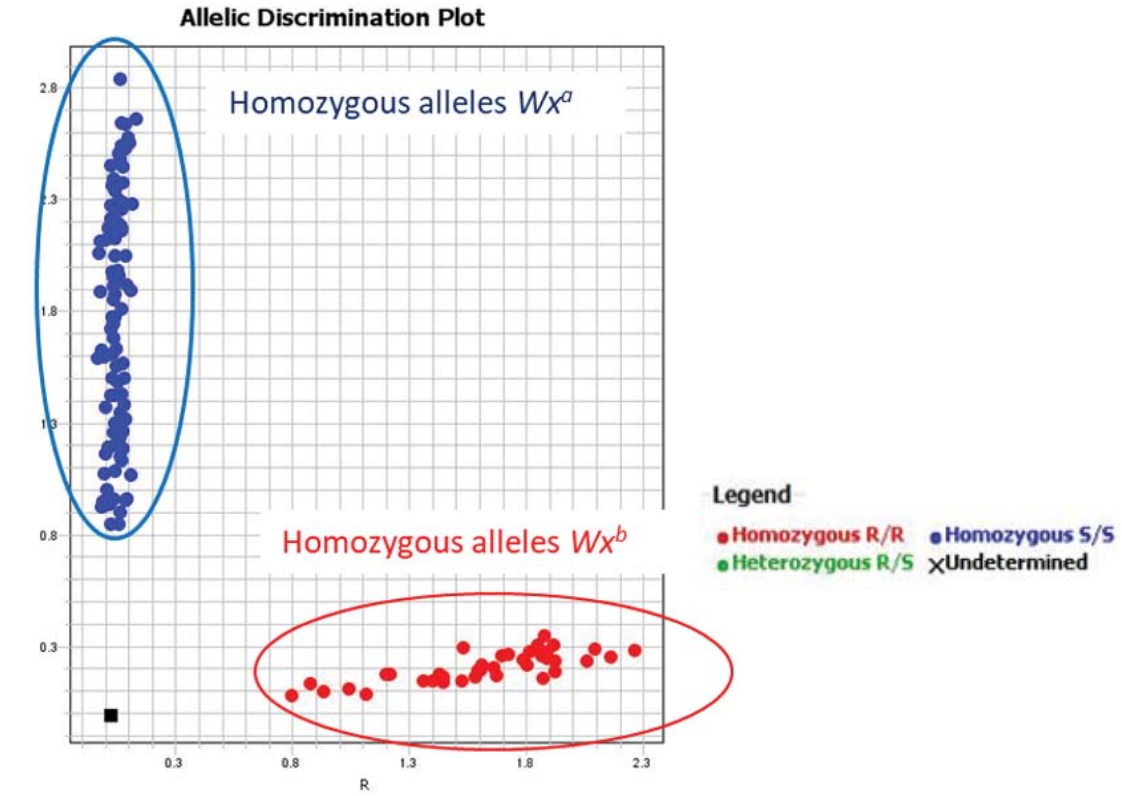
Year	Pop.	Planting		Improved RD47						Improved RD49						Seclected	
		Imp. RD47	Imp. RD49	*Badh2*/ *badh2*	*Badh2*/ *Badh2*	*badh2*/ *badh2*	Wx^a/Wx^b	Wx^a/Wx^a	Wx^b/Wx^b	*Badh2*/ *badh2*	*Badh2*/ *Badh2*	*badh2*/ *badh2*	Wx^a/Wx^b	Wx^a/Wx^a	Wx^b/Wx^b	Imp. RD47	Imp. RD49
2017	F_1	200	200	155	45	-	-	-	-	150	50	-	-	-	-	155 (6)	150 (6)
2018	BC_1F_1	137	236	49	88	-	58	79	-	29	207	-	37	199	-	23 (11)	6 (4)
	BC_2F_1	200	200	54	146	-	47	153	-	36	164	-	45	155	-	23 (12)	15 (11)
2019	BC_3F_1	160	240	78	82	-	53	107	-	57	183	-	43	192	-	58	37
	BC_3F_2	696	444	350	196	150	379	180	137	207	125	112	222	139	83	58	37
2020	BC_3F_3	580	370	210	114	256	213	130	237	105	67	198	98	103	169	237	142
	BC_3F_4	237	142	52	125	60	45	149	43	16	39	87	23	47	72	39	69
2021*	BC_3F_5	39	69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39	69
2022**	4-row (BC_3F_5)	38	69	1	15	22	-	27	11	-	10	59	4	51	14	8	6

