บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ประวัติ และความเป็นมาของข้าว

ธัญญาหารที่ใช้เลี้ยงประชากรส่วนใหญ่ของโลก คือ ข้าว ซึ่งมีประวัติ และความเป็นมาที่ยาวนาน มนุษย์รู้จักเพาะปลูก และใช้ประโยชน์จากพืชตระกูลหญ้าชนิดนี้ตั้งแต่สมัยก่อนคริสตกาล ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าว คือ เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ลำต้นเป็นไม้เนื้ออ่อน เมล็ดสามารถรับประทานได้ จำแนกอยู่ในวงศ์แกรมินีอี (*Gramineae*) เป็นพืชล้มลุกสามารถเจริญเติบโตได้ในลักษณะภูมิประเทศ และภูมิอากาศที่แตกต่างกัน จึงทำให้เกิดความหลากหลายของข้าวชนิดต่างๆ ซึ่งทั่วโลกมีข้าวอย่างน้อย 23 ชนิด และ 21 ชนิดจัดอยู่ในชนิดข้าวป่า (wild rice) อีก 2 ชนิด เป็นข้าวที่นิยมปลูกเพื่อบริโภค คือ ข้าวแอฟริกา (*Oryza glaberrima* Steud) และข้าวเอเชีย (*Oryza sativa* Linn) ซึ่งข้าวเอเชียนั้นมีการปลูกอย่างกว้างขวาง ส่วนใหญ่ปลูกเพื่อการค้าในตลาดโลก ข้าวเอเชียแบ่งได้เป็น 3 ชนิด (subspecies) (จำรัส, 2534) คือ

ข้าวจาปอนิกา (japonica) มีลำต้นเตี้ย เมล็ดสั้น ป้อมกลมรี มีปริมาณอมิโลสต่ำ สามารถทนต่ออากาศหนาวได้ดี มีการแพร่กระจายจากบริเวณเนปาล-อัสสัม-พม่า และยูนาน จนถึงบริเวณลุ่มแม่น้ำเหลืองของจีน และจากอินโดจีนเข้าสู่บริเวณตอนล่างของลุ่มน้ำแยงซีเกียง มีการปรับตัวจนได้สายพันธุ์ที่เหมาะสมในการปลูกเขตอบอุ่น ต่อมาจึงแพร่กระจายไปยังเกาหลี และญี่ปุ่นเมื่อประมาณ 300 ปีก่อนคริสตศักราช

อินดิกา (indica) มีลักษณะเมล็ดยาวรี ลำต้นสูง เจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน มีการเพาะปลูกในเอเชียเขตมรสุมตั้งแต่จีน เวียดนาม ฟิลิปปินส์ ไทย หมู่เกาะมลายู อินโดนีเซีย อินเดีย และศรีลังกา

จาวานิกา (javanica) มีลักษณะเมล็ดใหญ่ป้อม ต้นสูง แต่ไม่ได้รับความนิยมเพราะให้ผลผลิตต่ำ สันนิษฐานว่าเป็นผลจากการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์อินดิกา มีการปลูกในอินโดนีเซียเมื่อประมาณ 1,800 ปีก่อนคริสตกาล และต่อมาแพร่กระจายไปประเทศฟิลิปปินส์ ไต้หวัน และญี่ปุ่น

สำหรับประเทศไทยนั้นมีภูมิอากาศ และภูมิประเทศที่เอื้อให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว โดยมีข้าวป่าข้ามปี (O. *rufipogon* Griff.) ซึ่งเป็นบรรพบุรุษของข้าวปลูกเอเชีย และข้าวป่าปีเดียว (O. *nivara* Sharma) แพร่กระจายอยู่ทั่วประเทศ นอกจากนี้ยังมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ข้าวปลูก ซึ่งทางสถาบันวิจัยข้าวได้รวบรวมพันธุ์ข้าวป่า และ

ข้าวปลูกไว้มากกว่า 19,000 ตัวอย่าง จึงเป็นที่ยอมรับว่าประเทศไทยเป็นแหล่งกำเนิด และแพร่กระจายของข้าวเอเชียแห่งหนึ่งของโลก (อรอนงค์, 2547)

พฤกษศาสตร์ทั่วไปของข้าว

การเจริญเติบโต และโครงสร้างของข้าว

1. การเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative growth phase) การเจริญเติบโตทางลำต้นของข้าวเริ่มจากข้าวงอกออกจากเมล็ดข้าวในส่วนคัพภะ จนถึงการสร้างรวงอ่อนหรือช่อดอก ซึ่งมีการเจริญของส่วนต่างๆ ดังนี้ (บุญหงส์, 2547)

1.1 ราก (root) รากเป็นส่วนที่อยู่ใต้ผิวดิน ใช้ยึดลำต้นกับดินเพื่อไม่ให้ต้นข้างล้ม ข้าวนั้นมีระบบรากฝอย (fibrous) ประกอบด้วยรากชุดแรก (seminal roots) มีการแตกแขนงไม่มาก และมีอายุอยู่ไม่นานหลังจากการงอก รากชุดเสริมชุดที่สอง (secondary root) เป็นรากที่เกิดจากข้อใต้ระดับดินของต้นข้าวที่อ่อนมีการแตกแขนงมาก และรากฝังดิน (mat roots) เมื่อต้นข้าวเจริญ เติบโตมากขึ้นจะมีรากเสริมชนิดค้ำจุน ที่เกิดจากข้อเหนือระดับผิวดิน บางส่วนจะงอกลงดิน แต่บางส่วนจะกระจายไปในแนวระดับผิวดิน

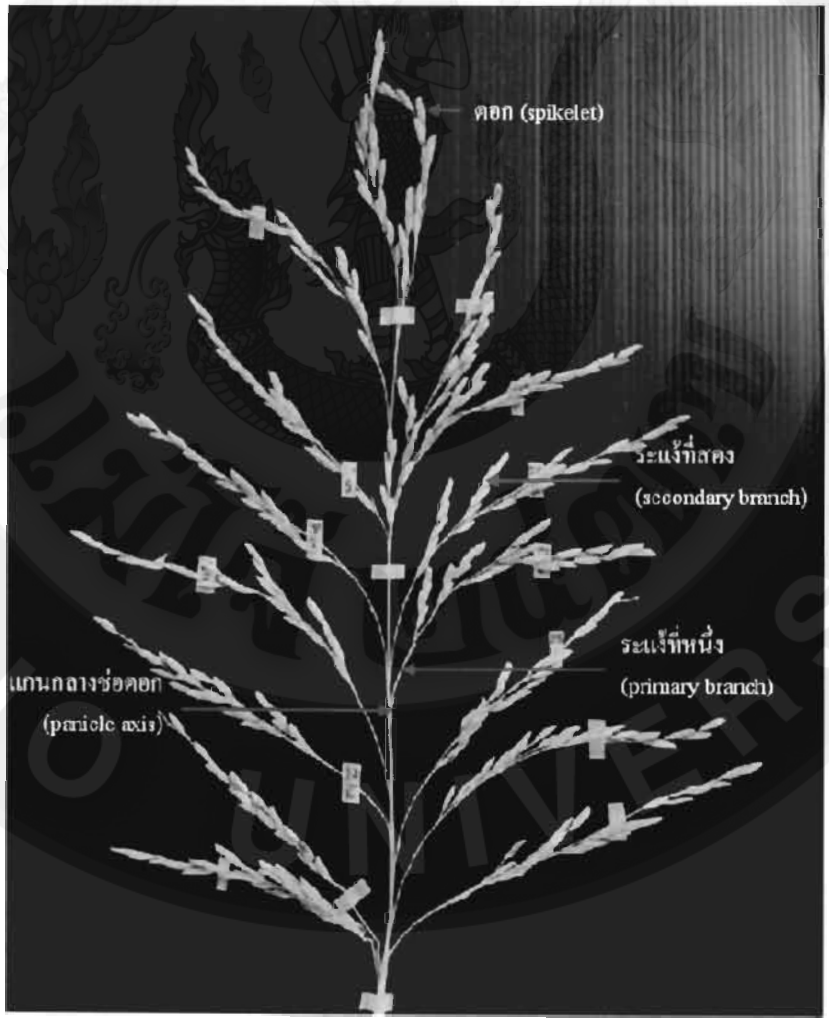
1.2 ลำต้น (culm) ลำต้นจะทำหน้าที่พยุงใบ ดอก และรวง ลำต้นข้าวมีลักษณะเป็นท่อ ภายในกลวง เกิดจากชุดของข้อ (node) และปล้อง (interode) ที่ต่อเรียงสลับกันโดยมีผนังกั้นข้อ (node septum) กั้น บริเวณข้อจะเป็นที่เกิดของใบ และดา (bud) ดาที่ข้อถี่ๆ บริเวณโคนต้นจะเจริญเติบโตแตกกอ (tiller) เป็นต้นใหม่ ซึ่งข้าวแต่ละพันธุ์จะมีความสามารถในการแตกกอไม่เท่ากัน

1.3 ใบ (leaf) ใบของข้าวเป็นชนิดใบเดี่ยว (single leaf) ลักษณะแบนบาง และยาวคล้ายหอก ใบข้าวเกิดจากข้อของลำต้น เรียงสลับกันเป็นสองแถว ประกอบด้วย ตัวใบ (leaf blade) กาบใบ (leaf sheath) หูใบ (stipule) หรือเยื่อกั้นน้ำฝน (ligule) และเขี้ยวกันแมลง (auricle) ใบข้าวใบแรกที่เกิดจากลำต้นหลัก (main culm) จะเป็นใบที่ไม่สมบูรณ์มีลักษณะคล้ายกาบใบ ใบธงจะอยู่บนสุดของต้นข้าว ใต้ช่อดอกข้าว หรือรวงข้าว ทำหน้าที่สร้างอาหารในระยะที่ข้าวสร้างรวงและพัฒนาเป็นเมล็ด

2. การเจริญเติบโตทางการสืบพันธุ์ (reproductive growth phase) เริ่มตั้งแต่วันที่ต้นข้าวสร้างดอกอ่อนจนถึงวันที่รวงเริ่มโผล่ออกจากใบธง ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ระยะย่อย คือ ระยะข้าวแต่งตัว ข้าวเริ่มสร้างดอกอ่อน ระยะต่อมาคือข้าวตั้งท้อง ต้นข้าวจะสร้างส่วนต่างๆ ของช่อ

ดอก หรือรวงข้าว (panicle) และดอกข้าว (spikelet) ทำให้มีขนาดใหญ่พอสมควร ต้นข้าวอ้วนกลม ป่องออก และเมื่อรวงข้าวเริ่มโผล่ออกจากลำต้นในระยะสุดท้ายเรียกว่า ข้าวโพล่ง

2.1 ช่อดอกหรือรวงข้าว มีส่วนประกอบสำคัญ ได้แก่ แกนกลางช่อดอก (main panicle axis) ซึ่งจะมีการแตกแขนงจากแกนกลางช่อดอกออกไป จากข้อด้านบนของคอรวงจนถึงปลายรวง เรียกว่า ระแง้ที่หนึ่ง หรือแขนงที่หนึ่ง (primary branch) และบนระแง้ที่หนึ่งนี้จะมีกิ่งเล็กๆ เรียกว่า ระแง้ที่สอง หรือแขนงที่สอง (secondary branch) ในข้าวพันธุ์ที่มีจำนวนระแง้มาก แสดงว่ามีดอกข้าวในรวงจำนวนมากกว่าข้าวพันธุ์ที่มีจำนวนระแง้น้อยกว่า ลักษณะของช่อดอกหรือรวงข้าว ดังภาพ 1



ภาพ 1 แสดงส่วนต่างๆ ของดอก หรือรวงข้าว
ที่มา: ดวงใจ (2554)

2.2 ดอกข้าว ดอกข้าวเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) มีอวัยวะเพศครบทั้ง 2 เพศ คือ เกสรตัวผู้ (stamen) และเกสรตัวเมีย (pistil) อยู่ภายในดอกเดียวกัน จึงสามารถผสมพันธุ์ได้ด้วยตนเอง (self-pollinated plant) เพศผู้มีอับเกสรเพศผู้ (anther) จำนวน 6 อัน อยู่บนก้านอับเกสร (filament) เพศเมียมีพู่รับละอองเกสร (stigma) จำนวน 2 อัน และรังไข่ (ovary) ซึ่งเชื่อมกันด้วยก้านพู่รับละอองเกสร (style) ดอกข้าวจัดเป็นดอกไม่สมบูรณ์ (incomplete flower) เนื่องจากไม่มีกลีบเลี้ยง (sepal) และไม่มีกลีบดอก (petal) ดอกข้าวมีเปลือกดอก 2 เปลือก คือ เปลือกดอกใหญ่ (lemma) และเปลือกดอกเล็ก (palea) บนส่วนยอดของเปลือกดอกใหญ่ ในข้าวบางพันธุ์จะมีปลายแหลมยื่นออกไป เรียกว่า หาง (awn) เปลือกดอกเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่ป้องกัน และห่อหุ้มดอก (flower)

3. ระยะการเจริญทางเมล็ด เมื่อดอกข้าวได้รับการปฏิสนธิประมาณ 7-10 วัน หากบีบเมล็ดข้าวจะพบว่ามีน้ำแป้งสีขาวไหลออกจากเมล็ด เรียกว่าระยะน้ำนมข้าว และเมื่อเวลาผ่านไป 15-20 วัน ส่วนที่บีบเป็นน้ำนั้นจะเกาะตัวเป็นก้อนนิ่มๆ เมื่อครบกำหนดประมาณ 30-35 วัน หลังจากการปฏิสนธิข้าวจะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวได้ (อัมมาร, 2533)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าว

การเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าวนั้นมีปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้องหลายอย่าง ซึ่งแต่ละปัจจัยล้วนส่งผลต่อต้นข้าว และผลผลิตของข้าวทั้งสิ้น ซึ่งปัจจัยหลักที่มีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าว ประกอบด้วย (อัมมาร, 2533)

ปัจจัยทางด้านดิน

ดินที่เหมาะสมในการปลูกข้าวควรมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดี สามารถเก็บกักน้ำไว้ได้เป็นเวลานาน มีความเป็นกรดด่าง (พีเอช) ที่ 5.0-6.5 มีธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์แก่ข้าว ซึ่งความอุดมสมบูรณ์ของดินนั้นเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของข้าว ในกรณีที่ดินมีธาตุอาหารไม่เพียงพอ หรือใช้ปลูกข้าวติดต่อกันเป็นเวลานานต้องให้ธาตุอาหารหลักที่ข้าวต้องการทดแทนในรูปปุ๋ย ได้แก่ ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแตสเซียม ซึ่งปุ๋ยจะช่วยเร่งให้ต้นข้าวแตกกอมากขึ้น เจริญเติบโตอย่างสม่ำเสมอ มีรวงที่สมบูรณ์ มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก และน้ำหนักเมล็ดดี

ปัจจัยทางด้านพันธุ์ข้าว

เมล็ดพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกจะต้องตรงตามพันธุ์ มีความสมบูรณ์ของเมล็ดโดยสังเกตจากขนาด และน้ำหนักของเมล็ด เมล็ดข้าวที่มีขนาดใหญ่จะมีอาหารสะสมอยู่มากกว่าเมล็ดขนาดเล็กซึ่งเมื่อนำไปเพาะปลูกก็จะมีอัตราการงอกสูง มีการพัฒนาเป็นต้นได้ดี ทำให้ต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดข้าวขนาดใหญ่เจริญเติบโตได้เร็วกว่าต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดขนาดเล็ก และเมื่อนำต้นกล้าไปปักดำก็จะเจริญเติบโต และตั้งตัวได้เร็วกว่า

ปัจจัยทางด้านน้ำ

ในการปลูกข้าวน้ำมีความสำคัญตั้งแต่ระยะการงอกของเมล็ดไปจนถึงประมาณก่อนการเก็บเกี่ยว เนื่องจากต้นข้าวมีส่วนที่เป็นน้ำอยู่ประมาณร้อยละ 80 ซึ่งน้ำจะเป็นตัวละลายธาตุอาหารเพื่อให้รากดูดซึมเข้าสู่ต้นข้าวเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต หากต้นข้าวขาดน้ำโดยเฉพาะในช่วงระยะตั้งแต่ข้าวตั้งท้องจนถึงก่อนเก็บเกี่ยวประมาณ 10 วัน เมล็ดข้าวจะลีบ เปราะ และข้าวจะเป็นท้องไข่ นอกจากนี้น้ำในนาข้าวยังช่วยป้องกัน และกำจัดวัชพืชตระกูลหญ้าได้ด้วย

ชนิดของพันธุ์ข้าว และลักษณะประจำพันธุ์

ชนิดของพันธุ์ข้าวนั้นมีหลายชนิด สามารถแบ่งได้ตามประเภทของการจำแนก ได้แก่ (อรอนงค์, 2547)

