

สำนักงานบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ระดับการประเมินคุณภาพ

☒ ดีเยี่ยม

☐ ดีมาก

☐ ดี

☐ ปานกลาง





การพัฒนาเครื่องหมายโมเดลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์
ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมาก

ดวงใจ กิ่งโพธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาดตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ชื่อเรื่อง
การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์
ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมาก

โดย
ดวงใจ กิ่งโพธิ์

พิจารณาเห็นชอบโดย

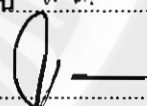
ประธานกรรมการที่ปรึกษา



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ แสงทอง)

วันที่ 20 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2554

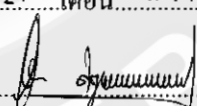
กรรมการที่ปรึกษา



(รองศาสตราจารย์ประวิตร พูพานนท์)

วันที่ 21 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2554

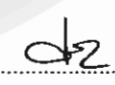
กรรมการที่ปรึกษา



(รองศาสตราจารย์ ดร.วัลลา ดิษฐพงษ์พิชญ์)

วันที่ 20 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2554

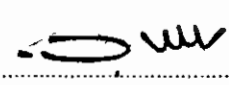
ประธานกรรมการประจำหลักสูตร



(อาจารย์ ดร.มยุรา ศรีกิตยานุกุล)

วันที่ 21 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2554

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันเนียร บสรราช)

ประธานกรรมการบัณฑิตศึกษา

วันที่ 21 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2554

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมาก
ชื่อผู้เขียน	นางสาวดวงใจ กิ่งโพธิ์
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ แสงทอง

บทคัดย่อ

จำนวนเมล็ดต่อรวงเป็นลักษณะสำคัญในองค์ประกอบผลผลิตซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตข้าว จากการรวบรวมเชื้อพันธุ์กรรมข้าวพบว่าพันธุ์ข้าวไทยที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์มีจำนวนเมล็ดต่อรวงโดยเฉลี่ยน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ข้าวพื้นเมืองบางพันธุ์ หากต้องการเพิ่มผลผลิตของพันธุ์ข้าวไทยสามารถทำได้โดยปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีจำนวนเมล็ดต่อรวงเพิ่มมากขึ้น โดยใช้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากเป็นพันธุ์ให้ ดังนั้นจำเป็นต้องหาเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีนที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงเพื่อช่วยในการคัดเลือก ได้แก่ ยีน *Gn1a* (grain number per panicle) ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง ยีน *SPPI* (spikelet number per panicle) ควบคุมลักษณะจำนวนดอกต่อรวง ยีน *Ghd7* ควบคุมลักษณะปริมาณผลผลิต (yield) และล่าสุดมีรายงานการศึกษา ยีน *WFP* (wealthy farmer's panicle) ซึ่งควบคุมลักษณะการพัฒนาของระยะแ้งหรือแขนงที่สองของรวงข้าว จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 และ BC_2F_2 -1988-4181 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับแปดริ้วที่เป็นพันธุ์ให้ยีนจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก พบว่าเครื่องหมาย RM10318, RM10395, RM21335 และ RM23428 เป็นเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ระยะ 86,553 10,202 76,610 และ 68,830 เบส ตามลำดับ แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว เมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a* *SPPI* และ *Ghd7* กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 ด้วยวิธี single regression พบว่าเครื่องหมาย RM10318, RM10395 และ RM21335 มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวง มีค่า R-square เท่ากับ 0.0829 0.0953 และ 0.0830 มีค่าระดับนัยสำคัญ (P-value) เท่ากับ 0.015 0.0077 และ 0.0149 ตามลำดับ จากนั้นจึงวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวง พบว่าเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPPI* ที่ระยะ

10,202 เบส มีค่า partial R-square เท่ากับ 0.0949 และมีค่า P-value เท่ากับ 0.0018 เป็นเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงมากกว่าเครื่องหมาย RM10318 กับ RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a* และ ยีน *Ghd7* สำหรับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC₂F₂-1988-4181 ซึ่งได้จากการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* มีจีโนมไทป์แบบเซพเทอไรโซกันนั้น มีความสัมพันธ์กับเครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *WFP* ที่ระยะ 97,813 เบส เพียงเครื่องหมายเดียว มีค่า partial R-square เท่ากับ 0.0363 ค่า P-value เท่ากับ 0.0356 นอกจากนี้การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_{3,4} และ BC₂F₂-4100 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับเมืองไทรที่เป็นพันธุ์ให้ยีนจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก พบว่าเครื่องหมาย RM10316, RM10402, RM23310 และ RM23433 เป็นเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ระยะ 11,819 62,830 294,497 และ 97,813 เบส ตามลำดับ แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร เมื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_{3,4} ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติทั้งวิธี single regression และ multiple-locus regression สำหรับประชากร BC₂F₂-4100 ซึ่งได้จากการผสมตัวเองของต้น BC₂F₂-4100 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* นั้นเมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี single regression แล้วไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี multiple-locus regression พบว่าเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 11,819 เบส มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวง มีค่า partial R-square เท่ากับ 0.0403 มีค่า P-value เท่ากับ 0.0453 ดังนั้นกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร พบเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a* มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC₂F₂-4100 สำหรับกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว พบเครื่องหมาย RM10318, RM10395 และ RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ตามลำดับ มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F₂ ในขณะที่เครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *WFP* มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC₂F₂-1988-4181

Title	Development of DNA Markers for Grain Number in Rice Improvement
Author	Miss Duangjai Kingpho
Degree of	Master of Science in Biotechnology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Varaporn Sangtong

ABSTRACT

Grain number per panicle is an important trait of rice yield component with some parts of Thai rice cultivars having small grain number per panicle as compared to Thai local rice cultivars. To improve Thai rice cultivars in having high grain number per panicle would lead to an increase in rice yield, therefore, identifying the molecular markers linked to a QTL in relation to increased grain productivity for assisted selection, would enhance and aid rice improvement program. Interesting genes including grain number per panicle (*Gn1a*), spikelet number per panicle (*SPP1*), *Ghd7* which regulates rice yield and recently, wealthy farmer's panicle (*WFP*) gene which relates to branching, were reported. Correlation between linked markers and the trait (grain per panicle) was studied by using F_2 and BC_2F_2 -1988-4181 progenies which were derived from a cross between RD 6 and Paet Rio. SSR markers linked to the genes *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* and *WFP*, were identified as RM10318, RM10395 RM21335 and RM23428 with distance from each gene as 86,553; 10,202; 76,610 and 68,830 base, respectively, and which were shown to be polymorphic between recurrent parent and donor parent. For F_2 population, QTL analysis by using single regression established that three markers which tightly linked to each gene (*Gn1a*, *SPP1* and *Ghd7*), were correlated to the trait at R-square of RM10318, RM10395 and RM21335 as 0.0829, 0.0953 and 0.0830 (P -value = 0.015, 0.0077 and 0.0149, respectively). Data were later analyzed with multiple-locus regression, which as a result, RM10395 was represented as a link to *SPP1* gene and correlated to grain number per panicle trait at partial R-square 0.0949 and P -value equal 0.0018. Meanwhile, RM23428 that was linked to *WFP* gene at 97,813 base, showed significantly phenotypic trait of BC_2F_2 -1988-4181 progeny at P -value 0.0356 and partial R-square at 0.0363. On the other hand, $F_{3,4}$ and BC_1F_2 -4100 progenies were found to be derived from a cross between Chai Nat 1 and Mueang Sai cultivars. Four

markers were identified as closely linked to *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* and *WFP* genes including RM10316, RM10402, RM21330 and RM23433 at a distance of 11,819; 62,830; 294,497 and 97,813 base, respectively, and which were presented as polymorphic between Chai Nat 1 and Mueang Sai. In the case of $F_{3,4}$, both single regression and multi-locus regression were represented as non-significant while BC_1F_2 -4100, which was used in all three linked markers for assisted selection, was presented significantly between RM10316 as linked to *Gn1a* gene and grain number per panicle trait at P-value 0.0453 and partial R-square as equal 0.0403 via multiple-locus regressions method. Consequently, RM10316 which was linked to *Gn1a* gene, was represented and correlated to grain number per panicle trait for BC_1F_2 -4100 of Chai Nat 1 and Mueang Sai. For the population derived from a cross between RD 6 and Paet Rio, it was found that RM10318, RM10395 and RM21335, which were tightly linked to *Gn1a*, *SPP1* and *Ghd7* genes, were found to be correlated to grain number per panicle trait of F_2 progeny. Meanwhile, RM23428 that was linked to *WFP* gene, was found to be related to grain number per panicle trait of BC_2F_2 .

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ แสงทอง ที่ได้รับเป็นประธานกรรมการที่ปรึกษา และได้ถ่ายทอดวิชาความรู้ แนวความคิด ตลอดจนช่วยสนับสนุน วัสดุ อุปกรณ์ ห้องทดลองในการดำเนินงานทดลองทั้งหมด จนกระทั่งงานทดลองเสร็จสมบูรณ์ และได้กรุณาอบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำทั้งในทางด้านวิชาการ และการดำเนินชีวิต รวมทั้งยังกรุณาช่วยตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ประวิตร พุธานนท์ และ ดร.วิธดา คิฐพงษ์พิชญ์ กรรมการที่ปรึกษา ซึ่งได้ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการทำงานวิจัยนี้อย่างมาก ตลอดจนช่วยแนะนำ และตรวจสอบแก้ไข จนสำเร็จลุล่วงเป็นวิทยานิพนธ์อย่างสมบูรณ์

และขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และสมาชิกทุกคนในครอบครัวกิ่งโพธิ์ ที่คอยสนับสนุน และเป็นกำลังใจอย่างดียิ่งตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา ขอขอบคุณ คุณลุง คุณป้า คุณน้า คุณอา ที่คอยช่วยเหลือด้านแรงงาน และให้ความรู้ซึ่งเป็นประสบการณ์ตรงจากเกษตรกร และน้องๆ ทุกคนที่ช่วยเหลือในงานทดลองตลอดระยะเวลาที่ได้ร่วมแรงร่วมใจกันทำงาน ได้แก่ น้องปลา น้องโย น้องอ้อม น้องเจิว น้องแอม น้องบอด น้องพิม น้องกุ้ง และน้องๆ แม่ใจอีกหลายคน

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครู อาจารย์ทุกท่านจากทุกสถาบันการศึกษาที่ข้าพเจ้าเคยศึกษามารวมทั้งมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทวิชาให้ข้าพเจ้าได้มีวิชาความรู้ และความสามารถเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาสังคม และประเทศชาติต่อไป

ดวงใจ กิ่งโพธิ์

ตุลาคม 2554

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
สารบัญตาราง	(12)
สารบัญภาพ	(14)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	5
ประวัติ และความเป็นมาของข้าว	5
พฤกษศาสตร์ทั่วไปของข้าว	6
ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าว	8
ชนิดของพันธุ์ข้าว และลักษณะประจำพันธุ์	9
องค์ประกอบผลผลิตของข้าว (rice yield component)	11
การศึกษาลักษณะเชิงปริมาณ	14
ขั้นตอนการคัดเลือกพันธุ์	16
ลักษณะประจำพันธุ์ของข้าวที่ใช้ในการวิจัย	30
การปรับปรุงพันธุ์พืช โดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิม (conventional backcrossing)	32
การปรับปรุงพันธุ์พืช โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก	35
(marker assisted selection, MAS)	35
การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยวิธีผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล	36
ช่วยในการคัดเลือก (marker assisted backcrossing, MAB)	36
เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker)	37
เครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์ (Simple Sequence Repeats; SSR marker)	39

	หน้า
การใช้ประโยชน์จากฐานข้อมูลพันธุกรรมข้าว	40
กรอบแนวความคิด	42
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	43
อุปกรณ์ และสารเคมีในการวิจัย	44
การทดลองที่ 1 การคัดเลือกข้าวพันธุ์ให้ (donor parent) ที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวง มาก เพื่อใช้สร้างกลุ่มประชากรตัวอย่างสำหรับศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร ตัวอย่างที่สร้างขึ้น	47
การทดลองที่ 2 การหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ตรวจสอบความ แตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ ซึ่งเป็นเครื่องหมายชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง	48
การทดลองที่ 3 การตรวจสอบเครื่องหมาย โมเลกุลชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้ หรือยืดยึดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่ควบคุมลักษณะจำนวน เมล็ดต่อรวง และคัดเลือกเครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์ รับพันธุ์ กข 6 และชัยนาท 1 กับพันธุ์ให้พันธุ์แปดริ้ว และเมืองไทย	61
การทดลองที่ 4 สร้างประชากรตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ได้แก่ ประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว ประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่าง ข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทย	64
การทดลองที่ 5 การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่คัดเลือกได้ กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่าง ข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์แปดริ้ว	76

การทดลองที่ 6 การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่คัดเลือกได้ กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่าง ข้าวพันธุ์รับพันธุ์ชยันนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์เมืองไทร	78
สถานที่ และระยะเวลาในการทดลอง	80
บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์	81
ผลการทดลองที่ 1 การคัดเลือกข้าวพันธุ์ให้ (donor parent) ที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวง มาก เพื่อใช้สร้างกลุ่มประชากรตัวอย่างสำหรับศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร ตัวอย่างที่สร้างขึ้น	82
ผลการทดลองที่ 2 การหา และคัดเลือกเครื่องหมาย โมเลกุลเพื่อใช้ตรวจสอบความ แตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ ซึ่งเป็นเครื่องหมายชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง	85
ผลการทดลองที่ 3 การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้ หรือยืติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ด ต่อรวง และคัดเลือกเครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์รับ พันธุ์ กข 6 และชยันนาท 1 กับพันธุ์ให้พันธุ์แปดริ้ว และเมืองไทร	92
ผลการทดลองที่ 4 สร้างประชากรตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ได้แก่ ประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว ประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่าง ข้าวพันธุ์รับชยันนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร	104
ผลการทดลองที่ 5 การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่ อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่คัดเลือกได้กับ จำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่าง ข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์แปดริ้ว	119

ผลการทดลองที่ 6 การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPP1</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่คัดเลือกได้ กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่าง ข้าวพันธุ์รับพันธุ์ชยันนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์เมืองไทย	132
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	147
ข้อเสนอแนะ	151
บรรณานุกรม	152
ภาคผนวก	161
ภาคผนวก ก ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง และจีโนไทป์	162
ภาคผนวก ข การตรวจสอบจีโนไทป์	203
ภาคผนวก ค ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8	207
ภาคผนวก ง ประวัติผู้วิจัย	239

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ข้อมูลลักษณะความสูง อายุออกดอก และจำนวนเมล็ดทั้งหมดของข้าวพันธุ์พื้นเมืองและข้าวไทยที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ พันธุ์ต่างๆ ทั้งหมด 43 พันธุ์	82
2 ตารางแสดงลักษณะของข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ที่ใช้ในการวิจัย	84
3 เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR จำนวน 12 เครื่องหมาย ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน <i>Gn1a</i> ที่คัดเลือกได้จากตาราง supplementary table 18	87
4 เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR จำนวน 10 เครื่องหมาย ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน <i>SPPI</i> ที่คัดเลือกได้จากตาราง supplementary table 18	88
5 เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR จำนวน 10 เครื่องหมาย ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน <i>Ghd7</i> ที่คัดเลือกได้จากตาราง supplementary table 18	90
6 เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR จำนวน 15 เครื่องหมาย ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน <i>WFP</i> ที่คัดเลือกได้จากตาราง supplementary table 18	91
7 ตารางสรุปผลการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว	97
8 ตารางสรุปผลการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย	103
9 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับ กข 6 พันธุ์ให้แปดริ้ว และประชากร F_2 ของกลุ่มสมระหว่าง กข 6 กับแปดริ้ว	121
10 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> และ <i>Ghd7</i> แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว จำนวน 100 ต้น	123
11 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับ กข 6 พันธุ์ให้แปดริ้ว และประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่าง กข 6 กับแปดริ้ว	126
12 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPPI</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว จำนวน 122 ต้น	129

ตาราง

หน้า

- 13 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 พันธุ์ให้เมืองไทร และประชากร $F_{3,4}$ ของกลุ่มสมระหว่างชันนาท 1 กับเมืองไทร 134
- 14 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยัดติด กับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวงใน ประชากร $F_{3,4}$ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชันนาท 1 กับเมืองไทร จำนวน 87 ต้น 137
- 15 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 พันธุ์ให้เมืองไทร และประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างชันนาท 1 กับเมืองไทร 141
- 16 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยัดติด กับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชันนาท 1 กับเมืองไทร จำนวน 100 ต้น 144

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 แสดงส่วนต่างๆ ของดอก หรือรวงข้าว	7
2 แสดงการกระจายตัวปกติเป็นรูปประมงคว่ำ	15
3 แสดงส่วนต่างๆ ของยีน <i>OsCKX2</i> หรือยีน <i>Gn1a</i> ในข้าวพันธุ์ Habataki	18
4 แสดงตำแหน่งของยีน <i>SPP1</i> , <i>Gn1a</i> , <i>Gn1b</i> เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR และเครื่องหมายที่จำเพาะ (InDel marker) ซึ่งอยู่ใกล้กับยีน <i>SPP1</i> ที่ขนาด 107 Kb	26
5 แสดงส่วนต่างๆ ของยีน <i>WFP</i> ซึ่งมี SNPs จำนวน 5 ตำแหน่ง และยีน <i>OsSPL14</i> ซึ่งประกอบด้วย 3 exon และมีบริเวณที่มีลำดับเบส OsmiR156-targeted site	28
6 แผนผังแสดงการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิมในกรณีที่มีลักษณะที่ต้องการถ่ายทอดเป็นลักษณะเด่น	34
7 แผนผังแสดงการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิมในกรณีที่มีลักษณะที่ต้องการถ่ายทอดเป็นลักษณะด้อย	35
8 เครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์	40
9 แสดงแผนผังการสร้างประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPP1</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง	65
10 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์เมื่อใช้ Glu23 เป็นไพรเมอร์	67
11 แสดงแผนผังการสร้างประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ ชัยนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทย เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน <i>Gn1a</i> , <i>SPP1</i> , <i>Ghd7</i> และ <i>WFP</i> ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง	71
12 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์เมื่อใช้ Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R เป็นไพรเมอร์	73
13 แสดงแผนภาพการเก็บตัวอย่างต้นข้าวที่มีอัตราการแข่งขันเท่ากัน	77
14 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้กับยีน <i>Gn1a</i> เป็นไพรเมอร์	93

[illegible]

ภาพ

หน้า

- 27 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์เมื่อใช้เครื่องหมาย Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R เป็นไพรเมอร์ 112
- 28 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ในการคัดเลือกลำต้น BC₁F₁ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a* เป็นไพรเมอร์ 114
- 29 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ในการคัดเลือกลำต้น BC₁F₁ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPP1* เป็นไพรเมอร์ 115
- 30 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ในการคัดเลือกลำต้น BC₁F₁ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Ghd7* เป็นไพรเมอร์ 116
- 31 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F₂ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2552 121
- 32 แสดงฟีโนไทป์ของประชากร BC₂F₂ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว 126
- 33 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC₂F₂ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 127
- 34 การหักล้มของต้นข้าวประชากร BC₂F₂ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 130
- 35 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_{3,4} ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไพรในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 134
- 36 แสดงการกระจายตัวของลักษณะความสูงของต้นข้าวในประชากร F_{3,4} แต่ละสายพันธุ์ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไพรในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 139
- 37 แสดงการกระจายตัวของลักษณะอายุออกดอกของต้นข้าวในประชากร F_{3,4} แต่ละสายพันธุ์ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไพรในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 139

ภาพ	หน้า
38 แสดงพีโนไทป์ของประชากร BC_1F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 กับข้าวพันธุ์ไหเมืองไทร	141
39 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชันนาท 1 กับเมืองไทรในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553	142
40 แสดงลักษณะความสูง และอายุออกดอกของต้นข้าวในประชากร BC_1F_2 ของคู่ผสมระหว่างชันนาท 1 กับเมืองไทร ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553	146

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

ข้าว พืชสำคัญทางเศรษฐกิจของโลก ประชากรมากกว่าร้อยละห้าสิบของโลก บริโภคข้าวเป็นอาหารหลักโดยเฉพาะประเทศแถบภูมิภาคเอเชีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อาทิ เช่น จีน อินเดีย ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย เวียดนาม รวมถึงประเทศไทยซึ่งมีการผลิตข้าวเพื่อการบริโภคภายในประเทศ และมีการส่งออกข้าวมากเป็นอันดับหนึ่งของโลกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2524 และครองอันดับหนึ่งมาจนถึงปัจจุบัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2554) ซึ่งในปี พ.ศ. 2551 มีปริมาณการส่งออกข้าวสารมากถึง 10.01 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออกสูงถึงสองแสนล้านบาท หรือประมาณหกพันล้านเหรียญสหรัฐ (กรมการข้าว, 2554) สร้างรายได้ให้แก่เกษตรกร และประเทศชาติอย่างมหาศาล ซึ่งในปี พ.ศ. 2554 นี้สมาคมผู้ส่งออกข้าวไทยได้ตั้งเป้าหมายการส่งออกข้าวไว้ที่ 10 ล้านตัน โดยตั้งแต่ช่วงเดือนมกราคมถึงมิถุนายนสามารถส่งออกข้าวมีปริมาณรวม 6.3 ล้านตัน เพิ่มขึ้น 58.26% คิดเป็นมูลค่ากว่า 107,848 ล้านบาท เพิ่มขึ้น 37.30% เมื่อเทียบกับช่วงเดียวกันของปี พ.ศ. 2553 (กรุงเทพธุรกิจออนไลน์, 2554) สอดคล้องกับรายงานสถานการณ์การผลิตข้าวในปี พ.ศ. 2554/55 ที่คาดการณ์พื้นที่เพาะปลูก 61.95 ล้านไร่ เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2553/54 ในช่วงเวลาเดียวกัน คิดเป็น 4.70% (กรมการข้าว, 2554)

พันธุ์ข้าวที่เกษตรกรนิยมปลูกมากนั้นมีลักษณะดีที่สำคัญหลายประการ อาทิเช่น ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 มีคุณภาพการหุงต้มดีตามความต้องการของผู้บริโภค มีกลิ่นหอม และข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งมีความต้านทานต่อโรค และแมลงที่สำคัญในข้าว รวมถึงการให้ผลผลิตสูงสามารถเพาะปลูกได้ตลอดทั้งปี ถึงแม้ว่าข้าวที่มีลักษณะดีเหล่านี้จะนิยมปลูกกันมาก แต่ปริมาณข้าวที่ผลิตได้ก็ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของประชากรโลกซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในแต่ละปี ประกอบกับพื้นที่เพาะปลูกข้าวที่มีจำกัดเนื่องจากการขยายตัวของชุมชนเมือง รวมถึงการขยายตัวของธุรกิจภาคอุตสาหกรรม การเติบโตของนิคมอุตสาหกรรมต่างๆ นอกจากนี้ความแปรปรวนของสภาพอากาศ หรือภัยธรรมชาติที่ก่อให้เกิดความเสียหายทำให้ได้ผลผลิตข้าวลดลง ซึ่งปัจจุบันแม้ว่าประเทศไทยจะเป็นอันดับหนึ่งในการส่งออกข้าวมากที่สุดในโลกแต่ในข้อเท็จจริงแล้วประเทศไทยกลับได้ผลผลิตข้าวต่ำที่สุดในกลุ่มประเทศผู้ส่งออกข้าวรายใหญ่ด้วยกัน คือ มีผลผลิตข้าวอยู่ที่ 461 กิโลกรัมต่อไร่ ในขณะที่ประเทศคู่แข่งอย่างเวียดนามที่ส่งออกข้าวเป็นอันดับที่สอง รองจากประเทศไทยมีผลผลิตข้าว 875 กิโลกรัมต่อไร่ จีนมีผลผลิตข้าวต่อไร่ 1,050 กิโลกรัม

อินโดนีเซีย 760 กิโลกรัมต่อไร่ และอินเดียมีผลผลิต 520 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมการข้าว, 2554) จากปัญหาผลผลิตข้าวต่ำ พื้นที่เพาะปลูกข้าวมีจำกัด และความแปรปรวนของสภาพอากาศ ดังนั้นการเพิ่มปริมาณผลผลิตต่อพื้นที่ปลูก อาทิเช่น การใช้ข้าวลูกผสมซึ่งประเทศจีนเป็นประเทศแรกในโลกที่คิดค้นวิจัยพัฒนาเป็นผลสำเร็จ (ผู้จัดการออนไลน์, 2554) รวมถึงการใช้พันธุ์ข้าวที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ให้มีจำนวนต้นต่อกอมากสามารถเพิ่มจำนวนรวงต่อกอได้ ซึ่งเป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิตข้าวต่อพื้นที่ปลูกได้ แต่เนื่องจากการใช้ข้าวลูกผสมนั้นเกษตรกรต้องลงทุนซื้อเมล็ดพันธุ์ข้าวใหม่ทุกฤดู ทำให้ต้นทุนการปลูกข้าวสูงขึ้น ในขณะที่การใช้พันธุ์ข้าวที่มีการแตกกอมากเกินไปอาจเป็นแหล่งของโรค และแมลงศัตรูข้าวได้ ซึ่งลักษณะของต้นข้าวที่นักปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้องการคือมีจำนวนต้นต่อกอน้อย ลำต้นแข็งแรง และมีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก ดังนั้นการใช้พันธุ์ข้าวที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มปริมาณผลผลิตต่อพื้นที่ปลูกได้ และสามารถช่วยเหลือเกษตรกรประหยัดต้นทุนในการปลูกข้าวเพราะสามารถเก็บพันธุ์ข้าวไปปลูกในฤดูต่อไปได้ อีกทั้งยังสามารถเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันกับประเทศผู้ค้าข้าวรายอื่นๆ เพื่อให้ประเทศไทยยังคงเป็นผู้นำอันดับหนึ่งในการส่งออกข้าว และมีความมั่นคงของรายได้ของประเทศ

จากรายงานวิจัยการคัดเลือกพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก โดยเก็บรวบรวมข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์พื้นเมือง และข้าวไทยพันธุ์ต่างๆ ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์รวมทั้งหมด 43 พันธุ์ พบว่าข้าวพันธุ์เมืองไทย พันธุ์แปดริ้ว และพันธุ์เมืงมะเขือ มีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ยมากที่สุด คือ 338 266 และ 264 เมล็ด ตามลำดับ (วารกรณ์, 2551) ในขณะที่ข้าวพันธุ์ กข 6 และชัยนาท 1 ที่เกษตรกรนิยมปลูกนั้นมีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 207 (วารกรณ์, 2551) และ 133 (กรมวิชาการเกษตร, 2543) เมล็ดต่อรวง ตามลำดับ ซึ่งข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้งสามพันธุ์นี้สามารถใช้เป็นเชื้อพันธุ์กรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากได้ด้วยวิธีผสมกลับ เพื่อให้ได้ข้าวพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะเหมือนข้าวพันธุ์ กข 6 หรือ ชัยนาท 1 ทุกประการ แต่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากขึ้นโดยเฉลี่ย 20-30% โดยใช้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากเป็นพันธุ์ให้ และใช้ข้าวที่เกษตรกรนิยมปลูกเป็นพันธุ์รับ แต่เนื่องจากการคัดเลือกในแต่ละชั่วการผสมกลับในสภาพแปลงปลูกนั้นต้องอาศัยระยะเวลาอันยาวนาน โดยเฉลี่ยแล้วการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีดังกล่าวต้องใช้เวลานาน 10-15 ปี จึงจะได้พันธุ์ที่ต้องการ เมื่อมีรายงานการค้นพบยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้งสี่ยีน ได้แก่ ยีน *Gn1a*, *SP1*, *Ghd7* และ *WFP* ซึ่งในรายงานได้ศึกษาการทำงานของยีนแต่ละยีนอย่างละเอียด จึงได้แนวความคิดในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้คัดเลือกต้นข้าวที่มีเมล็ดต่อรวงมากในแต่ละชั่วการผสมกลับของโครงการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมาก ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์ข้าวร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยใน

การคัดเลือกนี้ทำให้การปรับปรุงพันธุ์มีประสิทธิภาพ และช่วยลดระยะเวลาในขั้นตอนการคัดเลือก ทำให้ประสบความสำเร็จได้ในระยะเวลาเร็วกว่าการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรต้นแบบ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากได้ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. หาเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน (target linked marker) ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง ได้แก่
 - 1.1 เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*
 - 1.2 เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPPI*
 - 1.3 เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Ghd7*
 - 1.4 เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *WFP*
2. ตรวจสอบ และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง
3. สร้างประชากรเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากรที่สร้างขึ้น
 - 3.1. สร้างประชากรของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว และคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ได้แก่ ประชากร F_1 , F_2 , F_3 , BC_1F_1 , BC_1F_2 , BC_2F_1 , BC_2F_2 , BC_3F_1 , BC_3F_2 , BC_4F_1 และ BC_4F_2
 - 3.2. สร้างประชากรของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชันทา 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพร และคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ได้แก่ ประชากร F_1 , F_2 , F_3 , BC_1F_1 , BC_1F_2 , BC_2F_1 , BC_2F_2 , BC_3F_1 , และ BC_3F_2
4. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรตัวอย่างที่สร้างขึ้น ได้แก่

4.1. ประชากรของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้พันธุ์แปดริ้ว คือ ประชากร F_2 และ BC_2F_2

4.2. ประชากรของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้พันธุ์เมืองไพร คือ ประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ซึ่งเป็นยีนควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าว เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว และ ประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพร
2. ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว
3. ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพร
4. สามารถนำเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ซึ่งควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่แสดงความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรตัวอย่าง ไปพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากได้ต่อไป
5. ประชากรที่สร้างได้จากกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว และกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพร สามารถนำไปใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์กับเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงตำแหน่งอื่นๆ ได้ต่อไป นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากได้ต่อไป

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 ชนิดเป็นข้าวที่นิยมปลูกเพื่อบริโภค 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-ฮิสซัม-พม่า และยูนาน จนถึงบริเวณลุ่มแม่น้ำเหลืองของจีน และจากอินโดจีนเข้าสู่บริเวณตอนล่างของกลุ่มน้ำแยงซีเกียง มีการปรับตัวจนได้สายพันธุ์ที่เหมาะสมในการปลูกเขตอบอุ่น ต่อมาจึงแพร่กระจายไปยังเกาหลี และญี่ปุ่นเมื่อประมาณ 300 ปีก่อนคริสตกาล

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

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

สำหรับประเทศไทยนั้น มีภูมิอากาศ และภูมิประเทศที่เอื้อให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว โดยมีข้าวป่าขามปี (*O. rufipogon* Griff.) ซึ่งเป็นบรรพบุรุษของข้าวปลูกเอเชีย และข้าวป่าเด็ว (*O. nivara* Sharma) แพร่กระจายอยู่ทั่วประเทศ นอกจากนี้ยังมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ข้าวปลูก ซึ่งทางสถาบันวิจัยข้าวได้รวบรวมพันธุ์ข้าวป่า และ

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

พฤกษศาสตร์ทั่วไปของข้าว

การเจริญเติบโต และโครงสร้างของข้าว

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

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

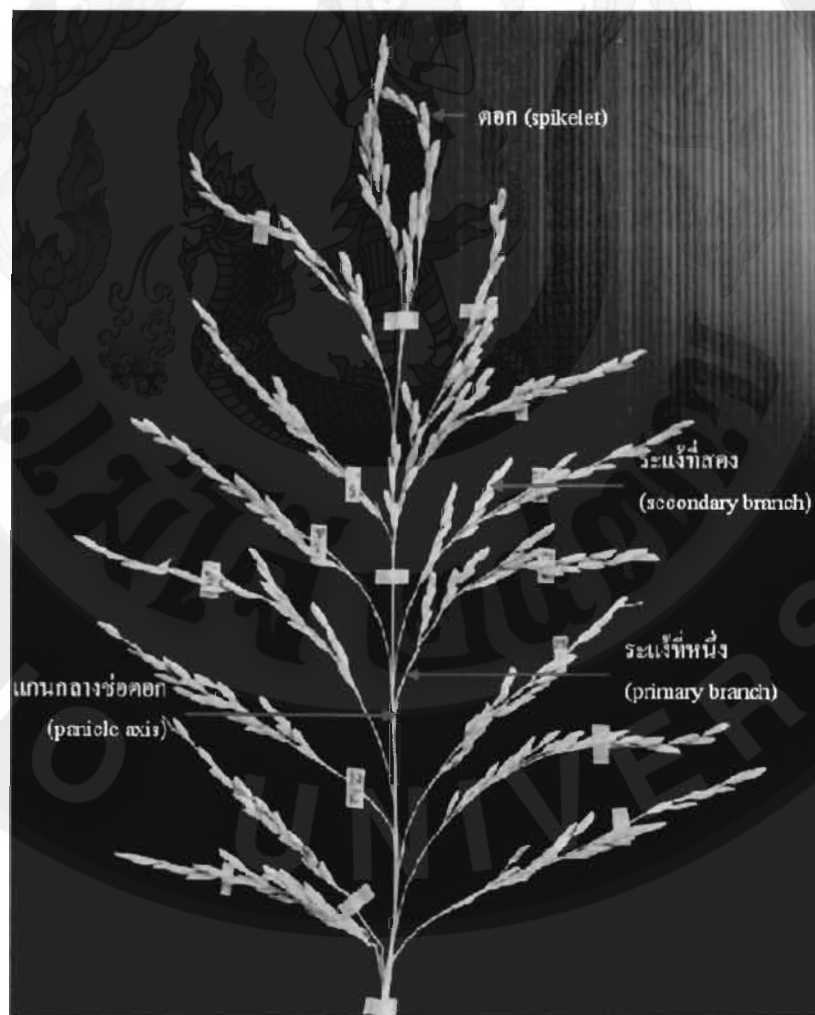
1.2 ลำต้น (culm) ลำต้นจะทำหน้าที่พุงใบ ดอก และรวง ลำต้นข้าวมีลักษณะเป็นท่อน ภายในกลวง เกิดจากชุดของข้อ (node) และปล้อง (internode) ที่ต่อเรียงสลับกันโดยมีผนังกันข้อ (node septum) กัน บริเวณข้อจะเป็นที่เกิดของใบ และตา (bud) ตาที่ข้ออื่นๆ บริเวณโคนต้นจะเจริญเติบโตแตกกอ (tiller) เป็นต้นใหม่ ซึ่งข้าวแต่ละพันธุ์จะมีความสามารถในการแตกกอไม่เท่ากัน

1.3 ใบ (leaf) ใบของข้าวเป็นชนิดใบเดี่ยว (single leaf) ลักษณะแบนบาง และยาวคล้ายหอก ใบข้าวเกิดจากข้อของลำต้น เรียงสลับกันเป็นสองแถว ประกอบด้วย ติ้วใบ (leaf blade) กาบใบ (leaf sheath) หูใบ (stipule) หรือเยื่อเกี่ยวพันน้ำฝน (ligule) และเขี้ยวกันแมลง (auricle) ใบข้าวใบแรกที่เกิดจากลำต้นหลัก (main culm) จะเป็นใบที่ไม่สมบูรณ์มีลักษณะคล้ายกาบใบ ใบรองจะอยู่บนสุดของต้นข้าว ได้ช่อดอกข้าว หรือรวงข้าว ทำหน้าที่สร้างอาหารในระยะที่ข้าวสร้างรวงและพัฒนาเป็นเมล็ด

2. การเจริญเติบโตทางการสืบพันธุ์ (reproductive growth phase) เริ่มตั้งแต่วันที่ต้นข้าวสร้างดอกอ่อนจนถึงวันที่รวงเริ่มโผล่ออกจากใบธง ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ระยะย่อย คือ ระยะข้าวแตงตัว 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 ระวังที่หนึ่ง หรือแขนงที่หนึ่ง (primary branch) และบนระวังที่หนึ่งจะมีกิ่งเล็กๆ เรียกว่า ระวังที่สอง หรือแขนงที่สอง (secondary branch) ในข้าวพันธุ์ที่มีจำนวนระวังมาก แสดงว่ามีดอกข้าวในรวงจำนวนมากกว่าข้าวพันธุ์ที่มีจำนวนระวังน้อยกว่า ลักษณะของช่อดอก หรือรวงข้าว 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) เพศเมียมีปูดอองเกสร (stigma) จำนวน 2 อัน และรังไข่ (ovary) ซึ่งเชื่อมกันด้วยก้านปูดอองเกสร (style) ดอกข้าวจัดเป็นดอกไม้สมบูรณ์ (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 หากบีบเมล็ดข้าวจะพบว่า มีน้ำแป้งสีขาวไหลออกจากเมล็ด เรียกว่าระยะน้ำนมข้าว และเมื่อเวลาผ่านไป 15-20 วัน ส่วนที่บีบเป็นน้ำนั้นจะเกาะตัวเป็นก้อนนูนๆ เมื่อครบกำหนดประมาณ 30-35 วัน หลังจากการปฏิสนธิข้าวจะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวได้ (อัมมาร, 2533)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าว

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

ปัจจัยทางด้านดิน

ดินที่เหมาะสมในการปลูกข้าวควรมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดี สามารถเก็บกักน้ำไว้ได้เป็นเวลานาน มีความเป็นกรดต่ำ (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

ในการปลูกข้าวมีความสำคัญตั้งแต่ระยะการงอกของเมล็ดไปจนถึงประมาณก่อนการเก็บเกี่ยว เนื่องจากต้นข้าวมีส่วนที่เป็นน้ำอยู่ประมาณร้อยละ 80 ซึ่งน้ำจะเป็นตัวละลายธาตุอาหารเพื่อให้รากดูดซึมเข้าสู่ต้นข้าวเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต หากต้นข้าวขาดน้ำโดยเฉพาะในช่วงระยะตั้งแต่ข้าวตั้งท้องจนถึงก่อนเก็บเกี่ยวประมาณ 10 วัน เมล็ดข้าวจะลีบ เปราะ และข้าวจะเป็นท้องไข นอกจากนี้น้ำในข้าวยังช่วยป้องกัน และกำจัดวัชพืชตระกูลหญ้าได้ด้วย

ชนิดของพันธุ์ข้าว และลักษณะประจำพันธุ์

ชนิดของพันธุ์ข้าวนี้มีหลายชนิด สามารถแบ่งได้ตามประเภทของการจำแนกได้แก่ (อรอนงค์, 2547)

1. จำแนกตามคุณสมบัติทางเคมีภายในเมล็ด

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

1.2 ข้าวเหนียว (glutinous rice) คือ พันธุ์ข้าวที่เมล็ดข้าวมีส่วนประกอบด้วย อมิโลเพกตินถึง 95 เปอร์เซ็นต์ แต่มีปริมาณ อมิโลสน้อยมากหรือไม่มีเลย

2. พันธุ์ข้าวแบ่งตามนิเวศวิทยาของการปลูก

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

2.1.1 ข้าวนาสวนน่าน้ำฝน (rain-fed lowland rice) คือ พันธุ์ข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี กล่าวคือ ต้องอาศัยน้ำฝนตามธรรมชาติในการเพาะปลูก และไม่สามารถควบคุมปริมาณน้ำได้ขึ้นอยู่กับ การกระจายตัวของฝน สำหรับประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกข้าว นาน้ำฝนประมาณ 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 ซึ่งไม่มีน้ำขังหรือในสภาพไร่ 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) ซึ่งองค์ประกอบแต่ละอย่างวัดได้จากบางช่วงระยะเวลาในระหว่างการพัฒนาของข้าว (Matsushima, 1970 cited by Yoshida, 1981) ปริมาณผลผลิตสูงสุดที่จะได้นั้นสามารถประเมินในขั้นต้นจากพันธุ์ข้าว และสภาพแวดล้อม การคำนวณองค์ประกอบผลผลิตจะให้ข้อมูลสำหรับพิจารณาเป้าหมายของผลผลิต รวมถึงใช้สำหรับเปรียบเทียบผลต่างกับพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูงซึ่งทำการวัดในสภาพแวดล้อมเดียวกัน องค์ประกอบผลผลิตของข้าว ประกอบด้วย (Yoshida, 1981)