* In 2021, population BC_3F_5 (2-row) selected by phenotyping

**In 2022, population BC_3F_5 (4-row) selected by marker assisted selection and phenotyping



(a) aroma BC_3F_2



(b) waxy BC_3F_5 (A)

Fig. 2 Allelic discrimination plots derived from QuantStudio 12K Flex Real Time PCR system; the SNP technology showing improved RD47 and improved RD49 selected population using two DNA markers including aroma BC_3F_2 (a) and waxy BC_3F_5 (b)

Table 3 Six groups of BC_3F_5 selected lines of improved RD47 and RD49 respectively differentiated by marker assisted selection and amylose content traits

Group	Traits	No. of selected plants		Total
		Improved RD47	Improved RD49	
1	aroma and low amylose	8	6	14
2	aroma and intermediate amylose	4	9	13
3	aroma and high amylose	10	30	40
4	non aroma and low amylose	1	-	1
5	non aroma and intermediate amylose	2	-	2
6	non aroma and high amylose	14	10	24

ตามลำดับ นำไปปลูกคัดเลือกประชากร BC_3F_5 ในแปลงทดลอง คัดเลือกประชากร กข47 ได้จำนวน 38 สายพันธุ์ ประชากร กข49 จำนวน 69 ต้น และนำมาปลูกศึกษาพันธ์ขั้นสูง 4 แถว คัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ประชากร กข47 พบลักษณะทางพันธุกรรมแบบ heterozygous (*Badh2/badh2*) จำนวน 1 สายพันธุ์ homozygous (*Badh2/Badh2*) จำนวน 15 สายพันธุ์ homozygous (*badh2/badh2*) จำนวน 22 สายพันธุ์ homozygous (Wx^a/Wx^a) จำนวน 27 สายพันธุ์ homozygous (Wx^b/Wx^b) จำนวน 11 สายพันธุ์

ประชากร กข49 พบลักษณะทางพันธุกรรมแบบ homozygous (*Badh2/Badh2*) จำนวน 10 สายพันธุ์ homozygous (*badh2/badh2*) จำนวน 59 สายพันธุ์ heterozygous (Wx^a/Wx^b) จำนวน 4 สายพันธุ์ homozygous (Wx^a/Wx^a) จำนวน 51 สายพันธุ์ homozygous (Wx^b/Wx^b) จำนวน 14 สายพันธุ์

- คัดเลือกลักษณะพันธุกรรมแบบ homozygous (*badh2/badh2*) (Wx^b/Wx^b) ได้จำนวน 8 และ 6 สายพันธุ์ ตามลำดับ (Table 3) นำมาการวิเคราะห์ปริมาณอมิโลส สามารถแบ่งประชากรเป็นจำนวน 6 กลุ่ม คือสายพันธุ์ที่มียีนความหอม ปริมาณอมิโลสต่ำ จากคู่ผสมของ กข47 จำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ PSL17004-11-1-10-2, PSL17004-11-1-10-3, PSL17004-13-1-9-1, PSL17004-13-1-9-3, PSL17004-13-1-9-4, PSL17004-13-1-9-5, PSL17004-13-1-9-6 และ PSL17004-14-1-2-1 และ กข49 จำนวน 6 สายพันธุ์ได้แก่ PSL17016-2-1-10-1, PSL17018-19-1-2-3, PSL17018-19-1-9-1, PSL17022-2-1-4-1, PSL17022-10-1-1-1 และ PSL17023-3-1-9