1. จำแนกตามคุณสมบัติทางเคมีภายในเมล็ด

1.1 ข้าวเจ้า (non-glutinous rice) คือ พันธุ์ข้าวที่เมล็ดข้าวมีส่วนของแป้ง (starch) ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย อมิโลเพคติน (amylopectin) 60-90 เปอร์เซ็นต์ และอมิโลส 10-30 เปอร์เซ็นต์

1.2 ข้าวเหนียว (glutinous rice) คือ พันธุ์ข้าวที่เมล็ดข้าวมีส่วนประกอบด้วยอมิโลเพกตินถึง 95 เปอร์เซ็นต์ แต่มีปริมาณ อมิโลสน้อยมากหรือไม่มีเลย

2. พันธุ์ข้าวแบ่งตามนิเวศวิทยาของการปลูก

2.1 ข้าวนาสวน (lowland rice) คือ พันธุ์ข้าวที่ปลูกในที่นาที่สามารถกักเก็บน้ำได้ มีระดับน้ำไม่เกิน 50 เซนติเมตร ซึ่งข้าวนาสวนนี้มีปลูกอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย แบ่งได้เป็น ข้าวนาสวนนาน้ำฝน และข้าวนาสวนนาชลประทาน

2.1.1 ข้าวนาสวนนาน้ำฝน (rain-fed lowland rice) คือ พันธุ์ข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี กล่าวคือ ต้องอาศัยน้ำฝนตามธรรมชาติในการเพาะปลูก และไม่สามารถควบคุมปริมาณน้ำได้ขึ้นอยู่กับการกระจายตัวของฝน สำหรับประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกข้าวนาน้ำฝนประมาณ 70% ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด

2.1.2 ข้าวนาสวนนาชลประทาน (irrigated lowland rice) คือ พันธุ์ข้าวที่ปลูกในพื้นที่เขตชลประทาน สามารถควบคุมระดับน้ำได้โดยอาศัยน้ำจากระบบการชลประทานจึงสามารถเพาะปลูกได้ตลอดทั้งปี ในประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวนาชลประทาน ประมาณ 24% ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด ซึ่งพื้นที่ส่วนใหญ่อยู่ในภาคกลาง

2.2 ข้าวขึ้นน้ำ (floating rice) คือ พันธุ์ข้าวที่มีลักษณะพิเศษ กล่าวคือ มีความสามารถในการยืดปล้อง (internode elongation) และการชูรวง (kneeing ability) ดังนั้นจึงสามารถปลูกในนาที่มีน้ำท่วมขังระดับน้ำตั้งแต่ 1-5 เมตรได้เป็นเวลานาน

2.3 ข้าวไร่ (upland rice) คือ พันธุ์ข้าวที่สามารถปลูกในที่ดอน ซึ่งไม่มีน้ำขัง หรือในสภาพไร่ บริเวณไหล่เขา ใช้น้ำในการเพาะปลูกน้อย และไม่มีการทำคันนาเพื่อกักเก็บน้ำ

3. พันธุ์ข้าวแบ่งตามการตอบสนองต่อแสง

3.1 ข้าวไวต่อช่วงแสง (photo-sensitive rice) คือ พันธุ์ข้าวที่ออกดอกเมื่อได้รับแสงในช่วงความยาวของเวลากลางวันที่เหมาะสม คือ มีช่วงความยาวของเวลากลางวันสั้นกว่า 12 ชั่วโมง ซึ่งสามารถแบ่งช่วงความไวต่อช่วงแสงของข้าวเมื่อปลูกในฤดูนาปีได้ ดังนี้ (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป.)

3.1.1 ข้าวเบามาก คือ ข้าวที่ออกดอกก่อนวันที่ 15 ตุลาคม

3.1.2 ข้าวเบา คือ ข้าวที่ออกดอกในช่วงวันที่ 15 ตุลาคม ถึง 15 พฤศจิกายน

3.1.3 ข้าวกลาง คือ ข้าวที่ออกดอกในช่วงวันที่ 16 พฤศจิกายน ถึง 14 ธันวาคม

3.1.4 ข้าวหนัก คือ ข้าวที่ออกดอกในช่วงวันที่ 15 ธันวาคม ถึง 31 ธันวาคม

3.1.5 ข้าวหนักมาก คือ ข้าวที่ออกดอกในช่วงเดือนมกราคม

ดังนั้นข้าวไวต่อช่วงแสงจึงสามารถปลูก และให้ผลผลิตได้ดีเฉพาะในช่วงฤดูนาปีที่มีช่วงความยาวของเวลากลางวันสั้นกว่า 12 ชั่วโมง

3.2 ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง (non-photosensitive rice) คือ พันธุ์ข้าวที่ออกดอกเมื่อต้นข้าวเจริญเติบโตครบตามกำหนด โดยความยาวของช่วงเวลากลางวันไม่มีผลต่อการออกดอก ดังนั้นพันธุ์ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสงจึงสามารถใช้ปลูก และให้ผลผลิตได้ตลอดทั้งปี สามารถแบ่งชนิดของข้าวไม่ไวต่อช่วงแสงได้ ดังนี้

3.2.1 อายุออกดอกสั้นมาก คือ มีอายุออกดอกน้อยกว่า 100 วัน

3.2.2 อายุออกดอกสั้น คือ มีอายุออกดอกอยู่ระหว่าง 100-110 วัน

3.2.3 อายุออกดอกปานกลาง คือ มีอายุออกดอกอยู่ระหว่าง 111-140 วัน

3.2.4 อายุออกดอกยาว คือ มีอายุออกดอกอยู่ระหว่าง 141-160 วัน

3.2.5 อายุออกดอกยาวมาก คือ มีอายุออกดอกมากกว่า 160 วัน

องค์ประกอบผลผลิตของข้าว (rice yield component)

การประเมินปริมาณผลผลิต (yield) ข้าวที่จะได้ สามารถหาได้จากองค์ประกอบต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตข้าว (yield components) ซึ่งองค์ประกอบแต่ละอย่างวัดได้จากบางช่วงระยะเวลาในระหว่างการเจริญของข้าว (Matsushima, 1970 cited by Yoshida, 1981) ปริมาณผลผลิตสูงสุดที่จะได้นั้นสามารถประเมินในขั้นต้นจากพันธุ์ข้าว และสภาพแวดล้อม การคำนวณองค์ประกอบผลผลิตจะให้ข้อมูลสำหรับพิจารณาเป้าหมายของผลผลิต รวมถึงใช้สำหรับเปรียบเทียบผลต่างกับพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูงซึ่งทำการวัดในสภาพแวดล้อมเดียวกัน องค์ประกอบผลผลิตของข้าว ประกอบด้วย (Yoshida, 1981)

1. จำนวนช่อดอก หรือรวงข้าวต่อหนึ่งตารางเมตร (panicle number/m^2)

ช่อดอก หรือรวงข้าวเป็นตัวชี้วัดปริมาณผลผลิตของข้าวได้ ซึ่งจำนวนรวงของข้าวในแต่ละสายพันธุ์นั้นจะแตกต่างกัน หรือแม้แต่ในข้าวสายพันธุ์เดียวกันที่ปลูกภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันก็จะส่งผลต่อปริมาณผลผลิตของข้าว โดยการปลูกข้าวแบบนาดำจำนวนของรวงข้าวต่อหนึ่งตารางเมตรจะขึ้นอยู่กับอัตราการแตกกอ แต่สำหรับข้าวนาหว่านจำนวนของรวงข้าวต่อหนึ่งตารางเมตรจะขึ้นอยู่กับอัตราการงอกของเมล็ดข้าว เช่น การปลูกข้าวสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงแบบนาดำจะมีจำนวนรวงข้าว 300 รวงต่อหนึ่งตารางเมตร ขณะที่ได้จำนวนรวงข้าวสูงถึง 600 รวงต่อหนึ่งตารางเมตรสำหรับการปลูกข้าวนาหว่าน

2. จำนวนเมล็ดข้าวต่อรวง (spikelet number/panicle)/จำนวนเมล็ดข้าวต่อหนึ่งตารางเมตร (spikelet number/m^2)

จำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงสามารถวัดได้ในระยะที่มีการเจริญของระบบสืบพันธุ์ โดยในระยะแรกสามารถวัดจากการพัฒนาของแขนงย่อย หรือระแง้ และดอกข้าว หลังจากระยะการพัฒนาของดอกข้าวแล้วดอกข้าวบางดอกจะไม่มีการพัฒนาเป็นเมล็ด (degenerate) ดังนั้นจำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงที่ได้ในระยะที่ช่อดอกโผล่จากกาบใบ (heading) หรือระยะที่ข้าวสุกแก่แล้วจึงเป็นผลต่างระหว่างจำนวนของดอกข้าวที่พัฒนาเป็นเมล็ดข้าว และจำนวนของดอกข้าวที่ไม่พัฒนาเป็นเมล็ด นอกจากการวัดปริมาณผลผลิตได้จากจำนวนเมล็ดต่อรวงแล้วสามารถวัดจากจำนวนเมล็ดต่อพื้นที่ได้เช่นกัน ซึ่งจำนวนเมล็ดต่อรวง หรือจำนวนเมล็ดต่อพื้นที่นั้นที่เป็นผลมาจาก

2.1 วัฒนธรรมการปลูกข้าว การเว้นระยะห่างการปลูก ความหนาแน่นของต้นกล้า และการดูดซึมไนโตรเจน

2.2 ลักษณะการเจริญของข้าว การแตกกอ หรืออัตราการงอกของเมล็ด

2.3 ลักษณะภูมิประเทศ และสภาพภูมิอากาศ แสงอาทิตย์

ซึ่งปัจจัยต่างๆ มีความสัมพันธ์กัน เช่น ในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำต้นข้าวจะดูดซึมไนโตรเจนได้ดี โดยไนโตรเจนจะช่วยในการสร้างช่อดอกทำให้มีจำนวนเมล็ดมากขึ้น แต่ในขณะที่อุณหภูมิต่ำก็จะมีการยับยั้งการเจริญในระยะสืบพันธุ์ทำให้เกิดความเป็นหมัน (sterility) ได้ด้วย ดังนั้นจึงอาจเสริมฟอสฟอรัสแทนไนโตรเจนในช่วงที่อุณหภูมิต่ำ และต้นข้าวต้องการแสงอาทิตย์แตกต่างกันในช่วงระยะการเจริญต่างๆ โดยเฉพาะในช่วงการเจริญของระยะสืบพันธุ์ การได้รับแสงอาทิตย์อย่างเพียงพอจะช่วยให้ปริมาณผลผลิตมากขึ้น จากปัจจัยต่างๆ ที่กล่าวมาในสภาวะที่ให้ผลผลิตดีที่สุดเมื่อระยะห่างการปลูกข้าว และระดับของไนโตรเจนที่เหมาะสม จำนวนเมล็ดต่อพื้นที่จะขึ้นอยู่กับปริมาณแสงอาทิตย์ และอุณหภูมิในช่วงการเจริญของระยะสืบพันธุ์

3. เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดี (percentage of filled spikelets)

ปัจจัยต่างๆ เช่น สภาพอากาศ ดิน ความเป็นหมัน การเกิดโรค และแมลงรบกวนล้วนส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดี ซึ่งปัจจัยต่างๆ ประกอบด้วย (Yoshida and Parao, 1976 cited by Yoshida, 1981)

3.1 ปริมาณไนโตรเจนที่ต้นข้าวได้รับ ซึ่งข้าวบางพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดีต่ำกว่าข้าวอีกพันธุ์ในสภาวะที่มีไนโตรเจนปริมาณมาก

3.2 การหักล้ม เมื่อลำต้นข้าวหักล้มเสียหายย่อมส่งผลต่อเนื้อเยื่อลำเลียงให้ทำงานได้ไม่ดีปริมาณสารอาหารที่ได้รับในระยะการเจริญของเมล็ดจึงลดลง ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดีลดลงด้วยเช่นกัน

3.3 อุณหภูมิต่ำ เมื่อสภาพอากาศมีอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน ทำให้เปอร์เซ็นต์ความเป็นหมันสูง โดยเฉพาะในระยะที่ช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบซึ่งพบได้ในเขตพื้นที่เหนือเส้นละติจูด หรือในช่วงฤดูแล้งของประเทศโซนร้อน

3.4 อุณหภูมิสูง ที่อุณหภูมิสูงระยะการเจริญของเมล็ดข้าวจะถูกจำกัดให้สั้นลง และเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส จะมีเปอร์เซ็นต์ความเป็นหมันสูงด้วย

3.5 ลม ความแรงของลมทำให้ความชื้นลดลง ส่งผลให้เกิดความเป็นหมันได้ในระยะดอกบาน นอกจากนี้ยังทำให้ต้นข้าวหักล้มเสียหายได้

3.6 ดินเค็ม ในสภาพดินเค็มมากเปอร์เซ็นต์การเกิดความเป็นหมันสูง

3.7 ความแห้งแล้ง เมื่อเกิดความแห้งแล้ง หรือขาดน้ำในช่วงระยะการออกดอกของข้าวนาสวนนาน้ำฝน และข้าวไร่ทำให้เปอร์เซ็นต์ความเป็นหมันสูง

เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดีสามารถประเมินได้ในช่วงระหว่างก่อนที่ช่อดอกโผล่จากกาบใบจนกระทั่งช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบแล้ว กล่าวคือเมื่อสภาพอากาศไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูง หรือต่ำเกินไปในช่วงการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ก็จะชักนำให้เกิดความเป็นหมันได้ นอกจากนี้สภาพอากาศที่ไม่เหมาะสมในช่วงการสุกแก่ของข้าวก็จะมีผลยับยั้งการเจริญของดอกข้าวทำให้กลายเป็นเมล็ดลีบ (unfilled spikelets)

4. น้ำหนักของเมล็ดข้าวจำนวน 1,000 เมล็ด (1,000 grain weight)

การวัดปริมาณผลผลิตข้าวจากน้ำหนักของเมล็ดข้าวจำนวน 1,000 เมล็ด เป็นค่าที่แน่นอน เนื่องจากขนาดของเมล็ดข้าวถูกจำกัดด้วยขนาดของเปลือกข้าว

จากองค์ประกอบผลผลิตของข้าวสามารถประเมินปริมาณผลผลิตข้าวได้จาก

$$\text{Grain yield (t/ha)} = \text{panicle number/m}^2 \times \text{spikelet number/panicle} \times \text{\% filled spikelets} \times \text{1,000 grain weight (g)} \times 10^{-5}$$

หรือ

$$\text{Grain yield (t/ha)} = \text{spikelet number/m}^2 \times \text{\% filled spikelets} \times \text{1,000 grain weight (g)} \times 10^{-5}$$

เมื่อกำหนดให้

Grain yield (t/ha) คือ ปริมาณผลผลิต (ตัน/เฮกเตอร์ : 1 เฮกเตอร์ = 6.25 ไร่)

panicle number/m^2 คือ จำนวนช่อดอก หรือรวงข้าวต่อตารางเมตร

spikelet number/panicle คือ จำนวนเมล็ดข้าวต่อรวง ซึ่งนับรวมเมล็ดดี และเมล็ดลีบ

spikelet number/m^2 คือ จำนวนเมล็ดข้าวต่อตารางเมตร

% filled spikelet คือ เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดี ซึ่งได้จากอัตราส่วนระหว่างจำนวนของเมล็ดดี และจำนวนดอก

1,000 grain weight คือ น้ำหนักของเมล็ดข้าวจำนวน 1,000 เมล็ด (กรัม)

10^{-5} แปลงหน่วย 1,000 grain weight เป็น เมตริกตัน (1 เมตริกตันมีค่าเท่ากับ 1,000,000 กรัม)

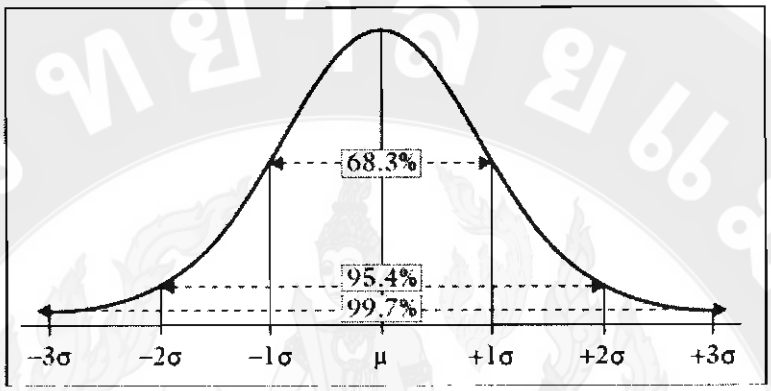
จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบผลผลิตข้าว และปริมาณผลผลิต พบว่าจำนวนเมล็ดข้าวต่อหนึ่งตารางเมตรเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตมากกว่าเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดี และน้ำหนักของเมล็ดข้าวจำนวน 1,000 เมล็ด กล่าวคือปริมาณผลผลิตเพิ่มเมื่อจำนวนเมล็ดข้าวต่อหนึ่งตารางเมตรเพิ่มขึ้น ขณะที่เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดีจะมีผลต่อปริมาณผลผลิตมากกว่าจำนวนเมล็ดข้าวต่อหนึ่งตารางเมตรในการปลูกข้าวบางพื้นที่ หรือในบางสภาพอากาศ ดังนั้นการพิจารณาถึงองค์ประกอบผลผลิตที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณผลผลิตจึงมีความสำคัญ โดยเฉพาะจำนวนเมล็ดข้าวต่อหนึ่งตารางเมตร และเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดี โดยภาพรวมแล้วสภาพอากาศ วัฒนธรรมการปลูกข้าว และการดูแลระหว่างการปลูกข้าวล้วนมีอิทธิพลต่อองค์ประกอบผลผลิตของข้าวทั้งสิ้น

