วารสารวิชาการข้าว

กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 กันยายน - ธันวาคม 2550 ISSN 1906 - 0246

Bureau of Rice Research and Development

สารบัญ

■ **สารจากอธิบดีกรมการข้าว.** 3

สุรพงษ์ ปรานศิลป์

■ **บทบรรณาธิการ.** 4

ดารา เจตนะจิตร

ผลงานวิจัย

■ **การจัดเขตศักยภาพการผลิตข้าว 3 จังหวัดภาคกลาง.** 5

กิ่งแก้ว คุณเขต, นิตยา รื่นสุข, สมโรจน์ ประกอบบุญ, ประนอม มงคลบรรจง, สำราญ อินแถลง, อดุลย์ กฤษวะดี, วาสนา อินแถลง, ชิษณุชา บุดดาบุญ, ลัดดาวัลย์ กรรณนะ, นพรัตน์ ม่วงประเสริฐ, วลัยพร ศะศิประภา, ทอม เตียะเพชร, นิทัศน์ กาญจนภา, จิราภา เมืองคล้อ, จำนงค์ ศรีนิมิตร

■ **การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว.** 21

พากเพียร อรัญนารถ, นงรัตน์ นิลพานิชย์, รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์

■ **การปรับปรุงพันธ์ข้าวให้ทนเค็มและมีคุณภาพการหุงต้มดี.** 29

ดวงใจ สุริยาอรุณโรจน์, อภิชาติ วรรณวิจิตร, สมางศ์ ตระกูลรุ่ง, ธีรยุทธ์ ตู้จินดา

■ **การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าวด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย.** 44

พยอม โคเบลลี่, วราพงษ์ ชมาฤกษ์, พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์

■ **การตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวในประเทศไทย.** 52

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์, พยอม โคเบลลี่, อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ, ถนอมจิตร์ ฤทธิ์มนตรี, กัลยา เกศสุวรรณ, ชนสิริน กลิ่นมณี, สงวน เที่ยงดีฤทธิ์

■ **ความมีชีวิตและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวกล้อง.** 65

อัญชลี ประเสริฐศักดิ์, สุนันทา วงศ์ปิยชน, ศิริวรรณ ตั้งวิสุทธิจิต, ศุภรัตน์ โพธิ์เจริญกุล, ละม้ายมาศ ยังสุข

บทความ

■ **ข้าวลูกผสม : งานวิจัยที่ยาวนานสำหรับทางเลือกการผลิตข้าว.** 72

บริบูรณ์ สมฤทธิ์

■ **Apomixis: ความฝันของนักปรับปรุงพันธุ์พืช.** 77

วราพงษ์ ชมาฤกษ์

คณะผู้จัดทำวารสารวิชาการข้าว

พ.ศ. 2550-2551

เจ้าของ : กรมการข้าว

สำนักงาน : สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว จตุจักร กทม. 10900
โทร. 0 - 2579 - 6537 โทรสาร. 0 - 2561 - 1732

วัตถุประสงค์ : เพื่อเป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ผลงานวิจัยและบทความวิชาการด้านข้าว

ที่ปรึกษา

อธิบดีกรมการข้าว
รองอธิบดีกรมการข้าว
ที่ปรึกษากรมการข้าว
ผู้เชี่ยวชาญ
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและพัฒนาข้าว ผู้อำนวยการสำนักเมล็ดพันธุ์ข้าว
ผู้อำนวยการสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ข้าว ผู้อำนวยการสำนักพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าว
ผู้อำนวยการสำนักส่งเสริมการผลิตข้าว ผู้อำนวยการสำนักบริหารกลาง

บรรณาธิการ

สุวัฒน์ รายการ

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

กรรณิการ์ พรหมพันธ์ใจ วันทนา ศรีรัตนศักดิ์
สมทรง โชติชื่น พินัย ทองสวัสดิ์วงศ์

กองบรรณาธิการ

อรพิน วัฒเนสก์ สุนิยม ตาปราบ รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์
วิชชุดา รัตนากาญจน์ วราพงษ์ ชมาฤกษ์ ละม้ายมาศ ยังสุข
กิ่งแก้ว หุ่นเขต อัญชลี ประเสริฐศักดิ์ นิวัฒน์ นภีรงค์
วิไลลักษณ์ สุขปราการ ลัดดา วิริยางกูร ทรรศนะ ลาภรวย
ขจร เราประเสริฐ

ผู้จัดการ

วิชชุดา รัตนากาญจน์

ผู้ช่วยผู้จัดการ

อรทัย เตชะฤทธิ์ กาญจนภรณ์ พูนบ้านแขก

Bureau of Rice Research and Development

วารสารวิชาการข้าว

Thai Rice Research Journal

ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 กันยายน - ธันวาคม 2550 ISSN 1906 - 0246

(Vol. 1 No. 1, September - December 2007)

วัตถุประสงค์

เพื่อเป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ผลงานวิจัยและบทความวิชาการด้านข้าว

ระเบียบการ

1. การส่งต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ในวารสารให้ส่งจำนวน 2 ชุด (พร้อมกับไฟล์บันทึกในแผ่นซีดี - โปรแกรม Microsoft Word) เขียนตามแบบฟอร์มและคำแนะนำท้ายเล่ม เพื่อพิจารณานำลงในวารสารวิชาการข้าว ที่บรรณาธิการ ผู้ช่วยบรรณาธิการ หรือผู้จัดการ
2. การพิจารณารับเรื่องที่จะตีพิมพ์เป็นสิทธิของกองบรรณาธิการ และกองบรรณาธิการจะไม่รับผิดชอบในเนื้อหาหรือความถูกต้องของเรื่องที่ส่งมาตีพิมพ์ทุกเรื่อง
3. กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจแก้ไขเรื่องที่ส่งมาตีพิมพ์ และอาจจะส่งเรื่องคืนให้ผู้เขียน เพื่อเพิ่มเติม หรือพิมพ์ต้นฉบับใหม่ แล้วแต่กรณี
4 การพิจารณาผลงานวิจัยที่จะลงตีพิมพ์ มีผู้พิจารณา (peer review) 2 ท่าน ต่อ 1 เรื่อง เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานของวิชาการ

Bureau of Rice Research and Development

"...ข้าพเจ้ามีโอกาสได้ศึกษาและทดลองทำนามาบ้าง และทราบดีว่าการทำนามีความยากลำบาก เป็นอุปสรรคอยู่มิใช่น้อย จำเป็นต้องอาศัยพันธุ์ข้าวที่ดี และต้องใช้วิชาการต่างๆ ด้วย จึงจะได้ผลเป็นล่ำเป็นสัน..."

พระราชดำรัสของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดช
พระราชทานแก่ผู้นำกลุ่มชาวนา ในวันเปิดการประชุมผู้นำกลุ่มชาวนาทั่วประเทศ ครั้งที่ 3
(19 มีนาคม พ.ศ. 2508)

Bureau of Rice Research and Development

สารจากอธิบดี

กรมการข้าวมีภารกิจเกี่ยวกับข้าว โดยครอบคลุมถึง การวิจัยและพัฒนา การปรับปรุงพันธุ์ และเทคโนโลยีด้านต่างๆ เพื่อการปลูกข้าวให้มีผลผลิตต่อพื้นที่และคุณภาพสูงขึ้น อนุรักษ์และคุ้มครองพันธุ์ การผลิตเมล็ดพันธุ์ การตรวจสอบรับรองมาตรฐาน การส่งเสริม สนับสนุน และเผยแพร่องค์ความรู้เพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตชาวนา การแปรรูปและการจัดการอื่นๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าข้าว รวมทั้งการตลาดและการส่งเสริมวัฒนธรรมและภูมิปัญญาท้องถิ่นเกี่ยวกับข้าว ในอดีตที่ผ่านมา กรมการข้าวและนักวิชาการด้านข้าว ได้วิจัยและนำผลงานออกเผยแพร่ไปปฏิบัติอย่างเป็นรูปธรรม เกิดประโยชน์กับเกษตรกรและประเทศอย่างอเนกอนันต์ เช่น พัฒนาพันธุ์ข้าวที่ปลูกได้ตลอดปี พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตด้านต่างๆ ทำให้ประเทศไทยเป็นผู้นำในการส่งออกข้าวของโลกอย่างต่อเนื่องมากว่า 25 ปี สร้างรายได้เข้าประเทศอย่างมหาศาล และมีส่วนช่วยแก้ปัญหาวิกฤตเศรษฐกิจตกต่ำในรอบทศวรรษที่ผ่านมา

กรมการข้าวในปัจจุบันได้ให้ความสำคัญกับงานวิจัย ซึ่งจะรองรับยุทธศาสตร์ข้าวของประเทศ (ปี พ.ศ. 2550-2554) ในมิติต่างๆ คือ

1) การผลิตที่มีประสิทธิภาพ ลดต้นทุนการผลิต
2) การผลิตอาหารปลอดภัยและการรักษาสภาพแวดล้อม
3) การอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมข้าว และพัฒนาพันธุ์ข้าว
4) การวิจัยเพื่อรองรับการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ

นอกจากนี้ กรมยังให้ความสำคัญและสนับสนุนนักวิชาการด้านข้าว ให้พร้อมที่จะสร้างผลงานวิจัยตามแนวนโยบายของรัฐบาล ตามความต้องการของเกษตรกรและผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่าย โดยยึดหลักการอนุรักษ์ภูมิปัญญาท้องถิ่น และการใช้ประโยชน์บนความหลากหลายทางชีวภาพอย่างยั่งยืน พัฒนาคุณภาพชีวิตแบบเกษตรกรมีส่วนร่วม

การจัดทำวารสารวิชาการข้าวเป็นแนวทางหนึ่งที่กรมสนับสนุน เพื่อให้ผลงานวิจัยที่สำเร็จแล้วได้เผยแพร่ และสามารถนำไปถ่ายทอดให้เกษตรกรหรือผู้เกี่ยวข้องได้นำไปใช้อย่างครบถ้วนสมบูรณ์ งานวิจัยไม่ว่าจะดำเนินการอยู่ในระดับใดก็ตาม เป้าหมายคือ มีผู้นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งนักวิจัยและผู้สนับสนุนจะต้องภูมิใจในความสำเร็จที่ประจักษ์แก่สังคมตลอดไป

(นายสุรพงษ์ ปรานศิลป์)
อธิบดีกรมการข้าว

Bureau of Rice Research and Development

บทบรรณาธิการ

"วารสารวิชาการข้าว" ฉบับปฐมฤกษ์ได้เริ่มต้นขึ้นตามคำปรารภของผู้ทรงคุณวุฒิและนักวิชาการอาวุโสที่ทำงานด้านข้าว ที่อยากเห็นสิ่งตีพิมพ์ซึ่งเป็นเวทีในการเผยแพร่ผลงานค้นคว้าวิจัยของกรมการข้าวในยุคที่ 2 นี้

กรมการข้าวเป็นหน่วยงานหลักในการวิจัยและพัฒนาข้าวของประเทศ วารสารวิชาการข้าวมีวัตถุประสงค์ในการจัดพิมพ์เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยและความรู้วิชาการด้านข้าว รวมทั้งผลงานวิจัยและบทความที่ทันสมัย น่าสนใจ และเป็นข้อมูลใหม่ที่เป็นสาระประโยชน์แก่วงการวิชาการ

ในฉบับนี้ ท่านผู้อ่านจะได้พบกับบทความวิจัย เรื่อง ข้าวลูกผสม : งานวิจัยที่ยาวนานสำหรับทางเลือกการผลิตข้าว และ Apomixis : ความฝันของนักปรับปรุงพันธุ์ เพื่อเป็นแนวทางสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ในการวิจัยพันธุ์ข้าวต่อไปในอนาคต ที่ต้องแข่งขันกับเพื่อนบ้านซึ่งกำลังมาแรง ทั้งในด้านการวิจัยและการตลาดอย่างเช่นประเทศเวียดนาม สำหรับผลงานวิจัยมีความหลากหลายทั้งด้านพัฒนาเทคโนโลยีการผลิต การปรับปรุงพันธุ์ การป้องกันกำจัดโรคข้าว เทคโนโลยีการตรวจสอบ และอื่นๆ ซึ่งน่าสนใจทุกเรื่อง

วารสารวิชาการข้าวฉบับนี้ จะสำเร็จไม่ได้เลยหากไม่มีบรรณาธิการและคณะที่มุ่งมั่นทำงานร่วมกันมาหลายเดือน เพื่อให้ได้วารสารที่มีมาตรฐาน และเป็นการเริ่มต้นที่ดีอีกครั้งหนึ่ง ขอขอบคุณนักวิจัยที่ส่งผลงานอันมีค่าของท่านมาตีพิมพ์เผยแพร่ กราบขอบพระคุณท่านอธิบดีกรมการข้าว (นายสุรพงษ์ ปรานศิลป์) ที่ได้ให้ความกรุณาจัดสรรงบประมาณในการจัดพิมพ์ เพื่อให้วารสารนี้มีอยู่คู่กับกรมการข้าวตลอดไป เพื่อนักวิจัยได้มีโอกาสส่งผลงานวิจัยหรือบทความลงในวารสารวิชาการข้าวของเราอย่างสม่ำเสมอต่อเนื่อง และเป็นสื่อสำคัญในการเผยแพร่ผลงานวิชาการด้านข้าวสืบไป

(นางดารา เจตนะจิตร)
รักษาการ ผู้เชี่ยวชาญด้านปรับปรุงพันธุ์ข้าว
สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว

Bureau of Rice Research and Development

การจัดเขตศักยภาพการผลิตข้าว 3 จังหวัดภาคกลาง

Rice Production Potential Zoning of 3 Provinces in the Central Plain

กิ่งแก้ว คุณเขต[1] นิตยา รื่นสุข[1] สมโรจน์ ประกอบบุญ[2] ประนอม มงคลบรรจง[1] สำราญ อินแถลง[3]
อดุลย์ กฤษวะดี[1] วาสนา อินแถลง[1] ชิษณุชา บุดดาบุญ[2] ลัดดาวัลย์ กรรณนุช[4] นพรัตน์ ม่วงประเสริฐ[5]
วลัยพร ศะศิประภา[6] ทอม เตียะเพชร[7] นิทัศน์ กาญจนภา[7] จิราภา เมืองคล้าย[7] จำนงค์ ศรีนิมิตร[8]
Kingkaw Kunket[1] Nittaya Ruensuk[1] Somroj Prakorbboon[2] Pranorm Monkonbunjong[1] Samran Inthalaeng[3]
Adul Kridsawadee[1] Wasana Inthalaeng[1] Chitnucha Buddaboon[2] Laddawan Kunnoot[4] Nopharat Muangprasert[5]
Walaiporn Sasiprapa[6] Tom Tiaphet[7] Nithat Kanchanapa[7] Jhirapha Muangklai[7] Chamnong Srinimitra[8]

Abstract

Comparison of rice production between farmer's and introduced appropriate technology management based on soil suitability and fertility was established in according to accomplish rice production potential of three major production provinces in the central plain, Pathum Thani, Nakhon Nayok and Chachoengsao during 2002-2006. Results showed that most rice soils were very suitable soils. Farmers in irrigated area applied higher fertilizer rates than recommendation ones leading to less profit. For rainfed low land area, high yield varietal supplement can increase more rice yield than fertilizer management. In conclusion, rice production potential of three provinces in which had been demonstrated as potential mapping can increase an average yield by 10% with maximum decrease of total input cost of 40% leading to gain approximately 800 million baht a crop or 1,600 million baht a year increased value from rice yield.

Keywords : rice production, soil, fertilzer, technology, rice production map

---

1) ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ต. รังสิต อ. ธัญบุรี จ. ปทุมธานี 12110 โทรศัพท์ 0-2577-1688-9
Pathum Thani Rice Research Center, Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Tel. 0-2577-1688-9
2) ศูนย์วิจัยข้าวปราจีนบุรี ต. บ้านสร้าง อ. บ้านสร้าง จ. ปราจีนบุรี 25150 โทรศัพท์ 037-271-385
Prachin Buri Rice Research Center, Ban Sang, Prachin Buri 25150, Tel. 037-271-385
3) ศูนย์วิจัยข้าวพระนครศรีอยุธยา ต. หันตรา อ. พระนครศรีอยุธยา จ. พระนครศรีอยุธยา 13000 โทรศัพท์ 035-241-680
Phra Nakhon Si Ayutthaya Rice Research Center, Phra Nakhon Si Ayutthaya 13000, Tel. 035-241-680
4) สำนักพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าว กรมการข้าว จตุจักร กทม. 10900 โทรศัพท์ 0-2561-5360
Bureau of Rice Product Development, Rice Department, Bangkok 10900, Tel. 0-2561-5360
5) สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ข้าว กรมการข้าว จตุจักร กทม. 10900 โทรศัพท์ 0-2561-2182
Bureau of Rice Policy and Strategy, Rice Department, Bangkok 10900, Tel. 0-2561-2182
6) ศูนย์สารสนเทศ กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม. 10900 โทรศัพท์ 0-2940-6872
Information Technology Center, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Tel. 0-2940-6872
7) สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 5 ต. บางหลวง อ. สรรพยา จ .ชัยนาท 17150 โทรศัพท์ 056-413-044
Office of Agricultural Research and Development, Region 5, Chai Nat 17150, Tel. 056-413-044
8) สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 6 ต. พลิ้ว อ. แหลมสิงห์ จ. จันทบุรี 22190 โทรศัพท์ 039-397-076
Office o Agricultural Research and Development, Region 6, Chanthaburi 22190, Tel.039-397-076

Bureau of Rice Research and Development

บทคัดย่อ

ดำเนินการศึกษาการเพิ่มศักยภาพการผลิตข้าว ของ 3 จังหวัดภาคกลาง ได้แก่ ปทุมธานี นครนายก และฉะเชิงเทรา ระหว่างปี พ.ศ. 2545-2549 เพื่อหาแนวทางการเพิ่มผลผลิต และใช้ประโยชน์ในการวางแผนการผลิตข้าว โดยนำข้อมูลความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวของดินนามาดัดแปลง ประกอบผลการสำรวจความอุดมสมบูรณ์ของดินและการผลิตข้าวของเกษตรกร ตลอดจนทดสอบเทคโนโลยีเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวที่เหมาะสม และจัดทำแผนที่ศักยภาพการผลิตข้าวพร้อมคำแนะนำ พบว่า ดินนาส่วนใหญ่มีความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวมาก และมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ยกเว้นพื้นที่ดินเปรี้ยวจัดในเขตจังหวัดปทุมธานี เกษตรกรทั่วไปในเขตชลประทานสมบูรณ์ปลูกข้าวพันธุ์ไม่ไวต่อช่วงแสงที่ราชการรับรอง มีการใช้ปุ๋ยอัตราสูงกว่าคำแนะนำของราชการ แต่ได้ผลผลิตใกล้เคียงหรือต่ำกว่าการใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง ส่วนพื้นที่นาน้ำฝน มีการปลูกข้าวพันธุ์ไวต่อช่วงแสง การเพิ่มผลผลิตด้วยการใช้พันธุ์ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง ช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวได้ดีกว่าการใช้ปุ๋ย การจัดเขตศักยภาพการผลิตข้าว ด้วยการจัดทำแผนที่แสดงเขตศักยภาพ เปรียบเทียบความเหมาะสมของดินต่อการปลูกข้าว ตลอดจนระดับการเพิ่มผลผลิตข้าวด้วยการใช้ปุ๋ยที่เหมาะสม สามารถลดต้นทุนการผลิตและเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าว แต่ละจังหวัดมีความแตกต่างกัน โดยรวมสามารถเพิ่มผลผลิตข้าวได้สูงสุดร้อยละ 10 ลดต้นทุนการผลิตได้สูงสุดร้อยละ 40 และเพิ่มมูลค่าผลผลิตได้ฤดูละประมาณ 800 ล้านบาท หรือ ปีละ 1600 ล้านบาท

คำสำคัญ : การผลิตข้าว ดิน ปุ๋ย เทคโนโลยี แผนที่ศักยภาพการผลิตข้าว

คำนำ

พื้นที่ปลูกข้าวของประเทศไทย ปีเพาะปลูก 2547 มีประมาณ 67 ล้านไร่ ได้ผลผลิตข้าวเปลือก 27.2 ล้านตัน โดยมีผลผลิตเฉลี่ย 406 กิโลกรัมต่อไร่ มีการเก็บเกี่ยวทำเป็นเมล็ดพันธุ์ 1.15 ล้านตัน แปรรูปเป็นข้าวสาร 17.2 ล้านตัน เมื่อมีการเก็บเกี่ยวผลผลิตในแต่ละครั้ง ทำให้มีการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารพืชออกจากพื้นที่อย่างต่อเนื่อง แต่การใส่ปุ๋ยเพื่อให้ธาตุอาหารพืชกลับสู่ดินมีน้อยมาก นับเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ดินนาขาดธาตุอาหารพืช และเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้การใช้ปุ๋ยในอัตราแนะนำที่ผ่านมาเป็นคำแนะนำการใช้ปุ๋ยที่ประเมินตามลักษณะกลุ่มดินที่แตกต่างกัน โดยไม่ได้คำนึงถึงศักยภาพของดิน ซึ่งคาดว่าความสามารถในการให้ผลผลิตข้าวของดินนาควรจะสูงกว่าการใช้ปุ๋ยที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งสามารถช่วยลดต้นทุนการผลิต ทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นด้วย

สามจังหวัดของภาคกลาง ได้แก่ ปทุมธานี นครนายก และ ฉะเชิงเทรา มีพื้นที่ปลูกข้าวรวม ประมาณ 2 ล้านไร่ คิดเป็นร้อยละ 3 ของพื้นที่ปลูกข้าวของประเทศ แต่นับว่ามีความสำคัญ เนื่องจากพื้นที่นาดังกล่าวส่วนใหญ่มีความอุดมสมบูรณ์ เกษตรกรมีศักยภาพในการทำนาให้ผลผลิตสูง จึงนับเป็นแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญของประเทศ จังหวัดปทุมธานีแม้มีปัญหาดินเปรี้ยว แต่มีระบบชลประทานที่สมบูรณ์ จึงเป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศ ในเขตชลประทาน รับน้ำจากโครงการส่งน้ำต่างๆ ของจังหวัด โดยมีคลองรังสิตประยูรศักดิ์ เป็นคลองส่งน้ำสายหลัก (จังหวัดปทุมธานี, 2548) ผลผลิตข้าวในฤดูนาปี 2543 เฉลี่ย 750 กิโลกรัมต่อไร่ และฤดูนาปรัง 2544 เฉลี่ย 812 กิโลกรัมต่อไร่ จังหวัดนครนายกมีพื้นที่การทำนาส่วนใหญ่อยู่ในเขตนาน้ำฝน (จังหวัดนครนายก, 2548) เกษตรกรในพื้นที่นาน้ำฝน รวมทั้งพื้นที่นาชลประทานที่มีน้ำไม่สมบูรณ์ สามารถทำนาได้ปีละครั้ง ผลผลิตข้าวในฤดูนาปรัง 2547 เฉลี่ย 460 กิโลกรัมต่อไร่ ฤดูนาปี 2547 พันธุ์ไม่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตเฉลี่ย 650 กิโลกรัมต่อไร่ และพันธุ์ไวต่อช่วงแสง ซึ่งปลูกในเขตนาน้ำฝน ผลผลิตเฉลี่ย 390 กิโลกรัมต่อไร่ การทำนามักประสบปัญหาการขาดน้ำ ทำให้ผลผลิตต่ำ ส่วนจังหวัดฉะเชิงเทรามีพื้นที่ทำการทำนาประมาณครึ่งหนึ่งของพื้นที่การเกษตรทั้งหมด (จังหวัดฉะเชิงเทรา, 2548) ผลผลิตข้าวในฤดูนาปี 2541 เฉลี่ย 492 กิโลกรัมต่อไร่ และฤดูนาปรัง 2542 เฉลี่ย 731 กิโลกรัมต่อไร่

พื้นที่นาที่มีความอุดมสมบูรณ์ส่วนใหญ่อยู่ในเขต

Bureau of Rice Research and Development

ชลประทาน ซึ่งรับน้ำจากโครงการส่งน้ำต่างๆ ของจังหวัด ทำให้มีน้ำทำนาได้ตลอดปี ชาวนาในเขตชลประทานทำนา 2-3 ครั้งในรอบปีหรืออาจถึง 5 ครั้งใน 2 ปี การทำนาแต่ละครั้งมีการใช้เทคโนโลยีการผลิต เช่น การใช้อัตราเมล็ดพันธุ์และปุ๋ยเคมีค่อนข้างสูง มีการใช้ปุ๋ยเคมีสูตรที่ไม่เหมาะกับระยะการเจริญเติบโตของข้าว ไม่ตรงกับคำแนะนำของทางราชการ โดยทั่วไปมีการใส่ปุ๋ยมากกว่า 2 ครั้ง เกษตรกรส่วนใหญ่ไม่คำนึงถึงต้นทุนการผลิต แต่จะเน้นให้ได้ผลผลิตสูง ส่วนพื้นที่นาน้ำฝน มีการปลูกข้าวพันธุ์ไวต่อช่วงแสง และมักประสบปัญหาการขาดน้ำในระยะข้าวออกดอก ส่งผลกระทบต่อผลผลิตอย่างมาก อย่างไรก็ดี ผลผลิตเฉลี่ยของจังหวัดเหล่านี้สูงกว่าผลผลิตเฉลี่ยของทั้งประเทศ

การพัฒนาการปลูกข้าว ด้วยการหาวิธีเพิ่มศักยภาพการผลิตข้าว ของ 3 จังหวัดดังกล่าวในภาคกลางที่เป็นแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญของประเทศ โดยการจัดทำแผนที่จำแนกพื้นที่ตามศักยภาพการให้ผลผลิต และพัฒนาเทคโนโลยีที่เหมาะสมต่อการผลิตข้าวในแต่ละจังหวัด นอกจากทำให้เกษตรกรทราบแนวทางการเพิ่มผลผลิตในพื้นที่ของตนเอง ยังช่วยให้การวางแผนงานวิจัยและพัฒนาการผลิตข้าวเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ และข้อมูลดังกล่าวยังใช้ในการวางแผนการผลิตข้าว เพื่อตอบสนองความต้องการบริโภคข้าวทั้งภายในประเทศและต่างประเทศที่เพิ่มขึ้น ในภาวะที่พื้นที่ดินที่เหมาะสมต่อการปลูกข้าวลดลง

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ศึกษาและรวบรวมข้อมูลพื้นฐาน จากจังหวัดปทุมธานี นครนายก และฉะเชิงเทรา ได้แก่ ข้อมูลทั่วไป ลักษณะภูมิประเทศ แหล่งน้ำ ภูมิอากาศ ลักษณะดิน การใช้ประโยชน์ที่ดิน ความเหมาะสมของพื้นที่ต่อการปลูกข้าว เพื่อทำความเข้าใจพื้นที่และระบบนิเวศการผลิตข้าวของจังหวัด

2. จำแนกศักยภาพการให้ผลผลิตข้าวตามความเหมาะสมของที่ดิน นำแผนที่รายงานการใช้ประโยชน์ที่ดิน เพื่อการปลูกพืชเศรษฐกิจของ 3 จังหวัด ของกองสำรวจและจำแนกดิน กรมพัฒนาที่ดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2533; 2534(ก); 2534 (ข)) ซึ่งจำแนกระดับความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวของดิน ออกเป็นระดับต่างๆ มาประกอบการกำหนดระดับผลผลิตข้าวของแต่ละระดับ โดยใช้ระบบผู้เชี่ยวชาญด้านข้าว ตามโครงการนำร่องการจัดเขตศักยภาพการผลิตข้าวจังหวัดสุพรรณบุรี (กรมวิชาการเกษตร, 2545)

3. การเก็บตัวอย่างดินและตัวอย่างผลผลิตข้าว ประมาณการ การเก็บตัวอย่างดินของแต่ละจังหวัดทั้งสิ้น จำนวน 100 ตัวอย่าง โดยคำนวณจากเปอร์เซ็นต์พื้นที่การทำนาของแต่ละอำเภอ วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี และเก็บผลผลิตข้าว จำนวนครึ่งหนึ่งของตัวอย่างดิน คือ 50 ตัวอย่าง นำไปนวด ฝัด ชั่งน้ำหนัก วัดความชื้นและปรับเป็นน้ำหนักเมล็ดข้าวเปลือกที่ความชื้น 14 %

4. การสัมภาษณ์เกษตรกร เกี่ยวกับข้อมูลการใช้ที่ดิน การเตรียมดิน แหล่งเมล็ดพันธุ์ ชนิดพันธุ์ข้าว การเปลี่ยนพันธุ์ข้าว การใส่ปุ๋ย การดูแลรักษา การกำจัดโรค แมลง การควบคุมวัชพืช ตลอดจนวิธีการเก็บเกี่ยวและแหล่งจำหน่ายผลผลิต

5. การจัดทำแผนที่ระดับผลผลิตเบื้องต้น แสดงระดับศักยภาพการให้ผลผลิตข้าวของดิน 4 ระดับ จากข้อมูลผลผลิตข้าวที่ได้จากการสุ่มเก็บตัวอย่างจริงและจากการสัมภาษณ์ร่วมกัน โดยพิจารณาจำแนกระดับการให้ผลผลิตจากผู้เชี่ยวชาญด้านข้าว จำแนกระดับการให้ผลผลิตข้าวออกเป็น 4 ระดับ คือ

R1 ระดับผลผลิต มากกว่า 550 กิโลกรัมต่อไร่
R2 ระดับผลผลิต ระหว่าง 450-550 กิโลกรัมต่อไร่
R3 ระดับผลผลิต ระหว่าง 350-450 กิโลกรัมต่อไร่
R4 ระดับผลผลิต น้อยกว่า 350 กิโลกรัมต่อไร่

6. คัดเลือกพื้นที่ทำแปลงทดสอบ จากแผนที่ขั้นต้น กำหนดจำนวนแปลงทดสอบและคัดเลือกเกษตรกรร่วมจัดทำแปลงทดสอบเทคโนโลยีที่เหมาะสมสำหรับแต่ละพื้นที่ จังหวัดละ 10 แปลง โดยมีหลักเกณฑ์ คือ ให้มีระดับศักยภาพการให้ผลผลิตครบทั้ง 4 ระดับ รวมทั้งกำหนดระดับเทคโนโลยีที่เหมาะสมสำหรับแต่ละพื้นที่

7. จัดทำแปลงทดสอบเทคโนโลยี กำหนดให้มีการเปรียบเทียบเทคโนโลยีที่ต้องการแนะนำกับเทคโนโลยีที่เกษตรกรปฏิบัติอยู่แล้ว พิจารณาผลการสัมภาษณ์เกษตรกร การเปรียบเทียบเทคโนโลยีเป็นวิธีการใช้ปุ๋ยเคมี รวม 3 กรรมวิธี ดังนี้

Bureau of Rice Research and Development

กรรมวิธีที่ 1 ใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำ

1.1 ข้าวพันธุ์ไม่ไวต่อช่วงแสง ใช้ปุ๋ยอัตราตามที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำสำหรับภาคกลาง และเพิ่มการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมเป็น 12-6-6 กก.N-P_2O_5-K_2O /ไร่ แบ่งใส่ 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 ใช้ปุ๋ยสูตร 18-46-0 อัตรา 13 กก./ไร่ ร่วมกับปุ๋ย 46-0-0 อัตรา 4 กก./ไร่ และปุ๋ย 0-0-60 อัตรา 10 กก./ไร่ หลังหว่านข้าว 20 วัน ครั้งที่ 2 และ ครั้งที่ 3 ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตราครั้งละ 8 กก./ไร่ ที่ระยะแตกกอ และกำเนิดช่อดอก ตามลำดับ

1.2 ข้าวพันธุ์ไวต่อช่วงแสง ใช้ปุ๋ยอัตราตามที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำสำหรับภาคกลาง และเพิ่มการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียมเป็น 6-6-6 กก.N-P_2O_5-K_2O /ไร่ แบ่งใส่ 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 ใช้ปุ๋ยสูต ร 18-46-0 อัตรา 13 กก./ไร่ ร่วมกับปุ๋ย 0-0-60 อัตรา 10 กก./ไร่ หลังหว่านข้าว 20 วัน ครั้งที่ 2 และ ครั้งที่ 3 ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตราครั้งละ 4 กก./ไร่ ที่ระยะแตกกอ และกำเนิดช่อดอก ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ 2 ใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน แยกเป็นอัตราของปุ๋ยชนิดต่าง ๆ ดังแสดงใน Table 1

กรรมวิธีที่ 3 การใช้ปุ๋ยแบบเกษตรกร โดยเก็บตัวอย่างผลผลิต และสอบถามการใช้ปุ๋ยจากแปลงของเกษตรกรเจ้าของพื้นที่ที่ทำแปลงทดสอบ

8. ทำการทดสอบเทคโนโลยีซ้ำ โดยเลือกเฉพาะที่เหมาะสมกับแต่ละพื้นที่เพื่อเป็นการยืนยันว่าควรใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมกับท้องถิ่น

9. จัดทำแผนที่เขตศักยภาพการผลิตข้าว โดยจัดทำแผนที่สรุปการแบ่งเขตศักยภาพการผลิตข้าวใหม่อีกครั้งจากระดับผลผลิตข้าว มีมีการใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตข้าวแล้ว

10. จัดทำคำแนะนำ การใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมสำหรับการผลิตข้าวในพื้นที่แต่ละเขต ประกอบแผนที่แบ่งเขตศักยภาพการผลิตข้าวที่ให้ผลผลิตสูง และมีคุณภาพดี

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษาการจัดเขตศักยภาพการผลิตข้าว 3 จังหวัดเขตภาคกลาง (Fig. 1) พบว่า แต่ละจังหวัดมีศักยภาพการเพิ่มผลผลิต ลดต้นทุนการผลิต ส่งผลให้เกิดการเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าว ได้แตกต่างกัน กล่าวคือ

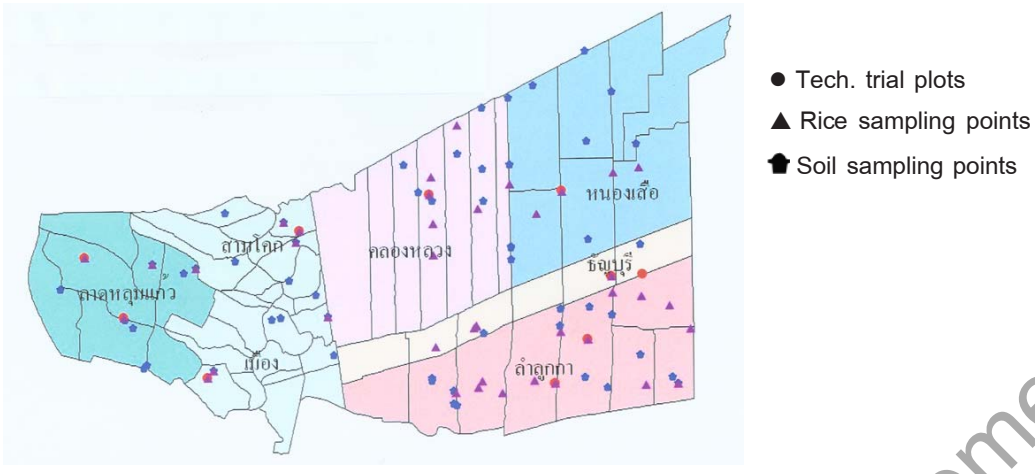
จังหวัดปทุมธานี การสำรวจเก็บข้อมูลการสัมภาษณ์เกษตรกรและเก็บตัวอย่างผลผลิตข้าว รวม 37 ตัวอย่าง และตัวอย่างดินนา รวม 59 ตัวอย่าง จาก 7 อำเภอ รวมทั้งการใช้เทคโนโลยีการใส่ปุ๋ยเคมีที่ถูกต้องและเหมาะสม ด้วยการทำแปลงทดสอบการใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำและตามค่าวิเคราะห์ดิน เปรียบเทียบกับการใช้ปุ๋ยของเกษตรกร รวม 10 แปลง ระหว่าง ปี พ.ศ. 2545-2547 พบว่า ดินนาของจังหวัดปทุมธานี มีลักษณะเนื้อดินส่วนใหญ่เป็นดินเหนียว มีความเป็นกรดจัด จนถึงกรดจัดมาก ปริมาณอินทรียวัตถุต่ำ จนถึงค่อนข้างสูง ปริมาณฟอสฟอรัสต่ำมาก จนถึงปานกลาง ปริมาณโพแทสเซียมต่ำมาก จนถึงสูงมาก (Table 2)

ผลผลิตข้าวของเกษตรกร พบว่าอยู่ในระดับที่ 1 กล่าวคือมากกว่า 550 จนถึงมากกว่า 850 กิโลกรัมต่อไร่ การใช้เทคโนโลยีการใส่ปุ๋ยเคมีที่ถูกต้องและเหมาะสมด้วยการทำแปลงทดสอบการใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำและตามค่าวิเคราะห์ดิน เปรียบเทียบกับการใช้ปุ๋ยของเกษตรกร 2 ฤดู รวม 10 แปลง นอกจากลดต้นทุนด้านการใช้ปุ๋ยในการผลิตข้าวของเกษตรกรได้ 260.93 บาทต่อไร่ หรือร้อยละ 43 และมีกำไรเพิ่มขึ้น 454.99 บาทต่อไร่ (Table 3) สามารถเพิ่มศักยภาพการผลิตข้าวโดยสามารถยกระดับผลผลิตของพื้นที่ปลูกข้าวของ

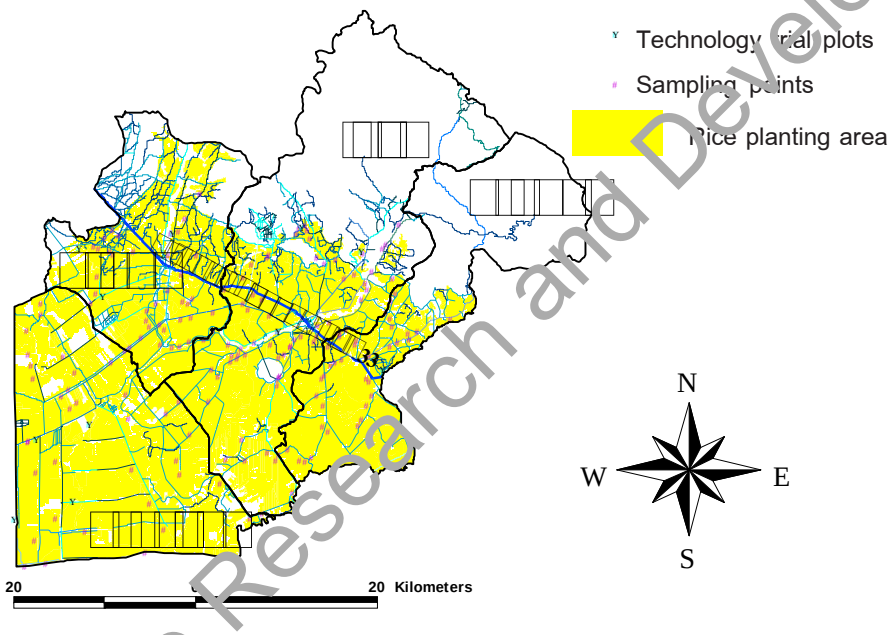
Table 1 Fertilizer application based on soil analysis

Organic matter (%)	Total nitrogen		Available phosphorus		Extractable potassium	
	Sensitive varieties (kg N/rai)	Insensitive varieties (kg N/rai)	From soil analysis (ppm)	Requirement (kg P_2O_5/rai)	From soil analysis (ppm)	Requirement (kg K_2O/rai)
< 1	9	18	< 5	6	< 60	6
1 - 2	6	12	5 - 10	3	60 - 80	3
> 2	3	6	> 10	0	> 80	0

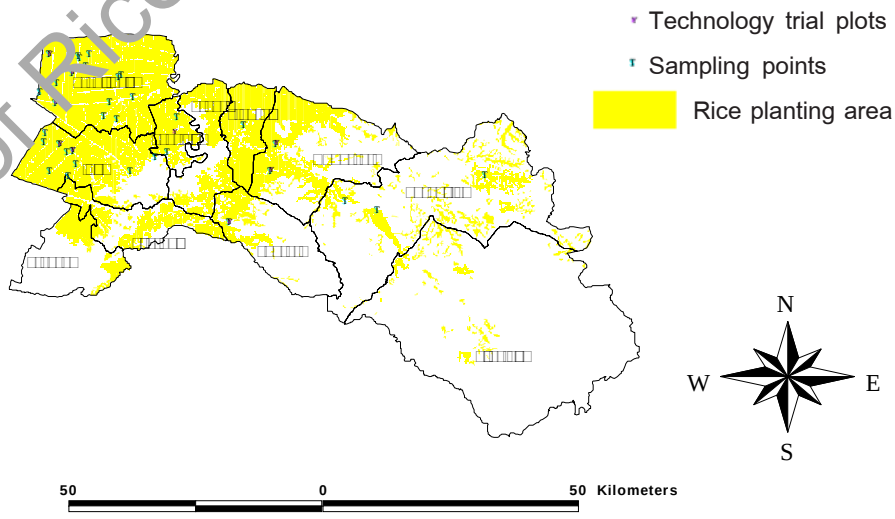
Bureau of Rice Research and Development



a) Pathum Thani



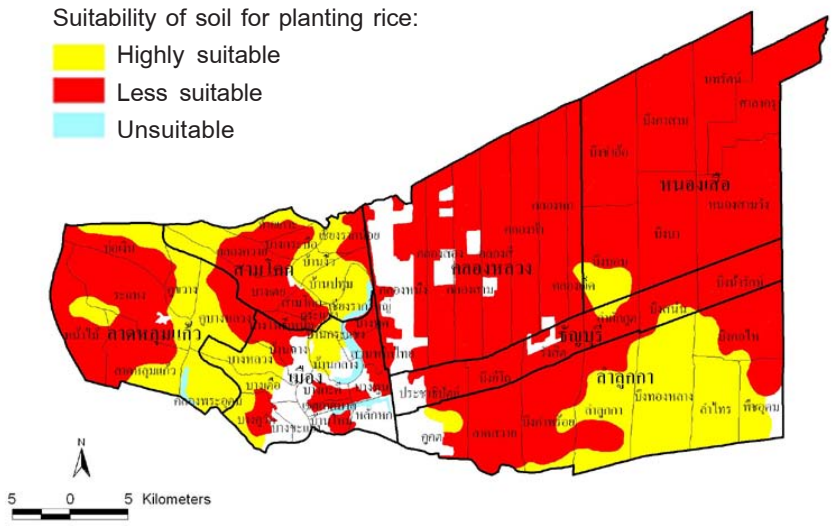
b) Nakhon Nayok



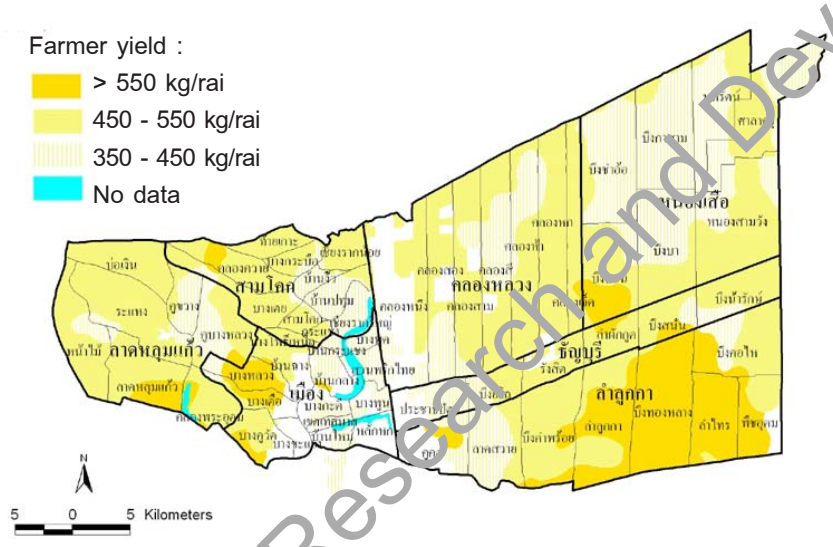
c) Chachoengsao

Fig. 1 Sampling points and technology trial plots in Pathum Thani, Nakhon Nayok and Chachoengsao provinces

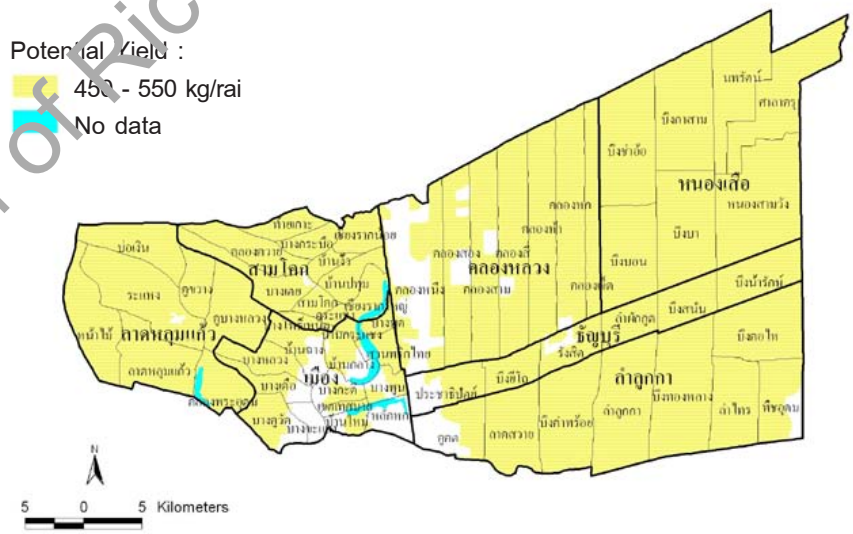
Bureau of Rice Research and Development



(a) Soil suitability for rice



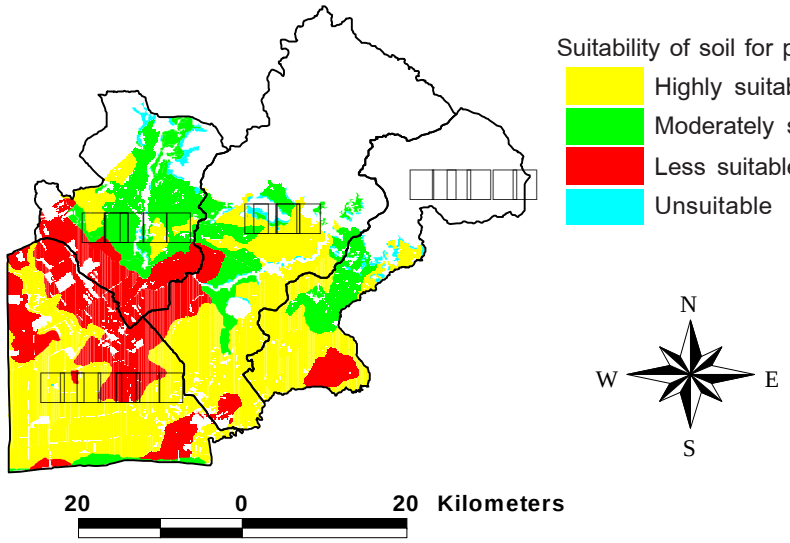
(b) Farmer yield



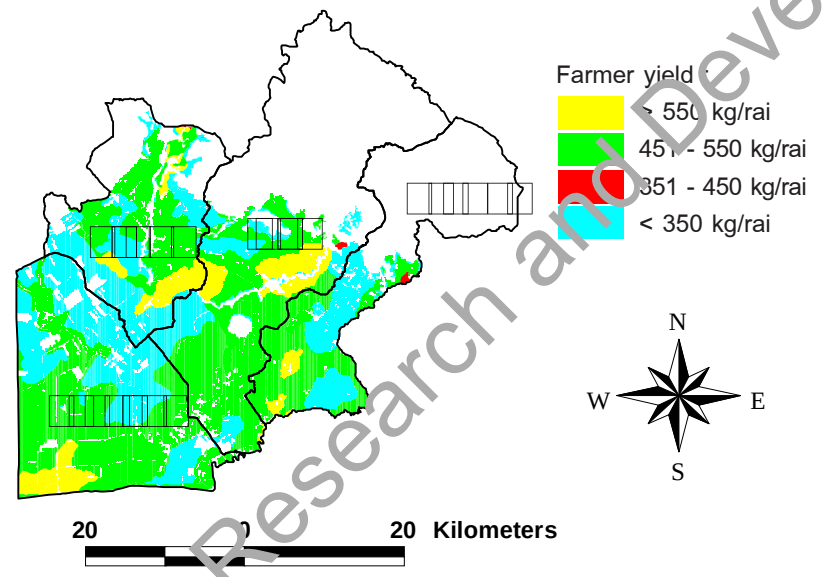
(c) Potential yield

Fig. 2 Soil suitability for rice (a) farmer yield (b) and potential yield (c) of Pathum Thani province