สายพันธุ์ที่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสปานกลาง จำนวน 13 สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่มียีนความหอม ปริมาณอมิโลสสูง จำนวน 40 สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่ไม่มียีนหอมและมีปริมาณอมิโลสต่ำ จำนวน 1 สายพันธุ์ สายพันธุ์ไม่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสปานกลาง จำนวน 2 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่ไม่มียีนความหอมและอมิโลสสูง จำนวน 24 สายพันธุ์ (Table 3, 4)

2. ปริมาณอมิโลส

- นำสายพันธุ์ที่มียีนความหอม อมิโลสต่ำ พบจำนวน 14 สายพันธุ์ จากคู่ผสมของ กข47 จำนวน 8 สายพันธุ์ และ กข49 จำนวน 6 สายพันธุ์ มีปริมาณอมิโลสตั้งแต่ร้อยละ 16.89-19.50 อมิโลสปานกลาง จำนวน 13 สายพันธุ์ มีปริมาณอมิโลสตั้งแต่ ร้อยละ 20.13-23.50 อมิโลสสูง จำนวน 40 สายพันธุ์ มีปริมาณอมิโลสตั้งแต่ ร้อยละ 25.04 -29.10

- สายพันธุ์ที่ไม่มียีนหอม มีอมิโลสต่ำ จำนวน 1 สายพันธุ์ มีปริมาณอมิโลสร้อยละ 19.52 อมิโลสปานกลาง จำนวน 2 สายพันธุ์ มีปริมาณอมิโลส ร้อยละ 20.14-20.32 และอมิโลสสูง จำนวน 24 สายพันธุ์ ปริมาณอมิโลสตั้งแต่ร้อยละ 25.75-28.62 (Table 4)

3. การศึกษาพันธุ์ขั้นสูง

นำสายพันธุ์ที่มียีนความหอม ปริมาณอมิโลสต่ำ จำนวน 14 สายพันธุ์ จากประชากร กข47 และ กข 49 มาปลูกศึกษา จากการทดสอบผลผลิตเบื้องต้น ได้สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง 3 อันดับ ได้แก่ สายพันธุ์ PSL17018-19-1-2-3

Table 4 Designation of selected lines from six groups differentiated by marker assisted selection and amylose content traits

No.	Designation	Amylose	Aroma	Waxy	Group
Improved RD47					
1	PSL17004-1-1-1-1	20.32	non-aroma	*Wx*^{a} I	5
2	PSL17004-1-1-5-1	27.00	aroma	*Wx*^{a} H	3
3	PSL17004-1-1-5-2	27.23	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
4	PSL17004-2-1-1-1	28.60	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
5	PSL17004-2-1-2-1	27.01	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
6	PSL17004-2-1-2-3	27.46	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
7	PSL17004-2-1-2-4	28.60	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
8	PSL17004-2-1-5-1	27.94	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
9	PSL17004-2-1-7-1	21.88	non-aroma	*Wx*^{a} I	5
10	PSL17004-2-1-7-2	20.14	aroma	*Wx*^{a} I	2
11	PSL17004-5-1-1-1	27.43	aroma	*Wx*^{a} H	3
12	PSL17004-5-1-1-2	28.19	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
13	PSL17004-5-1-7-1	19.52	non-aroma	*Wx*^{b} L	4
14	PSL17004-5-1-7-2	28.22	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
15	PSL17004-5-1-7-3	28.62	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
16	PSL17004-7-1-2-2	27.57	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
17	PSL17004-7-1-2-3	26.96	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
18	PSL17004-8-1-3-1	27.68	aroma	*Wx*^{a} H	3
19	PSL17004-8-1-3-2	27.05	aroma	*Wx*^{a} H	3
20	PSL17004-8-1-3-3	27.82	aroma	*Wx*^{a} H	3
21	PSL17004-8-1-5-1	27.51	aroma	*Wx*^{a} H	3
22	PSL17004-8-1-5-2	27.55	aroma	*Wx*^{a} H	3
23	PSL17004-8-1-9-4	27.21	aroma	*Wx*^{a} H	3
24	PSL17004-8-1-9-5	27.73	aroma	*Wx*^{a} H	3
25	PSL17004-9-1-2-1	26.28	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
26	PSL17004-9-1-6-1	27.76	aroma	*Wx*^{a} H	3
27	PSL17004-9-1-6-2	26.41	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
28	PSL17004-11-1-9-1	22.76	aroma	*Wx*^{a} I	2
29	PSL17004-11-1-9-2	21.86	aroma	*Wx*^{a} I	2
30	PSL17004-11-1-10-1	20.13	aroma	*Wx*^{a} I	2
31	PSL17004-11-1-10-2	18.27	aroma	*Wx*^{b} L	1
32	PSL17004-11-1-10-3	19.50	aroma	*Wx*^{b} L	1
33	PSL17004-13-1-9-1	18.35	aroma	*Wx*^{b} L	1
34	PSL17004-13-1-9-3	17.92	aroma	*Wx*^{b} L	1