นอกจากองค์ประกอบหลักดังกล่าวแล้วยังมีองค์ประกอบอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตของข้าว เช่น ความยาวของรวงข้าว (panicle length) จำนวน และความถี่ของระแง้ที่สอง หรือแขนงที่สอง (secondary branch) และความสูงของต้นข้าว (plant height) เป็นต้น

การศึกษาลักษณะเชิงปริมาณ

ลักษณะทางฟีโนไทป์ที่แตกต่างกันชัดเจนสามารถแยกจัดเป็นกลุ่ม มีความแปรปรวนของ ฟีโนไทป์แบบไม่ต่อเนื่อง (discontinuous variation) และเป็นไปตามกฎของเมนเดล เรียกว่าลักษณะเชิงคุณภาพ (qualitative character) ในขณะที่ลักษณะทางฟีโนไทป์ที่มีความแตกต่างกันไม่ชัดเจนจำเป็นต้องอาศัยการใช้มาตราในการ ชั่ง ตวง วัด ได้แก่ ความยาว ความกว้าง ความสูง น้ำหนัก ปริมาณผลผลิต เป็นต้น มีความแปรปรวนของฟีโนไทป์แบบค่อยๆ ลดหลั่นกันอย่างต่อเนื่อง (continuous variation) และมีแบบแผนต่างไปจากกฎของเมนเดล เรียกว่า ลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative character) หากศึกษาในกลุ่มตัวอย่างจำนวนมากความแปรปรวนของลักษณะ

ที่ศึกษาจะมีการกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) เป็นรูประฆังคว่ำ ดังภาพ 2 (ดาวรุ่ง, 2546)



ภาพ 2 แสดงการกระจายตัวปกติเป็นรูประฆังคว่ำ
ที่มา: Acquaah (2007)

การศึกษาลักษณะเชิงปริมาณซึ่งมียีนที่ควบคุมหลายคู่ มีความแปรปรวนของลักษณะอย่างต่อเนื่อง จำเป็นต้องใช้สถิติในการศึกษา และวิเคราะห์ลักษณะดังกล่าวในรูปของค่าเฉลี่ย (mean) ค่าความแปรปรวน (variance) และค่าความแปรปรวนร่วม (covariance) เป็นต้น ซึ่งการวิเคราะห์ลักษณะปริมาณของประชากรนั้นได้แบ่งค่าของฟีโนไทป์ออกเป็นสองส่วนตามสาเหตุที่ทำให้เกิดฟีโนไทป์นั้นๆ ได้แก่ จีโนไทป์ และสภาพแวดล้อม โดยค่าของจีโนไทป์มีค่าแน่นอน เนื่องจากเกิดขึ้นโดยอิทธิพลของจีโนไทป์เอง ในขณะที่อิทธิพลของสภาพแวดล้อมเป็นส่วนที่ทำให้เกิดการเบี่ยงเบนไปจนทำให้ค่าของฟีโนไทป์ไม่เท่ากับค่าของจีโนไทป์ (ประดิษฐ์, 2550)

ด้วยกฎของเมนเดลนั้นไม่สามารถวิเคราะห์ยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณได้ เนื่องจากมียีนที่ควบคุมจำนวนมาก และยีนแต่ละตำแหน่งมีการแสดงออกได้ไม่เท่ากัน ดังนั้นนักพันธุศาสตร์ และนักสถิติจึงได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ และศึกษายีนลักษณะปริมาณแต่ละตำแหน่งเรียกยีนเหล่านี้ว่า quantitative trait loci หรือ QTLs (สุภาวดี, 2550)

ซึ่ง QTLs จะประกอบด้วยกลุ่มยีนหลัก (major QTLs) จำนวนหนึ่ง และแต่ละตำแหน่งจะมีผลต่อลักษณะอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังมีกลุ่มยีนรอง (minor QTLs) ซึ่งมีจำนวนมากกว่ากลุ่มยีนหลัก โดยแต่ละตำแหน่งจะมีผลต่อลักษณะเพียงเล็กน้อย (minor QTLs) (Gupta, 2007)

วิธีการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายพันธุกรรม และ QTL แบ่งตามจำนวนเครื่องหมายพันธุกรรมที่ใช้ในการวิเคราะห์ได้สองวิธี ดังนี้ (สุภาวดี, 2550)

1. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยเครื่องหมายพันธุกรรมเดี่ยว (single marker analysis) ทำการตรวจสอบความสัมพันธ์ของ QTL หนึ่งตำแหน่งกับเครื่องหมายพันธุกรรมแต่ละตำแหน่งอย่างอิสระ ใช้วิธี single factor analysis of variance (SF-ANOVA) ในการวิเคราะห์ สามารถตรวจสอบได้ว่า QTL อยู่ในลิงเกจกับเครื่องหมายหรือไม่ แต่ไม่สามารถประมาณตำแหน่งและผลของ QTL ได้

2. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยเครื่องหมายพันธุกรรมที่ขนาบข้าง QTL (flanking marker analysis หรือ interval mapping) เป็นการตรวจสอบความสัมพันธ์ของเครื่องหมายพันธุกรรมหนึ่งคู่ กับ QTL หนึ่งตำแหน่งที่อยู่ระหว่างเครื่องหมายพันธุกรรมทั้งสอง เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการหาตำแหน่ง และประมาณค่าผลของ QTL ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น (Prasanna, 2007)

2.1 Simple Interval Mapping (SIM) พัฒนาขึ้นโดย Lander และ Botstein ในปี ค.ศ.1989 เป็นการใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์กับ QTL

2.2 Composite Interval Mapping (CIM) เป็นวิธีการที่รวมการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ด้วยเครื่องหมายพันธุกรรมที่ขนาบข้าง QTL เข้ากับการวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งในการตรวจสอบความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลกับ QTL อื่นๆ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์มากกว่าวิธีการ SIM

ยีนควบคุมลักษณะปริมาณผลผลิตของข้าว

ในปี ค.ศ. 1998 มีรายงานการศึกษา QTLs ของลักษณะต่างๆ ในข้าวพันธุ์ป่าเพื่อนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ซึ่งข้าวพันธุ์ป่านั้นมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก ในการทดลองใช้ประชากร BC_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ป่า (*O. rufipogon*) เป็นพันธุ์ให้ และข้าวพันธุ์ปลูก V20A และผสมกลับกับข้าวพันธุ์ปลูก V20B จำนวน 2 ครั้ง จากนั้นผสมกับข้าวพันธุ์ Ce64 (testcross) เมื่อทดสอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RFLP และ SSLP (simple sequence length polymorphism) ได้ข้อมูล QTLs ของลักษณะที่มีผลต่อองค์ประกอบของผลผลิต ได้แก่ ลักษณะความยาวของรวง (panicle length; *pl*) พบ 7 QTLs บนโครโมโซมที่ 1 2 4 8 9 และ 12 ลักษณะจำนวนรวงข้าวต่อต้น (panicle per plant; *ppl*) พบ 2 QTLs บนโครโมโซมที่ 1 และ 2 ลักษณะ

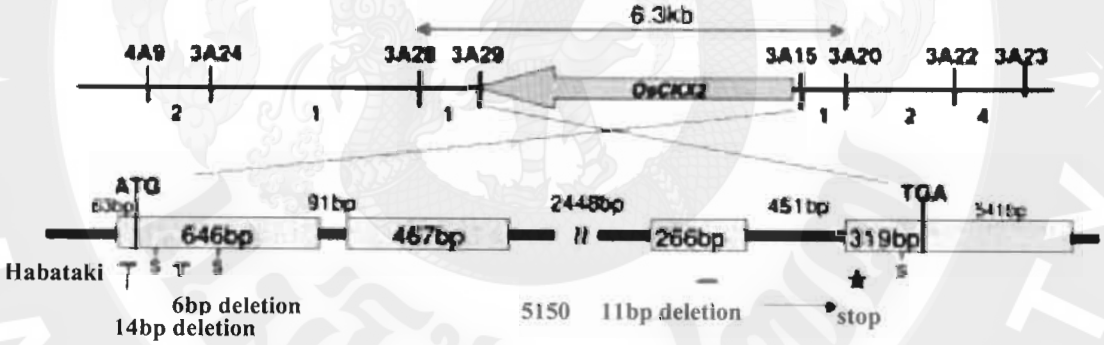
จำนวนดอกข้าวต่อรวง (spikelets per panicle; *spp*) พบ 4 QTLs บนโครโมโซมที่ 1 6 และ 9 ลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อต้น (spikelets per plant; *spl*) พบ 1 QTLs บนโครโมโซมที่ 1 ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง (grains per panicle; *gpp*) พบ 5 QTLs บนโครโมโซมที่ 1 4 8 และ 12 ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อต้น (grains per plant; *gpl*) พบ 6 QTLs บนโครโมโซมที่ 1 2 4 5 และ 8 ลักษณะเปอร์เซ็นต์การเป็นเมล็ด (percentage seed set; *pss*) พบ 7 QTLs บนโครโมโซมที่ 2 3 4 5 7 และ 8 ลักษณะน้ำหนักเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ด (1,000 grain weight; *gw*) พบ 8 QTLs บนโครโมโซมที่ 2 3 4 5 8 9 11 และ 12 ลักษณะของปริมาณผลผลิต (grain yield; *yld*) พบ 7 QTLs บนโครโมโซมที่ 1 2 4 5 8 และ 12 (Xiao *et al.*, 1998)

ยีน *Gn1a* (grain number)

จากรายงานการศึกษาการทำแผนที่ยีนควบคุมลักษณะปริมาณ (QTLs) ของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตของข้าว (Ashikari *et al.*, 2005) พบว่าลักษณะของจำนวนเมล็ดข้าวและความสูงของต้นข้าวมีความสำคัญที่สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตของข้าวได้ ซึ่งลักษณะของจำนวนเมล็ดข้าวนั้นมีผลโดยตรงกับปริมาณผลผลิต ขณะที่ความสูงของต้นข้าวนั้นมีผลต่อปริมาณผลผลิตของข้าวคือ ข้าวพันธุ์ที่มีลำต้นเตี้ยจะช่วยให้ต้นข้าวไม่เสียหายจากแรงลม หรือพายุฝนทำให้ได้ปริมาณผลผลิตที่สูงขึ้น จากรายงานวิจัยดังกล่าวได้ศึกษาความสัมพันธ์ของฮอร์โมนไซโตไคนินออกซิเดส (Cytokinin oxidase/dehydrogenase; CKX, OsCKX2) ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณผลผลิตของข้าวด้วยการทำแผนที่ยีน พบว่าลักษณะเชิงปริมาณความสูงของต้นข้าว (plant height; *Ph*) ถูกควบคุมด้วยยีนจำนวน 4 ตำแหน่ง โดยยีน *Ph1* มีผลต่อความสูงของต้นข้าวมากที่สุด ซึ่งตำแหน่งของยีน *Ph1* อยู่ใกล้กับยีน Semidwarf; *Sd1* เมื่อเกิดการขาดหายของคู่เบสบริเวณยีน *Sd1* ทำให้ได้ข้าวต้นเตี้ย สำหรับยีนที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณจำนวนเมล็ดข้าว (grain number; *Gn*) พบจำนวน 5 ตำแหน่ง ซึ่งยีน *Gn1* บนโครโมโซมที่ 1 มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเมล็ดข้าวมากที่สุด โดยในส่วนของยีน *Gn1* นี้ประกอบด้วยยีน *Gn1a* และ *Gn1b* จากการศึกษายีนตำแหน่ง *Gn1a* พบว่ามีบริเวณที่มีลำดับเบสเหมือนกับลำดับเบสของยีน *OsCKX2* ซึ่งเป็นยีนที่ผลิตฮอร์โมนไซโตไคนินออกซิเดส/ดีไฮโดรจีเนส โดยยีนนี้ประกอบด้วยส่วนที่สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีน (exon) ได้ 4 ส่วน และส่วนที่ไม่มีการแปลหรัส (intron) 3 ส่วน ฮอร์โมนนี้มีหน้าที่ช่วยในการแบ่งเซลล์ มีอิทธิพลต่อการเจริญของพืช การงอกของเมล็ด การเจริญของใบรวมถึงการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ จากการศึกษาเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน *OsCKX2* ระหว่างข้าวที่ให้จำนวนเมล็ดต่อรวงมาก คือพันธุ์ Habataki กับพันธุ์ที่ให้จำนวนเมล็ดต่อรวงน้อย คือ พันธุ์ Koshihikari พบว่าในข้าวพันธุ์ Habataki มีลำดับเบสขาดหายไปจำนวน 16 เบส ในบริเวณ 5'-untranslated region และ 6 เบส

ในบริเวณ exon 1 นอกจากนี้ยังมีบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงของเบสจำนวนสามเบสใน exon 1 และ exon 4 ซึ่งเป็นผลให้แปลรหัสได้กรดอะมิโนที่เปลี่ยนไป ดังภาพ 3 ในรายงานยังพบความแปรปรวนของลำดับเบสบริเวณ exon 3 คือ มีเบสจำนวน 11 เบส ขาดหายไปในข้าวพันธุ์ 5150 ซึ่งเป็นข้าวที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากเช่นกัน

โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *OsCKX2* และยีน *Gn1a* ซึ่งควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงด้วยการใช้พืชแปลงพันธุ์ (transgenic plant) ให้มีการแสดงออกของยีน *OsCKX2* ในระดับต่างๆ กัน กล่าวคือมีการเพิ่มส่วนของยีน *OsCKX2* ในพืชแปลงพันธุ์ทำให้มีการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้นเป็นสอง หรือสามเท่า เปรียบเทียบกับพืชแปลงพันธุ์ที่ได้รับส่วนของยีน *OsCKX2* ในลักษณะกลับทิศทางจึงไม่สามารถผลิตฮอร์โมนไซโตไคนินออกซิเดส/ดีไฮโดรจีเนสได้ จากผลการทดลองพบว่าในพืชแปลงพันธุ์ที่มีการแสดงออกของยีน *OsCKX2* สูงนั้นจะมีจำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงน้อยกว่าพืชแปลงพันธุ์ที่มีการแสดงออกของยีน *OsCKX2* ที่ระดับต่ำกว่า ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ยีนควบคุมลักษณะปริมาณของจำนวนเมล็ดข้าวต่อรวง



ภาพ 3 แสดงส่วนต่างๆ ของยีน *OsCKX2* หรือยีน *Gn1a* ในข้าวพันธุ์ Habataki

หมายเหตุ: บริเวณที่มีความแปรปรวนของลำดับเบส คือ บริเวณ exon 1 (สีน้ำเงิน) และ exon 4 (สีแดง) และความแปรปรวนของลำดับเบสในบริเวณ exon 3 (สีแดง) ในข้าวพันธุ์ 5150

ที่มา: Ashikari *et al.* (2005)

หรือยีน *Gn1a* คือยีน *OsCKX2* นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะเชิงปริมาณด้วยวิธี QTL pyramiding โดยสร้างข้าวสายพันธุ์คู่แฝดของพันธุ์ Koshihikari ที่มียีน *sd1* ซึ่งได้รับจากข้าวพันธุ์ Habataki ที่มีลักษณะต้นเตี้ย และให้จำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงสูง ผลที่ได้คือข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (NIL-*sd1*) นี้มีความสูงน้อยกว่าข้าวพันธุ์ Koshihikari 20% ซึ่งเป็นผลจากยีน *sd1* ขณะเดียวกันข้าวสายพันธุ์คู่แฝดของพันธุ์ Koshihikari ที่มียีน *Gn1* (NIL-*Gn1*) ซึ่งได้รับจากข้าวพันธุ์ Habataki

สามารถให้จำนวนเมล็ดได้มากกว่าข้าวพันธุ์ Koshihikari ถึง 45% จากข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นว่าจำนวนเมล็ดที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากยีน *Gn1* และยีน *sd1* มีความสัมพันธ์กับความสูงของต้น เมื่อนำข้าวสายพันธุ์คู่แฝดทั้งสองลักษณะมาผสมพันธุ์กัน (NIL-*sd1*×NIL-*Gn1*) ลูกผสมที่ได้มีจำนวนเมล็ดต่อรวงสูงกว่าข้าวพันธุ์ Koshihikari 26% และมีลำต้นเตี้ยกว่า 18% ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลจำนวนเมล็ดที่ได้ของ NIL-*Gn1* และ NIL-*sd1*×NIL-*Gn1* พบว่ามีจำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงลดลงจาก 237 เมล็ด เป็น 207 เมล็ดต่อรวง เนื่องมาจากลักษณะดังกล่าวถูกควบคุมด้วยยีน *Gn1* และ *sd1* ร่วมด้วย จากข้อมูลทั้งหมดสรุปได้ว่ายีน *Gn1* มีความสำคัญ และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการเพิ่มจำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงได้ (Ashikari *et al.*, 2005)