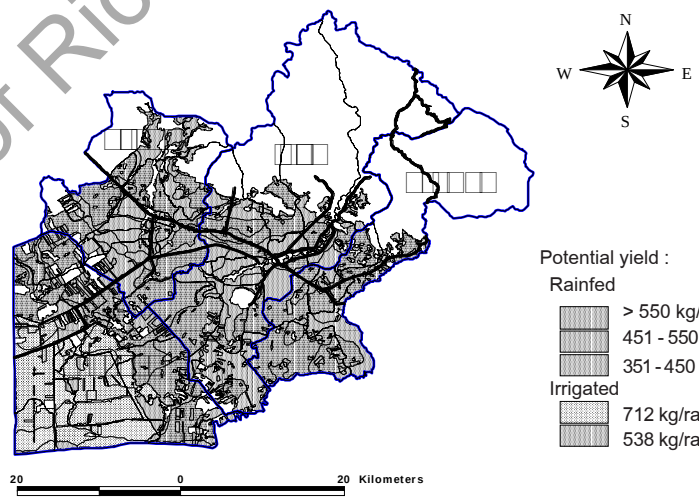
Bureau of Rice Research and Development



(a) Soil suitability for rice



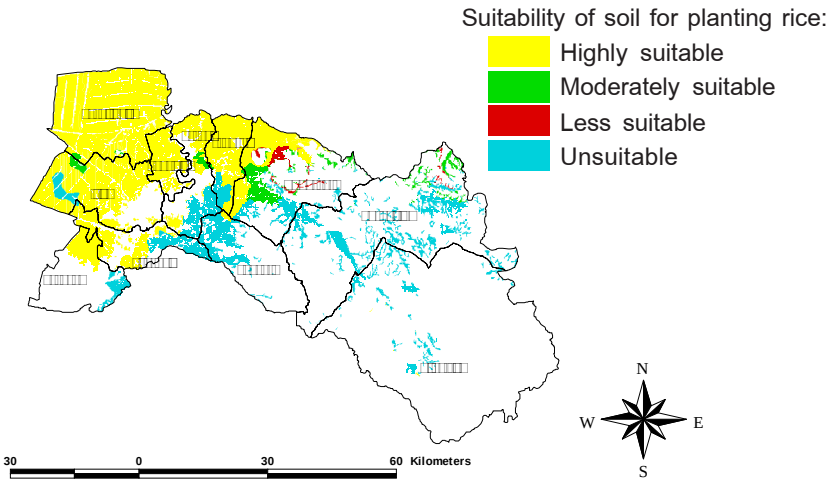
(b) Farmer yield



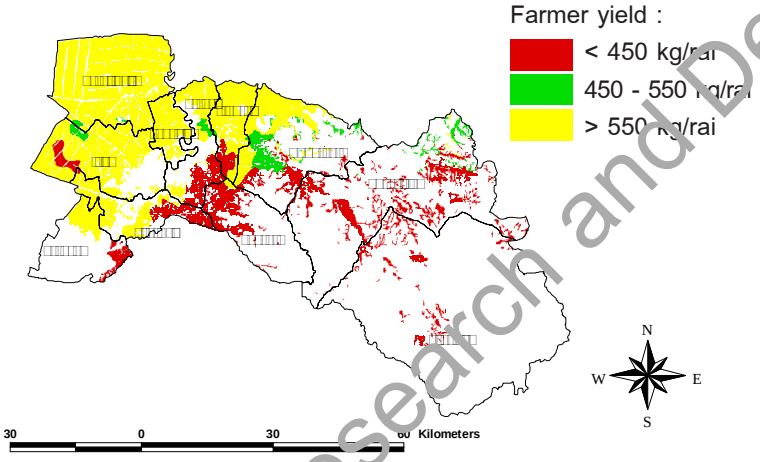
(c) Potential yield

Fig. 3 Soil suitability for rice (a) farmer yield (b) and potential yield (c) of Nakhon Nayok province

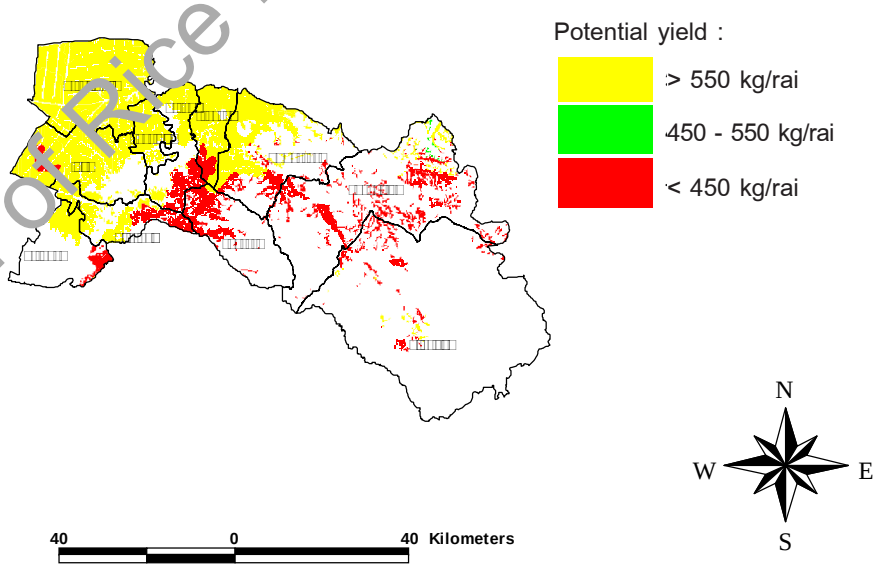
Bureau of Rice Research and Development



(a) Soil suitability for rice



(b) Farmer yield



(c) Potential yield

Fig. 4 Soil suitability for rice (a) farmer yield (b) and potential yield (c) of Chacheongsao province

Bureau of Rice Research and Development

Bureau of Rice Research and Development

Table 2 Chemical soil properties of Pathum Thani province collected in 2002

District	No. of sample	pH (1:1)					Organic matter (%)					Phosphorus (ppm)							Potassium (ppm)		
		slightly acid	moderately acid	acid	strongly acid	very strong acid	very high	high	slightly high	moderate	slightly low	very high	high	slightly high	moderate	slightly low	low	very low	very high	high	moderate
Mueang	7	0	0	1	5	1	0	2	4	1	0	0	0	2	1	2	2	0	4	3	0
Sam Khok	6	1	0	2	2	1	1	3	0	2	0	0	0	2	0	1	2	1	3	4	0
Lat Lum Kaeo	10	0	3	3	3	1	0	2	5	2	1	0	0	2	4	3	0	1	6	3	0
Laam luk Ka	15	0	2	7	4	2	7	5	2	0	1	2	2	3	2	4	2	0	14	1	0
Thanyaburi	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Khlong Luang	8	0	1	2	3	2	1	4	3	0	0	0	0	4	1	1	2	0	4	3	1
Nong Suea	12	0	4	2	5	1	5	5	2	0	0	1	4	5	1	1	0	0	12	0	0
Total	59	1	10	18	22	8	14	21	17	5	2	3	6	19	9	12	8	2	44	14	1
%	100	1.7	16.9	30.5	37.3	13.6	23.7	35.6	28.8	8.5	3.4	5.1	10.2	32.2	15.3	20.3	13.6	3.4	74.6	23.7	1.7

Table 3 Average yields and economic aspect of demonstrated fertilization and farmer management in Pathum Thani province in 2004

Fertilization treatment	Yield (kg/rai)	Income (baht/rai)	Input cost (baht/rai)	Net income (baht/rai)
12-6-0kgN-P_2O_5-K_2O/rai	599	3,296.33	362.80	2,933.53
12-6-6kg N-P_2O_5-K_2O/rai	601	3,304.19	448.80	2,855.39
Soil analysis	570	3,135.52	227.49	2,908.03
Farmer	577	3,022.64	607.29	2,415.35

Table 4 Comparison between average farmer and potential yields among districts of Pathum Thani province in 2004

District	Paddy (rai)	Farmer		Potential	
		Average yield (kg/rai)	Yield value (million baht)	Average yield (kg/rai)	Yield value (million baht)
Mueang	21,277	577	77.34	590	79.09
Sam Khok	26,587	657	110.05	635	106.36
Lat Lum kaeo	70,500	527	234.07	557	247.39
Thanyaburi	1,390	709	6.21	704	6.16
Laam Luk Ka	113,278	661	471.72	647	461.73
Khlong Luang	55,926	615	216.69	634	223.38
Nong Suea	18,603	481	56.37	527	61.76
Total/Average	307,561	604	1,172.45	613	1,185.38

Average grain price 6.30 baht/kg (November 2004)

จังหวัดปทุมธานี จากระดับที่ 1 เป็น 701-850 กิโลกรัมต่อไร่ (Fig. 2) ส่งผลให้สามารถเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าวของจังหวัดได้ ฤดูละ 13.5 ล้านบาท (Table 4)

จังหวัดนครนายก การทำนาประมาณร้อยละ 50 ของพื้นที่การเกษตรของจังหวัด พื้นที่นาร้อยละ 70 อยู่ในเขตอาศัยน้ำฝน ผลผลิตข้าวอยู่ในระดับต่ำ ส่วนพื้นที่ที่มีการชลประทานสมบูรณ์ การทำนาของเกษตรกร มีการใช้ปัจจัยการผลิตสูง แต่ยังไม่เหมาะสมต่อการให้ได้ผลผลิตสูง และมักไม่คำนึงถึงต้นทุนการผลิต จากการสำรวจเก็บข้อมูลการสัมภาษณ์เกษตรกรและเก็บตัวอย่างผลผลิตข้าว 43 ตัวอย่าง และดินนา 176 ตัวอย่าง จาก 4 อำเภอ ระหว่าง พ.ศ. 2547-2548 พบว่า ลักษณะเนื้อดินส่วนใหญ่เป็นดินเหนียว มีความเป็นกรดจัด มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ปริมาณฟอสฟอรัสปานกลาง-ค่อนข้างต่ำ ปริมาณโพแทสเซียมสูงมาก (Table 5) พื้นที่ดินที่เหมาะสมต่อการปลูกข้าว ระดับที่ 1 ประมาณร้อยละ 50 ของพื้นที่

ผลผลิตข้าวของเกษตรกร พบว่า อยู่ในระดับที่สูงกว่าระดับตามความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวที่จัดไว้โดยกรมพัฒนาที่ดิน โดยในเขตชลประทานแม้ดินมีลักษณะเป็นกรดจัด ผลผลิตข้าวส่วนใหญ่ก็ยังอยู่ในระดับที่ 1 และระดับที่ 2 ส่วนพื้นที่อาศัยน้ำฝน ผลผลิตข้าวอยู่ในเกณฑ์ต่ำ

การใช้เทคโนโลยีการใส่ปุ๋ยเคมีที่ถูกต้อง และเหมาะสม ด้วยการทำแปลงทดสอบการใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำและตามค่าวิเคราะห์ดิน เปรียบเทียบกับการใช้ปุ๋ยของเกษตรกร 2 ฤดู รวม 13 แปลง ระหว่าง พ.ศ. 2548-2549 พบว่า สามารถเพิ่มศักยภาพการผลิตข้าวให้สูงขึ้นประมาณร้อยละ 37 โดยในเขตชลประทาน จากระดับที่ 2 (450-550 กิโลกรัมต่อไร่) และระดับที่ 1 (มากกว่า 550 กิโลกรัมต่อไร่) เป็น มากกว่า 700 กิโลกรัมต่อไร่ และเพิ่มพื้นที่ที่ให้ผลผลิตมากกว่า 550 กิโลกรัมต่อไร่ ได้มากขึ้น ส่วนพื้นที่อาศัยน้ำฝน สามารถยกระดับศักยภาพการผลิต จากระดับที่ 2 เป็นระดับที่ 1 และปรับผลิตระดับที่ 4 ให้เป็นระดับที่ 2 ได้ ในเขตที่สามารถหาแหล่งน้ำเพิ่มเติมได้ (Fig. 3) นอกจากนี้ สามารถลดต้นทุนด้านการใช้ปุ๋ยในการผลิตข้าวของเกษตรกรได้ 212.05 บาทต่อไร่ หรือร้อยละ 38 และมีกำไรเพิ่มขึ้น 406.75 บาทต่อไร่แล้ว (Table 6) ส่งผลให้สามารถเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าวของจังหวัดได้ฤดูละประมาณ 695 ล้านบาท (Table 7)

จังหวัดฉะเชิงเทรา มีพื้นที่การทำนามากเป็นอันดับที่ 3 ของภาคกลาง การทำนาของเกษตรกรในเขตชลประทานมีการใช้ปัจจัยการผลิตสูงแต่ยังไม่เหมาะสมต่อการให้ได้ผลผลิตสูง และมักไม่คำนึงถึงต้นทุนการผลิต พื้นที่ปลูกข้าวในที่ลุ่มเขตชลประทานส่วนใหญ่ กรมพัฒนาที่ดินได้จัดให้อยู่ในระดับที่มีความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวมาก ส่วนพื้นที่เขตนาน้ำฝน ดินขาดความอุดมสมบูรณ์ไม่เหมาะสมต่อการปลูกข้าว จากการสำรวจเก็บข้อมูลโดยการสัมภาษณ์เกษตรกรและเก็บตัวอย่างผลผลิตข้าว รวม 36 ตัวอย่าง และตัวอย่างดินนา รวม 80

Bureau of Rice Research and Development

Bureau of Rice Research and Development

Table 5 Chemical soil properties of Nakhon Nayok province collected in 2002

District	No. of sample	pH (1:1)						Organic matter (%)						Phosphorus (ppm)						Potassium (ppm)					
		non acid	slightly acid	moderately acid	acid	strong acid	very strong acid	very high	high	slightly high	moderate	slightly low	low	very high	high	slightly high	moderate	slightly low	low	very low	very high	high	moderate	very low	low
Mueang	67	2	2	4	4	22	34	2	7	16	24	17	2	0	1	3	10	24	15	15	24	9	7	23	5
Ongkharak	35	0	0	3	3	4	25	6	15	11	3	0	0	0	5	3	12	11	3	1	29	6	0	0	0
Ban Na	36	1	0	3	3	8	22	3	4	6	16	7	1	4	4	2	11	6	7	3	12	1	11	12	1
Pak Phli	35	1	0	2	2	13	18	1	3	11	14	7	0	0	0	2	2	8	13	11	14	3	4	6	9
Total	173	4	2	12	12	47	99	12	29	44	57	31	3	4	10	10	35	49	38	30	79	19	22	41	15
%	100	2.3	1.2	6.9	6.9	27.2	57.2	6.9	16.8	25.4	32.9	17.9	1.7	2.3	5.8	5.8	20.2	28.3	22.0	17.3	45.7	11.0	12.7	23.7	8.7

Table 6 Average yields and economic aspect of demonstrated fertilization and farmer management in Nakhon Nayok province in 2004

Fertilization treatment	Yield (kg/rai)	Income (baht/rai)	Input cost (baht/rai)	Net income (baht/rai)
12-6-6kg N-P_2O_5-K_2O/rai	511	3,065.70	512.80	2,552.90
Soil analysis	500	2,998.20	351.95	2,646.25
Farmer	467	2,803.50	564.00	2,239.50

Table 7 Comparison between average farmer and potential yields among districts of Nakhon Nayok province in 2004

District	Paddy (rai)	Farmer		Potential	
		Average yield (kg/rai)	Yield value (million baht)	Average yield (kg/rai)	Yield value (million baht)
Ongkharak	208,955	542	679.52	712	892.66
Mueang	198,709	335	399.41	559	666.47
Pak Phli	123,092	525	387.74	685	505.91
Ban Na	144,432	426	369.17	538	466.23
Total/Average	675,188	457	1,835.83	624	2,531.26

Average grain price 6.30 baht/kg (November 2004)

ตัวอย่าง จาก 11 อำเภอ ในฤดูนาปี พ.ศ. 2545 พบว่า ลักษณะเนื้อดินส่วนใหญ่เป็นดินเหนียว จนถึงร่วนเหนียวปนทราย มีความเป็นกรดจัด จนถึงกรดจัดมาก ปริมาณอินทรียวัตถุต่ำ จนถึงค่อนข้างสูง ปริมาณฟอสฟอรัสต่ำมาก จนถึงปานกลาง ปริมาณโพแทสเซียมต่ำมาก จนถึงสูงมาก (Table 8)

ผลผลิตข้าวของเกษตรกรในเขตเหมาะสมต่อการปลูกข้าวส่วนใหญ่อยู่ในระดับที่ 1 มีเพียงส่วนน้อยที่อยู่ในระดับที่ 2 และระดับที่ 3 รวมทั้งระดับที่ 4 โดยผลผลิตระดับที่ 2 พบในเขตพื้นที่ชลประทาน และพื้นที่นาน้ำฝน ส่วนผลผลิตระดับที่ 3 และ 4 พบเฉพาะในเขตพื้นที่นาน้ำฝน

การใช้เทคโนโลยีการใส่ปุ๋ยเคมีที่ถูกต้องและเหมาะสม ด้วยการทำแปลงทดสอบการใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำและตามค่าวิเคราะห์ดิน เปรียบเทียบกับการใช้ปุ๋ยของเกษตรกร 2 ฤดู รวม 10 แปลง ระหว่าง พ.ศ. 2546-2547 ตามที่กรมพัฒนาที่ดินได้จำแนกให้มีความเหมาะสมของพื้นที่ต่อการปลูกข้าวเป็น 4 ระดับ ตั้งแต่ระดับเหมาะสมมาก ปานกลาง เหมาะสมน้อย และไม่เหมาะสม กับระดับผลผลิตข้าว ของเกษตรกรในพื้นที่เหล่านี้ซึ่งมีความใกล้เคียงกัน กล่าวคือ พื้นที่ที่เหมาะสมต่อการปลูกข้าวมาก เกษตรกรปลูกข้าวได้ผลผลิตมากกว่า 550 กิโลกรัมต่อไร่ ประมาณร้อยละ 70 ของพื้นที่ พื้นที่ที่ไม่เหมาะสมต่อการปลูกข้าว เกษตรกรปลูกข้าวได้ผลผลิตน้อยกว่า 350 กิโลกรัมต่อไร่ ประมาณร้อยละ 25 ของพื้นที่ จากการศึกษาพบว่าแปลงทดสอบให้ผลผลิตข้าวมากกว่าการใช้ปุ๋ยของเกษตรกร โดยสามารถเพิ่มศักยภาพการผลิตข้าวของพื้นที่ และยกระดับผลผลิตข้าวให้สูงขึ้นในเกษตรกรที่ปลูกข้าวได้ผลผลิตมากกว่า 550 กิโลกรัมต่อไร่ ประมาณร้อยละ 76 ของพื้นที่ และลดพื้นที่ปลูกข้าวที่ให้ผลผลิตน้อยกว่า 350 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ร้อยละ 27 ของพื้นที่ โดยเพิ่มพื้นที่ปลูกข้าวที่ให้ผลผลิต 350-450 กิโลกรัมต่อไร่ จากร้อยละ 1 เป็นร้อยละ 23 ของพื้นที่ หรือสามารถยกระดับผลผลิตของพื้นที่ปลูกข้าวของจังหวัด จากระดับที่ 1, 2, 3 และ 4 ให้เป็นระดับที่ 1, 2 และ 3 เท่านั้น (Fig. 4) ทำให้ลดต้นทุนด้านการใช้ปุ๋ยในการผลิตข้าวของเกษตรกรได้ 98.90 บาทต่อไร่ และมีกำไรเพิ่มขึ้น 293.76 บาทต่อไร่ (Table 9) ซึ่งส่งผลให้สามารถเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าวของจังหวัดได้ฤดูละประมาณ 90 ล้านบาท (Table 10)

สรุปผลการทดลอง

การจัดเขตศักยภาพการผลิตข้าว 3 จังหวัดภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดปทุมธานี นครนายก และฉะเชิงเทรา ด้วยการนำข้อมูลความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวของกลุ่มดินนาต่างๆ มาประกอบข้อมูลการผลิตข้าวของเกษตรกร และการใช้เทคโนโลยีการใส่ปุ๋ยเคมีที่ถูกต้องและเหมาะสม ตามกลุ่มความเหมาะสมของดินต่อการปลูกข้าว สามารถเพิ่มศักยภาพการผลิตข้าวของพื้นที่ ด้วยการยกระดับผลผลิต ช่วยลดต้นทุนด้านการใช้ปุ๋ยในการผลิตข้าวของเกษตรกร ช่วยให้มีกำไรต่อไร่เพิ่มขึ้นในแต่ละจังหวัดแตกต่างกันไป โดยรวมสามารถยกระดับผลผลิตได้สูงสุด ประมาณร้อยละ 10 ช่วยลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยได้สูงสุด ประมาณร้อยละ 40 ส่งผลให้สามารถเพิ่มมูลค่าผลผลิตข้าวของประเทศได้ ฤดูละประมาณ 800 ล้านบาท

Bureau of Rice Research and Development

Bureau of Rice Research and Development

Table 8 Chemical soil properties of Chachoengsao province collected in 2002

District	No. of sample	pH (1:1)					Organic matter (%)							Phosphorus (ppm)							Potassium (ppm)				
		slightly acid	moderately acid	acid	strong acid	very strong acid	very high	high	slightly high	moderate	slightly low	low	very low	very high	high	slightly high	moderate	slightly low	low	very low	very high	high	moderate	very low	low
Mueang	10	0	0	2	4	4	2	2	4	2	0	0	0	0	1	3	1	3	1	1	5	5	0	0	0
Bang Nam Prieo	11	0	0	1	5	5	0	1	8	2	0	0	0	0	1	2	4	2	2	0	11	0	0	0	0
Khlongkuan	2	0	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0	0	0	0
Bang khla	6	0	0	0	2	4	0	0	2	4	0	0	0	0	1	0	2	1	2	0	6	0	0	0	0
Ratchasan	5	0	0	0	1	4	0	0	1	4	0	0	0	0	1	0	2	1	1	0	4	0	1	0	0
Phanom Sarakham	12	1	0	1	3	7	0	0	2	3	5	1	1	2	2	0	1	0	4	3	3	1	1	4	3
Ban Pho	4	0	0	0	2	2	0	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	2	1	0	4	0	0	0	0
Bang Pakong	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Plaeng Yao	7	0	1	1	2	3	0	0	2	1	2	2	0	0	0	1	1	1	3	1	2	0	1	1	3
Sanam Chaikhet	12	0	1	3	7	1	0	0	0	2	4	5	1	0	0	0	1	2	2	7	0	0	1	6	5
Tartakeab	10	0	1	2	6	1	0	0	0	2	4	4	0	0	0	0	1	0	5	3	1	0	1	3	5
Total	80	1	3	10	34	32	2	3	19	26	16	12	2	3	5	7	13	13	22	15	39	6	5	14	16
%	100	1.3	3.8	12.5	42.5	40.0	2.5	3.8	23.8	32.5	20.0	15.0	2.5	3.8	7.5	8.8	16.3	16.3	27.5	18.8	48.8	7.5	6.3	17.5	20.0

Table 9 Average yields and economic aspect of demonstrated fertilization and farmer management in Chachoengsao province in 2004

Fertilization treatment	Yield (kg/rai)	Income (baht/rai)	Input cost (baht/rai)	Net income (baht/rai)
12-6-0 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	585	3,215.30	362.80	2,852.50
12-6-6 kg N-P_2O_5-K_2O/rai	596	3,280.48	448.80	2,831.68
Soil analysis	621	3,414.77	245.89	3,168.88
Farmer	583	3,205.13	490.62	2,714.51

Table 10 Comparison between average farmer and potential yields among districts of Chachoengsao province in 2004

District	Paddy (rai)	Farmer		Potential	
		Average yield (kg/rai)	Yield value (million baht)	Average yield (kg/rai)	Yield value (million baht)
Mueang	96,785	664	404.87	657	400.60
Bangnampraew	213,100	579	777.32	578	775.98
Bangkla	50,763	565	180.69	601	192.20
Bangprakong	29,963	565	106.65	601	113.45
Banpo	43,089	565	153.38	601	163.15
Panomsarakam	136,343	638	548.02	632	542.86
Sanamchaiket	123,687	565	440.26	601	468.32
Rachasarn	63,243	476	189.65	448	178.50
Plangyao	33,890	424	90.53	517	110.38
Tartakeab	44,073	565	156.88	601	166.87
Khlongkuan	40,578	562	143.67	659	168.47
Total/Average	875,514	561	3,191.92	591	3,280.79

Average grain price 6.30 baht/kg (November 2004)

หรือ 1600 ล้านบาทต่อปี ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สามารถนำไปประกอบการวางแผนการผลิตข้าวของจังหวัด โดยสรุปเป็นคำแนะนำ การเพิ่มศักยภาพการผลิตข้าว ตามกลุ่มความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวของดิน และการจัดการปุ๋ย ดังแสดงในตารางสรุปที่ 1 ถึง 4

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน. 2533. รายงานการใช้ประโยชน์ที่ดินเพื่อการปลูกพืชเศรษฐกิจ: จังหวัดฉะเชิงเทรา. กองสำรวจและจำแนกดิน. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 14 หน้า.

กรมพัฒนาที่ดิน. 2534(ก). รายงานการใช้ประโยชน์ที่ดินเพื่อการปลูกพืชเศรษฐกิจ: จังหวัดปทุมธานี. กองสำรวจและจำแนกดิน. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 11 หน้า.

กรมพัฒนาที่ดิน. 2534(ข). รายงานการใช้ประโยชน์ที่ดินเพื่อการปลูกพืชเศรษฐกิจ: จังหวัดนครนายก. กองสำรวจและจำแนกดิน. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 12 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2545. การจัดเขตศักยภาพการผลิตข้าว จังหวัดสุพรรณบุรี.สถาบันวิจัยข้าว กองปฐพีวิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5. 97 หน้า.

จังหวัดนครนายก. 2548. ข้อมูลทั่วไปของจังหวัด. www.Nakornnayok.go.th. 9/4/2548.

จังหวัดปทุมธานี. 2548. ข้อมูลทั่วไปของจังหวัด. www.Pathumthani.go.th. 8/4/2548.

จังหวัดฉะเชิงเทรา. 2548. ข้อมูลพื้นฐานทั่วไป. www.Ccs.go.th. 9/4/2548.

Bureau of Rice Research and Development

ตารางสรุปที่ 1 สรุปคำแนะนำ การเพิ่มศักยภาพการผลิตข้าว ตามกลุ่มความเหมาะสมต่อการปลูกข้าวของดิน และการจัดการปุ๋ย

จังหวัด	ความเหมาะสมของดินต่อการปลูกข้าว	พันธุ์ข้าว	การใช้ปุ๋ย	ผลผลิตข้าวตามศักยภาพ (กก./ไร่)
ปทุมธานี	เหมาะสมมาก	สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามคำแนะนำ	795
		สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามค่าวิเคราะห์ดิน	746
	เหมาะสมปานกลาง	สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามคำแนะนำ	758
		สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามค่าวิเคราะห์ดิน	737
		ขาวดอกมะลิ 105	ตามคำแนะนำ	411
		ขาวดอกมะลิ 105	ตามค่าวิเคราะห์ดิน	361
	เหมาะสมน้อย	สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามคำแนะนำ	694
		สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามค่าวิเคราะห์ดิน	720
นครนายก	เหมาะสมมาก	สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามคำแนะนำ	559
		สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามค่าวิเคราะห์ดิน	518
	เหมาะสมปานกลาง	ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามคำแนะนำ	685
		ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามค่าวิเคราะห์ดิน	685
ฉะเชิงเทรา	เหมาะสมมาก	สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามคำแนะนำ	803
		สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามค่าวิเคราะห์ดิน	815
	แหมาะสมน้อย	สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามคำแนะนำ	515
		สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 ฯลฯ	ตามค่าวิเคราะห์ดิน	445

Bureau of Rice Research and Development

ตารางสรุปที่ 2 การใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำ สำหรับข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง

ครั้งที่ 1 (20 วันหลังหว่าน)		ครั้งที่ 2 (40-45 วันหลังหว่าน)		ครั้งที่ 3 (55-60 วันหลังหว่าน)	
สูตรปุ๋ย	อัตรา(กก./ไร่)	สูตรปุ๋ย	อัตรา(กก./ไร่)	สูตรปุ๋ย	อัตรา(กก./ไร่)
18 - 46 - 0	13	46 - 0 - 0	8	46 - 0 - 0	8
46 - 0 - 0	4	-	-	-	-
0 - 0 - 60	10	-	-	-	-
หรืออาจใช้ปุ๋ยสูตรอื่นที่มีในท้องตลาด เช่น					
16 - 20 - 0	25.30	46 - 0 - 0	10	46 - 0 - 0	10
หรือ 18 - 12 - 6	25-30	46 - 0 - 0	10	46 - 0 - 0	10
หรือ 16 - 12 - 8	25-30	46 - 0 - 0	10	46 - 0 - 0	10

ตารางสรุปที่ 3 การใช้ปุ๋ยตามคำแนะนำ สำหรับข้าวไวต่อช่วงแสง

ครั้งที่ 1 (20 วันหลังหว่าน)		ครั้งที่ 2 (ระยะแตกกอ)		ครั้งที่ 3 (ระยะกำเนิดช่อดอก)	
สูตรปุ๋ย	อัตรา(กก./ไร่)	สูตรปุ๋ย	อัตรา(กก./ไร่)	สูตรปุ๋ย	อัตรา(กก./ไร่)
18 - 46 - 0	13	46 - 0 - 0	4	46 - 0 - 0	4
0 - 0 - 60	10	-	-	-	-
หรืออาจใช้ปุ๋ยสูตรอื่นที่มีในท้องตลาด เช่น					
16 - 20 - 0	25	46 - 0 - 0	5	46 - 0 - 0	5
หรือ 18 - 12 - 6	25	46 - 0 - 0	5	46 - 0 - 0	5
หรือ 16 -12 - 8	25	46 - 0 - 0	5	46 - 0 - 0	5

ตารางสรุปที่ 4 การใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน พิจารณาค่าอินทรียวัตถุ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในดิน

อินทรียวัตถุ	ปริมาณไนโตรเจน		ปริมาณฟอสฟอรัส		ปริมาณโพแทสเซียม	
ที่วิเคราะห์ได้ (%)	ข้าวไวแสง (กก.N/ไร่)	ข้าวไม่ไวแสง (กก.N/ไร่)	ที่วิเคราะห์ได้ (ส่วนในล้านส่วน)	ที่ต้องใส่ (กก.P_2O_5/ไร่)	ที่วิเคราะห์ได้ (ส่วนในล้านส่วน)	ที่ต้องใส่ (กก.P_2O_5/ไร่)
< 1	9	18	< 5	6	< 60	6
1 - 2	6	12	5 - 10	3	60 - 80	3
> 2	3	6	> 10	0	> 80	0

Bureau of Rice Research and Development

การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าว

Using Antagonistic Bacteria to Control Rice Seed Discoloration Disease

พากเพียร อรัญนารถ[1)] นงรัตน์ นิลพานิชย์[1)] รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์[1)]

Parkpian Arunyanart[1)] Nongrat Nilpanit[1)] Rasamee Dhitikiattipong[1)]

Abstract

Top five ranking *Bacillus subtilis* were chosen for trials at Pathum Thani Rice Research Center in dry and wet season 2004, designed as RCB, with 6 treatments and 4 replications, using Khao Jow Hawm Khlong Luang 1 variety. Three sprays with $1x10^9$ cfu/ml of bacterial suspension were made at booting, early heading and late heading stages. The analyzed data indicated that antagonistic *Bacillus subtilis* No. 33 was the most effective in suppressing rice grain discoloration in both dry and wet season 2004. However, all treatments showed significant difference in suppressing the disease by 33.93 - 48.53% compared to control plot. In wet season 2005, top three ranking *Bacillus subtilis* were chosen for trials. They were also comparatively tested with individual bacterium and mixed bacteria, designed as RCB, with 8 treatments and 4 replications, using Khao Jow Hawm Khlong Luang 1 variety. Three sprays with $1x10^9$ cfu/ml of bacterial suspension were made at booting, early heading and late heading stages. The result indicated that using the individual antagonistic bacterium and mixed antagonistic bacteria *Bacillus subtilis* showed no significant difference in suppressing the disease.

Keywords : rice seed discoloration disease, antagonistic bacteria, *Bacillus subtilis*, disease control, biological control, Khao Jow Hawm Khlong Luang 1

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าวในสภาพแปลงนาที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ในฤดูนาปรังและนาปี 2547 โดยใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* อันดับ 1-5 ที่ผ่านการคัดเลือกจากเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ทำการทดลองกับข้าวเจ้าพันธุ์หอมคลองหลวง 1 โดยการพ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท อัตราความเข้มข้นของเชื้อที่ 10^9 cfu/ml จำนวน 3 ครั้ง ในระยะข้าวตั้งท้อง ระยะรวงข้าวเริ่มโผล่ออกจากกาบหุ้มรวงได้ 5% และระยะหลังจากที่ต้นข้าวออกรวงทั้งหมดแล้ว ฤดูนาปรัง 2547 พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* 3 ไอโซเลท ให้ผลดีในการควบคุมโรคนี้ โดยมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ (check) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ เชื้อ *B. subtilis* No. 33 ให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* No. 4 และ No. 9 ตามลำดับ ส่วนฤดูนาปี 2547 พบว่า เชื้อ *B. subtilis* 4 ไอโซเลท ให้ผลดีในการควบคุมโรค โดยมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ เชื้อ *B. subtilis* No. 33 ให้ผลในการควบคุมโรคเมล็ดด่างได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่เชื้อ *B. subtilis* No. 9, No. 4 และ No. 29 ตามลำดับ ในฤดูนาปี 2548 ทำการพ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลทแบบเดี่ยวๆ และนำเชื้อแต่ละตัวมาใช้ร่วมกัน ได้แก่ เชื้อ *B. subtilis* No. 4

1) สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว ถ. พหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร กทม. 10900 โทร. 0-2579-3693

Bureau of Rice Research and Development, Rice Department, Phaholyothin rd., Lardyao, Chatuchuck, Bangkok 10900 Tel. 0-2579-3693

Bureau of Rice Research and Development

+ *B. subtilis* No. 9, *B. subtilis* No. 4 + *B. subtilis* No. 33 และ *B. subtilis* No. 9 + *B. subtilis* No. 33 ที่อัตราความเข้มข้นของเชื้อที่ 10^9 cfu/ml และมีการพ่นน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ พ่นเชื้อจำนวน 3 ครั้ง ในระยะต้นข้าวตั้งท้อง ระยะรวงข้าวเริ่มโผล่ออกจากกาบใบธง 5% และเมื่อต้นข้าวออกรวงแล้วทุกต้นตลอดแปลง ทำการพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช propiconazol 25% EC จำนวน 2 ครั้ง ในขณะที่ต้นข้าวตั้งท้องและระยะข้าวออกรวงได้ 5% โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ทดลองบนข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช propiconazol 25% EC มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคต่ำสุด รองลงมาได้แก่ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลทร่วมกันและการใช้เชื้อแบคทีเรียแบบเดี่ยว ซึ่งระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการพ่นด้วยเชื้อ *B. subtilis* 2 ไอโซเลทร่วมกัน หรือพ่น *B. subtilis* แบบเดี่ยวๆ ระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ : โรคเมล็ดด่างของข้าว เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* การควบคุมโรค การควบคุมโรคโดยชีววิธี ข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1

คำนำ

โรคเมล็ดด่างของข้าว (Fig. 1) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา 6 ชนิด คือ *Curvularia lunata* (Wakk.) Boed., *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan, *Cercospora oryzae* I. Miyake, *Sarocladium oryzae* Sawada, *Fusarium semitectum* Berk.& Rav. และ *Trichoconis padwickii* Ganguly เชื้อราดังกล่าวจะเข้าทำลายตั้งแต่ระยะรวงข้าวเริ่มโผล่ออกจากกาบหุ้มรวงจนถึงใกล้ระยะเก็บเกี่ยว โดยพบเมล็ดบนรวงข้าวมีอาการด่าง เมล็ดไม่สะอาด มีรอยแผลเป็นจุดสีน้ำตาล น้ำตาลดำ บางเมล็ดก็มีสีเทาหรือชมพู ซึ่งแตกต่างกันไปทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราที่เข้าทำลาย โรคนี้มักพบทั่วไปในแหล่งที่มีการปลูกข้าวในเขตนาชลประทานของภาคกลาง (พากเพียรและคณะ, 2522) โรคเมล็ดด่างระบาดและทำความเสียหายต่อผลผลิตข้าวอย่างกว้างขวาง นอกจากนี้ ยังพบว่าเมล็ดข้าวเปลือกที่เป็นโรคเมล็ดด่างเมื่อนำไปสีจะได้เมล็ดข้าวสารที่มีคุณภาพต่ำ (พากเพียรและคณะ, 2532) และในปัจจุบันโรคนี้ยังไม่มีพันธุ์ข้าวต้านทาน วิธีที่จะหยุดยั้งการแพร่ระบาดและลดความเสียหายที่เกิดจากโรคนี้ จึงมีความจำเป็นต้องใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชเพื่อช่วยลดความเสียหายได้ระดับหนึ่ง แต่การใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชของเกษตรกรมักพบเสมอว่า เกษตรกรใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่ผิดชนิด ผิดเวลา และผิดวิธี จึงทำให้การใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชดังกล่าวไม่ได้ผล ไม่คุ้มทุน และยังก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้ รวมทั้งเกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม อีกทั้งผลผลิตที่ได้ก็มีสารพิษตกค้าง

ในปัจจุบัน มีการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาใช้ควบคุมโรคพืชที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อราและให้ผลดีในพืชหลายชนิด เช่น โรคกาบใบแห้งของข้าวในนา (Mew *et al.*, 1994; 2003) ดังนั้นในปี พ.ศ. 2546 จึงได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากรวงข้าวในท้องที่ต่างๆ ได้จำนวน 525 isolates นำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างในสภาพห้องปฏิบัติการ และพบเชื้อ 29 isolates ให้ผลดี จากนั้นได้นำไปทดสอบคัดเลือกต่อในสภาพเรือนทดลองพบ 12 isolates ให้ผลดีในการควบคุมโรคเมล็ดด่าง (Fig. 2 และ Fig. 3) และได้คัดเลือก *Bacillus subtilis* ที่ได้ผลดีอันดับที่ 1-5 ไอโซเลท ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคดังกล่าวในสภาพแปลงนาทดลองในปี พ.ศ. 2547 และ 2548 และเมื่อได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคนี้ ก็จะเป็นประโยชน์ที่จะนำไปใช้ในโครงการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน และการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคเมล็ดด่างน่าจะเป็นทางเลือกที่เป็นมิตรต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และเป็นการปกป้องการเกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งเชื่อว่าจะมีการนำไปปฏิบัติอย่างได้ผลและมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น และยังเป็นการช่วยลดการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชอีกทางหนึ่งด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* No. 4, *B. subtilis* No. 9, *B. subtilis* No. 29, *B. subtilis* No. 33

Bureau of Rice Research and Development

และ *B. subtilis* No. 34

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ NA

3. เมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1

4. เครื่องพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช

5. สารป้องกันกำจัดโรคพืช propiconazol 25% EC

วิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แบบเดี่ยว ๆ

ฤดูนาปรัง 2547 และฤดูนาปี 2547 (Fig. 4) นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่ได้ผ่านการทดสอบแล้วว่าให้ผลดีในการควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคเมล็ดด่างของข้าวในสภาพเรือนทดลอง อันดับที่ 1-5 จำนวน 5 ไอโซเลท ไปทดสอบการควบคุมโรคนี้ในสภาพแปลงนาทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดยปลูกข้าวแบบนาหว่านน้ำตม ใช้ข้าวพันธุ์ข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1 อัตราเมล็ดพันธุ์ 15 กิโลกรัมต่อไร่ ขนาดแปลงย่อย 4X4 เมตร จำนวน 24 แปลง แต่ละแปลงย่อยมีระยะห่างกัน 0.5 เมตร ใช้ปุ๋ยแอมโมฟอสสูตร 16-20-0 อัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ หลังหว่านข้าวได้ 2 สัปดาห์ และปุ๋ยยูเรีย 10 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะต้นข้าวเริ่มสร้างรวงอ่อน พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท อัตราความเข้มข้นของเชื้อ 10^9 cfu/ml จำนวน 3 ครั้ง ในระยะข้าวตั้งท้อง ระยะรวงข้าวเริ่มโผล่ออกจากกาบหุ้มรวงได้ 5% และระยะหลังจากต้นข้าวออกรวงทั้งหมดแล้ว ทำการประเมินความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างแต่ละแปลงก่อนการเก็บเกี่ยวหนึ่งสัปดาห์ โดยสุ่มเก็บรวงข้าวจำนวน 100 รวงต่อแปลงย่อย หลังจากนั้นนำไปแยกนับเมล็ดที่ปกติและเป็นโรค เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เมล็ดที่เป็นโรค และวัดผลผลิตของข้าวในแต่ละแปลงที่ความชื้น 14% นำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลทร่วมกัน

ฤดูนาปี 2548 นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No. 4, *B. subtilis* No. 9 และ *B. subtilis* No. 33 ที่ผ่านการคัดเลือกจากแปลงนาทดลองและให้ผลดีในการควบคุมโรคเมล็ดด่างระดับ 1 - 3 โดยนำเอาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าวมาใช้ร่วมกัน ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคนี้ ทำการทดสอบในสภาพแปลงนาทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดยปลูกข้าวพันธุ์ข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1 แบบนาหว่านน้ำตม อัตราเมล็ดพันธุ์ 15 กิโลกรัมต่อไร่ ขนาดแปลงย่อย 4X4 เมตร จำนวน 32 แปลง แต่ละแปลงย่อยมีระยะห่างกัน 0.5 เมตร ใช้ปุ๋ยแอมโมฟอสสูตร 16-20-0 อัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ หลังหว่านข้าวได้ 2 สัปดาห์ และปุ๋ยยูเรีย 10 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะต้นข้าวเริ่มสร้างรวงอ่อน พ่นเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทแบบเดี่ยว ๆ และแบบใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ร่วมกัน อัตราความเข้มข้นของเชื้อที่ 10^9 cfu/ml พ่นเชื้อจำนวน 3 ครั้ง ในระยะข้าวตั้งท้อง ระยะเริ่มโผล่รวงออกจากกาบหุ้มรวงได้ 5 % และหลังจากต้นข้าวออกรวงทุกต้นแล้ว และมีกรรมวิธีเปรียบเทียบ (check) โดยพ่นด้วยน้ำ กรรมวิธีมีดังต่อไปนี้

1. เชื้อ *B. subtilis* No. 4
2. เชื้อ *B. subtilis* No. 9
3. เชื้อ *B. subtilis* No. 33
4. เชื้อ *B. subtilis* No. 4 + *B. subtilis* No. 9
5. เชื้อ *B. subtilis* No. 4 + *B. subtilis* No. 33
6. เชื้อ *B. subtilis* No. 9 + *B. subtilis* No. 33
7. พ่นสาร propiconazol 25 % E.C
8. พ่นด้วยน้ำ (check)

ส่วนกรรมวิธีที่พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช ใช้สารในอัตราแนะนำ จำนวน 2 ครั้ง ในขณะที่ต้นข้าวตั้งท้องใกล้ออกรวงและระยะต้นข้าวออกรวงได้ 5% ทำการประเมินความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างแต่ละแปลงก่อนการเก็บเกี่ยวหนึ่งสัปดาห์ โดยสุ่มเก็บรวงข้าวจำนวน 100 รวงต่อแปลงย่อย หลังจากนั้นนำไปแยกนับเมล็ดที่ปกติและเป็นโรค เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เมล็ดที่เป็นโรคต่อรวง ตลอดจนทำการวัดผลผลิตของข้าวในแต่ละแปลงย่อยที่ระดับความชื้น 14 % นำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แบบเดี่ยว ๆ

Bureau of Rice Research and Development

ฤดูนาปรัง 2547 พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จำนวน 3 ไอโซเลท ที่ให้ผลดีในการควบคุมโรคนี้ โดยมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No. 33 ให้ผลในการควบคุมโรคเมล็ดด่างได้ดีที่สุด ซึ่งมีความรุนแรงของโรค 31.68% รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* No. 4 และ No. 9 ซึ่งมีความรุนแรงโรค 34.75 และ 36.40% ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No. 29 และ No. 34 มีความรุนแรงของโรค 42.06 และ 45.15% ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีเปรียบเทียบที่มีความรุนแรงของโรคถึง 57.84% ส่วนน้ำหนักผลผลิตของข้าวทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ไอโซเลทต่างๆ และกรรมวิธีเปรียบเทียบ มีน้ำหนักผลผลิตระหว่าง 670 - 732 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 1)

ฤดูนาปี 2547 พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จำนวน 4 ไอโซเลท ที่ให้ผลดีในการควบคุมโรคนี้ โดยมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No. 33 ให้ผลในการควบคุมโรคเมล็ดด่างได้ดีที่สุด มีความรุนแรงของโรค 11.17 % รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* No. 9, No. 4 และ No. 29 ความรุนแรงโรค 12.92, 13.10 และ 13.25% ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No. 34 มีความรุนแรงของโรค 19.45 % ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีเปรียบเทียบที่มีความรุนแรงของโรคถึง 25.37% ส่วนน้ำหนักผลผลิตของข้าวทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* ไอโซเลทต่างๆ และกรรมวิธีเปรียบเทียบ มีน้ำหนักผลผลิตระหว่าง 662 - 687 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 1)

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลทร่วมกัน

ฤดูนาปี 2548 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช propiconazol 25% EC มีระดับความรุนแรงของโรคต่ำสุดคือ 21.83% รองลงมาได้แก่ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลทร่วมกันและการใช้เชื้อแบคมีเรียแบบเดี่ยว ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญสถิติ การพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลทร่วมกัน ได้แก่ *B. subtilis* No. 4 + No. 9, *B. subtilis* No. 4 + No. 33, *B. subtilis* No. 9 + No. 33 และการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แบบเดี่ยวได้แก่ *B. subtilis* No. 33, No. 9 และ No. 4 มีระดับความรุนแรงของโรคระหว่าง 33.39 - 36.39% ซึ่งกรรมวิธีเปรียบเทียบมีระดับความรุนแรงของโรค 47.97% นอกจากนั้น ยังพบว่าการพ่นด้วยเซลล์แขวน

Table 1 Comparison of rice grain discoloration disease severity and grain yield on Khao Dok Mali Hawm Khlong Luang 1 in different isolates of antagonistic bacteria *B. subtilis* in field trial, Pathum Thani Rice Research Center, dry season and wet season, 2004

Treatment	Disease severity (%)		Grain yield (kg/rai)	
	Dry season	Wet season	Dry season	Wet season
B. subtilis No. 4	34.75 a	13.10 a	732 a	666 a
B. subtilis No. 9	36.40 a	12.92 a	717 a	665 a
B. subtilis No. 2	42.05 ab	13.25 a	690 a	672 a
B. subtilis No. 33	31.65 a	11.17 a	672 a	687 a
B. subtilis No. 34	45.15 ab	19.45 ab	707 a	663 a
Check	57.84 b	25.37 b	670 a	662 a
CV (%)	25.80	19.10	7.50	4.40

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

Bureau of Rice Research and Development

Fig. 1 Rice seed discoloration disease symptoms

Fig. 2 Preparation of antagonistic bacteria, *Bacillus subtilis* suspension

Bureau of Rice Research and Development

Fig. 3 Greenhouse trial of the antagonistic bacteria, *Bacillus subtilis* in control of rice seed discoloration disease

Fig. 4 Field trial of the antagonistic bacteria, *Bacillus subtilis* in control of rice seed discoloration disease

Bureau of Rice Research and Development

Table 2 Comparison of rice grain discoloration disease severity and grain yield on Khao Jow Hawm Khlong Luang 1 in different isolates and combination of antagonistic bacteria *B. subtilis* in field trial, Pathum Thani Rice Research Center, wet season, 2005

Treatment	Disease severity (%)	Grain yield (kg/rai)
B. subtilis No. 4	36.39 b	456 a
B. subtilis No. 9	35.00 b	543 a
B. subtilis No. 33	34.83 b	544 a
B. subtilis No. 4 + *B. subtilis* No. 9	33.36 b	531 a
B. subtilis No. 4 + *B. subtilis* No. 33	33.61 b	521 a
B. subtilis No. 9 + *B. subtilis* No. 33	35.35 b	464 a
Propiconazol 25 %EC	24.83 a	527 a
Check	47.97 c	524 a
CV (%)	12.30	15.40

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

ลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แบบเดี่ยวๆ หรือใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลทร่วมกัน ความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และทุกกรรมวิธีทดลองนี้ได้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีผลผลิตระหว่าง 456 - 544 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 2)

ผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่า การนำเชื้อ *B. subtilis* ไอโซเลทต่างกันมาใช้ร่วมกันไม่มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดด่าง ต่างจากงานวิจัยของพากเพียรและคณะ (2542) ที่พบว่าการนำเอาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* No. 90-562 และ *Pseudomonas* sp. No. 90-321 มาใช้ร่วมกัน เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวในสภาพแปลงนาทดลอง เมื่อเทียบกับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แบบเดี่ยวๆ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีสกุล (Genus) ต่างกัน ช่วยเสริมประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีกว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เป็นสกุลเดียวกัน

สรุปผลการทดลอง

การพ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No. 4, No. 9 และ No. 33 จำนวน 3 ครั้ง ในระยะข้าวตั้งท้องใกล้ออกรวง ระยะข้าวออกรวงได้ 5% และระยะข้าวออกรวงหมดแล้ว สามารถควบคุมโรคนี้ให้มีระดับความรุนแรงต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทั้ง 2 ฤดูการทดลอง และการพ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No. 4, No. 9 และ No. 33 แบบเดี่ยวๆ หรือใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลทร่วมกัน ในฤดูนาปี 2548 สามารถควบคุมโรคเมล็ดด่างให้มีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การควบคุมความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างโดยการพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทแบบเดี่ยวๆ และการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลทร่วมกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ดังนั้น การนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* No. 4, No. 9 และ No. 33 ไปควบคุมโรคดังกล่าว สามารถเลือกใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทใดไอโซเลทหนึ่งไปใช้ควบคุมโรคเมล็ดด่างของข้าวได้ โดยไม่จำเป็นต้องนำเอาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทมาใช้ร่วมกัน และควรนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าวไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์สำเร็จรูป เพื่อเป็นการสะดวกเมื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงนา และแนะนำต่อเกษตรกรต่อไป

Bureau of Rice Research and Development

เอกสารอ้างอิง

พากเพียร อรัญนารถ และนงรัตน์ นิลพานิชย์. 2542. การควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเบนโนมิล. หน้า 1-10. *ใน* : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2542. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

พากเพียร อรัญนารถ, อรุณี สุรินทร์, วิชิต ศิริสันธนะ, นพพร นภีรงค์ และกัญจนา พุทธสมัย. 2522. การศึกษาโรคเมล็ดด่างของข้าว. หน้า 309-310. *ใน* : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2522. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

พากเพียร อรัญนารถ, อรุณี สุรินทร์, วันชัย โรจนหัสดิน, สมคิด ดิสถาพร, พยนต์ ขาวสะอาด และเกษม สุนทราจารย์. 2532. ผลผลิตของข้าวที่ลดลงเนื่องจากโรคเมล็ดด่าง. หน้า 87-91. *ใน* : รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

Mew,T.W., A.M. Rosales and G.V. Maningas. 1994. Biological control of Rhizoctonia Sheath Blight and Blast of Rice. pp.9-13. *In* : M.H. Ryder, P.M. Stephens and G.D. Bowen (eds.). Improving Plant Productivity with Rhizosphere Bacteria. Graphic Services, Adelaide, Australia.