Table 4 (cont.)

No.	Designation	Amylose	Aroma	Waxy	Group
Improved RD47 (cont.)					
35	PSL17004-13-1-9-4	18.26	aroma	*Wx*^{b} L	1
36	PSL17004-13-1-9-5	18.37	aroma	*Wx*^{b} L	1
37	PSL17004-13-1-9-6	17.81	aroma	*Wx*^{b} L	1
38	PSL17004-14-1-2-1	18.57	aroma	*Wx*^{b} L	1
Improved RD49					
39	PSL17016-2-1-10-1	17.05	aroma	*Wx*^{b} L	1
40	PSL17016-11-1-4-1	27.24	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
41	PSL17016-20-1-3-2	28.69	aroma	*Wx*^{a} H	3
42	PSL17016-20-1-3-3	28.90	aroma	*Wx*^{a} H	3
43	PSL17016-20-1-4-1	28.28	aroma	*Wx*^{a} H	3
44	PSL17016-20-1-4-2	25.04	aroma	*Wx*^{a} H	3
45	PSL17016-20-1-5-1	29.05	aroma	*Wx*^{a} H	3
46	PSL17016-20-1-5-2	28.84	aroma	*Wx*^{a} H	3
47	PSL17016-20-1-5-3	27.56	aroma	*Wx*^{a} H	3
48	PSL17016-20-1-6-1	29.10	aroma	*Wx*^{a} H	3
49	PSL17016-20-1-6-2	28.85	aroma	*Wx*^{a} H	3
50	PSL17016-7-1-8-1	27.84	aroma	*Wx*^{a} H	3
51	PSL17016-9-1-3-1	27.18	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
52	PSL17016-9-1-9-1	20.16	aroma	*Wx*^{a} I	2
53	PSL17016-9-1-10-1	20.86	aroma	*Wx*^{a} I	2
54	PSL17016-11-1-5-1	25.97	aroma	*Wx*^{a} H	3
55	PSL17018-7-1-1-1	25.35	aroma	*Wx*^{a} H	3
56	PSL17018-19-1-2-1	27.60	non-aroma	*Wx*^{a} H	6
57	PSL17018-19-1-2-3	19.08	aroma	*Wx*^{b} L	1
58	PSL17018-19-1-9-1	17.04	aroma	*Wx*^{b} L	1
59	PSL17022-2-1-4-1	16.89	aroma	*Wx*^{b} L	1
60	PSL17022-10-1-1-1	19.55	aroma	*Wx*^{b} L	1
61	PSL17022-10-1-4-1	22.85	aroma	*Wx*^{a} I	2
62	PSL17022-10-1-4-2	26.52	aroma	*Wx*^{a} H	6
63	PSL17022-10-1-5-2	23.13	aroma	*Wx*^{a} I	2
64	PSL17022-10-1-6-3	22.79	aroma	*Wx*^{a} I	2
65	PSL17022-11-1-1-1	26.92	aroma	*Wx*^{a} H	3
66	PSL17022-11-1-1-2	26.28	aroma	*Wx*^{a} H	3
67	PSL17022-11-1-1-3	28.29	non-aroma	*Wx*^{a} H	6

Table 4 (cont.)