มีรายงานเพิ่มเติมในปี 2009 ซึ่งได้ทำการศึกษา และนำข้อมูลทางพันธุกรรมของยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง (*Gn1a*) ยีนที่ควบคุมลักษณะความยาว และน้ำหนักของเมล็ดข้าว (*GS3*) และยีนควบคุมลักษณะความกว้าง และน้ำหนักของเมล็ดข้าว (*GS2*) มาพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด sequence-tagged site (STS) เพื่อช่วยคัดเลือกในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีปริมาณผลผลิตมากขึ้น โดยการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวอาศัยความแตกต่างของพันธุกรรมที่เกิดจากการกลายพันธุ์ในบริเวณต่างๆ ของยีน ยีน *Gn1a* มีลำดับเบสขาดหายไป 16 เบสในบริเวณ 5'-untranslated region ของข้าวพันธุ์ Habataki และมีลำดับเบสขาดหายไป 11 เบสบริเวณที่มีการแปลรหัสของข้าวพันธุ์ 5150 ทำให้ไม่สามารถแปลรหัสเป็นเอนไซม์ OsCKX2 ได้ จึงทำให้ข้าวทั้งสองพันธุ์มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก (Ashikari *et al.*, 2005 cited by Yan *et al.*, 2009) จากความแตกต่างของลำดับเบสดังกล่าวจึงพัฒนาได้เครื่องหมายโมเลกุล Gn1a-M1 และ Gn1a-M2 สำหรับยีน *Gn1a* โดย Gn1a-M1 จะแยกความแตกต่างของข้าวพันธุ์ที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก (*Ha-Gn1a*) และพันธุ์ที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงน้อย (*Ko-Gn1a*) ได้ดีเอ็นเอขนาด 113 และ 129 คู่เบสตามลำดับ รวมถึงสามารถแยกความแตกต่างได้เมื่อนำไปทดสอบกับข้าวจำนวน 156 พันธุ์ ประกอบด้วยข้าวอินดิกา 35 พันธุ์ และจาปอนิกา 121 พันธุ์ ซึ่งรวบรวมได้จากหลายพื้นที่ แต่ในขณะเดียวกันเครื่องหมายโมเลกุล Gn1a-M2 จะไม่สามารถแยกความแตกต่างของข้าวทั้ง 156 พันธุ์ได้ อาจเนื่องมาจากการกลายพันธุ์ของยีน *Gn1a* ของข้าว 5150 ทำให้ไม่พบลำดับเบสดังกล่าวในข้าวทั้ง 156 พันธุ์

จากการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสในส่วน exon ที่สองของยีน *GS3* ทำให้การแปลรหัสเปลี่ยนไปจากลำดับเบส TGC ที่เป็นรหัสของ cysteine ในกลุ่มข้าวเมล็ดสั้น เป็น TGA ซึ่งเป็นลำดับเบสที่เป็นรหัสสิ้นสุดการแปลรหัสในกลุ่มข้าวเมล็ดยาว (Fan *et al.*, 2006 cited by Yan *et al.*, 2009) ซึ่งในบริเวณที่มีความแปรปรวนนี้มีบริเวณที่จำเพาะต่อเอนไซม์ *Pst1* ดังนั้นจึงพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) สำหรับยีน *GS3* ซึ่ง

ผลผลิตของพีซีอาร์ของตัวอย่างในกลุ่มข้าวเมล็ดสั้นจะถูกตัดด้วยเอนไซม์ *PstI* ได้ดีเอ็นเอขนาด 294 และ 218 คู่เบส ขณะที่ผลผลิตของพีซีอาร์ของตัวอย่างในกลุ่มข้าวเมล็ดยาวที่ไม่ถูกตัดมีขนาด 512 คู่เบส (Yan *et al.*, 2009)

สำหรับเครื่องหมายโมเลกุล GW2-*HpaI* อาศัยความแตกต่างของอัลลีล FAZ1 และ WY3 ของยีน *GW2* ที่มีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสสามตัว โดยมีการแทนที่เบสจำนวนสองตัวใน exon 1 และ 8 แต่ไม่ทำให้การแปลรหัสเป็นโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป และมีเบสขาดหายไปหนึ่งตัวส่งผลให้หยุดการแปลรหัส (premature stop codon) ก่อนสิ้นสุดการแปลรหัสในบริเวณ exon 4 ของอัลลีล WY3 (Song *et al.*, 2007 cited by Yan *et al.*, 2009) จึงพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล โดยออกแบบไพรเมอร์ชนิด forward ให้มีบริเวณที่จำเพาะต่อเอนไซม์ *HpaI* (GTTAAC) สำหรับอัลลีล *WY-GW2* และเปลี่ยนลำดับเบสตัวสุดท้ายให้ต่างกันสำหรับอัลลีล *FA-GW2* (GTTAAA) ซึ่งผลผลิตของพีซีอาร์ของ WY3 จะถูกตัดด้วยเอนไซม์ *HpaI* แล้วได้ดีเอ็นเอขนาด 151 คู่เบส (Yan *et al.*, 2009)

จากเครื่องหมายโมเลกุลที่พัฒนาได้ Gn1a-M1 Gn1a-M2 GS3-*PstI* และ GW2-*HpaI* สามารถจำแนกความแตกต่างภายในแต่ละลักษณะได้ จึงสามารถนำไปใช้คัดเลือกเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีผลผลิตสูงได้ นอกจากนี้รายงานยังกล่าวถึงอิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่อการแสดงออกของยีน *Gn1a* เนื่องจากจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์ Habataki ที่ปลูกในประเทศญี่ปุ่นจากรายงานของ Ashikari และคณะ ได้ 306 เมล็ด ในขณะที่ได้จำนวนเมล็ดต่อรวง 200 เมล็ด เมื่อปลูกที่ Yangzhou ประเทศจีน ซึ่งจำนวนเมล็ดลดลงประมาณ 35% และจากการทดลองโดยใช้ตัวอย่างประชากร chromosomal single segment line (CSSL) (Sasanishiki/Habataki) ในการศึกษาผลของยีน *Gn1a* สรุปได้ว่า ยีน *Gn1a* มีผลต่อข้าวกลุ่มจาปอนิกาชัดเจนกว่าข้าวกลุ่มอินดิกา และมีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง ถึงแม้ว่าลักษณะดังกล่าวอาจได้รับอิทธิพลจากปัจจัยแวดล้อมได้ง่ายก็ตาม (Yan *et al.*, 2009)

ยีน *SPP1* (spikelets per panicle) และยีน *Ghd7* (*SPP7*)

การศึกษายีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง (spikelets per panicle; *spp*) ซึ่งเป็นลักษณะหนึ่งที่สำคัญในองค์ประกอบผลผลิตของข้าว และมีผลต่อปริมาณผลผลิตอย่างมาก มีรายงานการศึกษาในปี ค.ศ. 1996 โดยใช้เครื่องหมายโมเกลุชนิด RFLP (restriction fragment length polymorphism) ซึ่งได้ทำการศึกษา QTLs ของปริมาณผลผลิตในข้าวอินดิกา 2 คู่ผสม (Tesanai 2/CB และ Waiyin 2/CB) โดยใช้ประชากร F_2 พบ 2 QTLs ของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง (number of grains per panicle; NG) บนโครโมโซมที่ 1 ระหว่างเครื่องหมาย RG374 กับ

RG394 และบนโครโมโซมที่ 2 ระหว่างเครื่องหมาย RG25 กับ RG157 ในคู่ผสม Tesanai 2/CB แต่ไม่พบในคู่ผสม Waiyin 2/CB เนื่องจากข้าวพันธุ์ Tesanai 2 เป็นข้าวพันธุ์ที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก หรือเรียกว่า "panicle type" ขณะที่ข้าวพันธุ์ Waiyin 2 เป็นข้าวพันธุ์ที่มีน้ำหนักเมล็ดมาก หรือเรียกว่า "grain type" จากความแตกต่างทางพันธุกรรมของข้าวทั้งสองพันธุ์ที่ใช้ศึกษาจึงทำให้ QTLs ที่ได้มีตำแหน่งแตกต่างกัน (Lin *et al.*, 1996)

ต่อมาในปี ค.ศ. 2001 มีรายงานการศึกษา QTLs ของลักษณะที่ใช้วัดปริมาณผลผลิต (skin size หรือ spikelet yield) ได้แก่ จำนวนดอกข้าว และน้ำหนักเมล็ดข้าว ในการศึกษา QTLs ของจำนวนดอกข้าวต่อรวง (spikelet number; SN) ใช้ประชากร recombinant inbred (RI) lines ของคู่ผสมระหว่างข้าว Milyang 23 และ Akihikari พบว่ามี QTLs อยู่บนปลายแขนข้างสั้นของโครโมโซมที่ 1 ใกล้กับเครื่องหมายโมเลกุล R3192 ซึ่งมีรายงานการศึกษาลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวงที่มีผลสอดคล้องกัน คือ มี QTLs ของลักษณะดังกล่าวบนโครโมโซมที่ 1 (Yano *et al.*, 1996, Xiao *et al.*, 1996 and 1998, Lin *et al.*, 1996, Lu *et al.*, 1997, Zhuang *et al.*, 1997 cited by Yagi *et al.*, 2001) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *sd1* (Zhuang *et al.*, 1997 cited by Yagi *et al.*, 2001) โดยในปี ค.ศ. 1998 ได้มีรายงานว่าพบ 3 QTLs ของลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง (SN per panicle) บนโครโมโซมที่ 1 ได้แก่ *spp1.1* และ *spp1.2* และ *spl1.1* เป็นลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อต้น (SN per plant) ซึ่ง QTLs ที่พบในรายงานนี้อยู่ใกล้กับ *spp1.2* (Xiao *et al.*, 1998 citcd by Yagi *et al.*, 2001) (Yagi *et al.*, 2001)

หลังจากนั้นในปี ค.ศ. 2006 มีรายงานการศึกษา QTLs ของลักษณะต่างๆ ที่สำคัญของปริมาณผลผลิตข้าว ได้แก่ ขนาดของรวงข้าว (panicle size) วันที่ช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบ (heading date; HD) และความสูงของต้นข้าว (plant height; PH) โดยลักษณะขนาดของรวงข้าวสามารถประเมินได้จากจำนวนดอกข้าวต่อรวง (SPP) และจำนวนเมล็ดต่อรวง (GPP) สำหรับลักษณะ HD และ PH นั้นจะแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ปลูก และฤดูปลูก โดยทำการศึกษาในประชากรสายพันธุ์คู่แฝด (near isogenic line; NIL) ที่พัฒนาได้มาจาก recombinant inbred line (F_7) ซึ่งคัดเลือกได้จาก RIL39 ที่แสดงความแตกต่างจากการกระจายตัวของลักษณะต่างๆ ได้สายพันธุ์ N15 (ลักษณะรวงขนาดเล็ก ต้นเตี้ย และช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบเร็ว) และสายพันธุ์ N16 (ลักษณะรวงขนาดใหญ่ ต้นสูง และช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบช้า) สำหรับใช้เป็นคู่ผสมในการสร้างประชากร NIL-F_2 เพื่อศึกษา QTLs ของลักษณะต่างๆ ดังกล่าว จากการศึกษาลักษณะที่สำคัญทั้ง 4 ลักษณะในประชากร NIL-F_2 พบว่าทั้ง 4 ลักษณะมีการแสดงออกแบบไม่ต่อเนื่อง และมีอัตราส่วนการกระจายตัวเป็นไปตามกฎของเมนเดล (single Mendelian factor) ด้วยการทดสอบประชากรรุ่นลูก (F_3) และจากการวิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของ N15 และ N16 ด้วย

เครื่องหมายโมเลกุลพบความแตกต่างในบริเวณเครื่องหมาย MRG5720-MRG0357 บนโครโมโซมที่ 7 MRG4432-RM547 และ RM433-RM447 บนโครโมโซมที่ 8 แต่เมื่อศึกษา QTLs ของลักษณะต่างๆ ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างระหว่าง N15 และ N16 พบว่ามี 6 เครื่องหมายจาก 10 เครื่องหมาย ที่สามารถนำไปหาตำแหน่งของกลุ่มของยีน (linkage group) ซึ่งมีขนาด 6.6 cM บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมที่ 8 และพบว่ามี 1 QTL ที่ควบคุมลักษณะที่สำคัญทั้ง 4 ลักษณะที่ตำแหน่ง 1.4 cM ระหว่างเครื่องหมาย RM310 และ RM126 ซึ่งเคยมีรายงานก่อนหน้านี้ว่า QTLs ที่ควบคุมลักษณะ SPP GPP HD และ PH ของข้าวนั้นอยู่ในบริเวณตำแหน่งใกล้เคียงกันบนแขนข้างสั้นของโครโมโซมที่ 8 (Lin *et al.*, 1996 and Xiao *et al.*, 1996, Zhuang *et al.*, 1997, Xiong *et al.*, 1999 and Lin *et al.*, 2003 cited by Zhang *et al.*, 2006) (Zhang *et al.*, 2006)

ในปีเดียวกันนี้มีรายงานการศึกษา QTLs ของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากข้าวพันธุ์ป่า (*Oryza rufipogon* Griff.) โดยผสมข้ามระหว่างข้าวพันธุ์ป่า และข้าวอินดิกา (Guichao 2) ที่ใช้เป็นพันธุ์รับแล้วได้ introgression line (IL) SIL040 ซึ่งมีจำนวนเมล็ดต่อรวงน้อยกว่า Guichao 2 ซึ่งลักษณะจำนวนเมล็ดน้อยนี้ได้จากข้าวพันธุ์ป่า จากการศึกษาลักษณะของจำนวนเมล็ดด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์ SIL040 และ Guichao 2 พบว่าลักษณะที่ได้จากข้าวพันธุ์ป่ามีการกระจายตัวอยู่บนโครโมโซมที่ 1 7 และ 8 เมื่อนำเครื่องหมายดังกล่าวทดสอบกับประชากร F_2 พบ QTLs ของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงอยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM3325 และ 3683 บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมที่ 7 กำหนดเป็นตำแหน่ง *gpa7* เมื่อศึกษาข้าวที่มี genetic background แตกต่างกัน คือข้าวพันธุ์ 93-11 พบว่า QTLs ของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงอยู่ระหว่าง RM3325 และ 3683 บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมที่ 7 เช่นเดียวกัน ดังนั้นเพื่อหาตำแหน่งของ *gpa7* จึงสร้างประชากร F_2 ที่ได้จากการผสมระหว่าง SIL040 และ Guichao 2 พบ 62 recombination ที่แสดงความแตกต่างในช่วงเครื่องหมาย RM3325 และ 3683 จากนั้นทดสอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุลจำนวน 4 เครื่องหมายที่อยู่ระหว่าง RM3325 และ 3683 ได้แก่ RM5055 RM427 63130 และ RM481 พบว่า *gpa7* อยู่ระหว่างเครื่องหมาย 63130 และ RM481 เมื่อทำ high-resolution map สามารถจำกัดขนาดของบริเวณ *gpa7* ได้ว่าอยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล 3617 และ ID52 ซึ่งมีขนาด 35 กิโลเบส เมื่อทำนายยีนในบริเวณดังกล่าว พบว่าอาจเป็นบริเวณของยีน 5 ยีน โดยมียีนที่น่าสนใจคือ LOC_Os07g05880 ซึ่งแปลรหัสได้โปรตีน Kelch repeat containing F-box ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวกับ protein-protein interaction (Prag and Adams, 2003 cited by Tian *et al.*, 2006) อีกยีนหนึ่งคือ LOC_Os07g05900 ซึ่งแปลรหัสได้โปรตีนชนิด C2H2 ของ Zinc finger domain เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ DNA-binding transcription factors และมีส่วนสำคัญต่อการเจริญของต้นข้าว และจากรายงานการพบยีน *Gn1a* ซึ่งเป็นยีนที่

เกี่ยวข้องกับกระบวนการทำงานของ *OsCKX2* (Ashikari *et al.*, 2005 cited by Tian *et al.*, 2006) พบว่าไม่อยู่ในบริเวณ 35 กิโลเบส นี้ ดังนั้นจึงยังไม่สามารถระบุส่วนที่เป็นยีนของ *gpa7* ได้ อาจเนื่องจาก *gpa7* นี้ได้จากข้าวพันธุ์ป่าซึ่งฐานข้อมูลที่ใช้ศึกษาเป็นฐานข้อมูลของข้าวพันธุ์ปลูก ดังนั้นข้าวทั้งสองพันธุ์อาจมีความแตกต่างกันของการเรียงตัวของเบส (Tian *et al.*, 2006)