1. จำนวนช่อดอก หรือรวงข้าวต่อหนึ่งตารางเมตร (panicle number/m²)

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

2. จำนวนเมล็ดข้าวต่อรวง (spikelet number/panicle)/จำนวนเมล็ดข้าวต่อหนึ่ง ตารางเมตร (spikelet number/m²)

จำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงสามารถวัดได้ในระยะที่มีการเจริญของระบบสืบพันธุ์ โดยในระยะแรกสามารถวัดจากการพัฒนาของแขนงย่อย หรือระแงะ และดอกข้าว หลังจากระยะ การพัฒนาของดอกข้าวแล้วดอกข้าวบางดอกจะไม่มีการพัฒนาเป็นเมล็ด (degenerate) ดังนั้น จำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงที่ได้ในระยะที่ช่อดอกโผล่จากกาบใบ (heading) หรือระยะที่ข้าวสุกแก่แล้ว จึงเป็นผลต่างระหว่างจำนวนของดอกข้าวที่พัฒนาเป็นเมล็ดข้าว และจำนวนของดอกข้าวที่ไม่ พัฒนาเป็นเมล็ด นอกจากการวัดปริมาณผลผลิตได้จากจำนวนเมล็ดต่อรวงแล้วสามารถวัดจาก จำนวนเมล็ดต่อพื้นที่ได้เช่นกัน ซึ่งจำนวนเมล็ดต่อรวง หรือจำนวนเมล็ดต่อพื้นที่นั้นที่เป็นผลมา จาก

2.1 วัฒนธรรมการปลูกข้าว การเว้นระยะห่างการปลูก ความหนาแน่นของต้น กล้า และการดูดซึมไนโตรเจน

2.2 ลักษณะการเจริญของข้าว การแตกกอ หรืออัตราการงอกของเมล็ด

2.3 ลักษณะภูมิประเทศและสภาพภูมิอากาศ แสงอาทิตย์

ซึ่งปัจจัยต่างๆ มีความสัมพันธ์กัน เช่น ในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำต้นข้าวจะดูดซึม ไนโตรเจนได้ดี โดยไนโตรเจนจะช่วยในการสร้างช่อดอกทำให้มีจำนวนเมล็ดมากขึ้น แต่ในขณะ ที่อุณหภูมิต่ำก็จะมีผลยับยั้งการเจริญในระยะสืบพันธุ์ทำให้เกิดความเป็นหมัน (sterility) ได้ด้วย ดังนั้นจึงอาจเสริมฟอสฟอรัสแทนไนโตรเจนในช่วงที่อุณหภูมิต่ำ และต้นข้าวต้องการแสงอาทิตย์ แตกต่างกันในช่วงระยะการเจริญต่างๆ โดยเฉพาะในช่วงการเจริญของระยะสืบพันธุ์ การได้รับ แสงอาทิตย์อย่างเพียงพอจะช่วยให้ปริมาณผลผลิตมากขึ้น จากปัจจัยต่างๆ ที่กล่าวมาในสภาวะที่ ให้ผลผลิตดีที่สุดเมื่อระยะห่างการปลูกข้าว และระดับของไนโตรเจนที่เหมาะสม จำนวนเมล็ดต่อ พื้นที่จะขึ้นอยู่กับปริมาณแสงอาทิตย์ และอุณหภูมิในช่วงการเจริญของระยะสืบพันธุ์

3. เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดี (percentage of filled spikelets)

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

3.1 ปริมาณไนโตรเจนที่ต้นข้าวได้รับ ซึ่งข้าวบางพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ด ข้าวดีต่ำกว่าข้าวอีกพันธุ์ในสภาวะที่มีไนโตรเจนปริมาณมาก

3.2 การหักล้ม เมื่อลำต้นข้าวหักล้มเสียหายย่อมส่งผลต่อเนื้อเยื่อลำเลียงให้ทำงานได้ไม่ดีปริมาณสารอาหารที่ได้รับในระยะการเจริญของเมล็ดจึงลดลง ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวที่ลดลงด้วยเช่นกัน

3.3 อุณหภูมิต่ำ เมื่อสภาพอากาศมีอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน ทำให้เปอร์เซ็นต์ความเป็นมันสูง โดยเฉพาะในระยะที่ช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบซึ่งพบได้ในเขตพื้นที่เหนือเส้นละติจูด หรือในช่วงฤดูแล้งของประเทศโซนร้อน

3.4 อุณหภูมิสูง ที่อุณหภูมิสูงระยะการเจริญของเมล็ดข้าวจะถูกจำกัดให้สั้นลง และเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส จะมีเปอร์เซ็นต์ความเป็นมันสูงด้วย

3.5 ลม ความแรงของลมทำให้ความชื้นลดลง ส่งผลให้เกิดความเป็นมันได้ในระยะดอกบาน นอกจากนี้ยังทำให้ต้นข้าวหักล้มเสียหายได้

3.6 ดินเค็ม ในสภาพดินเค็มมากเปอร์เซ็นต์การเกิดความเป็นมันสูง

3.7 ความแห้งแล้ง เมื่อเกิดความแห้งแล้ง หรือขาดน้ำในช่วงระยะการออกดอกของข้าวนาสวนน่าน้ำฝน และข้าวไร่ทำให้เปอร์เซ็นต์ความเป็นมันสูง

เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวที่สามารถประเมินได้ในช่วงระหว่างก่อนที่ช่อดอกโผล่จากกาบใบจนกระทั่งช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบแล้ว กล่าวคือเมื่อสภาพอากาศไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูง หรือต่ำเกินไปในช่วงการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ก็จะชักนำให้เกิดความเป็นมันได้ นอกจากนี้สภาพอากาศที่ไม่เหมาะสมในช่วงการสุกแก่ของข้าวก็จะมีผลยับยั้งการเจริญของดอกข้าวทำให้กลายเป็นเมล็ดลีบ (unfilled spikelets)

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

การวัดปริมาณผลผลิตข้าวจากน้ำหนักของเมล็ดข้าวจำนวน 1,000 เมล็ด เป็นค่าที่แน่นอน เนื่องจากขนาดของเมล็ดข้าวถูกจำกัดด้วยขนาดของเปลือกข้าว

จากองค์ประกอบผลผลิตของข้าวสามารถประเมินปริมาณผลผลิตข้าวได้จาก

$$\text{Grain yield (t/ha)} = \text{panicle number/m}^2 \times \text{spikelet number/panicle}$$

$$\times \% \text{ filled spikelets} \times 1,000 \text{ grain weight (g)} \times 10^{-5}$$

หรือ

$$\text{Grain yield (t/ha)} = \text{spikelet number/m}^2 \times \% \text{ filled spikelets}$$

$$\times 1,000 \text{ grain weight (g)} \times 10^{-5}$$

เมื่อกำหนดให้

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

panicle number/m² คือ จำนวนช่อดอก หรือรวงข้าวต่อตารางเมตร

spikelet number/panicle คือ จำนวนเมล็ดข้าวต่อรวง ซึ่งนับรวมเมล็ดดี และเมล็ดลีบ

spikelet number/m² 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)

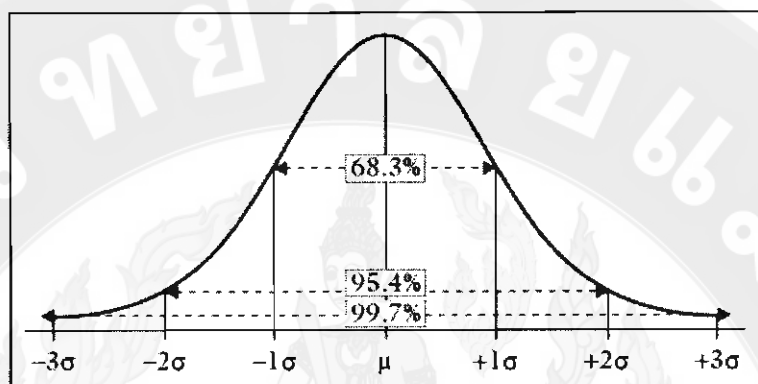
จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบผลผลิตข้าว และปริมาณผลผลิตพบว่าจำนวนเมล็ดข้าวต่อหนึ่งตารางเมตรเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตมากกว่าเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดี และน้ำหนักของเมล็ดข้าวจำนวน 1,000 เมล็ด กล่าวคือปริมาณผลผลิตเพิ่มเมื่อจำนวนเมล็ดข้าวต่อหนึ่งตารางเมตรเพิ่มขึ้น ขณะที่เปอร์เซ็นต์ของเมล็ดข้าวดีจะมีผลต่อปริมาณผลผลิตมากกว่าจำนวนเมล็ดข้าวต่อหนึ่ง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

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

การศึกษาลักษณะเชิงปริมาณ

ลักษณะทางฟีโนไทป์ที่แตกต่างกันชัดเจนสามารถแยกจัดเป็นกลุ่ม มีความแปรปรวนของฟีโนไทป์แบบไม่ต่อเนื่อง (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) เป็นรูปประฆังคว่ำ ดังภาพ 2 (ดาวรุ่ง, 2546)



ภาพ 2 แสดงการกระจายตัวปกติเป็นรูปประฆังคว่ำ

ที่มา: Acquah (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 และศึกษาพันธุลักษณะปริมาณแต่ละตำแหน่ง เรียกยีนเหล่านี้ว่า quantitative trait loci หรือ QTLs (สุภาวดี, 2550)

ซึ่ง QTLs จะประกอบด้วยกลุ่มยีนหลัก (major QTLs) จำนวนหนึ่ง และแต่ละตำแหน่งจะมีผลต่อลักษณะอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังมีกลุ่มยีนรอง (minor QTLs) ซึ่งมีจำนวนมากว่ากลุ่มยีนหลัก 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) ในการวิเคราะห์สามารถตรวจสอบได้ว่า QTL อยู่ในลิแกจกับเครื่องหมายหรือไม่ แต่ไม่สามารถประมาณตำแหน่งและผลของ QTL ได้

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

2.1 Simple Interval Mapping (SIM) พัฒนาขึ้นโดย Lander และ Botstein ในปี ค.ศ.1989 เป็นการใช้อำนาจเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีนในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์กับ 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 BC₂ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ป่า (*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

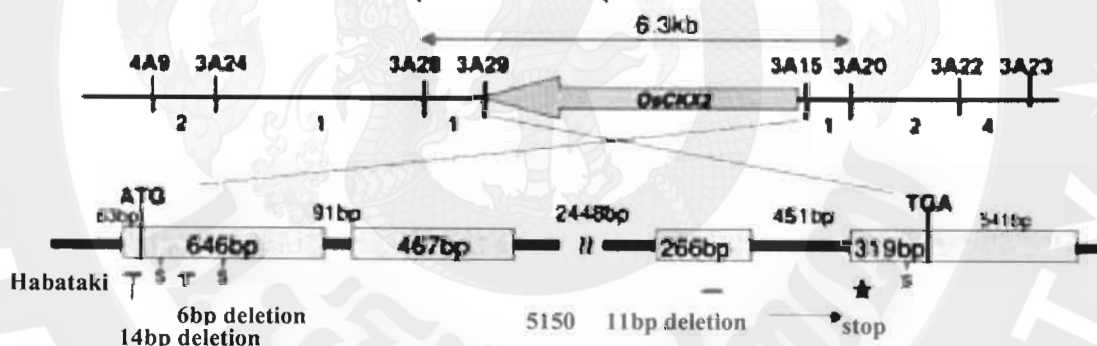
จำนวนดอกข้าวต่อรวง (spikelets per panicle; *spp*) พบ 4 QTLs บนโครโมโซมที่ 1 6 และ 9 ลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อต้น (spikelets per plant; *spl*) พบ 1 QTLs บนโครโมโซมที่ 1 ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง (grains per panicle; *gpp*) พบ 5 QTLs บนโครโมโซมที่ 1 4 8 และ 12 ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อต้น (grains per plant; *gpl*) 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 จากรายงานวิจัยดังกล่าวได้ศึกษาความสัมพันธ์ของฮอร์โมนไซโตไคนิน ออกซิเดส (Cytokinin oxidase/dehydrogenase; CKX, OsCKX2) ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณผลผลิตของข้าวด้วยการทำแผนที่ยีน พบว่าลักษณะเชิงปริมาณความสูงของต้นข้าว (plant height; *Ph*) ถูกควบคุมด้วยยีนจำนวน 4 ตำแหน่ง โดยยีน *Ph1* มีผลต่อความสูงของต้นข้าวมากที่สุด ซึ่งตำแหน่งของยีน *Ph1* อยู่ใกล้กับยีน *Semidwarf1*; *Sd1* เมื่อเกิดการขาดหายของยีน *Sd1* ทำให้ได้ข้าวต้นเตี้ย สำหรับยีนที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณจำนวนเมล็ดข้าว (grain number; *Gn*) พบจำนวน 5 ตำแหน่ง ซึ่งยีน *Gn1* บนโครโมโซมที่ 1 มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเมล็ดข้าวมากที่สุด โดยในส่วนของยีน *Gn1* นี้ประกอบด้วยยีน *Gn1a* และ *Gn1b* จากการศึกษาตำแหน่ง *Gn1a* พบว่ามีบริเวณที่มีลำดับเบสเหมือนกับลำดับเบสของยีน *OsCKX2* ซึ่งเป็นยีนที่ผลิตฮอร์โมนไซโตไคนิน ออกซิเดส/ดีไฮโดรจีเนส โดยยีนนี้ประกอบด้วยส่วนที่สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีน (exon) ได้ 4 ส่วน และส่วนที่ไม่มีการแปลรหัส (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 ขาดหายไปในช่วงพันธุ 5150 ซึ่งเป็นข้าวที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากเช่นกัน

โดยงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างยีน *OsCKX2* และยีน *Gn1a* ซึ่งควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงด้วยการใช้พืชแปลงพันธุ์ (transgenic plant) ให้มีการแสดงออกของยีน *OsCKX2* ในระดับต่างๆ กัน กล่าวคือมีการเพิ่มส่วนของยีน *OsCKX2* ในพืชแปลงพันธุ์ทำให้มีการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้นเป็นสอง หรือสามเท่า เปรียบเทียบกับพืชแปลงพันธุ์ที่ได้รับส่วนของยีน *OsCKX2* ในลักษณะกลับทิศทางจึงไม่สามารถผลิตฮอร์โมนไซโตไคนิน ออกซิเดส/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% จากข้อมูลที่ได้แสดงให้เห็นว่า จำนวนเมล็ดที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากยีน *Gn1* และยีน *sd1* มีความสัมพันธ์กับความสูงของต้น เมื่อ นำข้าวสายพันธุ์คู่แฝดทั้งสองลักษณะมาผสมพันธุ์กัน (NIL-*sd1*×NIL-*Gn1*) ลูกผสมที่ได้มีจำนวน เมล็ดต่อรวงสูงกว่าข้าวพันธุ์ Koshihikari 26% และมีลำต้นเตี้ยกว่า 18% ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบข้อมูล จำนวนเมล็ดที่ได้ของ NIL-*Gn1* และ NIL-*sd1*×NIL-*Gn1* พบว่ามีจำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงลดลงจาก 237 เมล็ด เป็น 207 เมล็ดต่อรวง เนื่องมาจากลักษณะดังกล่าวถูกควบคุมด้วยยีน *Gn1* และ *sd1* ร่วม ด้วย จากข้อมูลทั้งหมดสรุปได้ว่ายีน *Gn1* มีความสำคัญ และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการเพิ่ม จำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงได้ (Ashikari *et al.*, 2005)

มีรายงานเพิ่มเติมในปี 2009 ซึ่งได้ทำการศึกษา และนำข้อมูลทางพันธุกรรมของ ยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง (*Gn1a*) ยีนที่ควบคุมลักษณะความยาว และน้ำหนักของ เมล็ดข้าว (*GS3*) และยีนควบคุมลักษณะความกว้าง และน้ำหนักของเมล็ดข้าว (*GS2*) มาพัฒนา เครื่องหมายโมเลกุลชนิด sequence-tagged site (STS) เพื่อช่วยคัดเลือกในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ มีปริมาณผลผลิตมากขึ้น โดยการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวอาศัยความแตกต่างของ พันธุกรรมที่เกิดจากการกลายพันธุ์ในบริเวณต่างๆ ของยีน ยีน *Gn1a* มีลำดับเบสขาดหายไป 16 เบสในบริเวณ 5'-untranslated region ของข้าวพันธุ์ Habataki และมีลำดับเบสขาดหายไป 11 เบส บริเวณที่มีการแปลรหัสของข้าวพันธุ์ 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 คู่เบส ตามลำดับ รวมถึงสามารถแยกความแตกต่างได้เมื่อนำไปทดสอบกับข้าวจำนวน 156 พันธุ์ ประกอบด้วยข้าวอินดิกา 35 พันธุ์ และจาปอนิกา 121 พันธุ์ ซึ่งรวบรวมได้จากหลายพื้นที่ แต่ใน ขณะเดียวกันเครื่องหมายโมเลกุล *Gn1a*-M2 จะไม่สามารถแยกความแตกต่างของข้าวทั้ง 156 พันธุ์ ได้ อาจเนื่องมาจากการกลายพันธุ์ของยีน *Gn1a* ของข้าว 5150 ทำให้ไม่พบลำดับเบสดังกล่าวใน ข้าวทั้ง 156 พันธุ์

จากการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสในส่วน exon ที่สองของยีน *GS3* ทำให้การ แปลรหัสเปลี่ยนไปจากลำดับเบส TGC ที่เข้ารหัสของ cysteine ในกลุ่มข้าวเมล็ดสั้น เป็น TGA ซึ่งเป็นลำดับเบสที่เข้ารหัสสิ้นสุดการแปลรหัสในกลุ่มข้าวเมล็ดยาว (Fan *et al.*, 2006 cited by Yan *et al.*, 2009) ซึ่งในบริเวณที่มีความแปรปรวนนี้มีบริเวณที่จำเพาะต่อเอนไซม์ *PsiI* ดังนั้นจึงพัฒนา เครื่องหมายโมเลกุลชนิด 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* (GTIAAA) 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 เมล็ดเมื่อปลูกที่ Yangzhou ประเทศจีน ซึ่งจำนวนเมล็ดลดลงประมาณ 35% และจากการทดลองโดยใช้ตัวอย่างประชากร chromosomal single segment line (CSSL) (Sasanishiki/Habataki) ในการศึกษาผลของยีน *Gn1a* สรุปได้ว่ายีน *Gn1a* มีผลต่อข้าวกลุ่มจาปอนิกาชัดเจนกว่าข้าวกลุ่มอินดิกา และมีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง ถึงแม้ว่าลักษณะดังกล่าวอาจได้รับอิทธิพลจากปัจจัยแวดล้อมได้ง่ายก็ตาม (Yan *et al.*, 2009)

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

การศึกษายีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง (spikelets per panicle; *spp*) ซึ่งเป็นลักษณะหนึ่งในองค์ประกอบผลผลิตของข้าว และมีผลต่อปริมาณผลผลิตอย่างมาก มีรายงานการศึกษาในปี ค.ศ. 1996 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด RFLP (restriction fragment length polymorphism) ซึ่งได้ทำการศึกษา QTLs ของปริมาณผลผลิตในข้าวอินดิกา 2 คู่ผสม (Tesana 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 cited 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 ของข้าวขึ้นอยู่ในบริเวณตำแหน่งใกล้เคียงกันบนแขนข้างสั้นของโครโมโซมที่ 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 เมื่อทำนายยีนในบริเวณดังกล่าวพบว่าอาจเป็นบริเวณของยีน 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 ควบคุมข้างด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด 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 ILs พบว่าตำแหน่งของ *qSPP7* อยู่ในบริเวณเดียวกัน นอกจากนี้ QTLs ในบริเวณดังกล่าวยังมีผลต่อลักษณะอื่นๆ ได้แก่ จำนวนผลผลิตต่อต้น (grain yield per plant; YD) น้ำหนักเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ด (1,000 grain weight; GW) จำนวนต้นตอกอ (tiller per plant; TPP) และลักษณะอัตราส่วนการเป็นเมล็ด (seed setting ratio; SR) (Xing *et al.*, 2008)

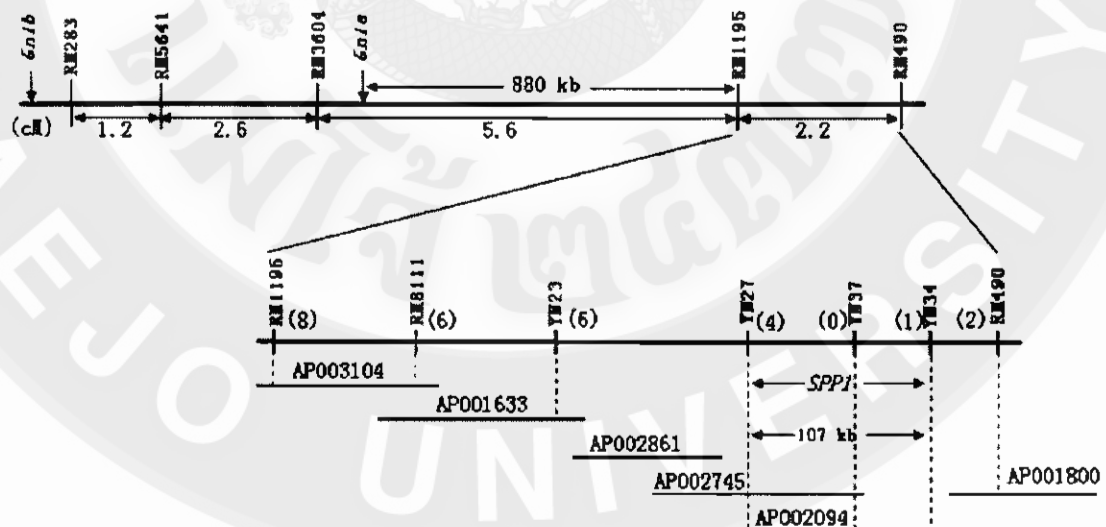
ในปี ค.ศ. 2008 มีรายงานการศึกษา QTLs ที่ควบคุมลักษณะความสูง (PH) วันที่ช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบ (HD) และจำนวนผลผลิต ซึ่งวัดได้จากจำนวนต้นตอกอ (number tillers per plant) จำนวนเมล็ดต่อรวง (grains per panicle) และน้ำหนักเมล็ด (grain weight) ซึ่งมีการศึกษาถึงหน้าที่การทำงานแล้วหลายชิ้น พบว่ามีส่วนมากเกี่ยวข้องกับลักษณะความสูงของข้าว 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 bZIP protein FD โดยในข้าว CO คือ *Hd1* และ FT คือ *Hd3a* นอกจากนี้ยังมี *Hd6* ซึ่งแปลรหัสได้ α -subunit ของโปรตีน kinase CK2 และ *Ehd1* ซึ่งเป็นรหัสของ B-type response regulator จากรายงานการศึกษา QTLs ของลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง (SPP) ในประชากร RIL พบ QTLs บนโครโมโซมที่ 7 ขนานข้างด้วยเครื่องหมายโมเลกุลชนิด 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* เพื่อศึกษาคำแหน่งของ *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 ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบในผลิตภัณฑ์ของยีน 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 และเมื่อเปรียบเทียบกรดอะมิโนที่ได้กับฐานข้อมูลของข้าวพบว่าลำดับเหมือน 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*) ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง (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* อยู่ใกล้กับเครื่องหมาย 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 *Gnla* และ *Gnlb* ที่ได้ศึกษาและทราบว่าเกี่ยวข้องกับการสร้างเอนไซม์ cytokinin oxidase/dehydrogenase (OsCKX2) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง (Ashikari *et al.*, 2005 cited by Liu *et al.*, 2009) รายงานการศึกษา QTLs (*gpa7*) ที่ควบคุมลักษณะ SPP บนโครโมโซมที่ 7 สามารถจำกัดบริเวณที่คาดว่าจะจะเป็นยีนได้ที่ขนาด 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 *Gnla* อยู่บริเวณเดียวกันนี้ด้วย 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* *Gnla* *Gnlb* เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR และเครื่องหมายที่จำเพาะ (InDel marker) ซึ่งอยู่ใกล้กับยีน *SPP1* ที่ขนาด 107 Kb

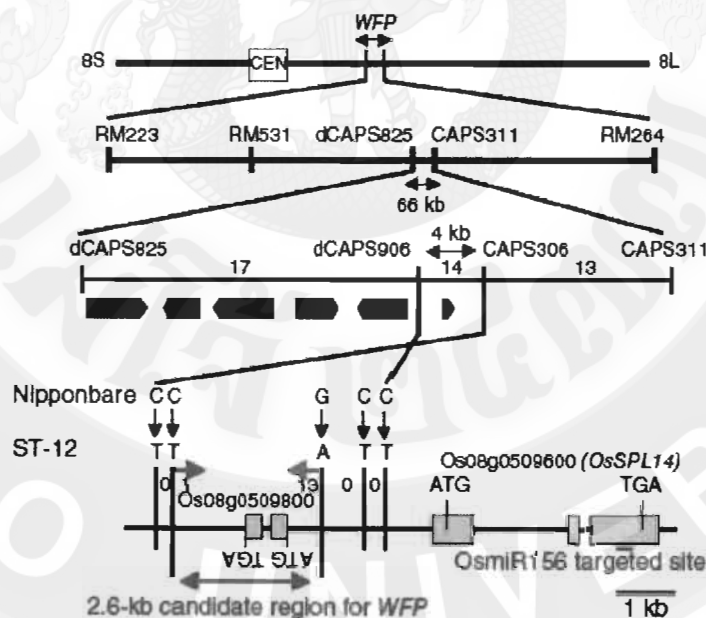
ที่มา: Liu *et al.* (2009)

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

ยีน *WFP* (wealthy farmer's panicle)

ล่าสุดในปี ค.ศ. 2010 มีรายงานการศึกษา ยีน *WFP* (wealthy farmer's panicle) ซึ่งแปลรหัสได้โปรตีน OsSPL14 (squamosa promoter binding protein-like 14; IPA1) จากรายงานพบว่าเมื่อมีการแสดงออกของยีนมากในระยะสืบพันธุ์จะช่วยสนับสนุนให้มีการแตกแขนงหรือระแงะ 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* เมื่อทำการศึกษาลำดับเบสแล้วพบว่าการกลายพันธุ์เหมือนอัลลีลของข้าวพันธุ์ Habataki จึงสรุปว่า QTL ที่พบบนโครโมโซมที่ 1 นั้นเป็นผลจากยีน *Gn1a* และเมื่อทำการศึกษา ยีน *WFP* โดยจำกัดพื้นที่ของบริเวณที่คาดว่าจะเป็ยีนที่ตำแหน่ง Os08g0509800 ของข้าวทั้งสองพันธุ์พบว่าไม่แตกต่างกันถึงแม้ว่าจะมีลำดับเบสต่างกัน (single nucleotide polymorphisms; SNPs) 5 ตำแหน่ง เมื่อศึกษาในบริเวณใกล้เคียงคือตำแหน่ง Os08g0509600 ซึ่งเป็นตำแหน่งของยีน *OsSPL* เป็นรหัสของ plant specific transcription factor ของโปรตีน OsSPL14 ยังคงไม่พบความแตกต่างเช่นกัน เมื่อศึกษาด้วยวิธี Quantitative RT-PCR พบว่าการแสดงออกในข้าวพันธุ์ 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 พืชแปลงพันธุ์ทั้งสองให้จำนวนระแงะมากกว่าข้าว Nipponbare ที่เป็นชุดควบคุม จึงสรุปว่ายีน *OsSPL14* ซึ่งอยู่ใน QTL ของยีน *WFP* ทำหน้าที่ควบคุมการแตกแขนง และจำนวนระแงะของข้าว

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 *IPAI* (ideal plant architecture 1) หรือ ยีน *OsSPL14* หรือ ยีน *WFP* (wealthy farmer's panicle) ซึ่ง microRNA OsmiR156 นั้นมีผลต่อโครงสร้างของต้นข้าว ได้แก่ ความสูง จำนวนต้นตอก และลักษณะของรวงข้าว โดยศึกษา QTL ของยีน *IPAI* ในประชากร BC₂F₂ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ Taichung Native 1 (TN1) และพันธุ์ Hui7 ซึ่งเป็นข้าวที่มีจำนวนต้นตอกมากมีอัลลีล *OsSPL14*^{IPAI} กับข้าวพันธุ์ Shaoniejing (SNJ) ซึ่งมีจำนวนต้นตอกน้อยมีอัลลีล *OsSPL14*^{ppa1} พบว่าไม่มีการกระจายตัวของลักษณะความสูง จำนวนต้นตอก และลักษณะของรวงข้าวในประชากรผสมกลับ จึงสันนิษฐานว่าความแตกต่างของลักษณะต่างๆ ของโครงสร้างต้นข้าวทั้งสามพันธุ์นั้นควบคุมด้วยยีนหนึ่งตำแหน่ง เมื่อทำการวิเคราะห์พันธุกรรมแล้วพบว่ายีน *IPAI* เป็น semidominant QTL กล่าวคือมีการแสดงออกของลักษณะความสูง จำนวนต้นตอก และลักษณะของรวงอยู่กึ่งกลางระหว่างต้นที่เป็นโฮโมไซกัสมีอัลลีล *OsSPL14*^{IPAI/ppa1} จากนั้นจึงทำการศึกษาคำแหน่งของยีน *IPAI* โดยใช้ลักษณะจำนวนต้นตอกในการทำแผนที่ยีน 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) จากการศึกษาสามารถจำกัดบริเวณที่คาดว่าจะเป็ยีน *IPAI* ได้ที่ขนาด 78 กิโลเบสระหว่างเครื่องหมายที่พัฒนาขึ้นใหม่ คือ M4 และ M5 ทำนายว่ามียีนอยู่ในบริเวณดังกล่าว 12 ยีน เมื่อศึกษาลำดับเบสของทั้ง 12 ยีน ในข้าวพันธุ์ SNJ พบว่ามีการกลายพันธุ์ที่ลำดับเบสหนึ่งตำแหน่งใน exon 3 ของยีน *OsSPL14* (LOC_Os08g39890; RAP ID Os08g0509600) เมื่อเปรียบเทียบลำดับเบสกับข้าว Nipponbare ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของเบสที่หนึ่งตำแหน่งนี้ทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนจาก ลิวซีนกลายเป็นไอโซลิวซีน นอกจากนี้ยังพบการกลายพันธุ์ในลำดับเบสของยีน *OsSPL14* ในข้าวจาปอนิกาพันธุ์ Ri22 ซึ่งมีลักษณะจำนวนต้นตอกเหมือนกับข้าวพันธุ์ SNJ ขณะที่ไม่พบการกลายพันธุ์ในข้าว TN1 จึงกล่าวได้ว่าารกลายพันธุ์ในลำดับเบสของยีน *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 โคลนที่สุ่มคัดเลือกมาวิเคราะห์ ลำดับเบส มี 13 โคลน ที่ปลายด้าน 5' ของชิ้นส่วนที่ถูกตัดต่ออยู่บริเวณตรงกลางของ 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*^{pa1} ของข้าวพันธุ์ SNJ พบว่ามีการสะสมของ mRNA ที่ได้จากการถอดรหัสของยีน *OsSPL14* เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับต้นที่มีอัลลีล *OsSPL14*^{PA1} และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ พบว่าสายพันธุ์คู่แฝดของข้าวพันธุ์ Hui7 ที่มีอัลลีล *OsSPL14*^{pa1} มีความสูงมากกว่า จำนวนต้นตอกน้อยกว่า มีจำนวนแขนงที่หนึ่ง และแขนงที่สองมากกว่า มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากกว่า นอกจากนี้ยังมีลำต้นที่แข็งแรงกว่า จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ายีน *OsSPL14* นั้นเป็น pleiotropic กล่าวคือ เป็นยีนที่ควบคุมการแสดงออกของลักษณะมากกว่า 1 ลักษณะ ทำให้มีการแตกกอเพิ่มจำนวนเมล็ดต่อรวง 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 มีความสูงปานกลาง ประมาณ 113 เซนติเมตร ระเง้าค่อนข้างถี่ รวงแน่น มีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 133 เมล็ด ให้ผลผลิตสูงเฉลี่ย 740 กิโลกรัมต่อไร่ และมีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 120-130 วัน ตอบสนองต่อการใช้น้ำในโตรเจนได้ดี มีความต้านทานต่อโรค และแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญหลายชนิด คือ ด้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว โรคใบหูก และโรคไหม้ (กรมวิชาการเกษตร, 2543)

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 (RD 6)

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

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 เป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสงจึงปลูกได้เฉพาะนาปี ลำต้นมีความสูงประมาณ 150 เซนติเมตร จำนวนเมล็ดต่อรวง 207 เมล็ด (วรารักษ์, 2551) ให้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 670 กิโลกรัมต่อไร่ คุณภาพการหุงต้มดีลักษณะข้าวสุกนุ่มเหนียว และมีกลิ่นหอมต้านทานต่อโรคไหม้ โรคใบจุดสีน้ำตาล แต่ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และแมลงบัว (วิไลลักษณ์, 2541)

ข้าวเจ้าพันธุ์เมืองไทย (Mueang sai)

ข้าวเจ้าพันธุ์เมืองไทย เป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสงปลูกได้เฉพาะนาปี ลำต้นมีความสูงประมาณ 166 เซนติเมตร จำนวนต้นต่อกอเฉลี่ยเท่ากับ 7 ต้น และจำนวนรวงต่อกอเฉลี่ยเท่ากับ 7 รวง มีอายุวันออกดอกประมาณ 145 วัน มีเมล็ดสีเหลืองเท่ากับ 73 เมล็ด เมล็ดสีเหลืองเท่ากับ 265 เมล็ด รวมจำนวนเมล็ดทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 338 เมล็ด (วรารักษ์, 2551)

ข้าวเจ้าพันธุ์แปดริ้ว G.S. no. 8045

ข้าวเจ้าพันธุ์แปดริ้ว เป็นข้าวที่ไวต่อช่วงแสงปลูกได้เฉพาะนาปี ลำต้นมีความสูงประมาณ 212 เซนติเมตร จำนวนต้นต่อกอเฉลี่ยเท่ากับ 10 ต้น และจำนวนรวงต่อกอเฉลี่ยเท่ากับ 10

รวง มีอายุวันออกดอกประมาณ 128 วัน มีเมล็ดสีเหลืองเท่ากับ 29 เมล็ด เมล็ดสีเหลืองเท่ากับ 229 เมล็ด รวมจำนวนเมล็ดทั้งหมดเหลืองเท่ากับ 266 เมล็ด (วรากรณ์, 2551)

การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิม (conventional backcrossing)

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

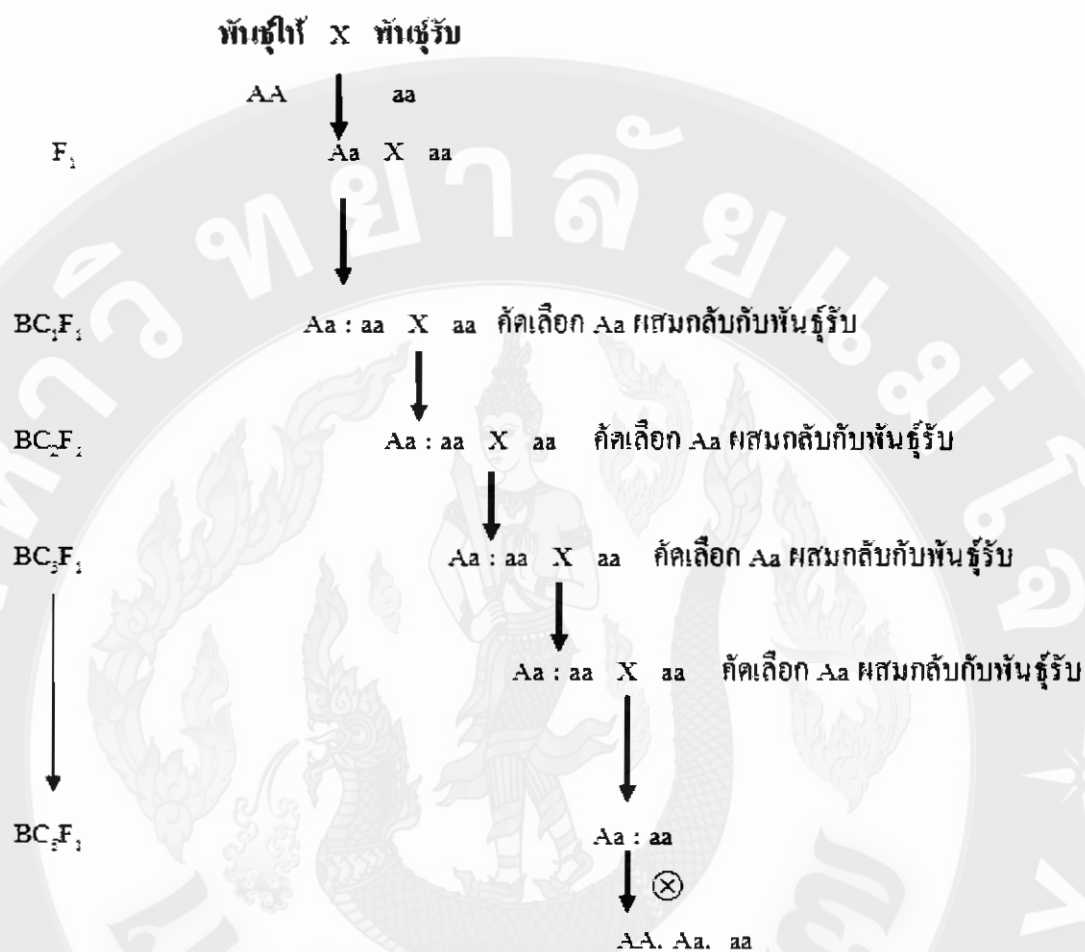
หลักการของวิธีการผสมกลับมีขั้นตอนดังนี้ (บุญหงษ์, 2547)

1. การคัดเลือกพันธุ์รับ (recurrent parent) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีคุณลักษณะดี แต่ขาดลักษณะที่ต้องการ เช่น เป็นพันธุ์การต้านทานต่อโรค 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