No.	Designation	Amylose	Aroma	Waxy	Group
Improved RD49 (cont.)					
68	PSL17022-11-1-3-1	27.99	aroma	Wx^a H	3
69	PSL17022-11-1-3-2	26.99	aroma	Wx^a H	3
70	PSL17022-11-1-4-2	27.41	aroma	Wx^a H	3
71	PSL17022-11-1-4-3	27.37	aroma	Wx^a H	3
72	PSL17022-11-1-5-1	27.29	aroma	Wx^a H	3
73	PSL17022-11-1-5-2	27.10	aroma	Wx^a H	3
74	PSL17022-11-1-9-1	27.29	aroma	Wx^a H	3
75	PSL17022-12-1-2-1	26.81	aroma	Wx^a H	3
76	PSL17022-12-1-2-2	25.71	aroma	Wx^a H	3
77	PSL17022-12-1-3-1	27.05	aroma	Wx^a H	3
78	PSL17022-12-1-4-2	26.97	aroma	Wx^a H	3
79	PSL17022-12-1-4-5	27.47	aroma	Wx^a H	3
80	PSL17022-12-1-8-1	26.74	aroma	Wx^a H	3
81	PSL17022-13-1-1-1	23.14	aroma	Wx^a I	2
82	PSL17022-13-1-9-2	21.59	aroma	Wx^a I	2
83	PSL17022-16-1-9-1	26.81	non-aroma	Wx^a H	6
84	PSL17022-16-1-10-1	27.34	non-aroma	Wx^a H	6
85	PSL17023-3-1-1-1	23.50	aroma	Wx^a I	2
86	PSL17023-3-1-9-1	17.67	aroma	Wx^b L	1
87	PSL17023-3-1-10-1	26.38	non-aroma	Wx^a H	6
88	PSL17023-3-1-10-2	22.74	aroma	Wx^a I	2
89	PSL17023-3-1-10-3	25.71	aroma	Wx^a H	3
90	PSL17023-8-1-4-1	26.10	aroma	Wx^a H	3
91	PSL17023-8-1-6-1	26.26	aroma	Wx^a H	3
92	PSL17023-8-1-6-2	26.21	non-aroma	Wx^a H	6
93	PSL17023-8-1-6-3	25.57	non-aroma	Wx^a H	6
94	PSL17023-8-1-6-4	25.97	non-aroma	Wx^a H	6

Wx^b L = low amylose, Wx^a H = high amylose, Wx^a I = intermediate amylose

Table 5 Yield (kg/rai) of Fourteen Lines at Phisanulok Rice Research Center in 4-row Observation

No.	Designation	Amylose (%)	Height (cm)	Rang	Yield
Improved RD47					
1	PSL17004-11-1-10-2	18.27	86	3	1,061
2	PSL17004-11-1-10-3	19.50	95	9	540
3	PSL17004-13-1-9-1	18.35	85	-	-
4	PSL17004-13-1-9-3	17.92	94	12	289
5	PSL17004-13-1-9-4	18.26	90	8	619
6	PSL17004-13-1-9-5	18.37	89	6	760
7	PSL17004-13-1-9-6	17.81	90	5	960
8	PSL17004-14-1-2-1	18.57	96	10	420
Improved RD49					
9	PSL17016-2-1-10-1	17.05	120	11	412
10	PSL17018-19-1-2-3	19.08	138	1	1,156
11	PSL17018-19-1-9-1	17.04	90	-	-
12	PSL17022-2-1-4-1	16.89	96	4	1,058
13	PSL17022-10-1-1-1	19.55	90	2	1,141
14	PSL17023-3-1-9-1	17.67	83	7	690

ให้ผลผลิต 1,156 กิโลกรัมต่อไร่ สายพันธุ์ PSL17022-10-1-1-1 ให้ผลผลิต 1,141 กิโลกรัมต่อไร่ จากประชากร กข49 สายพันธุ์ PSL17004-11-1-10-2 ให้ผลผลิต 1,061 กิโลกรัมต่อไร่ จากประชากร กข47 (Table 5)