Mew,T.W., B. Cottyn, R. Pamplon, H. Barrios, Z. Chen, F. Lu, N. Nilpanit, P. Arunyanart, P. Van Kim and P. Van Du. 2003. Applying rice seed associated antagonistic bacteria to manage rice sheath blight in developing countries. Plant Dis. 88 : 557-564.

Bureau of Rice Research and Development

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ทนเค็มและมีคุณภาพการหุงต้มดี

Breeding Rice for Salt Tolerance and Good Cooking Quality

ดวงใจ สุริยาอรุณโรจน์[1)] อภิชาติ วรรณวิจิตร[2)] สมวงศ์ ตระกูลรุ่ง[2)] ธีรยุทธ์ ตู้จินดา[2)]

Duangjai Suriyaarunroj[1)] Apichart Vanavichit[2)] Somvong Tragoonrung[2)] Theerayut Toojinda[2)]

Abstract

Breeding for salt tolerant rice has been done for a decade. However, most of salt tolerant lines which have been released carry inferior cooking qualities compared to KDML105, an aroma good cooking quality rice of Thailand. To develop salt tolerant and good cooking quality rice, molecular marker assisted selection in backcross breeding program was initiated in 2001. Two RILs, FL496 and FL530 selected from mapping population of IR29 x Pokkali were used as salt tolerant donors. KDML105 as recipient was cross pollinated with these 2 donors to develop F_1 and cross back to KDML105 to develop BC_1F_1. Three markers ; RM140, B1.1-1 and B1.1-11 flanking salt tolerant QTLs spanning 33 cM and two markers; RM00 and 10L03FW for amylose content and aroma scent were used for selection to produce BC_2. Then BC_2F_1 and BC_2F_3 progenies were randomly selected and subjected to genome scan. Percentage of recipient genome recovery for BC_2F_1 ranged from 67.2-92.3% and for BC_2F_3 from 72.45-95.92%. The cooking quality of progenies were considerably similar to KDML105. Agronomic characters of progenies were observed and showed that 81 of 90 lines tested had higher seeds/panicle while 47 lines had higher 1000 grain weight and 74 lines had higher grain yield compared to KDML105. These results indicated that marker assisted backcross breeding technique is useful for selection of lines with acceptable traits while maintaining superior cooking quality.

Keywords: salt tolerant rice, molecular markers, cooking quality, yield

บทคัดย่อ

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ทนต่อสภาพดินเค็มในประเทศไทยได้มีการดำเนินการมานับสิบ ๆ ปี พันธุ์ที่ได้ถึงแม้จะมีความทนเค็มในระดับสูง แต่มักมีคุณภาพเมล็ดและการหุงต้มไม่ดี ในปี พ.ศ. 2544 จึงมีการริเริ่มปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่มีคุณภาพเมล็ดดี มีความหอม ให้ทนเค็ม โดยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพ หรือโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายช่วยในการติดตาม เพื่อให้เกิดความแม่นยำในการคัดเลือกมากยิ่งขึ้น ดำเนินการผสมพันธุ์แบบการผสมกลับ (backcross) มีสายพันธุ์แท้ที่มีลักษณะความทนเค็มจากพันธุกรรมของพันธุ์พอคคาลี่ (Pokkali) ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่าง IR29 และ Pokkali จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ FL496 และ FL530 เป็นพันธุ์ถ่ายทอดลักษณะความทนเค็ม และใช้พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์รับลักษณะความทนเค็ม เมื่อได้ลูกผสมชั่วที่ 1 ของคู่ผสมระหว่าง ขาวดอกมะลิ 105 x FL496 และ ขาวดอกมะลิ 105 x FL530 จึงผสมกลับไปยังขาวดอกมะลิ 105 ได้ลูกผสมกลับครั้งที่ 1 ชั่วที่ 1 (BC_1F_1) ใช้โมเลกุลเครื่องหมายช่วยในการคัดเลือก BC_1F_1 ในการผสมกลับครั้งที่ 2

1) ศูนย์วิจัยข้าวชุมแพ เลขที่ 95 ถนนมลิวรรณ ต. ไชยสอ อ. ชุมแพ จ. ขอนแก่น 40130 โทรศัพท์ 089-8448031

Chum Phae Rice Research Center, 95 Maliwan road, Amphoe Chum Phae, Changwat Khon Kaen 40130, Tel. 089-8448031

2) หน่วยค้นคว้าและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนยีชีวภาพทางการเกษตร สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

Rice Gene Discovery Unit, Agricultural Genetic Engineering and Biotechnology Center, Research and Development Institute, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140, Thailand

Bureau of Rice Research and Development

โมเลกุลเครื่องหมายที่ใช้ในการติดตามลักษณะความทนเค็ม ได้แก่ RM140, B1.1-1 และ B1.1-11 ซึ่งครอบคลุมตำแหน่งที่ควบคุมลักษณะทนเค็มบนโครโมโซม 1 เป็นระยะ 33 เซนติมอแกน (cM) และใช้โมเลกุลเครื่องหมาย RM00 และ 10L03FW สำหรับติดตามลักษณะความนุ่มและความหอม เมื่อได้ลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 2 (BC_2F_2) และลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 3 (BC_2F_3) นำไปตรวจสอบการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมจากพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่าลูกผสม BC_2F_1 มีพันธุกรรมของขาวดอกมะลิ 105 67.2-92.3% และ BC_2F_3 มีพันธุกรรมของขาวดอกมะลิ 105 72.45-95.92% มีคุณภาพการหุงต้มเหมือนขาวดอกมะลิ 105 ส่วนลักษณะทางการเกษตรพบว่า 81 จาก 90 สายพันธุ์มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากกว่า 47 สายพันธุ์มีน้ำหนัก 1000 เมล็ดมากกว่า และ 74 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงกว่าขาวดอกมะลิ 105 แสดงว่าวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพสามารถช่วยในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวทนเค็มให้มีลักษณะการหุงต้มที่ดีขึ้นได้

คำสำคัญ : ข้าวทนเค็ม โมเลกุลเครื่องหมาย คุณภาพการหุงต้ม ผลผลิต

คำนำ

ข้าวเป็นพืชที่มีการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมที่กว้างมาก จึงสามารถปลูกได้ในหลากหลายสิ่งแวดล้อม จากพื้นที่ที่มีน้ำมากจนถึงไม่มีน้ำขัง ปลูกได้ทั้งในดินเหนียวจัดและดินทราย อีกทั้งยังสามารถขึ้นได้ในสภาพแวดล้อมที่มีปัญหา เช่น ดินเปรี้ยว(กรด) และดินเค็ม เป็นต้น ถึงแม้จะมีพันธุ์ข้าวที่ปลูกติดต่อกันมาระยะหนึ่ง พันธุ์ข้าวเหล่านั้นมักเป็นพันธุ์ข้าวพื้นเมือง ให้ผลผลิตต่ำต้นสูง มีคุณภาพเมล็ดไม่ดี ดังนั้น เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการทำนาของเกษตรกรในพื้นที่ที่มีปัญหาด้านสภาพแวดล้อม การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ทนทานต่อสภาพปัญหาหนึ่งๆ ในพื้นที่นั้นๆ จะเป็นวิธีการที่ใช้ทุนน้อยที่สุดและได้ผลดี

ปัญหาดินเค็มที่มีต่อการปลูกข้าวมี 2 ประเภท คือ ดินเค็มชายฝั่งทะเล เป็นดินที่ได้รับผลกระทบโดยตรงจากน้ำทะเล พบบริเวณพื้นที่ไม่ไกลจากชายฝั่งทะเล และดินเค็มในทวีป เป็นดินเก่าที่มีการสะสมของเกลือ จากดินเกลือหรือหินเกลือใต้พื้นดิน ในระดับตื้นบ้าง ลึกบ้าง เมื่อดินเกิดความแห้งแล้ง น้ำใต้ดินจะนำพาอนุภาคของเกลือขึ้นสู่ผิวดิน มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งถ้าดินมีความเค็มในระดับสูง ต้นข้าวจะตายเป็นหย่อม ๆ ตามระดับความเค็มที่เกิดขึ้น

ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวมานานกว่า 50 ปี (Kapp, 1974; Pearson, 1959) และมีความพยายามที่จะปรับปรุงให้ข้าวทนดินเค็ม จนกระทั่งในช่วงปี พ.ศ. 2513 (Akbar *et al.,* 1972) ก็ยังไม่สามารถหาพันธุ์ข้าวทนเค็ม ที่มีคุณภาพการหุงต้มดีได้ ทั้งนี้พบว่าคุณภาพการหุงต้มนั้นคัดเลือกได้ยากในการคัดเลือกในชั่วต้น ๆ (Yeo *et al.*, 1988) และพบว่าเป็นลักษณะที่ควบคุมโดยยีนด้อยคู่เดียว (Buttery *et al.*, 1983; Lorieux *et al.*, 1996) จากการผสมพันธุ์ระหว่าง IR29/Pokkali เป็นประชากรที่รับการถ่ายทอดลักษณะทนเค็ม พบว่า ลักษณะดังกล่าวควบคุมโดยยีน (salt tolerant QTLs) บนโครโมโซม 1, 3, 4, 10 และ 12 ซึ่งเกี่ยวข้องอย่างใกล้ชิดกับ ความเข้มข้นของโซเดียม (Na^+ concentration) การดูดซับโซเดียม (Na absorption) และอัตราส่วนของโซเดียมต่อโพแทสเซียม (Na^+/K^+ absorption ratio) อย่างไรก็ตาม นักวิจัยได้ศึกษาลักษณะการถ่ายทอดความทนดินเค็มในข้าว พบว่า ยีนหลักอยู่บนโครโมโซม 1 (Gregorio *et al.*, 1997) ส่วนยีนที่ควบคุมลักษณะคุณภาพการหุงต้ม และความหอม จะอยู่บนโครโมโซม 8 (Ahn *et al.*, 1992; Garland *et al.*, 2002) สำหรับปริมาณอมิโลสถูกควบคุมโดยยีนบนโครโมโซม 3, 4, 6 และ 7 (Lanceras *et al.*, 2000) อนึ่ง การคัดเลือกทางพันธุกรรมนี้เป็นการคัดเลือกจากส่วนของโครโมโซมที่มียีนที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการ (QTLs) (Babu *et al.*, 2004; Stuber, 1995)

จากองค์ความรู้ด้านเทคโนโลยีชีวภาพที่ได้เผยแพร่มาแล้วเหล่านี้ สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้มีความทนเค็มโดยที่ยังคงมีคุณสมบัติเหมือนเดิม คือมีคุณภาพการหุงต้มดีและมีความหอม ในการผสมพันธุ์แบบผสมกลับ สามารถใช้ถ่ายทอดพันธุกรรม (Allard, 1960) ความทนเค็มให้พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และใช้โมเลกุลเครื่องหมายเป็นเครื่องมือประกอบการคัดเลือก (Hospital *et al.*, 1992) ซึ่งคาดว่าจะประสบความสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้คือ 1)

Bureau of Rice Research and Development

เพื่อให้ได้สายพันธุ์ข้าวทนดินเค็ม 2) สามารถพัฒนาพันธุ์ข้าวทนดินเค็มที่ให้เมล็ดที่มีคุณภาพการหุงต้มดี มีความหอม โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายช่วยในการคัดเลือก และการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมพันธุ์แบบผสมกลับ

.

อุปกรณ์และวิธีการ

1. พันธุ์และสายพันธุ์ข้าว

สายพันธุ์แท้ 16 สายพันธุ์ ที่ได้จากการคัดเลือกที่มีระดับความทนเค็มดี ประกอบด้วยสายพันธุ์ จากคู่ผสม IR29/Pokkali ได้แก่ IR66946-3R-58-1-1(FL358), IR66946-3R-67-1-1(FL367), IR66946-3R-111-1-1(FL411), IR66946-3R-116-1-1(FL116), IR66946-3R-134-1-1(FL434), IR66946-3R-143-1-1(FL443), IR66946-3R-178-1-1(FL478), IR66946-3R-196-1-1(FL496), IR66946-3R-223-1-1(FL523), IR66946-3R-230-1-1(FL530), IR66946-3R-263-1-1(FL563) พันธุ์พื้นเมือง ได้แก่ ขาวหมากแขก แดงดอกกก กข6 ขาวดอกมะลิ 105 และ Pokkali

2. การคัดพันธุ์ทนดินเค็ม (การคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่)

การคัดพันธุ์ในระยะกล้า (Gregorio *et al*., 1997) ได้ใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนเค็มในงานวิจัยนี้ โดยเริ่มจากการฆ่าเชื้อที่ติดมากับเมล็ดข้าวด้วย คลอรอกซ์ 10% (โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 5.25% น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น นำเมล็ดเพาะในจานเพาะเมล็ด เป็นเวลา 5-7 วัน ที่อุณหภูมิ 35-38 °ซ. (อุณหภูมิห้อง) เมื่อครบกำหนดเลือกกล้าข้าวที่สมบูรณ์ 10 ต้น จากแต่ละสายพันธุ์ปลูกบนแผ่นโฟมที่มีรูกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ซม. และด้านล่างแผ่นโฟมมีตาข่ายไนล่อนรองเพื่อเป็นที่ยึดของเมล็ด วางแผ่นโฟมลงในภาชนะที่บรรจุสารละลายสูตร Yoshida และคณะ (1976) (Fig. 1) หลังจากนั้น 14 วัน จึงปรับระดับความเค็มของสารละลายเป็น (EC) 4 dSm^{-1} โดยเติมเกลือแกง (NaCl) และอีก 2 วันค่อยปรับเป็นระดับ 6 dSm^{-1} มีการตรวจสอบและปรับระดับความเป็นกรดด่างทุกวัน (โดยใช้ 1N NaOH หรือ HCl) ให้สารละลายมีระดับความเป็นกรดด่างที่ 5.5 เปลี่ยนสารละลายใหม่ทุก ๆ สัปดาห์ เมื่อครบ 16 วัน จึงให้คะแนนความทนเค็มของต้นข้าว ตามมาตรฐานของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (Standard Evaluation System for Rice, SES) (IRRI,1996) ดังแสดงใน Table 1 และ Fig. 2

จากนั้นนำต้นข้าวตัวอย่างจากการทดลองไปวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณโซเดียม (Na^+) และโพแทสเซียม (K^+) โดยนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 °ซ. เป็นเวลา 3 วัน จึงนำไปบดให้ละเอียด แล้วชั่งตัวอย่างจำนวน 0.3 กรัม นำไปสกัดด้วย 1N HCl ปริมาตร 25 มิลลิลิตร สารละลายที่สกัดได้นำไปวัดปริมาณโซเดียม และโพแทสเซียม โดยใช้เครื่องมือ spectrophotometer

3. การหาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (relative water content, RWC)

ตัดใบข้าวยาว 1 ซม. (ตรงส่วน 1/3 ของความยาวใบ จากปลายใบ) นำชิ้นส่วนของใบข้าว 2 ชิ้นไปชั่งน้ำหนักสด (FW) แล้วนำไปแช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 25 °ซ. เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักอีกครั้งเพื่อหาน้ำหนักเต่ง (TW) สุดท้ายนำไปอบที่ 80 °ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อหาน้ำหนักแห้ง (DW) แล้วคำนวณหาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ใน

Table 1 Standard evaluation system for rice (SES) of visual salt injury (IRRI, 1996)

Score	Observation	Tolerant level
1	Normal growth	Highly tolerant
3	Nearly normal growth ; leaf tips or few leaves whitish and rolled	Tolerant
5	Growth severely retarded ; most leaves rolled; only a few are elongating	Moderately tolerant
7	Complete cessation of growth ; most leaves dry ; some plants dying	Susceptible
9	Almost all plant dead or dying	Highly susceptible

Bureau of Rice Research and Development

ใบจากสูตร (Barr and Wetherley, 1962) ดังนี้

$$\%RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$

4. การพัฒนาลูกผสมจากการผสมกลับให้ได้ลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 3

จากการคัดพันธุ์ข้าวทนเค็ม 16 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ระดับความเค็ม 6 dS m^{-1} สามารถคัดพันธุ์แท้ได้ 2 สายพันธุ์ที่จะใช้เป็นพันธุ์ถ่ายทอดลักษณะความทนเค็ม คือ FL496 และ FL530 และใช้พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์รับลักษณะความทนเค็ม วางแผนให้ต้นข้าวแต่ละพันธุ์ออกดอกพร้อมกัน โดยใช้เทคนิคการควบคุมปริมาณแสงบังคับการออกดอก (short day treatment) ให้กล้าข้าวได้รับอิทธิพลแบบวันสั้น เริ่มเมื่อกล้าข้าวอายุ 15 วัน คลุมผ้าดำจากเวลา 16.30 น. ถึง 7.30 น. ของวันรุ่งขึ้น เป็นเวลา 25 วัน ข้าวเริ่มออกดอกจึงทำการผสมพันธุ์ การผสมกลับก็ดำเนินการเช่นเดียวกัน ดังแสดงใน Fig. 3

5. การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีพันธุกรรมทนเค็มโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย (marker-assisted selection, MAS)

จากการคัดเลือกสายพันธุ์แท้ 2 สายพันธุ์ คือ FL496 และ FL530 จากคู่ผสม IR29/Pokkali ที่มีระดับความทนเค็มสูง โดยการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมความทนเค็มจากพันธุ์ Pokkali และจากการวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพบว่า ทั้ง 2 สายพันธุ์ มีปริมาณอมิโลสสูงความคงตัวของแป้งสุกสูง อุณหภูมิแป้งสุกต่ำ และไม่หอม ดำเนินการผสมพันธุ์ข้าวสายพันธุ์แท้ 2 สายพันธุ์กับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 แล้วทำการผสมกลับกับขาวดอกมะลิ 105 จนได้ลูกผสมกลับครั้งที่ 1 ชั่วที่ 1 (BC_1F_1) ผสมกลับอีกครั้ง โดยใช้ 3 โมเลกุลเครื่องหมาย ได้แก่ RM140, B1.1-1 และ B1.1-11 ที่อยู่ในช่วงโครโมโซมบนตำแหน่งที่ควบคุมลักษณะความทนเค็ม (Fig. 4) ซึ่งมีความยาวครอบคลุมชิ้นส่วนของโครโมโซมในระยะ 33 cM เพื่อเลือกต้นที่มีพันธุกรรมทนเค็ม และอีก 2 โมเลกุลเครื่องหมาย คือ RM00 และ 10L03FW ช่วยในการคัดเลือกพันธุกรรมของลักษณะด้านปริมาณอมิโลสและความหอม (Fig. 5 และ Table 2) จนได้ลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 1 (BC_2F_1) จึงทำการตรวจสอบพันธุกรรมที่มีลักษณะของขาวดอกมะลิ 105 แล้วคัดเลือกได้ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์เบอร์ 62, 221, 248, 1094, 1159 และ 1277 ที่มีลักษณะพันธุกรรมของขาวดอกมะลิ 105 มากกว่า 80% แล้วทำการปลูกต่อให้ผสมตัวเองจนได้ประชากรของลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 2 (BC_2F_2) จำนวน 600 สายพันธุ์ ปลูกให้ผสมตัวเองต่อจนได้ลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 3 (BC_2F_3) (Fig. 6) ทั้งนี้ในทุก ๆ ชั่วของการผสมพันธุ์ จะมีการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีพันธุกรรมของลักษณะทนความเค็ม (salt tolerant QTLs) และคุณภาพโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายที่กล่าวข้างต้น

. นำลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 3 (BC_2F_3) ที่มีลักษณะทางการเกษตรดี เช่น มีความสูงเหมาะสม วันออกดอกใกล้เคียงขาวดอกมะลิ 105 เมล็ดเรียวยาว ผลผลิตสูง เป็นต้น ซึ่งคัดเลือกได้จากคู่ผสม KDML105/ FL496 จำนวน 36 สายพันธุ์ และ KDML105/FL530 จำนวน 54 สายพันธุ์ นำไปประเมินลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ ความทนเค็มในสารละลายที่ระดับความเค็ม 12 dS m^{-1} โดยใช้ข้อมูล Na^+/K^+ ratio จำนวนวันที่ต้นกล้าอยู่รอดได้ในสารละลายที่มีความเค็ม (survival days of seedling, SDS) และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบข้าว (RWC) เป็นเกณฑ์ในการประเมิน และประเมินคุณภาพการหุงต้ม (Juliano and Perdon, 1975; Juliano and Pascual, 1980) ประกอบด้วย ปริมาณอมิโลส ความหอม ความคงตัวของแป้งสุก (GC) และอุณหภูมิแป้งสุก (GT) รวมทั้งการประเมินลักษณะทางพันธุกรรมด้วย โดยเปรียบเทียบกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

6. การประเมินความทนเค็มในสารละลายธาตุอาหาร

ประเมินความทนเค็มของสายพันธุ์ข้าวที่ได้ในสารละลายธาตุอาหารที่มีระดับความเค็มสูง (12 dS m^{-1} equivalent to 130 mM NaCl) นำลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 3 (BC_2F_3) จำนวน 90 สายพันธุ์ ไปประเมินความทนเค็มเปรียบเทียบกับพันธุ์ พ่อแม่ FL496, FL530 และ KDML105 ดังวิธีการเดียวกับที่ได้กล่าวมาแล้วใน (2) แต่ปรับระดับความเค็มครั้งแรกเป็น 8 dS m^{-1} และครั้งที่ 2 เป็น 12 dS m^{-1} การปรับระดับความเค็ม 2 ครั้งมีความจำเป็นมาก เพราะเป็นการป้องกันต้นกล้าข้าวเปลี่ยนระดับความเค็มอย่างทันที ซึ่งกล้าข้าวปรับตัวไม่ทันอาจตายได้ บันทึกข้อมูล คะแนนความทนเค็ม ปริมาณ Na^+

Bureau of Rice Research and Development

Fig. 1 Ten days after sowing in nutrient solution, rice plants were adopted to new source of nutrient

Fig. 2 Rice plants under severe stress (21 days after salinization)

Bureau of Rice Research and Development

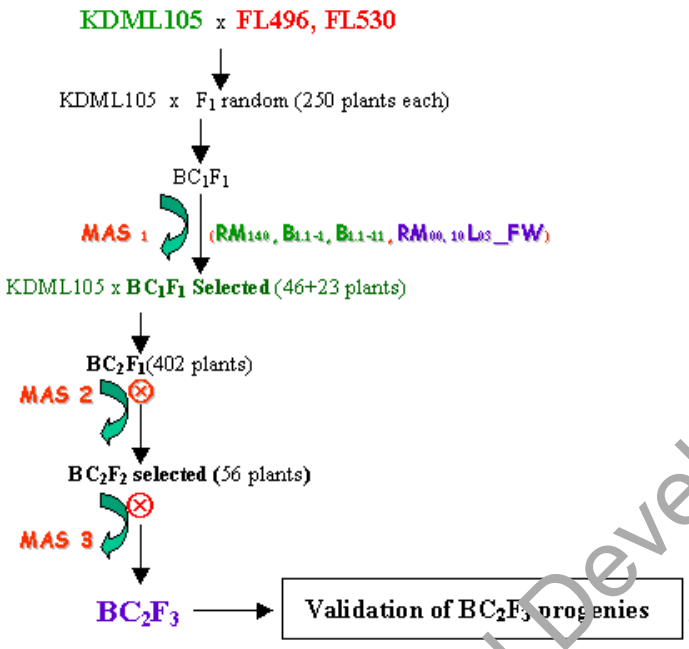


Fig. 3 Pathway for BC_2F_3 of KDML105/FL496 and KDML105/FL530 population

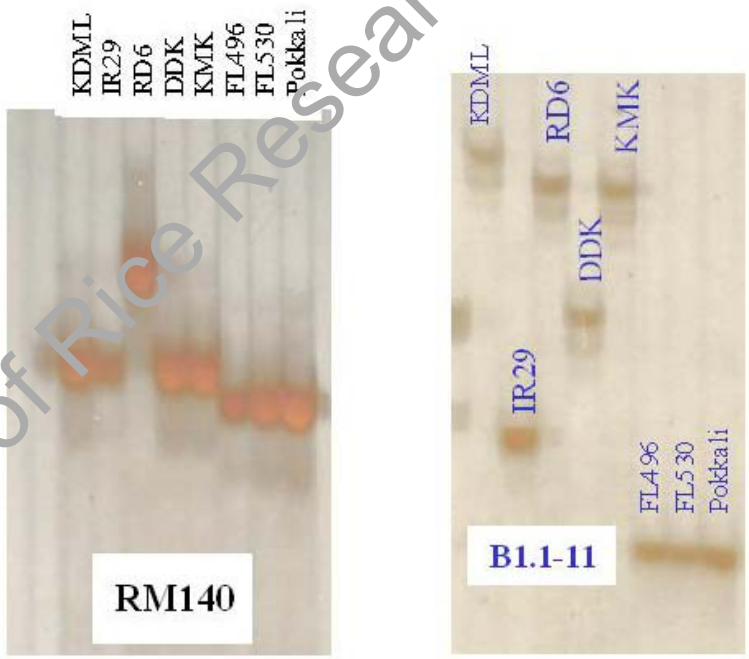


Fig. 4 Band pattern of parents using SSR markers : RM140 B1.1-11

Bureau of Rice Research and Development

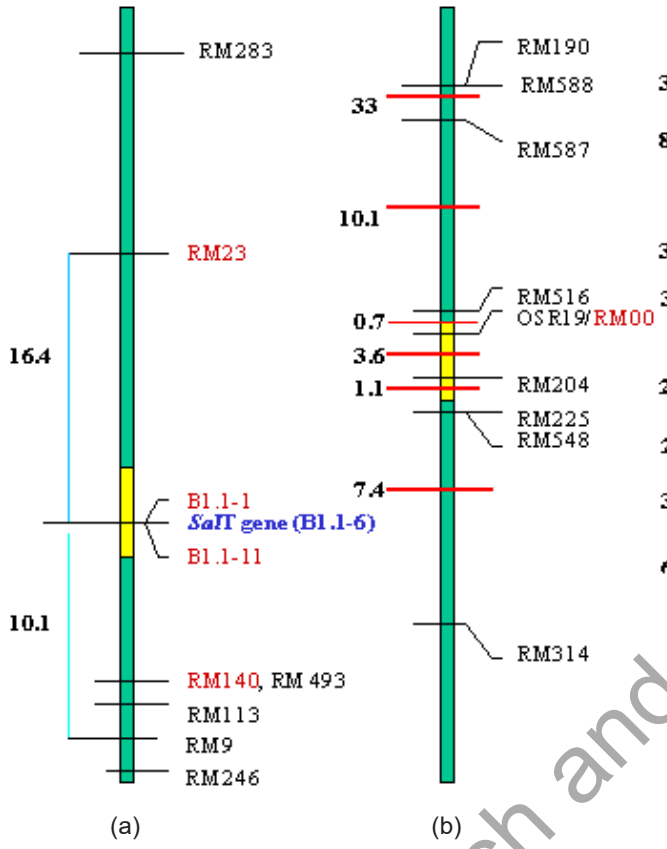


Fig. 5 (a) Map of marker flanking SalT gene region located on chromosome 1 (b) Map of marker flanking waxy gene region located on chromosome 6 (c) Map of marker flanking aroma gene region located on chromosome 8

Table 2 Characteristics of the 5 DNA markers flanking the QTLs of interested traits

Primers	Repeat sequence	Source
RM140	Fw: TGCCTCTTCCCTGGCTCCCCTG	Cornell University
	Rw: GGCATGCCGAATGAAATGCATG	
B1.1-1	Fw: TTGAGATGAAGACGGGGAGT	
	Rw: AATGGAAGGGGAAGAAGAGG	Rice Gene Discovery Unit
B1.1-11	Fw: TTTGGGGGAGATCACTAGAGG	
	Rw: TTTTTGGTGCTGGTCCAATC	
RM00	Fw: CTTTGTCTATCTCAAGACAC	Cornell University
	Rw: TTGCAGATGTTCTTCCTGATG	
10L03_FW	Fw: TGTAACTAAGCACAACGCAAGG	
	Rw: TCACTCTAATTGGCCTGGTGGTTTT	Rice Gene Discovery Unit
E03_92.0	Fw: GCCATGGCTAAGCTAGGATTC	
	Rw: ATCCGCGTACTCTCTCCTCA	

Bureau of Rice Research and Development

Fig. 6 Evaluation and selection of BC_2F_3 lines

และ K^+ (Asch *et al*., 2000; Zhu *et al*., 2001) ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ และจำนวนวันที่ต้นกล้าอยู่รอดในสารละลายที่มีความเค็ม ขณะเดียวกันบันทึกอุณหภูมิเรือนทดลองทั้งกลางวันและกลางคืนตลอดการทดลองไว้ เพื่อใช้ในการร่วมพิจารณาในกรณีที่มีผลการทดลองบางอย่างไม่แน่นอนหรือไม่ชัดเจน

7. การประเมินคุณภาพการหุงต้ม

7.1 ปริมาณอมิโลส (AC)

ชั่งแป้งข้าวจากสายพันธุ์ที่ทดสอบ 0.1000 กรัม เติมเอทธานอล 95% จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลาย แล้วเติมสารละลาย 1N NaOH 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ต้มส่วนผสมที่ได้ในน้ำเดือด 10 นาที เพื่อให้แป้งสุก ต่อจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นจึงเทส่วนผสมใส่ในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร ดูดสารละลายน้ำแป้ง 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดขนาด 100 มิลลิลิตรอันใหม่ แล้วเติมสารละลายไอโอดีน (0.2% I2, 2% KI) 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปวัดปริมาณอมิโลสโดยใช้ spectrophotometer ปรับ solution absorbance ที่ 620 nm (A_{620}) เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐาน (Juliano and Pascual, 1980) กำหนดค่าปริมาณอมิโลสดังนี้คือ ปริมาณอมิโลส 10-20% เป็นระดับอมิโลสต่ำ 20-25% เป็นระดับอมิโลสปานกลาง และ 25-30% เป็นระดับอมิโลสสูง

7.2 อุณหภูมิแป้งสุก (GT)

นำเมล็ดข้าวสาร 10 เมล็ด แช่ในสารละลาย KOH 1.7% ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 23 ชั่วโมง ประเมินการกระจายตัวของแป้งโดยใช้ seven-point semi-quantitative rating scale ให้คะแนนดังนี้

1 - เมล็ดคงเดิมไม่ได้รับผลใดๆ
2 - เมล็ดพองตัวเล็กน้อย
3 - เมล็ดพองตัว และแป้งกระจายเล็กน้อยไม่รอบเมล็ด
4 - เมล็ดพองตัว แป้งกระจายรอบเมล็ดและกว้างขึ้น
5 - เมล็ดแตกแป้งกระจายรอบเมล็ดมากขึ้น
6 - เมล็ดแตกและกระจายรวมกับแป้งโดยรอบ
7 - เมล็ดแตกกระจายเป็นแป้งใสหมด ไม่เหลือส่วนที่เป็นเมล็ดขุ่น

การกระจายของแป้งในด่างนี้ จัดระดับอุณหภูมิแป้งสุกได้เป็น ที่คะแนน 1-3 มีอุณหภูมิแป้งสุกสูง 74.5-79 °ซ. คะแนน 4-5 มีอุณหภูมิแป้งสุกปานกลาง 70-74 °ซ. และคะแนน 6-7 มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ คือต่ำกว่า 70 °ซ.

7.3 ความคงตัวของแป้งสุก (GC)

ชั่งแป้งข้าว 0.1000 กรัม ใส่หลอดแก้วขนาด 11x100 มิลลิเมตร เติมเอทธานอล 95% ที่มีส่วนผสม 0.025% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ของไธมอลบลู จำนวน 0.2

Bureau of Rice Research and Development

มิลลิลิตร เติม 0.2 N KOH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าส่วนผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง ปิดหลอดด้วยลูกแก้วแล้วนำลงต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 8 นาที จากนั้นนำหลอดแก้วขึ้นจากน้ำเดือดและปั่นผสมของเหลวในหลอดอีกครั้ง แล้วแช่ในน้ำที่แช่น้ำแข็งจนเย็นจัดเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นวางหลอดแก้วในแนวนอนบนกระดาษกราฟที่มีช่องแบ่งละเอียดถึง 1 มิลลิเมตร วางไว้เป็นเวลา 30 นาที อ่านระยะทางที่แป้งสุกไหลโดยเทียบกับกราฟแบ่งประเภทข้าวโดยการให้คะแนนตามระยะทางที่แป้งไหลดังนี้ ระยะ 25-40 มิลลิเมตร เป็นแป้งแข็ง ระยะ 41-60 มิลลิเมตร เป็นแป้งปานกลาง และระยะ 61-100 มิลลิเมตร เป็นแป้งอ่อน

7.4 ความหอม

ชั่งข้าวสาร 2 กรัม ใส่หลอดแก้วขนาด 12x100 มิลลิเมตร เติมสารละลาย NaCl 10% จำนวน 2 มิลลิลิตร อบที่อุณหภูมิ 50 °ซ. เป็นเวลา 30 นาที ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วดม ให้คะแนนดังนี้ 0 - เป็นไม่หอม 1 - เป็นหอมปานกลาง และ 2 - เป็นหอม โดยเปรียบเทียบกับขาวดอกมะลิ 105 ที่มีระดับความหอม = 2 ขาวดอกมะลิ 105 ผสมข้าวธรรมดามีระดับความหอม = 1 และข้าวธรรมดามีระดับความหอม = 0

8. การประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิต

ปลูกข้าวจำนวน 90 สายพันธุ์ ที่คัดเลือกจากคู่ผสม KDML105 x FL496 และ KDML105 x FL530 เพื่อประเมินลักษณะในแปลงทดลองที่ไม่มีผลกระทบจากความเค็ม ในศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ ในฤดูแล้งระหว่างเดือนมกราคมถึงพฤษภาคม 2547 ซึ่งสภาพแปลงในขณะที่ข้าวอยู่ในแปลงทดลอง มีผลกระทบจากการทำลายของโรคและแมลง เช่น โรคไหม้ แมลงบั่ว และพบการทำลายของปูและหนู ทำให้ข้อมูลที่ได้อาจไม่ถูกต้องดังเช่นสภาพปกติ ลักษณะที่ทำการศึกษาและบันทึก ได้แก่ ความสูง การแตกกอ องค์ประกอบผลผลิต (จำนวนเมล็ดต่อรวง น้ำหนัก 1,000 เมล็ด จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดลีบและเต็มเมล็ด) วันออกดอก และผลผลิต

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การคัดพันธุ์ทนเค็ม (คัดเลือกพ่อแม่)

จากการคัดพันธุ์ข้าวทั้งหมด 16 พันธุ์/สายพันธุ์ เพื่อเป็นพันธุ์ถ่ายทอดลักษณะทนเค็ม พบว่า 4 สายพันธุ์แท้ที่ได้จากคู่ผสมระหว่าง IR29 และ Pokkali คือ FL416, FL478, FL496 และ FL530 ได้รับผลจากความเค็มน้อยที่สุด คือมีคะแนน 3.3, 3.0, 3.0 และ 3.7 ตามลำดับ และมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบสูง (91.96, 94.16, 94.28 และ 93.91% ตามลำดับ) ให้ผลเช่นเดียวกับพันธุ์ที่มีความทนเค็ม เช่น ขาวหมากแขก แดงดอกกก และ Pokkali ซึ่งมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบสูงระหว่าง 90-97% ลักษณะเช่นนี้พบในอ้อยที่ทนเค็มด้วย (Wahid, 2004) และยังพบว่า RWC จะลดลงในช่วงที่ข้าวได้รับผลกระทบจากความเค็ม ดังแสดงใน Table 3 โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่ได้รับผลกระทบมากจะเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ทนเค็ม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในข้าวฟ่าง (Netondo *et al*., 2004) นอกจากนี้ยังพบว่าทั้ง 4 สายพันธุ์ แสดงค่า Na^+/K^+ ratio ต่ำ คือ 0.169, 0.183, 1.158 และ 0.126 ตามลำดับ และยังพบลักษณะดังกล่าวในข้าวพันธุ์พื้นเมือง 2 พันธุ์ที่ศึกษาด้วย คือ ขาวหมากแขก และ แดงดอกกก ซึ่งมีคะแนนทนเค็มในระดับปานกลาง คือ 4.3 มีค่า RWC สูงที่ 91.08 และ 92.00% ตามลำดับ และมี ค่า Na^+/K^+ ratio ต่ำ (0.209 และ 0.233 ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่า สายพันธุ์ที่กล่าวอาจทนดินเค็มดีกว่าพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 2 พันธุ์ ค่าของ Na^+/K^+ ratio สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดเพื่อยืนยันความทนเค็มอีกค่าหนึ่ง นอกจากนั้นยังพบว่า เปอร์เซ็นต์ RWC และ Na^+/K^+ ratio มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยในทางลบ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าค่า RWC สูงก็สามารถใช้เป็นตัวชี้นำความทนเค็มเช่นเดียวกัน (Suriyaarunroj *et al*., 2004)

จากงานทดลองนี้ ข้าว 4 สายพันธุ์มีคะแนนทนเค็มระหว่าง 3.0 - 4.3 (Table 3) ซึ่งสัมพันธ์กับระบบการให้คะแนนของ SES (IRRI,1996) ที่พันธุ์ข้าวทนเค็มจะมีคะแนนความทนเค็มอยู่ในช่วง 1-4 ขณะที่ขาวดอกมะลิ 105 และ Pokkali มีคะแนน 6 และ 3 ตามลำดับ ค่า Na^+/K^+ ratio ของข้าว 4 สายพันธุ์อยู่ในช่วง 0.126 - 0.233 และ RWC อยู่ระหว่าง 91-94% อย่างไรก็ตาม ได้คัดเลือกพันธุ์ข้าว 2 สายพันธุ์สำหรับการผสมพันธุ์กับขาวดอกมะลิ 105

Bureau of Rice Research and Development

Table 3 Physiological traits contributing to salinity tolerance in 16 rice accessions grown at salinity level of 6 dS m^{-1}

Lines/ cultivars	At EC 6 dS m^{-1}					At normal concentration(0.82 dS m^{-1})			
	Tolerant grouping	Salt tolerant scoring*	Relative water content(%)* Midday	Predawn	Na+/K+ ratio*	Salt tolerant scoring*	Relative water content(%)* Midday	Predawn	Na+/K+ ratio*
FL358	MT	5.7 b	85.80 bc	84.28 de	0.346 b	1	87.87 b	95.05 a	.391 a
FL367	MT	5.0 bcd	86.98 abc	87.35 b-e	0.266 bc	1	90.39 ab	95.64 a	.356 a
FL411	MT	5.7 b	87.94 abc	91.61 a-d	0.241 bc	1	87.67 b	95.91 a	.318 a
FL416	T	3.3 de	91.96 ab	94.11 ab	0.169 bc	1	95.13 ab	99.11 a	.244 a
FL434	MT	5.3 bc	88.50 ab	86.73 b-e	0.382 b	1	91.92 ab	96.53 a	.4[illegible] a
FL443	MT	5.3 bc	88.90 ab	85.04 cde	0.232 bc	1	92.46 ab	96.73 a	.303 a
FL478	T	3.0 e	94.16 a	97.93 a	0.183 bc	1	93.69 ab	97.73 a	.264 a
FL496	T	3.0 e	94.28 a	96.68 a	0.158 c	1	96.01 a	98.68 a	.237 a
FL523	MT	4.7 b-e	91.06 ab	92.51 abc	0.200 bc	1	92.05 ab	96.09 a	.294 a
FL530	T	3.7 cde	93.91 a	96.39 a	0.126 c	1	92.56 ab	97.84 a	.271 a
FL563	MT	5.0 bcd	86.04 bc	90.75 a-d	0.318 b	1	93.27 ab	97.91 a	.395 a
KMK	T	4.3 b-e	91.08 ab	90.34 a-d	0.209 bc	1	94.43 ab	97.78 a	.481 a
DDG	T	4.3 b-e	92.00 ab	90.18 a-d	0.233 bc	1	94.84 ab	97.66 a	.364 a
RD6	S	7.7 a	81.35 c	82.06 e	0.729 a	1	89.70 ab	97.71 a	.402 a
KDML105	S	7.7 a	75.00 d	81.80 e	0.668 a	1	94.78 ab	96.84 a	.508 a
Pokkali	T	3.0 e	93.27 a	94.12 ab	0.236 bc	1	92.21 ab	95.71 a	.252 a
CV(%)		32.3	4.2	4.5	71.8	32.3	4.2	4.5	71.8

* The data were collected at 16 days after salinization

T = tolerance, MT = moderately tolerance, S = susceptible

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

Table 4 Summary of percent recipient in each line from the cross KDML105/ IR66946 (BC_2F_1)

Cross	% recipient	Cross	% recipient
KDML105/FL496		**KDML105/FL530**	
Line No 1023	70.83	Line No 54	71.43
Line No 1034	87.04	Line No 62	83.33
Line No 1159	92.31	Line No 72	79.31
Line No 1166	70.37	Line No 169	73.21
Line No 1248	70.37	Line No 173	75.00
Line No 1269	77.78	Line No 190	77.78
Line No 1277	80.36	Line No 221	90.74
Line No 1295	69.64	Line No 241	70.69
		Line No 248	84.48
		Line No 296	67.24
		Line No 315	79.63
		Line No 324	75.93

Bureau of Rice Research and Development

2. การพัฒนาประชากรลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 3 โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายในการคัดเลือก