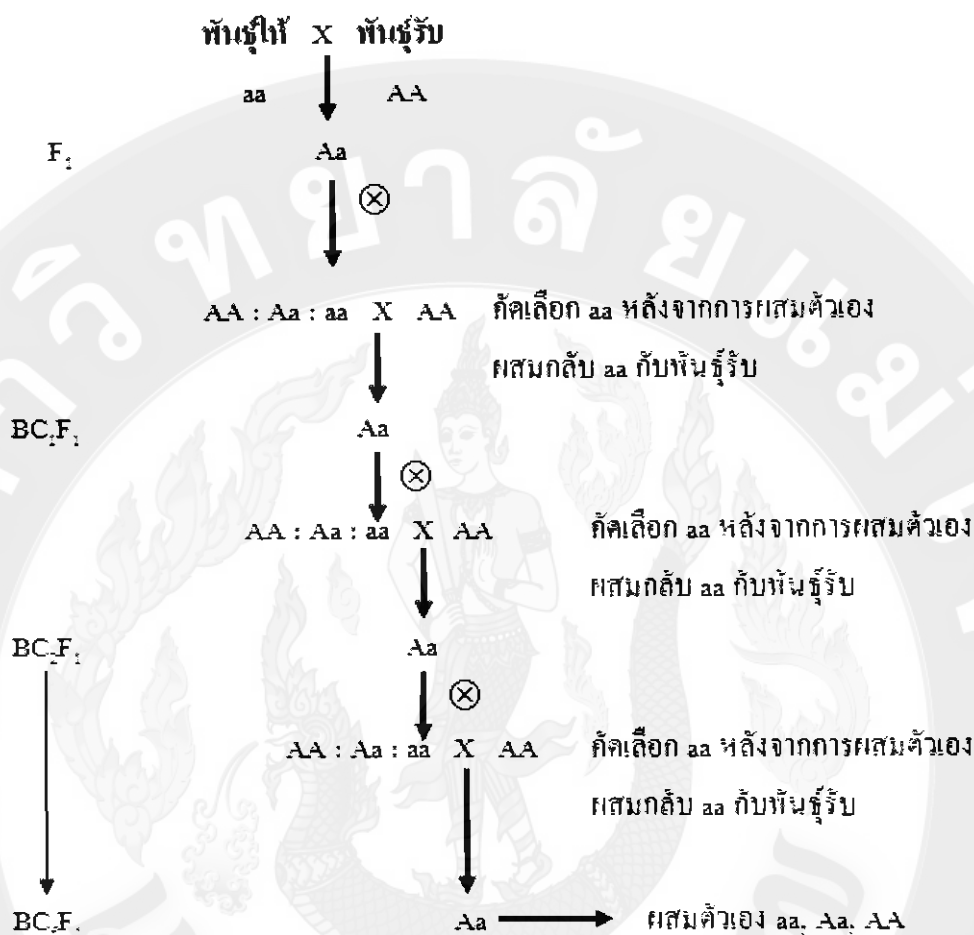
5. ขั้นตอนการคัดเลือก ทำการคัดเลือกเฉพาะต้น BC_1F_1 ที่มีลักษณะที่ต้องการ แล้วผสมกลับไปหาพันธุ์รับอีกครั้ง ได้เมล็ดลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_1) ซึ่งเมื่อนำไปปลูก ประชากร BC_2F_1 ที่ได้จะมีทั้งต้นที่มีลักษณะที่ต้องการซึ่งได้รับจากพันธุ์ให้ และต้นที่ขาดลักษณะที่ต้องการเช่นเดียวกับประชากร BC_1F_1 ทำการคัดเลือกเฉพาะต้น BC_2F_1 ที่มีลักษณะที่ต้องการ โดยประชากร BC_2F_1 นี้จะมีพันธุกรรมเหมือนกับพันธุ์รับ 87.5 เปอร์เซนต์ ผสมกลับไปหาพันธุ์รับได้ เมล็ดลูกผสมกลับชั่วที่ 3 (BC_3F_1) ทำการผสมกลับ และคัดเลือกเช่นนี้จนได้ประชากรลูกผสมกลับชั่วที่ 5 (BC_5F_1) ซึ่งจะมีพันธุกรรมเหมือนกับพันธุ์รับถึง 96 เปอร์เซนต์

6. ขั้นตอนการผสมตัวเอง (selfing) เมื่อคัดเลือกลำต้น BC_5F_1 ที่มีลักษณะที่ต้องการ ซึ่งได้รับมาจากพันธุ์ให้ในประชากรลูกผสมกลับชั่วที่ 5 ทำการผสมตัวเองได้เมล็ด BC_5F_2 ดังภาพ 6 การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมกลับนี้จะทำการคัดเลือกจากฟีโนไทป์ที่แสดงออก คือ ลักษณะที่สามารถมองเห็นได้ หรือวัดผลได้ จึงใช้ระยะเวลาในการคัดเลือก โดยเฉพาะในกรณีที่ลักษณะที่ต้องการเป็นลักษณะด้อย จำเป็นต้องทำการผสมตัวเองก่อนการผสมกลับแต่ละครั้ง ดังภาพ 7

นอกจากนี้จำนวนต้นพืชที่ใช้ในการศึกษาการกระจายตัวของลักษณะที่สนใจมีจำนวนมากจึงต้องการพื้นที่มาก ซึ่งรวมถึงค่าแรงงาน และค่าใช้จ่ายในการดูแล ทำให้การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิมนี้มีค่าใช้จ่ายสูง ยิ่งไปกว่านั้นอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมยังมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะทางกายภาพหรือฟีโนไทป์ได้ ปัจจัยสำคัญอีกประการที่ทำให้การปรับปรุงพันธุ์ประสบความสำเร็จได้ คือ ความชำนาญ และประสบการณ์ของนักปรับปรุงพันธุ์



ภาพ 6 แผนผังแสดงการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิมในกรณีที่ลักษณะที่ต้องการถ่ายทอดเป็นลักษณะเด่น
 ดัดแปลงมาจาก: บุญหงษ์ (2547)



ภาพ 7 แผนผังแสดงการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิมในกรณีที่มีลักษณะที่ต้องการถ่ายทอดเป็นลักษณะด้อย
ดัดแปลงมาจาก: บุญหงษ์ (2547)

การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก (marker assisted selection, MAS)

เป้าหมายของการปรับปรุงพันธุ์พืช คือ ได้พืชพันธุ์ที่มีลักษณะที่ต้องการ ดังนั้นการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการได้อย่างถูกต้องแม่นยำ และมีประสิทธิภาพจึงเป็นหัวใจสำคัญเพื่อบรรลุเป้าหมายดังกล่าว แต่เนื่องจากลักษณะที่ต้องการบางลักษณะคัดเลือกได้ยาก เนื่องจากมีระดับการแสดงออกไม่สม่ำเสมอ หรือได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม เช่น ความต้านทานโรค หรือลักษณะที่เป็นลักษณะเชิงปริมาณ จึงจำเป็นต้องอาศัยการคัดเลือกที่ยุ่งยาก และซับซ้อน

จนกระทั่งมีการนำความรู้ทางพันธุศาสตร์โมเลกุลมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยนำเครื่องหมายโมเลกุลมาช่วยคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ และคัดเลือกได้ยาก (marker assisted selection) ร่วมกับการคัดเลือกแบบปกติ (conventional selection) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพทำให้คัดเลือกลักษณะที่ต้องการได้อย่างถูกต้องแม่นยำ เนื่องจากการคัดเลือกด้วยดีเอ็นเอเป็นการคัดเลือกที่ขึ้น ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม และสามารถคัดเลือกได้ทุกระยะการเจริญเติบโตเนื่องจากมีอยู่ในทุกเซลล์ ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลอาจเป็นส่วนหนึ่งของยีนที่ควบคุมลักษณะนั้นๆ (target functional marker) หรือเป็นส่วนที่อยู่ใกล้หรือยืติด (linked marker) กับยีนที่ควบคุมลักษณะนั้นๆ (อรรคณ, 2548)

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

การปรับปรุงพันธุ์พืชด้วยวิธีผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก (marker assisted backcrossing, MAB)

การปรับปรุงพันธุ์พืชที่มีคุณลักษณะที่ดี เช่น พันธุ์การค้าให้มีลักษณะที่ต้องการ นิยมใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับเพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะดีเหมือนพันธุ์เดิม และมีลักษณะที่ต้องการจากพันธุ์ให้เพิ่มเข้าไปอีกหนึ่งลักษณะนั้นอาศัยวิธีการผสมกลับ โดยทำการผสมกลับไปหาพันธุ์รับถึง 7 รุ่น เรียกสายพันธุ์ที่มีลักษณะเหมือนพันธุ์รับทุกประการแต่มีลักษณะที่ต้องการจากพันธุ์ให้เพิ่มมาอีกหนึ่งลักษณะนี้ว่าสายพันธุ์คู่แฝด (near isogenic line; NIL) ซึ่งการผสมกลับในแต่ละชั่วต้องทำการคัดเลือกต้นที่มีลักษณะที่ต้องการก่อนนำไปผสมกลับกับพันธุ์รับทุกครั้ง ดังนั้นการคัดเลือกที่ถูกต้อง และแม่นยำจึงเป็นหัวใจสำคัญ เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็นส่วนหนึ่งของยีน และเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีนสามารถนำมาใช้คัดเลือกในประชากร

ลูกผสมกลับแต่ละรุ่นจนถึง NIL ได้ ทำให้การปรับปรุงพันธุ์มีประสิทธิภาพ และก้าวหน้าได้อย่างรวดเร็ว (อรรถน์, 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 ทำให้พันธุ์ใหม่ปรับปรุงได้มี genetic background ไม่เหมือนพันธุ์รับ ขณะที่ background marker จะใช้ตรวจสอบความเหมือนของจีโนไทป์ของพันธุ์รับ บน 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 มียีนแสดงความต้านทานต่อเชื้อสายพันธุ์ละหุ่งเทาซึ่งเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงที่สุดสายพันธุ์หนึ่ง อีกทั้งยังมีความคล้ายคลึงกับพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มากกว่าร้อยละ 80 (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 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 หรือต้านทานต่อโรคแมลง สามารถคัดเลือกได้ด้วยการเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ แต่เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยานี้มีข้อจำกัด คือ มีลักษณะทางกายภาพที่ใช้คัดเลือกจำกัด และสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงจะมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะทางกายภาพ เช่น ความสูง ผลผลิต หรือสีดอกที่ได้รับอิทธิพลโดยตรงจากความอุดมสมบูรณ์ของดิน หรือการให้น้ำ นอกจากนี้ลักษณะทางกายภาพบางลักษณะมีการแสดงออกจำเพาะในช่วงของการเจริญเติบโตของพืชเท่านั้น เช่น สีดอกที่มีการแสดงออกในช่วงที่พืชออกดอกเท่านั้น (อรรค์, 2548)

2. เครื่องหมายทางชีวโมเลกุล (biochemical marker) สามารถแบ่งได้ 2 ระดับ คือ

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

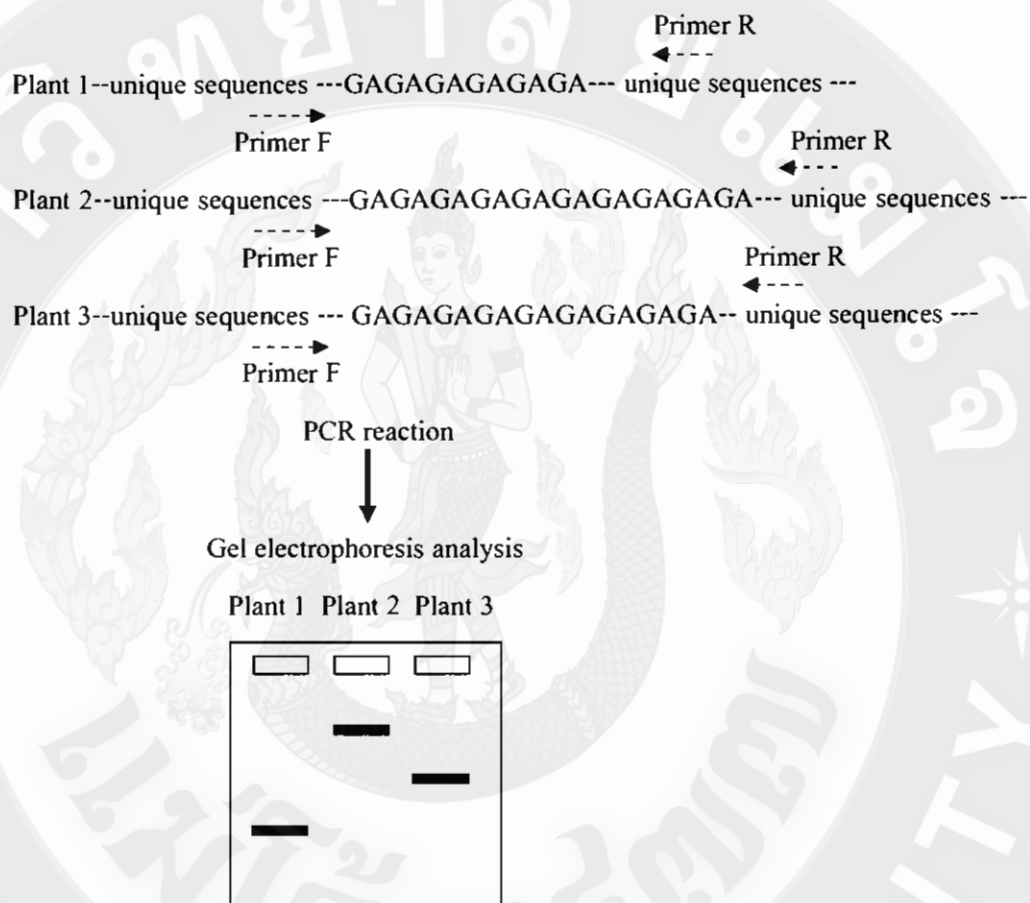
ผลต่อระยะทางการเคลื่อนที่ของโมเลกุลเมื่อทำการตรวจสอบด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส ทำให้ไม่สามารถตรวจพบความแตกต่างนั้นๆ ได้

2.2 เครื่องหมายระดับดีเอ็นเอ (DNA marker) หมายถึง ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายแสดงความจำเพาะของสิ่งมีชีวิตตัวหนึ่ง สายพันธุ์หนึ่ง สปีชีส์หนึ่ง หรือในระดับต่างสปีชีส์ เป็นลำดับเบสที่อยู่ในตำแหน่งหนึ่งๆ บนโครโมโซม (nuclear DNA) หรือลำดับเบสในไมโทคอนเดรียหรือคลอโรพลาสต์ (mitochondrial DNA หรือ chloroplast DNA) เนื่องจากลำดับเบสของดีเอ็นเอมีความแปรปรวน (variation) ทำให้เกิดความแตกต่างหรือโพลิมอร์ฟิซึม (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 โดยออกแบบไพรเมอร์ที่สามารถเข้าคู่กับบริเวณเบสจำเพาะเหล่านี้เพื่อเป็นจุดเริ่มต้นของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่เป็นเบสซ้ำต่อเนื่องซึ่งอยู่ระหว่างลำดับเบสที่จำเพาะนั้น โดยอาศัยเทคนิค

พีซีอาร์ ดังนั้นความหลากหลายของขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากผลผลิตพีซีอาร์ อันเนื่องมาจากจำนวนครั้งของเบสซ้ำที่ไม่เท่ากันจึงสามารถใช้บ่งชี้ความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้ ดังภาพ 8 (สุริพร, 2546)



ภาพ 8 เครื่องหมายโมเลกุลชนิดเอสเอสอาร์
 ดัดแปลงมาจาก: สุริพร (2546)

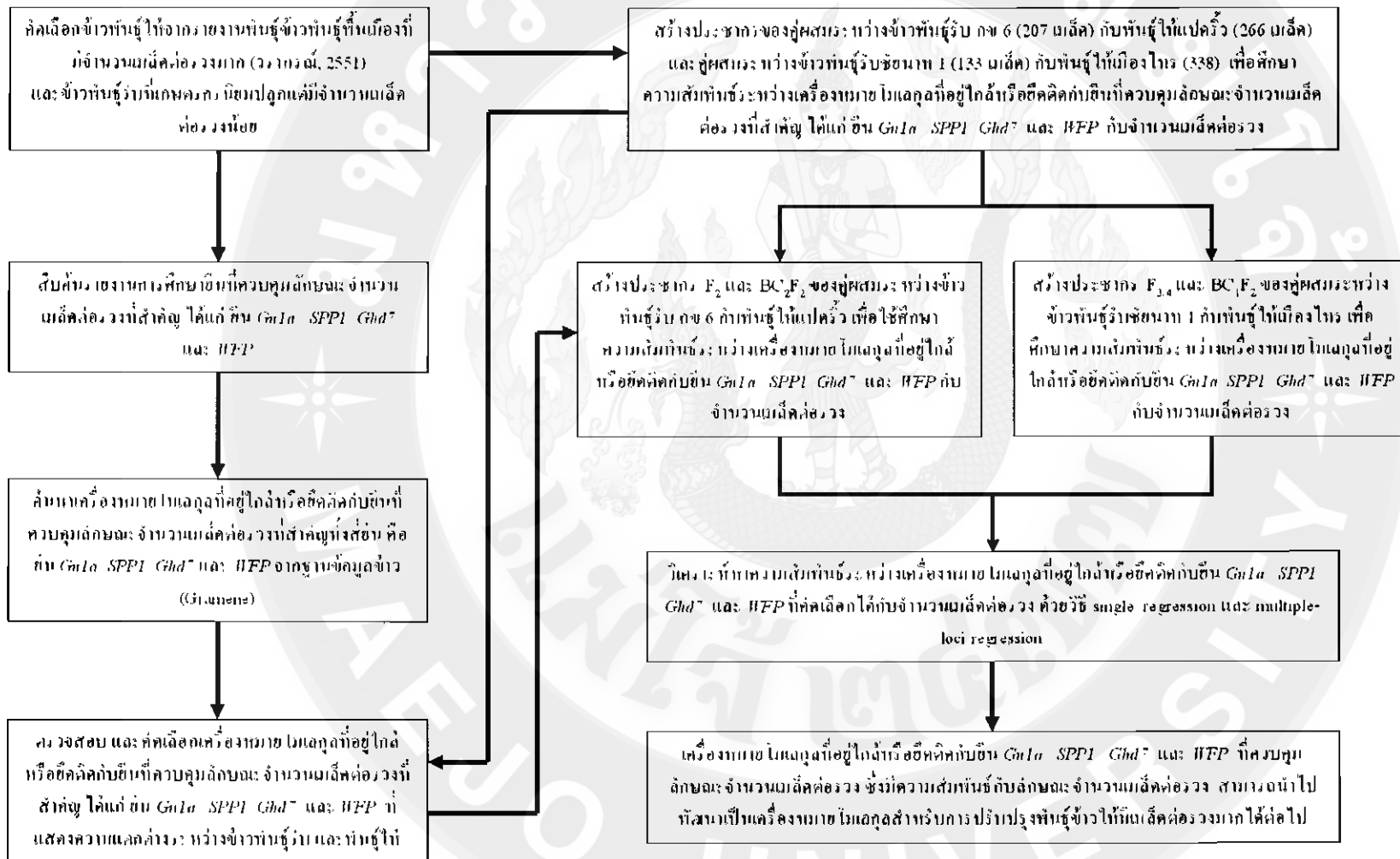
การใช้ประโยชน์จากฐานข้อมูลพันธุกรรมข้าว

ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีคุณภาพที่ดีขึ้น รวมถึงการพัฒนาให้ข้าวมีผลผลิตมากขึ้น นั้นจำเป็นต้องอาศัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระดับโมเลกุลช่วยให้การปรับปรุงพันธุ์ข้าวประสบผลสำเร็จได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว ซึ่งในข้าวนั้นมีการศึกษาอย่างกว้างขวาง มีรายงานการศึกษาจนถึงลำดับเบสซึ่งเป็นโครงสร้างพื้นฐานทางพันธุกรรม ดังนั้นจึงมีฐานข้อมูลที่ได้รวบรวมผลการศึกษาของข้าวมากมาย อาทิเช่น การศึกษาลำดับเบสในส่วนที่ยีนต่างๆ การทำแผนที่ยีนในข้าว เป็นต้น ซึ่งข้อมูลที่ได้นั้นมีอยู่อย่างมหาศาลนี้จึงจำเป็นต้องมีระบบการจัดเก็บ

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



บทที่ 3

วิธีการวิจัย

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในกลุ่มประชากรตัวอย่างเพื่อการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมาก ใช้ข้าวพันธุ์รับ กข 6 ซึ่งมีเมล็ดต่อรวงเท่ากับ 207 เมล็ด และพันธุ์ชัยนาท 1 มีเมล็ดต่อรวง 133 เมล็ด เพื่อสร้างประชากรตัวอย่างในการศึกษา โดยทำการคัดเลือกข้าวพันธุ์ให้จากข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์พื้นเมืองต่างๆ ที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก (วารกรณ์, 2551) รวมถึงค้นคว้าข้อมูลของยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้งสี่ยีนที่เคยมีรายงาน ได้แก่ ยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* แล้วสืบค้นตำแหน่งของยีนดังกล่าวจากฐานข้อมูลข้าวเพื่อหาเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับตำแหน่งของยีนดังกล่าว ซึ่งเป็น target linked marker แล้วนำมาทดสอบหาความแตกต่างของลำดับเบสในบริเวณยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ระหว่างข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ เพื่อใช้คัดเลือกต้นข้าวที่ได้รับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้งสี่ยีนจากพันธุ์ให้ในการสร้างประชากรตัวอย่างเพื่อการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรดังกล่าว ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลของแต่ละยีนที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี single regression และ multiple-locus regression เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีนนั้น เครื่องหมายใดมีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุด เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากได้ต่อไป

การศึกษานี้ทำการทดลองทั้งหมด 6 การทดลอง คือ

1. การคัดเลือกข้าวพันธุ์ให้ (donor parent) ที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก เพื่อใช้สร้างกลุ่มประชากรตัวอย่างสำหรับศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรตัวอย่างที่สร้างขึ้น
2. การหาและคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ ซึ่งเป็นเครื่องหมายชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

3. การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง และคัดเลือกเครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 และชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้พันธุ์แปดริ้ว และเมืองไทย

4. สร้างประชากรตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ได้แก่ ประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว ประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทย

5. การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์แปดริ้ว

6. การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ชัชนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์เมืองไทย

อุปกรณ์ และสารเคมีในการวิจัย

1. ขั้นตอนการปลูกข้าว และผสมพันธุ์ข้าว

- 1.1 กระจกไม่มีรูขนาด 12 นิ้ว
- 1.2 ดิน
- 1.3 จอบ
- 1.4 ไม้ปักป้าย
- 1.5 ชอมน้ำตาลสำหรับใส่เมล็ด
- 1.6 ขวดเพาะเมล็ด
- 1.7 เครื่องเขย่า (shaker)
- 1.8 กระดาษทิชชู
- 1.9 กระดิกน้ำร้อน
- 1.10 ถุงผสม
- 1.11 คลิปหนีบกระดาษ
- 1.12 ปากทึบ

- 1.13 กรรไกรตัดแต่งเมล็ด
- 1.14 กล่องพลาสติก
- 1.15 กาต้มน้ำร้อน
- 1.16 ป้าย (Tag) และเชือกผูกป้าย
- 1.17 ดินสอ ยางลบ สมุดบันทึก
- 1.18 แอลกอฮอล์
- 1.19 คู่มือเก็บเมล็ดพันธุ์
- 1.20 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
- 1.21 ตู้ปลอดเชื้อ
- 1.22 ถังพลาสติก
- 1.23 ตู้อบ
- 1.24 คลอรีนน้ำ 10%
- 1.25 น้ำกลั่น
- 1.26 ไม้คอก
- 1.27 ไม้เคมีสูตร 15-15-15
- 1.28 เครื่องพ่นสารเคมี
- 1.29 ห้องมืดควบคุมความยาวของช่วงแสง

2. ขั้นตอนการศึกษาเครื่องหมายโมเลกุล

- 2.1 ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป genomic DNA purification kit ของบริษัท

Fermentas

- 2.2 ตู้แช่เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
- 2.3 เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer)
- 2.4 อ่างน้ำร้อน (water bath)
- 2.5 เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge)
- 2.6 เครื่องชั่ง (balance) 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง
- 2.7 ที่วางหลอดตัวอย่าง (rack)
- 2.8 เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR) รุ่น PCT-100
- 2.9 เครื่องแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้า หรือเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (gel

electrophoresis units)

- 2.10 เครื่องสำรองไฟ (power supply)
- 2.11 น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว
- 2.12 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (autoclave)
- 2.13 เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบอุณหภูมิต่ำ (refrigerated centrifuge)
- 2.14 เครื่องไมโครเวฟ
- 2.15 ถุงมือยาง
- 2.16 ไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen)
- 2.17 ลูกปิ่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร
- 2.18 ขวดคูแรน ขนาด 1,000 และ 2,000 มิลลิลิตร
- 2.19 ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 2.20 เครื่องกวนสารละลายพร้อมให้ความร้อน (hotplate stirrer)
- 2.21 เครื่องเหวี่ยงสารตกตะกอนขนาดเล็ก (mini centrifuge)
- 2.22 หัวดูดจ่ายสารอัดโนมัติ ขนาด 0.2-2 ไมโครลิตร (pipettes P2)
- 2.23 หัวดูดจ่ายสารอัดโนมัติ ขนาด 2-20 ไมโครลิตร (pipettes P20)
- 2.24 หัวดูดจ่ายสารอัดโนมัติ ขนาด 20-200 ไมโครลิตร (pipettes P200)
- 2.25 หัวดูดจ่ายสารอัดโนมัติ ขนาด 200-1,000 ไมโครลิตร (pipettes P1000)
- 2.26 ทิปสำหรับดูดจ่ายสาร (tip)
- 2.27 หลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร (centrifuge tube)
- 2.28 2x Promega's PCR green master mix
- 2.29 ทริส เบส (tris base)
- 2.30 Ethylenediaminetetra-acetic acid di-sodium salt (EDTA)
- 2.31 กรดบอริก (boric acid)
- 2.32 เอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide)
- 2.33 ผงวุ้นอะกาโรส (agarose)
- 2.34 หลอดพีซีอาร์ ขนาด 0.2 มิลลิลิตร (PCR tube)
- 2.35 เครื่อง Gel Doc 2000 (บริษัท BIO-RAD Laboratory)
- 2.36 ซอฟต์แวร์ Quantity One (บริษัท BIO-RAD Laboratory)
- 2.37 กระดิกน้ำแข็ง
- 2.38 ดีเอ็นเอมาตรฐาน ขนาด 50 และ 100 เบส

3. พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดลอง

พันธุ์ข้าวที่ใช้เป็นพันธุ์รับ ได้แก่

3.1 ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 มีจำนวนเมล็ดต่อรวงประมาณ 207 เมล็ด

3.2 ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 มีจำนวนเมล็ดต่อรวงประมาณ 133 เมล็ด

พันธุ์ข้าวที่ใช้เป็นพันธุ์ให้ ได้แก่

3.3 ข้าวเจ้าพันธุ์เมืองไทย มีจำนวนเมล็ดต่อรวงประมาณ 338 เมล็ด

3.4 ข้าวเจ้าพันธุ์แปดริ้ว มีจำนวนเมล็ดต่อรวงประมาณ 266 เมล็ด

การทดลองที่ 1 การคัดเลือกข้าวพันธุ์ให้ (donor parent) ที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก เพื่อใช้สร้างกลุ่มประชากรตัวอย่างสำหรับศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรตัวอย่างที่สร้างขึ้น

การศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในกลุ่มประชากรตัวอย่าง เพื่อพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมาก จึงจำเป็นต้องคัดเลือกข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้เพื่อสร้างประชากรตัวอย่างสำหรับการศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ดังกล่าว คัดเลือกข้าวพันธุ์รับ ได้แก่ ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ซึ่งมีจำนวนเมล็ดต่อรวงเท่ากับ 207 เมล็ด และข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 มีจำนวนเมล็ดต่อรวง 133 เมล็ด เนื่องจากเป็นข้าวที่เกษตรกรนิยมปลูก และคัดเลือกข้าวพันธุ์ให้ (donor parent) ที่มีลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก เพื่อให้ยีนควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก จากรายงานพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก (วราภรณ์, 2551) ซึ่งได้รวบรวม และศึกษาข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก และข้าวพันธุ์ต่างๆ ทั้งหมด 43 พันธุ์ พบว่าพันธุ์ข้าวที่สามารถใช้เป็นพันธุ์ให้ได้ ได้แก่ พันธุ์เมืองไทย พันธุ์แปดริ้ว และพันธุ์เม็ดมะเขือ ซึ่งมีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ยสูงถึง 338 266 และ 264 เมล็ด ตามลำดับ แล้วทำการคัดเลือกเพื่อสร้างกลุ่มผสมกับข้าวพันธุ์รับทั้งสองพันธุ์ คือ ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 กับข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 โดยพิจารณาจากข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง ประกอบกับลักษณะความสูง และอายุวันออกดอก

การทดลองที่ 2 การหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ ซึ่งเป็นเครื่องหมายชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

ในการค้นหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ซึ่งควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงนั้น สามารถสืบค้นได้จากฐานข้อมูลข้าวในเว็บไซต์ Gramene (<http://www.gramene.org/markers/microsat/>) ซึ่งได้รวบรวมเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่ตำแหน่งต่างๆ บนโครโมโซมของข้าวในตาราง supplementary table 18 ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จาก IRGSP (International Rice Genome Sequencing Project [IRGSP], 2005) สามารถดาวน์โหลดตาราง supplementary table 18 จากเว็บไซต์ได้ดังนี้

1.1 เข้าเว็บไซต์ Gramene ที่ <http://www.gramene.org/>

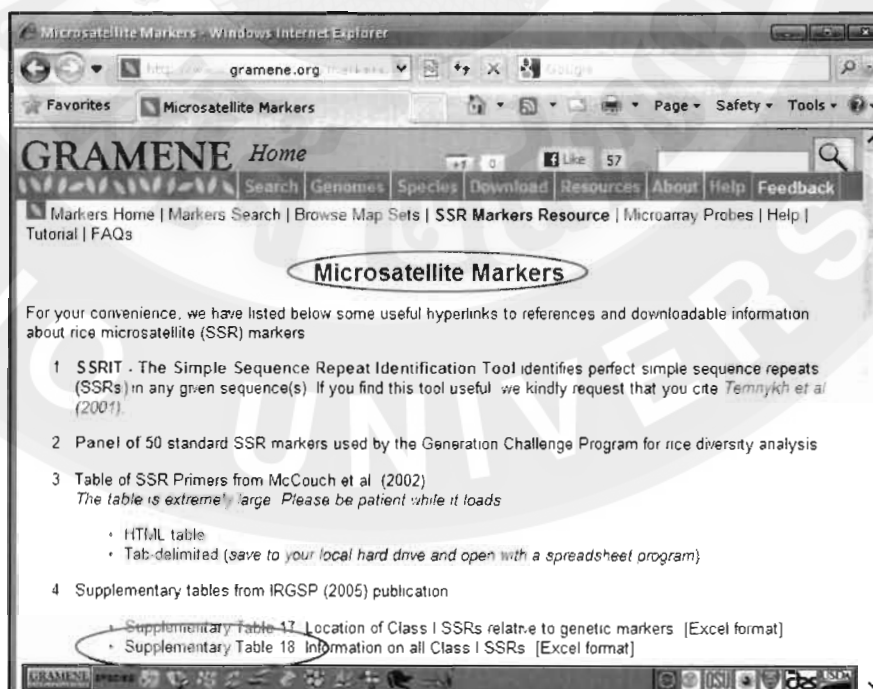
1.2 เลือกแถบ download จากนั้นเลือก download index

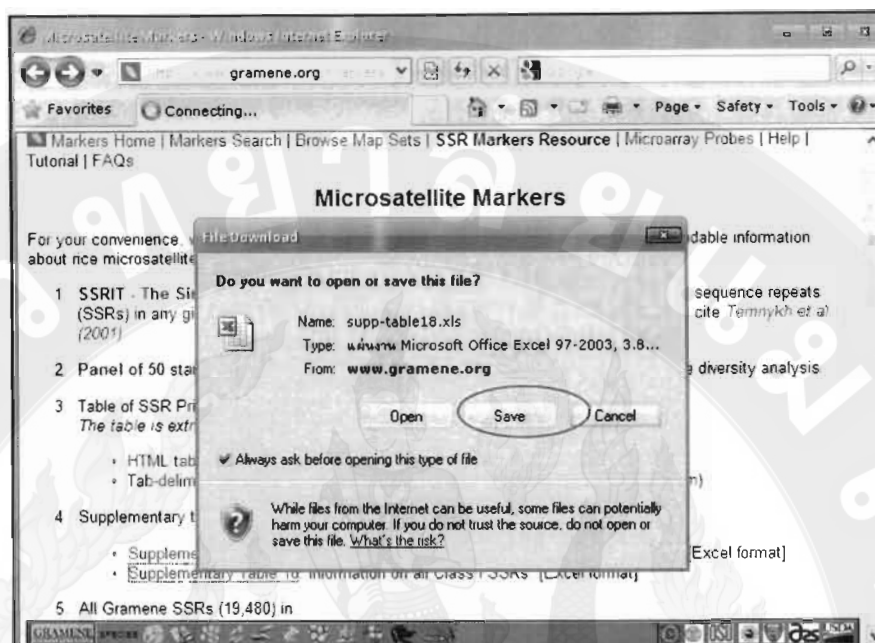


1.3 หน้าต่างจะปรากฏหัวข้อ downloads เลือก microsatellites



1.4 เมื่อหน้าต่างปรากฏ microsatellite markers จากนั้นเลือก supplementary table 18 ซึ่งจะแสดงลำดับเบสของไพรเมอร์ และรายละเอียดต่างๆ ของเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR เมื่อเลือกแล้วจะปรากฏหน้าต่าง file download จากนั้นกด save เพื่อบันทึกตารางดังกล่าว





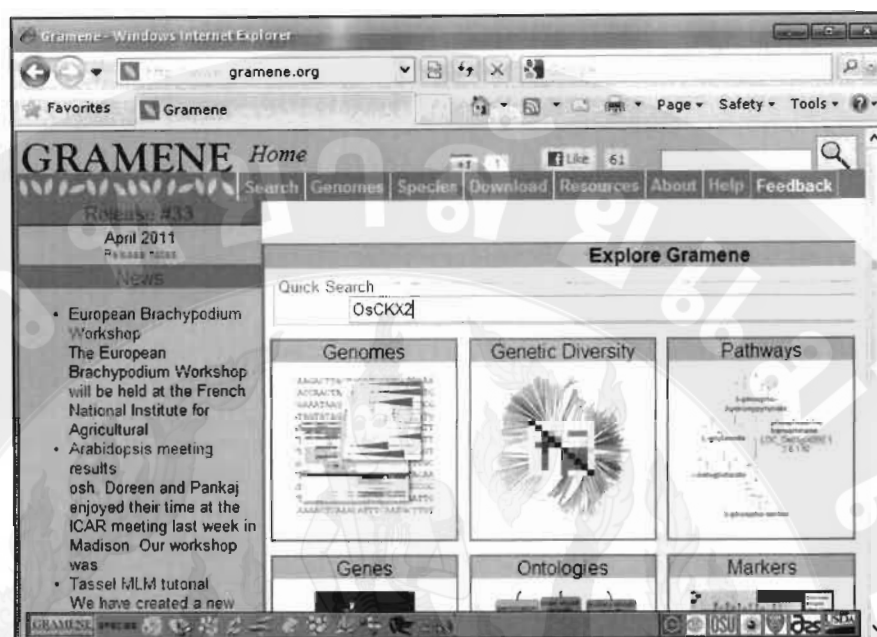
1.5 จากนั้นจึงทำการหา และคัดเลือกเครื่องหมายที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้ง 4 ยีน ได้แก่ *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* โดยคัดเลือกเครื่องหมายที่มีระยะจากทั้งสองข้างของยีนได้ถึง 95,000 เบส

การหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้ง 4 ยีน ได้แก่ *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* จากตาราง supplementary table 18 มีวิธีการทดลองดังต่อไปนี้

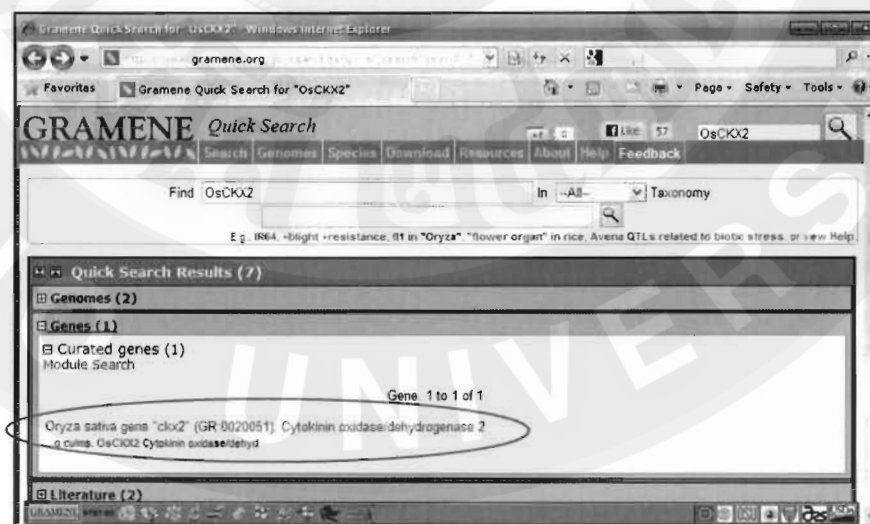
2.1 การหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*

การหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* จากตาราง supplementary table 18 มีขั้นตอนดังนี้

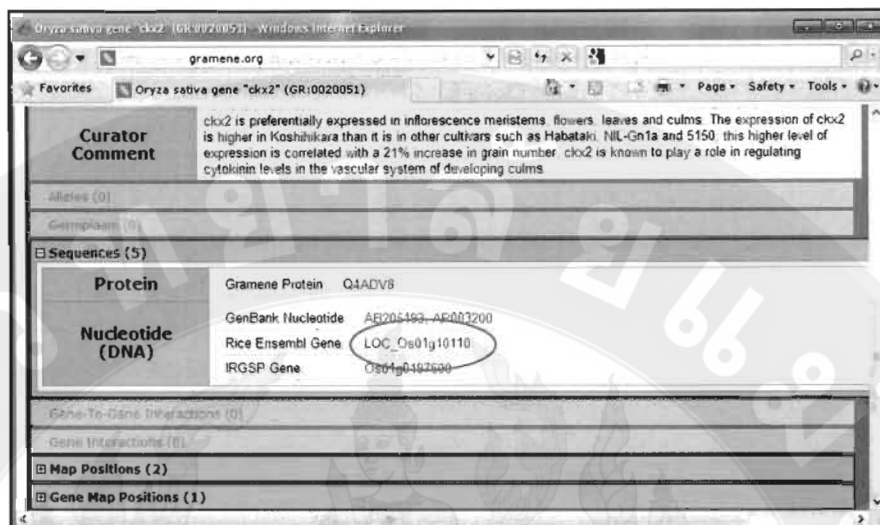
2.1.1 ค้นหาตำแหน่งของยีน *Gn1a* ซึ่งมีรายงานว่า เป็นยีนที่ผลิตฮอร์โมนไซโตไคนิน ออกซิเดส/ดีไฮโดรจีเนส (Cytokinin oxidase/dehydrogenase; CKX, OsCKX2) (Ashikari *et al.*, 2005) หาข้อมูลได้จากเว็บไซต์ Gramene โดยพิมพ์ OsCKX2 ในช่อง Quick Search แล้วกดค้นหา ดังภาพ



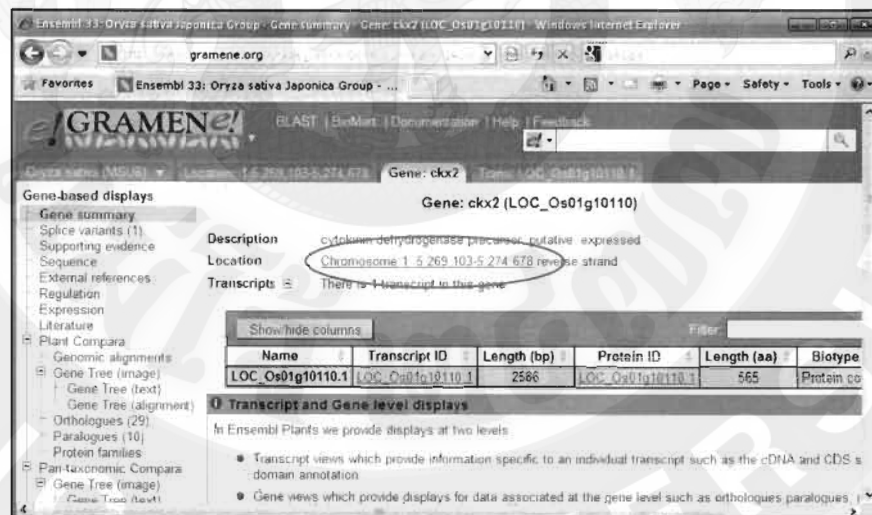
2.1.2 ผลการค้นหาลักษณะหน้าตาซึ่งแสดงรายละเอียดของยีน *OsCKX2* หรือยีน *Gn1a* แล้วเลือก Gene (1) จากนั้นเลือก *Oryza sativa* gene "ckx2" (GR:0020051): Cytokinin oxidase/dehydrogenase 2



2.1.3 เลือก sequence (5) ซึ่งประกอบด้วยลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน และ ลำดับเบสของดีเอ็นเอ จากนั้นเลือก LOC_Os01g10110



2.1.4 ปรากฏหน้าตาที่แสดงรายละเอียดของยีน *Gn1a* รวมถึงตำแหน่ง และ ลำดับเบสของยีน ซึ่งยีน *Gn1a* นั้นตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 1 ตำแหน่งเบสที่ 5,269,103-5,274,678