จากข้อมูล QTLs ของลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง (SPP) ในประชากร RIL ที่พบ QTLs ของลักษณะดังกล่าวบนโครโมโซมที่ 7 ขนาบข้างด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RFLP C1023 และ R1440 (Yu *et al.*, 1997 and 2002, Xing *et al.*, 2001 and 2002 cited by Xing *et al.*, 2008) ได้มีการศึกษา QTLs ของลักษณะ SPP เพิ่มเติม เพื่อประเมินผลทางพันธุกรรมของลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวงในประชากร NILs และระบุตำแหน่งของ QTL (*qSPP7*) จึงใช้ RI50 ซึ่งมี genetic background เหมือน Zhenshan 97 ที่ใช้เป็นต้นแม่ 70% ในการสร้าง NIL เพื่อการศึกษาในครั้งนี้ เมื่อศึกษาในประชากร BC_2F_2 ที่มีความถี่ของการกระจายตัวของลักษณะ SPP เป็นแบบไม่ต่อเนื่อง และมีอัตราส่วนของการกระจายตัวเป็นไปตามกฎของเมนเดล (1:2:1) จากการทำ hi-resolution mapping ในประชากร BC_3F_2 ด้วยเครื่องหมาย RM5451 และ RM445 นอกจากนี้ยังใช้เครื่องหมาย RM3859 RM1135 RM7110 และ C39 ซึ่งอยู่ใกล้กับ *qSPP7* เพื่อศึกษาเพิ่มเติม จากการประเมินความถี่ในการเกิด recombination ระหว่างเครื่องหมาย RM3859 กับ *qSPP7* และเครื่องหมาย C39 กับ *qSPP7* คิดเป็น 0.18% หรือเท่ากับ 0.2 cM จาก *qSPP7* ถึงเครื่องหมายทั้งสอง แต่เมื่อใช้เครื่องหมาย RM5436 และ RM5499 พบว่าไม่เกิด recombination แต่ *qSPP7* มีการกระจายตัวไปพร้อมกับเครื่องหมาย RM5436 และ RM5499 ซึ่งมีระยะห่างระหว่างเครื่องหมายทั้งสองเท่ากับ 912.4 กิโลเบส ดังนั้นจึงระบุตำแหน่งของ *qSPP7* ได้ที่ตำแหน่ง 0.4 cM ระหว่างเครื่องหมาย RM3859 และเครื่องหมายชนิด RFLP C39 เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในประชากร RILs จากการศึกษาก่อนหน้านี้ และ lLs พบว่าตำแหน่งของ *qSPP7* อยู่ในบริเวณเดียวกัน นอกจากนี้ QTLs ในบริเวณดังกล่าวยังมีผลต่อลักษณะอื่นๆ ได้แก่ จำนวนผลผลิตต่อต้น (grain yield per plant; YD) น้ำหนักเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ด (1,000 grain weight; GW) จำนวนต้นต่อกอ (tiller per plant; TPP) และลักษณะอัตราส่วนการเป็นเมล็ด (seed setting ratio; SR) (Xing *et al.*, 2008)

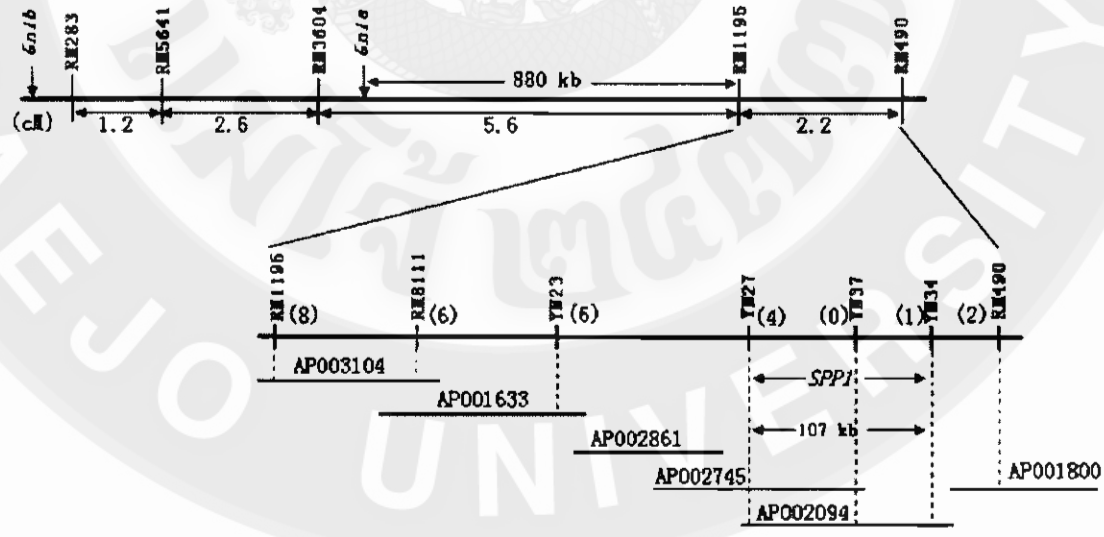
ในปี ค.ศ. 2008 มีรายงานการศึกษา QTLs ที่ควบคุมลักษณะความสูง (PH) วันที่ช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบ (HD) และจำนวนผลผลิต ซึ่งวัดได้จากจำนวนต้นต่อกอ (number tillers per plant) จำนวนเมล็ดต่อรวง (grains per panicle) และน้ำหนักเมล็ด (grain weight) ซึ่งมีการศึกษาถึงหน้าที่การทำงานแล้วหลายยีน พบว่ายีนส่วนมากเกี่ยวข้องกับลักษณะความสูงของข้าว และเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ และควบคุม phytohormone gibberellins สำหรับลักษณะวันที่ช่อดอก

โผล่ออกจากกาบใบ (HD) มีการศึกษาในพืชต้นแบบ Arabidopsis พบว่า photoperiod pathway มีความสำคัญในการควบคุมลักษณะดังกล่าว ซึ่งจากการเปรียบเทียบกลไกการออกดอกในพืชต้นแบบ พบว่า CONSTANS (*CO*) ควบคุมการออกดอกในช่วงวันยาว โดยทำงานร่วมกับโปรตีนอีก 2 ชนิด คือ โปรตีนที่ได้จากตำแหน่ง flowering locus T (*FT*) และ bZIB protein FD โดยในข้าว *CO* คือ *Hd1* และ *FT* คือ *Hd3a* นอกจากนี้ยังมียีน *Hd6* ซึ่งแปลรหัสได้ α- subunit ของโปรตีน kinase CK2 และยีน *Ehd1* ซึ่งเป็นรหัสของ B-type response regulator จากรายงานการศึกษา QTLs ของลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง (SPP) ในประชากร RIL พบ QTLs บนโครโมโซมที่ 7 ขนาบข้างด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RFLP C1023 และ R1440 (Yu *et al.*, 1997 and 2002, Xing *et al.*, 2001 and 2002 cited by Xue *et al.*, 2008) และจากการศึกษาทั้งสามลักษณะในสภาพวันยาวพบว่าทั้งสามลักษณะควบคุมด้วยยีนเพียงตำแหน่งเดียว คือ *Ghd7* เพื่อศึกษาตำแหน่งของ *Ghd7* จึงทดสอบด้วยเครื่องหมาย RM5451 และ RM1135 ซึ่งเป็นบริเวณเดียวกับเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RFLP C1023 และ R1440 เพื่อจำกัดขอบเขตของ *Ghd7* จึงทดสอบด้วยเครื่องหมาย RM3859 RM5436 C39 และ RM7110 ทำให้ได้เครื่องหมายที่อยู่ใกล้กับตำแหน่ง *Ghd7* คือ อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM3859 และ C39 บนโครโมโซมที่ 7 และมีการกระจายตัวไปกับบริเวณเครื่องหมาย RM5436 เมื่อเปรียบเทียบบริเวณดังกล่าวกับฐานข้อมูลข้าวพบว่ามีตำแหน่งอยู่ที่บริเวณ 0.31 cM มีขนาดประมาณ 2,284 กิโลเบส ในบริเวณเซนโตเมียร์ของโครโมโซมที่ 7 จากนั้นจึงทำนายยีนของบริเวณดังกล่าวซึ่งมีโอกาสเป็นยีนได้ถึง 450 ยีน รวมถึงทำนายโปรตีนที่ได้จากยีนในบริเวณดังกล่าว พบว่ามียีนที่สามารถแปลรหัสได้โปรตีนที่คล้ายกับ CCT domain ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบในผลผลิตของยีน *CO*, *CO*-LIKE (*COL*) และ TIMING of CAB1 (*TOC1*) ซึ่งมีบทบาทในการควบคุมการออกดอกในข้าว และเมื่อศึกษายีน *Ghd7* ด้วยวิธี RACE (rapid amplification of cDNA ends) โดยใช้ RNA ที่สกัดได้จากต้นกล้าของข้าวพันธุ์ Minghui 63 ได้ขนาดของยีน *Ghd7* คือ 1,013 คู่เบส (cDNA) ทำนายว่าสามารถแปลรหัสได้กรดอะมิโน 257 ตัว และเมื่อเปรียบเทียบกรดอะมิโนที่ได้นี้กับฐานข้อมูลของข้าวพบว่ามีลำดับเหมือน CCT domain ของ HD1 และโปรตีนที่ควบคุมกระบวนการในการออกดอก มีการศึกษาการแสดงออกของยีน *Ghd7* พบว่ามีการแสดงออกมากในสภาพวันยาว และมีการแสดงออกมากในสภาพมีแสง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *Ghd7* และยีนอื่นๆ ในกระบวนการ photoperiod pathway พบว่ายีน *Ghd7* มี pathway อยู่ก่อนยีน *Ehd1* และ *Hd3a* ในรายงานยังได้กล่าวถึงการเปรียบเทียบลำดับโปรตีนที่ได้จากยีน *Ghd7* ในข้าวที่ปลูกบริเวณต่างๆ ในเอเชีย พบว่ามีถึง 5 ลักษณะ และสันนิษฐานว่า *Ghd7*-1 ที่พบในข้าวที่ปลูกแถบเขตร้อนหรือใกล้เขตร้อน และแถบบริเวณที่มีฤดูปลูกยาวนาน เป็นลักษณะดั้งเดิมของข้าวพันธุ์ป่า (Xue *et al.*, 2008)

ต่อมาในปี ค.ศ. 2009 มีรายงาน QTL ที่ควบคุมลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง (SPP) ซึ่งสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าว (GPP) และเป็นลักษณะสำคัญในองค์ประกอบผลผลิตของข้าว ซึ่งลักษณะต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบผลผลิตของข้าวมีรายงานการศึกษามากมาย แต่ลักษณะ SPP และ GPP มีรายงานการศึกษาค่อนข้างน้อย (Zhang *et al.*, 2006 and Xing *et al.*, 2008 cited by Zhang *et al.*, 2009) และมีรายงานสอง QTLs ที่มีการโคลน (Ashikari *et al.*, 2005 and Xue *et al.*, 2008 cited by Zhang *et al.*, 2009) เพื่อทราบข้อมูลทางพันธุกรรมของลักษณะ SPP และ GPP จึงศึกษาลักษณะดังกล่าวในประชากร NILs ที่พัฒนาจาก advance backcross QTL analysis strategy (AB-QTL) พบลักษณะ SPP มี 4 QTLs ได้แก่ *qSPP1* *qSPP2* *qSPP3* และ *qSPP7* บนโครโมโซมที่ 1 2 3 และ 7 ตามลำดับ และเมื่อศึกษาในประชากร RILs สามารถระบุตำแหน่งของแต่ละ QTLs โดย *qSPP1* อยู่ตำแหน่งระหว่างเครื่องหมาย MRG2746 และ RM490 ซึ่งสอดคล้องกับที่เคยมีรายงาน (Liu *et al.*, 2009 cited by Zhang *et al.*, 2009) รวมถึงมีตำแหน่งคล้ายกับ QTLs ที่เคยรายงานมาแล้ว คือ *sp1* และ *Gn1* (Xiong *et al.*, 1999 and Ashikari *et al.*, 2005 cited by Zhang *et al.*, 2009) *qSPP2* อยู่ระหว่างเครื่องหมาย MRG2762 และ MRG3515 คล้ายกับลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง (total number of spikelets per panicle; *tns2*) ลักษณะจำนวนเมล็ดดีต่อรวง (number of filled grains per panicle; *nfg2*) และลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง (grains per panicle; *gpp2.1*) (Zhuang *et al.*, 1997 and Septiningsih *et al.*, 2003 cited by Zhang *et al.*, 2009) *qSPP3* อยู่ตำแหน่งระหว่างเครื่องหมาย RM135 และ RM49 ซึ่งเป็นบริเวณเดียวกับลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง (spikelets number per panicle; qSNP-3-2) (Zhang *et al.*, 2004 cited by Zhang *et al.*, 2009) *qSPP7* อยู่ที่ตำแหน่งระหว่างเครื่องหมาย MRG4436 และ RM2 เป็นบริเวณเดียวกับลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวงและจำนวนเมล็ดต่อรวง (*sp7* และ *gn7*) (Xiong *et al.*, 1999 and Xing *et al.*, 2002 cited by Zhang *et al.*, 2009) ในรายงานการศึกษานี้ได้สรุปว่า *qSPP7* เป็น QTL หลัก และมีผลต่อลักษณะ SPP GPP PH และ HD มีตำแหน่งอยู่ใกล้กับเครื่องหมาย MRG4436 หรือ RM5436 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการโคลนยีน *Ghd7* ซึ่งมีผลต่อลักษณะต่างๆ เหมือนกัน และตำแหน่งใกล้กับเครื่องหมาย RM5436 เช่นกัน (Xue *et al.*, 2008 cited by Zhang *et al.*, 2009) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า *qSPP7* คือ ยีน *Ghd7* สำหรับลักษณะ *qSPP1* ซึ่งอยู่ในบริเวณโคลน QTL เดียวกันกับยีน *Gn1a* แต่ *qSPP1* ไม่ใช่ยีน *Gn1a* เนื่องจาก *qSPP1* อยู่ใกล้เครื่องหมาย MRG2746 และ RM490 ในระยะ 6.15-6.60 Mb แต่ยีน *Gn1a* อยู่ในระยะห่างที่ 5.26 Mb สำหรับ *qSPP2* และ *qSPP3* ไม่พบ QTLs ในบริเวณใกล้เคียง (Zhang *et al.*, 2009)

ในปีเดียวกันนี้มีรายงานการศึกษา QTLs ของลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง (SPP) ซึ่งเคยมีรายงานการศึกษา QTLs ของ SPP ในประชากรต่างๆ และทราบข้อมูลเกี่ยวกับ

ลักษณะดังกล่าวเพิ่มขึ้น เช่น การพบยีน *Gn1a* และ *Gn1b* ที่ได้ศึกษาและทราบว่าเกี่ยวข้องกับการสร้างเอนไซม์ cytokinin oxidase/dehydrogenase (OsCKX2) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง (Ashikari *et al.*, 2005 cited by Liu *et al.*, 2009) รายงานการศึกษา QTLs (*gpa7*) ที่ควบคุมลักษณะ SPP บนโครโมโซมที่ 7 สามารถจำกัดบริเวณที่คาดว่าจะเป็นยีนได้ที่ขนาด 35 กิโลเบส และทำนายว่ามียีนในบริเวณดังกล่าว 5 ยีน (Tian *et al.*, 2006 cited by Liu *et al.*, 2009) รายงานการศึกษา *qSPP7* ที่พบว่าเป็น QTLs หลักของลักษณะ SPP ที่ตำแหน่ง 0.2 cM (Xing *et al.*, 2008 cited by Liu *et al.*, 2009) ซึ่งเปลี่ยนชื่อเป็น *Ghd7* และทำโคลนเพื่อศึกษา (Xue *et al.*, 2008 cited by Liu *et al.*, 2009) และจากข้อมูลที่ได้ในการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า *SPP1* เป็น QTLs หลักอยู่บนโครโมโซมที่ 1 ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM490 และ RM283 ซึ่งมียีน *Gn1a* อยู่ในบริเวณเดียวกันนี้ด้วย จึงศึกษาลักษณะ *SPP1* เพื่อแสดงตำแหน่งที่ชัดเจนโดยใช้ประชากร F_2 พบว่า *SPP1* ที่ขนาด 2.2 cM อยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM1195 และ RM490 โดยในการศึกษานี้ได้ออกแบบเครื่องหมายที่จำเพาะ (InDel marker) เพิ่มเติมเพื่อใช้ศึกษาร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR (RM811) จนสามารถเข้าใกล้ยีนดังกล่าวจำกัดขนาดของบริเวณที่อาจจะเป็นยีน *SPP1* ได้ที่ขนาด 107 Kb ระหว่างเครื่องหมาย YN27 และ YN34 ดังภาพ 4



ภาพ 4 แสดงตำแหน่งของยีน *SPP1* *Gn1a* *Gn1b* เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR และเครื่องหมายที่จำเพาะ (InDel marker) ซึ่งอยู่ใกล้กับยีน *SPP1* ที่ขนาด 107 Kb