การพัฒนาพันธุ์ข้าว กข47 และ กข49 ให้มีความหอม และปริมาณอมิโลสต่ำ โดยพัฒนาประชากรแบบผสมกลับ และใช้เครื่องหมายโมเลกุลคัดเลือก ประชากร F_1 ถึง BC_3F_1 คัดเลือกต้นที่มีลักษณะพันธุกรรมแบบ heterozygous และเมื่อปล่อยให้ผสมตัวเองในประชากรชั่วที่ BC_3F_2 ทำการคัดเลือกต้นที่มีลักษณะพันธุกรรมแบบ homozygous ในตำแหน่งยีนที่ต้องการ หากพบต้นที่มีลักษณะพันธุกรรมแบบ heterozygous ในบางลักษณะจะปล่อยให้ผสมตัวเองเพื่อสร้างโอกาสในการคัดเลือก และปลูกคัดเลือกจนถึงประชากร BC_3F_5 และนำมาคัดเลือกโดยเครื่องหมายโมเลกุลพร้อมทั้งวิเคราะห์ปริมาณอมิโลส

ผลการวิเคราะห์โดยเครื่องหมายโมเลกุลร่วมกับการวิเคราะห์ปริมาณอมิโลส สามารถแบ่งประชากรออกเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ 1) สายพันธุ์ที่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสต่ำ 2) สายพันธุ์ที่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสปานกลาง 3) สายพันธุ์ที่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสสูง 4) สายพันธุ์ที่ไม่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสต่ำ 5) สายพันธุ์ที่ไม่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสปานกลาง และ 6) สายพันธุ์ที่ไม่มียีนความหอมและปริมาณอมิโลสสูง

การศึกษาพันธุ์ขั้นสูง จากจำนวน 14 สายพันธุ์ ได้สายพันธุ์ PSL17018-19-1-2-3 ให้ผลผลิตสูง 1,156 กิโลกรัมต่อไร่ การใช้เครื่องหมายโมเลกุลสามารถช่วยในการคัดเลือกต้นที่มีลักษณะพันธุกรรมที่ต้องการจากประชากรชั่วแรกๆ โดยสามารถที่จะเลือกต้นที่มีพันธุกรรมทั้งความหอม และปริมาณอมิโลสต่ำ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Collard และคณะ (2005) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปาริฉัตร (2555) รายงานว่าการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกลักษณะความหอม และปริมาณอมิโลสในประชากรชั่วที่ 2 และ 3 จากการผสมข้ามระหว่าง

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 กับพันธุ์ที่มีลักษณะทรงต้นข้าวแบบใหม่ (จำนวนเมล็ดต่อรวงมาก แตกกอน้อย ทรงต้นตั้งตรง และให้ผลผลิตสูง) สามารถที่จะประสบผลสำเร็จตรงตามวัตถุประสงค์ได้

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลยังเป็นเทคนิคเพื่อคัดกรองจำนวนประชากรให้ลดลงในแต่ละประชากรก่อนที่จะนำสายพันธุ์ไปปลูกในครั้งต่อไป สามารถประหยัดค่าใช้จ่าย พื้นที่ในการปลูก รวมถึงแรงงานคนที่ในปัจจุบันมีน้อยลงในงานวิจัยนี้การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกลักษณะยีนความหอม และปริมาณอมิโลส ควบคู่กับการพัฒนาพันธุ์ข้าวแบบปกติเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและความแม่นยำ สามารถเป็นข้อมูลให้กับนักปรับปรุงพันธุ์ใช้ในการตัดสินใจที่จะนำสายพันธุ์เหล่านี้ไปพัฒนาและเข้าสู่กระบวนการถัดไปในการทดสอบผลผลิตภายในสถานีต่อไปได้