2.1.5 เปิดตาราง supplementary table 18 ด้วยโปรแกรม excel แล้วหา ตำแหน่งเบสของยีน *Gn1a* คือที่ตำแหน่ง 5,269,103-5,274,678 โดยเลือกบริเวณที่ใกล้เคียงมากที่สุด ซึ่งจากตารางยีน *Gn1a* อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM10315 (เบสตำแหน่งที่ 5,243,215-5,243,274) และ RM10316 (เบสตำแหน่งที่ 5,286,497-5,286,516) จากนั้นแทรกแถวระหว่าง RM10315 และ RM10316 ทำแถบสีในบริเวณดังกล่าว สำหรับการอ้างอิงในการหา target linked marker

McCouch Locus_ID	Forward Primer	Reverse Primer	Expected Marker Length	SSR start	SSR end
RM10310	TGCAGTAATATGCTGTGCTGATCG	AAGCTAGCTCGATTGGTCGAACG	86	5 200 997	5 201 016
RM10311	TGGCGTAGTTCATGGCGTAGTGG	ACCATCTCCCATGTCGAAGTACGG	275	5 215 576	5 215 596
RM10312	TGGCATACGCGTGGTAGTCC	CAGAGGTGGAGGTGTCAGTCC	366	5 232 170	5 232 189
RM10313	ACTTACACAAGGCCGGGAAAGG	TGGTAGTGGTAATCTACTCCGATGG	171	5 236 487	5 236 516
RM10314	CATGCATACCTTGTGCTTGTCC	GCACGTGCTCCTACATTGATGC	169	5 241 778	5 241 797
RM10315	CAAGTTGCACACCAAGATGC	CCCTCCTGATCATATCCCTTGC	171	5 243 215	5 243 274
	Gn1a			5,269,103	5,274,678
RM10316	AAGATCGCTGGGAGATCTGTAGG	GCATGCTAATTAGTCAGCCTTGG	149	5 286 497	5 286 516
RM10318	TGTCTCACACATTGCACACTTACC	GGCCTAACCCAAACATGTCC	188	5 359 033	5 359 052
RM10319	TCTAACACAGAATCCCGAAGATCC	CGATCAGGAGCGTTACATATTTGG	383	5 363 131	5 363 152
RM10320	NA	NA	NA	5 366 122	5 366 191
RM10321	NA	NA	NA	5 366 333	5 366 356
RM10322	NA	NA	NA	5 366 399	5 366 436
RM10323	NA	NA	NA	5 366 483	5 366 502
RM10324	NA	NA	NA	5 366 503	5 366 524
RM10325	NA	NA	NA	5 366 541	5 366 560
RM10326	AGCCGGGCATACAGTCTTTCTCC	TCATGGCGTGTTGGCACTAGC	278	5 368 282	5 368 307
RM10327	ACTTCTGTTGTCCCACTGACAGG	GAGAGGTGCTCGAGGAACAGC	329	5 442 070	5 442 090

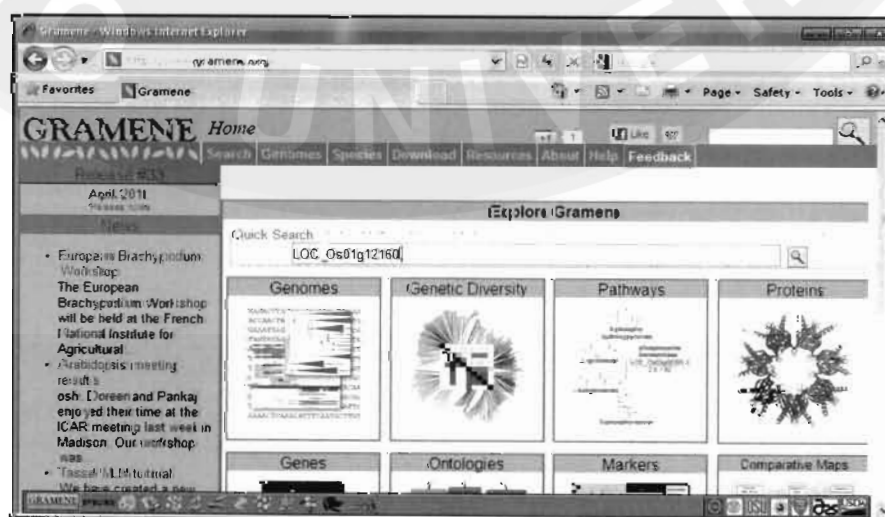
2.1.6 เปรียบเทียบจำนวนเบสของเครื่องหมายโมเลกุล SSR แต่ละตัวที่อยู่ใกล้กับยีน *Gn1a* เพื่อหา target linked marker ซึ่งมีระยะจากทั้งสองข้างของยีน *Gn1a* ได้ถึง 95,000 เบสแล้วทำสัญลักษณ์ด้วยแถบสี

2.1.7 คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น target linked marker โดยคัดเลือกเฉพาะเครื่องหมายโมเลกุลที่มีลำดับเบสของไพรเมอร์แสดงไว้ในตาราง แล้วส่งส่งเคราะห์ไพรเมอร์ทั้งหมดจากบริษัท แปซิฟิค ไชเอ็นซ์ จำกัด

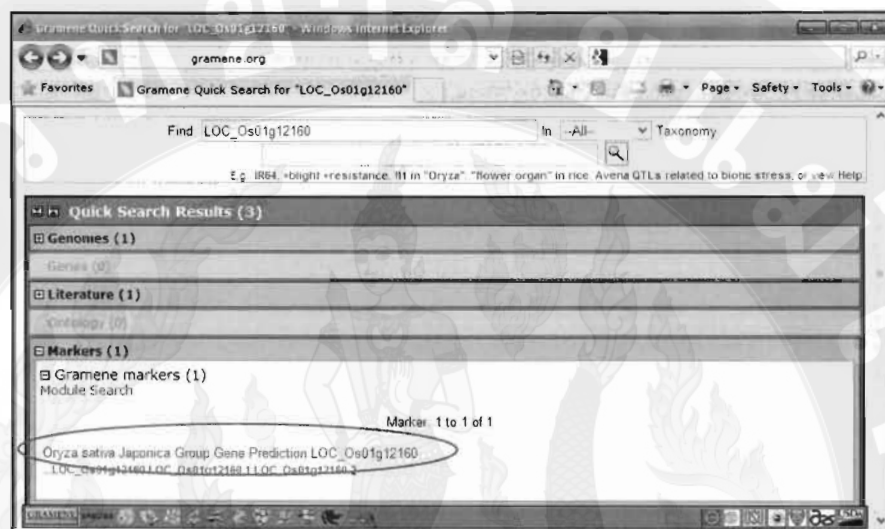
2.2 การหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *SPPI*

การหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *SPPI* จากตาราง supplementary table 18 มีขั้นตอนดังนี้

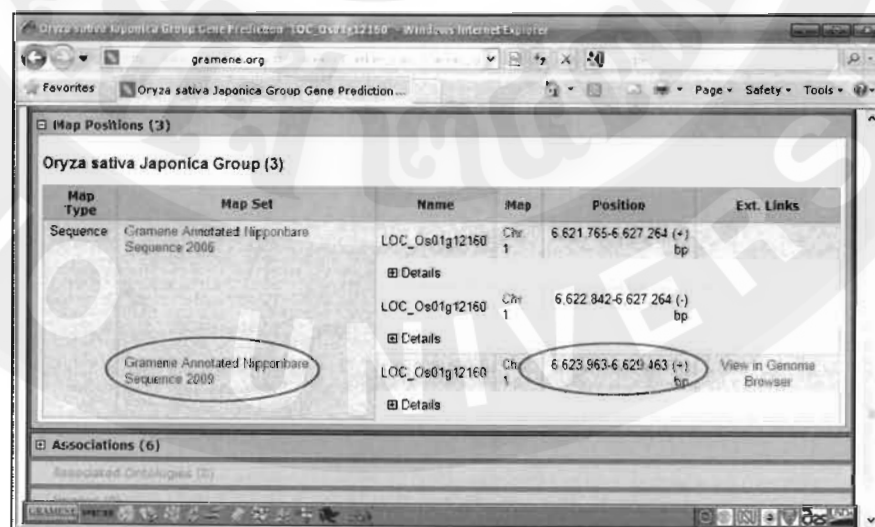
2.2.1 ค้นหาตำแหน่งของยีน *SPPI* ซึ่งจากการตรวจสอบเอกสารพบว่าบริเวณ LOC_Os01g12160 คือ ยีน *SPPI* (Liu *et al.*, 2009) แล้วทำการหาข้อมูลตำแหน่งของยีนจากเว็บไซต์ Gramene โดยพิมพ์ LOC_Os01g12160 ในช่อง Quick Search แล้วกดค้นหา ดังภาพ



2.2.2 ผลการค้นหาลักษณะต่างซึ่งแสดงรายละเอียดของบริเวณที่เป็นยีน *SPP1* คือ LOC_Os01g12160 แล้วเลือก Marker (1) จากนั้นเลือก Oryza sativa Japonica Group Gene Prediction LOC_Os01g12160



2.2.3 เลือก Map Position (3) เพื่อดูรายละเอียดของตำแหน่งของยีน โดยเลือกจากข้อมูลใหม่ล่าสุด คือ ปี ค.ศ. 2009 ซึ่งได้แสดงตำแหน่งของยีน *SPP1* บนโครโมโซมที่ 1 ตำแหน่งเบสที่ 6,623,963-6,629,463



2.2.4 เปิดตาราง supplementary table 18 ด้วยโปรแกรม excel แล้วหาตำแหน่งเบสของยีน *SPP1* คือที่ตำแหน่ง 6,623,963-6,629,463 โดยเลือกบริเวณที่ใกล้เคียงมากที่สุด ซึ่งจากตารางยีน *SPP1* อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM10393 (เบสตำแหน่งที่ 6,600,019-

6,600,054) และ RM10394 (เบสดำแหน่งที่ 6,629,276-6,629,295) จากนั้นแทรกแถวระหว่าง RM10393 และ RM10394 ทำแถบสีในบริเวณดังกล่าว สำหรับการอ้างอิงในการหา target linked marker

McCouch Locus_ID	Forward Primer	Reverse Primer	Expected Marker Length	SSR start	SSR end
RM10389	NA	NA	NA	6 576 020	6 576 040
RM10390	GCAACGTTACGTCCTGGCATGG	CCTCTCGCGTCTCTCAACG	90	6 580 847	6 580 868
RM10391	NA	NA	NA	6 593 661	6 593 686
RM10392	NA	NA	NA	6 593 687	6 593 710
RM10393	GGCAGAGAAGATCGAATATGATGG	TAGCTACGCGGTTCTTCATAGC	285	6 600 019	6 600 054
	SPP1			6,623,963	6,629,463
RM10394	CAGCAGCAGCGAGATTAACAGC	GTCGTCTCTGCTGTGTTCTTGG	176	6 629 276	6 629 295
RM10395	GCAAGATTCAGTTCAGGTTTGC	ATGTGCCCTTTGCTTGTAAGTCC	289	6 639 665	6 639 712
RM10396	TTTGCAGGTGGACAGGAAATGG	AATAGCAGCTTGCTTGGATGTGC	289	6 639 789	6 639 840
RM10397	ATGTCGAGCGGTGGTTGTATAGTTCCG	ACCGTGATTTGGTTGTGTTTCAGC	320	6 646 567	6 646 604
RM10398	TCTCCTGCTCTACTGCCCTTGG	TTCTGCACTTGCCAAGAAGACC	137	6 672 572	6 672 613
RM10399	NA	NA	NA	6 673 738	6 673 779
RM10400	CTCTCTCTGATGGTAACTCTCC	ATATAGAGGTGCCCTTGTTGAAGG	482	6 673 948	6 673 997
RM10401	ACACACTCACACCCATCCATCC	TGATCTGCACACTGCAACACC	277	6 676 165	6 676 190
RM10402	TGGATTGAAGGGAGCTCTACACC	TTGCTCCACACGATCTACACAGC	287	6 692 293	6 692 330
RM10403	CATATACATCACAGCCGCTTGTAGG	AGCGAGATGGAAGGCAAGAGC	407	6 703 333	6 703 354
RM10404	CTGGAGTGGTTTCTCTCTCTGCG	TACTCTGCTCGCGTAACCTCTCC	312	6 709 630	6 709 653

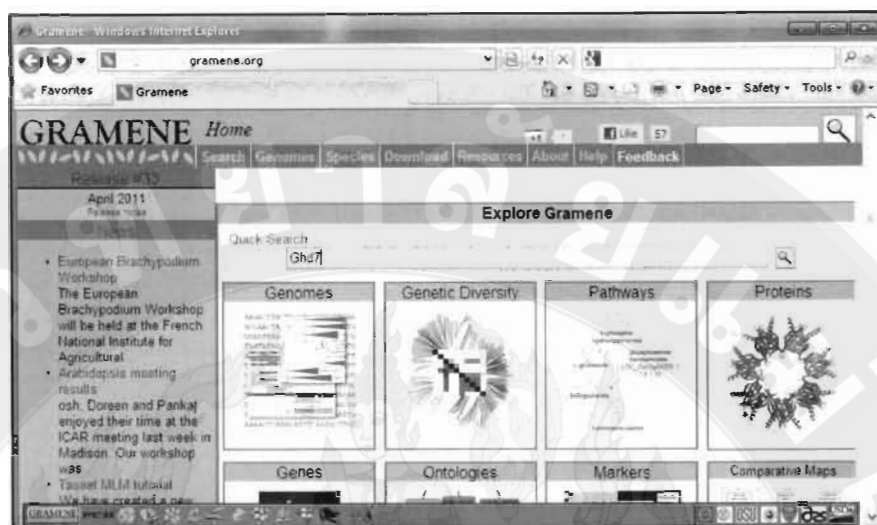
2.2.5 เปรียบเทียบจำนวนเบสของเครื่องหมายโมเลกุล SSR แต่ละตัวที่อยู่ใกล้กับยีน *SPP1* เพื่อหา target linked marker ซึ่งมีระยะจากทั้งสองข้างของยีน *SPP1* ได้ถึง 95,000 เบสแล้วทำสัญลักษณ์ด้วยแถบสี

2.2.6 คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น target linked marker โดยคัดเลือกเฉพาะเครื่องหมายโมเลกุลที่มีลำดับเบสของไพรเมอร์แสดงไว้ในตาราง แล้วตั้งสังเคราะห์ไพรเมอร์ทั้งหมดจากบริษัท แปซิฟิค ไชเอ็นซ์ จำกัด

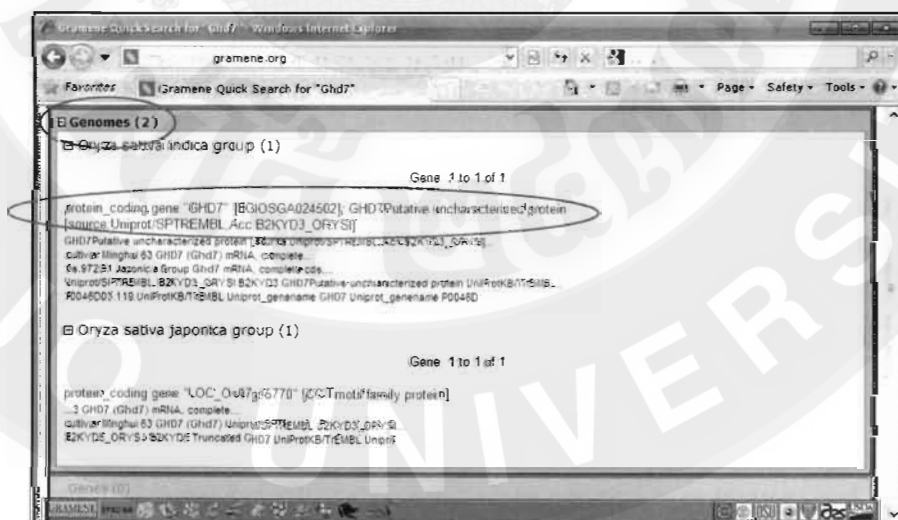
2.3 การหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Ghd7*

การหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Ghd7* จากตาราง supplementary table 18 มีขั้นตอนดังนี้

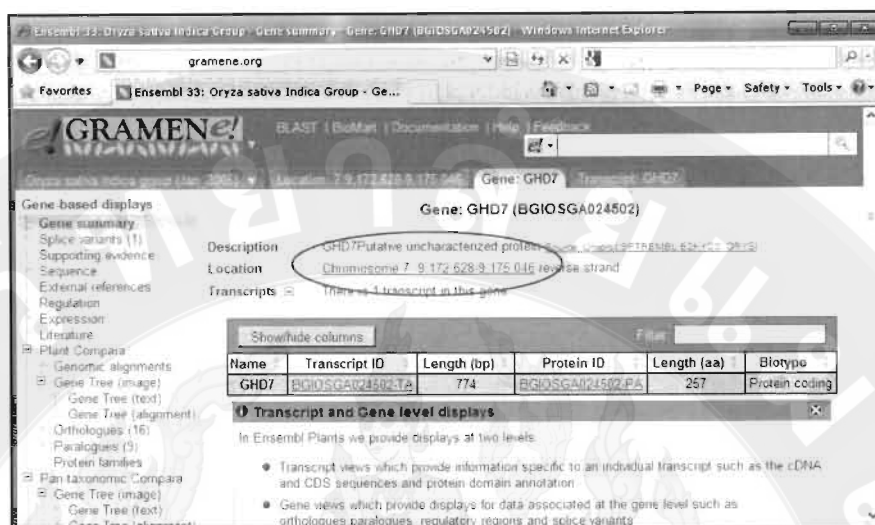
2.3.1 ค้นหาตำแหน่งของยีน *Ghd7* จากเว็บไซต์ Gramene ซึ่งจากการตรวจเอกสารมีรายงานว่า เป็นยีนที่ควบคุมปริมาณผลผลิตของข้าว (Xue *et al.*, 2008) โดยพิมพ์ *Ghd7* ในช่อง Quick Search แล้วกดค้นหา ดังภาพ



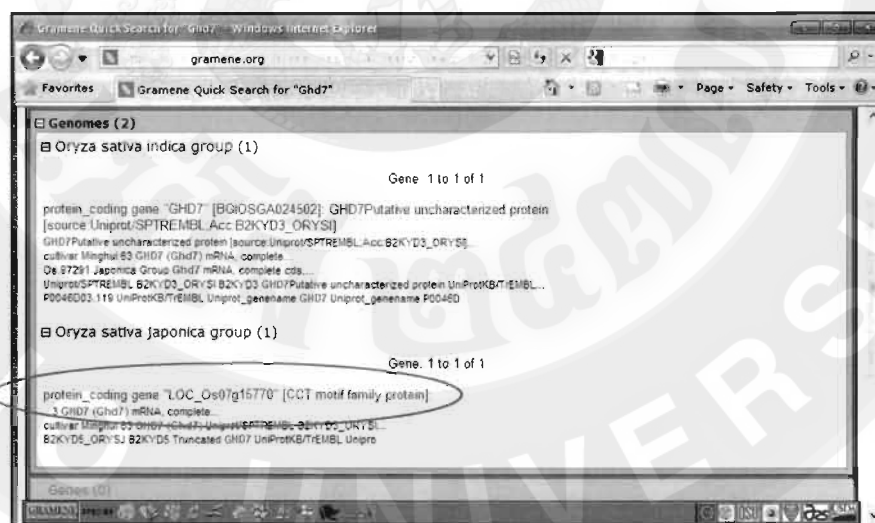
2.3.2 ผลการค้นหาลักษณะต่างซึ่งแสดงรายละเอียดของบริเวณที่เป็นยีน *Ghd7* แล้วเลือก Genome (2) ซึ่งยีน *Ghd7* นี้มีการศึกษาทั้งในข้าวอินดิกา และจาปอนิกา จากนั้นเลือก protein_coding gene "GHD7" [BGIOGA024502]: GHD7Putative uncharacterized protein [source:Uniprot/SPTREMBL;Acc:B2KYD3_ORYSI]



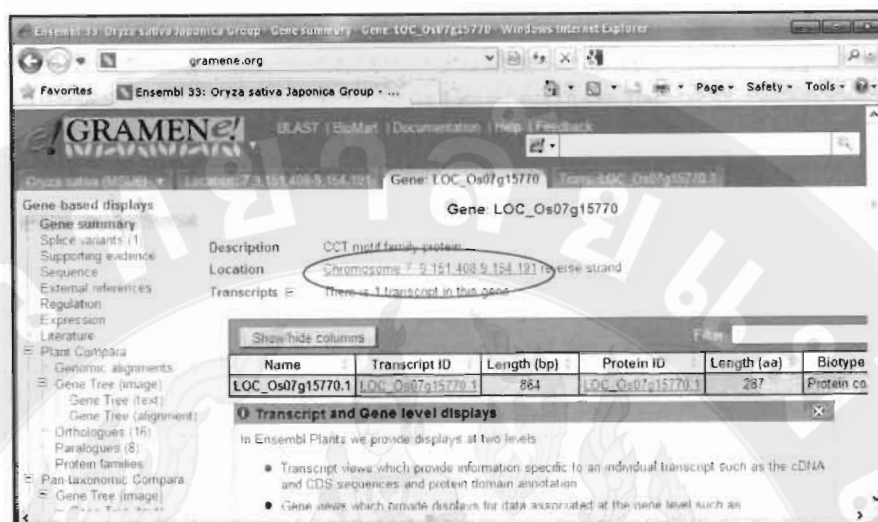
2.3.3 ปรากฏหน้าตาที่แสดงรายละเอียดของยีน *Ghd7* ในข้าวอินดิกา ซึ่งแสดงตำแหน่งและลำดับเบสของยีน โดยยีน *Ghd7* ในข้าวอินดิกานั้นตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 7 ตำแหน่งเบสที่ 9,172,628-9,175,046



2.3.4 จากนั้นย้อนกลับไปที่หน้าแสดงผลการค้นหา แล้วทำการเลือก protein_coding gene "LOC_Os07g15770" [CCT motif family protein]: เพื่อดูรายละเอียดของตำแหน่งของยีน *Ghd7* ในข้าวเจ้าปอนิกา



2.3.5 ปรากฏหน้าดังที่แสดงรายละเอียดของยีน *Ghd7* ในข้าวเจ้าปอนิกา ซึ่งแสดงตำแหน่งและลำดับเบสของยีน โดยยีน *Ghd7* ในข้าวเจ้าปอนิกานั้นตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 7 ตำแหน่งเบสที่ 9,151,408-9,154,191



2.3.6 เปิดตาราง supplementary table 18 ด้วยโปรแกรม excel แล้วหาคำแหน่งของยีน *Ghd7* ที่ครอบคลุมบริเวณที่เป็นยีนทั้งในข้าวอินดิกา และจาปอนิกา คือ ในช่วงตำแหน่งเบสที่ 9,151,408-9,175,046 โดยเลือกบริเวณที่ใกล้เคียงมากที่สุด ซึ่งจากตารางยีน *Ghd7* อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM21336 (เบสดำแหน่งที่ 9,151,105-9,151,271) และ RM21337 (เบสดำแหน่งที่ 9,184,423-9,184,462) จากนั้นแทรกแถวระหว่าง RM21336 และ RM21337 ทำแถบสีในบริเวณดังกล่าว สำหรับการอ้างอิงในการหา target linked marker

McCouch Locus_ID	Forward Primer	Reverse Primer	Expected Marker Length	SSR start	SSR end
RM21329	NA	NA	NA	8 904 601	8 904 622
RM21330	CTCATGCTTTTCAGTCATTTCAGTGC	TCCTGGATTCATGGTGTCTTTAGC	269	8 910 448	8 910 503
RM21331	ATATGGTCATTGGCTGGGAAAGAGG	CACCAATTATCCTGCGGTAGGC	147	8 996 056	8 996 083
RM21332	CAAGAACACGCTGACACCATAAGC	GGCTACCTCGACTACGGCAACC	186	9 036 131	9 036 150
RM21333	ATTCCAACGGTCCAGTTCAGAGG	CACGCAGTGTGGTGTGTAAGC	281	9 043 958	9 044 009
RM21334	GACTTGGGCGGCAGCTTATTC	TGTTGTCCACTCATCACACCTCTCC	356	9 071 275	9 071 310
RM5436	CAAAGGGGGTGTCTCTATG	GTTGCTCGTCTACATGTGC	NA	9 074 712	9 074 872
RM21335	TGAGCTGCACAAGACAGACAAGC	ACCATTGAACAGGATGGACTGG	194	9 107 916	9 107 949
RM21336	GTGCTTGCATATAACCTATA	AGATCAACCTTCTTATTAG	NA	9 151 105	9 151 271
	Ghd7			9,151,408	9,175,046
RM21337	NA	NA	NA	9 184 423	9 184 462
RM21338	NA	NA	NA	9 184 484	9 184 503
RM21339	CAGCTAGCTAGGGTTGTGAAATGC	GACCAAATCCATCCACAGATCG	196	9 187 154	9 187 174
RM21340	GGGAGAGCGAGAGCAAGAGAACG	TTGTTGTCACTTCCATGCCAATCC	289	9 275 340	9 275 359
RM21342	CTCCTGGTTCGCAAGAAGAAGG	CAAACAACAGCATCAGCATCACC	334	9 427 766	9 427 786
RM21344	GGATGTTGTTCTAACCCGTCAGG	CGAACTCAACAGACTACCCATACCC	326	9 490 111	9 490 134
RM21345	GCATGCTAAGCTGTAGAAGTTAGTGG	GCTACATGTACCGATCAGACC	389	9 522 000	9 522 029
RM21347	NA	NA	NA	9 538 686	9 538 735

2.3.7 เปรียบเทียบจำนวนเบสของเครื่องหมายโมเลกุล SSR แต่ละตัวที่อยู่ใกล้กับยีน *Ghd7* เพื่อหา target linked marker ซึ่งมีระยะจากทั้งสองข้างของยีน *Ghd7* ได้ถึง 95,000 เบส แล้วทำสัญลักษณ์ด้วยแถบสี

2.3.8 คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น target linked marker โดยคัดเลือกเฉพาะเครื่องหมายโมเลกุลที่มีลำดับเบสของไพรเมอร์แสดงไว้ในตาราง แล้วส่งส่งเคราะห์ไพรเมอร์ทั้งหมดจากบริษัท แปซิฟิค ไซเอ็นซ์ จำกัด

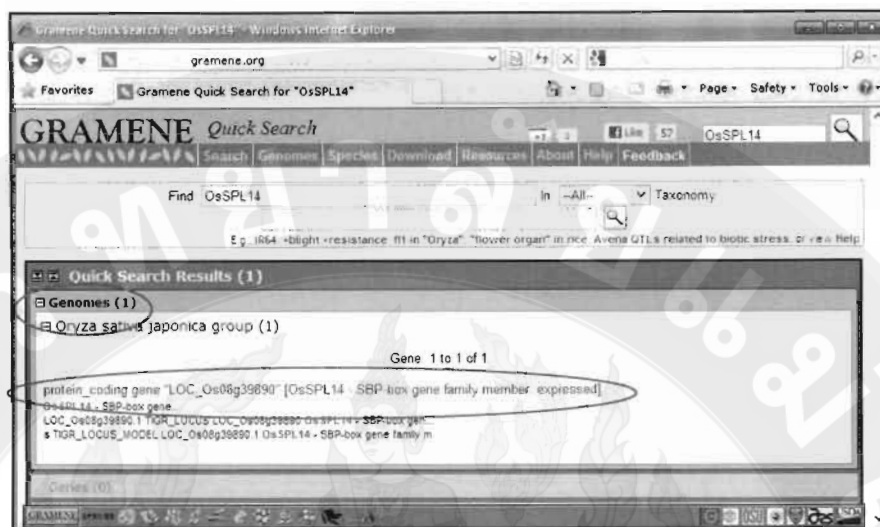
2.4 การหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *WFP*

การหาและคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *WFP* จากตาราง supplementary table 18 มีขั้นตอนดังนี้

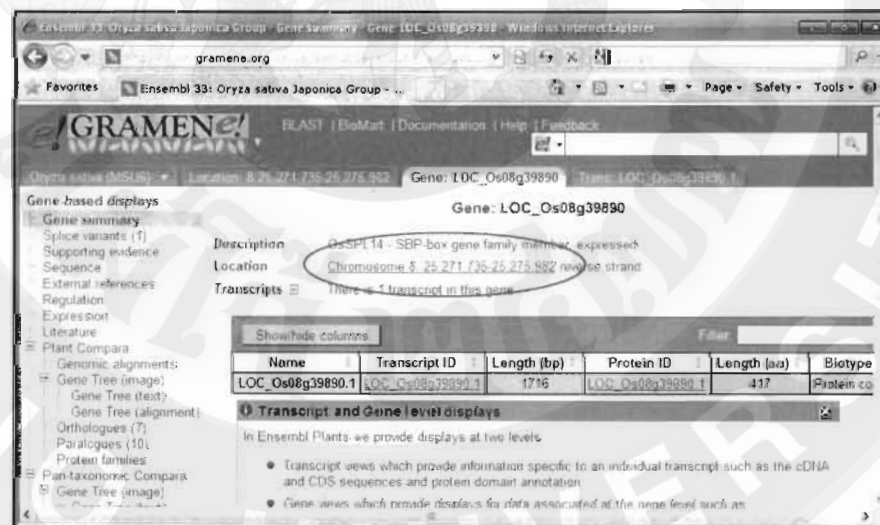
2.4.1 ค้นหาตำแหน่งของยีน *WFP* หรือยีน *OsSPL14* จากเว็บไซต์ Gramene ซึ่งมีรายงานว่าเป็ยีนที่แปลรหัสได้โปรตีน OsSPL14 (Miura *et al.*, 2010) โดยพิมพ์ OsSPL14 ในช่อง Quick Search แล้วกดค้นหา ดังภาพ



2.4.2 ผลการค้นหาปรากฏหน้าต่างซึ่งแสดงรายละเอียดของยีน *OsSPL14* แล้วเลือก Genome (1) จากนั้นเลือก protein_coding gene "LOC_Os08g39890" [OsSPL14 - SBP-box gene family member, expressed]:



2.4.3 ปราบกฏหน้าต่างที่แสดงรายละเอียดของยีน *OsSPL14* รวมถึงตำแหน่งและลำดับเบสของยีน โดยยีน *OsSPL14* หรือยีน *WFP* นั้นตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 8 ตำแหน่งเบสที่ 25,271,735-25,275,982



2.4.4 เปิดตาราง supplementary table 18 ด้วยโปรแกรม excel แล้วหาตำแหน่งของยีน *WFP* คือที่ตำแหน่งเบส 25,271,735-25,275,982 โดยเลือกบริเวณที่ใกล้เคียงมากที่สุด ซึ่งจากตารางยีน *WFP* อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM23425 (เบสตำแหน่งที่ 25,271,025-25,271,045) และ RM23426 (เบสตำแหน่งที่ 25,320,052-25,320,072) จากนั้นแทรกแถวระหว่าง RM23425 และ RM23426 ทำแถบสีในบริเวณดังกล่าว สำหรับการอ้างอิงในการหา target linked marker

McCouch Locus_ID	Forward Primer	Reverse Primer	Expected Marker Length	SSR start	SSR end
RM23416	NA	NA	NA	25 214 834	25 214 877
RM23417	NA	NA	NA	25 214 907	25 214 930
RM23418	NA	NA	NA	25 214 933	25 214 958
RM23419	ACCTGAGCTCGATGGTTCTTTCC	GCTCCCAACCAAGTATTCCTATCG	263	25 222 439	25 222 522
RM23420	GATGGGACATTCATTCACTCG	GACTGTGACAGGAGTAGCAGTAGTACG	371	25 232 869	25 232 888
RM23421	ATGGACATGTGGTTAAGCATCG	TGCCAAGTAAGGACATACTCTACTCC	234	25 246 335	25 246 372
RM23422	GTCGGTCACGAAGTTCAGATCC	TCAGGCCAAAGTTGAAGATGGTAGC	186	25 246 687	25 246 706
RM23423	CGGCGGATAGTTAAGAAGATCG	GCAGGTTACCGCAATAGCATCC	191	25 256 213	25 256 232
RM23424	NA	NA	NA	25 257 284	25 257 311
RM23425	TGGCGGCAGTAGTAGTCTTGATCC	GCCGTCTCGTCTTCCAAGG	168	25 271 025	25 271 045
	WFP			25,271,735	25,275,982
RM23426	CATCATGTGCGGTAGAACTCG	AGAGGTACAGTGGCAGCATCAGG	131	25 320 052	25 320 072
RM23427	AGGGAGTCGGAGACCATGACG	TACCGCGTATCATGTCTTGACG	150	25 333 966	25 333 986
RM23428	ACAGTACTAGCACAGCTGAAGGAAAGG	GCAGCGATAACACATTCTTGC	85	25 344 812	25 344 832
RM23429	CGGCGAGGTAGAAGGTGACG	CAGTGATTGTGTGACAGTGTGAGAGG	196	25 346 453	25 346 473
RM23430	AAAGCTAGCCAGGGTGAAGC	GAAATGGACAGAGGTATGATCGC	300	25 351 278	25 351 305
RM23431	NA	NA	NA	25 352 109	25 352 128
RM23432	GCCTTGAGGATAAGAACCACAGG	GAGGTTGGTAGATTGCGATTGG	174	25 373 578	25 373 598
RM23433	CTGCAACACCACTAAGTCTAGATCG	CCAAGAACAGCAAGAACAACC	262	25 373 795	25 373 838
RM23434	GGAATCCGGTACCACGAGAAGG	TCTCCTCTCAAGGATCCAAGACC	102	25 394 421	25 394 452
RM23435	CACGTTACATAGCTACCATACACG	GTAACGTTGTGACGCCCTCTGTCC	397	25 407 113	25 407 132
RM23436	TGAGTCACCGTGACCATCTCC	GTGGTGGTGGCAATCACTGTAGG	170	25 474 448	25 474 467

2.4.5 เปรียบเทียบจำนวนเบสของเครื่องหมายโมเลกุล SSR แต่ละตัวที่อยู่ใกล้กับยีน *WFP* เพื่อหา target linked marker ซึ่งมีระยะจากทั้งสองข้างของยีน *WFP* ได้ถึง 95,000 เบสแล้วทำสัญลักษณ์ด้วยแถบสี

2.4.6 คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น target linked marker โดยคัดเลือกเฉพาะเครื่องหมายโมเลกุลที่มีลำดับเบสของไพรเมอร์แสดงไว้ในตาราง แล้วตั้งสังเคราะห์ไพรเมอร์ทั้งหมดจากบริษัท แปซิฟิค ไชเอ็นซ์ จำกัด

การทดลองที่ 3 การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน

***Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง และคัดเลือก**

เครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 และ

ชัยนาท 1 กับพันธุ์ให้พันธุ์แปดริ้ว และเมืองไพร

เมื่อทำการคัดเลือกได้เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น target linked marker ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* แต่ละยีน แล้วทำการตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลแต่ละเครื่องหมาย เพื่อตรวจสอบว่าเครื่องหมายโมเลกุลใดสามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 และชัยนาท 1 กับพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ แปดริ้ว และเมืองไพรได้ ด้วยขั้นตอนการวิเคราะห์ ดังนี้

3.1 การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกได้กับข้าวพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้ คือ พันธุ์แปดริ้ว

3.1.1 เมื่อต้นข้าวพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว มีอายุ 15 วัน นำใบข้าวแต่ละต้นมาสกัดดีเอ็นเอเพื่อตรวจสอบความแตกต่างของจีโนไทป์ระหว่างข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป genomic DNA purification kit ของบริษัท Fermentas

3.1.2 เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยมีดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 พันธุ์แปดริ้ว และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับข้าวพันธุ์แปดริ้วซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F₁ ของกลุ่มผสมดังกล่าวเป็นแม่พิมพ์ โดยในแต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วย น้ำกลั่น ปริมาตร 1.5 µl สารละลาย 2x Promega's PCR green master mix (ประกอบด้วย 400 µM dNTPs reaction buffer (pH 9) 3 mM MgCl₂ และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase 0.1 units/µl) ปริมาตร 7.5 µl สารละลายไพรเมอร์ชนิด forward และ reverse ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* แต่ละเครื่องหมาย ที่ความเข้มข้น 3 µM ปริมาตร 2 µl และดีเอ็นเอแม่พิมพ์ (DNA template) ปริมาตร 2 µl รวมปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 15 µl เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยเครื่องพีซีอาร์รุ่น PCT-100 โดยตั้งโปรแกรมการทำงานที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ในขั้นตอน predenaturing แล้วเริ่มต้นการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในรอบที่ 1 ด้วยขั้นตอน denaturing ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที ทำปฏิกิริยาซ้ำอีกจำนวน 35 รอบ เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ และระยะ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที รวมระยะเวลาการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ประมาณ 3 ชั่วโมง 30 นาที

3.1.3 วิเคราะห์การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis) โดยอาศัยการเคลื่อนที่ผ่านวุ้นอะกาโรส (agarose) ที่ความเข้มข้น 4% ในสารละลาย TBE buffer ความเข้มข้น 1 เท่า โดยใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 80 โวลต์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นย้อมชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) เป็นเวลา 10 นาที ล้างสีย้อมส่วนที่เกินออกด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 5 นาที บันทึกภาพด้วยเครื่อง Gel Doc 2000 (บริษัท BIO-RAD Laboratory) โดยใช้ซอฟต์แวร์ Quantity One (บริษัท BIO-RAD Laboratory)

3.1.4 คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่ให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว ในกรณีที่ไม่มีพบเครื่องหมายโมเลกุลที่ให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ ต้องทำการหา และคัดเลือกเครื่องหมาย

โมเลกุลที่อยู่ใกล้กับยีนจากตาราง supplementary table 18 เพิ่ม แล้วทำการตรวจสอบด้วยวิธีการดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น

3.2 การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกได้กับข้าวพันธุ์รับชัณนาท 1 และพันธุ์ให้ คือ พันธุ์เมืองไทย

3.2.1 เมื่อต้นข้าวพันธุ์รับชัณนาท 1 และพันธุ์ให้เมืองไทย มีอายุ 15 วัน นำใบข้าวแต่ละต้นมาสกัดดีเอ็นเอเพื่อตรวจสอบความแตกต่างของจีโนมไทระหว่างข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป genomic DNA purification kit ของบริษัท Fermentas

3.2.2 เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยมีดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์รับชัณนาท 1 พันธุ์เมืองไทย และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์รับชัณนาท 1 กับข้าวพันธุ์เมืองไทยซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มผสมดังกล่าวเป็นแม่พิมพ์ โดยในแต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 1.5 μ l สารละลาย 2x Promega's PCR green master mix (ประกอบด้วย 400 μ M dNTPs reaction buffer (pH 9) 3 mM $MgCl_2$ และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase 0.1 units/ μ l) ปริมาตร 7.5 μ l สารละลายไพรเมอร์ชนิด forward และ reverse ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* แต่ละเครื่องหมาย ที่ความเข้มข้น 3 μ M ปริมาตร 2 μ l และดีเอ็นเอแม่พิมพ์ (DNA template) ปริมาตร 2 μ l รวมปริมาตรทั้งหมด เท่ากับ 15 μ l เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยเครื่องพีซีอาร์รุ่น PCT-100 โดยตั้งโปรแกรมการทำงานที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ในขั้นตอน predenaturing แล้วเริ่มต้นการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในรอบที่ 1 ด้วยขั้นตอน denaturing ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที ทำปฏิกิริยาซ้ำอีกจำนวน 35 รอบ เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ และระยะ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที รวมระยะเวลาการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ประมาณ 3 ชั่วโมง 30 นาที

3.2.3 วิเคราะห์การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis) โดยอาศัยการเคลื่อนที่ผ่านวุ้นอะกาโรส (agarose) ที่ความเข้มข้น 4% ในสารละลาย TBE buffer ความเข้มข้น 1 เท่า โดยใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 80 โวลต์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นย้อมชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) เป็นเวลา 10 นาที ถ้าง่ายส่วนที่เกินออกด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 5 นาที บันทึกภาพด้วยเครื่อง Gel Doc 2000 (บริษัท BIO-RAD Laboratory) โดยใช้ซอฟต์แวร์ Quantity One (บริษัท BIO-RAD Laboratory)