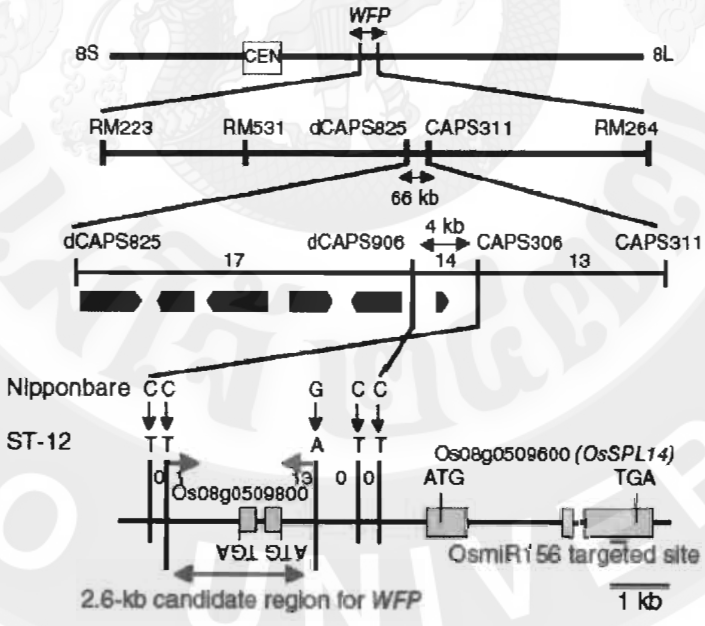
ที่มา: Liu *et al.* (2009)

ซึ่งจากฐานข้อมูลข้าวมีข้อมูลที่คลอบคลุมบริเวณดังกล่าว คือ BAC (AP002094) เมื่อทำนายยีนในบริเวณดังกล่าวพบว่ามียีนอยู่ทั้งหมด 17 ยีน โดยที่มี 11 ยีนตรงกับ cDNA ของข้าว และจากการศึกษาหน้าที่ของแต่ละยีนพบว่ามีเพียง 6 ยีน ที่ทราบหน้าที่การทำงาน ซึ่งยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง คือ LOC_Os01g12160 เป็นยีน IAA synthetase ซึ่งเป็น auxin ในพืช ช่วยในการเจริญเติบโต และการพัฒนาของเซลล์ จึงอาจเป็นไปได้ว่า LOC_Os01g12160 คือยีน *SPP1* (Liu *et al.*, 2009)

ยีน *WFP* (wealthy farmer's panicle)

ล่าสุดในปี ค.ศ. 2010 มีรายงานการศึกษายีน *WFP* (wealthy farmer's panicle) ซึ่งแปลรหัสได้โปรตีน OsSPL14 (squamosa promoter binding protein-like 14; IPA1) จากรายงานพบว่าเมื่อมีการแสดงออกของยีนมากในระยะสืบพันธุ์จะช่วยสนับสนุนให้มีการแตกแขนงหรือระแง้ และเพิ่มผลผลิตข้าวได้ โดยทำการศึกษา QTLs ของยีนที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตข้าวในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าว Nipponbare ที่มีจำนวนเมล็ด เท่ากับ 152 เมล็ด มีจำนวนแขนงที่หนึ่งต่อรวง (primary branches per panicle) เฉลี่ยเท่ากับ 10.5 แขนง กับข้าวพันธุ์ ST-12 ซึ่งมีจำนวนเมล็ดมากกว่า คือ 475 เมล็ด และมีแขนงที่หนึ่งต่อรวงเฉลี่ยเท่ากับ 28.9 แขนง จากการตรวจสอบประชากร F_2 จำนวน 192 ต้น ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล 118 เครื่องหมาย พบสอง QTL หลักบนโครโมโซม 1 และ 8 ซึ่งบนโครโมโซมที่ 1 นั้นได้รับอิทธิพลของยีน *Gn1a* เมื่อทำการศึกษาลำดับเบสแล้วพบว่ามีการกลายพันธุ์เหมือนอัลลีลของข้าวพันธุ์ Habataki จึงสรุปว่า QTL ที่พบบนโครโมโซมที่ 1 นั้นเป็นผลจากยีน *Gn1a* และเมื่อทำการศึกษายีน *WFP* โดยจำกัดพื้นที่ของบริเวณที่คาดว่าจะเป็นยีนที่ตำแหน่ง Os08g0509800 ของข้าวทั้งสองพันธุ์พบว่าไม่แตกต่างกันถึงแม้ว่าจะมีลำดับเบสต่างกัน (single nucleotide polymorphisms; SNPs) 5 ตำแหน่ง เมื่อศึกษาในบริเวณใกล้เคียงคือตำแหน่ง Os08g0509600 ซึ่งเป็นตำแหน่งของยีน *OsSPL* เป็นรหัสของ plant specific transcription factor ของโปรตีน OsSPL14 ยังคงไม่พบความแตกต่างเช่นกัน เมื่อศึกษาด้วยวิธี Quantitative RT-PCR พบว่ามีการแสดงออกในข้าวพันธุ์ ST-12 สูงกว่าข้าวพันธุ์ Nipponbare ถึง 9 เท่า ในช่วงการพัฒนารวง 1-2 มิลลิเมตร และในช่วง 2-5 มิลลิเมตร เมื่อทำการโคลนยีน *WFP* ของข้าวทั้งสองพันธุ์ ได้ pNip::OsSPL14 และ pST-12::OsSPL14 แล้วนำเข้าข้าวพันธุ์ Nipponbare พบว่า พืชแปลงพันธุ์ทั้งสองให้จำนวนระแง้มากกว่าข้าว Nipponbare ที่เป็นชุดควบคุม จึงสรุปว่ายีน *OsSPL14* ซึ่งอยู่ใน QTL ของยีน *WFP* ทำหน้าที่ควบคุมการแตกแขนง และจำนวนระแง้ของข้าว

นอกจากนี้พบว่ายีน *OsSPL14* มีการควบคุมการทำงานด้วยระบบ micro RNA (miRNA) ที่มี miRNA target site จะยับยั้งการแปลรหัสเป็นโปรตีนของ mRNA โดยยีน *OsSPL14* มีบริเวณ miRNA target sequence ในส่วนของ exon 3 เรียกว่า OsmiR156-targeted site ดังภาพ 5 และทำการศึกษาว่าบริเวณดังกล่าวมีผลต่อการพัฒนารวงข้าวหรือไม่ โดยทำการโคลนยีน *OsSPL14* ปกติ และยีนที่มีการกลายพันธุ์ในบริเวณ OsmiR156-targeted site ของข้าวพันธุ์ Nipponbare ได้ pNip::OsSPL14 และ pNip::mOsSPL14 ตามลำดับ แล้วนำเข้าข้าวพันธุ์ Nipponbare พบว่าพืชแปลงพันธุ์ต้นที่ได้รับยีน *OsSPL14* ปกติมีจำนวนรวงเฉลี่ย 6.4 รวง ในขณะที่ต้นที่ได้รับยีน *OsSPL14* ที่มีการกลายพันธุ์ในบริเวณ OsmiR156-targeted site มีจำนวนรวงเฉลี่ย 1.8 รวง กล่าวได้ว่าบริเวณ OsmiR156-targeted site ของยีน *OsSPL14* นั้นมีผลต่อการพัฒนาแขนงของรวงข้าว เนื่องจากต้นที่มีการกลายพันธุ์ในบริเวณ OsmiR156-targeted site นั้น OsmiR156 ไม่สามารถย่อย mRNA ที่ถอดรหัสได้จากยีน *OsSPL14* ทำให้มีการสะสมของ mRNA ซึ่งมีผลต่อการแตกแขนงในระยะต่างๆ ของข้าว



ภาพ 5 แสดงส่วนต่างๆ ของยีน *WFP* ซึ่งมี SNPs จำนวน 5 ตำแหน่ง และยีน *OsSPL14* ซึ่งประกอบด้วย 3 exon และมีบริเวณที่มีลำดับเบส OsmiR156-targeted site

ที่มา: Miura *et al.* (2010)

จากผลการศึกษาสรุปได้ว่ายีน *OsSPL14* นั้นมีผลต่อการแตกแขนงของรวงข้าว และถูกควบคุมด้วย miRNA ซึ่งหากมีการแสดงออกมากในระยะแรกของการพัฒนารวงจะสามารถเพิ่มจำนวนแขนงที่หนึ่ง (primary branch) ได้ แต่หากมีการแสดงออกมากในระยะการเจริญของต้นข้าวจะยับยั้งการแตกแขนง (Miura *et al.*, 2010)

ขณะเดียวกันมีรายงานการศึกษาการควบคุมยีน *IPA1* (ideal plant architecture 1) หรือ ยีน *OsSPL14* หรือ ยีน *WFP* (wealthy farmer's panicle) ซึ่ง microRNA OsmiR156 นั้นมีผลต่อโครงสร้างของต้นข้าว ได้แก่ ความสูง จำนวนต้นต่อกอ และลักษณะของรวงข้าว โดยศึกษา QTL ของยีน *IPA1* ในประชากร BC_2F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ Taichung Native 1 (TN1) และพันธุ์ Hui7 ซึ่งเป็นข้าวที่มีจำนวนต้นต่อกอมากมีอัลลีล $OsSPL14^{IPA1}$ กับข้าวพันธุ์ Shaoniejing (SNJ) ซึ่งมีจำนวนต้นต่อกอน้อยมีอัลลีล $OsSPL14^{ipa1}$ พบว่าไม่มีการกระจายตัวของลักษณะความสูง จำนวนต้นต่อกอ และลักษณะของรวงข้าวในประชากรผสมกลับ จึงสันนิษฐานว่าความแตกต่างของลักษณะต่างๆ ของโครงสร้างต้นข้าวทั้งสามพันธุ์นั้นควบคุมด้วยยีนหนึ่งตำแหน่ง เมื่อทำการวิเคราะห์พันธุกรรมแล้วพบว่า ยีน *IPA1* เป็น semidominant QTL กล่าวคือมีการแสดงออกของลักษณะความสูง จำนวนต้นต่อกอ และลักษณะของรวงอยู่กึ่งกลางระหว่างต้นที่เป็นโฮโมไซกัสมีอัลลีล $OsSPL14^{IPA1/ipa1}$ จากนั้นจึงทำการศึกษาตำแหน่งของยีน *IPA1* โดยใช้ลักษณะจำนวนต้นต่อกอในการทำแผนที่ยีน พบหนึ่ง QTL (*qTn8*) บนโครโมโซมที่ 8 ระหว่างเครื่องหมาย RM149 และ RM1345 สอดคล้องกับที่เคยมีรายงาน (Miyamoto *et al.*, 2004 and Fukuta *et al.*, 2004 cited by Jiao *et al.*, 2010) จากการศึกษาสามารถจำกัดบริเวณที่คาดว่าจะเป็นยีน *IPA1* ได้ที่ขนาด 78 กิโลเบส ระหว่างเครื่องหมายที่พัฒนาขึ้นใหม่ คือ M4 และ M5 ทำนายว่ามียีนอยู่ในบริเวณดังกล่าว 12 ยีน เมื่อศึกษาลำดับเบสของทั้ง 12 ยีน ในข้าวพันธุ์ SNJ พบว่ามีการกลายพันธุ์ที่ลำดับเบสหนึ่งตำแหน่งใน exon 3 ของยีน *OsSPL14* (LOC_Os08g39890; RAP ID Os08g0509600) เมื่อเปรียบเทียบลำดับเบสกับข้าว Nipponbare ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของเบสที่หนึ่งตำแหน่งนี้ทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนจากลิวซีนกลายเป็นไอโซลิวซีน นอกจากนี้ยังพบการกลายพันธุ์ในลำดับเบสของยีน *OsSPL14* ในข้าวจาปอนิกาพันธุ์ Ri22 ซึ่งมีลักษณะจำนวนต้นต่อกอเหมือนกับข้าวพันธุ์ SNJ ขณะที่ไม่พบการกลายพันธุ์ในข้าว TN1 จึงกล่าวได้ว่าการกลายพันธุ์ในลำดับเบสของยีน *OsSPL14* มีผลต่อการแสดงออกของยีน ประกอบกับรายงานวิจัยที่ศึกษากลุ่มยีน *OsSPL* พบว่ามีจำนวน 11 ยีน ที่มีบริเวณเป้าหมายของ microRNA OsmiR156 (Xie *et al.*, 2006 cited by Jiao *et al.*, 2010) ซึ่งเป็น RNA สายเดี่ยวที่ไม่มีการแปลรหัสแต่ทำหน้าที่ควบคุม ประกอบด้วย 19-25 เบส (Stefani *et al.*, 2008 cited by Jiao *et al.*, 2010) และจากการวิเคราะห์ทางชีวสารสนเทศ (bioinformatics) พบว่ายีน *OsSPL14* มีบริเวณที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับ OsmiR156 ในส่วนที่มีการแปลรหัส จากนั้นจึงทำการศึกษาการควบคุม

การทำงานของยีน *OsSPL14* ด้วย OsmiR156 ในเซลล์ ด้วยวิธี RNA ligase-mediated rapid amplification of cDNA ends (RLM-RACE) พบว่าจากทั้งหมด 14 โคลนที่สุ่มคัดเลือกมาวิเคราะห์ลำดับเบส มี 13 โคลน ที่ปลายด้าน 5' ของชิ้นส่วนที่ถูกตัดอยู่บริเวณตรงกลางของ OsmiR156 target site ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการควบคุมการทำงานของยีน *OsSPL14* ด้วย OsmiR156 นั้นเกิดขึ้นในเซลล์ ซึ่งรูปแบบการแสดงออกของยีน *OsSPL14* และ OsmiR156 ในส่วนต่างๆ ของข้าวมีการศึกษาด้วยวิธี real-time PCR และ miRNA gel bolt พบว่ามีการแสดงออกของยีน *OsSPL14* มากในส่วนลำต้นกับปลายยอด แต่มีการแสดงออกน้อยในส่วนใบ และราก สัมพันธ์กับการแสดงออกของ OsmiR156 คือ ไม่พบแถบ miR156 ในส่วนลำต้นกับปลายยอด แต่ปรากฏแถบ miR156 ชัดเจนในส่วนของใบ และราก เมื่อมีการแสดงออกของ OsmiR156 มากส่งผลให้ mRNA ที่ได้จากการถอดรหัสของยีน *OsSPL14* ลดลง แต่หากรบกวนการแสดงออกของ OsmiR156 โดยให้มีการแสดงออกของ MIM156 มาก ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของ microRNA (Franco-Zorrilla *et al.*, 2007 cited by Jiao *et al.*, 2010) ทำให้ mRNA ที่ได้จากการถอดรหัสของยีน *OsSPL14* เพิ่มขึ้น จากผลการศึกษาสรุปได้ว่ายีน *OsSPL14* ในเซลล์นั้น ถูกควบคุมโดยการตัดของ OsmiR156

นอกจากนี้ได้ศึกษาการใช้ยีน *OsSPL14* ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มผลผลิต โดยสร้างสายพันธุ์คู่แฝดของข้าวพันธุ์ Hui7 ที่มีอัลลีล *OsSPL14*^{IPA1} ของข้าวพันธุ์ SNJ พบว่ามีการสะสมของ mRNA ที่ได้จากการถอดรหัสของยีน *OsSPL14* เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับต้นที่มีอัลลีล *OsSPL14*^{IPA1} และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ พบว่าสายพันธุ์คู่แฝดของข้าวพันธุ์ Hui7 ที่มีอัลลีล *OsSPL14*^{ipa1} มีความสูงมากกว่า จำนวนต้นต่อกอน้อยกว่า มีจำนวนแขนงที่หนึ่ง และแขนงที่สองมากกว่า มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากกว่า นอกจากนี้ยังมีลำต้นที่แข็งแรงกว่า จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ายีน *OsSPL14* นั้นเป็น pleiotropic กล่าวคือ เป็นยีนที่ควบคุมการแสดงออกของลักษณะมากกว่า 1 ลักษณะ ทำให้มีการแตกกอน้อย เพิ่มจำนวนเมล็ดต่อรวง และทำให้ลำต้นแข็งแรงไม่หักล้มง่าย (Jiao *et al.*, 2010)

ลักษณะประจำพันธุ์ของข้าวที่ใช้ในการวิจัย

ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 (Chai Nat 1)

ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 ได้มาจากคู่ผสมสามทางระหว่างคู่ผสมของ IR13146-158-1 กับสายพันธุ์ IR15314-43-2-3-3 ผสมกับ BKN6995-16-1-1-2 ที่สถานีทดลองข้าวชัยนาทในปี พ.ศ. 2525 จากนั้นทำการปลูกคัดเลือกจนได้สายพันธุ์ CNTBR82075-43-2-1 ปลูกเพื่อเปรียบเทียบผลผลิตภายในสถานีในปี พ.ศ. 2530 และเปรียบเทียบผลผลิตระหว่างสถานีที่ศูนย์วิจัยข้าว