ผลการตรวจสอบพันธุกรรมของการผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 1 (BC_2F_1) ดังแสดงใน Table 4 พบว่า การถ่ายทอดลักษณะจากขาวดอกมะลิ 105 ไปยังลูกผสมขาวดอกมะลิ 105/FL496 อยู่ในช่วงระหว่าง 69.64-92.31% และลูกผสมขาวดอกมะลิ 105/FL530 อยู่ในช่วงระหว่าง 67.24-90.74% ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของขาวดอกมะลิ 105 สูงกว่า 80% สำหรับผลิตลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 2 (BC_2F_2) โดยใช้ 3 โมเลกุลเครื่องหมายที่ติดตามลักษณะทนเค็ม และ 2 โมเลกุลเครื่องหมายที่ติดตามลักษณะคุณภาพการหุงต้ม คัดเลือก BC_2F_2 เพื่อปลูกให้ได้ BC_2F_3 ตรวจสอบพันธุกรรมของ BC_2F_3 พบว่า มีพันธุกรรมของขาวดอกมะลิ 105 เฉลี่ย 83.05% (72.45-95.92%) ดังแสดงใน Table 5 ซึ่งต่ำกว่าค่าที่ควรจะเป็นในทางทฤษฎีของการผสมกลับ BC_2 คือ 87.25% อย่างไรก็ตาม คุณภาพการหุงต้มที่พบในสายพันธุ์ดังกล่าวมีค่าใกล้เคียงกับขาวดอกมะลิ 105 แต่ทนเค็มกว่า ทั้งนี้สายพันธุ์ทั้งหมดจะได้รับการพัฒนาเป็นสายพันธุ์แท้ที่ทนเค็ม และอาจเสนอเป็นพันธุ์ข้าวคุณภาพดี มีความหอม และทนเค็มต่อไป

Table 5 Percentage of recovery of recurrent genome for BC_2F_3 of KDML105/IR66946

Cross	% recipient
KDML105/FL496	
Line No 1094	78.57-95.92
Line No 1159	79.59-90.82
Line No 1277	78.14-89.58
KDML105/FL530	
Line No 62	76.53-89.58
Line No 221	72.45-84.69
Line No 248	81.25-91.67

3. ผลการประเมินความทนเค็มของสายพันธุ์ข้าวในสารละลายธาตุอาหาร

3.1 จำนวนวันที่ต้นกล้าอยู่รอด (SDS)

ต้นกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในสารละลายที่มีความเค็มระดับ 12 dS m^{-1} สามารถอยู่รอดได้ถึง 40 วัน ขณะที่พันธุ์ทนเค็มที่เป็นตัวให้พันธุกรรมความทนเค็มคือ FL496 และ FL530 ที่ปลูกในสภาพเดียวกันมีจำนวนวันที่อยู่รอดยาวกว่า คือ 53 และ 52 วัน ตามลำดับ (Table 6) ส่วนสายพันธุ์ผสมกลับของทั้ง 2 คู่ผสม KDML105/FL496 และ KDML105/FL530 มีความแตกต่างกัน โดยที่สายพันธุ์ที่มีพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะทนเค็มมีจำนวนวันที่ต้นกล้าอยู่รอดตั้งแต่ 34-56 วัน และ สายพันธุ์ที่ไม่มีพันธุกรรมควบคุมลักษณะความเค็มมีจำนวนวันที่ต้นกล้าอยู่รอด 31-44 วัน

3.2 อัตราส่วนของ Na^+/K^+

สายพันธุ์ข้าวที่มีพันธุกรรมควบคุมลักษณะความทนเค็ม ปลูกในสารละลายที่มีระดับความเค็ม 12 dS m^{-1} (120 mmol NaCl) พบว่า ค่าอัตราส่วนของ Na^+/K^+ เฉลี่ย 0.98 ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงของสายพันธุ์ทนเค็มที่ใช้ถ่ายทอดลักษณะทนดินเค็ม คือ FL496 (0.96) และ FL530 (1.01)

3.3 คะแนนความทนเค็ม

การให้คะแนนความทนเค็ม ด้วยการสังเกตความผิดปกติของการเจริญเติบโตของต้นข้าว พบว่า สายพันธุ์

Table 6 Some physiological traits of parents and progenies of KDML105/IR66946 crosses (BC_2F_3) grown in 12 dS m^{-1} nutrient solution at Ubon Ratchathani Rice Research Center (2004)

Cultivar & lines	Parents			BC_2F_3 progenies	
	KDML105	FL496	FL530	Carry QTLs	No QTLs
SDS(days)	40	53	52	34-56	31-44
Na+/K+ ratio	1.64	0.96	1.01	0.98	1.18
Salt injury score	4.5	3.3	3.8	4.0	4.3
%RWC	90.68	92.93	91.91	89.87	89.88

Bureau of Rice Research and Development

ที่ได้รับและมีพันธุกรรมทนเค็มแล้ว จะมีคะแนนต่ำกว่าสายพันธุ์ข้าวที่ไม่มีพันธุกรรมทนเค็มเล็กน้อย ผลการทดลองนี้ยังไม่สามารถชี้ชัดอย่างเที่ยงตรงในความแตกต่างของทั้ง 2 กลุ่มสายพันธุ์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในการเก็บตัวอย่าง ต้นข้าวอยู่ในระยะที่ได้รับความเค็มสั้นเกินไป อย่างไรก็ตาม สายพันธุ์ข้าวที่ได้รับพันธุกรรมความทนเค็มก็สามารถแสดงความทนเค็มได้เหนือกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

3.4 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ

การประเมินปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบของสายพันธุ์ลูกผสม พบว่า กลุ่มที่มีพันธุกรรมทนความเค็มมีค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบสูงกว่า กลุ่มที่ไม่มีพันธุกรรมทนความเค็ม ขณะที่พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (90.68%) ใกล้เคียงกับพ่อแม่ที่เป็นพันธุ์ถ่ายทอดพันธุกรรมทนความเค็ม คือ 92.93% สำหรับ FL496 และ 91.91% สำหรับ FL530 (Table 6)

4. การประเมินคุณภาพการหุงต้ม

4.1 ปริมาณอมิโลส (AC)

จากการวิเคราะห์ข้าวของ 2 คู่ผสม พบว่า ปริมาณอมิโลสของลูกผสม สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มอย่างเด่นชัด กลุ่มแรกประมาณร้อยละ 25 ของจำนวนพันธุ์ข้าวที่ทดลอง มีปริมาณอมิโลสเฉลี่ย 14.6% ส่วนกลุ่มที่ 2 ประมาณ 34% มีปริมาณอมิโลสเฉลี่ย 16.4% ซึ่งจัดเป็นข้าวที่มีอมิโลสต่ำ ขณะที่ขาวดอกมะลิ 105, FL496 และ FL530 มีปริมาณอมิโลส 15.3, 22.8 และ 25.3% ตามลำดับ สายพันธุ์ที่มีพันธุกรรมทนเค็มส่วนใหญ่ มีปริมาณอมิโลสต่ำปานกลาง มีเพียงส่วนน้อยที่มีค่าสูง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มสายพันธุ์ที่มีพันธุกรรมทนเค็มและไม่มีพันธุกรรมทนเค็ม พบว่ามีปริมาณอมิโลสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Table 7 และ Fig. 7)

4.2 ความหอม

ความหอมของข้าวสายพันธุ์ผสมกลับครั้งที่ 2 มีความแปรปรวน อยู่ในช่วงระดับ 0-2 ชี้ให้เห็นว่า บางส่วนมีกลิ่นหอมและบางส่วนไม่หอม อย่างไรก็ตาม สายพันธุ์ส่วนใหญ่ของคู่ผสม KDML105/FL496 และ KDML105/FL530 มีความหอมปานกลาง 38% และ หอม 61% มีเพียง 1.3% ที่ไม่หอม (Table 7)

4.3 ความคงตัวของแป้งสุก (GC) และอุณหภูมิแป้งสุก (GT)

การศึกษาแป้งสุกของข้าว 2 คู่ผสม พบว่า ไม่มีความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ทดสอบ สำหรับความคงตัวของแป้งสุก และ อุณหภูมิแป้งสุก สายพันธุ์ข้าวส่วนใหญ่มีลักษณะทั้งสองคล้ายกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยมีประมาณร้อยละ 1 ที่มีความแตกต่างจากพันธุ์ข้าวที่ทดสอบทั้งหมด (Table 7)

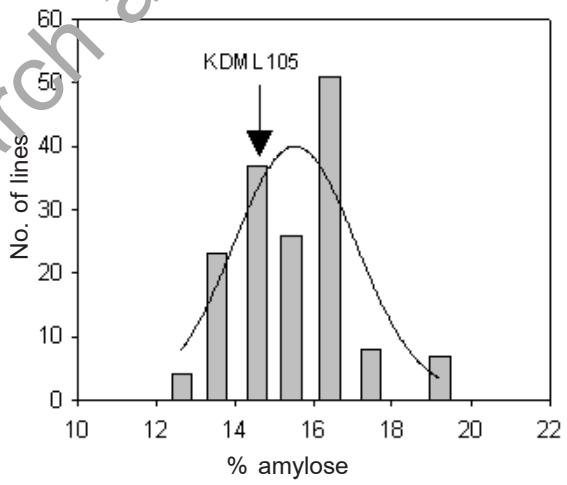


Fig. 7 Amylose content of BC_2F_2 progenies of KDML105/FL496 and KDML105/FL530 compared to KDML105

Table 7 Cooking quality of parents and progenies of KDML105/IR66946 crosses (BC_2F_2) grown in non-saline paddy field

Cultivar & lines	Parents			BC_2F_2 progenies	
	KDML105	FL496	FL530	Carry QTLs	No QTLs
Amylose content (%)	15.3	22.8	25.3	12.34 -19.22	14.77-16.5
Aroma	2	0	0	0 - 2	0 - 2
Gel consistency	89.4	53.8	53.9	82.5-95	87.5-92.5
Gelatinization temperature	6.8	5.3	5.3	4.8-7	5.0 - 7

Bureau of Rice Research and Development

Table 8 Agronomic characters (mean) of 6 salt tolerant lines grown in non-saline paddy field

Cultivar & lines	Plant height (cm)	Flowering date	Panicle/hill (no.)	1,000 seed wt. (g)	Grain yield (g/m^2)
KDML105	98	91	12	25.69	118.6
F3-1094	112	96	11	25.80	120.3
F3-1159	110	95	12	25.9	123.2
F3-1277	115	100	11	27.4	164.8
F3-62	134	104	10	25.70	183.3
F3-221	92	96	12	23.4	168.7
F3-248	122	101	11	27.8	176.1
CV (%)	7.5	4.0	18.45	3.64	41.3

5. การประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิต

5.1 ความสูง

สายพันธุ์ที่ทดสอบทั้งหมดของทั้งสองคู่ผสมสามารถแบ่งได้เป็น 6 กลุ่ม คือ คู่ผสมขาวดอกมะลิ 105/FL496 แบ่งเป็น 3 กลุ่มประกอบด้วย F_3-1094, F_3-1159 และ F_3-1277 และคู่ผสมขาวดอกมะลิ 105/FL530 แบ่งเป็นอีก 3 กลุ่มประกอบด้วย F_3-62, F_3-221 และ F_3-248 สายพันธุ์ข้าวใน 6 กลุ่มนี้ส่วนใหญ่มีความสูงมากกว่าขาวดอกมะลิ 105 ยกเว้น กลุ่ม F_3-221 สูงเฉลี่ยเพียง 92 เซนติเมตร กลุ่ม F_3-62 มีความสูงมากที่สุด และสูงกว่าขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งสูง 98 เซนติเมตร (Table 8) ซึ่งอาจเป็นเพราะมีช่วงการเจริญเติบโตสั้นในฤดูแล้ง และอาจเป็นผลกระทบจากการทำลายของโรคและแมลง

5.2 วันออกดอก

จำนวนวันจากวันปลูกถึงวันออกดอกของสายพันธุ์ข้าวทดลองมีแนวโน้มเช่นเดียวกับความสูง กล่าวคือ สายพันธุ์ส่วนใหญ่มีจำนวนวันออกดอกของข้าวมากกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (91 วัน) (Table 8) และกลุ่ม F_3-62 มีจำนวนวันออกดอกสูงสุด ขณะที่ กลุ่ม F_3-1159 มีจำนวนวันออกดอกสั้นที่สุด คือ 95 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ที่ทดสอบ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการปลูกในฤดูแล้ง สายพันธุ์ต่าง ๆ น่าจะได้รับพันธุกรรมการไวต่อช่วงแสงจากพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสง จึงทำให้อายุสั้นลงกว่าปกติ (ที่ปลูกในฤดูฝน)

5.3 จำนวนรวงต่อกอ

จากผลการทดลองพบว่าขาวดอกมะลิ 105 มีจำนวนรวงต่อกอต่ำ คือ 12 รวงต่อกอ อย่างไรก็ตาม สายพันธุ์ส่วนใหญ่ของทั้งสองคู่ผสมก็ยังให้จำนวนรวงต่อกอต่ำกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (Table 8)

5.4 น้ำหนัก 1,000 เมล็ด

สายพันธุ์ข้าวที่ทดลองทั้งหมด มีน้ำหนัก 1,000 เมล็ด สูงกว่าน้ำหนักของพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เล็ก

Table 9 Phenotypic correlation among grain yield ($g\ m^{-2}$) and days to flowering, plant height (cm), and yield components (panicle number $hill^{-1}$, seed number $panicle^{-1}$ and 1,000 grain weight (g)) of KDML105 salinity tolerant improved population

	FLW	GW	GY	HT	PAN	1,000 g wt.
FLW	1					
GW	0.144239ns	1				
GY	0.466634**	0.131228ns	1			
HT	0.468021**	0.542604**	0.290582**	1		
PAN	- 0.02739ns	-0.43528**	0.052975ns	-0.3107**	1	
1,000 g wt.	0.456382*	0.096241ns	0.511439**	0.536515**	-0.19413ns	1

Bureau of Rice Research and Development

น้อย โดยอยู่ในช่วง 25.7 - 27.8 กรัม นอกจากกลุ่ม F_3-221 ที่มีน้ำหนัก 1,000 เมล็ดต่ำ เพียง 23.4 กรัม (Table 8)

5.5 ผลผลิต

สายพันธุ์ที่พัฒนาจากคู่ผสม KDML105/FL496 และ KDML105/FL530 ให้ผลผลิตสูงกว่าขาวดอกมะลิ 105 (Table 8) ถึงแม้ว่าจำนวนรวงต่อกอของขาวดอกมะลิ 105 จะสูงกว่า และยังพบว่า จำนวนรวงต่อกอไม่มีความสัมพันธ์กับผลผลิต แต่น้ำหนัก 1,000 เมล็ดมีผลต่อผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ และพบความสัมพันธ์ในทางบวกระหว่างน้ำหนัก 1,000 เมล็ด กับผลผลิต (Table 9)

สรุปผลการทดลอง

พันธุ์ข้าวทนเค็ม 2 สายพันธุ์ที่คัดเลือกเป็นพันธุ์ให้พันธุกรรมทนเค็ม คือ FL496 และ FL530 มีระดับความทนเค็ม 3.0 และ 3.7 มีปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ 94.28 และ 93.91% มีค่าอัตราส่วนของโซเดียมต่อโพแทสเซียม 0.158 และ 0.126 ตามลำดับ เมื่อผสมพันธุ์กับขาวดอกมะลิ 105 ได้ลูกผสม นำมาศึกษาลักษณะต่าง ๆ พบว่าลูกผสม BC_2F_1 มีพันธุกรรมของขาวดอกมะลิ 105 อยู่ระหว่าง 67.2-92.3% และ BC_2F_3 มีพันธุกรรมของขาวดอกมะลิ 105 อยู่ระหว่าง 72.45-95.92% มีคุณภาพการหุงต้มเหมือนขาวดอกมะลิ 105 ส่วนลักษณะทางการเกษตรพบว่าสายพันธุ์จำนวน 81 จาก 90 สายพันธุ์ มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากกว่าขาวดอกมะลิ 105 ในขณะที่ 47 สายพันธุ์มีน้ำหนัก 1,000 เมล็ดหนักกว่าและ 74 สายพันธุ์ให้ผลผลิตสูงกว่าขาวดอกมะลิ 105 จึงมีความมั่นใจว่าวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพนี้ สามารถช่วยในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวทนเค็มให้มีลักษณะการหุงต้มที่ดีขึ้นได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมูลนิธิร็อกกี้เฟลเลอร์ ที่สนับสนุนทุนงานวิจัยนี้ ขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่และห้องปฏิบัติการทดลองในระหว่างปี พ.ศ. 2545-2547 ขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ในหน่วยค้นคว้าและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนยีชีวภาพทางการเกษตร สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม ที่ช่วยให้ผลงานวิจัยนี้สำเร็จด้วยดี และขอขอบคุณสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) และศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานีที่ให้ความอนุเคราะห์พันธุ์ข้าวทนดินเค็ม

เอกสารอ้างอิง

Ahn, S.N., C.N. Bollich and S.D. Tanksley. 1992. RFLP tagging of a gene for aroma in rice. Theor. Appl. Genet. 84 : 825-828.

Akbar, M., T. Yabuno and S. Nakao 1972. Breeding for saline - resistant varieties of rice. 1 Variability for salt tolerance among some rice varieties. Japanese Journal of Breeding 22 : 277-284.

Allard, R.W. 1960. Principles of Plant Breeding. Wiley, New York. 150 p.

Asch, F., M. Dingkuhn, K. Dorffling and K. Miezan. 2000. Leaf K/Na ratio predicts salinity induced yield loss in irrigated rice. Euphytica 113 : 109-118.

Babu, R., S.K. Nair, B.M. Prasanna and H.S. Gupta. 2004. Integrating marker assisted selection in crop breeding-prospects and challenges. Current Science 87(5) : 607-619.

Barr, H.D. and P.E. Weatherley. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. Aust. J. Biol. Sci. 15 : 413-428.

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

Garland, S., L. Lewin, A. Blakeney and R. Reinke. 2002. PCR-based molecular markers for the fragrance gene in rice *(Oryza sativa* L.) Theor. Appl. Genet. 101 : 364-371.

Gregorio, G.B., D. Senadhira and R.D.Mendoza. 1997. Screening rice for salinity tolerance. pp. 2-23. *In*: IRRI Discussion Paper Series No. 22, International Rice Research Institute, Manila, P.O. Box 933, 1099, Philippines.

Hospital, F., C. Chevalet and P. Mulsant. 1992. Using markers in gene introgression breeding programs. Genetics 132 : 1119-1210.

IRRI. 1996. Standard Evaluation System for Rice. 4th edition. International Rice Research Institute, Manila, P.O. Box 933, 1099, Philippines. 35 p.

Juliano, B.O. and A.A. Perdon. 1975. Gel and molecular properties of nonwaxy rice, Starch-Starke. 27 : 115-120.

Juliano, B.O. and C.G. Pascual. 1980. Quality characteristics

Bureau of Rice Research and Development

of milled rice grown in different countries. International Rice Research Institute. Los Banos, Laguna, Philippines. Paper Series No. 48. 25 pp.

Kapp, L.C. 1974. The effect of common salt on rice production. Arkansas Experimental Station Bulletin 465 : 3-7.

Lanceras, J.C., Z.L. Huang, O. Naivikul, A. Vanavichit, V. Ruanjaichon and S. Tragoonrung. 2000. Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai jasmine rice (KDML105). DNA Research 7 : 93-101.

Lorieux, M., M. Petrov, N. Huang, E. Guiderdoni and A. Ghesquiere. 1996. Aroma in rice : genetic analysis of a quantitative trait. Theor. Appl. Genet. 93 : 1145-1151.

Netondo, G.W., J.C. Onyango and E. Beck. 2004. Sorghum and salinity : I. Response of growth, water relations and ion accumulation to NaCl salinity. Crop Sci. 44 : 797-805.

Pearson, G.A. 1959. Factors influencing salinity of submerged soils and growth of Caloro rice. Soil Sci. 87 : 198-206.

Stuber, C.W. 1995. Mapping and manipulating quantitative trait in Maize. Trends Genetics 11 : 477-481.

Suriyaarunroj, D., N. Supapoj, T. Toojinda and A. Vanavichit. 2004. Relative leaf water content as an efficient method for evaluating rice cultivars for tolerance to salt stress. Science Asia 30 : 411 - 415.

Wahid, A. 2004. Analysis of toxic and osmotic effects of sodium chloride on leaf growth and agronomic yield of sugarcane. Bot Bull. Acad. Sin. 45 : 133-141.

Yeo, A.R., M.E. Flower and T.J. Flower. 1988. Selection of lines with high and low sodium transport from within varieties of an inbreeding species : rice (*Oryza sativa*). New Phytologist 110 : 13-19.

Yoshida, S., D.A. Forno, J.H. Cock and K.A. Gomez. 1976. Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. 3rd ed. International Rice Research Institute, Manila, P.O. Box 933, 1099, Philippines. pp. 61-66.

Zhu, G.Y., J.M. Kinet and S. Lutts. 2001. Characterisation of rice (*Oriza sativa* L.) F_3 populations selected for salt resistance. I. Physiological behaviour during vegetative growth. Euphytica 121 : 25-263.

Bureau of Rice Research and Development

การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าวด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย

Rice Varietal Purity Test by Using Molecular Marker

พยอม โคเบลลี่[1)] วราพงษ์ ชมาฤกษ์[1)] พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์[1)]
Payorm Cobelli[1)] Varapong Chamarerk[1)] Poonsak Mekwatanakarn[1)]

Abstract

The purity test of rice variety by using molecular marker or DNA fingerprinting is the most accurate method. Molecular marker technology could detect polymorphism between rice varieties. After milling the DNA extraction from rice leaves is not possible because milled rice seeds are not able to germinate due to loss of the embryo during milling process. Therefore, the varietal purity test requires extraction of DNA directly from a single milled rice seed. This method is difficult because the major composition of milled rice seeds is starch with low DNA content. In this study, we developed a very simple, rapid, convenient and economic feasible DNA extraction method from a single milled rice seed, which includes Proteinase K in SAD extraction buffer and 2x CTAB. Yield and quality of DNA extracted from a single milled rice seed was not different from those of leaf samples and also sufficient for DNA fingerprinting. In addition, we had surveyed and analyzed some SSRs markers for rice varietal purity test. Three SSRs markers for varietal purity test are 1) BO3, which completely co-segregate with the rice grain aroma QTL, 2) RM190, which is closely linked to waxy gene and 3) Glu23, which is Wx allele-specific marker.

Keywords: rice, varietal purity test, DNA fingerprinting, molecular marker, milled rice

บทคัดย่อ

วิธีการตรวจสอบการปลอมปนพันธุ์ข้าวที่แม่นยำ คือการตรวจสอบดีเอ็นเอด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย หรือการจัดทำการตรวจลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) โดยการใช้โมเลกุลเครื่องหมายตรวจสอบความแตกต่างของรหัสพันธุกรรมของข้าวแต่ละพันธุ์ การตรวจสอบหาความแตกต่างของข้าวแต่ละพันธุ์ หลังจากการสีข้าวแล้ว ข้าวสารที่ได้ไม่สามารถนำมาเพาะให้เป็นต้นเพื่อเก็บตัวอย่างใบมาสกัดดีเอ็นเอได้ เนื่องจากส่วนของต้นอ่อนถูกขัดสีออกไปแล้ว ดังนั้น การตรวจสอบการปลอมปนพันธุ์ในข้าวสาร จึงต้องทำการสกัดดีเอ็นเอจากเมล็ดข้าวสารเมล็ดเดี่ยว ๆ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ยุ่งยาก เนื่องจากเมล็ดข้าวสารมีองค์ประกอบหลักคือแป้งและมีปริมาณดีเอ็นเอน้อยมาก งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากข้าวสารด้วย Proteinase K ใน SAD extraction buffer และ 2x CTAB ที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว สะดวก ประหยัด ได้ผลผลิตดีเอ็นเอที่มีคุณภาพ มีปริมาณคงที่ และเพียงพอต่อการจัดทำลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอของข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าว ก็ให้ผลผลิตดีเอ็นเอไม่แตกต่างกัน นอกจากนั้นยังได้สำรวจและทดสอบโมเลกุลเครื่องหมาย เพื่อใช้สำหรับงานตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าว และได้โมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSRs จำนวน 3 โมเลกุลเครื่องหมาย คือ 1) B03 ที่มีความสัมพันธ์กับยีนความหอม (aroma gene), 2) RM190 และ 3) Glu-23 ที่มีความสัมพันธ์กับยีนที่ควบคุมคุณภาพการหุงต้มของข้าว (waxy gene)

คำสำคัญ: ข้าว การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ ลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอ โมเลกุลเครื่องหมาย ข้าวสาร

1) ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ตู้ ปณ. 65 อ. เมือง จ. อุบลราชธานี 34000 โทร. 045-344103-104 ต่อ 122
Ubon Ratchathani Rice Research Center, P.O. Box 65, Muang District, Ubon Ratchathani, 34000
Tel. 045-344103-104 Ext.122

Bureau of Rice Research and Development

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศผู้ผลิตข้าวได้เป็นอันดับ 6 ของโลก โดยมีสาธารณรัฐประชาชนจีนเป็นผู้ผลิตรายใหญ่ที่สุด รองลงมาได้แก่ อินเดีย อินโดนีเซีย บังคลาเทศ เวียดนาม และไทย ตามลำดับ แต่ประเทศไทยสามารถส่งออกเป็นอันดับ 1 ของโลก และส่งออกในรูปข้าวสารคุณภาพสูง (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2547) อย่างไรก็ตาม ในช่วงระยะหลังๆ ข้าวจากประเทศไทยเริ่มไม่ได้รับความเชื่อถือในด้านคุณภาพ เนื่องจากมีการปลอมปนข้าวด้วยการผสมข้าวพันธุ์อื่นๆ โดยผู้ซื้อหรือผู้บริโภคไม่ทราบ ซึ่งเกิดขึ้นในตลาดทุกระดับทั้งข้าวเปลือกและข้าวสารทั้งในและต่างประเทศ การปลอมปนในบางกรณีก็ตรวจสอบได้ยาก เช่น กรณีของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งเป็นข้าวคุณภาพและราคาที่ด้อยกว่าถูกนำไปปนในข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นข้าวคุณภาพสูงราคาดี เพื่อผลกำไรที่มากขึ้น ดังนั้น ทางราชการจึงมีการควบคุมคุณภาพและตั้งมาตรการในการส่งออกขึ้น ซึ่งหนึ่งในหลายมาตรการก็คือการตรวจดีเอ็นเอข้าวหอม เพื่อยืนยันความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าว และตรวจการปลอมปนของข้าวพันธุ์อื่น ในข้าวขาวดอกมะลิ 105

การปะปนของพันธุ์ข้าวซึ่งทำให้เกิดความไม่บริสุทธิ์ในพันธุ์ยากแก่การจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา และคุณสมบัติทางเคมี หทัยรัตน์ และคณะ(2546) ได้ทำลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอ ของข้าวพันธุ์รับรองจำนวน 76 พันธุ์โดยใช้ microsatellite หรือ simple sequence repeats (SSRs) primers 29 คู่ ให้ alleles ที่ต่างกัน 257 แบบ และพบว่าสามารถแยกความแตกต่างของข้าวพันธุ์รับรองได้ดี โดยพบภาพลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอของข้าวแต่ละพันธุ์รวม 29 loci และพบว่า primers ที่สามารถบอกความแตกต่างของข้าวไทยได้มากที่สุดคือ RM149 รองลงมาคือ RM21, RM17, RM201, RM228, RM239, RM168, RM165, RM157 และ RM209 ตามลำดับ (DOA birdo homepage, 2550)

โมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSRs เป็นโมเลกุลเครื่องหมายแบบ co-dominant marker ปัจจุบันมีรายงานว่าโมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSRs ของข้าวมีอยู่ถึง 3,200 ตำแหน่งบนโครโมโซมข้าว (McCouch *et al*., 2002) ดีเอ็นเอตรงตำแหน่งที่มีโมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSRs จะถูกเพิ่มปริมาณ (amplification) ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ (polymerase chain reaction, PCR) โดยใช้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดเล็กที่เรียกว่า primers ซึ่งมีลำดับเบสคู่สม (complementary sequences) ที่สามารถจับคู่กับลำดับเบสที่ขนาบหัวท้ายตำแหน่งของ SSRs เป็นตัวช่วยในการเริ่มต้นการสังเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอตรงตำแหน่งที่ต้องการ โมเลกุลเครื่องหมายที่ใช้เทคนิค PCR นี้เป็นวิธีที่รวดเร็ว ใช้ตัวอย่างพืชและปริมาณดีเอ็นเอเพียงเล็กน้อย ทำให้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างเป็นจำนวนมากได้ นอกจากนี้โมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSRs ยังสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์พืชที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมได้เป็นอย่างดี จึงเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำมาใช้เพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม ใช้จัดทำลายพิมพ์เอกลักษณ์ (DNA fingerprinting) ตลอดจนใช้สำหรับตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ได้อย่างแม่นยำ

ดังนั้น การจำแนกพันธุ์ข้าวด้วยลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอ จึงเป็นวิธีการที่ใช้ในการตรวจการปลอมปนของข้าวและใช้จำแนกพันธุ์ข้าวได้อย่างถูกต้อง ตลอดจนจะใช้เป็นข้อมูลในการรองรับพระราชบัญญัติคุ้มครองพันธุ์พืช ในการจัดทำลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ต่างๆ ปัญหาหรือข้อจำกัดคือ ขั้นตอนในการสกัดดีเอ็นเอจากเมล็ดข้าวสารเมล็ดเดี่ยวๆ เป็นขั้นตอนที่ยุ่งยาก เนื่องจากเมล็ดข้าวสารมีองค์ประกอบหลักคือแป้งและมีปริมาณดีเอ็นเอน้อยมาก จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาหาวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากข้าวสาร เพื่อใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของข้าวด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย (ลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอ) ซึ่งจะต้องเป็นวิธีการที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว สะดวก ประหยัด และเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าวก็ควรจะให้ผลผลิตดีเอ็นเอที่ไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ ยังมีความจำเป็นต้องมีการสำรวจและทดสอบโมเลกุลเครื่องหมาย ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวได้ดี เพื่อนำมาใช้จัดทำแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน สำหรับงานตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าวด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การพัฒนาวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากเมล็ดข้าวสาร

1.1 การสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าว

นำใบข้าว ตัวอย่างละ 1 กรัม มาสกัดดีเอ็นเอ โดยแช่ในไนโตรเจนเหลวทันที แล้วทำการบดใบข้าวให้

Bureau of Rice Research and Development

ละเอียดในโกร่งบดยาที่แช่ในไนโตรเจนเหลวจนเย็น ย้ายใบข้าวที่บดละเอียดมาใส่ในหลอดพลาสติก (eppendorf tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม CTAB extraction buffer (ดัดแปลงจาก Chen and Ronald, 1999) ที่อุ่นให้ได้อุณหภูมิ 65 องศาเซนเซียส จำนวน 600 ไมโครลิตร และเติม RNAase A (10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) จำนวน 14 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันก่อนที่จะนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสาร chloroform และ isoamyl alcohol อัตราส่วน 24:1 จำนวน 500 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ ประมาณ 5 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำของเหลวชั้นบนในหลอดพลาสติกไปตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ ที่แช่เย็น จำนวน 700 ไมโครลิตร เขย่าหลอดเบาๆ จนเห็นดีเอ็นเอจับตัวกันเป็นก้อน ปั่นเหวี่ยงทันทีที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนที่เป็นของเหลวทิ้ง ล้างดีเอ็นเอด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 95% จำนวน 700 ไมโครลิตร 2 ครั้ง ผึ่งดีเอ็นเอให้แห้งในอากาศประมาณ 45 นาที แล้วเติมสารละลาย 1X TE buffer เพื่อละลายดีเอ็นเอ แล้วเก็บรักษาดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.2 การสกัดดีเอ็นเอจากเมล็ดข้าวสาร

นำเมล็ดข้าวทั้งเมล็ด 1 เมล็ด มาสกัดดีเอ็นเอโดยใส่ในหลอดพลาสติกขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติม extraction buffer ที่ผสม 0.008 mg/ml proteinase K 400 ul นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (ข้ามคืน) แล้วทำการบดเมล็ดข้าวสารให้ละเอียดในหลอดพลาสติก เติม 2x CTAB solution[2] (ดัดแปลงจาก Kang *et al.*, 1998) ที่อุ่นให้ได้อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จำนวน 400 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันโดยการคว่ำหลอดกลับไปกลับมาเบาๆ ประมาณ 5 ครั้ง ก่อนที่จะนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ถึง 1-3 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสาร phenol, chloroform และ isoamyl alcohol อัตราส่วน 25:24:1 จำนวน 400 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันโดยการคว่ำหลอดกลับไปกลับมาเบาๆ ประมาณ 5 ครั้ง ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที หลังจากนั้นนำของเหลวชั้นบนในหลอดพลาสติก จำนวน 500 ไมโครลิตร ไปตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้น (99.7-100 % v/v) ที่แช่เย็น จำนวน 350 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันโดยการคว่ำหลอดกลับไปกลับมาเบาๆ ประมาณ 10 ครั้ง ก่อนที่จะนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนที่เป็นของเหลวทิ้ง ล้างดีเอ็นเอ ด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% จำนวน 500 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ ประมาณ 1 นาที ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ผึ่งดีเอ็นเอให้แห้งในอากาศประมาณ 15 นาที แล้วเติมสารละลาย 1X TE buffer จำนวน 30 ไมโครลิตร และ RNase A (10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) จำนวน 2 ไมโครลิตร เพื่อละลายดีเอ็นเอ แล้วเก็บรักษาดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ 4 หรือ -20 องศาเซลเซียส

1.3 การตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้จากทั้งใบและเมล็ดข้าว มาตรวจสอบปริมาณและคุณภาพโดยการผสมกับสี 5x gel loading buffer ที่ใช้บอกระยะทางแล้วใส่ลงไปในแต่ละหลุมบนวุ้น (agarose gel) ความเข้มข้น 1% เมื่อใส่ตัวอย่างดีเอ็นเอจนหมด แล้วใส่ดีเอ็นเอความเข้มข้นมาตรฐาน lambda(λ) DNA 500 ng (0.5 µg/µl) ปริมาณ 10 µl /หลุม ลงไปในหลุมแรกและหลุมสุดท้าย เพื่อใช้เปรียบเทียบคำนวณความเข้มข้นของดีเอ็นเอ นำไปวิ่งผ่านกระแสไฟฟ้า โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลท์ เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง นำไปย้อมสีด้วยอีธิเดียมโบรไมด์ 10%(1 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) เป็นเวลา 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น เป็นเวลา 5-10 นาที นำมาตรวจดูแถบดีเอ็นเอด้วยแสงยูวี (UV light) ที่ 260 นาโนเมตร และบันทึกภาพ

2. การสำรวจและทดสอบโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าว

2.1 โมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSR ที่ใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าว

นำโมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSRs มาทดสอบความสามารถในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าว จำนวน 3 โมเลกุลเครื่องหมาย คือ BO3-8F (CGTGGCT CG ACCTTTTTAAT) /BO3-8R (TCAAACCCT GGT

Bureau of Rice Research and Development

TACAGCAA) ซึ่งเป็นไพรเมอร์ที่ได้พัฒนามาจากลำดับเบสของ Nipponbare's BAC-end และ โมเลกุลเครื่องหมายชนิด EST ซึ่งเป็นโมเลกุลเครื่องหมายที่อยู่ตำแหน่งเดียวกันกับกลุ่มยีนความหอมและสามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกรุ่นหลานได้ตลอดบน โครโมโซม 8 โดยมีระยะห่างจากยีนความหอม 1.1 cM (Wanchana *et al*., 2005), RM190-6F (CTTTGTCTATCTCAAGACAC) /RM190-6R (TTGCAGATGTTCTTCCTGATG) มีความสัมพันธ์กับยีนที่ควบคุมคุณภาพการหุงต้มของข้าว (waxy gene) บนโครโมโซม 6 โดยมีระยะห่างจากยีน 8.2 cM (McCouch *et a*l., 2002) และ Glu23-6F (TGCAGAGATC TTCCACAGCA)/Glu23-6R (GCTGGTCGTCACGC TGAG) ซึ่งเป็น Wx allele-specific markers ที่ใช้แยกข้าวเหนียว (glutinous) ออกจากข้าวเจ้า (non-glutinous) บนโครโมโซม 6 (Wanchana *et al*., 2003) (Table 1)

2.2 การทำปฏิกิริยาลูกโซ่

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ได้ความเข้มข้น 10-20 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่งที่สนใจในหลอดทดลองด้วยการทำปฏิกิริยาลูกโซ่ (polymerase chain reaction) ซึ่งเป็นเทคนิคหรือวิธีการในห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอเป้าหมาย (ส่วนใดส่วนหนึ่งของดีเอ็นเอเท่านั้น) ในหลอดทดลองดังรายละเอียดดังนี้

องค์ประกอบของปฏิกิริยาลูกโซ่ ประกอบด้วย Taq master mix 5 ไมโครลิตร, ddH2O 2.5 ไมโครลิตร, Primer F (10 พิกกะโมล/ไมโครลิตร) 0.2 ไมโครลิตร, Primer R (10 พิกกะโมล/ไมโครลิตร) 0.2 ไมโครลิตร, DNA template 2 ไมโครลิตร สำหรับปริมาตรองค์ประกอบของปฏิกิริยาทั้งหมด 10 ไมโครลิตร ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการ โดยใช้เครื่องเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่หรือเครื่องพีซีอาร์ ดังต่อไปนี้คือ

- ขั้นตอน denaturation ทำให้ดีเอ็นเอเริ่มต้นหรือ template ซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายคู่ (double strand) แยกตัวออกจากกันเป็นสายเดี่ยว (single strand) โดยการใช้อุณหภูมิสูง 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที

- ขั้นตอน primer annealing หรือ annealing ใช้อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที เป็นขั้นตอนที่ปล่อยให้มีการจับกันระหว่างดีเอ็นเอสายเดี่ยวที่แยกได้ จากขั้นตอนแรกกับสายไพรเมอร์ ซึ่งเป็นโอลิโกนิวคลีโอไทด์สายเดี่ยวขนาดสั้น ๆ จะเป็นการจับกันตรงบริเวณที่มีเบสคู่สมกัน (complementary base) ซึ่งเกิดขึ้นได้เมื่ออุณหภูมิของดีเอ็นเอลดลงจากขั้นตอนแรก

- ขั้นตอน primer extension หรือ extension ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที เป็นขั้นตอนที่มีการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้นมา โดยอาศัยดีเอ็นเอสายเดี่ยวที่แยกออกจากกันทั้งสองสายเป็นแม่พิมพ์ ทั้งนี้อาศัยเอนไซม์ DNA polymerase และ dNTPs

ปล่อยให้เครื่องพีซีอาร์ทำซ้ำขั้นตอนที่กล่าวข้างต้นจนครบ 35 รอบ ก็จะได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นเป็นล้าน ๆ เท่า

2.3 การวิเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอในตำแหน่งที่สนใจที่เพิ่มจำนวนได้ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

แยกความแตกต่างของขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้ ด้วยสนามไฟฟ้าที่เคลื่อนจากขั้วลบไปยังขั้วบวก (electrophoresis) ผ่านวุ้น (polyacrylamide gel)

Table 1 Sequences of SSR markers used for purity testing of rice

Marker designation	Primer sequence 5'-3'	Fragment size (bps)	Linked gene
BO3-8F	CGT GGC TCG ACC TTT TTA AT	140 (aromatic)	Grain aroma
BO3-8R	TCA AAC CCT GGT TAC AGC AA	130 (non-aromatic)	QLT
RM190-6F	CTT TGT CTA TCT CAA GAC AC	125 (low amylose content)	Waxy gene
RM190-6R	TTG CAG ATG TTC TTC CTG ATG	110 (high amylase content)	
Glu-23-6F	TGC AGA GAT CTT CCA CAG CA	225 (glutinous)	Waxy gene
Glu-23-6R	GCT GGT CGT CAC GCT GAG	196 (non-glutinous)	(Wx)

bps = base pairs (kb = kilo base pairs, 1 kb = 1,000 bps)

Bureau of Rice Research and Development

ความเข้มข้น 6% ในสารละลาย TBE buffer 1% โดยนำผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่จำนวน 10 ไมโครลิตร มาผสมกับสี 6x loading formaminde dye buffer ที่ใช้บอกระยะทาง จำนวน 4 ไมโครลิตร แล้วนำไปทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพ (DNA denaturation) โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 94-95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที และแช่ในน้ำแข็งทันที นำผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่ดังกล่าว จำนวน 3 ไมโครลิตร มาใส่ในหลุมบนวุ้น เมื่อใส่ตัวอย่างดีเอ็นเอจนหมด ใส่ดีเอ็นเอความเข้มข้นมาตรฐาน 100 bp DNA ladder (Biolabs) (0.5 µg/µl) ปริมาณ 3 µl/หลุม ลงไปในหลุมแรกและหลุมสุดท้าย เพื่อใช้บอกขนาดชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ แล้วนำไปให้กระแสไฟฟ้า 1,200 โวลท์ (80-100 วัตต์) วิ่งผ่านเป็นเวลาประมาณ 1-1.30 ชั่วโมง หรือให้สีที่ใช้บอกระยะทางเคลื่อนที่ไปได้ประมาณ 15-18 เซนติเมตร จึงนำไปย้อมสีด้วยซิลเวอร์ไนเตรท 1% (sliver staining) เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น เป็นเวลา 5 วินาที นำมาใส่ในสารละลาย developer ประมาณ 5 นาที หรือ จนเห็นแถบดีเอ็นเอปรากฏบนกระจก จึงหยุดปฏิกิริยาด้วย acetic acid 1% จากนั้นนำกระจกไปผึ่งให้แห้ง

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การพัฒนาวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากเมล็ดข้าวสาร

ผลการสกัดดีเอ็นเอจากเมล็ดข้าวกล้องและเมล็ดข้าวสารเมล็ดเดี่ยวๆ โดยการนำเมล็ดข้าวดังกล่าว มาอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (ข้ามคืน) ในสารละลาย extraction buffer ที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง เป็น 8 ที่มีการเติม proteinase K (0.033 mg/ml) และ 0.5% SDS

บดเมล็ดข้าวให้ละเอียด แล้วทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการ CTAB (2x CTAB method) ซึ่งในขั้นตอน CTAB นี้จะเหมือนการสกัดดีเอ็นจากใบข้าว เพียงแต่ใบข้าวจะใช้วิธีการ 1x CTAB method และเมื่อนำดีเอ็นเอที่ได้จากทั้งใบข้าวและเมล็ดข้าวมาตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอบน agarose gel electrophoresis พบว่า ได้ผลผลิตดีเอ็นเอที่มีคุณภาพและปริมาณเพียงพอต่อการจัดทำลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอข้าว อีกทั้งยังเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย และเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัด

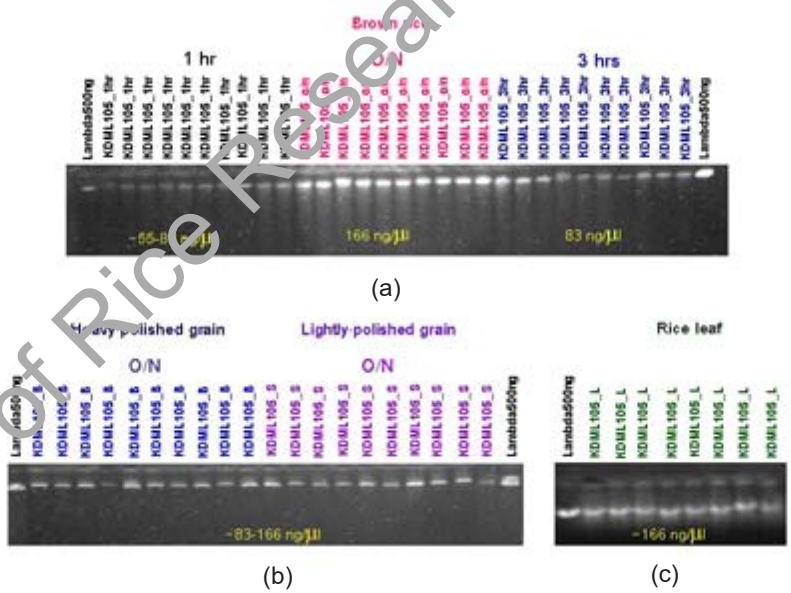


Fig. 1 Agarose gel electrophoresis of DNA from brown rice, heavy-polished grain and lightly-polished grain (a) DNA from a single seed extracted by a proteinase K + extraction buffer in SDS with different incubation time (1 h, 3 h and overnight) (modified from Kang *et al*., 1998) (b) DNA from rice leaf tissue extracted by using 1xCTAB method (modified from Chen and Ronald, 1999). The high DNA products obtained from overnight incubation at 37 °C (c)

Bureau of Rice Research and Development

ดีเอ็นเอจากใบข้าวให้ผลผลิตของดีเอ็นเอที่ไม่แตกต่างกัน คือ ได้ปริมาณ 20-30 ไมโครลิตร ที่ความเข้มข้นดีเอ็นเอ 166 นาโนกรัม/ไมโครลิตร (Fig.1)

2. การสำรวจและทดสอบโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าว

ผลจากการพัฒนาโมเลกุลเครื่องหมาย เพื่อใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าว พบโมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSRs ที่ได้พัฒนาถึงขณะนี้ สามารถแยกพันธุ์ข้าวออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มข้าวที่มีกลิ่นหอม-ไม่หอม กลุ่มข้าวสุกอ่อนนุ่ม-ร่วนแข็ง และกลุ่มข้าวเหนียว ข้าวเจ้า โดยพบว่า B03 ซึ่งเป็นโมเลกุลเครื่องหมายที่อยู่ตำแหน่งเดียวกันกับกลุ่มยีนความหอม และสามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกรุ่นหลานได้ตลอด สามารถแยกข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งเป็นข้าวที่ไม่มีกลิ่นหอม ออกจากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นข้าวที่มีกลิ่นหอม (Fig. 2) ส่วน RM109 ที่มีความสัมพันธ์กับยีนที่ควบคุมคุณภาพการ

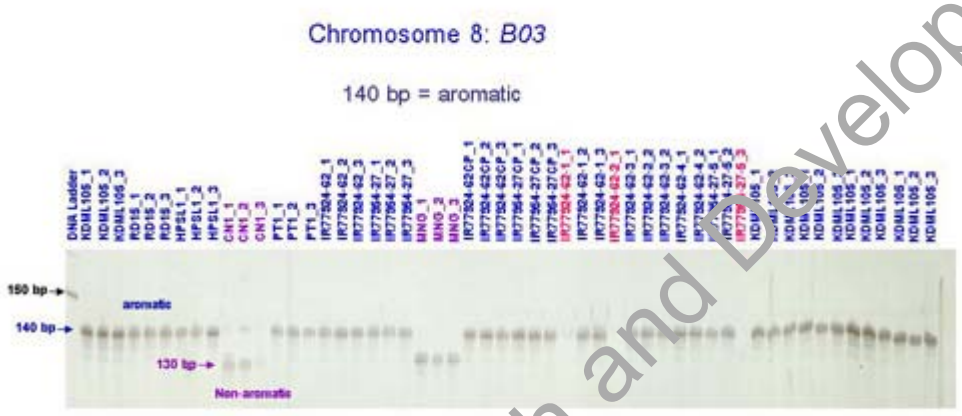


Fig. 2 DNA amplifying with BO3-8F /R primers (Wan chana *et al*., 2005), completely co-segregates the rice grain aroma QTL locating a 4.5 cM region of the chromosome 8. This primer pair amplifying a 140 bp fragment for an aromatic variety, KDML105 and a 130 bp fragment for a non-aromatic variety, CNT1. A 100 bp DNA ladder (Biolabs) was used as a size standard

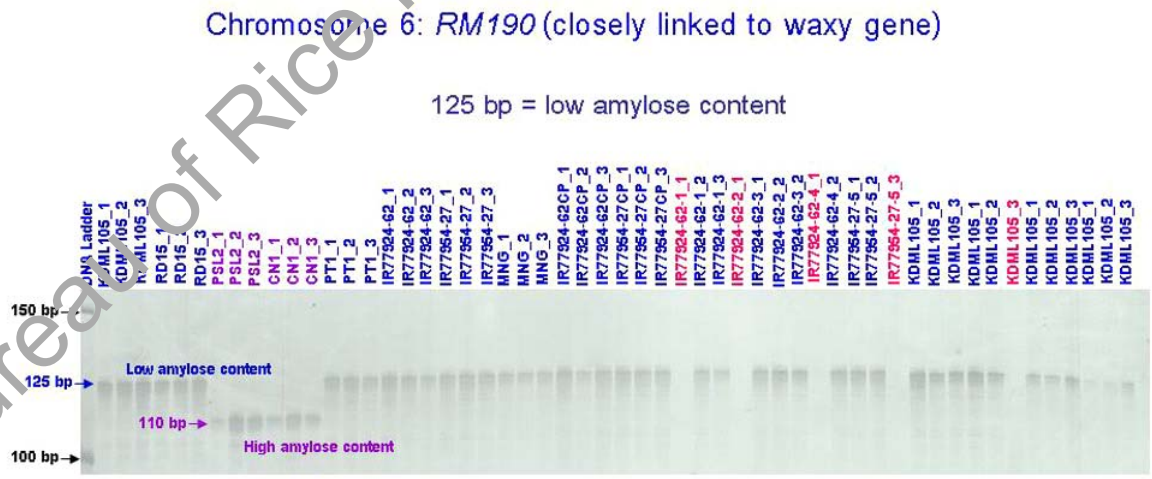


Fig. 3 DNA amplifying with RM190-6F /R primers (McCouch *et al*., 2002), closely-linked to a waxy gene on chromosome 6, distance 8.2 cM. This primer pair amplifying a 125 bp fragment for a low amylose variety, KDML105 and a 110 bp fragments for high amylose varieties, PSL2, CNT1. A 100 bp DNA ladder (Biolabs) was used as a size standard

Bureau of Rice Research and Development

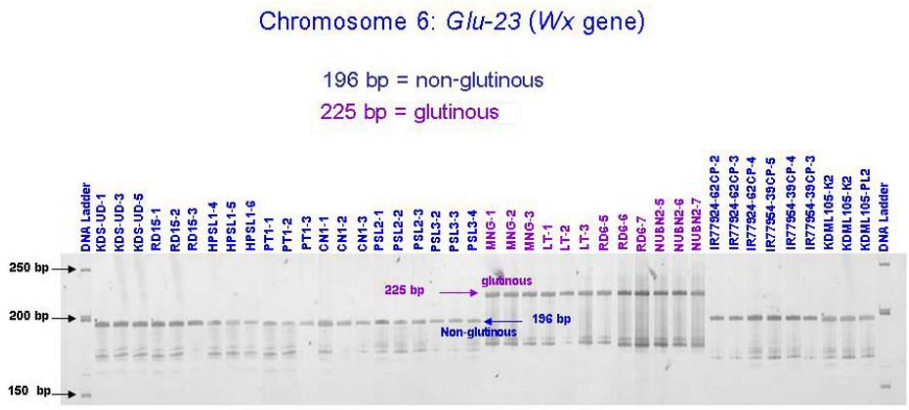


Fig. 4 DNA amplifying Wx allele-specific primers Glu23-6F /R (Wanchana *et al*., 2003) flanking 23 bp on chromosome 6. This primer pair amplifying a 196 bp fragment for a non-glutinous variety, KDML105 and a 225 bp fragments for glutinous varieties, RD6, UBN2. A 100 bp DNA ladder (Biolabs) was used as a size standard

หุงต้มของข้าว (waxy gene) สามารถแยกข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพิษณุโลก 2 ที่เป็นข้าวสุกร่วนแข็ง ออกจากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นข้าวที่มีคุณภาพการหุงต้มดี คือข้าวสุกอ่อนนุ่ม (Fig. 3) และ Glu-23 ซึ่งเป็น Wx allele-specific markers ที่ใช้แยกข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 ออกจากข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (Fig. 4)

อย่างไรก็ตาม ยังมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าวต่อไป เพื่อให้ได้โมเลกุลเครื่องหมายชนิดต่างๆ ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ข้าวต่างๆ ได้ถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นโมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSRs หรือ STSs (sequence tag sites) โดยเฉพาะโมเลกุลเครื่องหมายชนิด STSs ที่ถือว่าเป็นโมเลกุลเครื่องหมายแบบสมบูรณ์ ที่เหมาะจะนำมาใช้ในทุกห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่าย สะดวก และประหยัด ส่วนการทำแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (allele strand) เพื่อให้ได้ข้อมูลแถบดีเอ็นเอมาตรฐานที่สามารถนำมาอ้างอิงในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าวนั้น อยู่ในระหว่างดำเนินการ ซึ่งคาดว่าจะแล้วเสร็จในอนาคตอันใกล้นี้

ผลการศึกษาครั้งนี้ เป็นจุดเริ่มต้นของงานตรวจสอบคุณภาพข้าวด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย เพื่อตรวจสอบความแปรปรวนทางพันธุกรรม และตรวจการปลอมปนของข้าว โดยที่สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีนี้ไปยังห้องปฏิบัติการด้านเทคโนโลยีชีวภาพเครือข่าย เพื่อรองรับระบบการตรวจสอบและรับรองคุณภาพข้าวเพื่อการส่งออก และการสร้างตราสัญลักษณ์ในกลุ่มจังหวัดต่างๆ

สรุปผลการทดลอง

ผลการพัฒนาวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากเมล็ดข้าวกล้องและเมล็ดข้าวสารเมล็ดเดี่ยวๆ ได้ผลผลิตดีเอ็นเอที่มีคุณภาพและปริมาณเพียงพอต่อการจัดทำลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอข้าว อีกทั้งยังเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าวก็ให้ผลผลิตดีเอ็นเอไม่แตกต่างกัน ส่วนผลการสำรวจและทดสอบโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าว พบโมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSRs จำนวน 3 โมเลกุลเครื่องหมายโดยสามารถแยกพันธุ์ข้าวออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มข้าวหอม-ไม่หอม กลุ่มข้าวสุกร่วนแข็ง-ข้าวสุกอ่อนนุ่ม และกลุ่มข้าวเหนียว-ข้าวเจ้า

Bureau of Rice Research and Development

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. ยุทธศาสตร์ข้าว ปี 2547-2551. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 64 หน้า.