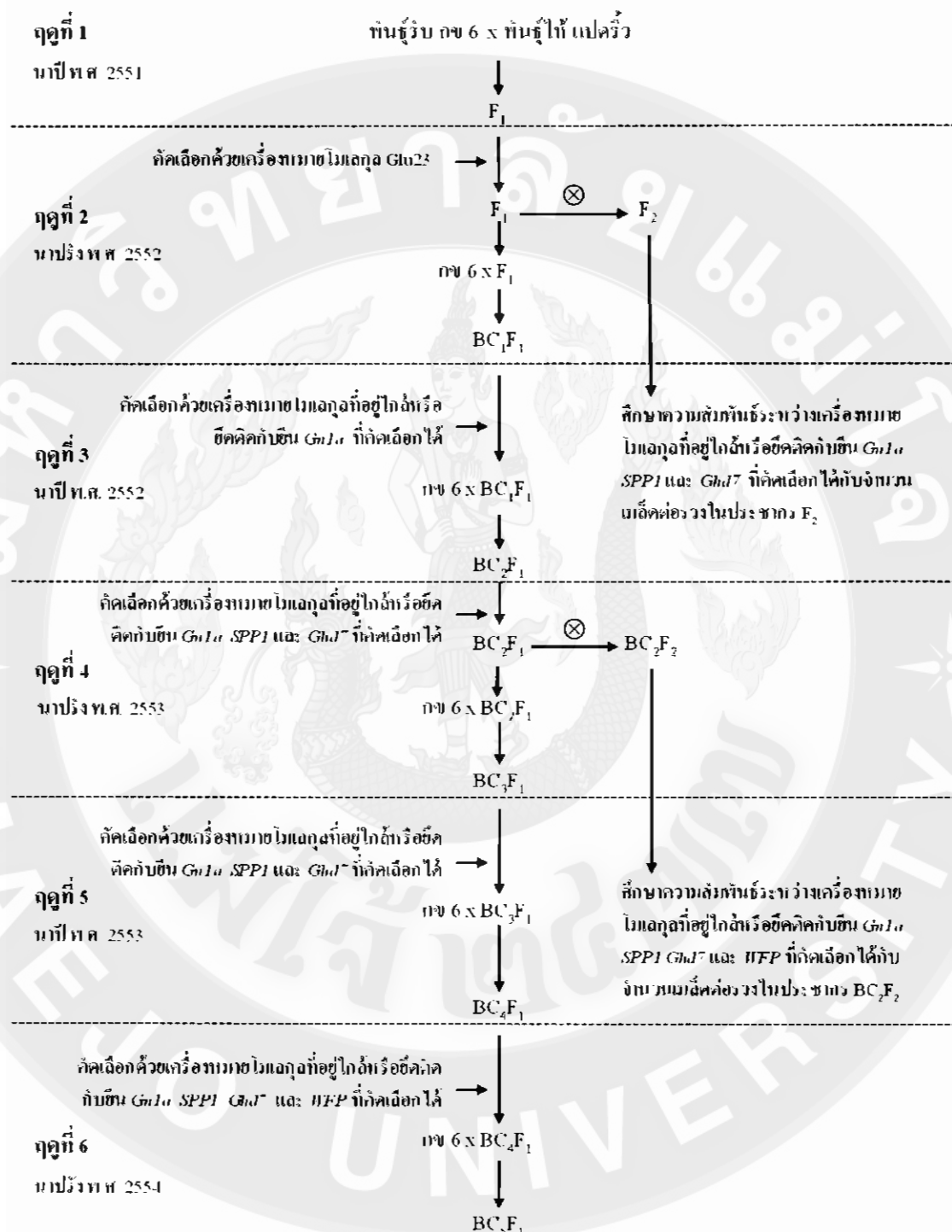
3.2.4 คัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่ให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์รับชั้นนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร ในกรณีที่ไม่พบเครื่องหมายโมเลกุลที่ให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ ต้องทำการหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้กับยีนจากตาราง supplementary table 18 เพิ่ม แล้วทำการตรวจสอบด้วยวิธีการดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น

การทดลองที่ 4 สร้างประชากรตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง กับจำนวนเมล็ดต่อรวง ได้แก่ ประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว ประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชั้นนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร

ทำการสร้างประชากรของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว และกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชั้นนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ซึ่งได้วางแผนการผสมพันธุ์ข้าว และสร้างประชากรของทั้งสองกลุ่มสม ดังนี้

4.1 กลุ่มสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับพันธุ์แปดริ้ว

วางแผนการผสมพันธุ์ข้าวของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้พันธุ์แปดริ้ว จำนวน 6 ถู ดังภาพ 9 ถูที่ 1 ทำการผสมพันธุ์ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 มีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 207 เมล็ด ซึ่งใช้เป็นพันธุ์รับ กับข้าวพันธุ์ให้ คือ พันธุ์แปดริ้วที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 266 เมล็ด ซึ่งคัดเลือกได้จากการทดลองที่ 1 เพื่อผลิตเมล็ด F_1 แล้วทำการคัดเลือกต้น F_1 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล *Glu23* ซึ่งใช้ตรวจสอบจีโนไทป์ระหว่างข้าวเหนียว และข้าวเจ้า (Wanchana *et al.*, 2003 อ้างโดย เจตศรัณย์, 2550) ในถู่ที่ 2-6 ทำการผสมกลับ 5 ครั้ง แล้วทำการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลในแต่ละชั่ว ซึ่งในถู่ที่ 3 ทำการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a* เท่านั้น เนื่องจากยังไม่พบเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPPI* และ *Ghd7* แต่ในถู่ที่ 4-5 สามารถหาเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPPI* และ *Ghd7* ได้เพิ่มเติมจึงใช้คัดเลือกต้น BC_2F_1 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส หลังจากการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a* ตามลำดับ



ภาพ 9 แสดงแผนผังการสร้างประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับพันธุ์ไห้แปดริ้ว เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดกับยีน *Glu1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

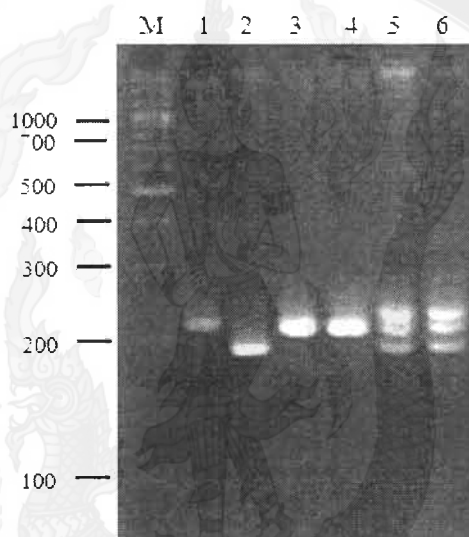
ในฤดูที่ 6 มีรายงานวิจัยของจีน *WFP* จึงทำการค้นหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *WFP* เพื่อใช้คัดเลือกลำต้น BC_4F_1 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส หลังจากการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ตามลำดับ นอกจากนี้ในฤดูที่ 2 ทำการผสมตัวเองของต้น F_1 เพื่อผลิตเมล็ด F_2 สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในฤดูที่ 3 และในฤดูที่ 4 ได้ทำการผสมตัวเองของต้น BC_2F_1 ที่ผ่านการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส เพื่อผลิตเมล็ด BC_2F_2 สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในฤดูที่ 5

การคัดเลือกลำต้น F_1 และต้น BC_nF_1 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับข้าวพันธุ์ไห่แปดริ้ว โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลทำได้โดยสกัดดีเอ็นเอข้าวพันธุ์ กข 6 ข้าวพันธุ์แปดริ้ว F_1 และ BC_nF_1 โดยใช้ชุดสำหรับสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (Genomic DNA Purification Kit ของบริษัท Fermentas) ดังวิธีการสกัดของบริษัท จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้มาเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 3 เป็นไพรเมอร์ ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ไห่แปดริ้ว แล้วตรวจสอบผลผลิตของพีซีอาร์ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส ดำเนินการเช่นเดียวกับวิธีที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น

เครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้คัดเลือก ได้แก่

(1) เครื่องหมายโมเลกุล Glu23 (Wanchana *et al.*, 2003 อ้างโดย เจตศรัณย์, 2550) ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 ซึ่งเป็นข้าวเหนียว กับข้าวพันธุ์ไห่แปดริ้วซึ่งเป็นข้าวเจ้า โดยในแต่ละปฏิกิริยาของการทำพีซีอาร์ประกอบด้วย สารละลาย 2x Promega's PCR green master mix (ประกอบด้วย 400 μ M dNTPs reaction buffer (pH 9) 3 mM $MgCl_2$ และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase 0.1 units/ μ l) ปริมาตร 7.5 μ l สารละลายไพรเมอร์ Glu23 ชนิด forward และ reverse ที่ความเข้มข้น 5 μ M ปริมาตร 2 μ l และดีเอ็นเอแม่พิมพ์ (DNA template) ปริมาตร 3.5 μ l รวมปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 15 μ l เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยเครื่องพีซีอาร์รุ่น PCT-100 โดยตั้งโปรแกรมการทำงานที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ในขั้นตอน predenaturing แล้วเริ่มต้นการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในรอบที่ 1 ด้วยขั้นตอน denaturing ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิ 64 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที ทำปฏิกิริยาซ้ำอีกจำนวน 35 รอบ เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ และระยะ final extension

ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที รวมระยะเวลาการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ประมาณ 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสตามวิธีการที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น ทำการคัดเลือกลำดับ F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ที่เป็นพันธุ์รับและข้าวเจ้าพันธุ์แปดริ้วที่เป็นพันธุ์ให้ ดังแสดงในภาพ 10



ภาพ 10 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์เมื่อใช้ Glu23 เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ สัญลักษณ์กำกับ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวเจ้าพันธุ์แปดริ้ว และเลนที่ 3-6 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของต้น F₁ ซึ่งต้นที่คัดเลือกได้อยู่ในเลนที่ 5 และ 6 เพราะมีขนาดของแถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์เท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว

(2) เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* ที่คัดเลือกได้ คือ RM10318 ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว ทำการคัดเลือกลำดับ BC_nF₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัสที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว

(3) เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *SPP1* ที่คัดเลือกได้ คือ RM10395 ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว ทำการคัดเลือกต้น BC_nF_1 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัสที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว

(4) เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Ghd7* ที่คัดเลือกได้ คือ RM21335 ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว ทำการคัดเลือกต้น BC_nF_1 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัสที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว

(5) เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* ที่คัดเลือกได้ คือ RM23428 ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว ทำการคัดเลือกต้น BC_nF_1 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัสที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว

วิธีการคัดเลือกต้น F_1 และต้น BC_nF_1 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลนั้นมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

4.1.1 การคัดเลือกต้น F_1 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

ต้น F_1 ที่ได้จากการผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 ซึ่งใช้เป็นพันธุ์รับ และข้าวพันธุ์ให้แปดริ้วที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 1 ถูกนำมาคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล *Glu23* ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 ซึ่งเป็นข้าวเหนียว กับพันธุ์ให้พันธุ์แปดริ้ว ซึ่งเป็นข้าวเจ้า โดยคัดเลือกต้น F_1 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว แสดงว่าเป็นต้นที่ไม่ได้เกิดจากการผสมตัวเองของต้น กข 6 จากนั้นนำต้น F_1 ที่คัดเลือกได้ผสมกลับไปหาข้าวพันธุ์รับ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC_nF_1 ขณะเดียวกันทำการผสมตัวเองของต้น F_1 เพื่อผลิตเมล็ด F_2 สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในฤดูที่ 3

4.1.2 การคัดเลือกต้น BC_nF_1 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

ต้น BC_nF_1 ที่ได้จากข้อ 4.1.1 ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อให้ได้ต้นที่ต้องการ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล คือ RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* เพียงเครื่องหมายเดียว เนื่องจากยังไม่พบเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *SPP1* และ *Ghd7* การคัดเลือกดำเนินการเช่นเดียวกับที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น โดยคัดเลือกต้น BC_nF_1 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว แสดงว่าเป็นต้นที่ไม่ได้เกิดจากการผสมตัวเองของต้น กข 6 และได้รับอัลลีลของยีน *Gn1a* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้แปดริ้ว จากนั้นนำต้น BC_nF_1 ที่คัดเลือกได้ผสมกลับไปหาข้าวพันธุ์ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC_nF_1

4.1.3 การคัดเลือกต้น BC₂F₁ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

ต้น BC₂F₁ ที่ได้จากข้อ 4.1.2 ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อให้ได้ต้นที่ต้องการโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a* ทำการคัดเลือกต้น BC₂F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว แสดงว่าเป็นต้นที่ไม่ได้เกิดจากการผสมตัวเองของต้น กข 6 และได้รับอัลลีลของยีน *Gn1a* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้แปดริ้ว จากนั้นนำต้น BC₂F₁ ที่คัดเลือกได้ทำการคัดเลือกต่อด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *SPP1* โดยทำการคัดเลือกต้น BC₂F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว ซึ่งเป็นต้นที่ได้รับอัลลีลของยีน *SPP1* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้แปดริ้ว จากนั้นทำการคัดเลือกต่อด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Ghd7* โดยคัดเลือกต้น BC₂F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว ซึ่งเป็นต้นที่ได้รับอัลลีลของยีน *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้แปดริ้ว ดังนั้นต้น BC₂F₁ ที่คัดเลือกได้นี้จะมียีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญสามยีนที่ได้รับจากพันธุ์ให้แปดริ้ว คือ *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* แล้วผสมกลับไปหาข้าวพันธุ์ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC₃F₁ ต่อไป ขณะเดียวกันทำการผสมตัวเองของต้น BC₂F₁ เพื่อผลิตเมล็ด BC₂F₂ สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในฤดูที่ 5

4.1.4 การคัดเลือกต้น BC₃F₁ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

ต้น BC₃F₁ ที่ได้จากข้อ 4.1.3 ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อให้ได้ต้นที่ต้องการโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่คัดเลือกได้ ดังเช่นวิธีการเดียวกับข้อ 4.1.3 ซึ่งต้น BC₃F₁ ที่คัดเลือกได้จะมียีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญสามยีนที่ได้รับจากพันธุ์ให้แปดริ้ว คือ *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* แล้วผสมกลับไปหาข้าวพันธุ์ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC₄F₁ ต่อไป ขณะเดียวกันทำการผสมตัวเองของต้น BC₃F₁ เพื่อผลิตเมล็ด BC₃F₂

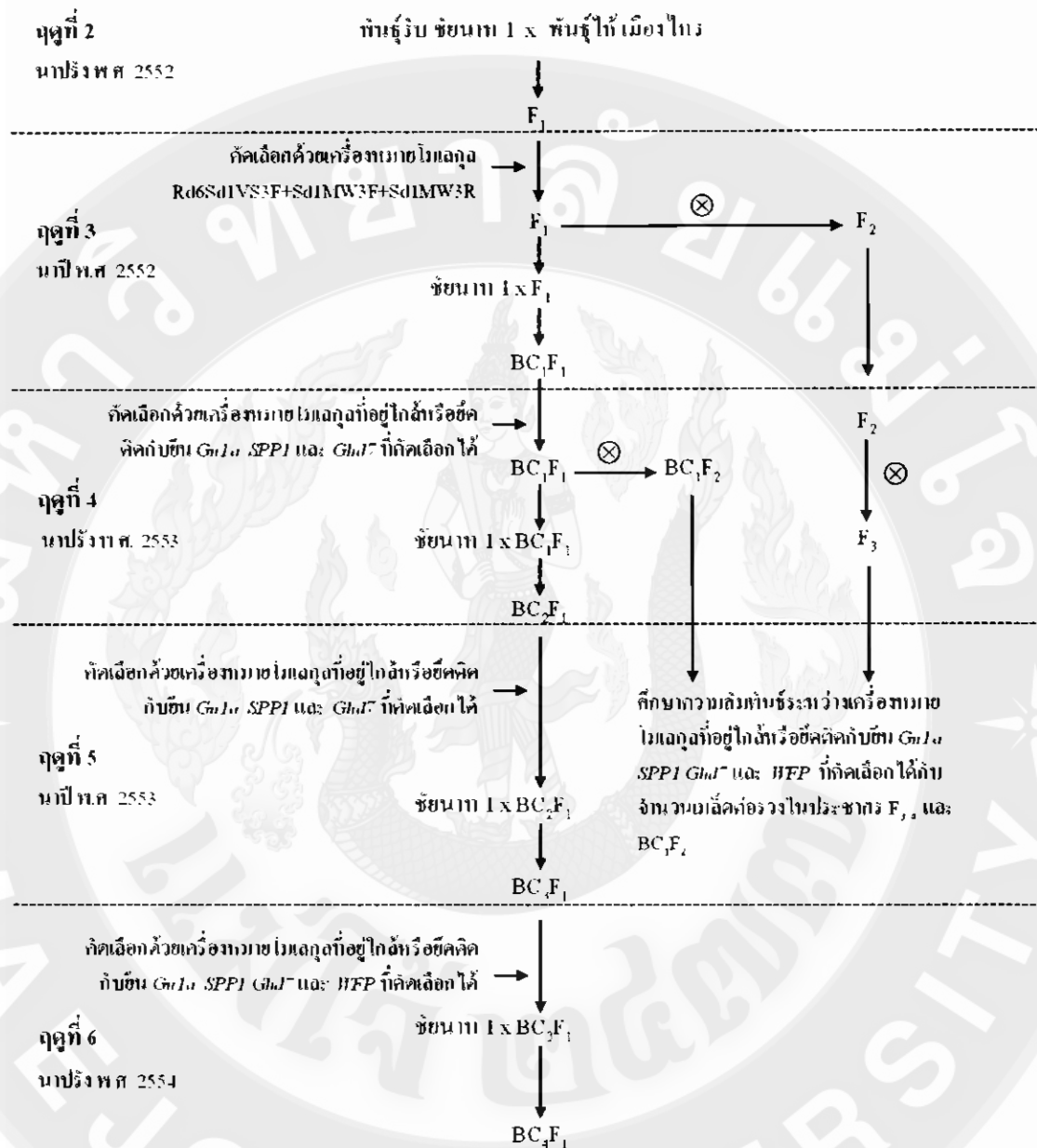
4.1.5 การคัดเลือกต้น BC₄F₁ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

ต้น BC₄F₁ ที่ได้จากข้อ 4.1.4 ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อให้ได้ต้นที่ต้องการโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *WFP* คัดเลือกต้น BC₄F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว แสดงว่าเป็นต้นที่ไม่ได้เกิดจากการผสมตัวเองของต้น กข 6 และได้รับอัลลีลของยีน *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้แปดริ้ว จากนั้นนำต้น BC₄F₁ ที่คัดเลือกได้ทำการคัดเลือกต่อด้วย

เครื่องหมายโมเลกุล RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *SPP1* โดยคัดเลือกต้น BC₄F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว ซึ่งเป็นต้นที่ได้รับอัลลีลของยีน *SPP1* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้แปดริ้ว จากนั้นทำการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* คัดเลือกต้น BC₄F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว ซึ่งเป็นต้นที่ได้รับอัลลีลของยีน *Gn1a* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้แปดริ้ว และคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Ghd7* คัดเลือกต้น BC₄F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว ซึ่งเป็นต้นที่ได้รับอัลลีลของยีน *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้แปดริ้ว ดังนั้นต้น BC₄F₁ ที่คัดเลือกได้นี้จะมียีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้งสี่ยีนที่ได้รับจากพันธุ์ให้แปดริ้ว คือ *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* แล้วทำการผสมตัวเองของต้น BC₄F₁ เพื่อผลิตเมล็ด BC₄F₂ สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงต่อไป

4.2 กลุ่มสมของข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 กับพันธุ์เมืองไทย

วางแผนการผสมพันธุ์ข้าวของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 กับพันธุ์เมืองไทย ดังภาพ 11 โดยเริ่มต้นการผสมในฤดูที่ 2 ทำการผสมพันธุ์ข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 ซึ่งมีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 133 เมล็ด ใช้เป็นพันธุ์รับ กับข้าวพันธุ์ให้ คือ พันธุ์เมืองไทยที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 338 เมล็ด ซึ่งคัดเลือกได้จากการทดลองที่ 1 เพื่อผลิตเมล็ด F₁ แล้วทำการคัดเลือกต้น F₁ ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R (กมลทิพย์, 2551) ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่ให้แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์แตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 ซึ่งเป็นข้าวต้นเตี้ย (113 เซนติเมตร) กับข้าวพันธุ์เมืองไทยที่เป็นข้าวต้นสูง (166 เซนติเมตร) ในฤดูที่ 3-6 ทำการผสมกลับ 4 ครั้ง แล้วทำการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลในแต่ละชั่ว ซึ่งในฤดูที่ 3-5 ทำการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* เท่านั้น และในฤดูที่ 6 มีรายงานวิจัยของยีน *WFP* จึงทำการค้นหาและคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* เพื่อใช้คัดเลือกต้น BC₃F₁ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส หลังจากการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ตามลำดับ



ภาพ 11 แสดงแผนผังการสร้างประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ชัยนาท 1 กับพันธุ์ไห้เมืองไทร เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน $Gn1a$, $SPP1$, $Ghd7$ และ WFP ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

นอกจากนี้ในฤดูที่ 3 ทำการผสมตัวเองของต้น F_1 เพื่อผลิตเมล็ด F_2 จากนั้นนำไปปลูกในฤดูที่ 4 แล้วทำการผสมตัวเองของต้น F_2 เพื่อผลิตเมล็ด F_3 เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน $Gn1a$, $SPP1$, $Ghd7$ และ WFP ที่ควบคุม

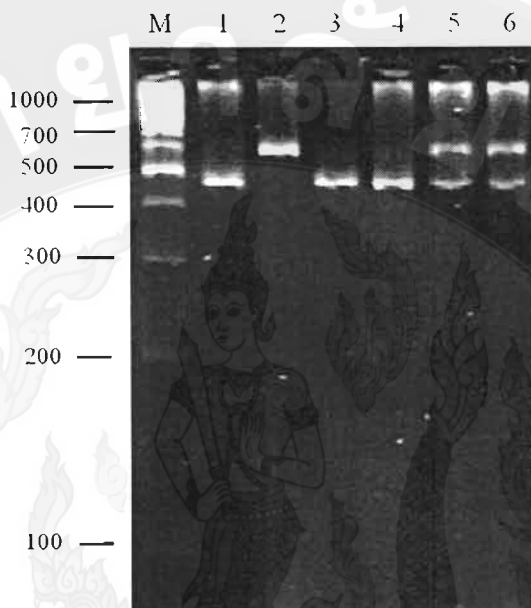
ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในฤดูที่ 5 สำหรับในฤดูที่ 4 ทำการผสมตัวเองของต้น BC_nF_1 ที่คัดเลือกได้ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* มี จีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส เพื่อผลิตเมล็ด BC_nF_2 สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในฤดูที่ 5

การคัดเลือกต้น F_1 และต้น BC_nF_1 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ชยันนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไพร โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลทำได้โดยสกัดดีเอ็นเอข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 ข้าวพันธุ์เมืองไพร F_1 และ BC_nF_1 โดยใช้ชุดสำหรับสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (Genomic DNA Purification Kit ของบริษัท Fermentas) ดังวิธีการสกัดของบริษัท จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้มาเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 3 เป็นไพรเมอร์ ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์รับชยันนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพร แล้วตรวจผลผลิตของพีซีอาร์ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส ดำเนินการเช่นเดียวกับวิธีที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น

เครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้คัดเลือก ได้แก่

(1) เครื่องหมายโมเลกุล $Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R$ (กมลทิพย์, 2551) ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์รับชยันนาท 1 ซึ่งเป็นข้าวต้นเตี้ยมีความสูง 113 เซนติเมตร กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไพรซึ่งเป็นข้าวต้นสูงมีความสูง 166 เซนติเมตร โดยในแต่ละปฏิกิริยาของการทำพีซีอาร์ประกอบด้วย สารละลาย 2x Promega's PCR green master mix (ประกอบด้วย 400 μ M dNTPs reaction buffer (pH 9) 3 mM $MgCl_2$ และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase 0.1 units/ μ l) ปริมาตร 7.5 μ l สารละลายไพรเมอร์ $Rd6Sd1VS3F$ และไพรเมอร์ $Sd1MW3$ ชนิด forward และ reverse ที่ความเข้มข้น 5 μ M ปริมาตร 1.3 μ l และดีเอ็นเอแม่พิมพ์ (DNA template) ปริมาตร 3.5 μ l รวมปริมาตรทั้งหมด เท่ากับ 14.9 μ l เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยเครื่องพีซีอาร์รุ่น PCT-100 โดยตั้งโปรแกรมการทำงานที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ในขั้นตอน predenaturing แล้วเริ่มต้นการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในรอบที่ 1 ด้วยขั้นตอน denaturing ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที ทำปฏิกิริยาซ้ำอีกจำนวน 35 รอบ เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ และระยะ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที รวมระยะเวลาการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ประมาณ 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นทำการวิเคราะห์การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสตามวิธีการที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น แล้วทำการคัดเลือกต้น F_1 ที่มีจีโนไทป์แบบ

เฮทเทอโรไซกัส ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งข้าวพันธุ์ชยันต 1 ที่เป็นพันธุ์รับ และข้าวพันธุ์เมืองไทยที่เป็นพันธุ์ให้ ดังแสดงในภาพ 12



ภาพ 12 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์เมื่อใช้ Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ สัญลักษณ์กำกับ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ชยันต 1 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์เมืองไทย เลนที่ 3 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ที่ใช้ดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ชยันต 1 กับข้าวพันธุ์เมืองไทย แทนตัวอย่าง F₁ เลนที่ 4-6 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของต้น F₁ ซึ่งต้นที่คัดเลือกได้อยู่ในเลนที่ 5 และ 6 เพราะมีขนาดของแถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์เท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้งชยันต 1 และเมืองไทย

(2) เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* ที่คัดเลือกได้ คือ RM10316 ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์รับชยันต 1 และพันธุ์ให้เมืองไทย ทำการคัดเลือkdต้น BC_nF₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮทเทอโรไซกัสที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งชยันต 1 และเมืองไทย

(3) เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *SPP1* ที่คัดเลือกได้ คือ RM10402 ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์รับชยันต 1 และพันธุ์ให้เมืองไทย

ทำการคัดเลือกต้น BC_nF_1 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัสที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไท

(4) เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Ghd7* ที่คัดเลือกได้ คือ RM21330 ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์รับชั้นนาท 1 และพันธุ์ให้เมืองไท ทำการคัดเลือกต้น BC_nF_1 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัสที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไท

(5) เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* ที่คัดเลือกได้ คือ RM23433 ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างพันธุ์รับชั้นนาท 1 และพันธุ์ให้เมืองไท ทำการคัดเลือกต้น BC_nF_1 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัสที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไท

วิธีการคัดเลือกต้น F_1 และต้น BC_nF_1 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลนั้นมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

4.2.1 การคัดเลือกต้น F_1 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

ต้น F_1 ที่ได้จากการผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชั้นนาท 1 ซึ่งใช้เป็นพันธุ์รับ และข้าวพันธุ์ให้ คือพันธุ์เมืองไท ที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 1 ถูกนำมาคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R ซึ่งให้ขนาดของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์รับชั้นนาท 1 ซึ่งเป็นข้าวต้นเดี่ยว กับพันธุ์ให้ พันธุ์เมืองไท ซึ่งเป็นข้าวต้นสูง โดยคัดเลือกต้น F_1 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไท แสดงว่าเป็นต้นที่ไม่ได้เกิดจากการผสมตัวเองของต้นชั้นนาท 1 จากนั้นนำต้น F_1 ที่คัดเลือกได้ผสมกลับไปหาข้าวพันธุ์รับชั้นนาท 1 เพื่อผลิตเมล็ด BC_nF_1 ขณะเดียวกันทำการผสมตัวเองของต้น F_1 เพื่อผลิตเมล็ด F_2 สำหรับใช้สร้างประชากร F_2 ในฤดูที่ 4 เพื่อผลิตเมล็ด F_3 สำหรับนำไปใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในฤดูที่ 5

4.2.2 การคัดเลือกต้น BC_nF_1 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

ต้น BC_nF_1 ที่ได้จากข้อ 4.2.1 ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อให้ได้ต้นที่ต้องการโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* โดยคัดเลือกต้น BC_nF_1 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไท แสดงว่าเป็นต้นที่ไม่ได้เกิดจากการผสมตัวเองของต้นชั้นนาท 1 และได้รับอัลลีลของยีน *Gn1a* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้เมืองไท จากนั้นนำต้น BC_nF_1 ที่คัดเลือกได้ทำการคัดเลือกต่อด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *SPP1* คัดเลือกต้น

BC₁F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบดีเอ็นเอของทั้ง ชัยนาท 1 และเมืองไทย ซึ่งเป็นต้นที่ได้รับอัลลีลของยีน *SPPI* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง จากพันธุ์ให้เมืองไทย ทำการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Ghd7* คัดเลือกต้น BC₁F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับแถบ ดีเอ็นเอของทั้งชัยนาท 1 และเมืองไทย ซึ่งเป็นต้นที่ได้รับอัลลีลของยีน *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะ จำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้เมืองไทย ดังนั้นต้น BC₁F₁ ที่คัดเลือกได้นี้จะมียีนที่ควบคุมลักษณะ จำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญสามยีนที่ได้รับจากพันธุ์ให้เมืองไทย คือ *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* แล้ว ผสมกลับไปหาข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เพื่อผลิตเมล็ด BC₂F₁ ต่อไป ขณะเดียวกันทำการผสมตัวเองของต้น BC₁F₁ เพื่อผลิตเมล็ด BC₂F₂ เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวน เมล็ดต่อรวงในฤดูที่ 5

4.2.3 การคัดเลือกต้น BC₂F₁ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

ต้น BC₂F₁ ที่ได้จากข้อ 4.2.2 ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อให้ได้ต้นที่ต้องการโดยใช้ เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ที่คัดเลือกได้ ดังเช่นวิธีการ เดียวกับข้อ 4.2.2 ซึ่งต้น BC₂F₁ ที่คัดเลือกได้จะมียีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญ สามยีนที่ได้รับจากพันธุ์ให้เมืองไทย คือ *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* แล้วผสมกลับไปหาข้าวพันธุ์ ชัยนาท 1 เพื่อผลิตเมล็ด BC₃F₁ ต่อไป ขณะเดียวกันทำการผสมตัวเองของต้น BC₂F₁ เพื่อผลิตเมล็ด BC₂F₂

4.2.4 การคัดเลือกต้น BC₃F₁ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

ต้น BC₃F₁ ที่ได้จากข้อ 4.2.3 ถูกนำมาคัดเลือกเพื่อให้ได้ต้นที่ต้องการโดยใช้ เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ที่คัดเลือกได้ ดังเช่นวิธีการ เดียวกับข้อ 4.2.3 จากนั้นคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* ทำการคัดเลือกต้น BC₃F₁ ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส คือมีขนาดของแถบดีเอ็นเอเท่ากับ แถบดีเอ็นเอของทั้งชัยนาท 1 และเมืองไทย ซึ่งเป็นต้นที่ได้รับอัลลีลของยีน *WFP* ที่ควบคุมลักษณะ จำนวนเมล็ดต่อรวงจากพันธุ์ให้เมืองไทย ดังนั้นต้น BC₃F₁ ที่คัดเลือกได้จะมียีนที่ควบคุมลักษณะ จำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญสี่ยีนที่ได้รับจากพันธุ์ให้เมืองไทย คือ *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* แล้วทำการผสมตัวเองของต้น BC₃F₁ เพื่อผลิตเมล็ด BC₃F₂ สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของ เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะ จำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงต่อไป

4.3 การผลิตเมล็ดเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

การผลิตเมล็ดเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ใช้เมล็ด F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว ที่ผลิตได้ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552 และฤดูนาปี พ.ศ. 2553 ตามลำดับ สำหรับกลุ่มผสมของข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพรใช้เมล็ด F_2 และ BC_2F_2 ที่ผลิตได้ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 ทำการสร้างประชากรจากเมล็ดดังกล่าวเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรดังกล่าวในฤดูนาปี พ.ศ. 2553

การทดลองที่ 5 การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์แปดริ้ว

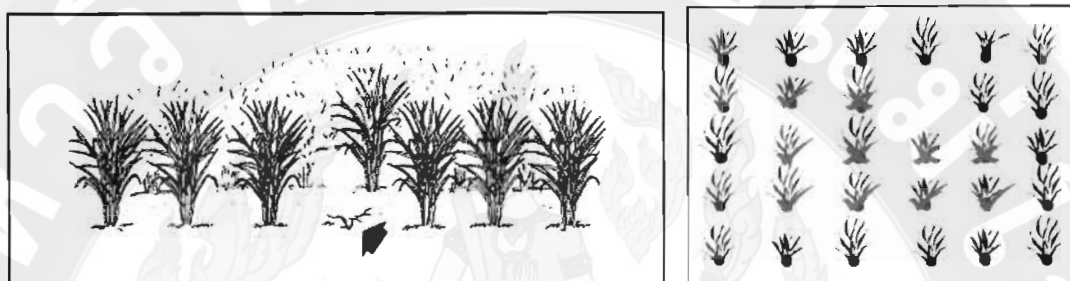
ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้งสิ้น ได้แก่ ยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือพันธุ์แปดริ้ว โดยทำการศึกษาทั้งหมดสองฤดู ได้แก่ ฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2552 ใช้ประชากร F_2 และฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 ใช้ประชากร BC_2F_2 ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ได้จากข้อมูลฟีโนไทป์ และจีโนไทป์ของประชากรดังกล่าว

5.1 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

5.1.1 การเก็บข้อมูลฟีโนไทป์

ทำการเก็บข้อมูลฟีโนไทป์โดยสุ่มเก็บรวงข้าวของต้น F_2 และ BC_2F_2 ที่มีอัตราการแข่งขันเท่ากัน กล่าวคือ เก็บตัวอย่างต้นข้าวที่มีต้นข้าวกออื่นขนานข้างครบทั้งสี่ด้าน หรือในกรณีที่มีต้นข้าวตาย ห้ามเก็บต้นข้าวกอที่อยู่ด้านข้างทั้งสี่ด้าน ดังภาพ 13 เนื่องจากต้นข้าวดังกล่าวจะได้รับอาหารมากกว่าต้นข้าวที่มีต้นข้าวกออื่นขนานข้างครบทั้งสี่ด้าน ข้อมูลที่ได้จึงคลาดเคลื่อน ทำการ

รวบรวมรวงข้าวทั้งหมดในแต่ละกอ แล้วเก็บรวงข้าวที่อยู่บนตำแหน่งสูงที่สุดของแต่ละกอ จำนวน 5 รวง ทำการแยกเก็บแต่ละกอ จากนั้นทำการนับจำนวนเมล็ดดี และเมล็ดลีบรวมกันทั้งหมด แล้วคำนวณค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อรวงสำหรับแต่ละต้นเพื่อใช้เป็นข้อมูลฟีโนไทป์สำหรับการวิเคราะห์



ภาพ 13 แสดงแผนภาพการเก็บตัวอย่างต้นข้าวที่มีอัตราการแข่งขันเท่ากัน

หมายเหตุ เครื่องหมายถูกแสดงต้นข้าวที่สามารถใช้เป็นตัวอย่างได้ และเครื่องหมายกากบาทแสดงต้นข้าวที่ไม่สามารถใช้เป็นตัวอย่างได้

ที่มา: Gomez (1972)

5.1.2 การตรวจสอบจีโนไทป์

ทำการตรวจสอบจีโนไทป์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้งสิ้น ซึ่งคัดเลือกได้จากการทดลองที่ 3.1 ได้แก่ ยีน *Gn1a* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10318 ยีน *SPPI* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10395 ยีน *Ghd7* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM21335 และยีน *WFP* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM23428 โดยประชากร F_2 และ BC_2F_2 จะมีการกระจายตัวของยีนได้จีโนไทป์ 3 แบบ คือ homozygous ของพันธุ์รับ homozygous ของพันธุ์ให้ และ heterozygous ซึ่งตัวอย่างต้นข้าวที่มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 ต้นข้าวที่มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 และต้นข้าวที่มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 เพื่อใช้เป็นข้อมูลของจีโนไทป์สำหรับการวิเคราะห์

5.1.3 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

นำข้อมูลฟีโนไทป์ และจีโนไทป์ที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ (regression) ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญ

ทั้งสี่ชิ้น ได้แก่ ยีน *Gn1a*, *SPPI1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้ กับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี single regression analysis เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีนแต่ละยีนนั้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือไม่ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป statistical analysis system (SAS) version 8 ในการวิเคราะห์

5.2 การวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

ทำการวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่งด้วยวิธี multiple-locus regression analysis เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีนแต่ละยีนทั้งหมดนั้นเครื่องหมายใดมีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุดในประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับพันธุ์แปดริ้ว

การทดลองที่ 6 การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ชยันนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์เมืองไพร

ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้งสี่ชิ้น ได้แก่ ยีน *Gn1a*, *SPPI1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ชยันนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้พันธุ์เมืองไพร ทำการศึกษาในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 โดยใช้ประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ได้จากข้อมูลฟีโนไทป์ และจีโนไทป์ของประชากรดังกล่าว

6.1 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

6.1.1 การเก็บข้อมูลฟีโนไทป์

ทำการเก็บข้อมูลฟีโนไทป์โดยทำการสุ่มเก็บรวงข้าวของต้น $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ที่มีอัตราการแข่งขันเท่ากัน เช่นเดียวกับการเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ในข้อที่ 5.1.1 ดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น

6.1.2 การตรวจสอบจีโนไทป์

ทำการตรวจสอบจีโนไทป์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้งสี่ยีน ซึ่งคัดเลือกได้จากการทดลองที่ 3.2 ได้แก่ ยีน *Gn1a* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10316 ยีน *SPP1* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10402 ยีน *Ghd7* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM21330 และยีน *WFP* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM23433 โดยประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 จะมีการกระจายตัวของยีนได้จีโนไทป์ 3 แบบ คือ homozygous ของพันธุ์รับ homozygous ของพันธุ์ให้ และ heterozygous ซึ่งตัวอย่างต้นข้าวที่มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 ต้นข้าวที่มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 และต้นข้าวที่มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 เพื่อใช้เป็นข้อมูลของจีโนไทป์สำหรับการวิเคราะห์

6.1.3 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

นำข้อมูลฟีโนไทป์ และจีโนไทป์ที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ (regression) ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้งสี่ยีน ได้แก่ ยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้ กับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี single regression analysis เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีนแต่ละยีนนั้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือไม่ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป statistical analysis system (SAS) version 8 ในการวิเคราะห์ข้อมูล

6.2 การวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

ทำการวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่งด้วยวิธี multiple-locus regression analysis เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีนแต่ละยีนทั้งหมดนั้นเครื่องหมายใดมีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุดในประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับพันธุ์เมืองไทย

สถานที่ และระยะเวลาในการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

1. การวิจัยทางด้านชีวโมเลกุล ทำงานวิจัยทางด้านชีวโมเลกุลที่ห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์โมเลกุลของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่
2. การวิจัยทางการผสมพันธุ์ข้าว ทำการผสมพันธุ์ข้าวที่โรงเรียนกระเจกของศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่
3. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวง ทำการศึกษาในพื้นที่บริเวณฟาร์มวิจัยและพัฒนาการผลิตพืชไร่ของภาควิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

ระยะเวลาการทำวิจัย

การศึกษาเรื่องการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากขึ้น ใช้ระยะเวลาประมาณ 3 ปี 4 เดือน โดยเริ่มตั้งแต่เดือน มีนาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2554

บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์

การศึกษานี้ทำการทดลองทั้งหมด 6 การทดลอง คือ

1. การคัดเลือกข้าวพันธุ์ให้ (donor parent) ที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก เพื่อใช้สร้างกลุ่มประชากรตัวอย่างสำหรับศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรตัวอย่างที่สร้างขึ้น
2. การหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ ซึ่งเป็นเครื่องหมายชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง
3. การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง และคัดเลือกเครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 และชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้พันธุ์แปดริ้ว และเมืองไทย
4. สร้างประชากรตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ได้แก่ ประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว ประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทย
5. การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์แปดริ้ว
6. การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ชัชนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์เมืองไทย