พิษณุโลกในปี พ.ศ. 2531-2535 จากนั้นทดสอบในแปลงนาเกษตรกร และทดสอบเสถียรภาพการให้ผลผลิตที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี และศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกระหว่าง พ.ศ. 2534-2535 รวมระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นเวลา 11 ปี กรมวิชาการเกษตรรับรองพันธุ์เมื่อวันที่ 2 กันยายน พ.ศ. 2536

ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นข้าวนาสวนไม่ไวต่อช่วงแสง มีความสูงปานกลางประมาณ 113 เซนติเมตร ระแง้ค่อนข้างถี่ รวงแน่น มีจำนวนเมล็ดดีต่อรวงเฉลี่ย 133 เมล็ด ให้ผลผลิตสูงเฉลี่ย 740 กิโลกรัมต่อไร่ และมีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 120-130 วัน ตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนได้ดี มีความต้านทานต่อโรค และแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญหลายชนิด คือ ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว โรคใบหงิก และโรคไหม้ (กรมวิชาการเกษตร, 2543)

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 (RD 6)

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 เป็นข้าวเหนียวที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์โดยการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 ไปอาบรังสีแกมม่าขนาด 20 กิโลแรด ทำให้เกิดการกลายพันธุ์เป็นข้าวเหนียว แล้วทำการปลูกคัดเลือกที่สถานีทดลองข้าวบางเขน และสถานีทดลองข้าวพิมาย ซึ่งคณะกรรมการพิจารณาพันธุ์ให้ใช้ขยายพันธุ์ได้ เมื่อวันที่ 4 พฤษภาคม พ.ศ. 2520

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 เป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสงจึงปลูกได้เฉพาะนาปี ลำต้นมีความสูงประมาณ 150 เซนติเมตร จำนวนเมล็ดต่อรวง 207 เมล็ด (วราภรณ์, 2551) ให้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 670 กิโลกรัมต่อไร่ คุณภาพการหุงต้มดีลักษณะข้าวสุกนุ่มเหนียว และมีกลิ่นหอม ต้านทานต่อโรคไหม้ โรคใบจุดสีน้ำตาล แต่ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และแมลงบั่ว (วิไลลักษณ์, 2541)

ข้าวเจ้าพันธุ์เมืองไทร (Mueang sai)

ข้าวเจ้าพันธุ์เมืองไทร เป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสงปลูกได้เฉพาะนาปี ลำต้นมีความสูงประมาณ 166 เซนติเมตร จำนวนต้นต่อกอเฉลี่ยเท่ากับ 7 ต้น และจำนวนรวงต่อกอเฉลี่ยเท่ากับ 7 รวง มีอายุวันออกดอกประมาณ 145 วัน มีเมล็ดลีบเฉลี่ยเท่ากับ 73 เมล็ด เมล็ดดีเฉลี่ยเท่ากับ 265 เมล็ด รวมจำนวนเมล็ดทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 338 เมล็ด (วราภรณ์, 2551)

ข้าวเจ้าพันธุ์แปดริ้ว G.S. no. 8045

ข้าวเจ้าพันธุ์แปดริ้ว เป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสงปลูกได้เฉพาะนาปี ลำต้นมีความสูงประมาณ 212 เซนติเมตร จำนวนต้นต่อกอเฉลี่ยเท่ากับ 10 ต้น และจำนวนรวงต่อกอเฉลี่ยเท่ากับ 10

รวง มีอายุวันออกดอกประมาณ 128 วัน มีเมล็ดลีบเฉลี่ยเท่ากับ 29 เมล็ด เมล็ดดีเฉลี่ยเท่ากับ 229 เมล็ด รวมจำนวนเมล็ดทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 266 เมล็ด (วราภรณ์, 2551)

การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิม (conventional backcrossing)

การผสมกลับ คือ การปรับปรุงพันธุ์พืชที่ทำให้ได้พืชที่มีลักษณะเหมือนพันธุ์ดั้งเดิมทุกประการ แต่มีลักษณะที่ต้องการเพิ่มขึ้นมา โดยการแทนที่ของยีนด้วยอัลลีลหนึ่งจากพันธุ์ให้ที่มีลักษณะที่ต้องการ วิธีการผสมกลับสามารถทำได้ง่ายถ้าลักษณะที่ต้องการใส่เพิ่มเข้าไปสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบไม่ซับซ้อน มียีนในสภาพข่มสมบูรณ์ และสามารถมองเห็นลักษณะนั้นได้ง่าย (phenotype) และชัดเจนในต้นลูกผสม โดยวิธีการผสมกลับประกอบด้วยพันธุ์รับ (recurrent parent) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีคุณลักษณะที่ดีแต่ต้องการเพิ่มลักษณะดีบางลักษณะ และพันธุ์ให้ (donor or non recurrent parent) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่จะให้ยีนหรือลักษณะที่ต้องการแก่พันธุ์รับ เมื่อทำการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์รับ และพันธุ์ให้แล้ว ทำการผสมกลับไปหาพันธุ์รับ และคัดเลือกต้นพืชที่มีลักษณะที่ต้องการจากนั้น ผสมกลับไปหาพันธุ์รับ และคัดเลือกในชั่วถัดไปอีกหลายชั่ว เพื่อให้ยีนทุกตำแหน่งเข้าสู่สภาพโฮโมไซโกซิตี้ ในชั่วที่ 6 หรือ 7 ทำให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะเหมือนพันธุ์ดั้งเดิม แต่มีลักษณะที่ต้องการเพิ่มขึ้น (ศิริพร, 2547)

หลักการของวิธีการผสมกลับมีขั้นตอนดังนี้ (บุญหงษ์, 2547)

1. การคัดเลือกพันธุ์รับ (recurrent parent) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีคุณลักษณะดี แต่ขาดลักษณะที่ต้องการ เช่น เป็นพันธุ์การค้าที่อ่อนแอต่อโรค แมลง หรือให้ผลผลิตต่ำ

2. การคัดเลือกพันธุ์ให้ (donor parent) ต้องเป็นพันธุ์ที่มีลักษณะที่ต้องการ เช่น เป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานโรค หรือพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง เป็นต้น

3. ขั้นตอนการสร้างประชากรลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) โดยทำการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ซึ่งจะได้เมล็ด F_1 จากนั้นปลูกเมล็ด F_1 ซึ่งประชากรทั้งหมดจะมีลักษณะที่ต้องการที่ได้รับจากพันธุ์ให้ เนื่องจากลูกผสมจะได้รับถ่ายทอดสารพันธุกรรมจากฝ่ายพ่อและแม่อย่างละ 50 เปอร์เซ็นต์

4. ขั้นตอนการผสมกลับ โดยนำลูกผสมชั่วที่ 1 ผสมกลับไปหาพันธุ์รับ ได้เมล็ดลูกผสมกลับชั่วที่ 1 (BC_1F_1) จากนั้นปลูกเมล็ด BC_1F_1 ซึ่งประชากร BC_1F_1 ที่ได้จะประกอบด้วยต้นที่มีลักษณะที่ต้องการซึ่งได้รับจากพันธุ์ให้ และต้นที่ขาดลักษณะที่ต้องการกล่าวคือเหมือนกับพันธุ์รับ โดยประชากร BC_1F_1 นี้จะมีพันธุกรรมเหมือนกับพันธุ์รับ 75 เปอร์เซ็นต์

5. ขั้นตอนการคัดเลือก ทำการคัดเลือกเฉพาะต้น BC_1F_1ที่มีลักษณะที่ต้องการ แล้วผสมกลับไปหาพันธุ์รับอีกครั้ง ได้เมล็ดลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_1) ซึ่งเมื่อนำไปปลูกประชากร BC_2F_1ที่ได้จะมีทั้งต้นที่มีลักษณะที่ต้องการซึ่งได้รับจากพันธุ์ให้ และต้นที่ขาดลักษณะที่ต้องการเช่นเดียวกับประชากร BC_1F_1 ทำการคัดเลือกเฉพาะต้น BC_2F_1ที่มีลักษณะที่ต้องการ โดยประชากร BC_2F_1 นี้จะมีพันธุกรรมเหมือนกับพันธุ์รับ 87.5 เปอร์เซ็นต์ ผสมกลับไปหาพันธุ์รับได้เมล็ดลูกผสมกลับชั่วที่ 3 (BC_3F_1) ทำการผสมกลับ และคัดเลือกเช่นนี้จนได้ประชากรลูกผสมกลับชั่วที่ 5 (BC_5F_1) ซึ่งจะมีพันธุกรรมเหมือนกับพันธุ์รับถึง 96 เปอร์เซ็นต์

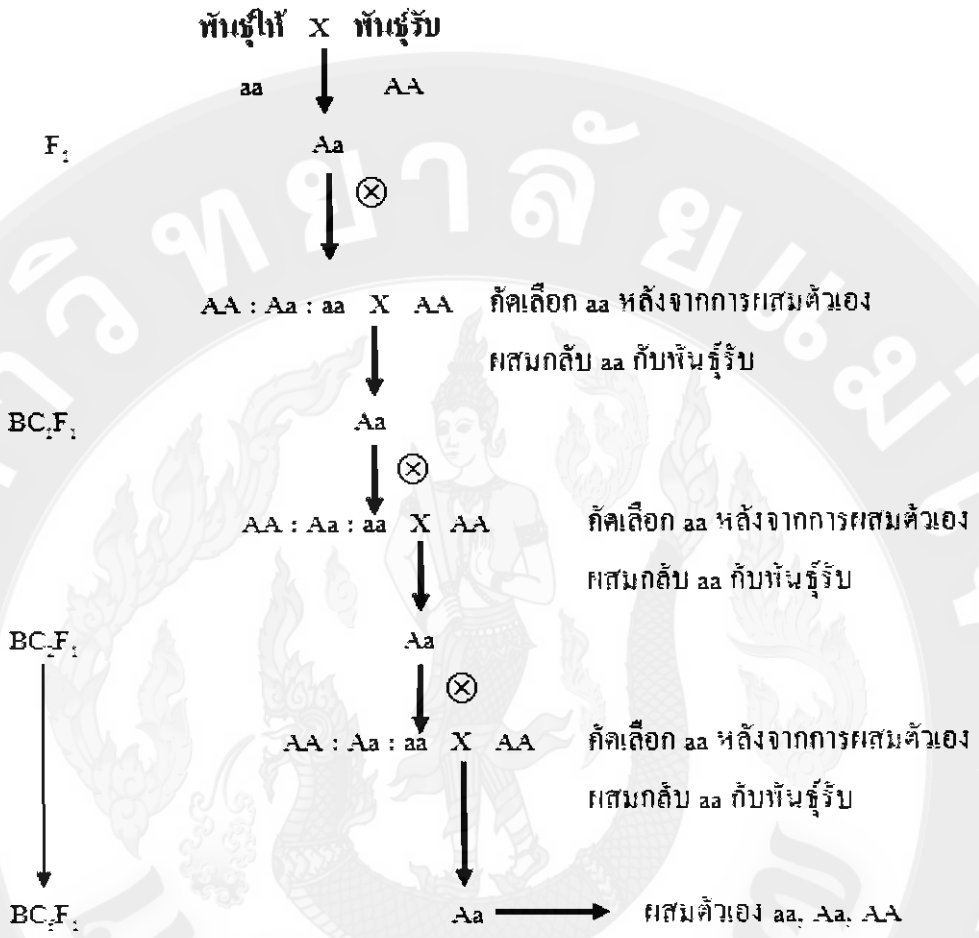
6. ขั้นตอนการผสมตัวเอง (selfing) เมื่อคัดเลือกต้น BC_5F_1 ที่มีลักษณะที่ต้องการซึ่งได้รับมาจากพันธุ์ให้ในประชากรลูกผสมกลับชั่วที่ 5 ทำการผสมตัวเองได้เมล็ด BC_5F_2 ดังภาพ 6

การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมกลับนี้จะทำการคัดเลือกจากฟีโนไทป์ที่แสดงออก คือ ลักษณะที่สามารถมองเห็นได้ หรือวัดผลได้ จึงใช้ระยะเวลานานในการคัดเลือก โดยเฉพาะในกรณีที่ลักษณะที่ต้องการเป็นลักษณะด้อย จำเป็นต้องทำการผสมตัวเองก่อนการผสมกลับแต่ละครั้ง ดังภาพ 7

นอกจากนี้จำนวนต้นพืชที่ใช้ในการศึกษาการกระจายตัวของลักษณะที่สนใจมีจำนวนมากจึงต้องการพื้นที่มาก ซึ่งรวมถึงค่าแรงงาน และค่าใช้จ่ายในการดูแล ทำให้การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิมนี้มีค่าใช้จ่ายสูง ยิ่งไปกว่านั้นอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมยังมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะทางกายภาพหรือฟีโนไทป์ได้ ปัจจัยสำคัญอีกประการที่ทำให้การปรับปรุงพันธุ์ประสบความสำเร็จได้ คือ ความชำนาญ และประสบการณ์ของนักปรับปรุงพันธุ์

ภาพ 6 แผนผังแสดงการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิมในกรณีที่ลักษณะที่ต้องการถ่ายทอดเป็นลักษณะเด่น

ดัดแปลงมาจาก: บุญหงษ์ (2547)



ภาพ 7 แผนผังแสดงการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิมในกรณีที่ลักษณะที่ต้องการถ่ายทอดเป็นลักษณะด้อย

ดัดแปลงมาจาก: บุญหงษ์ (2547)

การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก (marker assisted selection, MAS)

เป้าหมายของการปรับปรุงพันธุ์พืช คือ ได้พืชพันธุ์ที่มีลักษณะที่ต้องการ ดังนั้น การคัดเลือกลักษณะที่ต้องการได้อย่างถูกต้องแม่นยำ และมีประสิทธิภาพจึงเป็นหัวใจสำคัญเพื่อบรรลุเป้าหมายดังกล่าว แต่เนื่องจากลักษณะที่ต้องการบางลักษณะคัดเลือกได้ยาก เนื่องจากมีระดับการแสดงออกไม่สม่ำเสมอ หรือได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม เช่น ความด้านทานโรค หรือลักษณะที่เป็นลักษณะเชิงปริมาณ จึงจำเป็นต้องอาศัยการคัดเลือกที่ยุ่งยาก และซับซ้อน

จนกระทั่งมีการนำความรู้ทางพันธุศาสตร์โมเลกุลมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยนำเครื่องหมายโมเลกุลมาช่วยคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ และคัดเลือกได้ยาก (marker assisted selection) ร่วมกับการคัดเลือกแบบปกติ (conventional selection) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพทำให้คัดเลือกลักษณะที่ต้องการได้อย่างถูกต้องแม่นยำ เนื่องจากการคัดเลือกด้วยดีเอ็นเอนั้นเป็นการคัดเลือกที่ยีน ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม และสามารถคัดเลือกได้ทุกระยะการเจริญเติบโตเนื่องจากมีอยู่ในทุกเซลล์ ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลอาจเป็นส่วนหนึ่งของยีนที่ควบคุมลักษณะนั้นๆ (target functional marker) หรือเป็นส่วนที่อยู่ใกล้หรือยึดติด (linked marker) กับยีนที่ควบคุมลักษณะนั้นๆ (อรรัตน์, 2548)

gene tagging เป็นวิธีการค้นหายีนที่มีความเกี่ยวพันกับลักษณะทางกายภาพโดยอาศัยเครื่องหมายโมเลกุล ทำการสืบหายีนในกลุ่มของประชากรชนิดต่างๆ ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างพ่อ และแม่พันธุ์ที่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมของลักษณะที่ต้องการ มีหลักการ คือ การสร้างกลุ่มตัวแทนสองกลุ่มที่มีความแตกต่างของลักษณะที่ต้องการศึกษาอย่างชัดเจน โดยรวมดีเอ็นเอของสมาชิกภายในแต่ละกลุ่ม คือ กลุ่มที่มีการแสดงออกของลักษณะที่ต้องการ และกลุ่มที่ไม่มีการแสดงออกของลักษณะที่ต้องการ แล้วทำการตรวจสอบหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มทั้งสองด้วยเครื่องหมายโมเลกุล เครื่องหมายโมเลกุลที่ให้ความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวแทนสองกลุ่มถือว่าเป็นเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับความแตกต่างของลักษณะในกลุ่มทั้งสองนั้น กล่าวได้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลนั้นน่าจะอยู่ใกล้กับยีนที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวนั่นเอง (อภิชาติ, 2544)

การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยวิธีผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก (marker assisted backcrossing, MAB)