สรุปผลการทดลอง

การพัฒนาพันธุ์ข้าวหอมและมีปริมาณอมิโลสต่ำสำหรับนาชลประทาน โดยการผสมกลับร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลคัดเลือกยีนควบคุมลักษณะเป้าหมายจากข้าวพันธุ์ กข47 และ กข49 ให้มีความหอมและมีปริมาณอมิโลสต่ำ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลสามารถคัดเลือกจนได้สายพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะที่ต้องการหลากหลาย ได้แก่ สายพันธุ์ข้าวหอมที่มีปริมาณอมิโลสต่ำจำนวน 14 สายพันธุ์ ปริมาณอมิโลสปานกลางจำนวน 13 สายพันธุ์ และปริมาณอมิโลสสูง จำนวน 40 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ข้าวไม่หอมที่มีปริมาณอมิโลสต่ำจำนวน 1 สายพันธุ์ ปริมาณอมิโลสปานกลางจำนวน 2 สายพันธุ์ และปริมาณอมิโลสสูงจำนวน 24 สายพันธุ์ และทำการปลูกศึกษาพันธุ์ขั้นสูง จำนวน 14 สายพันธุ์ ได้สายพันธุ์ PSL17018-19-1-2-3 ให้ผลผลิตสูงสุด 1,156 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้จะถูกคัดเลือกเข้าสู่กระบวนการทดสอบผลผลิตภายในสถานีต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมการค้าต่างประเทศ. 2566. ข้อมูลการส่งออกข้าว. สืบค้นจาก: https://www.ditp.go.th/contents_attach/780244/780244.pdf. (25 มกราคม 2566)

ปาริฉัตร รัตนผล. 2555. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงผลผลิตสูง และเมล็ดมีคุณภาพดีโดยวิธีบันทึกประวัติร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศรีสวัสดิ์ ขันทอง, ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ และสุรีพร เกตุงาม. 2553. โรคไหม้และการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก. Thai Journal of Genetics 3: 106-119.

สุรีพร เกตุงาม. 2557. การปรับปรุงพันธุ์พืชระดับโมเลกุล. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, จ.อุบลราชธานี. 308 หน้า.

Ayres, N.M., A.M. McClung, P.D. Larkin, H.F.J. Bligh, C.A.Jones and W.D. Park. 1997. Microsatellite and a single-nucleotide polymorphism differentiate apparent amylose classes in an extended pedigree of US rice germplasm. Theoretical and Applied Genetics 94(6): 773-781.

Buttery, R.G., L.C. Ling, B.O. Juliano and J.G. Turnbaugh. 1983. Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline. Journal of Agricultural and Food Chemistry 31: 823-826

Collard, B.C.Y., M.Z.Z. Jahufer, J.B. Brouwer and E.C.K. Pang. 2005. An introduction to makers, quantitative trait loci (OTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. Euphytica 142: 169-196.

Juliano, B.O., 1971. A simplified assay for milled-rice amylose. Cereal Science Today 16: 334-338, 340, 360.

Sano, Y. 1984. Differential regulation of waxy gene expression in rice endosperm. Theoretical and Applied Genetics 68(5): 467-473.

Vanavichit, A., T. Yoshihashi, S. Wanchana, A. reekit, D. Saengsraku, W. Kamolsukyunyong, J. Lanceras, T. Toojinda and S. Tragoonrung. 2004. Positional cloning of Os2AP, the aromatic gene controlling the biosynthetic switch of 2-acetyl-1-pyrroline and gamma aminobutyric acid (GABA) in rice. Proceedings of the 1st International Conference on Rice for the Future. August 31-September 3, 2004. Bangkok.

Wanchana, S., W. Kamolsukyunyong, S. Ruengphayak, T. Toojinda, S. Tragoonrung and A. Vanavichita. 2005. A rapid construction of a physical contig across a 4.5 cM region for rice grain aroma facilitates marker enrichment for positional cloning. ScienceAsia 31: 299-306.

Wanchana, S., T. Toojinda, S. Tragoonrung and A. Vanavichit. 2003. Duplicated coding sequence in the waxy allele of tropical glutinous rice (*Oryza sativa* L.). Plant Science 165: 1193-1199.

Wang, Z.Y., F.Q. Zheng, G.Z. Shen, J.P. Gao, D.P. Snustad, M.G. Li, J.L. Zhang and M.M. Hong. 1995. The amylose content in rice endosperm is related to the post-transcriptional regulation of the Waxy gene. Plant Journal 7: 613-622.