ผลการทดลองที่ 1 การคัดเลือกข้าวพันธุ์ให้ (donor parent) ที่มีลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก เพื่อใช้สร้างกลุ่มประชากรตัวอย่างสำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรตัวอย่างที่สร้างขึ้น

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในกลุ่มประชากรตัวอย่าง เพื่อพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมาก โดยทำการศึกษาในประชากรตัวอย่างใช้ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 และข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นพันธุ์รับ แล้วทำการคัดเลือกข้าวพันธุ์ให้ (donor parent) จากรายงานพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก (วรารักษ์, 2551) ซึ่งได้รวบรวม และศึกษาข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก และข้าวพันธุ์ต่างๆ ทั้งหมด 43 พันธุ์ โดยทำการคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุดประกอบกับลักษณะความสูง และอายุวันออกดอก ซึ่งข้าวแต่ละพันธุ์มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อรวงเรียงลำดับจากมากที่สุดไปหาน้อยที่สุดดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 ข้อมูลลักษณะความสูง อายุออกดอก และจำนวนเมล็ดทั้งหมดของข้าวพันธุ์พื้นเมืองและข้าวไทยที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ พันธุ์ต่างๆ ทั้งหมด 43 พันธุ์

ลำดับ	พันธุ์	ความสูง (เซนติเมตร)	อายุออกดอก (วัน)	จำนวนเมล็ดทั้งหมด (เมล็ด)
1	เมืองไทย	166	145	338
2	แปดริ้ว	212	128	266
3	เมืงมะเขือ	181	138	264
4	ข้าวแก้วคอ	210	107	262
5	ช่อสูง	222	147	261
6	เหลืองหอม	214	147	261
7	นางพญา 132	203	147	256
8	หวัน 2	198	115	255
9	หวัน 1	185	117	253
10	งวงช้าง	203	147	249

ตาราง 1 (ต่อ)

ลำดับ	พันธุ์	ความสูง (เซนติเมตร)	อายุออกดอก (วัน)	จำนวนเมล็ดทั้งหมด (เมล็ด)
11	กข 13	201	147	249
12	ข้าวเหนียวแดง	208	119	247
13	เจ็มทอง	200	147	245
14	ข้าวแม่ผึ้ง	205	120	230
15	กันดั้	205	147	226
16	ข้าวขาบดำ	204	107	224
17	ข้าวทองมะโร	209	110	224
18	ข้าวเล้าแตก	186	117	224
19	ข้าวกรุง	226	119	220
20	ข้าวหล่ม	204	110	219
21	ข้าวหมากแขก	192	107	214
22	ข้าวอิฐขาว	209	119	212
23	ข้าวกำ	188	119	212
24	ข้าวพ้อมข	202	107	210
25	ข้าวเหลืองพันธุ์งาม	204	107	207
26	กข 6	195	113	207
27	ทรายทอง	205	147	206
28	แบ้วเคือ	146	84	204
29	ข้าวนางหก	197	107	204
30	ข้าวเหนียว	205	115	196
31	ข้าวแดงอ่อน	219	119	195
32	ข้าวดวงจันทร์	206	111	195
33	นาแต่	160	87	188
34	กข 10	126	107	181
35	ดอกพะยอม	151	97	179
36	จาเอี	169	84	165

ตาราง 1 (ต่อ)

ลำดับ	พันธุ์	ความสูง (เซนติเมตร)	อายุออกดอก (วัน)	จำนวนเมล็ดทั้งหมด (เมล็ด)
37	บือโพปริ	113	86	165
38	สันป่าตอง 1	133	100	164
39	ข้าวเหลือง (ด๊ะ)	125	83	131
40	จานอสี	117	84	120
41	บือกะ	140	84	118
42	Taichung 65	113	88	116
43	จากอลอย จาเพีย	124	84	107

ที่มา: วราภรณ์ (2551)

จากข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวทั้ง 43 พันธุ์ พบว่าพันธุ์ข้าวที่สามารถใช้เป็นพันธุ์ให้ได้ ได้แก่ พันธุ์เมืองไทย พันธุ์แปดริ้ว และพันธุ์เม็ดมะเขือ เนื่องจากมีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ยสูงถึง 338 266 และ 264 เมล็ด ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบข้อมูลลักษณะของข้าวพันธุ์รับ กข 6 และชัยนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้ทั้งสามพันธุ์ คือ เมืองไทย แปดริ้ว และเม็ดมะเขือ ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 ตารางแสดงลักษณะของข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ที่ใช้ในการวิจัย

พันธุ์ข้าว	ลักษณะของข้าว			
	ความสูง (เซนติเมตร)	อายุออกดอก (วัน)	จำนวนเมล็ดทั้งหมด (เมล็ด)	ความไวต่อช่วงแสง
กข 6	195	113	207	ไวต่อช่วงแสง
ชัยนาท 1	113	110	133	ไม่ไวต่อช่วงแสง
เมืองไทย	166	145	338	ไวต่อช่วงแสง
แปดริ้ว	212	128	266	ไวต่อช่วงแสง
เม็ดมะเขือ	181	138	264	ไวต่อช่วงแสง

จากข้อมูลพบว่าข้าวพันธุ์แปดริ้วมีอายุวันออกดอก 128 วัน ใกล้เคียงกับข้าวพันธุ์ กข 6 ที่มีอายุออกดอกเท่ากับ 113 วัน ในขณะที่ข้าวพันธุ์เม็ดมะเขือ กับข้าวพันธุ์เมืองไทรมีอายุออก ดอก 138 และ 145 วัน ซึ่งห่างจากอายุออกดอกของข้าวพันธุ์ กข 6 ถึง 25 และ 32 วัน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความสูง พบว่าข้าวพันธุ์แปดริ้ว เม็ดมะเขือ และข้าวพันธุ์ กข 6 มีความสูงใกล้เคียง กัน คือ 212 181 และ 195 เซนติเมตร ตามลำดับ ขณะที่ข้าวพันธุ์เมืองไทรมีความสูงเฉลี่ย 166 เซนติเมตร ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการกระจายตัวของลักษณะอายุออกดอก และความสูงใน ประชากร F_2 จึงคัดเลือกข้าวพันธุ์แปดริ้วซึ่งมีลักษณะอายุออกดอก และความสูงใกล้เคียงกับข้าว พันธุ์ กข 6 และมีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากกว่าพันธุ์เม็ดมะเขือ เป็นพันธุ์ให้ในการสร้างประชากร เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ซึ่งการสร้าง ประชากรเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ ต้องมีความแตกต่างกันของลักษณะที่ต้องการปรับปรุงมากแต่ไม่มี ความแตกต่างกันหรือมีความแตกต่างกันน้อยในลักษณะอื่น ๆ (ดำเนิน, 2545)

ในขณะที่ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 มีความสูง 113 เซนติเมตร มีจำนวนเมล็ดต่อรวง เฉลี่ย 133 เมล็ด (กรมวิชาการเกษตร, 2543) ได้คัดเลือกข้าวพันธุ์ให้โดยพิจารณาลักษณะจำนวน เมล็ดต่อรวงเพียงลักษณะเดียว ได้ข้าวพันธุ์เมืองไทรเนื่องจากมีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากกว่าข้าว พันธุ์เม็ดมะเขือ ซึ่งข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรมีจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อรวงมากกว่าข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 สูงถึง 205 เมล็ด

ผลการทดลองที่ 2 การหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่าง ข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ ซึ่งเป็นเครื่องหมายชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน

***Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง**

จากการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลจากฐานข้อมูลพันธุกรรมข้าวในเว็บไซด์ Gramene (<http://www.gramene.org/markers/microsat/>) ซึ่งได้รวบรวมเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่ตำแหน่งต่างๆ บนโครโมโซมของข้าวในตาราง supplementary table 18 แล้วทำการคัดเลือก เครื่องหมายที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่สำคัญทั้ง 4 ยีน ได้แก่ *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ได้ผลการทดลองดังนี้

2.1 การหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*

จากการค้นหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a* บนโครโมโซมที่ 1 ตำแหน่งเบสที่ 5,269,103-5,274,678 จากตาราง supplementary table 18 ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น target linked marker อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM3530 ถึง RM10327 ซึ่งอยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 5,150,000-5,442,090 บนโครโมโซมที่ 1 สอดคล้องกับรายงานของ Ashikari และคณะ (2005) ซึ่งได้รายงานตำแหน่งของยีน OsCKX2 หรือ ยีน *Gn1a* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง บนโครโมโซมที่ 1 มีตำแหน่งอยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลชนิด RFLP คือ R3192 และ C12072S อยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 5,109,961-5,513,259 เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาของ Liu และคณะ (2009) ที่พบว่ายีน *Gn1a* มีตำแหน่งอยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR คือ RM3604 และ RM1195 อยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 5,139,287-6,153,141 เบส จากการคัดเลือกได้ไพรมอร์ทั้งหมด 12 ตำแหน่ง ได้แก่ RM10306, RM10310, RM10311, RM10312, RM10313, RM10314, RM10315, RM10316, RM10318, RM10319, RM10326 และ RM10327 ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลแต่ละตำแหน่งมีระยะจากยีน *Gn1a* และลำดับเบสของไพรมอร์ดังแสดงในตาราง 3

2.2 การหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *SPP1*

จากการค้นหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *SPP1* บนโครโมโซมที่ 1 ตำแหน่งเบสที่ 6,623,963-6,629,463 จากตาราง supplementary table 18 ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น target linked marker อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM10390 ถึง RM10402 ซึ่งอยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 6,580,847-6,692,330 บนโครโมโซมที่ 1 สอดคล้องกับรายงานของ Zhang และคณะ (2009) ที่ศึกษา QTL ที่ควบคุมลักษณะจำนวนดอกต่อรวง ได้รายงานว่า *qSPP1* อยู่ตำแหน่งระหว่างเครื่องหมาย MRG2746 และ RM490 ซึ่งอยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 6,154,997-6,676,632 และตรงกับรายงานการศึกษาของ Liu และคณะ (2009) ซึ่งได้ศึกษาจนสามารถเข้าใกล้ตำแหน่งของ *SPP1* พบว่าอยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM8111 และ RM490 ซึ่งอยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 6,153,045-6,676,632 จากการคัดเลือกได้ไพรมอร์ทั้งหมด 10 ตำแหน่ง ได้แก่ RM10390, RM10393, RM10394, RM10395, RM10396, RM10397, RM10398, RM10400, RM10401 และ RM10402 ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลแต่ละตำแหน่งมีระยะจากยีน *SPP1* และลำดับเบสของไพรมอร์ดังแสดงในตาราง 4

ตาราง 3 เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR จำนวน 12 เครื่องหมาย ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *Gn1a* ที่คัดเลือกได้จากตาราง supplementary table 18

Order	RM Locus ID	Chr.	SSR Start (base)	SSR End (base)	Distance (base)	Forward primer Sequences 5----->3	Reverse primer Sequences 5----->3
1	RM3530	1	5,150,000	5,150,077	119,026	GGAGATTCCCTTCCATGTATGC	ACGAGCTCAGTGTACCATCG
2	RM10310	1	5,200,997	5,201,016	68,087	TGCAGTAATATGCTGTGCTGATCG	AAGCTAGCTCGATTGGTCGAACG
3	RM10311	1	5,215,576	5,215,596	53,507	TGGCGTAGTTCATGGCGTAGTGG	ACCATCTCCCATGTCTGAAGTACGG
4	RM10312	1	5,232,170	5,232,189	36,914	TGGCATA CGCGTGGTAGTCC	CAGAGGTGGAGGTGTCAGTCG
5	RM10313	1	5,236,487	5,236,516	32,587	ACTTACACAAGGCCGGGAAAGG	TGGTAGTGGTAACTCTACTCCGATGG
6	RM10314	1	5,241,778	5,241,797	27,306	CATGCATACTTTGTGCCTTGTCC	GCACGTGCTCCTACATTGATGC
7	RM10315	1	5,243,215	5,243,274	25,829	CAAGTTGCACACACCAAGATGC	CCCTCCTGATCATATCCCTTGC
	<i>Gn1a</i>		5,269,103	5,274,678			
8	RM10316	1	5,286,497	5,286,516	11,819	AAGATCGCTGGGAGATCTGTAGG	GCATGCTAATTAGTCAGCCTTGG
9	RM10318	1	5,359,033	5,359,052	84,355	TGTCTCACACATTGCACACTTACC	GGCCTAACCCAACACATGTCC
10	RM10319	1	5,363,131	5,363,152	88,453	TCTAACACAGAACTCCCGAAGATCC	CGATCAGGAGCGTTACATATTTGG
11	RM10326	1	5,368,282	5,368,307	93,604	AGCCGGGCATACAGTCTTTCTCC	TCATGGCGTGTGGCACTAGC
12	RM10327	1	5,442,070	5,442,090	167,392	ACTTCTGTTGTCCCACTGACAGG	GAGAGGTCGTCGAGGAACAGC

ที่มา: <http://www.gramene.org/markers/microsat>

ตาราง 4 เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR จำนวน 10 เครื่องหมาย ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *SPP1* ที่คัดเลือกได้จากตาราง supplementary table 18

Order	RM Locus ID	Chr.	SSR Start (base)	SSR End (base)	Distance (base)	Forward primer Sequences 5----->3	Reverse primer Sequences 5----->3
1	RM10390	1	6,580,847	6,580,868	43,095	GCAACGTTACGTCTTGGCATGG	CCTCTCGCGTCTCTCTCAACG
2	RM10393	1	6,600,019	6,600,054	23,909	GGCAGAGAAGATCGAATATGATGG	TAGCTACGCGCGTTCTTCATAGC
	<i>SPP1</i>		6,623,963	6,629,463			
3	RM10394	1	6,629,276	6,629,295	- 187	CAGCAGCAGCGAGATTAACAGC	GTCGTCTCTTGCTCTGTTCTTGG
4	RM10395	1	6,639,665	6,639,712	10,202	GCAAGATTTCAGTTCAGGTTTGC	ATGTGCCCTTTCGTTGTAATCC
5	RM10396	1	6,639,789	6,639,840	10,326	TTTGCAGGTGGACAGGAAATGG	AATAGCAGCTTGCTTGGATGTGC
6	RM10397	1	6,646,567	6,646,604	17,104	ATGTCGAGCGGTGGTTGTATAGTTCC	ACCGTGATTTGGTTGTGTTTCAGC
7	RM10398	1	6,672,572	6,672,613	43,109	TCTCCTTGCTCTACTGCCTTTGG	TTCTGCAACTTGCCAAGAAGACC
8	RM10400	1	6,673,948	6,673,997	44,485	CTCTCTCCTGATGGTAACTCTCC	ATATAGAGGTGCCTTGTGTGAAGG
9	RM10401	1	6,676,165	6,676,190	46,702	ACACACTCACCCCATCCATCC	TGATCTGCACACTGCAAACACC
10	RM10402	1	6,692,293	6,692,330	62,830	TGGATTGAAGGGAGCTCTACACC	TTGCTCCACACGATCTACACAGC

ที่มา: <http://www.gramene.org/markers/microsat>

2.3 การหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Ghd7*

จากการค้นหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Ghd7* บนโครโมโซมที่ 7 ตำแหน่งเบสที่ 9,151,408-9,175,046 จากตาราง supplementary table 18 ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น target linked marker อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM21330 ถึง RM21342 ซึ่งอยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 8,910,448-9,427,786 บนโครโมโซมที่ 7 สอดคล้องกับรายงานการโคลนยีนของ Xue และคณะ (2008) ที่ศึกษายีน *Ghd7* ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมลักษณะปริมาณผลผลิต และในรายงานได้กล่าวว่ายีน *Ghd7* อยู่ระหว่างเครื่องหมายชนิด SSR marker RM3859 ถึงเครื่องหมายชนิด RFLP คือ C39 ซึ่งอยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 8,910,448-11,361,086 นอกจากนี้ในรายงานการศึกษาของ Zhang และคณะ (2009) ได้ผลสรุปว่า *qSP7* ซึ่งมีตำแหน่งระหว่างเครื่องหมาย MRG4436 และ RM2 เป็นบริเวณเดียวกับลักษณะจำนวนดอกข้าวต่อรวง และจำนวนเมล็ดต่อรวง (*sp7* และ *gn7*) มีตำแหน่งอยู่ใกล้กับเครื่องหมาย MRG4436 หรือ RM5436 ที่ตำแหน่งเบส 9,074,712 คือ ยีน *Ghd7* จากการคัดเลือกได้ไพรมอร์ทั้งหมด 10 ตำแหน่ง ได้แก่ RM21330, RM21332, RM21333, RM21334, RM5436, RM21335, RM21336, RM21339, RM21340 และ RM21342 ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลแต่ละตำแหน่งมีระยะจากยีน *Ghd7* และลำดับเบสของไพรมอร์ดังแสดงในตาราง 5

2.4 การหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *WFP*

จากการค้นหา และคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *WFP* บนโครโมโซมที่ 8 ตำแหน่งเบสที่ 25,271,735-25,275,982 จากตาราง supplementary table 18 ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่เป็น target linked marker อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM23408 ถึง RM23436 ซึ่งอยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 25,075,193-25,474,467 บนโครโมโซมที่ 8 สอดคล้องกับรายงานของ Miura และคณะ (2010) ซึ่งรายงานการศึกษายีน *WFP* ที่ควบคุมลักษณะการแตกแขนงของรวงข้าวว่าอยู่บนโครโมโซมที่ 8 ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR คือ RM531 และ RM264 ซึ่งอยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 22,469,338-29,855,660 เช่นเดียวกับรายงานผลการศึกษาของ Jiao และคณะ (2010) ที่ได้ศึกษาการควบคุมการทำงานของยีนดังกล่าว พบว่าอยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM149 และ RM1345 ซึ่งอยู่ในช่วงของตำแหน่งเบสที่ 24,721,368-26,145,039 จากการคัดเลือกได้ไพรมอร์ทั้งหมด 15 ตำแหน่ง ได้แก่ RM23408, RM23409, RM23419, RM23421, RM23422, RM23423, RM23425, RM23426, RM23427, RM23428, RM23429, RM23430, RM23433, RM23434 และ RM23436 ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลแต่ละตำแหน่งมีระยะจากยีน *WFP* และลำดับเบสของไพรมอร์ดังแสดงในตาราง 6

ตาราง 5 เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR จำนวน 10 เครื่องหมาย ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *Ghd7* ที่คัดเลือกได้จากตาราง supplementary table 18

Order	RM Locus ID	Chr.	SSR Start (base)	SSR End (base)	Distance (base)	Forward primer Sequences 5'→3'	Reverse primer Sequences 5'→3'
1	RM21330	7	8,910,448	8,910,503	240,905	CTCATGCTTTCAGTCATTTCAGTGC	TCCTGGATTCATGGTGTCTTTAGC
2	RM21332	7	9,036,131	9,036,150	115,258	CAAGAACACGCTGACACCATAAGC	GGCTACCTCGACTACGGCAACC
3	RM21333	7	9,043,958	9,044,009	107,399	ATTCCAACGGTCCAGTTCAGAGG	CACGCAGTGTGGTGTGGTAAGC
4	RM21334	7	9,071,275	9,071,310	80,098	GACTTGGGCGGCAGCTTATTCC	TGTTGTTCCACTCATCACCTCTCC
5	RM5436	7	9,074,712	9,074,872	76,536	CAAAGGGGGTGTCTCTATG	GTTGCTCGTCCTACATGTGC
6	RM21335	7	9,107,916	9,107,949	43,459	TGAGCTGCACAAGACAGACAAGC	ACCATTGGAACAGGATGGACTGG
7	RM21336	7	9,151,105	9,151,271	137	GTGCTTGCATATAACCTATA	AGATCAACCTTCTTATTCAG
	<i>Ghd7</i>		9,151,408	9,175,046			
8	RM21339	7	9,187,154	9,187,174	12,108	CAGCTAGCTAGGGTTGTGAAATGC	GACCAAATCCATCCACAGATCG
9	RM21340	7	9,275,340	9,275,359	100,294	GGGAGAGCGAGAGCAAGAGAACG	TTGTTGTCAGTCTCCATGCCAATCC
10	RM21342	7	9,427,766	9,427,786	252,720	CTCCTGGTCGCAAGAAGAAGG	CAAACAACAGCATCAGCATCACC

ที่มา: <http://www.gramene.org/markers/microsat>

ตาราง 6 เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR จำนวน 15 เครื่องหมาย ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *WFP* ที่คัดเลือกได้จากตาราง supplementary table 18

Order	RM Locus ID	Chr.	SSR Start (base)	SSR End (base)	Distance (base)	Forward primer Sequences 5----->3	Reverse primer Sequences 5----->3
1	RM23408	8	25,075,193	25,075,286	196,449	CCATCTCAACTCCTTCGTTTACTGC	TCGACTGTTTGCTTGAATAGGC
2	RM23409	8	25,084,225	25,084,254	187,481	ATCAGGAAGCTGCAAGAACTCG	TTTGGAGTGGTCCTTGACTGC
3	RM23419	8	25,222,439	25,222,522	49,213	ACCTGAGCTCGATGGTTCTTTCC	GCTCCACCAAGTATTCCTATCG
4	RM23421	8	25,246,335	25,246,372	25,363	ATGGACATGTGGTTAAGCATCG	TGCCAAGTAAGGACATACTCTACTCC
5	RM23422	8	25,246,687	25,246,706	25,029	GTCGGTCACGAAGTTCAGATCC	TCAGGCAAAGTTGAAGATGGTAGC
6	RM23423	8	25,256,213	25,256,232	15,503	CGGCGGATAGTTAAAGAAGATCG	GCAGGTTACCGCAATAGCATCC
7	RM23425	8	25,271,025	25,271,045	690	TGGCGGCAGTAGTAGTTCTTGATCC	GCCGTCCTCGTCTTCCAAGG
	<i>WFP</i>		25,271,735	25,275,982			
8	RM23426	8	25,320,052	25,320,072	44,070	CATCATGTCCGGTAGAACTCG	AGAGGTACAGTGGCACGATCAGG
9	RM23427	8	25,333,966	25,333,986	57,984	AGGGAGTCGGAGACCATGACG	TACCGCGTATCATGTCCTTGACG
10	RM23428	8	25,344,812	25,344,832	68,830	ACAGTACTAGCACAGCTGAAGGAAGG	GCAGCGATAACCACATTTCTTGC
11	RM23429	8	25,346,453	25,346,473	70,471	CGGCGAGGTAGAAGGTGACG	CAGTGATTGTGTGACAGTGTGAGAGG
12	RM23430	8	25,351,278	25,351,305	75,296	AAAGCTAGCCCAGGGTGAAGC	GAAATGGACAGAGGTATGGTACGC
13	RM23433	8	25,373,795	25,373,838	97,813	CTGCAACACCAGTAACTCTAGATCG	CCAAGAACAGCAAGAACAACC
14	RM23434	8	25,394,421	25,394,452	118,439	GGAATCCGGTACCACGAGAAGG	TCTCCTCTCAAGGATCCAAAGACC
15	RM23436	8	25,474,448	25,474,467	198,466	TGAGTCACCGTGACCATCTCC	GTGGTGGTGCGAATCACTGTAGG

ที่มา: <http://www.gramene.org/markers/microsat>

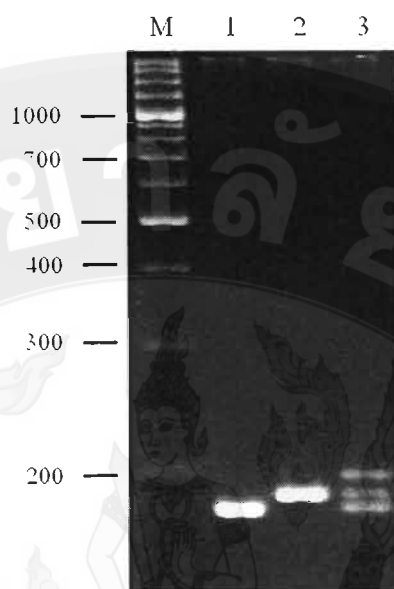
ผลการทดลองที่ 3 การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง และคัดเลือกเครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 และ ชัยนาท 1 กับพันธุ์ให้พันธุ์แปดริ้ว และเมืองไทย

ทำการตรวจหาความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 และชัยนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว และเมืองไทย โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR marker ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 2 เป็นไพรเมอร์ในการทำพีซีอาร์ ได้ผลการทดลองดังนี้

3.1 การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกได้กับข้าวพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้ คือ พันธุ์แปดริ้ว

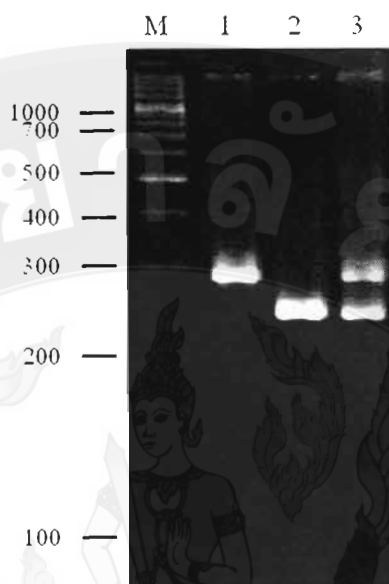
เมื่อนำเครื่องหมาย SSR ทั้งหมด 12 ตำแหน่ง ซึ่งอยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *Gn1a* มาใช้เป็นไพรเมอร์ในการทำพีซีอาร์ โดยมีดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 แปดริ้ว และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ซึ่งใช้แทนด้วยอย่าง F_1 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว เป็นแม่พิมพ์ เพื่อคัดเลือกเครื่องหมายที่ให้ขนาดแถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 แตกต่างจากขนาดแถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์แปดริ้ว พบว่าเมื่อใช้เครื่องหมาย RM10318, RM10319 และ RM10326 เป็นไพรเมอร์ มีความแตกต่างระหว่างขนาดแถบดีเอ็นเอของ กข 6 และแปดริ้ว โดยที่เครื่องหมาย RM10318 ซึ่งมีระยะใกล้กับยีน *Gn1a* มากที่สุดที่จำนวน 86,553 เบส จึงสามารถใช้เป็น target linked marker ได้ ดังแสดงในภาพ 14

จากการคัดเลือก SSR marker ที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *SPP1* ทั้งหมด จำนวน 10 ตำแหน่ง เมื่อนำมาตรวจสอบความแตกต่างระหว่างขนาดแถบดีเอ็นเอของ กข 6 และแปดริ้ว พบว่าเมื่อใช้เครื่องหมาย RM10390, RM10395, RM10396 และ RM10397 เป็นไพรเมอร์แล้วให้ขนาดแถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน ซึ่ง RM10395 มีระยะใกล้กับยีน *SPP1* มากที่สุดที่จำนวน 10,202 เบส จึงสามารถใช้เป็น target linked marker ได้ ดังแสดงในภาพ 15



ภาพ 14 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้กับยีน *Gn1a* เป็นไพรเมอร์

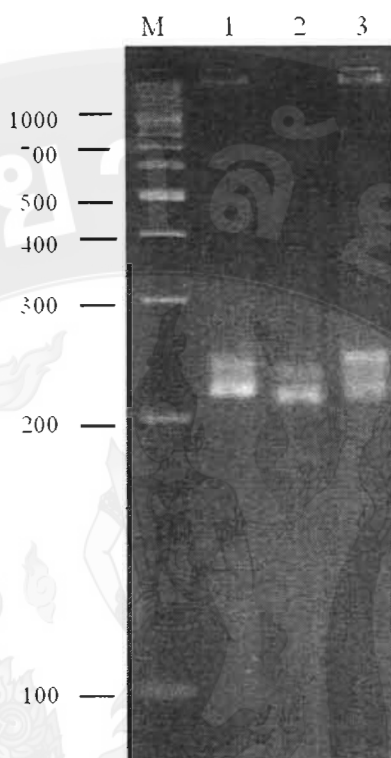
หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 แปดริ้ว และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ กข 6 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว และเลนที่ 3 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ตามลำดับ



ภาพ 15 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้กับยีน *SPP1* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 แปรครีว และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปรครีว ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปรครีว โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์รับ กข 6 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ให้แปรครีว และเลนที่ 3 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปรครีว ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปรครีว ตามลำดับ

สำหรับเครื่องหมาย SSR ที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *Ghd7* จำนวน 10 ตำแหน่ง เมื่อนำมาตรวจสอบความแตกต่างระหว่างขนาดแถบดีเอ็นเอของ กข 6 และแปรครีว พบว่าเมื่อใช้เครื่องหมาย RM5436 และ RM21335 เป็นไพรเมอร์แล้วให้ขนาดแถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน โดยที่ RM21335 มีระยะใกล้กับยีน *Ghd7* มากที่สุด คือ 76,610 เบส จึงใช้เป็น target linked marker ได้ ดังแสดงในภาพ 16



ภาพ 16 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM21335 ที่อยู่ใกล้กับยีน *Ghd7* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 แปดริ้ว และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ กข 6 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ ให้แปดริ้ว และเลนที่ 3 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ตามลำดับ

เมื่อนำเครื่องหมาย SSR ทั้งหมด 15 ตำแหน่ง ที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *WFP* มาตรวจสอบความแตกต่างระหว่างขนาดแถบดีเอ็นเอของ กข 6 และแปดริ้ว พบว่ามีเพียงเครื่องหมาย RM23428 ที่แสดงความแตกต่างของขนาดแถบดีเอ็นเอ และมีระยะใกล้กับยีน *WFP* ที่ 68,830 เบส จึงใช้เป็น target linked marker ได้ ดังแสดงในภาพ 17 ซึ่งจากการคัดเลือกได้เครื่องหมาย SSR ดังสรุปในตาราง 7 จากการนำเครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกได้ทั้งหมดมา

ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว พบว่ามีเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงถึงความแตกต่าง และอยู่ในบริเวณที่ได้มีการรายงานว่าเป็นยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณผลผลิตข้าวดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น



ภาพ 17 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้กับยีน *WFP* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 แปดริ้ว และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F, ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์รับ กข 6 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว และเลนที่ 3 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F, ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ตามลำดับ

ดังนั้นเครื่องหมายดังกล่าวสามารถใช้คัดเลือkdต้นข้าวที่มียีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ในการสร้างประชากรของลูกผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

ตาราง 7 ตารางสรุปผลการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว

Order	RM Locus ID	Gene	Chr.	SSR Start (base)	SSR End (base)	Distance (base)	Forward Primer Sequences sequence 5--->3	Reverse Primer Sequences sequence 5--->3
1		<i>Gn1a</i>	1	5,269,103	5,274,678			
	RM10318	<i>Gn1a</i>	1	5,359,033	5,359,052	84,355	TGTCTCACACATTGCACACTTACC	GGCCTAACCCAACACATGTCC
2		<i>SPP1</i>	1	6,623,963	6,629,463			
	RM10395	<i>SPP1</i>	1	6,639,665	6,639,712	10,202	GCAAGATTTCAGTTCAGGTTTGC	ATGTGCCCTTTCGTTGTACTCC
3		<i>Ghd7</i>	7	9,151,408	9,175,046			
	RM21335	<i>Ghd7</i>	7	9,107,916	9,107,949	76,610	TGAGCTGCACAAGACAGACAAGC	ACCATTGTAACAGGATGGACTGG
4		<i>WFP</i>	8	25,271,735	25,275,982			
	RM23428	<i>WFP</i>	8	25,344,812	25,344,832	68,830	ACAGTACTAGCACAGCTGAAGGAAGG	GCAGCGATAACCACATTTCTTGC

3.2 การตรวจสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกได้กับข้าวพันธุ์รับชัณษาท 1 และพันธุ์ให้ คือ พันธุ์เมืองไทร

เมื่อนำเครื่องหมาย SSR ทั้งหมด 12 ตำแหน่ง ที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *Gn1a* มาใช้เป็นไพรเมอร์ในการทำพีซีอาร์ โดยมีดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ชัณษาท 1 เมืองไทร และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ชัณษาท 1 กับเมืองไทร ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F₁ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัณษาท 1 กับเมืองไทรเป็นแม่พิมพ์ เพื่อคัดเลือกเครื่องหมายที่ให้ขนาดแถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ชัณษาท 1 แตกต่างจากขนาดแถบดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์เมืองไทร พบว่าเมื่อใช้เครื่องหมาย RM10316 และ RM10326 เป็นไพรเมอร์แล้วมีความแตกต่างระหว่างขนาดแถบดีเอ็นเอของชัณษาท 1 และเมืองไทร โดยที่เครื่องหมาย RM10316 ซึ่งมีระยะใกล้กับยีน *Gn1a* มากที่สุด คือ 14,017 เบส สามารถใช้เป็น target linked marker ได้ ดังแสดงในภาพ 18

จากการคัดเลือก SSR marker ที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *SPP1* ทั้งหมด จำนวน 10 ตำแหน่ง เมื่อนำมาตรวจสอบความแตกต่างระหว่างขนาดแถบดีเอ็นเอของชัณษาท 1 และเมืองไทร พบว่ามีเพียงเครื่องหมาย RM10402 เท่านั้นที่ให้ขนาดแถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน โดยมีระยะใกล้กับยีน *SPP1* เท่ากับ 62,830 เบส สามารถใช้เป็น target linked marker ได้ ดังภาพ 19

สำหรับเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *Ghd7* จำนวน 10 ตำแหน่ง เมื่อนำมาตรวจสอบความแตกต่างระหว่างขนาดแถบดีเอ็นเอของชัณษาท 1 และเมืองไทร พบว่ามีเพียงเครื่องหมาย RM21330 เท่านั้นที่ให้ขนาดแถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน ถึงแม้ว่าจะมีระยะจากยีน *Ghd7* ถึง 294,497 เบส และไม่พบว่ามีเครื่องหมายใดที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *Ghd7* ที่แสดงความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างชัณษาท 1 กับเมืองไทร จึงคัดเลือกเพื่อใช้เป็น target linked marker ดังแสดงในภาพ 20

เมื่อนำเครื่องหมาย SSR marker ทั้งหมด จำนวน 15 ตำแหน่ง ที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งของยีน *WFP* มาตรวจสอบความแตกต่างระหว่างขนาดแถบดีเอ็นเอของชัณษาท 1 และเมืองไทร พบว่าเมื่อใช้เครื่องหมาย RM23433 และ RM23434 เป็นไพรเมอร์แล้วให้ขนาดแถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน โดยที่ RM23433 มีระยะใกล้กับยีน *WFP* มากที่สุด คือ 97,813 เบส จึงใช้เป็น target linked marker ได้ ดังแสดงในภาพ 21 ซึ่งจากการคัดเลือกได้เครื่องหมาย SSR ดังสรุปในตาราง 8

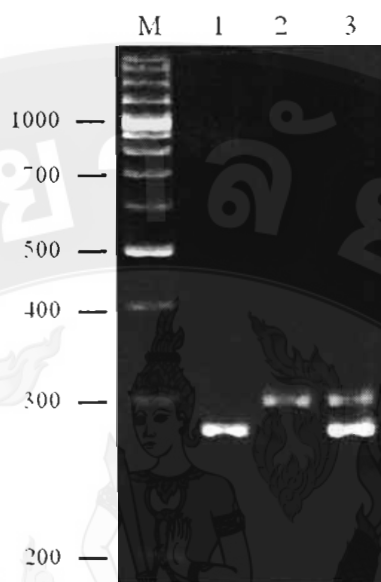
จากการนำเครื่องหมายโมเลกุลที่คัดเลือกได้ทั้งหมดมาตรวจสอบความแตกต่างระหว่างพันธุ์รับชัณษาท 1 และพันธุ์ให้เมืองไทร พบว่ามีเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างและอยู่ในบริเวณที่ได้มีการรายงานว่าเป็นยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณผลผลิตข้าวดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น

ดังนั้นเครื่องหมายดังกล่าวสามารถใช้คัดเลือกรุ่นข้าวที่มียีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ในการสร้างประชากรของลูกผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพรเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง



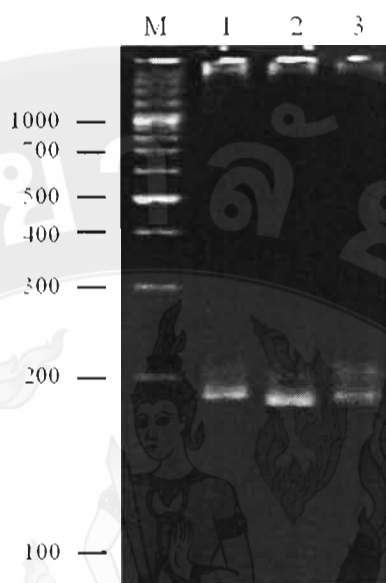
ภาพ 18 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้กับยีน *Gn1a* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ชันนาท 1 เมืองไพร และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ชันนาท 1 กับเมืองไพร ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของลูกผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชันนาท 1 กับเมืองไพร โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ให้เมืองไพร และเลนที่ 3 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ชันนาท 1 กับเมืองไพร ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของลูกผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชันนาท 1 กับเมืองไพร ตามลำดับ



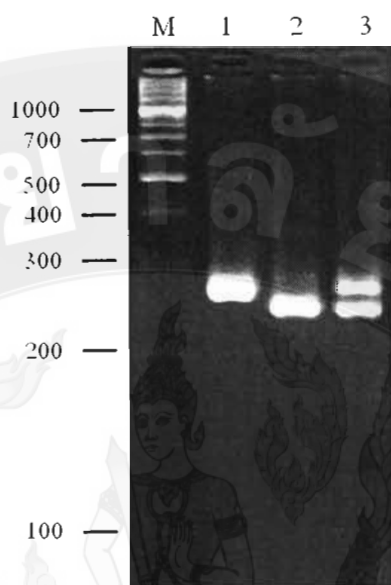
ภาพ 19 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10402 ซึ่งอยู่ใกล้กับยีน *SPP1* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เมืองไทย และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ให้เมืองไทย และเลนที่ 3 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ตามลำดับ



ภาพ 20 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM21330 ซึ่งอยู่ใกล้กับยีน *Ghd7* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เมืองไทย และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ให้เมืองไทย และเลนที่ 3 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ตามลำดับ



ภาพ 21 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค พีซีอาร์ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM23433 ที่อยู่ใกล้กับยีน *WFP* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เมืองไทย และดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ให้เมืองไทย และเลนที่ 3 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของดีเอ็นเอผสมของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ซึ่งใช้แทนตัวอย่าง F_1 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ตามลำดับ

ตาราง 8 ตารางสรุปผลการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย

Order	RM Locus ID	Gene	Chr.	SSR Start (base)	SSR End (base)	Distance (base)	Forward Primer Sequences sequence 5--->3	Reverse Primer Sequences sequence 5--->3
1		<i>Gn1a</i>	1	5,269,103	5,274,678			
	RM10316	<i>Gn1a</i>	1	5,286,497	5,286,516	11,819	AAGATCGCTGGGAGATCTGTAGG	GCATGCTAATTAGTCAGCCTTGG
2		<i>SPPI</i>	1	6,623,963	6,629,463			
	RM10402	<i>SPPI</i>	1	6,692,293	6,692,330	62,830	TGGATTGAAGGGAGCTCTACACC	TTGCTCCACACGATCTACACAGC
3		<i>Ghd7</i>	7	9,151,408	9,175,046			
	RM21330	<i>Ghd7</i>	7	8,910,448	8,910,503	294,497	CTCATGCTTTCAGTCATTCACTGC	TCCTGGATTCATGGTGTCTTTAGC
4		<i>WFP</i>	8	25,271,735	25,275,982			
	RM23433	<i>WFP</i>	8	25,373,795	25,373,838	97,813	CTGCAACACCAGTAACCTAGATCG	CCAAGAACAGCAAGAACAACC

ผลการทดลองที่ 4 สร้างประชากรตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ได้แก่ ประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว ประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชยันนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร

การศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในกลุ่มประชากรตัวอย่าง เพื่อการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมาก ได้สร้างประชากรตัวอย่างในการศึกษา ได้แก่ ประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 1 คือ แปดริ้ว ประชากร $F_{3,4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชยันนาท 1 กับพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 1 คือ เมืองไทร โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก ตามแผนการผสมพันธุ์ข้าว ดังภาพ 9 และ 11 ได้ผลดังนี้