หทัยรัตน์ อุไรรงค์, ณัฐหทัย เอพาณิช และเสริมพร กิ่งพุทธิพงศ์. 2546. การวิจัยลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพันธุ์ข้าวไทย. ผลงานวิจัยสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยี ชีวภาพ. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2 หน้า.

DOA Birdo Homepage. 2550. ผลงานวิจัยสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ Database. วันที่ค้นข้อมูล 19 มีนาคม 2550, จาก http://www.doa.go.th/birdo/result47/hatairat.htm

Chen, D.H. and P.C. Ronald. 1999. A rapid DNA minipreparation method suitable for AFLP and others PCR applications, Plant Mol. Bio. Rep. 17 : 53-57.

Kang, H.W., Y.G. Cho, U.H. Yoon and M.U. Eun. 1998. A rapid DNA extraction method for RFLP and PCR analysis from a single dry seed. Plant Mol. Biol. 16 : 1-9.

McCouch, S.R., L. Teytelman,Y. Xu, K.B. Lobos, K. Clare, M. Malton, B. Fu, R. Maghirang, Y. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware and L. Stein. 2002. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Research 9 : 199-207.

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.

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

Bureau of Rice Research and Development

การตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อรา สาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทย

Determination of Pathotype Diversity of Rice Blast Fungal Population in Thailand

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ [1] พยอม โคเบลลี่[1] อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ[2]
ถนอมจิตร์ ฤทธิ์มนตรี[3] กุลชนา เกศสุวรรณ[4] ชนสิริน กลิ่นมณี[5] สงวน เที่ยงดีฤทธิ์ [1]
Poonsak Mekwatanakarn[1] Payorm Cobelli[1] Acharaporn Na Lampang Noenplab[2]
Thanomjit Rithmontree[3] Kulchana Ketsuwan[4] Chanasirin Klinmanee[5] Sangaun Thieng Deerith[1]

Abstract

Rice blast disease is the major disease in rainfed lowland area of Thailand. The causal fungus of this disease is *Pyricularia grisea* Sacc. Variation of this fungus was higher than other rice pathogens. This report used near isogenic lines (NILs) to detect the variation, pathothype and virulence spectrum of the fungus in Thailand during 2002 - 2005. Trap blast nurseries consisted of 9 Thai local cultivars and 18 NILs were conducted at Ubon Ratchathani Rice Research Center, Khon Kaen Rice Research Center, Phrae Rice Research Center, Phitsanulok Rice Research Center, and Phatthalung Rice Research Center. Single conidia was isolated from infected rice leaves. Virulence spectrum of blast populations were screened on 18 NILs. Two thousand four hundred seventy six isolates were classified into 623 pathotypes that could be devided into two groups; 145 common pathotypes and 340 rare pathotypes diversity index of blast population was high (0.83). Common pathotypes had virulence spectrum less than rare pathotypes. Site-specific and season-specific pathogen populations were found in this study. High pathogen diversity was found at Ubon Ratchathani Rice Research Center. Some resistant genes had potential to prevent infection from some pathotypes. However, many pathotypes could be compatible with a single resistant gene. The resistant genes *Pi 1* group (*Pi 1*, *Pi 1(t)*^{LAC}, *Pi 1(t)*^{TTP}, *Pi 1*^{CL}), *Pi k* group (*Pi k, Pi kp, Pi kh*) *Pi ta*^{2}, *Pi 5* and *Pi 9* were effective resistance against many pathotypes. Combinations of resistant genes *Pi 1* - *Pi 9* and *Pi ta*^{2} - *Pi 1*^{CL} were the most effective resistant gene pairs against blast populations in Thailand. This finding can be implemented in breeding for blast resistance in the Thai breeding program.

Keywords: rice blast disease, *Pyricularia grisea* Sacc., pathotype, near-isogenic lines, diversity

---

1) ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ตู้ ป.ณ. 66 อ. เมือง จ. อุบลราชธานี 34000
Ubon Ratchathani Rice Research Center, Muang, Ubon Ratchathani 34000
2) ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก อ. วังทอง จ. พิษณุโลก 65130
Phitsanulok Rice Research Center, Wang Thong, Phitsanulok 65130
3) ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40000
Khon Kaen Rice Research Center, Muang, Khon Kaen 40000
4) ศูนย์วิจัยข้าวแพร่, อ. เมือง จ. แพร่ 54000
Phrae Rice Research Center, Muang, Phrae 54000
5) ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง อ. เมือง จ. พัทลุง 93000
Phatthalung Rice Research Center, Muang, Phatthalung 93000

Bureau of Rice Research and Development

บทคัดย่อ

โรคไหม้ข้าวเป็นโรคที่มีความสำคัญ ทำให้ผลผลิตของข้าวเสียหายมาก เกิดจากเชื้อรา (*Pyricularia grisea* Sacc.) ซึ่งมีความแปรปรวนมากกว่าเชื้อราชนิดอื่น งานวิจัยนี้ได้นำวิธีการใช้พันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยวมาจำแนกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว และความรุนแรงของเชื้อต่อพันธุ์ข้าวมาตรฐาน ดำเนินการทดลองปี พ.ศ. 2545 - 2548 โดยปลูกพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานโรคไหม้ที่แตกต่างกันจากแหล่งต่าง ๆ ในแปลงทดลองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี และสถานีทดลองข้าวขอนแก่น ในภาคเหนือที่ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ ภาคเหนือตอนล่างที่ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก และภาคใต้ที่ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง เก็บตัวอย่างเชื้อโรคไหม้ที่เข้าทำลายใบข้าวและคอรวงในพันธุ์ทดสอบมาตรฐาน โดยวิธีการแยกเชื้อให้ได้สปอร์เดี่ยว แล้วนำเชื้อบริสุทธิ์ไปทดสอบความรุนแรงในการเข้าทำลายของเชื้อบนพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยว 18 สายพันธุ์ จากเชื้อจำนวน 2,476 ไอโซเลท สามารถจำแนกเชื้อได้ 623 สายพันธุ์ แบ่งออกเป็น 145 สายพันธุ์ที่พบประจำ และ 340 สายพันธุ์ที่หายาก ประชากรโรคไหม้ข้าวในประเทศไทยมีความหลากหลายสูงมีค่า 0.83 ยีนต้านทานในข้าวบางพันธุ์แสดงความต้านทานได้เฉพาะพื้นที่และฤดูปลูกข้าว สายพันธุ์ที่พบประจำมีความรุนแรงน้อยกว่าสายพันธุ์ที่หายาก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบเชื้อเข้าทำลายมากที่สุด โดยเฉพาะในศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี สายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ที่พบทั่วไปเป็นประจำทุกภาคของประเทศไทย มีความหลากหลายของเชื้อสูง ยีนต้านทานโรคไหม้ที่มีศักยภาพแสดงความต้านทานต่อเชื้อโรคไหม้ทั่วประเทศ ได้แก่ กลุ่ม *Pi 1* (*Pi 1*, *Pi 1(t)*^{LAC}, *Pi 1(t)*^{TTP}, *Pi 1*^{CL}), กลุ่ม *Pi k* (*Pi k, Pi kp, Pi kh*) ยีนต้านทานที่ดีคือ *Pi ta*^{2}, *Pi 5* และ *Pi 9* คู่ของยีนที่แสดงความต้านทานได้ดีที่สุด ได้แก่ *Pi 1 - Pi 9* และ *Pi ta*^{2} *- Pi 1*^{CL} โดยเชื้อเข้าทำลายคู่ของยีนได้น้อยมาก ควรใช้คู่ของยีนเหล่านี้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคไหม้ และใช้เชื้อที่มีความหลากหลายทั้งทางด้านความรุนแรงและสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ประกอบการทดสอบและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้

คำสำคัญ: โรคไหม้ข้าว เชื้อราสาเหตุ สายพันธุ์เชื้อ ยีนต้านทานเดี่ยว ความหลากหลายของเชื้อ

Bureau of Rice Research and Development

คำนำ

โรคไหม้ข้าว (rice blast disease) เป็นโรคที่มีความสำคัญ ทำให้ผลผลิตของข้าวเสียหายได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เชื้อนี้สามารถเข้าทำลายพืชตระกูลหญ้าได้หลายชนิด ตั้งแต่ข้าว (*Oryza sativa* L.) ข้าวสาลี (*Triticum aestivum*) และพืชตระกูลมิลเล็ท (*Eleusine* spp., *Echinochloa* spp., *Panicum* spp. และ *Setaria* spp.) (Asuyama, 1965; Kato *et al*., 1977) เชื้อรานี้มีการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศซึ่งพบทั่วไป เชื้อที่เข้าทำลายข้าวมีชื่อเรียกว่า *Pyricularia grisea* Sacc. และเรียกชื่อเชื้อโรคไหม้ข้าวในระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศว่า *Magnaporthe grisea* Barr. (Rossman *et al*., 1990)

เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวสามารถเข้าทำลายข้าวได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะออกรวง เชื้อเข้าทำลายข้าวได้ทุกส่วนของต้นข้าว ตั้งแต่ใบ ลำต้น ข้อ และคอรวง ความเสียหายของข้าวในระยะคอรวงจะทำให้น้ำหนักเมล็ดและขนาดเมล็ดลดลง และมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดน้อยลงด้วย (Goto, 1965) นอกจากนี้ยังเพิ่มท้องไข่ ทำให้คุณภาพของเมล็ดลดลง (Katsube and Koshimizu, 1970) ความเสียหายจากโรคนี้ทำให้ผลผลิตลดลงได้ 0.4 - 100 เปอร์เซ็นต์ ประเทศไทยพบการระบาดของโรคไหม้ในระยะข้าวออกรวงในปี พ.ศ. 2535 พื้นที่ 1.2 ล้านไร่ ทำให้ผลผลิตข้าวเสียหาย 60 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นปริมาณ 650,000 ตัน (Disthaporn, 1994)

เชื้อรานี้มีความแปรปรวนของเชื้อมากกว่าเชื้อราชนิดอื่น เชื้อมีการเปลี่ยนแปลงได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาไม่กี่ชั่วอายุ (Ou, 1980) สังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวต้านทานทดสอบ เชื้อมีการกลายพันธุ์ทำให้เกิดสายพันธุ์เชื้อใหม่ ๆ (Giatgong and Frederiksen, 1967; Correa Victoria and

Zeigler, 1993) รูปร่างเชื้อที่แปลกไปตลอดจนความรุนแรงของเชื้อ (Chumley and Valent, 1990; Valent and Chumley, 1994) เชื้อซึ่งเกิดการกลายพันธุ์ดื้อต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในอัตราสูงถึง 10^{-6}- 10^{-7} นอกจากนี้ยังพบว่ามี transposable elements ทำให้เชื้อเกิดการเปลี่ยนแปลงได้รวดเร็ว (Farman *et al*., 1996 a,b) มีการเกิด parasexual recombination ของเชื้อรานี้ (Zeigler *et al.,*1997) รายงานการตรวจสอบเชื้อราโรคไหม้ในประเทศไทยนี้ พบว่ามี mating type ที่แตกต่างกัน ได้แก่ MAT 1-1 และ MAT 1-2 ซึ่งเชื้อสามารถผสมพันธุ์กันได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ (Mekwatanakarn *et al*., 1999)

วิธีการศึกษาและจำแนกเชื้อที่นิยมปฏิบัติคือการปลูกเชื้อลงบนพันธุ์ข้าวมาตรฐานซึ่งใช้จำแนกเชื้อ (Ou, 1980) แต่วิธีนี้มีความแม่นยำน้อย เนื่องจากพันธุ์ข้าวที่ใช้ทดสอบมียีนต้านทานมากกว่าหนึ่งยีนต่อพันธุ์ ทำให้เกิดความแปรปรวนในการทดสอบ อีกทั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบมีความแปรปรวนทำให้ยากแก่การสรุปผล ด้วยเหตุนี้การนำวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการจำแนกเชื้อราโรคนี้ จะให้ผลที่แม่นยำกว่าการใช้วิธีการทดสอบบนพันธุ์ข้าวมาตรฐาน การใช้ลายพิมพ์เอกลักษณ์ ดีเอ็นเอ ในการจำแนกประชากรของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวจึงมีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในอเมริกา (Levy *et al*., 1991) โคลัมเบีย (Levy *et al*., 1993) ฟิลิปปินส์ (Chen *et al*., 1995) จีน (Shen *et al*., 1997), อินเดีย (Kumar *et al*., 1995; Sivaraj *et al*., 1996), ยุโรป (Roumen *et al*., 1997) และ ไทย (Mekwatanakarn *et al*., 2000)

งานวิจัยการศึกษาประชากรเชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยของ Mekwatanakarn และคณะ (2000) พบว่า เชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยมีความแปรปรวนและหลากหลายมากกว่าแหล่งปลูกข้าวอื่นๆ ของโลก เชื้อแตกต่างกันไปตามแหล่งปลูกข้าว ฤดูปลูก และระยะการเจริญเติบโตของข้าว ด้วยเหตุนี้การติดตามความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อโรคไหม้ในแต่ละแหล่งปลูกข้าวจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อทราบการเปลี่ยนแปลงประชากรโรคไหม้ และใช้เป็นข้อมูลในการเลือกใช้ยีนต้านทานในการพัฒนาข้าวต้านทานโรคไหม้ต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาชนิดประชากรของโรคไหม้ตามฐานพันธุกรรม (pathotype) ของข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ โดยใช้ความแตกต่างของความรุนแรงของเชื้อต่อพันธุ์ข้าวมาตรฐานที่มียีนต้านทานเดี่ยวๆ เพื่อการวางแผนในการเลือกใช้ยีนต้านทานต่อโรคไหม้ให้เหมาะสมในแต่ละพื้นที่ของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พันธุ์ข้าวทดสอบโรคไหม้

- พันธุ์ข้าวไทยที่มียีนต้านทานที่ต่างกัน จำนวน 9 พันธุ์ คือ เจ้าแดง กำผาย เหมยนอง 62 เอ็น กข7 กข23 หางยี 71 สุพรรณบุรี 60 ขาวตาแห้ง 17 และขาวดอกมะลิ 105

- สายพันธุ์ข้าว near isogenic line (NILs) มียีนต้านทานเดี่ยว ที่มีพื้นฐานพันธุกรรมมาจากพันธุ์ CO39 และ LTH จำนวน 18 พันธุ์/สายพันธุ์ คือ C101A51, C101LAC, C104LAC, C101PKT, C102PKT, C104PKT, C101TTP, C103TTP, C105TTP-4-L23, CO39, F128-1, F145-2, IRBLk-Ka, IRBLkp-K60, IRBLkh-K3, IRBL1-CL, IRBL5-M และ IRBL9-W

2. ปุ๋ยเคมี สูตร 16-16-8 และแอมโมเนียมซัลเฟต (21% N)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar และอาหารสำหรับสร้างสปอร์ rice polish agar

4. ชุดเครื่องมือเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ หม้อนึ่งความดัน (autoclave) ตู้บ่มเชื้อ (incubator) กล้องจุลทรรศน์ ชุดไฟกระตุ้นการสร้างสปอร์

5. ชุดเครื่องมือสำหรับปลูกเชื้อ ได้แก่ สเปรย์พ่นเชื้อ (Badger-150®) ถังปั๊มลม

6. ตู้ความชื้น (dew chamber) และห้องพัฒนาโรคที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น

7. กระบะปลูกข้าวพลาสติกขนาด กว้าง x ยาว x สูง (24x37x12 ซม.)

วิธีการ

การทดลองที่ 1 การปลูกพันธุ์ข้าวทดสอบโรคไหม้

ปลูกข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ที่มียีนต้านทานโรคไหม้แบบยีนเดี่ยวที่แตกต่างกันจากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) จำนวน 18 พันธุ์/สายพันธุ์ จากพันธุ์ข้าวพื้นเมือง

Bureau of Rice Research and Development

และพันธุ์ข้าวแนะนำของกรมการข้าว จำนวน 9 พันธุ์ โดยปลูกทดสอบแบบสภาพที่ดอน (upland short row technique) ปลูกข้าวพันธุ์ทดสอบสายพันธุ์ละ 1 แถว ยาว 50 ซม. ใช้เมล็ด 5 กรัมต่อแถว ระยะระหว่างแถว 10 ซม. ทุกๆ 10 สายพันธุ์ ปลูกพันธุ์อ่อนแอเปรียบเทียบ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 หรือ กข23 และพันธุ์ต้านทานเปรียบเทียบ พันธุ์หางยี 71 ในแปลงขนาด 1.2 X 25 ม. ใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 16-16-8 อัตรา 40 กก./ไร่

เมื่อข้าวอายุได้ 20 วัน ใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต อัตรา 10 กก./ไร่ ก่อนปลูกพันธุ์ทดสอบ 3 สัปดาห์ ทำการปลูกข้าวล่อเชื้อซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอจำนวน 7 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน ดอยวน กข2 กข4 ขาวตาแห้ง 17 กข23 และ ขาวดอกมะลิ 105 ในแปลงล่อเชื้อ เพื่อเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อโรคไหม้ให้มีปริมาณมากพอในการเข้าทำลายพันธุ์ทดสอบ

เมื่อข้าวอายุได้ 30 วัน ตรวจให้คะแนนการเกิดโรคไหม้ตามมาตรฐานการให้คะแนนการเกิดโรค Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1996) คะแนน 0 = ข้าวต้านทานต่อโรคไหม้ และ 9 = ข้าวอ่อนแอต่อโรคไหม้

การทดลองที่ 2 การตรวจสอบความรุนแรงของเชื้อ

นำเชื้อโรคไหม้ที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อราสูตรสร้างสปอร์ (rice polish agar) 5 วัน เมื่อเชื้อเจริญเต็มอาหารวุ้นแล้วจึงนำใบข้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ววางทับเส้นใย แล้วบ่มเชื้อต่อที่ 25 °ซ. อีก 2 วัน จากนั้นนำเชื้อไปกระตุ้นให้สร้างสปอร์ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ที่ 25 °ซ. เป็นเวลา 3 - 4 วัน แล้วนำมาล้างสปอร์ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ โดยเตรียมน้ำสปอร์ (spore suspension) ให้ได้ความเข้มข้นที่ 5 x 104 สปอร์/ซีซี (ดัดแปลงจาก Chen *et al*., 1995) เพื่อใช้ปลูกเชื้อลงบนใบข้าวที่มีอายุ 21 วัน ต่อไป

พันธุ์ข้าวสำหรับทดสอบการเข้าทำลายของเชื้อใช้สายพันธุ์ข้าว near-isogenic line ที่มียีนต้านทานโรคไหม้ที่มีพื้นฐานพันธุกรรมมาจากพันธุ์ CO39 (Mackill and Bonman, 1992) และ LTH (Ling *et al*., 1995) ซึ่งมียีนต้านทานที่ต่างกันตามสายพันธุ์ต่างๆ มีดังแสดงใน Table 1

ปลูกข้าวทดสอบในกระบะขนาด 24x37x12 ซม. บรรจุดิน 10 กก. โดยใส่ปุ๋ยสูตร 16-16-8 รองพื้นจำนวน 6 กรัม เมื่อข้าวอายุได้ 12 วัน ใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต จำนวน 6 กรัม ปลูกเชื้อโรคไหม้ด้วยสเปรย์พ่นเชื้อ (Badger-150®) ใช้แรงดันลมคงที่ 1.5 กก./ตร.ซม. พ่นน้ำสปอร์ที่ความเข้มข้น 5 x 104 สปอร์/ซีซี จำนวน 30 ซีซี เมื่อข้าวอายุได้ 21 วัน ให้คะแนนการเกิดโรคหลังปลูกเชื้อ 7 วัน ใช้มาตรฐานคะแนนการเกิดโรคระดับ 0 - 5 (Mackill and Bonman, 1992) คะแนน 0 = ข้าวไม่เกิดโรค และ 5 = ข้าวอ่อนแอต่อโรค

ส่วนการให้คะแนนการเกิดโรค เพื่อจัดข้อมูลให้เป็น

Table 1 Resistant gene of near-isogenic lines (NILs)

NILs	Resistant gene	NILs	Resistant gene
1. C101A51	*Pi z-5*	10. CO39	*Pi a*
2. C101LAC	*Pi 1*	11. F128-1	*Pi ta*^{2}
3. C104LAC	*Pi 1(t)*^{LAC}	12. F145-2	*Pi b*
4. C101PKT	*Pi 4*^{a}*(t)*	13. IRBLk-Ka	*Pi k*
5. C102PKT	*Pi 4*^{a}*(t)*^{PKT}	14. IRBLkp-K60	*Pi kp*
6. C104PKT	*Pi 3*	15. IRBLkh-K3	*Pi kh*
7. C101TTP	*Pi 4*^{a}*(t)*^{TTP}	16. IRBL1-CL	*Pi 1*^{CL}
8. C103TTP	*Pi 1(t)*^{TTP}	17. IRBL5-M	*Pi 5*
9. C105TTP-4-L23	*Pi 4*^{b}*(t)*	18. IRBL9-W	*Pi 9*
HY71	resistant check		
KMDL105	susceptible check		

Bureau of Rice Research and Development

binary data จะคิดจากการเกิดโรคระดับ 0 - 3 ถือว่าเชื้อไม่สามารถเข้าทำลายยีนต้านทานได้ (incompatible) และ ระดับ 4 - 5 ถือว่าเชื้อเข้าทำลายยีนต้านทานได้ (compatible) โดยข้อมูลการเกิดโรคที่แปลงเป็น binary data จะใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อ (Shannon diversity index) (Groth and Roelfs, 1987) และการจำแนกสายพันธุ์เชื้อ (pathotype) (Andrivon and de Vallavieille-Pope, 1993)

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองในสภาพแปลงทดลองตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2545 สิ้นสุดเดือนธันวาคม 2548

ภาคเหนือ : ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ และศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ : ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี และสถานีทดลองข้าวขอนแก่น

ภาคใต้ : ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง

แปลงเกษตรกร : ในภาคต่างๆ

ดำเนินการทดสอบโรคไหม้ในห้องปฏิบัติการ ณ ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การปลูกพันธุ์ข้าวทดสอบโรคไหม้

จากการปลูกข้าวพันธุ์ที่มียีนต้านทานต่อโรคไหม้ข้าวที่แตกต่างกันจากชุดข้าวไทย 9 พันธุ์ และชุดข้าว NILs จำนวน 18 พันธุ์/สายพันธุ์ ในพื้นที่ทดสอบโรคไหม้ที่ศูนย์วิจัยข้าวภาคเหนือตอนบนและตอนล่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ พบว่า แหล่งทดสอบโรคไหม้ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี มีความรุนแรงและมีความหลากหลายของเชื้อโรคไหม้มากที่สุด การเข้าทำลายของเชื้อต่อพันธุ์ทดสอบในแต่ละปีมีความแตกต่างกัน ไม่พบยีนต้านทานเดี่ยวใดที่สามารถต้านทานเชื้อได้ดีทุกฤดูกาลที่ทดสอบ โดยเฉพาะในปี พ.ศ. 2547 ที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี พบว่าเชื้อมีความรุนแรงมากที่สุด ชุดข้าวทดสอบปฏิกิริยาของโรคไหม้ทั้งชุดข้าวไทยและชุดข้าว NILs แสดงความแตกต่างของปฏิกิริยาที่เชื้อเข้าทำลายในแปลงทดสอบ เช่นปฏิกิริยาในปี พ.ศ. 2545 ของพันธุ์เหมยนอง 62 เอ็ม หางยี 71 และสุพรรณบุรี 60 ในชุดข้าวไทย และ พันธุ์ C101A51 C103TTP F128-1 และ IRBL9-W ในชุดข้าว NILs พบความแตกต่างของปฏิกิริยาขนาดของแผลที่เกิดขึ้น ซึ่งเกิดจากสายพันธุ์ของเชื้อที่เข้าทำลายที่แตกต่างกัน เห็นได้จากพันธุ์ข้าวมียีนต้านทานต่อโรคไหม้ที่แตกต่างกันยอมให้เชื้อบางสายพันธุ์เข้าทำลายได้ Mekwatanakarn และคณะ (2000) รายงานว่าพันธุ์ข้าวอ่อนแอจะพบจำนวนเชื้อสายพันธุ์ (lineage) เข้าทำลายมากกว่าพันธุ์ต้านทาน (Table 2)

ในปี พ.ศ. 2545 - 2548 ที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี พบเชื้อเข้าทำลายพันธุ์มาตรฐาน ทั้งชุดข้าวไทยและ NILs ที่แตกต่างกัน ในแต่ละฤดูปลูกและชุดข้าวที่ทดสอบ โดยพบเชื้อเข้าทำลายพันธุ์ทดสอบมาตรฐานชุดข้าวไทยมากที่สุดในปี พ.ศ. 2547 และทำลายน้อยสุดในปี พ.ศ. 2548 ในขณะที่พันธุ์ทดสอบมาตรฐานข้าวชุด NILs เชื้อเข้าทำลายใกล้เคียงกันยกเว้นปี พ.ศ. 2546 ที่เชื้อเข้าทำลายข้าวชุด NILs ได้น้อยที่สุด พันธุ์ชุดข้าวไทยทุกพันธุ์มีปฏิกิริยาการเกิดโรคที่แตกต่างกันในแต่ละฤดูปลูก ยกเว้นพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงปฏิกิริยาอ่อนแอสูงสุดระดับ 9 เกือบทุกปี ยกเว้นปี พ.ศ. 2548 ส่วนพันธุ์ข้าวชุด NILs แสดงปฏิกิริยาที่แตกต่างกันในแต่ละฤดูปลูก เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ทดสอบโรคไหม้ที่ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น จะเห็นได้ว่าเชื้อมีความแตกต่างกันในแต่ละฤดูปลูกและมีความรุนแรงของโรคน้อยกว่าพื้นที่ทดสอบโรคไหม้ที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี พันธุ์เหล่านี้ได้นำไปแยกเชื้อบริสุทธิ์ เพื่อจำแนกสายพันธุ์โดยการทดสอบในพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยวในการทดลองที่สอง นอกจากนี้พบว่าเชื้อโรคไหม้ในธรรมชาติมีความแปรปรวนมาก (Fig. 1)

ปี พ.ศ. 2545 - 2548 โรคไหม้ที่ตรวจพบในแปลงทดสอบโรคไหม้ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก พบเชื้อเข้าทำลายพันธุ์ข้าวทดสอบชุดข้าวไทย และชุดข้าวทดสอบ NILs มีความแตกต่างกันทั้งสองฤดูปลูก โดยเฉพาะปี พ.ศ. 2545 พบโรคไหม้มีความรุนแรงมากที่สุด (Table 2)

การที่ประชากรเชื้อโรคไหม้ในประเทศไทย โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี พบว่า มีความหลากหลายและแปรปรวนมากกว่าแหล่งอื่น อาจเนื่องมาจากเชื้อมีวิวัฒนาการร่วมกับพันธุ์ข้าวที่มีความหลากหลาย และอาจเกิดจากการกลายพันธุ์ของเชื้อเอง โดยเห็นได้จากแปลงปลูกข้าวใน

Bureau of Rice Research and Development

Table 2 Blast reaction of Thai rice cultivars and near-isogenic lines at 5 sites in Thailand between 2002 - 2005

Cultivars	Blast reaction													
	KKN				UBN			PRE	PSL				PTL	
	2003	2004	2005	2002	2003	2004	2005	2003	2002	2003	2004	2005	2002	2003
1. Jaow Daeng	2	1	1	7	3	9	1	5	9	-	0	0	-	1
2. Kamphai	3	8	8	9	6	9	3	6	5	-	7	7	-	4
3. MN 62 M	4	2	1	4	4	5	2	1	4	-	4	4	7	4
4. RD7	3	-	6	5	5	9	3	-	4	-	-	-	-	1
5. HY71	4	4	3	3	3	7	2	4	6	-	7	4	5	1
6. SPR60	4	1	1	5	2	4	2	1	7	-	0	0	5	-
7. KTH17	0	2	1	9	4	9	3	5	9	9	5	5	-	1
8. KDML105	6	9	8	9	9	9	6	9	9	8	9	9	5	9
9. RD23	6	1	1	4	4	8	3	1	9	0	4	1	7	4
10. C101A51	3	5	1	7	2	1	3	6	9	4	4	4	5	4
11. C101LAC	0	6	4	9	4	8	5	4	7	5	4	4	-	-
12. C104LAC	-	4	4	6	4	3	5	1	1	5	1	1	-	-
13. C101PKT	7	2	4	8	4	9	5	1	9	6	4	4	7	4
14. C102PKT	0	3	2	9	5	9	5	4	9	7	6	6	-	4
15. C104PKT	3	3	2	9	5	7	5	4	9	7	6	6	-	4
16. C101TTP	0	2	3	8	4	6	6	1	9	7	4	4	7	4
17. C103TTP	6	5	4	6	3	9	6	3	6	4	4	4	5	7
18. C105TTP-4-L23	6	2	3	5	5	4	6	1	9	7	4	4	5	8
19. CO39	6	6	3	9	6	4	6	3	9	9	9	9	5	5
20. F128-1	3	2	1	4	4	1	6	1	9	4	5	5	5	1
21. F145-2	0	9	6	4	6	9	8	5	-	9	5	5	-	1
22. IRBLk-ka	-	2	4	4	4	-	7	2	5	1	1	1	-	1
23. IRBLkp-K60	-	1	3	6	4	8	7	0	4	1	1	-	-	-
24. IRBLkh-K3	-	1	4	6	4	7	7	1	4	1	0	0	-	-
25. IRBL1-CL	-	4	6	7	4	7	8	5	-	1	1	1	-	-
26. IRBL5-M	-	3	5	9	5	9	8	5	-	1	9	9	-	-
27. IRBL9-W	-	6	5	4	4	3	9	2	4	1	7	7	-	-

KKN = Khon Kaen Rice Research Center UBN = Ubon Ratchathani Rice Research Center
PRE = Phrae Rice Research Center PSL = Phitsanulok Rice Research Center
PTL = Phatthalung Rice Research Center - = Ungerminated seed

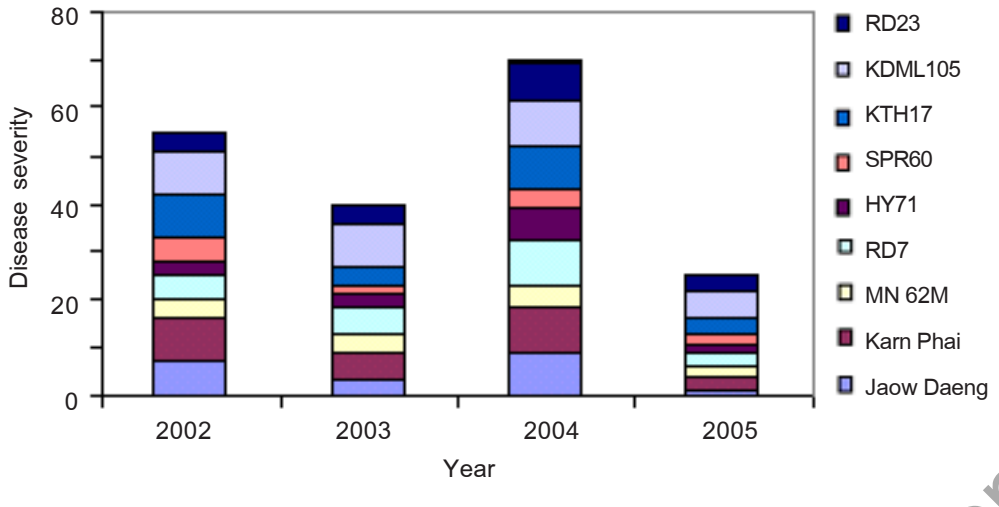
ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีพบสายพันธุ์ของเชื้อมากกว่าในแปลงเกษตรกร

2. การตรวจสอบความรุนแรงของเชื้อ

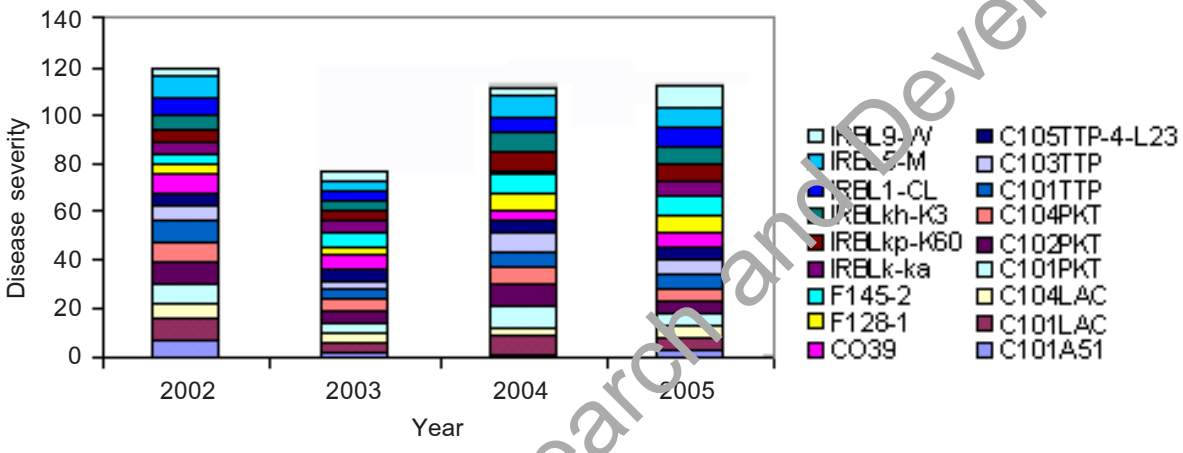
2.1 ความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ข้าว (pathotype diversity)

การทดสอบการเข้าทำลายยีนต้านทาน ในพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยว 18 สายพันธุ์ เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวทั้งระยะกล้าและระยะออกรวงที่เก็บมาจาก ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ในฤดูปลูกปี 2545 - 2547 จำนวน 2,476 ไอโซเลท สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อได้ 623 สายพันธุ์ มีสายพันธุ์เชื้อที่พบเป็นประจำ จำนวน 145 สายพันธุ์ ซึ่งพบมากถึง 80% ของประชากรเชื้อโรคไหม้ที่ตรวจสอบ และมีความรุนแรงของเชื้อ 2.88 (Compatible pathotype (Cp)) ในขณะที่สายพันธุ์ที่หายากและนานๆ จะพบครั้งมีจำนวนมากถึง 444 สายพันธุ์ มีความรุนแรง 5.33 ซึ่งมากกว่าสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ที่พบประจำทุกสายพันธุ์ ดัชนีความหลาก

Bureau of Rice Research and Development



(a) Thai local cultivars



(b) Near Isogenic Lines

Fig. 1 Disease severity of Thai local cultivars (a) and NILs (b) infected by *P. grisea* Sacc. from blast nursery at Ubon Ratchathani site during 2002 - 2005

หลายของสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทยมีสูงถึง 0.83 (Table 3)

ภาคเหนือ ได้ตรวจเชื้อในระยะกล้าในแปลงทดสอบศูนย์วิจัยข้าวแพร่ และแปลงเกษตรกร ปี พ.ศ. 2545 สามารถจำแนกเชื้อได้จำนวน 24 สายพันธุ์ จากเชื้อทั้งหมด 85 ไอโซเลท โดยพบสายพันธุ์เชื้อที่พบประจำ 6 สายพันธุ์ มีความรุนแรงของเชื้อ 4.5 (Cp) ส่วนเชื้อที่หายากจำนวน 18 สายพันธุ์ มีความรุนแรงของเชื้อ 6.88 (Cp) ซึ่งมากกว่าสายพันธุ์ที่พบประจำ ประชากรของเชื้อในภาคเหนือมีความหลากหลายสูง ซึ่งมีดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 0.81 เชื้อที่เก็บมาจากศูนย์วิจัยข้าวแพร่ มีความรุนแรง และความหลากหลายน้อยกว่าเชื้อที่พบในแปลงเกษตรกร ซึ่งต่างจากพื้นที่ที่ทดสอบโรคไหม้พื้นที่อื่น อาจเนื่องมาจากช่วงเวลาที่ทดสอบโรค การจัดการแปลงทดสอบโรคไหม้ และสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ทำให้ปริมาณของสปอร์โรคไหม้ที่มีอยู่ในธรรมชาติไม่สามารถเพิ่มปริมาณในแปลงล่อเชื้อได้มากพอ ซึ่งพันธุ์ข้าวในแปลงล่อเชื้อเหล่านี้ให้สายพันธุ์เชื้อที่หลากหลายสายพันธุ์ในการเข้าทำลายได้อยู่แล้ว ดังนั้นเมื่อการเกิดโรคในแปลงล่อเชื้อไม่ดีพอ ปริมาณสปอร์ที่สร้างจากข้าวดักเชื้อในแปลงล่อเชื้อน้อย จึงทำให้โอกาสที่เชื้อโรคไหม้เข้าทำลายข้าวในแปลงทดสอบของศูนย์วิจัยข้าวแพร่น้อยกว่าในแปลงเกษตรกร (Table 3)

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้ตรวจสอบสายพันธุ์

Bureau of Rice Research and Development

เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 1,546 ไอโซเลท ในแปลงทดสอบโรคศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ฤดูปลูกปี 2545 - 2547 ทั้งในระยะกล้าและระยะออกรวง สามารถจำแนกเชื้อได้ 313 สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ที่พบประจำ 92 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่หายาก 221 สายพันธุ์ เชื้อที่พบประจำมีความรุนแรง 3.58 (Cp) ซึ่งน้อยกว่าสายพันธุ์ที่หายากมีความรุนแรง 5.40 (Cp) ประชากรของเชื้อในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความหลากหลายสูงถึง 0.85 ความหลากหลายของเชื้อที่พบในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตของข้าวในแต่ละปีมีความแตกต่างกัน ดัชนีความหลากหลายของเชื้อที่พบในระยะข้าวออกรวงทั้งปี พ.ศ. 2545 และ 2547 สูงกว่าเชื้อที่พบในระยะกล้า ในขณะที่ความหลากหลายของเชื้อที่พบในระยะกล้าและออกรวง ในปี พ.ศ. 2546 ไม่แตกต่างกัน สำหรับความรุนแรงของเชื้อที่พบเป็นประจำและเชื้อที่หายากในปี พ.ศ. 2545 - 2547 เชื้อที่พบในระยะกล้ามีความรุนแรงมากกว่าเชื้อที่พบในระยะออกรวง ยกเว้นเชื้อที่พบประจำ ในปี พ.ศ. 2547 ความรุนแรงของเชื้อทั้งในระยะกล้าและออกรวงใกล้เคียงกัน

แปลงเกษตรกรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ฤดูปลูก

Table 3 Pathotype diversity and virulent level of blast populations from different regions of Thailand during 2002 - 2005

Region/Year	Growth stage	Number of isolate	Number of pathotype	Common pathotype	Cp	Rare pathotype	Cp	Pathotype diversity
North	LB	80	24	6	4.5	18	6.33	0.81
2003	LB	64	14	5	1.8	7	3.67	0.72
Farmer field	LB	16	11	2	1.5	9	6.33	0.87
Northeast	LB & NB	1546	313	92	3.58	221	5.4	0.85
2002	LB	109	69	16	4.9	53	6.83	0.88
	NB	14	12	2	1.33	10	4.29	0.93
2003	LB	113	64	15	4.5	49	5.31	0.84
	NB	196	62	16	3	46	3.78	0.82
2004	LB	417	146	49	4.59	97	6.92	0.78
	NB	134	100	15	5.13	85	5.64	0.91
2005	LB	563	91	29	1.6	63	5	0.79
Farmer field	LB & NB	405	90	31	2.26	67	3.65	0.88
2002	LB	26	14	2	2	19	3.21	0.93
	NB	13	12	1	3	11	3.82	0.96
2003	LB	30	20	4	3.75	16	4.15	0.87
	NB	166	45	17	2.82	28	4.21	0.71
2004	LB	23	22	1	1	21	4.52	0.98
2005	LB	147	11	2	1	9	2	0.82
Central	LB	118	72	22	2.99	50	5.06	0.83
2002	LB	47	36	6	5	30	8.23	0.9
2003	LB	63	25	9	2.22	16	3.44	0.75
2004	LB	48	22	11	3.73	11	4.45	0.68
2005	LB	27	13	2	1	11	4.1	1
South	LB	327	124	36	5.61	88	6.22	0.8
2002	LB	35	17	5	7.8	12	8.17	0.78
2003	LB	292	113	33	5.45	80	6.84	0.8
Total population	LB & NB	2476	623	145	2.88	444	5.33	0.83