การปรับปรุงพันธุ์พืชที่มีคุณลักษณะที่ดี เช่น พันธุ์การค้าให้มีลักษณะที่ต้องการนิยมใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับเพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะดีเหมือนพันธุ์เดิม และมีลักษณะที่ต้องการจากพันธุ์ให้เพิ่มเข้าไปอีกหนึ่งลักษณะนั้นอาศัยวิธีการผสมกลับ โดยทำการผสมกลับไปหาพันธุ์รับถึง 7 รุ่น เรียกสายพันธุ์ที่มีลักษณะเหมือนพันธุ์รับทุกประการแต่มีลักษณะที่ต้องการจากพันธุ์ให้เพิ่มมาอีกหนึ่งลักษณะนี้ว่าสายพันธุ์คู่แฝด (near isogenic line; NIL) ซึ่งการผสมกลับในแต่ละชั่วต้องทำการคัดเลือกต้นที่มีลักษณะที่ต้องการก่อนนำไปผสมกลับกับพันธุ์รับทุกครั้ง ดังนั้นการคัดเลือกที่ถูกต้อง และแม่นยำจึงเป็นหัวใจสำคัญ เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็นส่วนหนึ่งของยีน และเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนสามารถนำมาใช้คัดเลือกในประชากร

ลูกผสมกลับแต่ละรุ่นจนถึง NIL ได้ ทำให้การปรับปรุงพันธุ์มีประสิทธิภาพ และก้าวหน้าได้อย่างรวดเร็ว (อรรัตน์, 2548)

การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยวิธีผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกนี้สามารถลดระยะเวลาในการผสมกลับจากปกติต้องผสมกลับ 6-7 ครั้ง เหลือเพียง 4 ครั้ง ด้วยสองขั้นตอนของการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล กล่าวคือ คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงถึงการมีอยู่ของยีนที่ต้องการถ่ายทอดจากพันธุ์ให้สู่พันธุ์รับ (foreground selection) และการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้ตรวจสอบความเหมือนของจีโนไทป์ของพันธุ์รับ (background selection) (Hospital *et al.*, 1997) ซึ่งเป้าหมายหลักของขั้นตอน background selection คือ การลดจำนวนอัลลีลหรือยีนของพันธุ์ให้บนโครโมโซมที่มียีนที่ต้องการของพันธุ์รับ (carrier chromosome) และบนโครโมโซมอื่นๆ (non-carrier chromosome) ในขั้นตอนนี้ประกอบด้วยการคัดเลือกโดยใช้ flanking marker 1, flanking marker 2 และ background marker ซึ่ง flanking marker จะช่วยลดจำนวนอัลลีลอื่นๆ ของพันธุ์ให้ที่อาจติดมากับยีนที่ต้องการถ่ายทอดไปสู่พันธุ์รับ (linkage drag) บน carrier chromosome ทำให้พันธุ์ใหม่ที่ปรับปรุงได้มี genetic background ไม่เหมือนพันธุ์รับ ขณะที่ background marker จะใช้ตรวจสอบความเหมือนของจีโนไทป์ของพันธุ์รับบน carrier chromosome และ non-carrier chromosome (Frisch *et al.*, 1999)

ปัจจุบันมีการนำวิธีการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกมาใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์อย่างกว้างขวาง อาทิเช่น การพัฒนาพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลของยีน *Xa21* ที่ควบคุมลักษณะความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งได้ถูกสร้างขึ้นเพื่อใช้ศึกษาการถ่ายทอดยีน *Xa21* ไปยังข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้วิธีผสมกลับจำนวน 4 ครั้ง ลูกผสมกลับชั่วที่ 4 ของข้าวขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 42 ต้นนั้น มียีนแสดงความต้านทานต่อเชื้อสายพันธุ์ฉะเชิงเทราซึ่งเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงที่สุดสายพันธุ์หนึ่ง อีกทั้งยังมีความคล้ายคลึงกับพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มากกว่าร้อยละ 80 (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2544)

เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker)

เครื่องหมาย คือ สิ่งที่ใช้แสดงให้เห็นความแตกต่าง การใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อแสดงให้เห็นความแตกต่าง และความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) สามารถใช้จำแนกความแตกต่างระหว่าง และภายในสปีชีส์ (between and within species) ระหว่าง และภายใน

ประชากร (between and within populations) หรือระหว่างแต่ละตัว (between individuals) ซึ่งเครื่องหมายที่ใช้แสดงให้เห็นความแตกต่างมี 2 ประเภท คือ (สุรินทร์, 2545)

1. เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological marker) คือ การใช้วิธีเปรียบเทียบลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยาหรือทางสรีระวิทยาในการบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต เป็นเครื่องหมายที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าโดยไม่จำเป็นต้องอาศัยวิธีการใดมาตรวจสอบ เช่น สีดอก รูปทรงผล ความสูง เป็นต้น ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการปรับปรุงพันธุ์พืช เมื่อเครื่องหมายนั้นมีความสัมพันธ์กับลักษณะที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น การให้ผลผลิตสูง หรือด้านทานต่อโรคแมลง สามารถคัดเลือกได้ด้วยการเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ แต่เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยานี้มีข้อจำกัด คือ มีลักษณะทางกายภาพที่ใช้คัดเลือกจำกัด และสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงจะมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะทางกายภาพ เช่น ความสูง ผลผลิต หรือสีดอกที่ได้รับอิทธิพลโดยตรงจากความอุดมสมบูรณ์ของดิน หรือการให้ปุ๋ย นอกจากนี้ลักษณะทางกายภาพบางลักษณะมีการแสดงออกจำเพาะในบางช่วงของการเจริญเติบโตของพืชเท่านั้น เช่น สีดอกที่มีการแสดงออกในช่วงที่พืชออกดอกเท่านั้น (อรรัตน์, 2548)

2. เครื่องหมายทางชีวโมเลกุล (biochemical marker) สามารถแบ่งได้ 2 ระดับ คือ

2.1 เครื่องหมายระดับโปรตีน (protein marker) เป็นการตรวจสอบสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยความแตกต่างของโมเลกุลของโปรตีนซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากการถอดรหัสของยีน และแปลรหัสได้เป็นโปรตีน ทำการแยกโมเลกุลของโปรตีนตามขนาดหรือประจุของอนุภาคด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซีส แล้วจึงย้อมดูแถบของโปรตีนจำเพาะด้วยสารที่เหมาะสม เช่น การตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนสะสมในเมล็ดพืช การตรวจสอบรูปแบบของเอนไซม์ หรือไอโซไซม์ต่างๆ เป็นต้น เครื่องหมายระดับโปรตีนสามารถตรวจได้หลายตำแหน่ง มีการแสดงออกของเครื่องหมายแบบข่มร่วมกัน (codominant) จึงแยกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซกัส และเฮทเทอโรไซกัสได้ แต่มีข้อจำกัด คือ จำนวนยีนที่ตรวจสอบได้มีน้อย มีความจำเพาะของเนื้อเยื่อ หรือระยะการเจริญที่มีการแสดงออกของยีนที่ศึกษาเท่านั้น และสิ่งแวดล้อมก็มีผลต่อการแสดงออกของยีนซึ่งส่งผลต่อโปรตีนที่ศึกษาด้วยเช่นกัน โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติได้ง่ายจึงไม่สามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้นาน นอกจากนี้โอกาสการตรวจพบความแตกต่างในระดับโปรตีนมีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับการตรวจสอบระดับดีเอ็นเอ เนื่องจากลำดับเบสที่แตกต่างกันอาจไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในโครงสร้างของโปรตีน และแม้ว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดอะมิโนที่ตำแหน่งใด อาจไม่มี

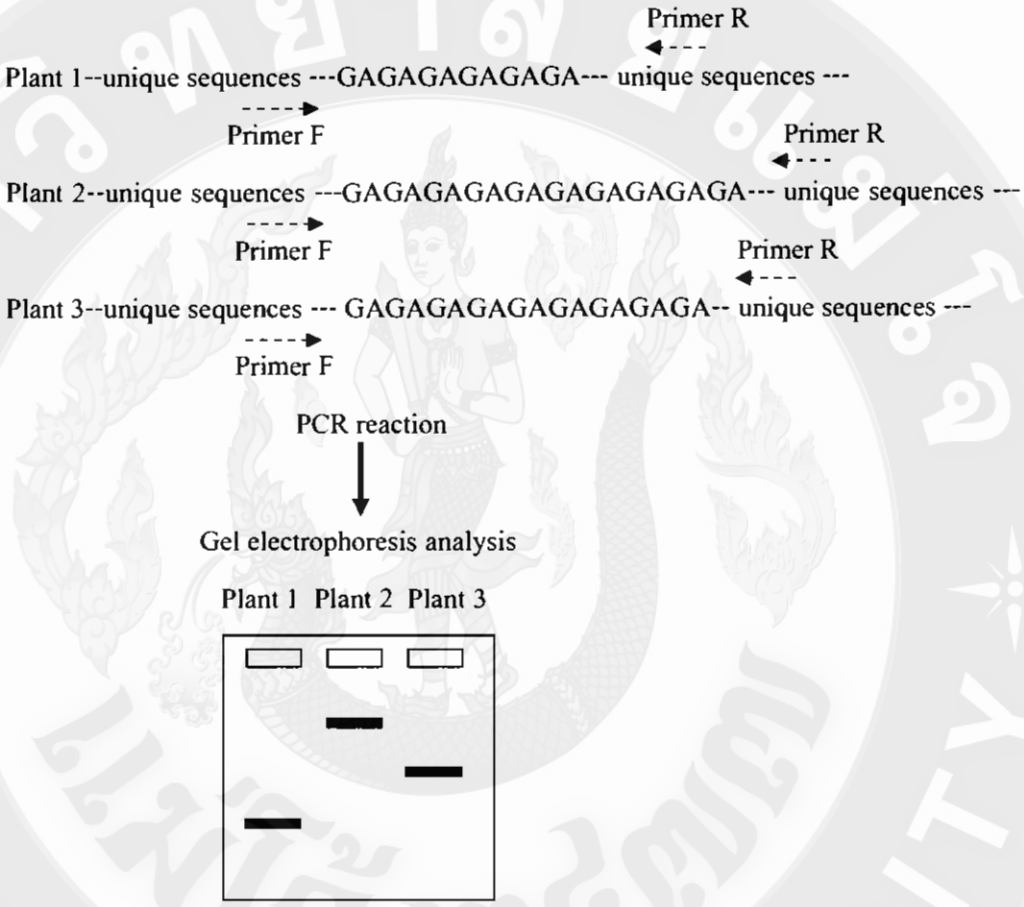
ผลต่อระยะทางการเคลื่อนที่ของโมเลกุลเมื่อทำการตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซีส ทำให้ไม่สามารถตรวจพบความแตกต่างนั้นๆ ได้

2.2 เครื่องหมายระดับดีเอ็นเอ (DNA marker) หมายถึง ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายแสดงความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตตัวหนึ่ง สายพันธุ์หนึ่ง สปีชีส์หนึ่ง หรือในระดับต่างสปีชีส์ เป็นลำดับเบสที่อยู่ในตำแหน่งหนึ่งๆ บนโครโมโซม (nuclear DNA) หรือลำดับเบสในไมโตคอนเดรีย หรือคลอโรพลาสต์ (mitochondrial DNA หรือ chloroplast DNA) เนื่องจากลำดับเบสของดีเอ็นเอมีความแปรปรวน (variation) ทำให้เกิดความแตกต่างหรือโพลีมอร์ฟีซึม (polymorphism) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอจึงสามารถนำมาใช้ตรวจสอบความแตกต่างได้ โดยโมเลกุลของดีเอ็นเอมีความเสถียรจึงสามารถเก็บรักษาไว้นานโดยไม่เสื่อมสภาพ และสามารถตรวจสอบได้จากเนื้อเยื่อใด ๆ ตลอดระยะการเจริญเติบโตโดยไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อมเนื่องจากดีเอ็นเอมีอยู่ในเซลล์เกือบทุกเซลล์ สามารถตรวจสอบได้ครอบคลุมทั้งจีโนม ส่วนที่เป็นยีน หรือไม่ใช่ยีน มีการแสดงออกของยีน หรือไม่มีการแสดงออกของยีนก็ได้ จึงไม่มีข้อจำกัดในการตรวจสอบความแตกต่าง อีกทั้งมีวิธีการตรวจสอบด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบต่าง ๆ สามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมกับงานมากมาย เช่น เครื่องหมาย restriction fragment length polymorphism (RFLP) เครื่องหมาย random amplified polymorphic DNA (RAPD) เครื่องหมาย simple sequence repeats (SSR) เป็นต้น (สุรินทร์, 2545)

เครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์ (Simple Sequence Repeats; SSR marker)

เครื่องหมายชนิดเอสเอสอาร์ หรือไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite) เป็นเครื่องหมายชนิดหนึ่งที่มีการพัฒนามาจากความผันแปรของจำนวนเบสซ้ำ เนื่องจากในจีโนมของสิ่งมีชีวิตชั้นสูงนั้นดีเอ็นเอมีช่วงของลำดับเบสซ้ำ (repetitive DNA) เป็นจำนวนมาก ซึ่งลำดับเบสซ้ำเหล่านี้มีความแตกต่างกันทั้งขนาด และจำนวนซ้ำ โดยทั่วไปจะประกอบด้วยเบสซ้ำต่อเนื่อง (tandem repeat) ตั้งแต่ 1-6 เบส เบสซ้ำหนึ่งเบส เรียกว่า mono-nucleotide repeat เช่น (A)n ซ้ำสองเบส เรียกว่า di-nucleotide repeat เช่น (CA)n ซ้ำสามเบส เรียกว่า tri-nucleotide repeat เช่น (TAA)n และซ้ำสี่เบส เรียกว่า tetra-nucleotide repeat เช่น (GATA)n เมื่อ n เป็นจำนวนซ้ำ ซึ่งเบสซ้ำเหล่านี้มักมีลำดับเบสที่จำเพาะ (unique sequences) อยู่บริเวณรอบๆ เบสซ้ำต่อเนื่อง จากหลักการดังกล่าวสามารถนำมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายเพื่อแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้ โดยออกแบบไพร์เมอร์ที่สามารถเข้าคู่กับบริเวณเบสจำเพาะเหล่านี้เพื่อเป็นจุดเริ่มต้นของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่เป็นเบสซ้ำต่อเนื่องซึ่งอยู่ระหว่างลำดับเบสที่จำเพาะนั้น โดยอาศัยเทคนิค

พีซีอาร์ ดังนั้นความหลากหลายของขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากผลผลิตพีซีอาร์ อันเนื่องมาจากจำนวนครั้งของเบสซ้ำที่ไม่เท่ากันจึงสามารถใช้บ่งชี้ความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้ ดังภาพ 8 (สุรีพร, 2546)



ภาพ 8 เครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์
ดัดแปลงมาจาก: สุรีพร (2546)

การใช้ประโยชน์จากฐานข้อมูลพันธุกรรมข้าว

ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีคุณภาพที่ดีขึ้น รวมถึงการพัฒนาให้ข้าวมีผลผลิตมากขึ้น นั้นจำเป็นต้องอาศัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีระดับโมเลกุลช่วยให้การปรับปรุงพันธุ์ข้าวประสบผลสำเร็จได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว ซึ่งในข้าวนั้นมีการศึกษาอย่างกว้างขวาง มีรายงานการศึกษาจนถึงลำดับเบสซึ่งเป็นโครงสร้างพื้นฐานทางพันธุกรรม ดังนั้นจึงมีฐานข้อมูลที่ได้รวบรวมผลการศึกษาของข้าวมากมาย อาทิเช่น การศึกษาลำดับเบสในส่วนของยีนต่างๆ การทำแผนที่ยีนในข้าว เป็นต้น ซึ่งข้อมูลที่ได้นั้นมีอยู่อย่างมหาศาลนี้จึงจำเป็นต้องมีระบบการจัดเก็บ

ข้อมูล รวมถึงการประมวลผลที่มีประสิทธิภาพ นั่นก็คือการใช้เทคโนโลยีทางคอมพิวเตอร์เข้ามาจัดการ เป็นศาสตร์ที่เรียกว่า ชีวสารสนเทศศาสตร์ (Bioinformatics) หรือชีววิทยาเชิงคำนวณ สามารถช่วยในการสืบค้น และประมวลผลเทียบเคียงกับระบบฐานข้อมูลออนไลน์ที่เปิดกว้างในการใช้งานทั่วโลก ซึ่งส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับข้อมูลของรหัสพันธุกรรม ได้แก่ การวิเคราะห์ลำดับเบส การค้นหายีน เป็นต้น (สุสกุล, ม.ป.ป)

ฐานข้อมูลข้าวที่สำคัญ ได้แก่ ฐานข้อมูลข้าว Gramene (http://www.gramene.org/) ฐานข้อมูลข้าว Oryzabase (http://www.shigen.nig.ac.jp/rice/oryzabase/top/top.jsp) ฐานข้อมูลข้าวจาก Rice Genome Annotation Project (http://rice.plantbiology.msu.edu/) และฐานข้อมูลข้าวจาก Rice Gene Discovery Unit (RGDU) (http://dna.kps.ku.ac.th/ricedb/) รวมถึงฐานข้อมูล NCBI (National Center for Biotechnology Information; http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) ซึ่งฐานข้อมูลดังกล่าวได้ให้บริการข้อมูลเพื่อการศึกษา และพัฒนาต่อยอดความรู้ในงานวิจัย

กรอบแนวความคิด