4.1 กลุ่มผสมของข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์แปดริ้ว

4.1.1 การคัดเลือกต้น F_1 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

ทำการผสมพันธุ์ข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว ผลิตเมล็ด F_1 ของ กข 6 และแปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2551 ได้จำนวน 53 เมล็ด ต่อมาในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2552 ทำการเพาะเมล็ดแล้วคัดเลือกต้น F_1 ด้วยเครื่องหมาย *Glu23* เนื่องจากเป็นเครื่องหมายที่ให้แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์แตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 ซึ่งเป็นข้าวเหนียวกับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้วที่เป็นข้าวเจ้าชัดเจนดังภาพ 22 ประกอบกับยังไม่พบเครื่องหมายที่แยกความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้วได้ ซึ่งจากผลการคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย *Glu23* ได้ต้น F_1 ที่มีแถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส (*Wxwx*) จำนวน 2 ต้น จากนั้นนำต้น F_1 ที่คัดเลือกได้ผสมกลับไปหา กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC_1F_1 ได้จำนวน 9 เมล็ด ขณะเดียวกัน ต้น F_1 ที่ผสมตัวเองได้เมล็ด F_2 จำนวน 73.44 กรัม เพื่อใช้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ในฤดูที่ 3 นาปี พ.ศ. 2552



ภาพ 22 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เมื่อใช้เครื่องหมาย Glu23 เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ข้าวเจ้าพันธุ์แปดริ้ว และ F_1 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์รับ ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 (wxwx) เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวพันธุ์ให้ ข้าวเจ้าพันธุ์แปดริ้ว (WxWx) เลนที่ 3 และ 4 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของกลุ่มผสม F_1 ระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว (Wxwx) ต้นที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

4.1.2 การคัดเลือkdต้น BC_1F_1 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

ทำการเพาะเมล็ด BC_1F_1 ของ กข 6 และแปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552 แล้วคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM10318 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Gn1a* โดยคัดเลือkdต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากทั้งหมด 9 ต้น คัดเลือกได้ 4 ต้น ได้แก่ BC_1F_1 -1988 BC_1F_1 -1987 BC_1F_1 -1988 และ BC_1F_1 -1989 ดังภาพ 23 แล้วทำการผสมกลับไปหาพันธุ์ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC_2F_1 ได้เมล็ด BC_2F_1 รวมทั้งหมดจำนวน 147 เมล็ด



ภาพ 23 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ในการคัดเลือกดัน BC_1F_1 เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 แปรริ้ว และต้น BC_1F_1 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปรริ้ว ทั้งหมด 9 ต้น โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ ข้าวพันธุ์ กข 6 เลนที่ 2 คือ ข้าวพันธุ์แปรริ้ว เลนที่ 3-11 คือต้น BC_1F_1 -1982 BC_1F_1 -1983 BC_1F_1 -1985 BC_1F_1 -1987 BC_1F_1 -1988 BC_1F_1 -1989 BC_1F_1 -1990 BC_1F_1 -1991 และ BC_1F_1 -1992 คัดเลือกได้ต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์แบบเฮเทอโรไซกัส คือ ต้น BC_1F_1 -1982 BC_1F_1 -1987 BC_1F_1 -1988 และ BC_1F_1 -1989 (เลนที่ 3 6 7 และ 8 ตามลำดับ)

4.1.3 การคัดเลือกดัน BC_2F_1 -1988 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

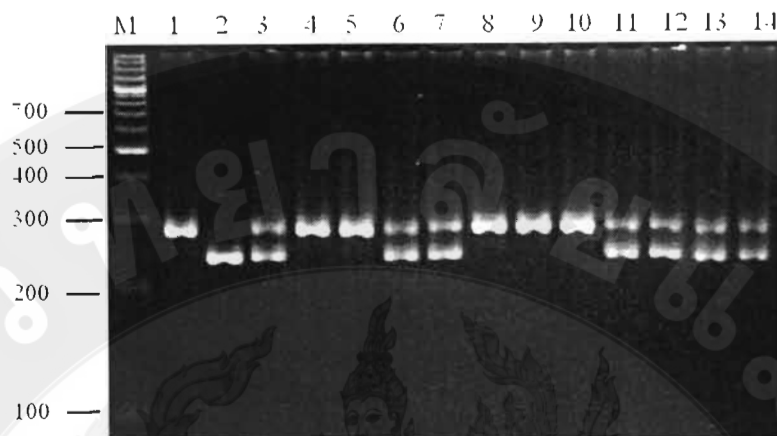
ในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2553 ปลุกเมล็ด BC_2F_1 ของ กข 6 และแปรริ้ว ที่ผลิตได้จากต้น BC_1F_1 -1988 ทั้งหมดจำนวน 12 ต้น แล้วคัดเลือkd้วยเครื่องหมาย RM10318 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Gn1a* โดยคัดเลือกดันที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากทั้งหมด 12 ต้น คัดเลือกได้ 6 ต้น ได้แก่ BC_2F_1 -1988-4178 BC_2F_1 -1988-4181 BC_2F_1 -1988-4182 BC_2F_1 -1988-4187 BC_2F_1 -1988-4188 และ BC_2F_1 -1988-4189 ดังภาพ 24



ภาพ 24 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ในการคัดเลือkdต้น BC₂F₁-1988 เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 แปรริ้ว และต้น BC₂F₁ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปรริ้ว ทั้งหมด 12 ต้น โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ ข้าวพันธุ์ กข 6 เลนที่ 2 คือ ข้าวพันธุ์แปรริ้ว เลนที่ 3-14 คือ ต้น BC₂F₁-1988-4178 BC₂F₁-1988-4179 BC₂F₁-1988-4180 BC₂F₁-1988-4181 BC₂F₁-1988-4182 BC₂F₁-1988-4183 BC₂F₁-1988-4184 BC₂F₁-1988-4185 BC₂F₁-1988-4186 BC₂F₁-1988-4187 BC₂F₁-1988-4188 และ BC₂F₁-1988-4189 คัดเลือกได้ต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอผลิตของพีซีอาร์แบบเฮเทอโรไซกัส คือ ต้น BC₂F₁-1988-4178 BC₂F₁-1988-4181 BC₂F₁-1988-4182 BC₂F₁-1988-4187 BC₂F₁-1988-4188 และ BC₂F₁-1988-4189 (เลนที่ 3 6 7 12 13 และ 14 ตามลำดับ)

จากนั้นจึงคัดเลือkdด้วยเครื่องหมาย RM10395 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *SPPI* โดยคัดเลือkdต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัสเช่นเดียวกัน จากทั้งหมด 12 ต้น คัดเลือกได้ 7 ต้น ได้แก่ BC₂F₁-1988-4178 BC₂F₁-1988-4181 BC₂F₁-1988-4182 BC₂F₁-1988-4186 BC₂F₁-1988-4187 BC₂F₁-1988-4188 และ BC₂F₁-1988-4189 ดังภาพ 25



ภาพ 25 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ในการคัดเลือกดั้ง BC₂F₁-1988 เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *SPPI* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 แปรธุ์ และต้น BC₂F₁ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปรธุ์ ทั้งหมด 12 ต้น โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ ข้าวพันธุ์ กข 6 เลนที่ 2 คือ ข้าวพันธุ์แปรธุ์ เลนที่ 3-14 คือ ต้น BC₂F₁-1988-4178 BC₂F₁-1988-4179 BC₂F₁-1988-4180 BC₂F₁-1988-4181 BC₂F₁-1988-4182 BC₂F₁-1988-4183 BC₂F₁-1988-4184 BC₂F₁-1988-4185 BC₂F₁-1988-4186 BC₂F₁-1988-4187 BC₂F₁-1988-4188 และ BC₂F₁-1988-4189 คัดเลือกได้ต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์แบบเฮเทอโรไซกัส คือ ต้น BC₂F₁-1988-4178 BC₂F₁-1988-4181 BC₂F₁-1988-4182 BC₂F₁-1988-4186 BC₂F₁-1988-4187 BC₂F₁-1988-4188 และ BC₂F₁-1988-4189 (เลนที่ 3 6 7 11 12 13 และ 14 ตามลำดับ)

ทำการคัดเลือกรด้วยเครื่องหมาย RM21335 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Ghd7* โดยคัดเลือกดั้งที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากทั้งหมด 12 ต้น คัดเลือกได้ 9 ต้น ได้แก่ BC₂F₁-1988-4179 BC₂F₁-1988-4180 BC₂F₁-1988-4181 BC₂F₁-1988-4183 BC₂F₁-1988-4185 BC₂F₁-1988-4186 BC₂F₁-1988-4187 BC₂F₁-1988-4188 และ BC₂F₁-1988-4189 ดังภาพ 26 คัดเลือกดั้ง BC₂F₁ ที่มียีนควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงทั้งสามยีน คือ *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ได้จำนวน 4 ต้น ได้แก่ BC₂F₁-1988-4181 BC₂F₁-1988-4187 BC₂F₁-1988-4188 และ BC₂F₁-1988-4189 ซึ่งมีจีโนไทป์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัสเหมือนกันทั้งสามเครื่องหมาย แล้วทำ

การผสมกลับไปหาพันธุ์ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC_3F_1 ได้เมล็ด BC_3F_1 ทั้งหมดจำนวน 35 เมล็ด ขณะเดียวกันคัดเลือกต้น BC_2F_1 -1988-4181 ที่ผสมตัวเองได้เมล็ด BC_2F_2 จำนวน 484 เมล็ด เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553



ภาพ 26 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ในการคัดเลือกลำต้น BC_2F_1 -1988 เมื่อใช้เครื่องหมาย RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Ghd7* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ กข 6 แปรครัว และต้น BC_3F_1 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปรครัว ทั้งหมด 12 ต้น โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ ข้าวพันธุ์ กข 6 เลนที่ 2 คือ ข้าวพันธุ์แปรครัว เลนที่ 3-14 คือ ต้น BC_2F_1 -1988-4178 BC_2F_1 -1988-4179 BC_2F_1 -1988-4180 BC_2F_1 -1988-4181 BC_2F_1 -1988-4182 BC_2F_1 -1988-4183 BC_2F_1 -1988-4184 BC_2F_1 -1988-4185 BC_2F_1 -1988-4186 BC_2F_1 -1988-4187 BC_2F_1 -1988-4188 และ BC_2F_1 -1988-4189 คัดเลือกได้ต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์แบบเฮเทอโรไซกัส คือ ต้น BC_2F_1 -1988-4179 BC_2F_1 -1988-4180 BC_2F_1 -1988-4181 BC_2F_1 -1988-4183 BC_2F_1 -1988-4185 BC_2F_1 -1988-4186 BC_2F_1 -1988-4187 BC_2F_1 -1988-4188 และ BC_2F_1 -1988-4189 (เลนที่ 4 5 6 8 10 11 12 13 และ 14 ตามลำดับ)

4.1.4 การคัดเลือกต้น BC₃F₁-1988-4181 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 ทำการปลูกเมล็ด BC₃F₁ ของ กข 6 และแปดริ้ว ที่ผลิตได้จากต้น BC₂F₁-1988-4181 ทั้งหมดจำนวน 17 ต้น แล้วคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM10318 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Gn1a* โดยคัดเลือกต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากทั้งหมด 17 ต้น คัดเลือกได้ 12 ต้น ได้แก่ BC₃F₁-1988-4181-2776 BC₃F₁-1988-4181-2781 BC₃F₁-1988-4181-2782 BC₃F₁-1988-4181-2786 BC₃F₁-1988-4181-2789 BC₃F₁-1988-4181-2791 BC₃F₁-1988-4181-2792 BC₃F₁-1988-4181-2794 BC₃F₁-1988-4181-2795 BC₃F₁-1988-4181-2799 BC₃F₁-1988-4181-2800 และ BC₃F₁-1988-4181-2801 แล้วจึงคัดเลือกต่อด้วยเครื่องหมาย RM10395 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *SPPI* โดยคัดเลือกต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัสเช่นเดียวกัน จาก 12 ต้น ที่คัดเลือกได้ด้วยเครื่องหมาย RM10318 คัดเลือกได้ 9 ต้น ได้แก่ BC₃F₁-1988-4181-2786 BC₃F₁-1988-4181-2789 BC₃F₁-1988-4181-2791 BC₃F₁-1988-4181-2792 BC₃F₁-1988-4181-2794 BC₃F₁-1988-4181-2795 BC₃F₁-1988-4181-2799 BC₃F₁-1988-4181-2800 และ BC₃F₁-1988-4181-2801 ต่อมาคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM21335 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Ghd7* โดยคัดเลือกต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากต้น BC₃F₁ ที่ผ่านการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยี่ดติดกับยีน *Gn1a* และ *SPPI* จำนวน 9 ต้น คัดเลือกได้ 5 ต้น ได้แก่ BC₃F₁-1988-4181-2786 BC₃F₁-1988-4181-2794 BC₃F₁-1988-4181-2795 BC₃F₁-1988-4181-2799 และ BC₃F₁-1988-4181-2800 จากผลการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถคัดเลือกต้น BC₃F₁ ที่มียีนควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงทั้งสามยีน คือ *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ได้จำนวน 5 ต้น คือ ต้น BC₃F₁-1988-4181-2786 BC₃F₁-1988-4181-2794 BC₃F₁-1988-4181-2795 BC₃F₁-1988-4181-2799 และ BC₃F₁-1988-4181-2800 แล้วทำการผสมกลับไปหาพันธุ์รับ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC₄F₁ ได้เมล็ด BC₄F₁ รวมทั้งหมดจำนวน 167 เมล็ด ขณะเดียวกันต้น BC₃F₁ ที่ผสมตัวเองได้เมล็ด BC₃F₂ จำนวน 131.75 กรัม

4.1.5 การคัดเลือกต้น BC₄F₁-1988-4181-2786 BC₄F₁-1988-4181-2794

BC₄F₁-1988-4181-2799 และ BC₄F₁-1988-4181-2800 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

ในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2554 ปลูกเมล็ด BC₄F₁ ของ กข 6 และแปดริ้ว ที่ผลิตได้จาก BC₃F₁-1988-4181-2786 BC₃F₁-1988-4181-2794 BC₃F₁-1988-4181-2799 และ BC₃F₁-1988-4181-2800 ทั้งหมดจำนวน 24 ต้น แล้วคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM23428 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *WFP* โดยคัดเลือกต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากทั้งหมด 24 ต้น

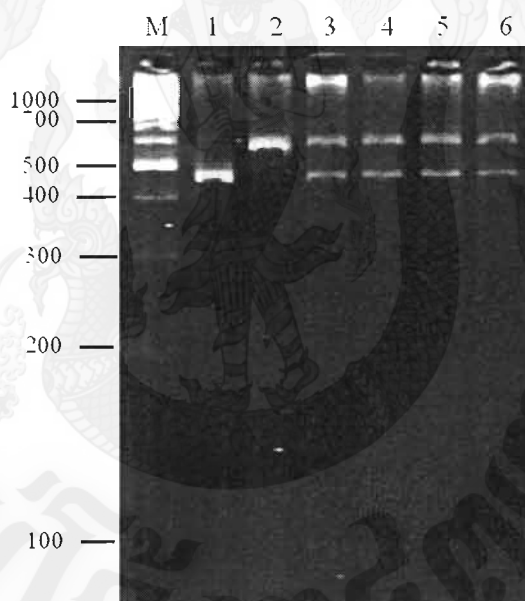
คัดเลือกได้ 14 ต้น ได้แก่ BC₄F₁-1988-4181-2799-4416 BC₄F₁-1988-4181-2799-4417 BC₄F₁-1988-4181-2799-4418 BC₄F₁-1988-4181-2799-4420 BC₄F₁-1988-4181-2799-4421 BC₄F₁-1988-4181-2799-4422 BC₄F₁-1988-4181-2794-4425 BC₄F₁-1988-4181-2794-4426 BC₄F₁-1988-4181-2794-4428 BC₄F₁-1988-4181-2786-4435 BC₄F₁-1988-4181-2786-4440 BC₄F₁-1988-4181-2786-4442 BC₄F₁-1988-4181-2786-4443 และ BC₄F₁-1988-4181-2786-4444 แล้วจึงคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM10395 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *SPP1* โดยคัดเลือกต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัสเช่นเดียวกัน จาก 14 ต้น ที่คัดเลือกได้ด้วยเครื่องหมาย RM23428 คัดเลือกได้ 8 ต้น ได้แก่ BC₄F₁-1988-4181-2799-4416 BC₄F₁-1988-4181-2799-4418 BC₄F₁-1988-4181-2794-4426 BC₄F₁-1988-4181-2794-4428 BC₄F₁-1988-4181-2786-4435 BC₄F₁-1988-4181-2786-4440 BC₄F₁-1988-4181-2786-4442 และ BC₄F₁-1988-4181-2786-4443 ต่อมาทำการคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM10318 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Gn1a* โดยคัดเลือกต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากต้น BC₄F₁ ที่ผ่านการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* และ *SPP1* จำนวน 8 ต้น คัดเลือกได้ 7 ต้น ได้แก่ BC₄F₁-1988-4181-2799-4418 BC₄F₁-1988-4181-2794-4426 BC₄F₁-1988-4181-2794-4428 BC₄F₁-1988-4181-2786-4435 BC₄F₁-1988-4181-2786-4440 BC₄F₁-1988-4181-2786-4442 และ BC₄F₁-1988-4181-2786-4443 จากนั้นทำการคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM21335 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Ghd7* โดยคัดเลือกต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัสเช่นเดียวกัน จากต้น BC₄F₁ ที่ผ่านการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* *SPP1* และ *Gn1a* จำนวน 7 ต้น คัดเลือกได้ 5 ต้น ได้แก่ BC₄F₁-1988-4181-2794-4426 BC₄F₁-1988-4181-2794-4428 BC₄F₁-1988-4181-2786-4440 BC₄F₁-1988-4181-2786-4442 และ BC₄F₁-1988-4181-2786-4443

จากผลการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถคัดเลือกต้น BC₄F₁ ที่มียีนควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงทั้งสี่ยีน คือ *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ได้จำนวน 5 ต้น ดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น จากนั้นทำการผสมตัวเองของต้น BC₄F₁ ดังกล่าวเพื่อผลิตเมล็ด BC₄F₂ สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงต่อไป

4.2 กลุ่มสมของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับพันธุ์เมืองไทย

4.2.1 การคัดเลือkdต้น F_1 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

ในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2552 ทำการผสมพันธุ์ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไทย ผลิตรเมล็ด F_1 ของชัยนาท 1 และเมืองไทย ได้จำนวน 6 เมล็ด จากนั้นในฤดูนาปี พ.ศ. 2552 ได้ทำการเพาะเมล็ด F_1 ของชัยนาท 1 และเมืองไทย แล้วคัดเลือkdต้น F_1 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์แตกต่างกันระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งเป็นข้าวต้นเดี่ยว กับข้าวพันธุ์เมืองไทยที่เป็นข้าวต้นสูงดังภาพ 27



ภาพ 27 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เมื่อใช้เครื่องหมาย Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เมืองไทย และต้น F_1 ของกลุ่มระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย โดยที่ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวต้นเดี่ยวพันธุ์ชัยนาท 1 เลนที่ 2 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของข้าวต้นสูงพันธุ์เมืองไทย เลนที่ 3-6 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของลูกผสม F_1 ระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ต้นที่ 1-4 ตามลำดับ

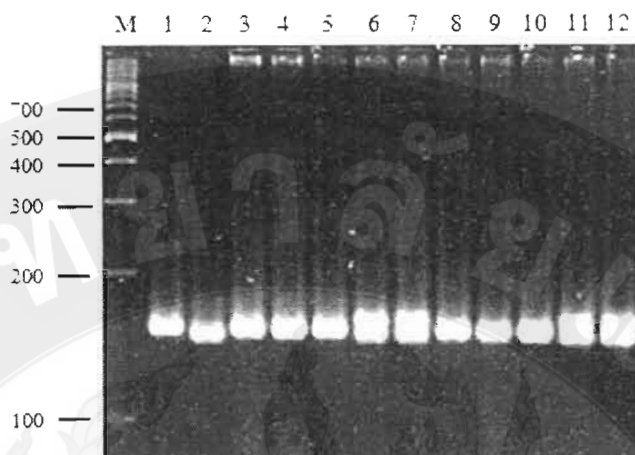
ประกอบกับยังไม่พบเครื่องหมายที่แยกความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย จากการคัดเลือกได้ต้น F_1 ที่มีแถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส (*Sd1sd1*) จำนวน 4 ต้น จากนั้นนำต้น F_1 ที่คัดเลือกได้ผสมกลับไปหาข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เพื่อผลิตเมล็ด BC_1F_1 ได้จำนวน 42 เมล็ด ขณะเดียวกันต้น F_1 ที่ผสมตัวเองได้เมล็ด F_2 จำนวน 113.77 กรัม จากนั้นในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2553 ทำการสร้างประชากร F_2 ของชัยนาท 1 และเมืองไทย แล้วทำการผสมตัวเองของต้น F_2 ผลิตเมล็ด F_3 ได้จำนวน 200 สายพันธุ์ สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553

4.2.2 การคัดเลือกต้น BC_1F_1 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

ในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2553 ทำการเพาะเมล็ด BC_1F_1 ของชัยนาท 1 และเมืองไทย แล้วคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM10316 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Gn1a* โดยคัดเลือกต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากทั้งหมด 10 ต้น คัดเลือกได้ 4 ต้น ได้แก่ BC_1F_1 -4099 BC_1F_1 -4100 BC_1F_1 -4105 และ BC_1F_1 -4106 ดังภาพ 28

จากนั้นคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM10402 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *SPPI* โดยคัดเลือกต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัสเช่นเดียวกัน จากทั้งหมด 10 ต้น คัดเลือกได้ 4 ต้น ได้แก่ BC_1F_1 -4099 BC_1F_1 -4100 BC_1F_1 -4105 และ BC_1F_1 -4106 ดังแสดงในภาพ 29 ซึ่งผลการคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM10316 และ RM10402 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Gn1a* และ *SPPI* ตามลำดับ ให้ผลการคัดเลือกได้ต้น BC_1F_1 เหมือนกัน อาจเนื่องมาจากตำแหน่งของยีนทั้งสองอยู่ใกล้กัน

ลำดับต่อมาคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM21330 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Ghd7* โดยคัดเลือกต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากทั้งหมด 10 ต้น คัดเลือกได้ 5 ต้น ได้แก่ BC_1F_1 -4099 BC_1F_1 -4100 BC_1F_1 -4102 BC_1F_1 -4104 และ BC_1F_1 -4105 ดังภาพ 30 จากการคัดเลือกต้น BC_1F_1 ที่มียีนควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงทั้งสามยีน คือ *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* จำนวน 3 ต้น ได้แก่ BC_1F_1 -4099 BC_1F_1 -4100 และ BC_1F_1 -4105 ซึ่งมีโนไทป์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัสเหมือนกันทั้งสามเครื่องหมายแล้วทำการผสมกลับไปหาพันธุ์ชัยนาท 1 เพื่อผลิตเมล็ด BC_2F_1 ได้เมล็ด BC_2F_1 รวมทั้งหมดจำนวน 21 เมล็ด ขณะเดียวกันคัดเลือกต้น BC_1F_1 -4100 ที่ผสมตัวเองได้เมล็ด BC_2F_2 จำนวน 1.260 เมล็ด เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553



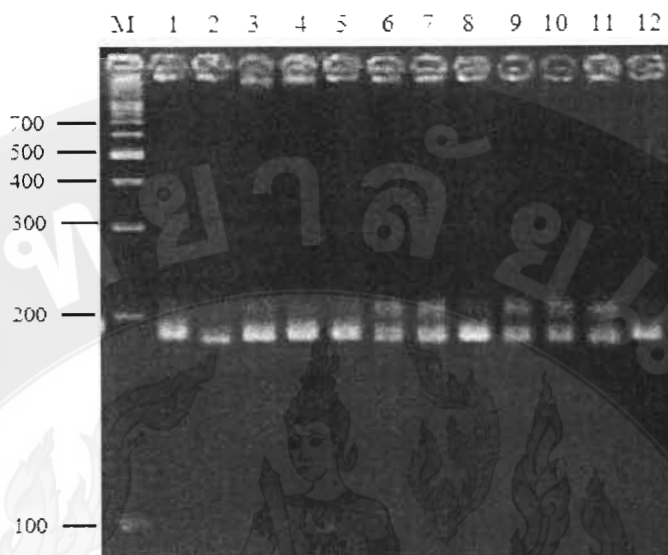
ภาพ 28 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ในการคัดเลือกดั้ง BC₁F₁ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เมืองไทย และต้น BC₁F₁ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ทั้งหมด 10 ต้น โดยที่ M คือ แถบ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ ข้าวพันธุ์ ชัยนาท 1 เลนที่ 2 คือ ข้าวพันธุ์ เมืองไทย เลนที่ 3-12 คือ ต้น BC₁F₁-4096 BC₁F₁-4097 BC₁F₁-4098 BC₁F₁-4099 BC₁F₁-4100 BC₁F₁-4101 BC₁F₁-4102 BC₁F₁-4104 BC₁F₁-4105 และ BC₁F₁-4106 คัดเลือกดั้งที่แสดงแถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์แบบเฮเทอโรไซกัส คือ ต้น BC₁F₁-4099 BC₁F₁-4100 BC₁F₁-4105 และ BC₁F₁-4106 (เลนที่ 6 7 11 และ 12 ตามลำดับ)



ภาพ 29 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ในการคัดเลือkdต้น BC_1F_1 เมื่อใช้เครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *SPP1* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เมืองไทย และต้น BC_1F_1 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ทั้งหมด 10 ต้น โดยที่ M คือ แถบ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เลนที่ 2 คือ ข้าวพันธุ์ เมืองไทย เลนที่ 3-12 คือ ต้น BC_1F_1 -4096 BC_1F_1 -4097 BC_1F_1 -4098 BC_1F_1 -4099 BC_1F_1 -4100 BC_1F_1 -4101 BC_1F_1 -4102 BC_1F_1 -4104 BC_1F_1 -4105 และ BC_1F_1 -4106 คัดเลือkdต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์แบบเฮเทอโรไซกัส คือ ต้น BC_1F_1 -4099 BC_1F_1 -4100 BC_1F_1 -4105 และ BC_1F_1 -4106 (เลนที่ 6 7 11 และ 12 ตามลำดับ)



ภาพ 30 ภาพอะกาโรสเจลแสดงตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ในการคัดเลือkdต้น BC₁F₁ เมื่อใช้เครื่องหมาย RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Ghd7* เป็นไพรเมอร์

หมายเหตุ ดีเอ็นเอที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ คือ ดีเอ็นเอของข้าวพันธุ์ ชัยนาท 1 เมืองไทย และต้น BC₁F₁ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ทั้งหมด 10 ต้น โดยที่ M คือ แถบ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder เลนที่ 1 คือ ข้าวพันธุ์ ชัยนาท 1 เลนที่ 2 คือ ข้าวพันธุ์ เมืองไทย เลนที่ 3-12 คือ ต้น BC₁F₁-4096 BC₁F₁-4097 BC₁F₁-4098 BC₁F₁-4099 BC₁F₁-4100 BC₁F₁-4101 BC₁F₁-4102 BC₁F₁-4104 BC₁F₁-4105 และ BC₁F₁-4106 คัดเลือkdต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์แบบเฮเทอโร ไฮบริด คือ ต้น BC₁F₁-4099 BC₁F₁-4100 BC₁F₁-4102 BC₁F₁-4104 และ BC₁F₁-4105 (เลนที่ 6 7 9 10 และ 11 ตามลำดับ)

4.2.3 การคัดเลือkdต้น BC₂F₁-4100 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 ปลุกเมล็ด BC₂F₁ ของชัยนาท 1 และเมืองไทย ที่ผลิตได้จากต้น BC₁F₁-4100 ทั้งหมด 19 ต้น แล้วคัดเลือkdด้วยเครื่องหมาย RM10316 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Gn1a* โดยคัดเลือkdต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโร ไฮบริด จากทั้งหมด 19 ต้น คัดเลือkdได้ 5 ต้น ได้แก่ BC₂F₁-4100-2757 BC₂F₁-4100-2758 BC₂F₁-4100-2759 BC₂F₁-4100-2762 และ BC₂F₁-4100-2767

เมื่อคัดเลือกว่าด้วยเครื่องหมาย RM10402 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *SPP1* โดยคัดเลือกว่าต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัสเช่นเดียวกัน จากทั้งหมด 5 ต้น ที่คัดเลือกได้จากเครื่องหมาย RM10316 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Gn1a* คัดเลือกได้ 4 ต้น ได้แก่ BC₂F₁-4100-2757 BC₂F₁-4100-2759 BC₂F₁-4100-2762 และ BC₂F₁-4100-2767

เมื่อคัดเลือกว่าด้วยเครื่องหมาย RM21330 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Ghd7* โดยคัดเลือกว่าต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากต้น BC₂F₁ ที่ผ่านการคัดเลือกว่าด้วยเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* และ *SPP1* จำนวน 4 ต้น คัดเลือกได้จำนวน 4 ต้น ได้แก่ BC₂F₁-4100-2757 BC₂F₁-4100-2759 BC₂F₁-4100-2762 และ BC₂F₁-4100-2767 เช่นเดียวกัน

ดังนั้นสามารถคัดเลือกว่าต้น BC₂F₁ ที่มียีนควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงทั้งสามยีน คือ *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ได้จำนวน 4 ต้น คือ BC₂F₁-4100-2757 BC₂F₁-4100-2759 BC₂F₁-4100-2762 และ BC₂F₁-4100-2767 แล้วทำการผสมกลับไปหาพันธุ์ ชัยนาท 1 เพื่อผลิตเมล็ด BC₃F₁ ได้เมล็ด BC₃F₁ ทั้งหมดจำนวน 68 เมล็ด ขณะเดียวกันต้น BC₂F₁ ที่ผสมตัวเองได้เมล็ด BC₂F₂ จำนวน 64.86 กรัม

4.2.4 การคัดเลือกว่าต้น BC₃F₁-4100-2757 และ BC₃F₁-4100-2762 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

ในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2554 ทำการปลูกเมล็ด BC₃F₁ ของชัยนาท 1 กับเมืองไพรที่ผลิตได้จาก BC₂F₁-4100-2757 และ BC₂F₁-4100-2762 ทั้งหมดจำนวน 12 ต้น แล้วคัดเลือกว่าด้วยเครื่องหมาย RM10316 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Gn1a* โดยคัดเลือกว่าต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากทั้งหมด 12 ต้น คัดเลือกได้ 7 ต้น ได้แก่ BC₃F₁-4100-2762-4377 BC₃F₁-4100-2762-4380 BC₃F₁-4100-2757-4391 BC₃F₁-4100-2757-4399 BC₃F₁-4100-2757-4403 BC₃F₁-4100-2757-4404 และ BC₃F₁-4100-2757-4406 แล้วจึงคัดเลือกว่าด้วยเครื่องหมาย RM10402 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *SPP1* พบว่าทั้ง 7 ต้นที่คัดเลือกได้ด้วยเครื่องหมาย RM10316 แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัสเช่นเดียวกัน จากนั้นจึงทำการคัดเลือกว่าด้วยเครื่องหมาย RM21330 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *Ghd7* โดยคัดเลือกว่าต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากต้น BC₃F₁ ที่ผ่านการคัดเลือกว่าด้วยเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* และ *SPP1* จำนวน 7 ต้น คัดเลือกได้ 2 ต้น ได้แก่ BC₃F₁-4100-2762-4377 และ BC₃F₁-4100-2757-4406 แล้วทำการคัดเลือกว่าด้วยเครื่องหมาย RM23433 ซึ่งเป็น target linked marker กับยีน *WFP* โดยคัดเลือกว่าต้นที่แสดงแถบดีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัสเช่นเดียวกัน พบว่า

ต้น BC_3F_1 ที่ผ่านการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* จำนวน 2 ต้น นั้นไม่มีต้นที่แสดงแถบสีเอ็นเอแบบเฮเทอโรไซกัส จากผลการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวสามารถคัดเลือกต้น BC_3F_1 ที่มีีนควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง จำนวนสามยีน คือ *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ได้จำนวน 2 ต้น คือ BC_3F_1 -4100-2762-4377 และ BC_3F_1 -4100-2757-4406 ทำการผสมตัวเองของต้น BC_3F_1 -4100-2762-4377 และ BC_3F_1 -4100-2757-4406 เพื่อผลิตเมล็ด BC_3F_2 สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงได้ต่อไป

4.3 การผลิตเมล็ดเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

การผลิตเมล็ดเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ทำการศึกษาโดยใช้เมล็ด F_2 และ BC_2F_2 -1988-4181 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ไห้แปดริ้ว ซึ่งเมล็ด F_2 ที่ผลิตได้ในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2552 ได้จากการผสมตัวเองของต้น F_1 ซึ่งคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล *Glu23* มีจีโนไทป์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ที่แสดงแถบสีเอ็นเอของทั้งข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ที่ใช้เป็นพันธุ์รับ และข้าวเจ้าพันธุ์แปดริ้วที่ใช้เป็นพันธุ์ไห้ และเมล็ด BC_2F_2 -1988-4181 จำนวน 484 เมล็ด ผลิตได้ในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2553 ได้จากการผสมตัวเองของต้น BC_2F_1 -1988-4181 ซึ่งคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM10318, RM10395 และ RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ตามลำดับ มีจีโนไทป์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ที่แสดงแถบสีเอ็นเอของทั้งข้าวพันธุ์รับ กข 6 และข้าวพันธุ์ไห้แปดริ้วทั้งสามเครื่องหมาย

สำหรับคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับข้าวพันธุ์ไห้เมืองไพร ใช้เมล็ด F_1 ที่ผลิตได้ในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2553 มีประชากรเริ่มต้น คือต้น F_1 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล $Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R$ มีจีโนไทป์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ที่แสดงแถบสีเอ็นเอของทั้งพันธุ์รับชัชนาท 1 ที่เป็นข้าวต้นเตี้ย และพันธุ์ไห้เมืองไพรที่เป็นข้าวต้นสูง ทำการผสมตัวเองของต้น F_1 ผลิตเมล็ด F_2 จากนั้นทำการผสมตัวเองของต้น F_2 ผลิตเมล็ด F_3 ได้จำนวน 200 สายพันธุ์ สำหรับเมล็ด BC_1F_2 -4100 จำนวน 1,260 เมล็ด ที่ผลิตได้ในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2553 ซึ่งได้จากการผสมตัวเองของต้น BC_1F_1 -4100 ซึ่งผ่านการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM10316, RM10402 และ

RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ตามลำดับ มีจีโนไทป์เป็นแบบ เฮเทอโรไซกัส ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 และข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรทั้งสาม เครื่องหมาย สร้างประชากรเพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

นำเมล็ด F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้วไปปลูกใน ฤดูนาปี พ.ศ. 2552 และ BC_2F_2 -1988-4181 รวมทั้งเมล็ด F_3 และ BC_2F_2 -4100 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรไปปลูกในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 เพื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรดังกล่าว

ผลการทดลองที่ 5 การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 และ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์แปดริ้ว

การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง ซึ่งคัดเลือกได้จากการทดลองที่ 3 กับจำนวนเมล็ดต่อรวงของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ได้ทำการศึกษาในประชากร F_2 จำนวน 100 กอ ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2552 และประชากร BC_2F_2 จำนวน 122 กอ ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลฟีโนไทป์และจีโนไทป์ โดยข้อมูลฟีโนไทป์ได้จากการนับจำนวนเมล็ดแล้วหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อรวงสำหรับแต่ละต้น และข้อมูลจีโนไทป์ได้จากการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอของประชากรแต่ละต้น เมื่อใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงแต่ละยีนในการตรวจสอบ เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีนแต่ละยีนนั้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือไม่ จากการศึกษาดังกล่าวได้ผลการทดลองดังนี้

5.1 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว จำนวน 100 กอ

ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2552 ได้ทำการปลูกประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ได้ต้น F_2 สำหรับการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

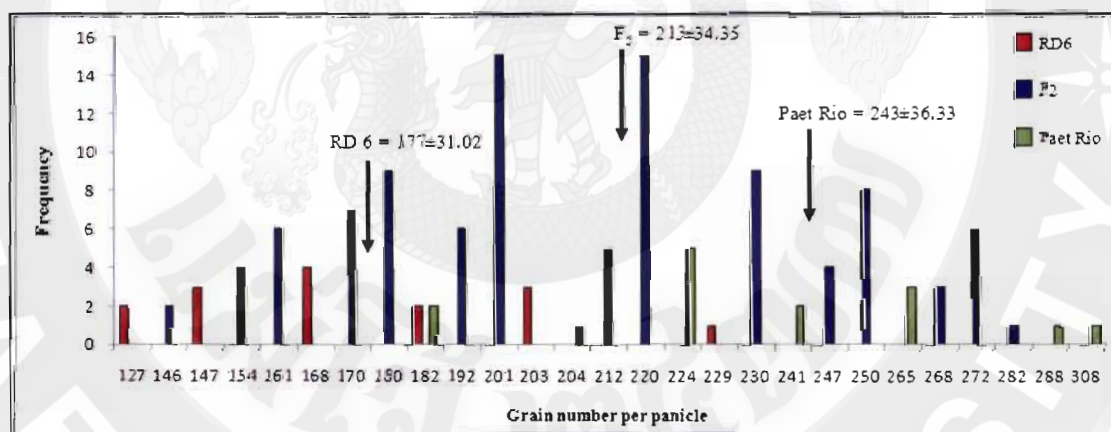
5.1.1 การเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ของแต่ละต้นในประชากร F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว จำนวน 100 กอ

เก็บข้อมูลฟีโนไทป์โดยทำการสุ่มเก็บรวงข้าวของต้น F_2 ที่มีอัตราการแข่งขันเท่ากัน จำนวน 100 กอ กล่าวคือเก็บตัวอย่างต้น F_2 ที่มีต้น F_2 ต้นอื่นชนาบข้างครบทั้งสี่ด้าน ทำการรวบรวมรวงข้าวทั้งหมดในแต่ละกอ แล้วเก็บรวงข้าวที่อยู่บนตำแหน่งสูงที่สุดของแต่ละกอ จำนวน 5 รวง แยกเก็บแต่ละกอ จำนวน 100 กอ เพื่อเป็นตัวอย่างในการศึกษาข้อมูลฟีโนไทป์ ทำการวิเคราะห์ข้อมูลฟีโนไทป์โดยนับจำนวนเมล็ดดี และเมล็ดลีบรวมกันทั้งหมด จากนั้นคำนวณหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อรวงสำหรับแต่ละต้น จากผลการเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ในประชากร F_2 ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 213 เมล็ดต่อรวง ขณะที่ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว เท่ากับ 177 และ 243 เมล็ดต่อรวง ดังแสดงในตารางผนวก 1 และ 2 ตามลำดับ (ภาคผนวก ก) เมื่อนำข้อมูลฟีโนไทป์ของตัวอย่างในประชากร F_2 จำนวน 100 กอ มาวิเคราะห์การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยโปรแกรม SAS พบว่า ประชากร F_2 ของกลุ่มผสมระหว่าง กข 6 กับแปดริ้วนั้นมีการกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) ($P=0.1018$) ดังแสดงในภาพ 31 มีค่า skewness ซึ่งอธิบายความเบ้ของกราฟเท่ากับ 0.068 ดังแสดงในตารางผนวก 11 (ภาคผนวก ค) แสดงให้เห็นว่าลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงนี้เป็นลักษณะเชิงปริมาณ มียีนที่ควบคุมหลายตำแหน่ง และสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของยีน มีการกระจายตัวของจำนวนเมล็ดต่อรวงอยู่ระหว่าง 145 ถึง 282 เมล็ด ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร F_2 เท่ากับ 213 เมล็ด เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว พบว่าจำนวนเมล็ดต่างกันถึง 66 เมล็ด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.0001$) สำหรับผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร F_2 กับข้าวพันธุ์รับ กข 6 เท่ากับ 36 เมล็ด พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) และผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร F_2 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว เท่ากับ 30 เมล็ด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) เช่นเดียวกัน ดังแสดงในตาราง 9