Cp = Compatible number per pathotype

LB = Leaf blast NB = Neck blast

Bureau of Rice Research and Development

ปี พ.ศ. 2545 - 2548 จากการตรวจสอบเชื้อทั้งในระยะกล้า และออกรวง จำนวน 405 ไอโซเลท สามารถจำแนกเชื้อได้ 90 สายพันธุ์ พบเชื้อที่ตรวจพบประจำ 31 สายพันธุ์ มีความรุนแรง 2.26 (Cp) และพบเชื้อหายาก 67 สายพันธุ์ ซึ่งมีความรุนแรง 3.65 (Cp) ส่วนความหลากหลายของประชากรเชื้อคือ 0.88 ในปี พ.ศ. 2545 พบสายพันธุ์เชื้อที่พบเป็นประจำในระยะกล้า และออกรวง จำนวน 2 และ 1 สายพันธุ์ ซึ่งมีความรุนแรงของเชื้อ 2 และ 3 (Cp) ตามลำดับ ในขณะที่ ปี พ.ศ. 2547 พบเพียง 1 สายพันธุ์ พบความรุนแรงน้อยระดับ 1 (Cp) โดยเข้าทำลายได้เฉพาะยีนต้านทาน Pi a ในพันธุ์ CO39 เท่านั้น (Table 3)

ภาคกลาง ตรวจสอบเชื้อโรคไหม้ในระยะกล้า ปี พ.ศ. 2545 - 2548 จำนวน 118 ไอโซเลท สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อได้ 72 สายพันธุ์ ในจำนวนนี้เป็นสายพันธุ์ที่พบประจำ 22 สายพันธุ์ โดยมีค่าความรุนแรง ระดับ 4 (Cp) และพบสายพันธุ์ที่หายาก 50 สายพันธุ์ มีค่าระดับความรุนแรงของเชื้ออยู่ที่ 6.56 (Cp) ประชากรของเชื้อโรคไหม้นี้มีความหลากหลายสูงคือ 0.80 ประชากรของเชื้อที่พบประจำในภาคกลางนี้มีความรุนแรงน้อยกว่าเชื้อที่หายาก เช่นเดียวกันกับภาคอื่นๆ ความรุนแรงของเชื้อเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูปลูกโดยเฉพาะในปี พ.ศ. 2545 พบเชื้อ

มีความรุนแรงมากที่สุด คือระดับ 5 (Cp) ของเชื้อที่พบประจำ และค่าความรุนแรงระดับ 8.23 (Cp) ของเชื้อที่หายาก และมีความหลากหลายของเชื้อสูงมีค่าเท่ากับ 0.90 (Table 3)

ภาคใต้ ดำเนินการตรวจสอบเชื้อที่เก็บมาจากแปลงทดสอบโรคไหม้ที่ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง ปี พ.ศ. 2545 - 2546 ของข้าวในระยะกล้า จำนวน 327 ไอโซเลท สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ได้ 124 สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ที่พบประจำ 36 สายพันธุ์ เชื้อมีค่าความรุนแรง 5.61 (Cp) และสายพันธุ์ที่หายาก 88 สายพันธุ์ มีค่าความรุนแรงเท่ากับ 6.22 (Cp) และมีความหลากหลายของสายพันธุ์ของประชากรภาคใต้เท่ากับ 0.80 ความรุนแรงของเชื้อในปี พ.ศ. 2545 มากกว่าเชื้อที่พบในปี พ.ศ. 2546 (Table 3)

2.2 ยีนต้านทานกับความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้

ความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ ในแต่ละภาคมีความแตกต่างกัน แต่ภาคใต้มีแนวโน้มความรุนแรงมากที่สุด เชื้อจากทุกภาคสามารถเข้าทำลายยีนต้านทาน *Pi 4^{b}(t)*, *Pi a* และ *Pi b* ส่วนเชื้อจากภาคใต้สามารถเข้าทำลายยีนต้านทาน *Pi 4^{a}(t)*, *Pi 4^{a}(t)^{PKT}*, *Pi 3*, และ *Pi 4^{a}(t)^{TTP}* และพบมากกว่าภาคอื่น โดยพบ 48 - 63

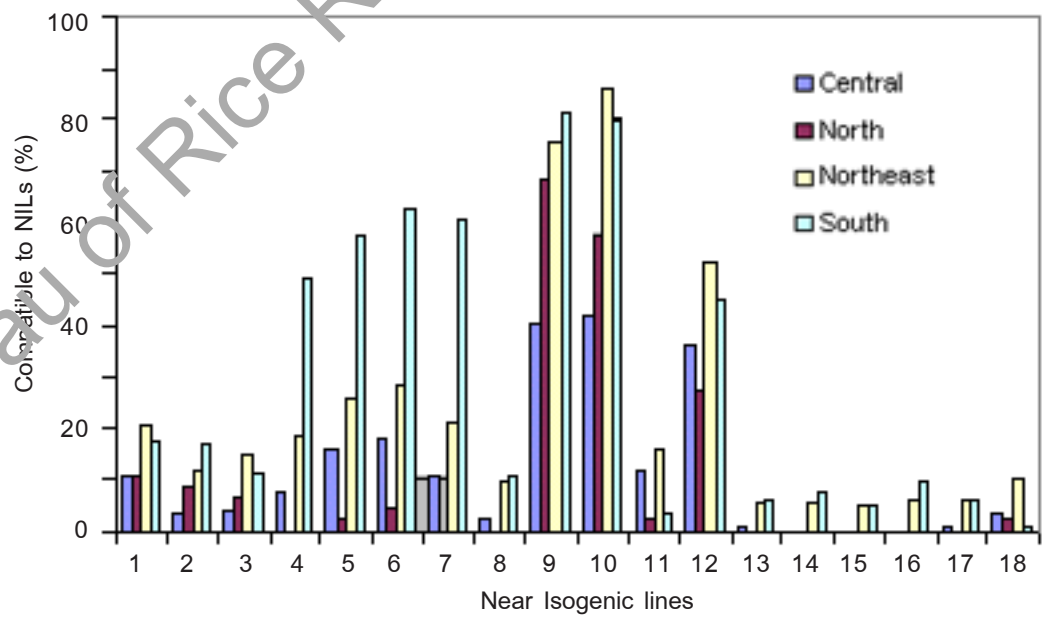


Fig. 2 Disease severity percentage of 18 NILs infected by *P. grisea* Sacc. from trap blast nurseries at 4 different regions of Thailand during 2002 - 2005

Bureau of Rice Research and Development

เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบเชื้อสามารถเข้าทำลายยีนต้านทาน *Pi k, Pi kp, Pi kh, Pi 1^{CL}* และ *Pi 5* ซึ่งพบมากในเชื้อที่มาจากภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงเหนือเท่านั้น ในขณะที่เชื้อในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีความรุนแรงรองลงมา แต่พบเชื้อสามารถเข้าทำลายได้ทุกยีนต้านทานทั้ง 18 ยีน ส่วนเชื้อในภาคกลางสามารถเข้าทำลายยีนต้านทานส่วนใหญ่ แต่พบน้อยมากที่จะเข้าทำลายยีนต้านทาน *Pi k, Pi kp, Pi kh, Pi 1^{CL}* และ *Pi 5* สำหรับเชื้อในภาคเหนือสามารถเข้าทำลายยีนต้านทานทั้ง 18 ยีน ได้น้อยที่สุด (Fig. 2)

2.3 ความหลากหลายต่อพันธุ์ข้าวและการกระจายตัวของสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้

สายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ที่พบประจำทุกภาคในประเทศไทยมีจำนวน 10 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ P1536 พบมากที่สุดมีจำนวนมากถึง 170 ไอโซเลท สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวได้มากถึง 45 พันธุ์/สายพันธุ์ ซึ่งมีความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อต่อการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวสูงถึง 0.92 สายพันธุ์นี้มีความรุนแรงน้อยเข้าทำลายยีนต้านทานได้เพียง 2 ยีนเท่านั้น สายพันธุ์ P0 และ P1664 พบมากรองลงมามีจำนวน 159 และ 151 ไอโซเลท ตามลำดับ สายพันธุ์ P0 ไม่มีความรุนแรงในการเข้าทำลายยีนต้านทาน แต่มีความหลากหลายของเชื้อ 0.66 พบเชื้อมาจาก 57 พันธุ์/สายพันธุ์ ในขณะที่สายพันธุ์ P1664 มีความรุนแรงน้อยสามารถเข้าทำลายยีนต้านทานได้ 3 ยีน และมีความหลากหลาย 0.68 พบเชื้อสายพันธุ์นี้มาจาก 53 สายพันธุ์ สำหรับสายพันธุ์ P9856, P62976, P63104 และ P2[illegible]98 มีความรุนแรงสูงระดับ 4 - 7 (Cp) และมีความหลากหลายสูงเช่นเดียวกัน (Table 3)

จากการศึกษาประชากรเชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยของ Mekwatanakarn และคณะ (2000) พบว่า เชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยมีความแปรปรวนและหลากหลายมากกว่าแหล่งปลูกข้าวอื่นๆ ของโลก เชื้อมีความแตกต่างไปตามแหล่งปลูกข้าว ฤดูปลูก ระยะการเจริญเติบโตของข้าว ความแปรปรวนของเชื้อโรคไหม้ข้าวนี้อาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ ซึ่งสาเหตุหลักคือการกลายพันธุ์ของเชื้อ (mutation) โอกาสที่เชื้อจะเกิดการกลายพันธุ์มีสูงเนื่องจากสร้างสปอร์ (conidia) ปริมาณมากนับล้านๆ สปอร์บนใบข้าวที่เป็นโรคปลิวไปในอากาศ แสง UV ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในการสร้างเม็ดสี melanin ที่น้อยลงซึ่งมีผลต่อการเข้าทำลายข้าว การกลายพันธุ์อยู่ในช่วง 0.01 - 0.1% ของเชื้อที่รอดจากการได้รับแสง UV (Bell and Wheeler, 1986) และยังพบการกลายพันธุ์ของเชื้อโรคไหม้ให้มีความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในอัตราความถี่ 10^{6} - 10^{7} (Chumley and Valent, 1990) จะเห็นได้ว่าเชื้อโรคไหม้เกิดการกลายพันธุ์เพียงเล็กน้อย (0.01 - 0.1%) เมื่อเทียบกับจำนวนสปอร์ที่เชื้อโรคไหม้สร้างขึ้นในปริมาณมาก ทำให้โอกาสที่จะพบเชื้อใหม่เปลี่ยนแปลงตามฤดูปลูกข้าวและสถานที่ที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ เชื้อโรคไหม้อาจเกิดการปรับตัวเข้ากับพันธุ์ข้าวที่หลากหลาย ทำให้มีโอกาสเกิดเชื้อสายพันธุ์ใหม่ได้เช่นเดียวกัน อีกทั้งตัวเชื้อเองสามารถเกิดการรวมตัวของยีนแบบ parasexual recombination ซึ่งเกิดจากการแลกเปลี่ยนหน่วยพันธุกรรมของเชื้อในระยะของการแบ่งเซลล์แบบ mitosis แสดงว่าการเกิด parasexual ทำให้เชื้อที่พบในธรรมชาติเกิดการแปรปรวนได้หลายแบบ (Zeigler *et al.*, 1997) อีกประการหนึ่งที่ทำให้เชื้อโรคไหม้เกิดการแปรปรวนได้แก่ การเคลื่อนย้ายประชากร (migration) จากแหล่งหนึ่งไปสู่แหล่งปลูกข้าวอีกที่หนึ่ง ทำให้ตรวจพบสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ที่แตกต่างจากที่มีอยู่เดิม

ผลงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่า พื้นที่ทดสอบโรคไหม้ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีเป็นแหล่งที่มีความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวมากที่สุด ซึ่งมีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นพื้นที่ทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์ข้าวต่อโรคไหม้ โดยเฉพาะเป็นตัวแทนประชากรเชื้อโรคไหม้ในสภาพนาน้ำฝนในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ผลการทดสอบและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ในแปลงทดสอบโรคไหม้ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี มีแนวโน้มที่จะมีความต้านทานในพื้นที่ต่างๆ ของสภาพนาน้ำฝนภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

2.4 ยีนต้านทานที่มีต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคไหม้

เมื่อเปรียบเทียบความรุนแรงของการเข้าทำลายโดยเชื้อโรคไหม้กับคู่ของยีนต้านทานที่สามารถแสดงความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว พบว่า ค่า

Bureau of Rice Research and Development

Table 4 Common pathotype diversity and virulent level of *P. grisea* Sacc. collected from trap blast nursery from different region of Thailand during 2002 -2005

Pathotype	Number	Pathotype diversity	Compatible/ pathotype (Cp)	Number of cultivars
P0	159	0.66	0	57
P128	84	0.66	1	38
P512	50	0.84	1	30
P640	33	0.9	2	20
P1024	22	0.91	1	16
P1536	170	0.92	2	45
P1664	151	0.68	3	53
P9856	19	0.85	4	14
P62976	37	0.74	6	20
P63104	54	0.76	7	31
P263808	28	0.81	4	12

Table 5 Frequency percentage of *P. grisea* isolates compatible to Pi genes (diagonal), observed and expected frequency percentages of compatibility for diallele pairs of these genes among 5 sites in Thailand

Expected		Observed																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1. *Pi z5*	1	18.7	4.6	7	6.2	8.2	8.7	8.1	2.5	16.4	17.9	2.3	12.7	1.4	1	0.8**	1	1	3.3
2. *Pi 1*	2	15.9	13	4	5.4	6.2	6.5	6.1	4.6	11.6	12.1	1.3	7.6	3.7	3.8	3.1	4.2	3.6	0.5**
3. *Pi 1(t)*^{LAC}	3	16.4	13.5	14	7.2	7.6	8.5	7.4	1.3	12.5	13	2.4	9.9	0.8**	0.8**	0.8**	0.7**	0.9*	3.1
4. *Pi 4a(t)*	4	21.4	18.5	19	24	20.8	21.3	19.7	3.2	22.2	22.4	4.1	14.5	2.2	2.4	1.8	2.4	2.1	2.5
5. *Pi 4a(t)*^{PKT}	5	25.9	23	23.5	28.5	33	34.1	24.1	4.1	30.5	30.7	6	18.2	2.7	2.4	1.6	2.7	2.3	3.4
6. *Pi 3*	6	27.4	24.5	25	30	34.5	36	25.5	4.3	32.6	34	6.6	20.4	2.7	2.8	1.9	3	2.8	3.5
7. *Pi 4a(t)*^{TTP}	7	23.9	21	21.5	26.5	31	32.5	29	4.1	27.3	27.9	4.8	17	2.4	2.4	1.6	2.9	2.4	2.6
8. *Pi 1(t)*^{TTP}	8	14	11.2	11.7	16.7	21.2	22.7	19.2	9.3	8.1	7.8	1.2	4.8	3.4	3.7	3.3	4.2	3.7	0.7**
9. *Pi 4b*	9	47.3	44.5	45	50	54.5	56	52.5	42.6	75.9	72	9.8	43.9	5.2	5.1	4.2	5.1	5.1	6.8
10. *Pi a*	10	50.7	47.8	48.3	53.3	57.8	59.3	55.8	46	79.3	82.6	10.2	46.9	5.5	5.3	4.3	5.8	5.5	7.5
11. *Pi ta*^{2}	11	15.9	13	13.5	18.5	23	24.5	21	11.2	44.5	47.8	13	8.2	0.8*	0.6**	0.6**	0.5**	0.8**	2.5
12. *Pi b*	12	34.1	31.5	32	37	41.5	43	39.5	29.7	63	66.3	31.5	50	4.2	4.1	3.2	3.8	3.9	7
13. *Pi k*	13	12.9	9.4	9.9	14.9	19.4	20.9	17.4	7.6	40.9	44.2	9.4	27.9	5.8	4.3	3.1	3.6	3.4	0.9*
14. *Pi kp*	14	12.3	9.4	9.9	14.9	19.4	20.9	17.4	7.6	40.9	44.2	9.4	27.9	5.8	5.8	3.8	3.9	3.5	1
15. *Pi ku*	15	11.6	8.8	9.3	14.3	18.8	20.3	16.8	6.9	40.2	43.6	8.8	27.3	5.2	5.2	4.5	3.9	3	0.8**
16. *Pi 11*	16	12.6	9.7	10.2	15.2	19.7	21.2	17.7	7.9	41.2	44.5	9.7	28.2	6.1	6.1	5.5	6.4	3.9	0.8**
17. *Pi 5*	17	12.3	9.5	10	15	19.5	21	17.5	7.6	40.9	44.3	9.5	28	5.9	5.9	5.2	6.2	5.9	0.9*
18. *Pi 9*	18	13.4	10.6	11.1	16.1	20.6	22.1	18.6	8.7	42	45.4	10.6	29.1	7	7	6.3	7.3	7	8.1

* Significant different at $p \leq 0.05$ by Chi-square test with df (1)

** Significant different at $p \leq 0.01$ by Chi-square test with df (1)

Bureau of Rice Research and Development

สังเกต (observed) มีค่าน้อยกว่าค่าคาดหมาย (expected) ในทุกๆ ยีนต้านทาน ยีนต้านทานเดี่ยวที่สามารถแสดงความต้านทานเชื้อได้น้อยกว่า 10 % ได้แก่ *Pi 1(t)*^{TTP}, *Pi k, Pi kp, Pi kh, Pi 1*^{CL}, *Pi 5* และ *Pi 9* ส่วนคู่ของยีนที่แสดงความต้านทานได้ดีที่สุดซึ่งพบเชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.5 % ของเชื้อทั้งหมด ได้แก่ คู่ของยีน *Pi 1 - Pi 9* และ *Pi ta* ^{2} *- Pi 1*^{CL} รองลงมาได้แก่ คู่ของยีนที่เชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.6 % ได้แก่ *Pi ta* ^{2} *- Pi kp* และ *Pi ta* ^{2} *- Pi kh* และคู่ของยีนที่เชื้อเข้าทำลายได้ไม่เกิน 0.7 % ได้แก่ *Pi 1(t)*^{LAC} *- Pi 1*^{CL} และ *Pi 1(t)*^{TTP} *- Pi 9* คู่ของยีนที่น่าสนใจที่แสดงความต้านทานต่อเชื้อได้ดีพอสมควรซึ่งเชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.8 % ได้แก่ คู่ของยีน *Pi z5 - Pi kh, Pi 1(t)*^{LAC} *- Pi k, Pi 1(t)*^{LAC} *- Pi kp, Pi 1(t)*^{LAC} *- Pi kh, Pi ta*^{2} *- Pi k* และ *Pi ta*^{2} *- Pi 5* นอกจากนี้ยังมีคู่ของยีนต้านทานเชื้อโรคไหม้ที่พบเชื้อเข้าทำลายได้ 0.9 % คือคู่ของยีน *Pi 1(t)*^{LAC} *- Pi 5, Pi k - Pi 9* และ *Pi 5 - Pi 9* (Table 5) การนำคู่ของยีนต้านทานเหล่านี้ไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อประชากรโรคไหม้ในประเทศไทย น่าจะเป็นแนวทางที่ให้ผลคุ้มค่าในระยะยาว โดยสามารถลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรค และลดมลภาวะที่มีผลต่อสิ่งแวดล้อมด้วย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. แหล่งปลูกข้าวศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีเป็นแหล่งที่มีความแปรปรวน และมีความหลากหลายของเชื้อโรคไหม้มากที่สุด เหมาะสำหรับใช้เป็นพื้นที่ในการทดสอบและคัดเลือกพันธุ์ต้านทานต่อโรคไหม้ ชุดข้าวไทยที่แสดงความต้านทานต่อบางสายพันธุ์ของเชื้อในบางแหล่งปลูกข้าว ได้แก่ กุพรรณบุรี 60 หางยี 71 และ เหมยนอง 62 เอ็ม ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมความต้านทานโรคไหม้ข้าวในการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคไหม้ต่อไป

2. เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเชื้อมีความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อมากที่สุด โดยเฉพาะศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีเป็นแหล่งที่พบสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ (pathotype) มากที่สุด ส่วนเชื้อในภาคเหนือเป็นหน่วยย่อยของเชื้อภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประโยชน์จากการค้นพบนี้ คือ การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อต้านทานโรคไหม้ของทั้งสองภาค สามารถใช้ข้อมูลการทดสอบโรคไหม้ร่วมกันในการพิจารณาสายพันธุ์ข้าวที่ต้านทานโรคไหม้ในสภาพนาน้ำฝน อันจะเป็นประโยชน์กับโครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวนาสวนนาน้ำฝนในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

3. พบคู่ของยีนที่แสดงความต้านทานต่อโรคไหม้ได้ดี นักปรับปรุงพันธุ์ข้าวสามารถนำไปใช้เป็นพ่อ-แม่ ในการผสมพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคไหม้ โดยมีคู่ของยีนที่แสดงความต้านทานได้ดีพบเชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.5% ของเชื้อทั้งหมด คือ คู่ของยีน *Pi 1 - Pi 9* และ *Pi ta* ^{2} *- Pi 1*^{CL} คู่ของยีนที่เชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.6% คือ *Pi ta* ^{2} *- Pi kp* และ *Pi ta* ^{2} *- Pi kh* และคู่ของยีนที่เชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.7 % คือ *Pi 1(t)*^{LAC} *- Pi 1*^{CL} และ *Pi 1(t)*^{TTP} *- Pi 9* ดังนั้น คู่ของยีนเหล่านี้น่าจะนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคไหม้ โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายมาคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคไหม้ ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือก โดยช่วยลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ให้เร็วขึ้นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Andrivon, D. and C. de Vallavieille-Pope. 1993. Racial diversity and complexity in regional populations of *Erysiphe graminis* f. sp. hordei in France over a 5-year period. Plant Pathology 42 : 443-464.

Asuyama, H. 1965. Morphology, taxonomy, host range, and life cycle of *Pyricularia oryzae*. pp. 9-22. *In :* The Rice Blast Disease - Proceedings of a Symposium at IRRI. John Hopkins Press, Baltimore, Maryland, USA.

Bell, A.A. and M.H. Wheeler. 1986. Biosynthesis and functions of fungal melanins. Annual Rev. Phytopathol. 24 : 441-451.

Chen, D.H., R.S. Zeigler, H. Leung and R.J. Nelson. 1995. Population structure of *Pyricularia grisea* at two screening sites in the Philippines. Phytopathology 85 : 1011-1020.

Chumley, F.G. and B. Valent. 1990. Genetic analysis of melanin deficient, nonpathogenic mutants of *Magnaporthe grisea*. Mol. Plant Microbe Interaction 3 : 135-143.

Correa Victoria, F.J. and R.S. Zeigler. 1993. Pathogenic variability in *Pyricularia grisea* at a rice blast "hot spot" breeding site in eastern Colombia. Plant Dis.

Bureau of Rice Research and Development

77 : 1029-1035.

Disthaporn, S. 1994. Current rice blast epidemics and their management in Thailand. pp. 333-342. *In:* R.S. Zeigler, S.A. Leong and P.S. Teng. (eds.). Rice Blast Disease. CAB International, Wallingford, Oxon, U.K.

Farman, M.L., S. Taura and S.A. Leong. 1996a. The *Magnaporthe grisea* DNA fingerprinting probe MGR586 contains the 3' end of an inverted repeat transposon. Mol. Gen. Genet. 251 : 675-681.

Farman, M.L., Y. Tosa, N. Nitta and S.A. Leong. 1996b. MAGGY, a retrotransposon in the genome of the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. Mol. Gen. Genet. 251 : 665-674.

Giatgong, P. and R.A., Frederiksen. 1967. Variation in pathogenicity of *Piricularia oryzae*. Phytopathology 57: 460 (Abstract).

Goto, K. 1965. Estimating losses from rice blast in Japan. pp. 195-202. *In :* The Rice Blast Disease - Proceedings of a Symposium at IRRI. John Hopkins Press, Baltimore, Maryland, USA.

Groth, J. V. and A.P. Roelfs. 1987. The concept and measurement of phenotypic diversity in *Puccinia graminis* on wheat. Phytopathology 77 : 1395-1399.

International Rice Research Institute. 1996. Standard Evaluation System for Rice. 4th ed., International Rice Research Institute, P.O. Box 933, Manila, The Philippines. 54 p.

Kato, H., T. Yamaguchi and N. Nishihara. 1977. Seed transmission, pathogenicity and control of ragi blast fungus and susceptibility of ragi to *Pyricularia* spp. from grasses, cereals and miloga. Ann. Phytopath. Soc. Jap. 43 : 392-401.

Katsube, T. and Y. Koshimizu. 1970. Influence of blast disease on harvests of rice plants. 1. Effect of panicle infection on yield components and quality. Bull. Tohoku Agric. Expt. Sta. 39 : 55-96.

Kumar, J., R.J. Nelson and R.S. Zeigler. 1995. Population structure of *Magnaporthe grisea* in the central Himalayas of India. Phytopathology 85 : 1201 (Abstr.)

Levy, M., J. Romao, M.A. Marchetti and J.E. Hamer. 1991. DNA fingerprinting with a dispersed repeated sequence resolves pathotype diversity in the rice blast fungus. Plant Cell 3 : 95-102.

Levy, M., F.J. Correa Victoria, R.S. Zeigler, S. Xu and J.E. Hamer. 1993. Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease screening nursery in Colombia. Phytopathology 83 : 1427-1433.

Ling, Z.Z., T.V. Mew, J. Wang, C. Lei and N. Huang. 1995. Development of near-isogenic lines as international differentials of the blast pathogen. International Rice Research Notes 20 (1) : 13.

Mackill, D.J. and J.M. Bonman. 1992. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. Phytopathology 82 : 746-749.

Mekwatanakarn, P., W. Kositratana, T. Phromraksa and R.S. Zeigler. 1999. Sexually fertile *Magnaporthe grisea* rice pathogens in Thailand. Plant Dis. 83 : 939-943.

Mekwatanakarn, P., W. Kositratana, M. Levy and R.S. Zeigler. 2000. Pathotype and avirulence gene diversity of *Pyricularia grisea* in Thailand as determined by rice lines near-isogenic for major resistance genes. Plant Dis. 84 : 60-70.

Ou, S.H. 1980. Pathogen variability and host resistance in rice blast disease. Annu. Rev. Phytopathology 18 : 167-187.

Rossman, A.Y., R.J. Howard and B. Valent. 1990. *Pyricularia grisea*, The correct name for the rice blast disease fungus. Mycologia 82 : 509-512.

Roumen, E., M. Levy and J.L. Nottegham. 1997. Characterization of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA fingerprinting and pathotype analysis. European J. Pl. Path. 103 : 363-371.

Shen, Y., J. Manry and P. Zhu. 1997. Genetic diversity and pathotype virulence of the rice blast fungus in China, p. 138. *In :* General Meeting of the International Program on Rice Biotechnology. Rockefeller Foundation, Malacca, Malaysia. (Abstr.).

Sivaraj, R., S. Gnanamanickam and M. Levy. 1996. Studies on the genetic diversity of *Pyricularia grisea*: a molecular approach for management of rice blast, pp. 958-961. *In :* G.S. Khush (ed.). Rice Genetics III: Proceedings of the Third Rice Genetics Symposium. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.

Valent, B. and F.G. Chumley. 1994. Avirulence genes and mechanisms of genetic instability in the rice blast fungus. pp. 111-134. *In :* R.S. Zeigler, S.A. Leong and P.S. Teng (eds.). Rice Blast Disease. Commonwealth Agriculture Bureaux International, Wallingford, UK.

Zeigler, R.S., R.P. Scott, H. Leung, A.A. Bordeos, J. Kumar and R.J. Nelson.1997. Evidence of parasexual exchange of DNA in the rice blast fungus challenges its clonality. Phytopathology 87 : 284-287.

Bureau of Rice Research and Development

ความมีชีวิตและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวกล้อง

Viability and Quality Changes in Brown Rice

อัญชลี ประเสริฐศักดิ์[1)] สุนันทา วงศ์ปิยชน[1)] ศิริวรรณ ตั้งวิสุทธิจิต[1)]
ศุภรัตน์ โฆษิตเจริญกุล[2)] ละม้ายมาศ ยังสุข[3)]
Anchalee Prasertsak[1)] Sununta Wongpiyachon[1)] Siriwan Tangwisuthijit[1)]
Suparat Kositcharoenkul[2)] Lamaimas Youngsuk[3)]

Abstract

Viability and quality changes of brown rice are important to find out the appropriate approach of brown rice management in trade. Two experiments, (1) Survey on viability and qualities of brown rice in trade and (2) Longevity and quality changes of brown rice after harvest, were carried out in Pathum Thani Rice Research Center during 2002-2004. Viability of brown rice sampled from millers and exporters at the range of 0, 1-25, 26-50 and 80-100% were found at 5, 6, 12, 23 and 54%, respectively. Low amylose content, soft gel consistency and 1-2 aromatic level were found in all samples. Free fatty acid was 14.04-50.78 mg KOH/100 g starch. Aflatoxin B_1 of the samples were detected in the range of 0-11 ppb which were below maximum level against standard (20 ppb). Viability of KDML105 brown rice dropped to 48 and 26% within 3-month storage and dropped to 5 and 0% within 6-month storage in vacuum filling and normal package, respectively. Amylose content and gelatinization temperature did not change during 10-month storage. Free fatty acid increased with storage time. Brown rice stored in laminated plastic bag with vacuum filling was damage due to insect invasion within 8-month of storage whereas that in normal laminated plastic bag was damage within 4 months.

Keywords : brown rice, KDML105, storage time, viability, quality change, store, insects damage, aflatoxin B_1

บทคัดย่อ

ความมีชีวิตและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวกล้อง เป็นข้อมูลสำคัญในการจัดการคุณภาพข้าวกล้องเพื่อการค้า ทำการศึกษาที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ปี พ.ศ. 2545-2547 มี 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 การสำรวจความมีชีวิตและคุณภาพของข้าวกล้องในระดับการค้า โดยเก็บตัวอย่างข้าวกล้องจากโรงสีและผู้ประกอบการส่งออก จำนวน 57 ตัวอย่าง พบว่า ความมีชีวิตของข้าวกล้อง 0, 1-25, 26-50 และ 80-100% คิดเป็นร้อยละ 5, 6, 12, 23 และ 54 ตามลำดับ คุณภาพข้าวกล้องจัดอยู่ในประเภทข้าวอมิโลสต่ำ ค่าคงตัวของแป้งสุกอ่อน และมีความหอมระดับ 1-2 ปริมาณกรดไขมันอิสระ 14.04-50.78 มิลลิกรัม KOH/แป้ง 100 กรัม ปริมาณสารพิษ Aflatoxin B_1 0-11 ppb ซึ่งอยู่ในระดับต่ำกว่ามาตรฐาน (20 ppb) การทดลองที่ 2 ศึกษาความยาวนานของความมีชีวิตและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวกล้องหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า ความมีชีวิตของข้าวกล้องขาวดอกมะลิ 105 ลดลงจาก 90%

1) ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี อ. ธัญบุรี จ. ปทุมธานี 12110 โทร 02-5771688-9
Pathum Thani Rice Research Center, Thanyaburi, Pathum Thani 12110, Tel. 02-5771688-9
2) สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูป โทร. 02-5796010
Post Harvest and Products Processing Research and Development Office, Tel. 02-5796010
3) ศูนย์วิจัยข้าวสกลนคร อ. เมือง จ. สกลนคร 47000 โทร. 042-730632
Sakon Nakhon Rice Research Center, Muang, Sakon Nakhon 47000, Tel. 042-730632

Bureau of Rice Research and Development

ในช่วงบรรจุถุง เหลือ 48 และ 26% ในเดือนที่ 3 ของการเก็บรักษา ในสภาพสุญญากาศและสภาพปิดผนึกปกติ ตามลำดับ และลดเหลือ 5 และ 0% ในเดือนที่ 6 ปริมาณอมิโลสและค่าการสลายตัวของเมล็ดในด่างไม่เปลี่ยนแปลง แต่ปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ข้าวกล้องที่บรรจุถุงในสภาพสุญญากาศเริ่มพบการทำลายของแมลงในเดือนที่ 8 ของการเก็บรักษา ส่วนข้าวกล้องที่บรรจุถุงในสภาพปิดผนึกปกติ พบการทำลายของแมลงในเดือนที่ 4

คำสำคัญ : ข้าวกล้อง ขาวดอกมะลิ 105 ความมีชีวิต การเปลี่ยนแปลงคุณภาพ aflatoxin B_1 การเก็บรักษา การทำลายของแมลง

คำนำ

ข้าวกล้องเป็นข้าวที่กะเทาะเอาส่วนเปลือกออก โดยที่ยังมีจมูกข้าวหรือคัพภะ (embryo) เยื่อหุ้มผล (pericarp) เยื่อหุ้มเมล็ด (testa) และ เยื่ออาลูโรน (aleurone layers) ติดอยู่ ซึ่งเป็นส่วนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น โปรตีน ไขมัน วิตามิน และเกลือแร่ต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายในปริมาณสูงกว่าข้าวขัดขาว จมูกข้าวหรือคัพภะนี้เป็นส่วนที่มีชีวิตที่สามารถเจริญเป็นต้นอ่อนต่อไป เมื่อนำไปเพาะในสภาพที่เหมาะสม การส่งออกข้าวกล้องจึงอาจจะเป็นช่องทางหนึ่ง ที่จะทำให้ประเทศไทยสูญเสียทรัพยากรด้านพันธุ์ข้าวที่มีคุณภาพดีให้กับต่างชาติ หากมีการนำไปขยายพันธุ์หรือปรับปรุงพันธุ์ ประเทศนั้นก็อาจกลายเป็นคู่แข่งสำคัญทางการค้าข้าวของไทยในอนาคต ดังนั้น จากการประชุมคณะทำงานพิเศษเพื่อศึกษากฎหมาย และผลกระทบในการแก้ไขปัญหาการปกป้องพันธุ์ข้าวหอมมะลิไทย จึงมีข้อเสนอแนะในการส่งออกข้าวกล้องว่า ควรมีการทำลายความงอกของข้าวกล้องก่อนส่งออก

ปัจจุบัน ข้าวพันธุ์ดีของไทยทั้งที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองและปรับปรุงขึ้นใหม่มีลักษณะเมล็ดคล้ายคลึงกัน คือ เป็นข้าวเมล็ดยาวเกิน 7.0 มิลลิเมตร และรูปร่างเรียว แต่คุณภาพข้าวสุกอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปริมาณแป้งอมิโลส ซึ่งแบ่งได้เป็น 4 ประเภท คือ 1) ข้าวเหนียว (อมิโลส 0-5%) 2) ข้าวเจ้าอมิโลสต่ำหรือข้าวนุ่ม (อมิโลสต่ำกว่า 20%) เช่น ข้าวหอมมะลิ ซึ่งเป็นข้าวมีกลิ่นหอมเมื่อหุงสุกแล้วจะได้ข้าวสวยนุ่มและค่อนข้างเหนียว 3) ข้าวเจ้าอมิโลสปานกลาง (อมิโลส 21-26%) หรือข้าวอ่อนซึ่งเป็นข้าวชนิดขาวตาแห้ง เป็นข้าวสวยร่วนแต่ไม่แข็ง และ 4) ข้าวเจ้าอมิโลสสูง (26-34%) ซึ่งเป็นข้าวชนิดข้าวเสาไห้ เป็นข้าวสวยร่วนแข็งและหุงขึ้นหม้อ สำหรับข้าวหอมมะลิไทยนั้น กระทรวงพาณิชย์ได้จัดทำมาตรฐานสินค้าข้าวหอมมะลิไทยขึ้น โดยให้คำนิยามไว้ว่า "ข้าวหอมมะลิเป็นข้าวที่แปรสภาพมาจากพันธุ์ข้าวหอมที่กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ประกาศรับรอง ได้แก่ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กข15 และข้าวเจ้าหอมคลองหลวง 1" รวมทั้งพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งเป็นพันธุ์รับรองพันธุ์ล่าสุด ดังนั้นการปกป้องทรัพยากรข้าวไทย จึงรวมถึงข้าวหอมมะลิของไทยซึ่งเป็นสัญลักษณ์ของข้าวไทยคุณภาพดีด้วย

เมธรัตน์ และคณะ (2545) ได้รายงานว่า ข้าวกล้องที่สีใหม่ และข้าวกล้องที่จำหน่ายตามร้านค้า มีการปนเปื้อนของแอฟลาทอกซินในปริมาณ 2-34 และ 2-15 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และยังพบว่า การมีแมลงทำลายเมล็ดข้าวบางส่วน และการเก็บรักษาในภาชนะบรรจุที่ไม่ดีพอเป็นระยะเวลานาน จะช่วยส่งเสริมให้เชื้อราเจริญและสร้างแอฟลาทอกซินได้ ซึ่งการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรานี้ องค์การการค้าโลก (WTO) ได้มีมติจัดทำข้อกำหนดเกี่ยวกับวิธีการปฏิบัติในการป้องกันการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในเมล็ดข้าวและธัญพืช โดยกำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษจากเชื้อราที่ยอมให้มีได้ เช่น กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษ ochratoxin A ในเมล็ดข้าว เมล็ดธัญพืช และผลิตภัณฑ์ไว้ที่ 5 และ 3 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งบังคับใช้ในปี พ.ศ. 2544 นอกจากนี้ยังมีสารพิษที่สำคัญอื่น ๆ อีก ได้แก่ aflatoxin fumonisin และ zearalenone การศึกษาการทำลายของแมลงและสารพิษที่อาจปนเปื้อนอยู่ในเมล็ดข้าวกล้องระหว่างการเก็บรักษา จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งเพื่อความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค

ดังนั้น จึงควรมีการสำรวจความมีชีวิตและคุณภาพข้าวกล้องในระดับการค้า ความยาวนานในการมีชีวิต

Bureau of Rice Research and Development

และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวกล้องหลังการเก็บเกี่ยว รวมทั้งการทำลายของแมลงตลอดจนสารพิษที่อาจปนเปื้อนอยู่ในเมล็ดข้าวกล้องระหว่างการเก็บรักษา โดยใช้ข้าวที่ได้จากการตากลดความชื้นตามหลักวิชาการ เพื่อได้ข้อมูลที่แท้จริงของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น และเป็นแนวทางในการจัดการคุณภาพข้าวกล้องเพื่อการค้าต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 *สำรวจความมีชีวิตและคุณภาพของข้าวกล้องในระดับการค้า*

ทำการสำรวจและสุ่มตัวอย่างข้าวกล้องจากโรงสีและผู้ประกอบการส่งออก จากจังหวัดร้อยเอ็ด บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ หนองคาย อุบลราชธานี และลพบุรี ในช่วงเดือนธันวาคม 2545 - มีนาคม 2547 จำนวน 57 ตัวอย่าง มาศึกษาความมีชีวิต โดยการทดสอบด้วยสารละลายเตตราโซเลียมคลอไรด์ และเพาะความงอกโดยวิธีปลอดเชื้อ คุณภาพทางกายภาพ เช่น ความขาวและความแกร่งของข้าวกล้อง คุณภาพทางเคมี เช่น ปริมาณ อมิโลส ค่าความคงตัวของแป้งสุก ค่าการสลายตัวของเมล็ดในด่าง การยืดตัวของแป้งสุก และกรดไขมันอิสระ ตลอดจนการทำลายของแมลง และสารพิษที่ปนเปื้อนอยู่ในเมล็ด

การทดลองที่ 2 *ความยาวนานของความมีชีวิตและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวกล้องหลังจากเก็บเกี่ยว*

ปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยวิธีหว่านน้ำตม ที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ช่วงปี พ.ศ. 2545-2547 ดูแลรักษาตามปกติ เก็บเกี่ยวข้าว 30 วัน หลังออกดอก 75% ตากลดความชื้นตามหลักวิชาการ จนได้ความชื้นเมล็ด 14% นำข้าวที่ได้มากะเทาะเป็นข้าวกล้องและบรรจุถุงพลาสติกไนลามิเนต (Nylon-LLDPE) ขนาดหนา 100 ไมครอน ถุงละ 1 กิโลกรัม โดยบรรจุในสภาพสุญญากาศ และสภาพปิดผนึกปกติ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 14 ซ้ำ เป็นเวลา 10 เดือน ทำการสุ่มตัวอย่างข้าวทุกเดือน มาตรวจสอบความมีชีวิต โดยการทดสอบด้วยสารละลายเตตราโซเลียมคลอไรด์ และเพาะความงอกโดยวิธีปลอดเชื้อ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณอมิโลส ไขมัน กรดไขมันอิสระ ค่าความคงตัวของแป้งสุก ค่าการสลายตัวของเมล็ดในด่าง ปริมาณการทำลายของแมลง สารพิษที่ปนเปื้อนอยู่ในเมล็ด ตลอดจนความขาวและความแกร่งของเมล็ด

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 *สำรวจความมีชีวิตและคุณภาพของข้าวกล้องในระดับการค้า*

ความมีชีวิตของข้าวกล้องจากโรงสี และผู้ประกอบการส่งออก ที่ 0 , 1-25 , 26-50 , 51-79 และ 80-100% พบว่า มีจำนวน 4, 3, 7, 13 และ 30 ตัวอย่าง (Fig. 1) คิดเป็นร้อยละ 5, 6, 12, 23 และ 54 ตามลำดับ ด้านคุณภาพข้าวกล้องพบว่า มีปริมาณอมิโลส 15.7-17.5% จัดอยู่ในประเภทข้าวอมิโลสต่ำ ค่าความคงตัวของแป้งสุกอ่อน 79 -100 มม. ค่าการสลายตัวของเมล็ดในด่าง 6-7 อุณหภูมิแป้งสุกต่ำกว่า 70 °ซ. ค่าการยืดตัวของแป้งสุก 1.57-1.78 ค่าความหอมอยู่ในระดับ 1-2 ปริมาณกรดไขมันอิสระ 14.04-50.78 มก. KOH/แป้ง 100 กรัม ค่าความขาว 20.1-27.3 ค่าความแกร่ง 7.17-11.76 กก./ตร.ม. ปริมาณสารพิษ aflatoxin B_1 0-11 ppb ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐาน (20 ppb) (Table 1)

การทดลองที่ 2 *ความยาวนานของความมีชีวิตและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวกล้องหลังจากเก็บเกี่ยว*

ความมีชีวิตของข้าวกล้องขาวดอกมะลิ 105 อยู่ที่ 90% ในช่วงบรรจุถุงลดลงเหลือ 48 และ 26% ในเดือนที่ 3 ของการเก็บรักษา ในสภาพสุญญากาศและสภาพปิดผนึกปกติ ตามลำดับ และลดลงเหลือ 5 และ 0% ในเดือนที่ 6 ของการเก็บรักษา (Fig. 2) ปริมาณอมิโลส

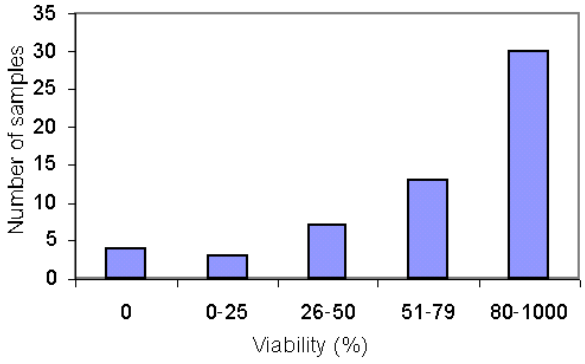


Fig. 1 Viability of brown rice sampled from millers and exporters in trade

Bureau of Rice Research and Development

Table 1 Grain quality of brown rice sampled from millers and exporters in trade

Measurement	Minimum-Maximum
Amylose (%)	15.7-17.5
Gel consistency (mm)	79 -100
Alkali test	6-7
Gelatinization temperature (°C)	<70
Elongation ratio	1.57-1.78
Aroma	1 - 2
Free fatty acid (mg KOH/100 g starch)	14.04 - 50.78
Whiteness	20.1-27.3
Strengthness (kg/m^2)	7.17-11.76
Aflatoxin B_1 (ppb)	0 -11

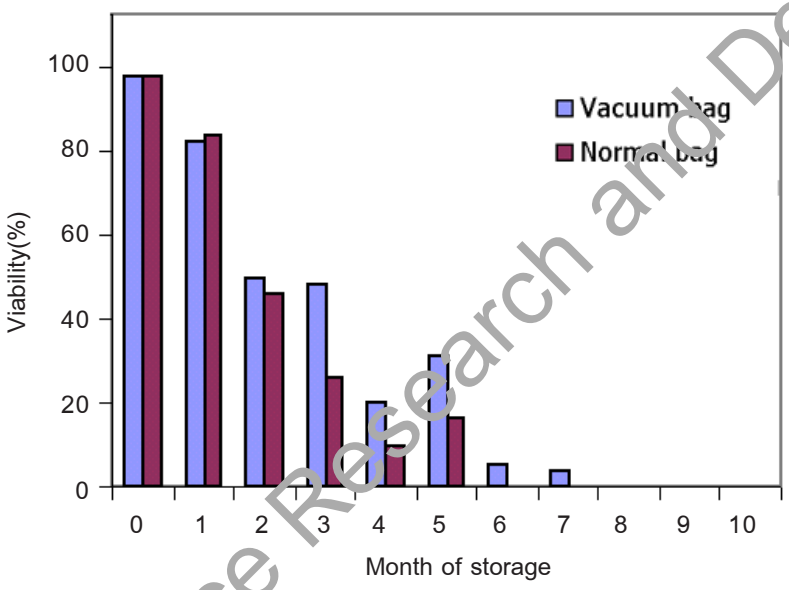


Fig. 2 Viability(%) of brown rice in laminated plastic vacuum bag and laminated plastic normal bag during 10-month storage

ไม่เปลี่ยนแปลง โดยอยู่ในช่วง 16.0-17.5% ค่าการสลายตัวของเมล็ดในด่างอยู่ในระดับ 7 อุณหภูมิแป้งสุกต่ำกว่า 70°ซ. ค่าความคงตัวของแป้งสุกอ่อน 72-90 มม. (Table 2) โดยที่ค่าเริ่มลดต่ำกว่า 80 มม. ในเดือนที่ 9 ของการเก็บรักษา (Table 2) แต่ยังจัดอยู่ในระดับความคงตัวของแป้งสุกอ่อน (งามชื่น, 2546) ปริมาณไขมัน 2.59-3.15% แต่ปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา (Fig. 3)

ในการเก็บรักษาทั้ง 2 สภาพ พบว่า ปริมาณกรดไขมันอิสระไม่แตกต่างกันมากนัก และมีค่าค่อนข้างสูง ทั้งนี้อาจเนื่องจากหลังการสุ่มและตัดถุงแล้วไม่ได้วิเคราะห์ทันที ตัวอย่างมีการสัมผัสกับอากาศทำให้เกิดข้อผิดพลาด ค่าความขาว และความแกร่งของข้าวกล้องที่เก็บรักษาใน 2 สภาพไม่แตกต่างกัน ค่าความขาว 23.1-24.67 ค่าความแกร่ง 7.19-10.80 กก./ตร.ม. (Fig. 4) ด้านการทำลายของแมลง พบว่า ข้าวกล้องที่บรรจุถุงในสภาพสุญญากาศเริ่มมีการทำลายของแมลงในเดือนที่ 8 ของการเก็บรักษา ส่วนข้าวกล้องที่บรรจุถุงในสภาพปิดผนึกปกติ เริ่มมีการทำลายของแมลงในเดือนที่ 4 และมีปริมาณข้าวที่ถูกทำลายมากกว่าข้าวที่บรรจุถุงใน

Bureau of Rice Research and Development

Table 2 Amylose, alkali test and fat of brown rice in laminated plastic vacuum bag and laminated plastic normal bag during 10-month storage

Storage	Amylose (%)		Gel consistency (mm)		Alkali test		Fat (%)	
(month)	Vacuum	Normal	Vacuum	Normal	Vacuum	Normal	Vacuum	Normal
1	17.04	17.24	90	89	7	7	3.12	2.94
2	17.16	17.16	90	79	7	7	2.94	3.01
3	17.51	17.10	88	85	7	7	3.09	3
4	17.17	16.73	82	81	7	7	3.05	2.95
5	17.03	16.75	80	80	7	7	3.03	2.96
6	16.95	17.09	83	80	7	7	3.16	3.03
7	17.21	16.99	81	82	7	7	3.04	2.97
8	16.74	16.71	80	80	7	7	3.04	2.95
9	16.52	16.98	78	78	7	7	2.93	2.59
10	17.03	17.2	72	72	7	7	2.96	2.89

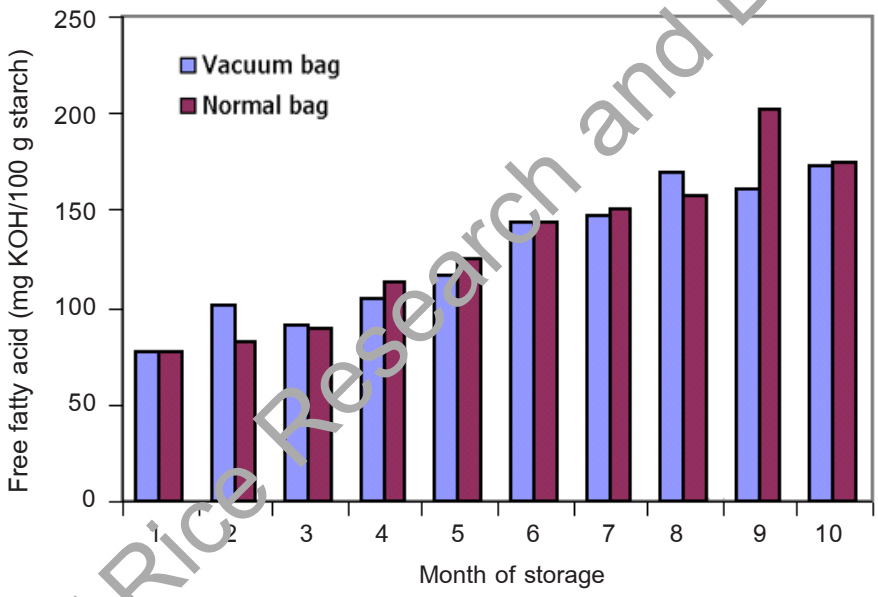


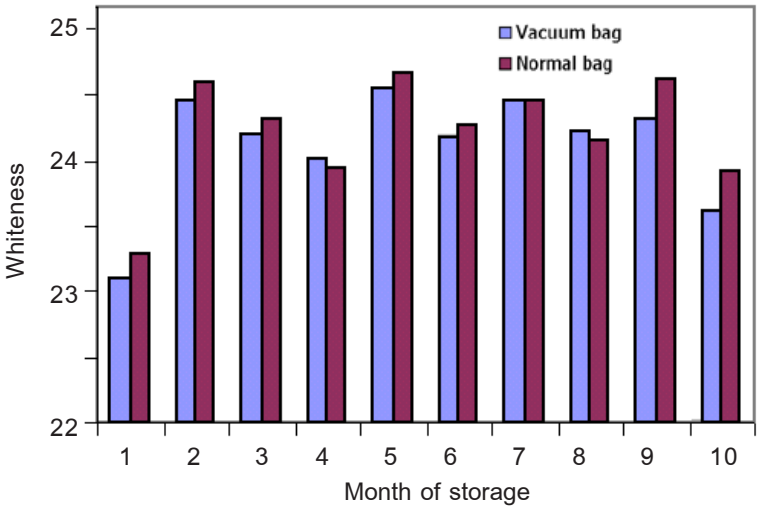
Fig. 3 Free fatty acid (mg KOH/100 g starch) of brown rice in laminated plastic vacuum bag and laminated plastic normal bag during 10-month storage

สภาวะสุญญากาศ (Fig. 5) งานทดลองนี้จะสมบูรณ์ยิ่งขึ้นหากมีการทดสอบคุณภาพการหุงต้มและรับประทานประกอบด้วย เพื่อเป็นตัวชี้วัดถึงระยะเวลาเก็บรักษาในการบริโภค อย่างไรก็ตาม งามชื่นและคณะ (2533) พบว่าข้าวกล้องปกติสามารถเก็บในอุณหภูมิห้องได้นาน 6 เดือน จากนั้นจะปรากฏกลิ่นเหม็นในข้าวสุก

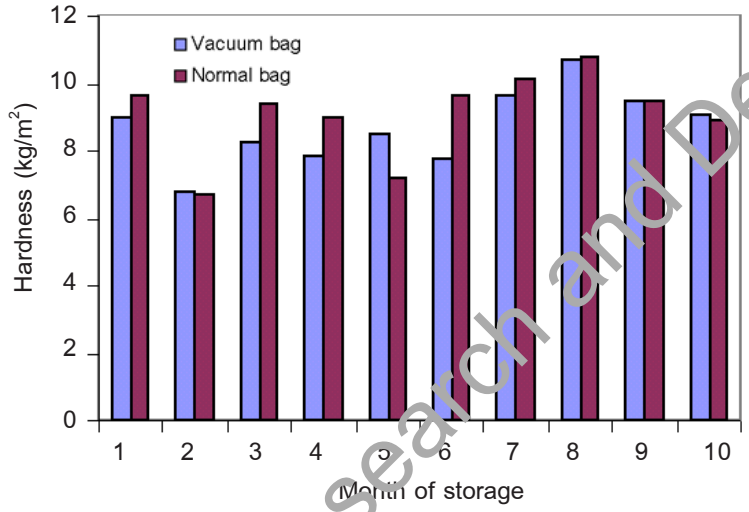
สรุปผลการทดลอง

ข้าวกล้องจากโรงสีและผู้ประกอบการส่งออก ที่มีความมีชีวิต 0 , 1-25 , 26-50 และ 80-100% จำนวน 4, 3, 7, 13 และ 30 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 5, 6, 12, 23 และ 54 ตามลำดับ คุณภาพข้าวจัดอยู่ในประเภทข้าวอมิโลสต่ำ มีความหอมระดับ 1-2 ปริมาณกรดไขมันอิสระ 14.04-50.78 มก. KOH/แป้ง 100 กรัม ปริมาณ

Bureau of Rice Research and Development



(a) Whiteness



(b) Hardness

Fig. 4 Whiteness (a) and Hardness (kg/m^2) (b) of brown rice in laminated plastic vacuum bag and laminated plastic normal bag during 10-month storage

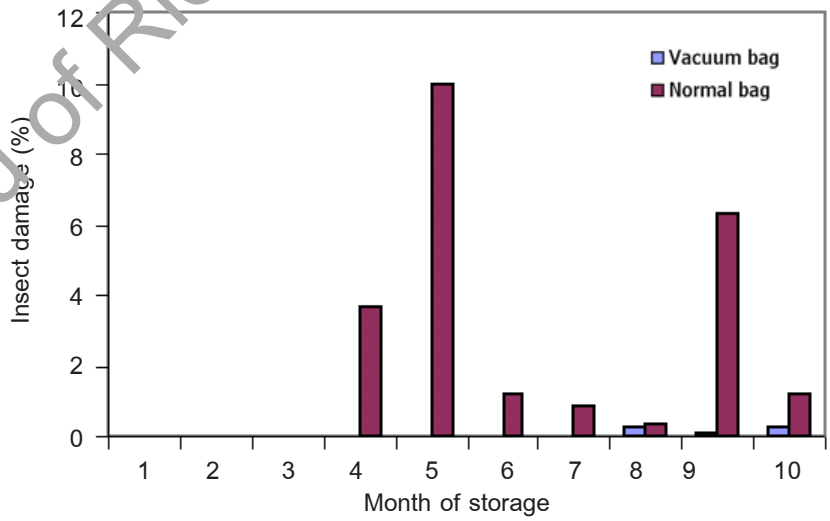


Fig. 5 Insect damage (%) of brown rice in laminated plastic vacuum bag and laminated plastic normal bag during 10-month storage

Bureau of Rice Research and Development

สารพิษ aflatoxin B_1 0-11 ppb ซึ่งอยู่ในระดับต่ำกว่ามาตรฐาน (20 ppb)

ในเดือนที่ 3 ของการเก็บรักษา ความมีชีวิตของข้าวกล้องลดลงเหลือ 48 และ 26% ในสภาพสุญญากาศ และสภาพปิดผนึกปกติ ตามลำดับ และลดเหลือ 5 และ 0% ในเดือนที่ 6 ปริมาณอมิโลสและค่าการสลายตัวของเมล็ดในด่างไม่เปลี่ยนแปลง แต่ปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ข้าวกล้องที่บรรจุถุงในสภาพสุญญากาศพบการทำลายของแมลงในเดือนที่ 8 ส่วนข้าวกล้องที่บรรจุถุงในสภาพปิดผนึกปกติ เริ่มมีการทำลายของแมลงในเดือนที่ 4

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณงามชื่น คงเสรี ผู้เชี่ยวชาญด้านข้าว กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยให้คำแนะนำในระยะเริ่มต้นของงานทดลอง

เอกสารอ้างอิง

งามชื่น คงเสรี. 2546. ข้าวและผลิตภัณฑ์ข้าว. กรมวิชาการเกษตร. 167 หน้า.

งามชื่น คงเสรี, กัมปนาท มุขดี, พูลศรี สว่างจิต, อัญชลี ครร้ามศรี, ประนอม มงคลบรรจง และจันทนา สรสิริ. 2533. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพการหุงต้มและรับประทานของข้าวเมื่อเก็บเมล็ดในสภาพต่างๆ. หน้า 138-153. *ใน* : รายงานผลงานวิจัยปี 2533. ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร.

ศุภรัตน์ โฆษิตเจริญกุล, อมรา ชินภูติ และกัญจนา พุทธสมัย. 2545. การปนเปื้อนของแอฟลาทอกซินในระบบการผลิตและการจำหน่ายข้าวกล้อง. ข้าวโรคพืชและจุลชีววิทยา 12 (2) : 122-131.

Bureau of Rice Research and Development

ข้าวลูกผสม : งานวิจัยที่ยาวนานสำหรับทางเลือกการผลิตข้าว

Hybrid Rice : Long Last Research for Alternative Rice Production

บริบูรณ์ สมฤทธิ์[1)]

Boriboon Somrith[1)]

Abstract

Hybrid rice is one of technological means to increase rice production. Research and development on hybrid rice has been conducted for more than 40 years. This article reviews the hybrid rice impacts on increasing rice production through hybrid rice technology in China, Vietnam and India. Status of hybrid rice research in Thailand from the past to present was summarized. Furthermore, consideration especially on production cost and benefit in adoption of hybrid rice technology at farmer level was also proposed.

Keywords : hybrid rice, production, technology, adoption, farmer

บทคัดย่อ

ข้าวลูกผสม เป็นเทคโนโลยีหนึ่งในการเพิ่มผลผลผลิตข้าว งานวิจัยและพัฒนาด้านข้าวลูกผสมได้ดำเนินการมานานกว่า 40 ปี บทความนี้กล่าวถึง ความสำคัญของเทคโนโลยีข้าวลูกผสมในการเพิ่มผลผลิตข้าวในสาธารณรัฐประชาชนจีน เวียดนาม และอินเดีย สรุปสถานภาพงานวิจัยและพัฒนาข้าวลูกผสมในประเทศไทย ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน นอกจากนี้ ยังได้เสนอข้อพิจารณา โดยเฉพาะด้านต้นทุนการผลิตและผลตอบแทนในการนำเทคโนโลยีข้าวลูกผสมไปปรับใช้ในระดับเกษตรกร

คำสำคัญ : ข้าวลูกผสม ผลผลิต งานวิจัยและพัฒนาข้าว เทคโนโลยี เกษตรกร

คำนำ

สาธารณรัฐประชาชนจีน ได้ประสบความสำเร็จในการปลูกข้าวลูกผสมเป็นเชิงพาณิชย์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2519 หลังจากที่ได้วิจัยและพัฒนาข้าวลูกผสมอย่างจริงจังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2513 ประเทศอินเดีย เวียดนาม และอีกหลายประเทศในเอเชีย ที่ได้มีการผลิตข้าวลูกผสมเป็นเชิงการค้า จากผลงานวิจัยในประเทศและการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมจากสาธารณรัฐประชาชนจีนไปจำหน่ายในต่างประเทศ ประเทศไทยดูเหมือนเป็นประเทศที่ให้ความสนใจและมีการวิจัยข้าวลูกผสมนานกว่าประเทศอื่นๆ โดยเริ่มงานวิจัยและพัฒนาข้าวลูกผสมตั้งแต่ปี พ.ศ. 2522 ปัจจุบันไทยมีข้าวลูกผสมที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงกว่าข้าวที่มาจากการปรับปรุงโดยวิธีมาตรฐาน และสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมได้ในระดับที่น่าพอใจ ถึงเวลาแล้วหรือยัง? ที่ไทยจะแนะนำพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตข้าวลูกผสมเป็นทางเลือกใหม่ในการผลิตข้าวให้แก่ชาวนาไทย

ความสำคัญของข้าวลูกผสมต่อการเพิ่มผลผลิตข้าว

การเพิ่มผลผลิตข้าวให้เพียงพอต่อการบริโภคของประชากร เป็นพันธกิจที่สำคัญของประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศที่มีประชากรจำนวนมากและอยู่ในภาวะขาดแคลนข้าว เช่น สาธารณรัฐประชาชนจีน

1) ที่ปรึกษาด้านวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว

Technical advisor for Rice Research and Development, Rice Department

E-mail: boriboon@ricethailand.go.th

Bureau of Rice Research and Development

อินเดีย และเวียดนาม วิธีการเพิ่มผลผลิตข้าวที่ใช้กันทั่วไป คือ การเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตของพันธุ์ข้าวควบคู่กับการปรับปรุงเทคโนโลยีการผลิต ซึ่งศักยภาพในการให้ผลผลิตของพันธุ์ข้าวขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรม ที่นำมาใช้ในการปรับปรุงรูปแบบต้นของพันธุ์ข้าวเพื่อให้ได้ผลผลิตสูง ซึ่งความสามารถในการให้ผลผลิตสูงโดยพันธุกรรมที่ควบคุมรูปแบบต้นนี้มีเพดานจำกัด

วิธีการเพิ่มผลผลิตข้าวอีกวิธีการหนึ่ง ได้แก่ การนำเอาลักษณะความดีเด่นหรือเฮทเทอโรซิส (heterosis) ด้านการให้ผลผลิตของลูกผสมที่เหนือกว่าพันธุ์แม่และพันธุ์พ่อมาใช้ประโยชน์ ศาสตราจารย์ ยวน ลองปิง แห่งสาธารณรัฐประชาชนจีน ได้ใช้แนวความคิดนี้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวลูกผสมในปี พ.ศ. 2507 และค้นพบลักษณะเรณูเป็นหมัน (male sterility) ในข้าวป่า (wild abortive) ในปี พ.ศ. 2513 การพบครั้งนี้ได้สร้างความสำเร็จอย่างสำคัญให้แก่สาธารณรัฐประชาชนจีน ในการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตข้าวลูกผสมแบบ 3 สายพันธุ์ (3-line hybrid) ในระยะต่อมา และทำให้สาธารณรัฐประชาชนจีนสามารถผลิตข้าวลูกผสมเป็นเชิงการค้าได้ในปี พ.ศ. 2519 โดยมีการผลิตข้าวลูกผสมในพื้นที่ประมาณ 875,000 ไร่ หรือ 0.4 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด

การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตข้าวลูกผสมของสาธารณรัฐประชาชนจีน ไม่ได้หยุดอยู่ที่การผลิตข้าวลูกผสมแบบ 3 สายพันธุ์เท่านั้น ในปี พ.ศ. 2524 ฉี หมิงซาน ได้แนวทางใหม่ในการใช้เฮทเทอโรซิสในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวลูกผสมแบบ 2 สายพันธุ์ (2 - line hybrid) และพัฒนาสายพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะเรณูเป็นหมันจากอิทธิพลของช่วงแสงและอุณหภูมิ (photo-and thermo-sensitive genic male sterility-PTGMS) สาธารณรัฐประชาชนจีนได้ประกาศความสำเร็จในการวิจัยและพัฒนาข้าวลูกผสมแบบ 2 สายพันธุ์และผลิตเป็นการค้าในปี พ.ศ. 2538

ข้าวลูกผสมในสาธารณรัฐประชาชนจีน

ใน ปี พ.ศ. 2545 สาธารณรัฐประชาชนจีนมีพื้นที่ปลูกข้าวลูกผสมในประเทศประมาณ 100 ล้านไร่ มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด และเป็นพื้นที่ปลูกข้าวลูกผสมแบบ 2 สายพันธุ์ ประมาณ 16 ล้านไร่ จากพื้นที่เก็บเกี่ยวทั้งหมดประมาณ 190 ล้านไร่ สาธารณรัฐประชาชนจีนสามารถผลิตข้าวได้ประมาณ 190 ล้านตัน ขณะที่ปี พ.ศ. 2519 ผลิตข้าวได้เพียง 130 ล้านตัน ผลผลิตข้าวที่เพิ่มขึ้นจากการปลูกข้าวลูกผสมในปีหนึ่งๆ สามารถเลี้ยงประชากรได้มากถึง 60 ล้านคน จากพลเมืองทั้งหมดประมาณ 1,300 ล้านคน มีอัตราการบริโภคข้าวสารประมาณ 90 กิโลกรัมต่อคนต่อปี โดยทั่วไปผลผลิตข้าวลูกผสมแบบ 3 สายพันธุ์จะสูงกว่าผลผลิตข้าวพันธุ์ดีหรือพันธุ์ปรับปรุงตามวิธีปกติประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ และลูกผสมแบบ 2 สายพันธุ์ให้ผลผลิตสูงกว่า 5-10 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตข้าวลูกผสมเฉลี่ยทั้งประเทศได้ประมาณ 1,120 กิโลกรัมต่อไร่

ข้าวลูกผสมในประเทศเวียดนาม

ประเทศเวียดนาม ถึงแม้ว่าจะเริ่มงานวิจัยข้าวลูกผสมโดยสถาบันวิทยาศาสตร์การเกษตรเวียดนาม (Vietnam Agricultural Sciences Institute - VASI) ในปี พ.ศ. 2522 แต่ก็อยู่ในแวดวงจำกัด จนกระทั่งได้จัดตั้งโครงการวิจัยข้าวลูกผสมแห่งชาติขึ้นในปี พ.ศ. 2535 และสถาบันวิจัยข้าวลูกผสม (Hybrid Rice Research Institute - HRRI) ในปี พ.ศ. 2537 เวียดนามสามารถพัฒนาสายพันธุ์ข้าวลูกผสมที่ดีเด่นได้เป็นจำนวนมาก และปลูกข้าวลูกผสมเป็นผลสำเร็จในปี พ.ศ. 2540 ทำให้เวียดนามมีพื้นที่ปลูกข้าวลูกผสมถึง 3.75 ล้านไร่ ผลผลิตเฉลี่ย 1,040 กิโลกรัมต่อไร่ ในปี พ.ศ. 2547

การพัฒนาพันธุ์ข้าวลูกผสมของเวียดนาม ดำเนินการภายใต้โครงการความร่วมมือระหว่างประเทศกับสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) และสาธารณรัฐประชาชนจีน การผลิตข้าวโดยใช้เทคโนโลยีข้าวลูกผสม นอกจากจะใช้พันธุ์ข้าวลูกผสมที่ปรับปรุงขึ้น ยังใช้พันธุ์ที่ผลิตเป็นการค้า จากสาธารณรัฐประชาชนจีนด้วย เวียดนามมีพื้นที่ปลูกข้าวเพียง 26.25 ล้านไร่ แต่ด้วยความเอื้ออำนวยของการชลประทาน ทำให้สามารถปลูกข้าวได้ถึง 3 ครั้งในทางตอนใต้ และ 2 ครั้งในทางตอนเหนือของประเทศ ทำให้มีพื้นที่เพาะปลูกรวมในแต่ละปีประมาณ 47 ล้านไร่ ได้ผลผลิตข้าวประมาณ 35 ล้านตัน โดยมีผลผลิตเฉลี่ยไร่ละ 750 กิโลกรัม

เวียดนามต้องผลิตข้าวเพื่อเลี้ยงประชากร 80 ล้านคน ที่มีอัตราการบริโภคข้าวสารประมาณคนละ 170

Bureau of Rice Research and Development

กิโลกรัมต่อปี ก่อนที่จะมีการวิจัยพัฒนาและส่งเสริมการผลิตข้าวอย่างจริงจัง หลังจากภาวะสงคราม เวียดนามเคยนำเข้าข้าวจากต่างประเทศสูงสุดถึง 482,500 ตัน ในปี พ.ศ. 2529 แต่หลังจากนั้น 10 ปี ในปี พ.ศ. 2542 เวียดนามสามารถส่งข้าวออกได้สูงถึง 4.6 ล้านตัน เป็นผู้ส่งออกข้าวมากเป็นอันดับสองของโลก รองจากประเทศไทย

ข้าวลูกผสมในประเทศอินเดีย

อินเดีย เป็นอีกประเทศหนึ่งที่มีการผลิตข้าวลูกผสมเป็นเชิงพาณิชย์ อินเดียเริ่มงานวิจัยข้าวลูกผสมหลังจากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) เริ่มดำเนินงานนี้ในปี พ.ศ. 2522 เช่นเดียวกับอีกหลายประเทศในภูมิภาคเอเชีย ที่นำเข้าสายพันธุ์เรณูเป็นหมันจากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ และสาธารณรัฐประชาชนจีน มาทำการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวลูกผสมในประเทศ แต่อินเดียนับเป็นประเทศหนึ่งที่มีความก้าวหน้าในการพัฒนาพันธุ์ข้าวลูกผสมของตนเอง สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมได้อัตราสูง จนเป็นธุรกิจการค้าเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมที่กว้างขวางทั่วประเทศ จากพื้นที่ปลูกข้าวรวมที่มีมากถึง 279 ล้านไร่ เป็นพื้นที่ที่มีศักยภาพในการปลูกข้าวลูกผสมประมาณ 138 ล้านไร่ อย่างไรก็ตาม ถึงปี พ.ศ. 2547 อินเดียมีพื้นที่ปลูกข้าวลูกผสมเพียง 3.5 ล้านไร่ อินเดียผลิตข้าวได้ประมาณปีละ 135 ล้านตัน โดยมีผลผลิตเฉลี่ย 480 กิโลกรัมต่อไร่ อินเดียต้องผลิตข้าวเลี้ยงประชากรทั้งประเทศราว 1,000 ล้านคน ซึ่งมีอัตราการบริโภคข้าวสารประมาณ 75 กิโลกรัมต่อคนต่อปี ชาวอินเดียบริโภคทั้งข้าวเจ้าและข้าวสาลีเป็นอาหารหลัก

สถานภาพข้าวลูกผสมของไทย

ประเทศไทยเริ่มทำการวิจัยและพัฒนาข้าวลูกผสม ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2522 โดยสถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร (ในขณะนั้น) โดยนำเข้าสายพันธุ์เรณูเป็นหมันและข้าวลูกผสมจากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ และจากสาธารณรัฐประชาชนจีน เพื่อพัฒนาข้าวลูกผสมแบบ 3 สายพันธุ์ ผลการดำเนินการในระยะแรกๆ พบว่า สายพันธุ์เรณูเป็นหมันและข้าวลูกผสมที่นำเข้าจากต่างประเทศ ไม่เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมของไทย สถาบันวิจัยข้าวจึงได้ทำการพัฒนาสายพันธุ์เรณูเป็นหมัน โดยไซโตพลาสซึม (cytoplasmic male sterility-CMS) โดยถ่ายทอดลักษณะเรณูเป็นหมันแบบหมันป่าสู่พันธุ์ข้าวไทย พร้อมกับการทดสอบและคัดเลือกสายพันธุ์แก้เรณูเป็นหมันจากข้าวพันธุ์ดีผลผลิตสูงของไทย การปรับปรุงพันธุ์ข้าวลูกผสมได้เน้นการสร้างพันธุ์ที่มีคุณภาพเมล็ดดีเหมือนพันธุ์ข้าวไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งรูปร่างของเมล็ด

ประเทศไทยไม่มีความจำเป็นต้องเร่งรัดการเพิ่มผลผลิตเหมือนอีกหลายๆประเทศ เนื่องจากผลผลิตข้าวที่ได้เหลือเพียงพอที่จะแปรรูปเป็นข้าวสาร เพื่อส่งออกจำหน่ายในต่างประเทศอยู่แล้ว การเปลี่ยนแปลงผู้บริหารและนักวิชาการที่รับผิดชอบบ่อยครั้ง ทำให้งานวิจัยข้าวลูกผสมก้าวหน้าช้า อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบในปี พ.ศ. 2537 พบว่า มีข้าวลูกผสม 2-3 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงกว่าข้าวพันธุ์ดีหรือพันธุ์มาตรฐาน เช่น คู่ผสม RD21A-23/RD11 ให้ผลผลิตสูงถึง 1,264 กิโลกรัมต่อไร่ สูงกว่าชัยนาท 1 และสุพรรณบุรี 1 ข้าวพันธุ์มาตรฐานที่ปลูกเปรียบเทียบตั้งแต่ 50-70 เปอร์เซ็นต์ แต่การผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมที่ได้อยู่ในเกณฑ์ต่ำมาก

การวิจัยและพัฒนาข้าวลูกผสมในช่วงนี้ พบปัญหาทั้งด้านการบริหาร ซึ่งขาดแคลนนักวิจัยที่สามารถทุ่มเทให้แก่งานวิจัยอย่างจริงจัง การสร้างงานไม่เป็นระบบและได้รับการสนับสนุนน้อย เนื่องจากความสำคัญของข้าวลูกผสมอยู่ในระดับรองจากงานวิจัยข้าวอื่นๆ ส่วนในด้านการวิจัยนั้น การสร้างข้าวลูกผสมยังขาดแหล่งพันธุกรรมลักษณะเรณูเป็นหมันที่เหมาะสม และปัญหาการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่ไม่สามารถผลิตได้ในปริมาณมากๆ เพียงพอ สำหรับการทดสอบในพื้นที่ผืนใหญ่อย่างกว้างขวาง หรือเพื่อผลิตเป็นเชิงการค้าในอนาคต

จากความพยายามภายใต้โครงการวิจัยที่ดำเนินการต่อเนื่อง โดยยังคงเน้นวัตถุประสงค์ 3 ประการ ได้แก่ 1) การสร้างสายพันธุ์ข้าวสำหรับการผลิตข้าวลูกผสมที่เหมาะสมกับสภาพการทำนาในประเทศไทย 2) สร้างสายพันธุ์ข้าวลูกผสมที่ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงกว่า 1,200 กิโลกรัมต่อไร่หรือสูงกว่าข้าวพันธุ์ดีทั่วๆ ไป ประมาณ 15-20 เปอร์เซ็นต์ และ 3) ศึกษาวิธีการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมให้ได้ผลผลิตประมาณ 160-200 กิโลกรัมต่อไร่ รายงานความก้าวหน้า ในปี พ.ศ. 2550 เมื่อเร็วๆ นี้ แสดงว่า การทดสอบการใช้สายพันธุ์เรณูเป็นหมันและสมรรถนะในการผสม (combining ability) มีข้าวลูกผสม

Bureau of Rice Research and Development

หลายคู่ที่ให้ผลผลิตสูง 1,000-1,400 กิโลกรัมต่อไร่ การเปรียบเทียบผลผลิตภายในสถานีและระหว่างสถานี มีสายพันธุ์ข้าวลูกผสมที่ให้ผลผลิตสูงตั้งแต่ 900-1,100 กิโลกรัมต่อไร่ สูงกว่าผลผลิตข้าวพันธุ์ดีประมาณตั้งแต่ 15-30 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลการศึกษาการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมหลายๆ คู่ผสมในศูนย์วิจัยข้าวต่างๆ ในปี พ.ศ. 2549 สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมได้ตั้งแต่ 175-370 กิโลกรัมต่อไร่ โดยมีอัตราการติดเมล็ดสูงสุดถึง 45 เปอร์เซ็นต์ นับว่างานวิจัยและพัฒนาข้าวลูกผสมได้ก้าวหน้าไปอีกระดับหนึ่ง

งานวิจัยและพัฒนาข้าวลูกผสมของไทยในปัจจุบัน

ในปัจจุบัน กรมการข้าว โดยสำนักวิจัยและพัฒนาข้าว (สถาบันวิจัยข้าวเดิม) ได้ให้ความสำคัญและสนับสนุนงานวิจัยและพัฒนาข้าวลูกผสมมากยิ่งขึ้น โดยคาดหวังว่าจะมีพันธุ์ข้าวลูกผสมประกาศเป็นข้าวพันธุ์รับรองในเร็ววันนี้ นอกจากนี้ ได้มีหน่วยงานทั้งภาครัฐและภาคเอกชนให้ความสนใจ สนับสนุน และให้ความร่วมมือในการวิจัยและพัฒนาข้าวลูกผสมในประเทศไทย เช่น ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) ให้การสนับสนุนในการพัฒนาสายพันธุ์เรณูเป็นหมันและการวิจัยข้าวลูกผสมแบบ 2 สายพันธุ์ บริษัทในเครือเจริญโภคภัณฑ์ บริษัทไบเออร์ ครอบ ไซส์ (Bayer Crop Science) และองค์กรนอกภาครัฐบางองค์กร ให้ความร่วมมือและสนับสนุนในการทดสอบสายพันธุ์ข้าวลูกผสม รวมทั้งบริษัทต่างๆ ที่แสดงความพร้อมในการผลิตและจำหน่ายเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมเพื่อการผลิตในระดับเกษตรกร

ข้อควรพิจารณาในการใช้พันธุ์ข้าวลูกผสมในประเทศไทย

ก่อนที่จะพัฒนาถึงขั้นปรับใช้เทคโนโลยีข้าวลูกผสม เพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวในระดับไร่นาเกษตรกร ควรคำนึงถึงความพร้อมของพันธุ์ข้าวลูกผสมที่จะแนะนำหรือรับรองพันธุ์ สภาพแวดล้อมในการทำนาในประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในนาชลประทาน ซึ่งจะเป็นพื้นที่แนะนำสำหรับการใช้เทคโนโลยีข้าวลูกผสมเพิ่มผลผลิตข้าว เป็นพื้นที่ที่มีปัญหาโรคและแมลงศัตรูข้าวมากมาย การที่สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมได้มากขึ้น เป็นการสร้างโอกาสการทดสอบความเหมาะสมของข้าวลูกผสมรวมทั้งความต้านทานต่อโรคแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญได้กว้างขวางยิ่งขึ้น ทั้งนี้รวมถึงการวิเคราะห์การยอมรับในด้านคุณภาพของเมล็ดในพันธุ์ข้าวลูกผสมดังกล่าวด้วย

ประเด็นสำคัญที่สุดที่ควรคำนึงถึง คือ ต้นทุนการผลิตในระดับเกษตรกร ควรสร้างความมั่นใจให้เกษตรกรว่า เมื่อนำเทคโนโลยีข้าวลูกผสมมาใช้ในการผลิตจะได้รับผลตอบแทนคุ้มค่าจากการลงทุนซื้อเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมที่มีราคาแพงกว่าเมล็ดพันธุ์ข้าวดีทั่วไป สมควรอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาเทคโนโลยีการผลิตข้าวลูกผสมในระดับเกษตรกร เพื่อสร้างความมั่นใจในการพัฒนาข้าวลูกผสมในระดับสำคัญนี้ให้มากยิ่งขึ้น ประเทศไทยยังมีเวลาที่จะก้าวไปสู่ยุคของข้าวลูกผสมด้วยความมั่นใจ ดีกว่าที่ก้าวไปแล้วพบทางตัน สถานการณ์การผลิตและความต้องการข้าวของประเทศไทยแตกต่างอย่างมากจากประเทศผู้ผลิตข้าวอื่น ๆ ในภูมิภาคนี้

บทสรุป

ข้าวลูกผสม เป็นเทคโนโลยีการเพิ่มผลผลิตข้าวที่ประเทศผู้ผลิตข้าวหลายประเทศได้พัฒนาและปรับใช้จนสามารถผลิตข้าวได้เป็นเชิงพาณิชย์ ข้าวลูกผสมได้สร้างความมั่นคงทางอาหารให้ประเทศที่มีประชากรบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศที่มีพลเมืองจำนวนมาก เช่น สาธารณรัฐประชาชนจีน อินเดีย และเวียดนาม ประเทศไทยแตกต่างจากประเทศผู้ผลิตข้าวหลาย ๆ ประเทศ โดยสามารถผลิตข้าวได้เพียงพอต่อการบริโภคและยังเหลือเป็นสินค้าส่งออก ไทยเป็นประเทศที่ส่งออกข้าวคุณภาพสูงที่มีชื่อเสียง ในขณะที่การวิจัยข้าวลูกผสมอยู่ในระยะที่สามารถพัฒนาต่อเนื่องเพื่อการผลิตในเชิงการค้า พันธุ์ข้าวลูกผสมที่จะเสนอเป็นพันธุ์แนะนำ ควรคำนึงถึงความพร้อมของพันธุ์ ความสมบูรณ์ของลักษณะต่าง ๆ ทั้งความสามารถในการให้ผลผลิต คุณภาพของเมล็ด คุณค่าทางโภชนาการและการใช้ประโยชน์ ประการสำคัญที่สุด ต้องสร้างความมั่นใจให้แก่เกษตรกรว่า ผลผลิตที่ได้เป็นที่ยอมรับและผลตอบแทนที่ได้รับคุ้มค่าต่อการลงทุน

Bureau of Rice Research and Development

บรรณานุกรม

บริบูรณ์ สมฤทธิ์ และปัทมา ศิริธัญญา. 2550. ข้าวลูกผสม : สถานภาพข้าวลูกผสมในนานาประเทศ. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 68 หน้า.

นิรนาม. 2550. การวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวลูกผสม. รายงานความก้าวหน้า การสัมมนาวิชาการ "การวิจัยและพัฒนาข้าวในนิเวศนาชลประทาน" วันที่ 5-6 มิถุนายน 2550 ณ โรงแรมเวลคัม จอมเทียนบีช รีสอร์ท จังหวัดชลบุรี. (เอกสารอัดสำเนา 11 หน้า).

Longping, Y. and P. Jiming (eds.). 2005. Hybrid Rice and World Food Security. China Science and Technology Press. Beijing PR China. 197 pp.

Maclean, J.L., D.C. Dawe, B. Hardy and G.P. Hettel (eds.). 2002. Rice Almanac. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. 253 pp.

Bureau of Rice Research and Development

Apomixis : ความฝันของนักปรับปรุงพันธุ์พืช

Apomixis : The Plant Breeder's Dream

วราพงษ์ ชมาฤกษ์[1)]

Varapong Chamarerk[1)]

Abstract

Concerning the benefits of genetic engineering to small farmers, some people may think about apomixis. This characteristic can be used to produce seeds that are genetically identical to the mother plants. This article discusses about a research progress on apomixis in crops made by several research groups and its impact on seed industries, small farmers and the environment.

Keywords: apoximis, plant breeding, rice, seeds

บทคัดย่อ

เมื่อพูดถึงประโยชน์จากการตัดต่อพันธุกรรมที่จะถึงมือเกษตรกร โดยเฉพาะเกษตรกรรายย่อย นักวิจัยกลุ่มหนึ่งมักจะนึกถึงคุณสมบัติของ apomixis ที่จะนำไปใช้ผลิตเมล็ดพันธุ์พืช ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกับต้นแม่ทุกประการ ในบทความนี้กล่าวถึงงานวิจัยด้าน apomixis รวมถึงผลกระทบจากการถ่ายทอดคุณลักษณะ apomixis สู่พันธุ์พืช ที่จะเกิดขึ้นกับอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ เกษตรกรรายย่อย และสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ: apoximis การปรับปรุงพันธุ์ ข้าว เมล็ดพันธุ์

บทนำ

Apomixis เป็นกระบวนการที่เมล็ดพัฒนาขึ้นมาโดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ซึ่งไม่มีการผสมพันธุ์กันระหว่างเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย เพราะฉะนั้นลักษณะทางพันธุกรรมก็จะยังคงเหมือนกับต้นแม่ทุกประการ กระบวนการนี้เกิดขึ้นน้อยในธรรมชาติ แต่นักปรับปรุงพันธุ์พืชเล็งเห็นว่าคุณสมบัติ apomixis นี้จะเป็นประโยชน์มากมายต่อคนในภาคเกษตร เป็นต้นว่านักปรับปรุงพันธุ์พืชจะสามารถผลิตเมล็ดพืชพันธุ์ใหม่ๆ ได้รวดเร็วและประหยัดค่าใช้จ่ายมากกว่าเดิม บริษัทอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์จะสามารถสร้างรายได้เพิ่มขึ้นจากการใช้คุณลักษณะ apomixis ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์พืชใหม่ๆ และสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อจำหน่ายได้รวดเร็วกว่าคู่แข่ง ในราคาต้นทุนที่ถูกลงกว่าเดิม ส่วนเกษตรกรรายย่อยเองก็จะสามารถเก็บเมล็ดพันธุ์พืชลูกผสมไว้ปลูกในฤดูต่อไปได้ ซึ่งเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายในการซื้อเมล็ดพันธุ์ลูกผสม อย่างไรก็ตาม ผู้เชี่ยวชาญได้พิจารณาว่าการที่จะถ่ายทอดคุณลักษณะ apomixis ไปสู่พันธุ์พืชเศรษฐกิจนั้นไม่ใช่เรื่องง่ายนัก อาจจะต้องใช้เวลาอีกระยะหนึ่งกว่าจะมีพันธุ์พืชที่มีคุณลักษณะ apomixis ออกสู่ตลาด

กลไกการเกิด apomixis

ในธรรมชาตินั้น คุณลักษณะ apomixis เกิดขึ้นได้น้อย คิดเป็นอัตราเพียงร้อยละ 1 ของพืชกว่า 40,000 ชนิด แต่ในพืชบางตระกูลก็จะพบได้บ่อยกว่าพืชตระกูลอื่นๆ เช่น ตระกูล *Gramineae* (พวกธัญพืชและหญ้า) *Compositae* (พวกตระกูลทานตะวัน) *Rosaceae* (พวกไม้ผลยืนต้น) และ *Asterceae* (พวก dandelion) ในพืชเศรษฐกิจที่มักพบคุณลักษณะ apomixis ได้แก่ ส้ม

1) ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ตู้ ปณ. 65 อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000 โทรศัพท์ 045 344103-4

Ubon Ratchathani Rice Research Center, P.O. Box 65, Muang, Ubon Ratchathani, Thailand 34000 Tel. 045 344103-4

Bureau of Rice Research and Development

มะม่วง และหญ้าอาหารสัตว์

Apomixis เกิดขึ้นได้ 2 วิธี วิธีแรก คือ เมล็ดอาจพัฒนาขึ้นมาจากเซลล์สืบพันธุ์ของพืช ที่ไม่สามารถพัฒนาไปตามกระบวนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ซึ่งต้องมีการแบ่งตัวแบบไมโอซิสได้ตามปกติ ส่วนอีกวิธีหนึ่ง คือ เมล็ดอาจมีการพัฒนาขึ้นมาจากเซลล์ร่างกายก็ได้ ในบางครั้งอาจมีทั้งเมล็ดที่เกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และเมล็ดที่เกิดจากคุณลักษณะ apomixis รวมอยู่ในผลหรือฝักเดียวกันก็ได้ ต้นพืชที่มีคุณลักษณะ apomixis สามารถขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยไม่จำเป็นต้องผสมเกสร แต่สามารถผลิตเมล็ดได้ ส่วนใหญ่ต้นพืชเหล่านี้จะยังคงมีละอองเกสรที่มีชีวิต สามารถปลิวไปผสมเกสรกับพืชต้นอื่น ทำให้คุณลักษณะ apomixis ถูกถ่ายทอดไปยังรุ่นลูก โดยผ่านกระบวนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศตามปกติได้

ความก้าวหน้าของงานวิจัยด้าน apomixis

งานวิจัยด้าน apomixis ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในช่วง 2 ทศวรรษที่ผ่านมา เนื่องจากมีศักยภาพอย่างมากในการปฏิวัติระบบการเกษตรของโลก บางคนคิดว่าอาจยิ่งใหญ่กว่าการปฏิวัติเขียวเสียอีก และเรียกคุณลักษณะ apomixis นี้ว่า "*การปฏิวัติแบบไร้เพศ*" (asexual revolution) ปัจจุบันมีงานวิจัยที่พยายามปรับปรุงพันธุ์ให้ได้พืชอาหารที่มีคุณลักษณะ apomixis และได้รับผลสำเร็จบ้างแล้ว พืชที่กำลังมีการปรับปรุงพันธุ์อยู่ได้แก่ ข้าวฟ่าง (โดย USDA-ARS ที่เมือง Tifton) และข้าวโพด (โดย CIMMYT) ซึ่งใช้วิธีการผสมพันธุ์เพื่อถ่ายทอดเอาคุณลักษณะ apomixis จากพันธุ์พืชป่าที่เป็นญาติใกล้ชิดเข้าสู่พันธุ์พืชปลูก แต่ยังไม่สามารถปรับปรุงพันธุ์จนถึงขั้นที่ได้เป็นพันธุ์ใหม่ออกมา ทั้งนี้เนื่องจากว่าสายพันธุ์เหล่านั้นยังมีปัญหาของการพัฒนาเนื้อเยื่อเอนโดสเปิร์มของเมล็ด นักวิจัยส่วนหนึ่งจึงพยายามศึกษาถึงระดับยีนที่ควบคุมกลไก หรือกระบวนการที่ทำให้เกิดคุณลักษณะ apomixis เพื่อที่จะถ่ายทอดลักษณะนี้เข้าสู่พันธุ์พืชที่ต้องการด้วยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรม วิธีการที่นักวิจัยใช้ทำการศึกษาคือการถ่ายฝากทรานสโปซอน (transposon) เข้าไปสู่พืช เพื่อให้ทรานสโปซอนแทรกเข้าอยู่ระหว่างยีนที่ควบคุมคุณลักษณะ apomixis จากนั้นก็จะสามารถแยกหรือโคลนยีนนี้แล้วถ่ายไปสู่พันธุ์พืชที่ต้องการได้

สำหรับงานวิจัยด้าน apomixis ในข้าว ได้มีผู้ทำการศึกษาวิจัยมานานพอสมควร เช่น หน่วยงาน IRRI, CSIRO, CAMBIA และ USDA นอกจากนี้ ทีมวิจัยของจีนได้เคยตีพิมพ์ผลงานที่เกี่ยวข้องกับ apomixis ของข้าวบ้างแล้ว จนถึงปัจจุบันนี้นักวิจัยก็ยังไม่สามารถค้นหาคุณลักษณะ apomixis ทั้งในพันธุ์ข้าวป่าและพันธุ์ข้าวปลูก แต่มีรายงานว่าข้าวบางพันธุ์มีลักษณะให้ต้นอ่อนแฝด หรือมีลักษณะเกสรตัวเมียและรังไข่หลายอันที่อาจเกี่ยวพันกับคุณลักษณะ apomixis ในข้าว (Fig. 1 และ 2) ทั้งนี้อาจเนื่องจากตัวอย่างพันธุ์ข้าวที่เก็บไว้ในธนาคารเชื้อพันธุ์มีจำนวนมาก จนไม่สามารถประเมินหาคุณลักษณะ apomixis จากตัวอย่างทั้งหมดได้ นอกจากนี้เทคนิคที่ใช้วิเคราะห์ก็ยุ่งยากซับซ้อนและสามารถใช้วิเคราะห์เฉพาะบางส่วนของกระบวนการ apomixis เท่านั้น

กระบวนการเกิด apomixis ในข้าว ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ apomeiosis (การเกิดถุงหุ้มคัพภะที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับต้นแม่) กับ parthenogenesis (การพัฒนาเป็นคัพภะโดยไม่ต้องมีการผสมพันธุ์) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคที่สามารถใช้วิเคราะห์องค์ประกอบทั้ง 2 ส่วนของคุณลักษณะ apomixis เรียกว่า เทคนิค flow cytometric seed screen (FCSS) โดยจะทำการวัดปริมาณดีเอ็นเอในคัพภะและเอนโดสเปิร์มในเมล็ดที่สุกแก่ เพื่อหากระบวนการสืบพันธุ์ที่พัฒนามาเป็นเมล็ดว่าเป็นแบบ apomixis หรือไม่ เนื่องจากยังไม่พบพันธุ์ข้าวที่มีคุณลักษณะ apomixis ดังนั้น นักวิจัยจึงพยายามผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวกับพืชอื่น เช่น *Cenchrus ciliaris*, *Pennisetum alopecuroides* และ *Panicum maximum* โดยใช้เทคนิค embryo rescue และ protoplast fusion เข้าช่วย ปัจจุบัน รหัสพันธุกรรมของข้าวถูกถ่ายถอดอย่างสมบูรณ์แล้ว มีความพยายามที่จะค้นหาตำแหน่งของยีนที่เกี่ยวข้องกับคุณลักษณะ apomixis ในข้าว โดยเปรียบเทียบกับพืชตระกูลหญ้าชนิดอื่นคือ *Paspalum simplex* และพบว่าส่วนปลายแขนด้านยาวของโครโมโซม 12 ของข้าวอาจมียีนที่เกี่ยวข้องกับคุณลักษณะ apomixis อยู่ ซึ่งอาจชักนำให้เกิดคุณลักษณะนี้ได้ นอกจากนี้นักวิจัยอีกกลุ่มหนึ่งพบว่ายีน *DMC1* จะแสดงหน้าที่ออกมาต่างกันระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสและแบบไมโตซิสของเซลล์แฮพพลอยด์กับเซลล์ดิพพลอยด์ ซึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการพัฒนาเป็นคัพภะโดยไม่อาศัย

Bureau of Rice Research and Development

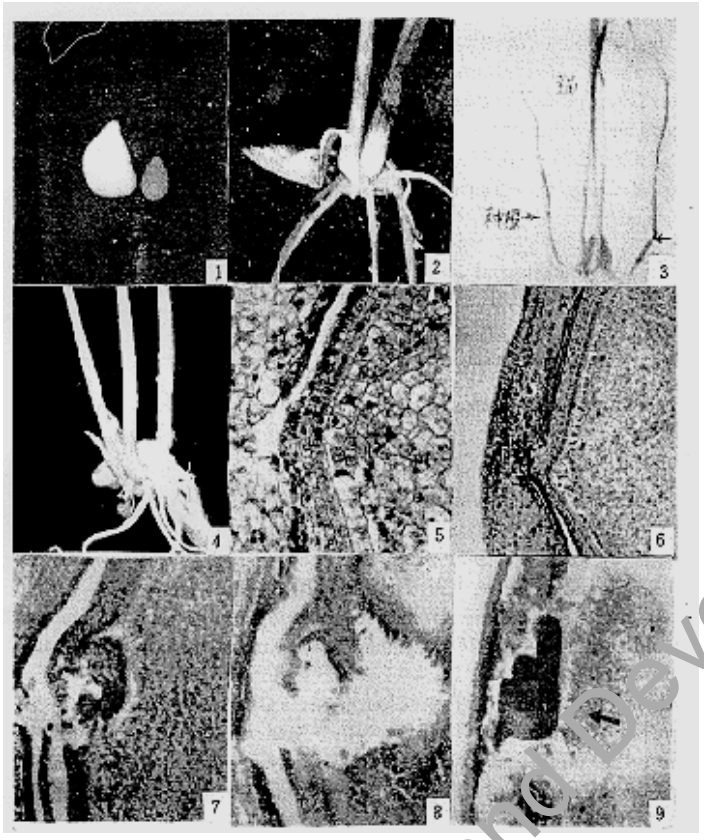


Fig. 1 Agamospermy observed in a rice cultivar C1001 (From Guo and Mu, 1992). (1) Some seeds of C1001B has two embryos. One was a normal pear-shaped embryo located at the normal position, and the other was a smaller globular one located in the internal side of the normal one. (2-4) Seeds of C1001B germinated in dark at 35 °C for 3-4 days produced multiple seedlings: twin- or triple-seedlings. (5-9) The nucellar cells sometimes differentiated into embryos. A particular nucellar cell was specialized close to the inner integument in the middle-lower part of embryo sacs. This specialized cell was two to three times larger than other nucellar cells and possessed denser cytoplasm, a bigger nucleus. After several divisions, a mass of cells was produced, some of them having more than one nucleus. Then, there appeared a protrusion under the epidermis of embryo sac. The protrusion separated gradually from other nucellar tissues. At this stage, there were still some cells with multiple nuclei. An embryo-like structure with an epidermal tissue was formed and later developed into an adventitious embryo.

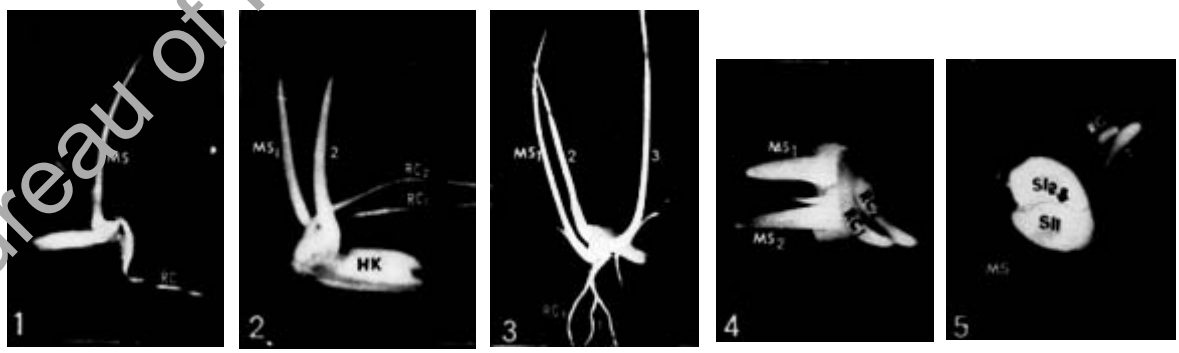


Fig. 2 Among the 5,000 mature caryoses of a rice cultivar Ap111 (Shuang 13), 89 % contain one embryo per caryopse, from which a single seedling arises (1), while 8.9% have twin embryos and 1.2% triple embryos, from which twin (2, 4 and 5) and triple seedlings (3) arise, respectively (From Mu *et. al.*, 1998)

Bureau of Rice Research and Development

เพศ

การปรับปรุงพันธุ์พืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจให้มีคุณลักษณะ apomixis อาจทำได้ 3 วิธี วิธีการแรกโดยการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ที่นิยมปลูกกับพันธุ์ป่าที่มีลักษณะ apomixis จากนั้นทำการผสมกลับไปยังพันธุ์ที่นิยมปลูกหลายๆ ครั้ง พืชที่มีการใช้วิธีนี้ เช่น ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี และข้าวโพด วิธีที่สองคือ การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในขบวนการสืบพันธุ์ เช่น สร้างสายพันธุ์กลายพันธุ์ที่ผลิตไข่ที่จำนวนโครโมโซมคงเดิม หรือสายพันธุ์กลายพันธุ์ที่สามารถสร้างคัพภะโดยไม่มีการผสมเกสร จากนั้นจึงนำสายพันธุ์กลายพันธุ์เหล่านี้ไปผสมกับพันธุ์ปกติ เพื่อพยายามถ่ายทอดเอาลักษณะที่ต้องการไปสู่พันธุ์ปกติ พืชที่มีการทดลองใช้วิธีนี้เพื่อสร้างพันธุ์ที่มีคุณลักษณะ apomixis คือ มันฝรั่ง แต่ก็ยังไม่สามารถปรับปรุงจนสำเร็จได้ในขณะนี้ ส่วนวิธีการที่สามคือ การใช้เทคนิคพันธุวิศวกรรม ด้วยความก้าวหน้าของวิทยาการด้านชีวโมเลกุลและพันธุวิศวกรรม ทำให้นักวิทยาศาสตร์สามารถศึกษากลไกการสืบพันธุ์ในพืชต้นแบบเช่น *Arabidopsis* จนสามารถสร้างสายพันธุ์กลายพันธุ์ที่พัฒนาเนื้อเยื่อเอนโดสเปิร์มได้โดยอัตโนมัติ และสามารถจำแนกยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกดังกล่าวคือ ยีน *LEC1* นอกจากนี้ ยังมีนักวิจัยอีกหลายกลุ่มที่กำลังพยายามจำแนกยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการ apomixis ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในพืชอีกหลายชนิด เพื่อจะได้นำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

ประโยชน์ของ apomixis ที่จะเกิดขึ้นกับวงการเกษตร และผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อสิ่งแวดล้อม

ประโยชน์ที่เห็นได้ชัดที่สุดของการถ่ายทอดคุณลักษณะ apomixis ไปสู่พันธุ์พืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจก็คือ ช่วยให้คัดเลือกต้นพืชที่มีคุณสมบัติตรงตามที่ต้องการ และสามารถขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด โดยยังคงลักษณะทางพันธุกรรมไว้ได้เหมือนเดิม อีกประการหนึ่งก็คือ นักปรับปรุงพันธุ์พืชสามารถปรับปรุงพันธุ์ใหม่ๆ โดยผสมพันธุ์ต้นพ่อกับต้นแม่ที่อาจมีฐานพันธุกรรมต่างกันได้ เพราะเมล็ดที่พัฒนาโดยกระบวนการ apomixis สามารถมีชุดโครโมโซมที่แตกต่างกันได้ คุณลักษณะ apomixis ช่วยให้พืชต่างสปีชีส์สามารถผสมกันได้ ซึ่งอาจส่งผลต่อวิวัฒนาการพันธุ์พืชใหม่ๆ หากสามารถนำคุณลักษณะนี้ไปใช้ประโยชน์ได้อย่างจริงจัง และอาจส่งผลต่อการเกษตรกรรมที่ยิ่งใหญ่กว่าการปฏิวัติเขียวในอดีตก็เป็นได้

ในวงการเมล็ดพันธุ์พืชลูกผสมนั้น บริษัทที่เป็นเจ้าของพันธุ์จะต้องผลิตพันธุ์บริสุทธิ์ เพื่อใช้เป็นพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่อยู่ตลอด และจะต้องทำการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์พ่อแม่เพื่อให้ได้เมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่มีคุณสมบัติดีเด่น เมื่อเกษตรกรซื้อเมล็ดพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวไปปลูกก็จะสามารถใช้เมล็ดพันธุ์ได้เพียงฤดูเดียว แต่ด้วยคุณลักษณะ apomixis เมล็ดพันธุ์ลูกผสมสามารถขยายพันธุ์จากรุ่นหนึ่งสู่อีกรุ่นหนึ่งได้ ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมได้อย่างมหาศาล นอกจากนี้ เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคมักไม่ถ่ายทอดไปยังอีกรุ่นโดยผ่านทางเมล็ด ดังนั้น คุณลักษณะ apomixis อาจนำมาใช้ผลิตเมล็ดพันธุ์ที่คงลักษณะทางพันธุกรรมเดิมไว้ได้โดยมีเชื้อโรคติดมาด้วยน้อยมาก ได้มีนักวิจัยชาวอเมริกันเคยคำนวณว่าหากมีการนำคุณลักษณะ apomixis ไปใช้ในพันธุ์ข้าว จะมีมูลค่าทางเศรษฐกิจมากกว่า 2,500 ล้านเหรียญสหรัฐ

ด้วยประโยชน์ในแง่เศรษฐศาสตร์และประหยัดเวลาอย่างมากของคุณลักษณะ apomixis นี้ จะทำให้งานวิจัยด้านปรับปรุงพันธุ์ในอนาคตพลิกโฉมใหม่เลยก็ว่าได้ นักปรับปรุงพันธุ์จะสามารถปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีลักษณะทางพันธุกรรมตรงหรือเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่เฉพาะเจาะจงได้ แทนที่จะพยายามปรับปรุงสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับความต้องการของพืชเช่นที่ส่วนใหญ่กำลังทำอยู่ในปัจจุบัน นอกจากนี้ ความก้าวหน้าของงานวิจัยด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ที่สามารถค้นหายีนหรือกลุ่มของยีนที่ควบคุมลักษณะทางการเกษตรต่างๆ ได้ เมื่อนำมาใช้ประโยชน์ร่วมกับคุณลักษณะ apomixis ยิ่งจะช่วยให้นักปรับปรุงพันธุ์พืช สามารถผลิตพืชพันธุ์ใหม่ๆ ได้รวดเร็วขึ้น และตรงกับความต้องการของผู้ที่จะนำไปใช้ประโยชน์มากยิ่งขึ้น ไม่ว่าจะนำไปใช้บริโภคเป็นอาหาร เครื่องนุ่งห่ม ยารักษาโรค ผลิตพลาสติค หรือใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอื่นๆ ได้ ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์พืชในอนาคตอาจเรียกได้ว่าเป็นการปรับปรุงพันธุ์แบบ "*บูติค*" *(boutique breeding)* คือ เน้นการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยมี

Bureau of Rice Research and Development

วัตถุประสงค์ที่เฉพาะเจาะจงยิ่งขึ้น

การที่ประโยชน์ของคุณลักษณะ apomixis จะเกิดขึ้นกับคนกลุ่มใดมากที่สุด ระหว่างนักปรับปรุงพันธุ์เกษตรกรรายย่อย หรือบริษัทอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ ก็ขึ้นอยู่กับว่าใครเป็นผู้ควบคุมหรือเป็นเจ้าของคุณลักษณะ apomixis ในอนาคต หากเป็นของสาธารณะก็จะช่วยให้ราคาเมล็ดพันธุ์พืชถูกลงอย่างมาก และทำให้มีพันธุ์พืชหลากหลายให้เกษตรกรได้เลือกใช้ แต่ถ้ากรรมสิทธิ์ตกอยู่กับบริษัทเอกชนเพียงไม่กี่ราย ก็จะเกิดการผูกขาดตลาดเมล็ดพันธุ์อย่างแน่นอน

สำหรับเกษตรกรรายย่อย โดยเฉพาะเกษตรกรในประเทศกำลังพัฒนา อาจได้รับประโยชน์จากคุณลักษณะ apomixis คือ สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์พืชลูกผสมและสามารถนำไปปลูกให้ได้ต้นพืชที่มีคุณสมบัติดีเด่นหรือให้ผลผลิตสูงได้ โดยเกษตรกรไม่จำเป็นต้องซื้อเมล็ดพันธุ์ใหม่ทุกปี ซึ่งจะเป็นประโยชน์โดยเฉพาะกับเกษตรกรที่อยู่ห่างไกลจากแหล่งที่จะหาซื้อเมล็ดพันธุ์ได้ ในระยะยาวเกษตรกรอาจใช้ประโยชน์จากคุณลักษณะ apomixis ในการช่วยรักษาลักษณะทางพันธุกรรมของพันธุ์พืชที่เกษตรกรต้องการให้คงอยู่ได้ โดยทำการผสมพันธุ์กับสายพันธุ์ที่เป็น apomictic line ในอนาคตเกษตรกรจะสามารถปรับปรุงหรือคัดเลือกพันธุ์ได้เอง ซึ่งจะทำให้ได้พันธุ์พืชที่เหมาะสมกับสภาพท้องถิ่นที่เฉพาะเจาะจงมากยิ่งขึ้น

อย่างไรก็ตาม มีนักวิจัยบางส่วนที่ไม่เห็นด้วยกับการใช้ประโยชน์จากคุณลักษณะ apomixis โดยกล่าวว่าวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบเกษตรกรมีส่วนร่วมที่ดำเนินการอยู่ในปัจจุบันนี้ก็นับว่ามีประโยชน์มากอยู่แล้ว เช่น นักปรับปรุงพันธุ์ข้าวในราซิลพบว่า เกษตรกรที่มีฝีมือมักจะปรับปรุงพันธุ์พืชเช่นข้าวโพด ให้มีความหลากหลายมากกว่าที่จะคัดเลือกพันธุ์เพื่อให้ได้ผลผลิตสูง ทั้งนี้เพื่อให้มีพันธุ์ที่หลากหลาย เพื่อลดความเสี่ยงจากสภาวะแวดล้อมที่มีความไม่แน่นอน ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีความอยู่ตัวด้วยคุณลักษณะ apomixis อาจไม่ใช่กลยุทธ์ที่เกษตรกรต้องการใช้ก็ได้

ปัจจัยที่อาจเป็นอุปสรรคต่อการใช้ประโยชน์จากคุณลักษณะ apomixis ของเกษตรกรรายย่อยก็คือ ในกรณีที่มีการใช้เทคโนโลยีที่เรียกว่า Traitor/Terminator Technologies ซึ่งบริษัทที่เป็นเจ้าของพันธุ์พืชลูกผสมใช้เพื่อป้องกันไม่ให้สามารถนำเมล็ดพันธุ์ลูกผสมไปใช้ปลูกติดต่อกันได้ หากมีการนำเอาคุณลักษณะ apomixis มาใช้กับพันธุ์พืชลูกผสมก็เท่ากับว่าเกษตรกรรายย่อยไม่จำเป็นต้องซื้อเมล็ดพันธุ์พืชลูกผสมจากบริษัททุกๆ ปี อย่างไรก็ตาม บริษัทอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์อาจพัฒนาพันธุ์พืชลูกผสมที่ใช้เทคโนโลยี Traitor/Terminator ร่วมด้วย ทำให้เกษตรกรไม่สามารถใช้เมล็ดพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวปลูกต่อเนื่องกันได้

อนึ่ง การถ่ายทอดคุณลักษณะ apomixis ไปสู่พันธุ์พืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ อาจมีผลทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชชนิดนั้นๆ ลดน้อยลง รวมทั้งของพืชพันธุ์ป่าที่เป็นญาติใกล้เคียงด้วย แต่ผลที่เกิดขึ้นจะเป็นเช่นใดนั้นยังไม่มีใครสามารถบอกได้ เนื่องจากกระบวนการ apomixis ยังไม่เป็นที่เข้าใจอย่างถ่องแท้นัก ดังนั้น การทำนายถึงผลกระทบของการใช้ประโยชน์จากคุณลักษณะ apomixis ที่อาจมีต่อสิ่งแวดล้อมจึงเป็นเรื่องค่อนข้างยาก แต่สิ่งที่จะเกิดขึ้นก็คือระบบการปลูกพืชเชิงเดี่ยวที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกันทุกประการ ซึ่งเสี่ยงอย่างยิ่งต่อการเกิดการระบาดของโรคหรือแมลง นักวิจัยบางส่วนจึงคิดว่าการที่คุณลักษณะ apomixis เกิดขึ้นในอัตราที่ต่ำในธรรมชาติ และมักเกิดในพืชที่เป็นโพลีพลอยด์คือมีโครโมโซมหลายชุด อาจเป็นผลของกระบวนการทำให้สูญพันธุ์ไป

จากข้อเสียในระยะยาวของคุณลักษณะนี้ หากนำเอาคุณลักษณะ apomixis มาใช้อย่างกว้างขวางในภาคเกษตร อาจก่อให้เกิดปัญหาในการคัดเลือกตามธรรมชาติ และอาจมีผลทำให้ความหลากหลายทางชีวภาพลดลงได้ เนื่องจากคุณลักษณะ apomixis จะทำให้ลักษณะทางพันธุกรรมคงตัวอยู่ได้ ทำให้พืชมีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ และได้พืชที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่เกิดจากพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ที่มีโครโมโซมแตกต่างกัน ซึ่งโดยปกติจะไม่สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ด้วยวิธีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ สิ่งเหล่านี้จะกระทบต่อกระบวนการวิวัฒนาการของพันธุ์พืชตามธรรมชาติ การที่พันธุ์พืชมีฐานพันธุกรรมแคบลง ย่อมไม่สามารถตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว หรือแม้แต่กับโรคและแมลงที่เปลี่ยนแปลงอยู่เรื่อยๆ ได้

ถึงแม้ว่าพันธุ์พืชสำคัญทางเศรษฐกิจที่มีคุณลักษณะ apomixis ยังคงเป็นเพียงความฝันของนักปรับ

Bureau of Rice Research and Development

ปรุงพันธุ์ แต่ปัจจุบันได้มีการจดสิทธิบัตรที่ครอบคลุมหรือเกี่ยวข้องกับคุณลักษณะ apomixis อยู่หลายฉบับ ซึ่งหนึ่งในสามของสิทธิบัตรเหล่านี้เป็นขององค์กรสาธารณะ อีกหนึ่งในสามส่วนเป็นของบริษัทข้ามชาติ ส่วนที่เหลือเป็นของสถาบันการศึกษา องค์กรสาธารณะหน่วยงานแรกที่ยื่นขอจดสิทธิบัตรเกี่ยวกับคุณลักษณะ apomixis คือ USDA ซึ่งเริ่มงานวิจัยเกี่ยวกับคุณลักษณะ apomixis ตั้งแต่ช่วงทศวรรษ 1960s ซึ่งทำการวิจัยในข้าวโพดและข้าวฟ่าง จนกระทั่งได้สายพันธุ์ที่มีคุณลักษณะ apomixis รวมทั้งโมเลกุลเครื่องหมายที่เกี่ยวข้อง และได้ยื่นขอจดสิทธิบัตรไว้เมื่อเดือนกันยายน พ.ศ. 2538 แม้ว่า USDA มีนโยบายที่จะให้คุณลักษณะ apomixis ในสายพันธุ์ข้าวโพดและข้าวฟ่างเป็นประโยชน์ต่อสาธารณะให้มากที่สุด แต่ USDA ได้เคยทำข้อตกลงลับไว้กับบริษัทยักษ์ใหญ่กว่า 20 บริษัท รวมทั้งบริษัท Pioneer Hi-Bred International ด้วย จึงทำให้เราได้ยากว่าคุณลักษณะ apomixis ที่เป็นสิทธิบัตรของ USDA จะเป็นประโยชน์ต่อสาธารณะได้มากน้อยเพียงใด

ในปี พ.ศ. 2540 หน่วยงาน IRD (Institut de Recherche pour le Développement) ของฝรั่งเศส และหน่วยงาน CIMMYT (the International Maize and Wheat Improvement Center) ของเม็กซิโก ได้ยื่นจดสิทธิบัตรคุ้มครองวิธีการค้นหายีนที่เกี่ยวข้องกับคุณลักษณะ apomixis ใน *Tripsacum* โดย CIMMYT ให้เหตุผลในการขอจดสิทธิบัตรว่า เพื่อให้คุณลักษณะ apomixis เกิดประโยชน์แก่เกษตรกรรายย่อยอย่างทั่วถึง ทั้ง IRD และ CIMMYT ได้รับเป็นที่ปรึกษาด้านวิจัยให้กับบริษัทอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ขนาดใหญ่หลายบริษัท เช่น Pioneer Hi-Bred International (ถูกซื้อกิจการโดย Dupont) Limagrain (สัมพันธ์ใกล้ชิดกับบริษัท Atventis) และ Novartis seeds (เป็นส่วนหนึ่งของบริษัท Syngenta) โดยตกลงให้ใบอนุญาตแบบ global non-exclusive license ส่วน IRD และ CIMMYT ได้ใบอนุญาตให้ใช้ผลงานวิจัยสำหรับกลุ่มเกษตรกรรายย่อยที่ทำการเกษตรเพื่อยังชีพ ด้วยวิธีนี้จะทำให้เกษตรกรรายย่อยมีโอกาสได้รับประโยชน์จากงานวิจัยคุณลักษณะ apomixis ด้วย แต่ในขณะเดียวกันอาจทำให้บริษัทอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ขนาดเล็กต้องล้มเลิกกิจการ เนื่องจากไม่สามารถแข่งขันด้านราคากับบริษัทขนาดใหญ่ทั้งสามบริษัทข้างต้นที่มีสิทธิ์ใช้เทคโนโลยี apomixis ได้ ปัจจุบันมีบริษัทเอกชนขนาดใหญ่หลายรายที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยแก่หน่วยงานของรัฐ แต่ข้อมูลจากการวิจัยก็มักจะถูกเก็บเป็นความลับ

บทสรุป

งานวิจัยด้าน apomixis จะยังคงเป็นเหมือนดังความฝันอันโชติช่วงของนักปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไปอีกหลายปี ถึงแม้ว่าโอกาสจะประสบผลสำเร็จค่อนข้างยาก แต่ผลตอบแทนที่จะได้รับเมื่อสามารถทำได้ก็มหาศาล จึงมีนักวิจัยและบริษัทเอกชนหลายรายทุ่มทุนวิจัยด้านนี้ เพราะเล็งเห็นผลประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากคุณลักษณะ apomixis ต่อวงการเกษตรในอนาคต บริษัทเอกชนที่ทำการวิจัยมักอ้างถึงประโยชน์ของ apomixis ที่จะเกิดแก่เกษตรกรรายย่อย เพื่อให้ได้รับการสนับสนุนจากสาธารณะเกี่ยวกับการวิจัยด้านนี้ แต่ถ้าหากมีบริษัทยักษ์ใหญ่เพียงไม่กี่ราย เป็นเจ้าของลิขสิทธิ์คุณลักษณะ apomixis นี้ โอกาสที่เกษตรกรรายย่อยจะได้รับประโยชน์ก็มีน้อย ยิ่งถ้าคุณลักษณะ apomixis ใช้ได้ผลดีกับพืชที่มีจำนวนชุดโครโมโซมเป็นโพลีพลอยด์ บริษัทอุตสาหกรรมเกษตรก็จะเร่งปรับปรุงพันธุ์พืชโพลีพลอยด์มากขึ้น พันธุ์พืชดั้งเดิมของเกษตรกรที่ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ดิพพลอยด์ก็จะค่อยๆ สูญหายไปในที่สุด

ในปัจจุบัน งานวิจัยด้านคุณลักษณะ apomixis ดูเหมือนจะเป็นประโยชน์ต่อบริษัทอุตสาหกรรมเกษตรขนาดใหญ่ มากกว่าจะประโยชน์ในแง่ของความมั่นคงด้านอาหาร หรือตอบสนองต่อความต้องการของเกษตรกรอย่างแท้จริง นอกจากนี้ ยังไม่มีผู้ใดสามารถบอกได้ว่าผลกระทบที่จะเกิดขึ้นต่อความหลากหลายทางชีวภาพและสิ่งแวดล้อมในระยะสั้นและระยะยาวจะเป็นเช่นใด จึงเป็นเรื่องที่ผู้มีส่วนได้ส่วนเสียควรมีโอกาสร่วมตัดสินใจว่าควรมีการนำเอาคุณลักษณะ apomixis มาใช้ในวงการเกษตรหรือไม่

บรรณานุกรม

Bicknell, R.A. and K.B. Bicknell. 1999. Who will benefit from apomixis? Biotechnology and Development Monitor. No.37 : 17-20.

GRIAN. 2001. Apomixis: The plant breeder's dream. Seedling newsletter. http://www.grain.org/seedling/

Bureau of Rice Research and Development

?id=20 retrieved on July 23, 2007.

Guo, X. X. and X.J. Mu. 1992. A new genetic material: Apomicitic rice C1001. Rice Genetics Newsletter. 9: 77-79 http://www.shigen.nig.ac.jp/rice/rgn/vol9/v9p77.html retrieved on July 23, 2007.

Jefferson, R.A. 1994. Apomixis: Asocial revolution for agriculture?. Biotechnology and Development Monitor. No.19 : 14-16.

Kaushal, P., D.R. Malaviya and A.K. Roy. 2004. Prospects for breeding apomictic rice: A reassessment. Current Science. 87(3) : 292-296.

Koltunow, A.M., R.A. Bicknell and A.M. Chaudhury. 1995. Apomixis: Molecular strategies for the generation of genetically identical seeds without fertilization. Plant Physiol. 108 : 1345-1352.

Mu, X.J. , G.C. Shi, Z.Q. Zhu, X. Cai and P.C. Ni. 1998. Polyembryony in Rice Ap111 (Shuang 13). Apomixis Newsletter no.10 http://www.cimmyt.org/abc/ResearchProjects/Apomixis/apomixisnews10/htm/APOMIXIS News10-4.htm retrieved on July 23, 2007.

Perotti, E., D. Grimanelli, P. John, D. Hoisington and O. Leblanc. 2004. Why is transferring apomixis to crops still a dream? http://www.cropscience.org.au/icsc2004/poster/3/2/1/1367perottie.htm retrieved on July 23, 2007.

Bureau of Rice Research and Development

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

"วารสารวิชาการข้าว" เป็นวารสารของกรมการข้าว มีวัตถุประสงค์ในการจัดพิมพ์ เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยและบทความวิชาการด้านข้าว นักวิชาการด้านข้าวสามารถส่งเรื่องตีพิมพ์ได้ โดยไม่จำเป็นต้องเป็นสมาชิกหรือสังกัดกรมการข้าว เรื่องที่จะลงพิมพ์ควรเป็นผลงานวิจัย / บทความที่ทันสมัย น่าสนใจ หรือค้นพบข้อมูลใหม่อันเป็นสาระประโยชน์แก่แวดวงวิชาการข้าว และจะต้องไม่เคยตีพิมพ์หรือรอการตีพิมพ์ในวารสาร /เอกสารวิชาการฉบับอื่นๆ

เรื่องที่จะลงพิมพ์ มี 2 ประเภท คือ

1. ผลงานวิจัย (technical or research paper) เป็นเอกสารรายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม

2. บทความปริทัศน์ (review article) เป็นเอกสารวิชาการที่รวบรวม (ตรวจเอกสาร) ข้อมูลวิชาการที่เกี่ยวข้อง นำมาเรียบเรียง และแสดงความคิดเห็น / ประสบการณ์ของผู้เขียนที่เกี่ยวกับเรื่องนั้นๆ

ต้นฉบับ : พิมพ์บรรทัดห่าง พิมพ์หน้าเดียว กระดาษพิมพ์ขนาด A4 ความยาวไม่เกิน 15 หน้า (รวมเนื้อหา ตาราง และภาพ)

ส่งต้นฉบับที่ wantana@ricethailand.go.th

หรือส่งที่ คุณวันทนา ศรีรัตนศักดิ์ สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทร 0-2579-6537 ต่อ 167 โทรสาร 0-2579-7559 ส่งต้นฉบับ 3 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล

รูปแบบการเขียนผลงานวิจัยฉบับเต็ม

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย)
ชื่อเรื่อง (ภาษาอังกฤษ)

ชื่อ - สกุล[1)] (ผู้แต่งคนที่ 1) ชื่อ - สกุล[2)] (ผู้แต่งคนที่ 2) (ภาษาไทย)
ชื่อ - สกุล[1)] (ผู้แต่งคนที่ 1) ชื่อ - สกุล[2)] (ผู้แต่งคนที่ 2) (ภาษาอังกฤษ)

Abstract

ย่อทุกส่วนของเรื่อง คำนำ วัตถุประสงค์ วิธีการทดลอง ผลการทดลอง และสรุป เป็นภาษาอังกฤษ เขียนให้รายละเอียดชัดเจน รวมกุม ความยาว 150 - 250 คำ

Keywords :

บทคัดย่อ

มีเนื้อหาเช่นเดียวกับบทคัดย่อภาษาอังกฤษ (Abstract) ควรอยู่หน้าเดียวกับ Abstract ถ้าเป็นไปได้

คำสำคัญ : ควรครอบคลุมสาระสำคัญของเรื่อง ซึ่งประกอบด้วยชื่อพืช/สัตว์/ผลิตภัณฑ์ (commodity) สาขาวิชา (subject) กิจกรรม (activity) ผลการวิจัย (result) สถานที่ (location)

---

1) ที่อยู่ของหน่วยงานและหมายเลขโทรศัพท์ของผู้แต่งคนที่ 1 (ภาษาไทย)
ที่อยู่ของหน่วยงานและหมายเลขโทรศัพท์ของผู้แต่งคนที่ 1 (ภาษาอังกฤษ)

2) ที่อยู่ของหน่วยงานและหมายเลขโทรศัพท์ของผู้แต่งคนที่ 2 (ภาษาไทย)
ที่อยู่ของหน่วยงานและหมายเลขโทรศัพท์ของผู้แต่งคนที่ 2 (ภาษาอังกฤษ)

Bureau of Rice Research and Development

คำนำ

กล่าวถึง หลักการ เหตุผล ความสำคัญ ปัญหา วัตถุประสงค์ของงานวิจัย พร้อมทั้งให้ข้อมูล สนับสนุน / โต้แย้ง จากการตรวจเอกสาร

อุปกรณ์และวิธีการ

อธิบายขั้นตอนการทดลอง การวางแผนการทดลอง ขนาดแปลงทดลอง รายละเอียดของวิธีการทดลอง การบันทึกข้อมูลการทดลอง การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ระยะเวลา และสถานที่ที่ดำเนินการทดลอง โดยให้รายละเอียดเป็นขั้นตอนที่ชัดเจน กระชับ ไม่เยิ่นเย้อ

ผลการทดลองและวิจารณ์

อธิบายผลการทดลองที่สำคัญ อ้างถึงตาราง กราฟ หรือภาพประกอบ แสดงเหตุผลเพื่อสนับสนุนผลการทดลอง และวิจารณ์เพื่อสนับสนุน หรือคัดค้านผลการทดลอง โดยอ้างถึงผลการทดลองของผู้อื่น (จากการตรวจเอกสาร) ประกอบการสนับสนุน / คัดค้านผลการทดลองนั้น

สรุปผลการทดลอง

สรุปสาระสำคัญของผลการทดลอง การนำไปใช้ประโยชน์และข้อเสนอแนะในการวิจัยเรื่องนั้นๆ ในอนาคต (ถ้ามี)

คำขอบคุณ (ถ้ามี)

กล่าวถึงบุคคลและหน่วยงานที่ช่วยเหลือในงานทดลอง

เอกสารอ้างอิง

วิธีการเขียนเอกสารอ้างอิง ดูคำแนะนำการเขียนเอกสารอ้างอิงในเอกสารที่แนบมา

ตาราง

ชื่อตารางและข้อมูลรายละเอียดต่างๆ ใช้ภาษาอังกฤษทั้งหมด โดยเรียงลำดับตาราง 1, 2, 3... ให้สอดคล้องกับลำดับก่อน - หลัง ของเนื้อเรื่อง

ภาพประกอบ

อาจเป็นภาพ 4 สี ภาพขาวดำ ภาพลายเส้น (กราฟ) กราฟควรเป็นกราฟเส้น หรือกราฟแท่ง ไม่ควรใช้กราฟ 3 มิติ ภาพต้องชัดเจน สวยงาม สะอาด พร้อมคำอธิบายเป็นภาษาอังกฤษ การเรียงลำดับภาพใช้หลักการเดียวกับตาราง

Bureau of Rice Research and Development

รูปแบบการเขียนบทความปริทัศน์

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย)
ชื่อเรื่อง (ภาษาอังกฤษ)

ชื่อ-สกุล[1)] (ภาษาไทย)
ชื่อ-สกุล[1)] (ภาษาอังกฤษ)

Abstract

แนะนำและกล่าวถึงเนื้อเรื่องแบบย่อ เฉพาะส่วนประกอบที่สำคัญ อาจนำหัวข้อแต่ละเรื่องย่อยมาเขียนไว้ตามลำดับ (ไม่เกิน 200 คำ)

keywords :

บทคัดย่อ

มีเนื้อหาเช่นเดียวกับบทคัดย่อภาษาอังกฤษ (Abstract)

คำสำคัญ :

คำนำ

เป็นการแนะนำความสำคัญทางเศรษฐกิจ เทคโนโลยีใหม่ ความรู้ใหม่ แนวคิดใหม่ ฯลฯ ของสิ่งที่กล่าวถึงที่เกิดขึ้นและมีการศึกษาวิจัย เพื่อแก้ปัญหาสิ่งนั้น เป็นการให้ข้อมูลพื้นฐานแก่ผู้อ่านในเนื้อหารายละเอียดที่จะกล่าวต่อไป

เนื้อเรื่อง

เขียนเป็นตอนๆ ตามหัวข้อใหญ่ หัวข้อย่อย ฯลฯ (ไม่สั้นหรือไม่ยาวเกินไป) โดยเขียนไปตามลำดับของเนื้อหาของโครงสร้างเรื่องที่ผู้เขียนกำหนดไว้

สรุป

สรุปเนื้อหาสาระสำคัญ พร้อมให้ข้อคิดเห็น ข้อเสนอแนะ

คำนิยม / คำขอบคุณ

อาจมีหรือไม่มีก็ได้

เอกสารอ้างอิง

ใช้หลักการเขียนเช่นเดียวกับรายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม

หมายเหตุ ความยาวของบทความ ไม่เกิน 10 หน้ากระดาษ A4 พิมพ์บรรทัดห่าง อาจมีภาพประกอบได้ (คำบรรยายภาพใช้ภาษาอังกฤษ)

---

1) ที่อยู่ของหน่วยงานและหมายเลขโทรศัพท์ของผู้เขียน (ภาษาไทย)
ที่อยู่ของหน่วยงานและหมายเลขโทรศัพท์ของผู้เขียน (ภาษาอังกฤษ)

Bureau of Rice Research and Development

คำแนะนำการเขียนเอกสารอ้างอิง

1. การตรวจเอกสาร ในส่วนของคำนำ / อุปกรณ์, วิธีการทดลอง / วิจารณ์ผลการทดลอง

ตัวอย่างการเขียน : -

วันทนา (2548) รายงานว่า....

.....ดีเอ็นเอ มีลักษณะเป็นเส้นสองเส้นพันกันเป็นเกลียว เรียกว่า เกลียวคู่ (Watson and Crick, 1953)

.....ใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างหลายชั้นร่วมกับการสุ่มตัวอย่างแบบมีชั้นภูมิ (สุชาดา, 2525 ; Hanset *et al*., 1953)

.....ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ สะอาด และคณะ (2527) ที่พบว่า.....

2. เอกสารอ้างอิง / บรรณานุกรม

ในรายการเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่อง การเรียงลำดับรายการเอกสารอ้างอิง ให้เอาเอกสารภาษาไทยอยู่ส่วนแรก และภาษาอังกฤษอยู่ส่วนที่สอง ไม่ต้องใส่หมายเลขกำกับแต่ละรายการ

ภาษาไทย

- เรียงตามลำดับอักษร ชื่อตัวขึ้นก่อน ตามด้วยนามสกุล
- ผู้เขียนคนเดียวกันมีหลายเรื่อง ให้เรียงลำดับตาม ปี พ.ศ จากเก่าไปหาใหม่
- ผู้เขียนคนเดียว เขียนปีเดียวกัน มีหลายรายการให้ใช้ลำดับด้วยอักษร ก, ข,..... กำกับไว้หลังปี พ.ศ.
- ผู้เขียนหลายคน ชื่อแรกเหมือนกัน ให้เรียงลำดับตามจำนวนผู้เขียน (เรียงลำดับจำนวนผู้เขียนก่อน ปีที่เขียนพิจารณาในลำดับต่อไป)

ภาษาอังกฤษ

- ผู้เขียนคนแรก ให้เอานามสกุลขึ้นก่อน ตามด้วยชื่อ (อักษรตัวย่อชื่อ) ผู้เขียนลำดับที่ 2, 3, ... ให้เอาชื่อ (ตัวย่อ) ขึ้นก่อน ตามด้วยนามสกุล
- หลักเกณฑ์อื่นๆ เช่นเดียวกับภาษาไทย

รูปแบบการเขียนเอกสารอ้างอิง

1. หนังสือหรือตำรา (textbooks)

รูปแบบ : ชื่อผู้แต่ง. ปีที่ตีพิมพ์. ชื่อหนังสือ. ครั้งที่ตีพิมพ์ (ถ้ามี). สำนักพิมพ์, ที่ตั้งสำนักพิมพ์ (ชื่อเมือง/จังหวัด). จำนวนหน้าทั้งหมด (อาจยกเว้นได้).

ตัวอย่าง เช่น

Howse, P., I. Stevens and O. Jones. 1998. Insect Pheromones and Their Use in Pest Management. Chapman & Hall, London. 369 p.

2. หนังสือหรือตำราที่มีบรรณาธิการ (editing text books)

2.1 อ้างแบบยกเล่ม

รูปแบบ : ชื่อบรรณาธิการ, (ผู้รวบรวม). ปีที่ตีพิมพ์. ชื่อหนังสือ. ครั้งที่ตีพิมพ์ (ถ้ามี). หน่วยงานที่จัดพิมพ์. สำนักพิมพ์, ที่ตั้งสำนักพิมพ์ (ชื่อเมือง/จังหวัด). จำนวนหน้าทั้งหมด (อาจยกเว้นได้).

ตัวอย่าง เช่น

Subramanyam, B. and D.W. Hagstrum, (eds.). 1996. Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekkerv, Inc., New York. 426 p.

2.2 อ้างเฉพาะเรื่อง

รูปแบบ : ชื่อผู้แต่ง. ปีที่พิมพ์. ชื่อเรื่อง. หน้า-หน้า *ใน* : ชื่อบรรณาธิการ, (ผู้รวบรวม), ชื่อหนังสือ. ครั้งที่ตีพิมพ์ (ถ้ามี). หน่วยงานที่จัดพิมพ์. สำนักพิมพ์, ที่ตั้งสำนักพิมพ์ (ชื่อเมือง/จังหวัด).

ตัวอย่าง เช่น

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธิ์ และสาทร สิริสิงห์. 2535. หลักการบริหารแมลงศัตรูพืช. หน้า 12-21. *ใน* : สุวัฒน์ รวยอารีย์ (ผู้รวบรวม), แมลงและสัตว์ศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร. เอกสารวิชาการฉบับพิเศษ. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ไอเดียสแควร์, กรุงเทพฯ.

3. วารสาร (journals) / นิตยสาร (magazines) / ข่าวสาร (news)

รูปแบบ : ชื่อผู้แต่ง. ปีที่ตีพิมพ์. ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสาร/นิตยสาร/ข่าวสาร (ชื่อย่อหรือชื่อเต็ม) ปีที่ (เล่มที่) : หน้า - หน้า.

ตัวอย่าง เช่น

อัญชลี สงวนพงษ์. 2539. การใช้น้ำมันสะเดาอัดเม็ดในการควบคุมประชากรของด้วงงวงข้าว. ว. วิทย.กษ. 29 (1-3) : 6-15.

Hoy, R.H. and D. Robert. 1996. Tympanal hearing in insects. Annu. Rev. Entomol. 41 : 433-450.

Bureau of Rice Research and Development

4. วิทยานิพนธ์

รูปแบบ : ชื่อผู้แต่ง. ปีที่ตีพิมพ์. ชื่อวิทยาพินธ์. ระดับวิทยานิพนธ์. มหาวิทยาลัย, ที่ตั้ง (ชื่อเมือง/ จังหวัด). จำนวนหน้าทั้งหมดของวิทยานิพนธ์ (อาจยกเว้นได้).

ตัวอย่าง เช่น

วสันต์ นุ้ยภิรมย์. 2541. การทดสอบสมรรถนะการผสมและความดีเด่นของไหมพันธุ์แท้ชนิดที่ฟักออกปีละ 2 ครั้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 97 หน้า.

5. รายงานการประชุม (proceedings)

รูปแบบ : ชื่อผู้แต่ง. ปีที่ตีพิมพ์. ชื่อเรื่อง. หน้า-หน้า *ใน* : บรรณาธิการ, (ผู้รวบรวม) (ถ้ามี), ชื่อการประชุม. ช่วงวันที่ประชุม (อาจยกเว้นได้).สถานที่จัดประชุม (ชื่อเมือง/จังหวัดอาจรวมถึงประเทศ) และชื่อสำนักพิมพ์และที่ตั้งสำนักพิมพ์.

ตัวอย่าง เช่น

อาณัติ ตั๊ะปินตา. 2536. พิษของสารเคมีปราบศัตรูพืชต่อสิ่งแวดล้อม. หน้า 1-9. *ใน* : สุภาณี พิมพ์สมาน, (ผู้รวบรวม), รายงานการประชุมสัมมนาเรื่องการใช้สารจากพืชเพื่อการป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร. 7-9 มกราคม 2534. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่นการพิมพ์, ขอนแก่น.

6. สิ่งพิมพ์ที่ไม่ปรากฏชื่อผู้แต่ง หรือไม่ปรากฏปีที่ตีพิมพ์

รูปแบบ : ชื่อหน่วยงาน. ปีที่ตีพิมพ์ (ถ้ามี). ชื่อเรื่อง. หน่วยงานที่จัดพิมพ์. สำนักพิมพ์และที่ตั้งสำนักพิมพ์ (ถ้ามี). จำนวนหน้าทั้งหมดของสิ่งพิมพ์ (อาจยกเว้นได้)

ตัวอย่าง เช่น

กองกีฏและสัตววิทยา. 2541. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2541. เอกสารวิชาการเกษตร. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 285 หน้า.

Du Pont. (no date). Label-techical information manual of Du Pont agricultural chemical. Du Pont Far East Inc., Thailand Branch. Suwit G. Ad. Corporation Ltd., Bangkok. 67 p.

7. จุลสาร (pamphets)

เป็นสิ่งพิมพ์ของทางราชการหรือเอกชน ปกติมีความหนาประมาณ 10-40 หน้า (ไม่เกิน 70 หน้า)

รูปแบบ : ชื่อผู้แต่ง. ปีที่ตีพิมพ์ (ถ้ามี). ชื่อจุลสาร. ครั้งที่ตีพิมพ์ (ถ้ามี). หน่วยงานที่จัดพิมพ์. สำนักพิมพ์, ที่ตั้งสำนักพิมพ์ (ชื่อเมือง/จังหวัด). จำนวนหน้าทั้งหมดของจุลสาร (อาจยกเว้นได้).

ตัวอย่างเช่น

วิภาดา วังศิลาบัตร. (ไม่ระบุปีที่ตีพิมพ์). แมงมุมในนาข้าวของประเทศไทย. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. ห้างหุ้นส่วนจำกัด มีเดีย เพรส, กรุงเทพฯ. 53 หน้า.

8. แผ่นพับ / แผ่นปลิว (folders / leaflets)

รูปแบบ : ชื่อผู้แต่งหรือหน่วยงาน. ปีที่ตีพิมพ์ (ถ้ามี). ชื่อเรื่อง. หน่วยงานที่จัดพิมพ์. สำนักพิมพ์และที่ตั้งสำนักพิมพ์.

ตัวอย่าง เช่น

ทิพย์วดี อรรถากรรม. 2535. แมลงที่ช่วยผสมเกสร. แผ่นปลิวเกษตรฯ ที่ 164. กรมส่งเสริมการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

9. Web site

รูปแบบ : ชื่อคนหรือหน่วยงาน. ปี. ชื่อกลุ่ม. ชื่อเล่ม. แหล่งหรือชื่อ web site, วันที่จัดทำ (retrieved date) หรือเข้าถึง (access date)

ตัวอย่าง เช่น

Pollution Control Department. 2003. Industrial effluent standards. Effluent standards. Available source : http : // www.ped.co.th, May 12, 2003.

หมายเหตุ: ในการเขียนเอกสารอ้างอิง สิ่งพิมพ์ที่มิได้อ้างถึงในเนื้อหา ต้องไม่ปรากฏในบัญชีรายการเอกสารอ้างอิง และสิ่งพิมพ์ที่ถูกอ้างอิงในเนื้อหาทุกรายการจะต้องปรากฏในบัญชีเอกสารอ้างอิง

Bureau of Rice Research and Development

Editorial Comittees of Thai Rice Research Journal

Year 2007-2008

Production : Rice Department
Office : Bureau of Rice Research and Development, Rice Department, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand
Objective : To dissemiinate the rice knowledge and researches undertaken by individuals and/or organizations in Thailand

Advisors

Director General,
Deputy Director Generals,
Advisors,
Senior Experts,
Director of Bureau of Rice Research and Development,
Director of Bureau of Rice Seed
Director of Bureau of Rice Policy and Strategy,
Director of Bureau of Rice Product Development
Director of Bureau of Rice Production Extension
Director of Bureau of Central Administration

Editor

Suwat Ruay-aree

Assistant Editors

Kannika Promphunjai Wantana Sriratanasak
Somsong Chotechuen Pinai Thongsawatwong

Editorial Board

Orapin Watthesk Suniyom Taprap Rasamee Dhitikiattipong
Witchuda Rattanakarn Varapong Chamarerk Lamaimaat Yongsuk
Kingkaw Kunket Anchalee Prasertsak Nivat Nabheerong
Wiailuk Sukprakarn Ladda Viriyangkura Thasana Larpruai
Kajorn Raoprasert

Manager

Witchuda Rattanakarn

Assistant Managers

Orathai Techalit Kanjanaporn Phoonbankaek

Bureau of Rice Research and Development

Thai Rice Research Journal

Rice Department, Ministry of Agriculture and Cooperatives

Vol. 1 No. 1, September - December 2007 ISSN 1906 - 0246

Bureau of Rice Research and Development

CONTENT

- **Message from Director General**. 3
  Surapong Pransilpa
- **Editorial**. 4
  Dara Chettanachit

RESEARCH PAPERS

- **Rice Production Potential Zoning of 3 Provinces in the Central Plain** 5
  Kingkaw Kunket, Nittaya Ruensuk, Somroj Prakorbboon, Pranorm Monkonbunjong, Samran Inthalaeng, Adul Kridsawadee, Wasana Inthalaeng, Chitnucha Buddaboon, Laddawan Kunnoot, Nopharat Muangprasert, Walaiporn Sasiprapa, Tom Tiaphet, Nithat Karnchanapa, Chirapha Muangklai, Chamnong Srinimitra
- **Using Antagonistic Bacteria to Control Rice Seed Discoloration Disease**. 21
  Parkpian Arunyanart, Nongrat Nilpanit, Rasamee Dhitikiattipong
- **Breeding Rice for Salt Tolerance and Good Cooking Quality**. 29
  Duangjai Suriyaarunroj, Apichart Vanavichit, Sompong Tragoonrung, Theerayut Toojinda
- **Rice Varietal Purity Test by Using Molecular Marker**. 44
  Payorm Cobelli, Varapong Chamarerk, Poonsak Mekwatanakarn
- **Determination of Pathotype Diversity of Rice Blast Fungal Population in Thailand**. 52
  Poonsak Mekwatanakarn, Payorm Cobelli, Acharaporn Na Lampang Noenplab, Thanomjit Rithmontree, Kulchana Ketsuwan, Chanasirin Klinmanee, Sangaun Thieng Deerith
- **Viability and Quality Changes in Brown Rice**. 65
  Anchalee Prasertsak, Sununta Wongpiyachon, Siriwan Tangwisuthijit, Suparat Koncharoenkul, Lamaimas Youngsuk

ARTICLES

- **Hybrid Rice : Long Last Research for Alternative Rice Production**. 72
  Boriboon Somrith
- **Apomixis : The Plant Breeder's Dream**. 77
  Varapong Chamarerk