ตาราง 9 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับ กข 6 พันธุ์ให้แปดริ้ว และประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่าง กข 6 กับแปดริ้ว

ประชากร	ค่าพิสัย	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน	ระยะห่าง	P-value
กข 6 (recurrent parent)	126-229	177 $\pm$ 31.02	-36	0.0002**
F_2	145-282	213 $\pm$ 34.35		
แปดริ้ว (donor parent)	181-318	243 $\pm$ 36.33	+30	0.0021**

หมายเหตุ ** หมายความว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง



ภาพ 31 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2552

5.1.2 การตรวจสอบจีโนไทป์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับ ยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว

ทำการเก็บใบข้าวของต้น F_2 ทั้ง 100 ต้น มาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น เพื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร F_2 แต่ละต้น ในการทำพีซีอาร์ใช้เครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง ซึ่งคัดเลือกได้จากการทดลองที่ 3.1 โดยยีน *Gn1a* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10318 ยีน *SPP1* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10395 และยีน *Ghd7* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM21335

จากนั้นตรวจสอบผลผลิตพืชอาหารที่ได้ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส สำหรับยีน *WFP* นั้นไม่ได้ทำการตรวจสอบในประชากรนี้ เนื่องจากยังไม่มีรายงานการศึกษาขึ้นดังกล่าวในขณะที่ทำการทดลองนี้ โดยประชากร F_2 จะมีการกระจายตัวของยีนได้จีโนไทป์ 3 แบบ คือ homozygous ของพันธุ์รับ homozygous ของพันธุ์ให้ และ heterozygous

จากการตรวจสอบจีโนไทป์ของยีน *Gn1a* ด้วยเครื่องหมาย RM10318 พบว่าตัวอย่างต้น F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือน กข 6 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 24 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือนแปดริ้วมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 30 ต้น และต้น F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้วมีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 46 ต้น ดังภาพผนวก 1 (ภาคผนวก ข) เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

เมื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร F_2 แต่ละต้นด้วยเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPP1* พบว่าตัวอย่างต้น F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือน กข 6 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 25 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือนแปดริ้วมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 29 ต้น และต้น F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 46 ต้น ดังภาพผนวก 2 (ภาคผนวก ข) สำหรับใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPP1* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

เมื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร F_2 แต่ละต้นด้วยเครื่องหมาย RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Ghd7* พบว่าตัวอย่างต้น F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือน กข 6 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 24 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือนแปดริ้วมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 24 ต้น และต้น F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 52 ต้น ดังภาพผนวก 3 (ภาคผนวก ข) เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Ghd7* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือฟิโนไทป์ และการให้คะแนนจีโนไทป์ของเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ดังแสดงในตารางผนวก 3 (ภาคผนวก ก)

5.1.3 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

ทำการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวง โดยใช้ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ที่ได้จากข้อ 5.1.1 และ 5.1.2 ด้วยวิธี single regression เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีนแต่ละยีนนั้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือไม่ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8 ในการวิเคราะห์ข้อมูล พบว่าเครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 84,355 เบส มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับจำนวนเมล็ดต่อรวง ค่า R-square เท่ากับ 0.0829 เครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPP1* ที่ระยะ 10,202 เบส มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) กับจำนวนเมล็ดต่อรวง มีค่า R-square เท่ากับ 0.0953 และเครื่องหมาย RM21335 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Ghd7* ที่ระยะ 76,610 เบส นั้นมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับจำนวนเมล็ดต่อรวง ค่า R-square เท่ากับ 0.0830 ซึ่งค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ดังแสดงในตาราง 10

ตาราง 10 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว จำนวน 100 ต้น

Gene	Chromosome	Marker	R-square	F-value	P-value
<i>Gn1a</i>	1	RM10318	0.0829	4.39	0.0150*
<i>SPP1</i>	1	RM10395	0.0953	5.11	0.0077**
<i>Ghd7</i>	7	RM21335	0.0830	4.39	0.0149*

หมายเหตุ * หมายความว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

** หมายความว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

จากการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว จำนวน 100 ต้น พบว่าแต่ละเครื่องหมายมีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง สอดคล้องกับรายงานการศึกษาชิ้น *Gn1a* ที่ทำให้จำนวนเมล็ดข้าวต่อรวงบน

ลำต้นหลัก (main panicle) เพิ่มขึ้น 21% ในข้าวสายพันธุ์คู่แฝดของข้าวพันธุ์ Koshihikari (NIL-*Gn1a/Gn1a*) (Ashikari *et al.*, 2005) เช่นเดียวกับรายงานการศึกษาอื่น *SPP1* ซึ่งเป็น QTLs หลักของจำนวนดอกข้าวต่อรวง โดยใช้ประชากร F_2 และ F_3 ของกลุ่มผสมระหว่างพันธุ์รับ Zhenshan 97 (91 ดอกต่อรวง) กับพันธุ์ให้ Teping (226 ดอกต่อรวง) พบว่ายีน *SPP1* มี dominant effects กับลักษณะจำนวนดอกต่อรวงสูงถึง 51.1% และลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง 24.5% (Liu *et al.*, 2009) รวมถึงรายงานการศึกษาอื่น *Ghd7* ซึ่งเป็น QTLs ที่ควบคุมลักษณะปริมาณผลผลิต ความสูง และวันออกดอก โดยใช้ประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ Zhenshan 97 กับ Minghui 63 พบว่าอัลลีลของยีน *Ghd7* ที่ได้จากข้าวพันธุ์ Minghui 63 สามารถเพิ่มจำนวนดอกข้าวต่อรวงบนลำต้นหลักได้ 65.8% และให้ผลผลิตข้าวต่อต้นเพิ่มขึ้น 50.9% นอกจากนี้ยังส่งผลให้ต้นข้าวสูงขึ้น 40% และมีวันออกดอกช้าคิดเป็น 33% (Zhang *et al.*, 2009)

5.2 การวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว

ทำการวิเคราะห์หาค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมาย RM10318, RM10395 และ RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ทั้งหมดที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี multiple-locus regression เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ทั้งหมดนั้น เครื่องหมายใดมีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุด โดยใช้ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ที่ได้จากข้อ 5.1.1 และ 5.1.2 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8 พบว่าเครื่องหมาย RM10395 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *SPP1* มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุด โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P=0.0018$) และมีค่า partial R-square เท่ากับ 0.0949 ดังแสดงในตารางผนวก 18 (ภาคผนวก ค) เป็นเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว

5.3 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว จำนวน 122 กอ

ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 ได้ปลูกประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว โดยปลูกเมล็ด BC_2F_2 -1988-4181 ซึ่งได้จากการคัดเลือกต้น BC_2F_1 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM10318, RM10395 และ RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ตามลำดับ มีจีโนไทป์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งข้าวพันธุ์รับ กข 6 และข้าวพันธุ์ให้แปดริ้วทั้งสามเครื่องหมาย แล้วทำการผสมตัวเองของต้น BC_2F_1 -1988-4181 ผลิตเมล็ด BC_2F_2 -1988-4181 เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

5.3.1 การเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ของแต่ละต้นในประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว จำนวน 122 กอ

เก็บข้อมูลฟีโนไทป์โดยทำการสุ่มเก็บรวงข้าวของต้น BC_2F_2 ที่มีอัตราการแข่งขันเท่ากัน จำนวน 122 กอ กอละ 5-7 รวง ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างในประชากร F_2 ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ทำการนับจำนวนเมล็ดดี และเมล็ดลีบรวมกันทั้งหมด จากนั้นคำนวณหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อรวงสำหรับแต่ละต้น จากผลการเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ของประชากร BC_2F_2 ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 200 เมล็ดต่อรวง ดังภาพ 32 ขณะที่ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว เท่ากับ 184 และ 201 เมล็ดต่อรวง ดังแสดงในตารางผนวก 4 และ 5 ตามลำดับ (ภาคผนวก ก) เมื่อนำข้อมูลฟีโนไทป์ของตัวอย่างในประชากร BC_2F_2 จำนวน 122 ต้น มาวิเคราะห์การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยโปรแกรม SAS พบว่าประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่าง กข 6 กับแปดริ้วนั้นมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ โดยกระจายตัวเบ้ไปทางด้านขวา ($P=0.0058$) ดังแสดงในภาพ 33 มีค่า skewness ซึ่งอธิบายความเบ้ของกราฟเท่ากับ 0.553 ดังแสดงในตารางผนวก 19 (ภาคผนวก ก) มีการกระจายตัวของจำนวนเมล็ดต่อรวงอยู่ระหว่าง 148 ถึง 280 เมล็ด ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร BC_2F_2 เท่ากับ 200 เมล็ด เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว พบว่าจำนวนเมล็ดต่างกันเพียง 17 เมล็ด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สำหรับผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร BC_2F_2 กับพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว เท่ากับ 16 และ 1 เมล็ด ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยก็พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกัน ดังแสดงในตาราง 11

ตาราง 11 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับ กข 6 พันธุ์ให้แปดริ้ว และประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่าง กข 6 กับแปดริ้ว

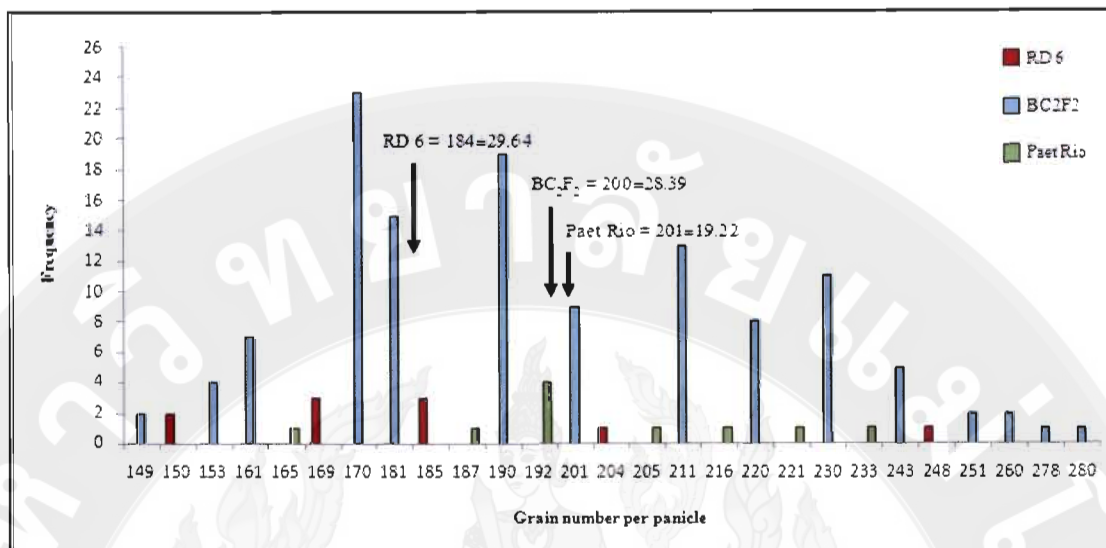
ประชากร	ค่าพิสัย	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน	ระยะห่าง	P-value
กข 6 (recurrent parent)	149-248	184 $\pm$ 29.64	-16	0.0905 ^{ns}
BC_2F_2	148-280	200 $\pm$ 28.39		
แปดริ้ว (donor parent)	165-233	201 $\pm$ 19.22	+1	0.8758 ^{ns}

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



(a) (b) (c)

ภาพ 32 แสดงฟีนไทป์ของประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว เมื่อ (a) คือ ข้าวพันธุ์ กข 6 (b) คือ BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์แปดริ้ว และ (c) คือ ข้าวพันธุ์แปดริ้ว ตามลำดับ



ภาพ 33 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC₂F₂ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553

5.3.2 การตรวจสอบจีโนไทป์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ในประชากร BC₂F₂ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว

ทำการเก็บใบข้าวของต้น BC₂F₂ ทั้ง 122 ต้น มาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น เพื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร BC₂F₂ แต่ละต้น ในการทำพีซีอาร์ใช้เครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง ซึ่งคัดเลือกได้จากการทดลองที่ 3.1 โดยยีน *Gn1a* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10318 ยีน *SPPI* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10395 ยีน *Ghd7* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM21335 และยีน *WFP* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM23428 แล้วตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยในประชากร BC₂F₂ นี้ จะมีการกระจายตัวของยีนได้จีโนไทป์ 3 แบบ คือ homozygous ของพันธุ์รับ homozygous ของพันธุ์ให้ และ heterozygous

จากการตรวจสอบจีโนไทป์ของยีน *Gn1a* ด้วยเครื่องหมาย RM10318 พบว่าตัวอย่างต้น BC₂F₂ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือน กข 6 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 34 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือนแปดริ้วมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 29 ต้น และต้น BC₂F₂ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้วมีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 59 ต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

เมื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร BC_2F_2 แต่ละต้นด้วยเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *SPPI* พบว่าต้น BC_2F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือน กข 6 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 35 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือนแปดริ้วมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 28 ต้น และต้น BC_2F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 59 ต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *SPPI* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

เมื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร BC_2F_2 แต่ละต้นด้วยเครื่องหมาย RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Ghd7* พบว่าต้น BC_2F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือน กข 6 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 37 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือนแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 35 ต้น และต้น BC_2F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 50 ต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Ghd7* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

เมื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร BC_2F_2 แต่ละต้นด้วยเครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *WFP* พบว่าตัวอย่างต้น BC_2F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือน กข 6 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 29 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือนแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 34 ต้น และต้น BC_2F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 59 ต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *WFP* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือฟิโนไทป์ และการให้คะแนนจีโนไทป์ของเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ดังแสดงในตารางผนวก 6 (ภาคผนวก ก)

5.3.3 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

ทำการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวง โดยใช้ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ที่ได้จากข้อ 5.3.1 และ 5.3.2 ด้วยวิธี single regression เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7*

และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงแต่ละขี้นั้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือไม่ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8 ในการวิเคราะห์ข้อมูล พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่าง กข 6 และแปดริ้ว โดยเครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 84,355 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0176 ($P=0.3460$) เครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *SPP1* ที่ระยะ 10,202 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0122 ($P=0.4804$) เครื่องหมาย RM21335 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Ghd7* ที่ระยะ 76,610 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0093 ($P=0.5731$) และเครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *WFP* ที่ระยะ 97,813 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0382 ($P=0.0982$) ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางผนวก 23-26 (ภาคผนวก ก) สรุปได้ดังแสดงในตาราง 12

ตาราง 12 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว จำนวน 122 ต้น

Gene	Chromosome	Marker	R-square	F-value	P-value
<i>Gn1a</i>	1	RM10318	0.0176	1.07	0.3460 ^{ns}
<i>SPP1</i>	1	RM10395	0.0122	0.74	0.4804 ^{ns}
<i>Ghd7</i>	7	RM21335	0.0093	0.56	0.5731 ^{ns}
<i>WFP</i>	8	RM23428	0.0382	2.37	0.0982 ^{ns}

หมายเหตุ ns หมายถึงว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้พบว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_2F_2 นั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสาเหตุหลักเกิดจากการหักล้มของต้นข้าวในช่วงเวลาที่ต้นข้าวตั้งท้องดังภาพ 34 เนื่องจากเป็นข้าวพันธุ์ต้นสูงจึงหักล้มง่าย และการหักล้มของข้าวนี้เป็นปัญหาสำคัญในการปลูกข้าวต้นสูง ทำให้เนื้อเยื่อของลำต้นเสียหาย

ส่งผลต่อประสิทธิภาพการลำเลียงไนโตรเจนซึ่งเป็นธาตุอาหารที่สำคัญ และมีผลต่อปริมาณผลผลิต ทำให้ผลผลิตหรือจำนวนเมล็ดต่อรวงลดลง (Yoshida, 1981) รวมถึงส่งผลกระทบต่ออื่นที่ควบคุมการแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงทำให้มีการแสดงออกได้ไม่เต็มที่ แตกต่างกับประชากร F_2 ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552 ที่ทำการมัดต้นข้าวแต่ละต้นกับไม้หลักในระยะก่อนข้าวตั้งท้อง จึงไม่ประสบปัญหาการหักล้มของต้นข้าวดังเช่นฤดูนาปี พ.ศ. 2553 ที่ใช้วิธีมัดต้นข้าวรวมกันเพื่อป้องกันการหักล้มของต้นข้าวเท่านั้น



ภาพ 34 การหักล้มของต้นข้าวในประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553

นอกจากนี้ความแปรปรวนของสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันในแต่ละฤดู สามารถส่งผลให้ยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงบางยีนมีการแสดงออกไม่เต็มที่ หรือไม่มีการแสดงออกเลย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Yan และคณะ (2009) ที่กล่าวถึงอิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่อการแสดงออกของยีน *Gn1a* กล่าวคือ ข้าวพันธุ์ Habataki ที่ปลูกในประเทศญี่ปุ่น จากรายงานของ Ashikari และคณะ (2005) ได้จำนวนเมล็ดต่อรวงเท่ากับ 306 เมล็ด ขณะที่ปลูกที่ Yangzhou ประเทศจีน ได้จำนวนเมล็ดต่อรวง 200 เมล็ด ซึ่งจำนวนเมล็ดลดลงประมาณ 35% และสอดคล้องกับรายงานของ Kovi และคณะ (2011) ที่รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงหรือความผันผวนของอุณหภูมิ ในแต่ละฤดูของปีส่งผลต่อองค์ประกอบผลผลิตของข้าว โดยการศึกษาลักษณะ

จำนวนคอกต่อรวง ความยาวของรวง และความสูงของต้นในปี ค.ศ. 2007 ใช้ประชากร recombinant inbred line ระหว่างข้าวพันธุ์ Zhenshan 95 กับ Zhongzao 18 แบ่งการเพาะกล้าเป็นสามช่วง ได้แก่ ช่วงแรก วันที่ 30 มีนาคม มีอุณหภูมิเฉลี่ยที่ 23 องศาเซลเซียส ช่วงกลาง วันที่ 18 พฤษภาคม มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29 องศาเซลเซียส และช่วงปลาย วันที่ 5 กรกฎาคม อุณหภูมิเฉลี่ยที่ 27 องศาเซลเซียส ซึ่งจากรายงานพบว่าช่วงการคอบสนองของแสงไม่มีผลต่อลักษณะที่ศึกษา แต่การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่สูงขึ้นในช่วงกลาง ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยที่ 30 องศาเซลเซียส นั้นมีผลทำให้จำนวนคอกข้าวต่อรวง ความยาวรวง และความสูงเพิ่มขึ้น

5.4 การวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว

ทำการวิเคราะห์หาค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมาย RM10318, RM10395, RM21335 และ RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ทั้งหมดที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี multiple-locus regression เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนแต่ละยีนทั้งหมดนั้น เครื่องหมายใดมีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุด โดยใช้ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ที่ได้จากข้อ 5.3.1 และ 5.3.2 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8 พบว่าเครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *WFP* ที่ระยะ 97,813 เบส มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุด โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.0356$) และมีค่า partial R-square เท่ากับ 0.0363 ดังแสดงในตารางผนวก 27 (ภาคผนวก ค) เป็นเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Miura และคณะ (2010) ได้ศึกษาพบว่ายีน *OsSPL14* หรือ *WFP* บนโครโมโซมที่ 8 มีผลต่อการแตกแขนง และเพิ่มปริมาณผลผลิตข้าว จากรายงานการวิเคราะห์การกระจายตัวของยีนในประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าว Nipponbare กับข้าวพันธุ์ ST-12 มีจำนวนเมล็ดบนลำต้นหลัก 152 และ 475 เมล็ด มีแขนงที่ 1 บนลำต้นหลัก 10.5 และ 28.9 แขนง ตามลำดับ พบว่าต้นที่ได้รับอัลลีลของยีน *OsSPL14* จากข้าวพันธุ์ ST-12 มีจำนวนเมล็ดบนลำต้นหลักเฉลี่ย 241.6 เมล็ด และมีแขนงที่ 1 เฉลี่ยจำนวน 21.4 แขนง ให้ผลผลิตสูงกว่าข้าว Nipponbare ถึง 52% ซึ่งตรงกับรายงานการศึกษาของ Jioa และคณะ (2010) ที่รายงานการทำงานของยีน *OsSPL14* หรือ *IPA* หรือ *WFP* ที่ควบคุมการแตกแขนงที่ 1 และ 2 ของรวงข้าว โดยสามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตข้าวขึ้นได้

10% ในข้าวสายพันธุ์คู่แข่งของข้าวพันธุ์ Xiushui 11 (XS11) ที่ได้รับอัลลีลของยีน *OsSPL14* ที่มีการกลายพันธุ์

จากผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_2F_2 พบว่าเครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *WFP* มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุด กล่าวได้ว่าประชากร BC_2F_2 นี้ได้รับยีน *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากข้าวพันธุ์ไห่แปดริ้ว เนื่องจากผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร BC_2F_2 (200 เมล็ด) กับข้าวพันธุ์ไห่แปดริ้ว (201 เมล็ด) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าประชากร BC_2F_2 ได้รับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงบางยีนจากพันธุ์ไห่แปดริ้ว ทำให้ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร BC_2F_2 เคลื่อนเข้าใกล้ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์ไห่แปดริ้ว ถึงแม้ว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ไห่แปดริ้วจะไม่แตกต่างกันทางสถิติ รวมถึงค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร BC_2F_2 กับข้าวพันธุ์รับ กข 6 ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติด้วยเช่นกัน ซึ่งมีสาเหตุมาจากการหักล้างของต้นข้าว และอิทธิพลของสภาพแวดล้อมดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น

นอกจากนี้ยังพบว่ามีการประชากร BC_2F_2 บางสายพันธุ์ที่มีความดีเด่นเหนือกว่าพันธุ์ไห่แปดริ้ว ดังภาพ 36 กล่าวคือ มีประชากร BC_2F_2 บางสายพันธุ์ที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมากกว่าข้าวพันธุ์ไห่แปดริ้ว ดังนั้นเพื่อเป็นการยืนยันผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับพันธุ์ไห่แปดริ้ว จึงควรนำสายพันธุ์ดังกล่าวไปปลูกศึกษาเพิ่มเติมในฤดูถัดไป และป้องกันการหักล้างของต้นข้าว

ผลการทดลองที่ 6 การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร

$F_{3:4}$ และ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับพันธุ์ชยันนาท 1

กับข้าวพันธุ์ไห่ที่คัดเลือกได้ คือ พันธุ์เมืองไทร

ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงซึ่งคัดเลือกได้จากการทดลองที่ 3 กับจำนวนเมล็ดต่อรวงของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 กับเมืองไทร โดยทำการศึกษาในประชากร $F_{3:4}$ จำนวน 87 กอ และประชากร BC_1F_2 จำนวน 100 กอ ในฤดูนาปี

(กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลฟีโนไทป์และจีโนไทป์ ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีนแต่ละยีนนั้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือไม่ จากการศึกษาได้ผลการทดลองดังนี้

6.1 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย จำนวน 87 สายพันธุ์

ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 ได้ทำการปลูกประชากรลูกผสมชั่วที่ 3 (F_3) ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย จำนวน 100 สายพันธุ์ เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

6.1.1 การเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ของแต่ละต้นในประชากร $F_{3,4}$ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทยจำนวน 87 สายพันธุ์

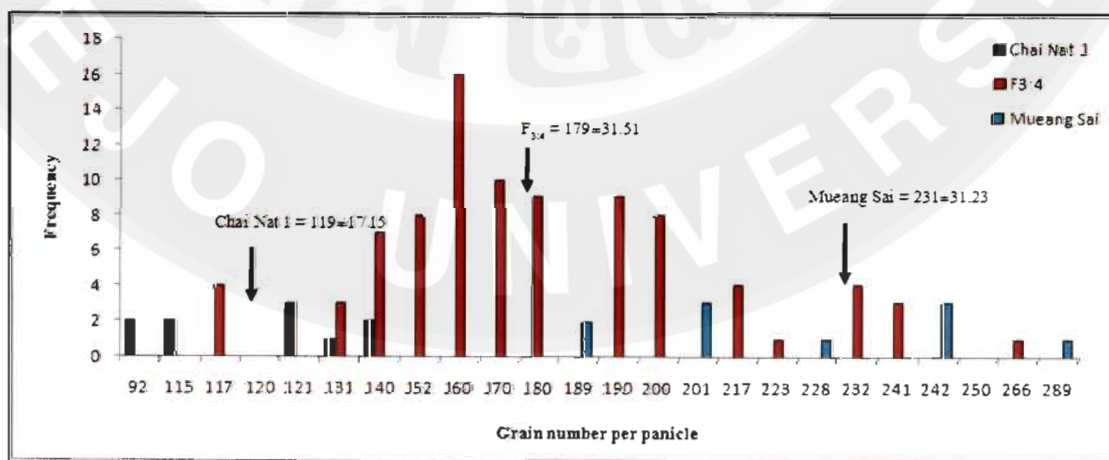
เก็บข้อมูลฟีโนไทป์โดยทำการสุ่มเก็บรวงข้าวของต้น F_3 ที่มีอัตราการแข่งขันเท่ากัน ได้จำนวน 87 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 100 สายพันธุ์ เนื่องจากมีการกระจายตัวของลักษณะความสูงของต้นข้าวในบางสายพันธุ์ ทำให้มีอัตราการแข่งขันไม่เท่ากันจึงไม่เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างสายพันธุ์ละ 5-7 กอ ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างในประชากร F_2 ดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น จากนั้นทำการสุ่มตัวอย่างของแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 1 ต้น เพื่อเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ โดยนับจำนวนเมล็ดดีและเมล็ดลีบรวมกันทั้งหมด จากนั้นคำนวณหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อรวงสำหรับแต่ละต้น จากผลการเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ได้ค่าเฉลี่ยของประชากร $F_{3,4}$ เท่ากับ 179 เมล็ดต่อรวง ขณะที่ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 และข้าวพันธุ์ให้เมืองไทย เท่ากับ 119 และ 231 เมล็ด ดังแสดงในตารางผนวก 7 และ 8 ตามลำดับ (ภาคผนวก ก) เมื่อนำข้อมูลฟีโนไทป์ของตัวอย่างในประชากร $F_{3,4}$ จำนวน 87 ต้น มาวิเคราะห์การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยโปรแกรม SAS พบว่า ประชากร $F_{3,4}$ ของกลุ่มสมระหว่างชัยนาท 1 กับเมืองไทยนั้นมีการกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) ($P=0.2321$) ดังแสดงในภาพ 35 มีค่า skewness ซึ่งอธิบายความเบ้ของกราฟเท่ากับ 0.361 ดังแสดงในตารางผนวก 28 (ภาคผนวก ค) มีการกระจายตัวของจำนวนเมล็ดต่อรวงอยู่ระหว่าง 116 ถึง 266 เมล็ด ค่าเฉลี่ย

จำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร F_4 เท่ากับ 179 เมล็ด เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์รับชยันต 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร พบว่ามีจำนวนเมล็ดต่างกันถึง 112 เมล็ด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.0001$) ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร $F_{3,4}$ กับข้าวพันธุ์รับชยันต 1 เท่ากับ 60 เมล็ด เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) และผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร $F_{3,4}$ กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไทร เท่ากับ 52 เมล็ด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) เช่นเดียวกัน ดังแสดงในตาราง 13

ตาราง 13 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับชยันต 1 พันธุ์ให้เมืองไทร และประชากร $F_{3,4}$ ของคู่ผสมระหว่างชยันต 1 กับเมืองไทร

ประชากร	ค่าพิสัย	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน	ระยะห่าง	P-value
ชยันต 1 (recurrent parent)	92-142	119 $\pm$ 17.15	-60	<0.0001**
$F_{3,4}$	116-266	179 $\pm$ 31.51		
เมืองไทร (donor parent)	189-289	231 $\pm$ 31.23	+52	<0.0001**

หมายเหตุ ** หมายความว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง



ภาพ 35 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชยันต 1 กับเมืองไทรในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553

6.1.2 การตรวจสอบจีโนไทป์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับ ยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ในประชากร $F_{3,4}$ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัชนาท 1 กับ เมืองไพร

ทำการสกัดดีเอ็นเอจากเมล็ดข้าวของประชากร F_4 โดยทำการแกะเปลือกเมล็ดข้าว ของตัวอย่างเมล็ดแต่ละสายพันธุ์ทั้งหมด 87 สายพันธุ์ ใช้เมล็ดจำนวน 7 เมล็ด ต่อสายพันธุ์มาทำ การสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น เพื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร $F_{3,4}$ แต่ละต้น ในการทำพีซีอาร์ใช้เครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง ซึ่งคัดเลือกได้จากการทดลองที่ 3.2 โดยยีน *Gn1a* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10316 ยีน *SPP1* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10402 ยีน *Ghd7* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM21330 และยีน *WFP* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM23433 แล้ว ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยในประชากร $F_{3,4}$ นี้ จะมีการกระจายตัว ของยีนได้จีโนไทป์ 3 แบบ คือ homozygous ของพันธุ์รับ homozygous ของพันธุ์ให้ และ heterozygous

จากการตรวจสอบจีโนไทป์ของยีน *Gn1a* ด้วยเครื่องหมาย RM10316 พบว่า ตัวอย่างต้น $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนชัชนาท 1 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 42 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือนเมืองไพรมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของ พันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 26 ต้น และต้น $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งชัชนาท 1 และ เมืองไพรมีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 จำนวน 19 ต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Gn1a* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

เมื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร $F_{3,4}$ แต่ละต้น ด้วยเครื่องหมาย RM10402 ที่ อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *SPP1* พบว่าตัวอย่างต้น $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนชัชนาท 1 มี จีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 39 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือน เมืองไพรมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 27 ต้น และต้น $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งชัชนาท 1 และเมืองไพรมีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 21 ต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *SPP1* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

เมื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร $F_{3,4}$ แต่ละต้น ด้วยเครื่องหมาย RM21330 ที่ อยู่ใกล้หรือยัดติดกับยีน *Ghd7* พบว่าตัวอย่างต้น $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนชัชนาท 1 มี จีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 35 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือน

เมืองไทรมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 32 ต้น และต้น $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบสีอ่อนของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไทรมีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 20 ต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Ghd7* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

เมื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร $F_{3,4}$ แต่ละต้น ด้วยเครื่องหมาย RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* พบว่าตัวอย่างต้น $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบสีอ่อนเหมือนชั้นนาท 1 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 33 ต้น แถบสีอ่อนเหมือนเมืองไทรมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 31 ต้น และต้น $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบสีอ่อนของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไทรมีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 23 ต้น สำหรับใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือฟิโนไทป์ และการให้คะแนนจีโนไทป์ของเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ดังแสดงในตารางผนวก 9 (ภาคผนวก ก)

6.1.3 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

ทำการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวง โดยใช้ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ที่ได้จากข้อ 6.1.1 และ 6.1.2 ด้วยวิธี single regression เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีนแต่ละยีนนั้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือไม่ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8 ในการวิเคราะห์ข้อมูล พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชั้นนาท 1 กับเมืองไทร โดยเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 11,819 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0294 ($P=0.2857$) เครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *SPPI* ที่ระยะ 62,830 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0227 ($P=0.3807$) เครื่องหมาย RM21330 ซึ่งชิดติดกับยีน *Ghd7* ที่ระยะ 294,497 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0448 ($P=0.1460$) และเครื่องหมาย RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* ที่ระยะ 97,813 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0084 ($P=0.7018$) ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางผนวก 32-35 (ภาคผนวก ก) สรุปได้ดังแสดงในตาราง 14

ตาราง 14 การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับ ยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวงใน ประชากร $F_{3,4}$ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย จำนวน 87 ต้น

Gene	Chromosome	Marker	R-square	F-value	P-value
<i>Gn1a</i>	1	RM10316	0.0294	1.27	0.2857 ^{ns}
<i>SPP1</i>	1	RM10402	0.0227	0.98	0.3807 ^{ns}
<i>Ghd7</i>	7	RM21330	0.0448	1.97	0.1460 ^{ns}
<i>WFP</i>	8	RM23433	0.0084	0.36	0.7018 ^{ns}

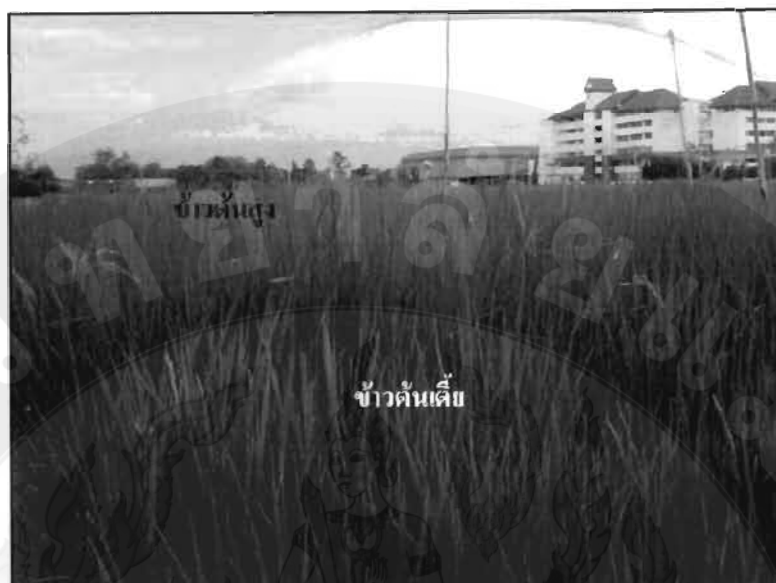
หมายเหตุ ns หมายความว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

6.2 การวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย

ทำการวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมาย RM10316, RM10402, RM21330 และ RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ทั้งหมดที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี multiple-locus regression ซึ่งใช้หลักการเดียวกับ composite interval mapping เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนแต่ละยีนทั้งหมดนั้น เครื่องหมายใดมีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุด โดยใช้ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ที่ได้จากข้อ 6.1.1 และ 6.1.2 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3,4}$

สันนิษฐานว่าอาจมียีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงยีนอื่นๆ ที่มีส่วนส่งเสริมการแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในข้าวพันธุ์เมืองไทยแต่ยังไม่สามารถตรวจพบได้ แม้ว่าจะใช้วิธี composite interval mapping ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวในการตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนมาใช้ในการวิเคราะห์แล้วก็ตาม

อีกสาเหตุหนึ่งที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับ ยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงใน ประชากร $F_{3:4}$ เนื่องจากในประชากร $F_{3:4}$ แต่ละสายพันธุ์นั้นมีการกระจายตัวของลักษณะความสูง ของต้นข้าว และอายุออกดอก ดังภาพ 36 และ 37 ซึ่งการกระจายตัวของลักษณะดังกล่าวใน ประชากร $F_{3:4}$ เกิดจากความแตกต่างกันของลักษณะความสูง และอายุออกดอกระหว่างข้าวพันธุ์รับ ชัยนาท 1 ที่มีความสูง 113 เซนติเมตร ไร่ไค่ช่วงแสง มีอายุออกดอกสั้น 110 วัน กับข้าวพันธุ์ให้ เมืองไทรที่เป็นข้าวต้นสูง มีความสูง 166 เซนติเมตร ไร่ไค่ช่วงแสง มีอายุออกดอก 145 วัน จึงกล่าว ได้ว่าความแปรปรวนจากการกระจายตัวของลักษณะความสูงของต้นข้าว และอายุออกดอก ส่งผล กระทบต่อการแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง กล่าวคือ การกระจายตัวของลักษณะ ความสูงของต้นข้าว ทำให้มีทั้งข้าวต้นสูง และต้นเตี้ยในแต่ละสายพันธุ์ ถึงแม้ว่าจะจัดกลุ่มความ สูงของประชากร F_3 ในขั้นตอนการวางแผนปลูกแล้วก็ตามแต่ก็ยังมีการกระจายตัวของลักษณะ ดังกล่าวในแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งข้าวต้นสูงจะบดบังแสงทำให้ข้าวต้นเตี้ยไม่สามารถสร้างอาหารได้ เต็มที่ ส่งผลต่อการพัฒนารวงข้าว และจำนวนเมล็ดต่อรวง นอกจากนี้ความแปรปรวนที่เกิดจาก การกระจายตัวของอายุออกดอกก็มีอิทธิพลต่อจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยเช่นกัน กล่าวคือ ข้าวที่มีอายุ ออกดอกเร็วจะมีช่วงระยะเวลาการพัฒนารวงน้อยทำให้มีแวนโน้มรวงข้าวสั้น มีเมล็ดต่อรวงน้อย ขณะที่ข้าวที่มีอายุออกดอกช้าจะมีแวนโน้มความยาวรวงมากกว่า ซึ่งความยาวรวงนั้นเป็นสัดส่วน โดยตรงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ดังนั้นความแปรปรวนที่เกิดจากการกระจายตัวของลักษณะความ สูง และอายุออกดอกจึงมีผลกระทบโดยตรงต่อการแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงใน ประชากร $F_{3:4}$



ภาพ 36 แสดงการกระจายตัวของลักษณะความสูงของต้นข้าวในประชากร $F_{3,4}$ แต่ละสายพันธุ์ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไพรในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553



ภาพ 37 แสดงการกระจายตัวของลักษณะอายุออกดอกของต้นข้าวในประชากร $F_{3,4}$ แต่ละสายพันธุ์ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไพรในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553

6.3 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, และ *Ghd7* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 กับเมืองไทร จำนวน 100 กอ

ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553 ได้ปลูกประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 กับเมืองไทร โดยปลูกเมล็ด BC_1F_2 -4100 ซึ่งได้จากการคัดเลือกต้น BC_1F_1 ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล RM10316, RM10402 และ RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ตามลำดับ มีจีโนมไทป์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 และข้าวพันธุ์เมืองไทรทั้งสามเครื่องหมาย แล้วทำการผสมตัวเองของต้น BC_1F_1 -4100 ผลิตเมล็ด BC_1F_2 -4100 เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

6.3.1 การเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ของแต่ละต้นในประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 กับเมืองไทร จำนวน 100 กอ

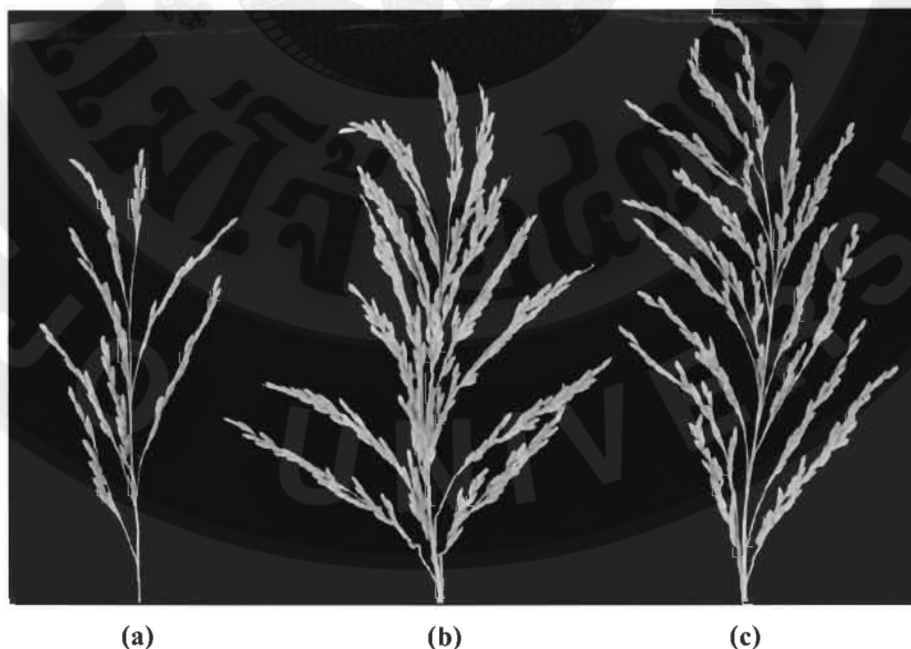
เก็บข้อมูลฟีโนไทป์โดยทำการสุ่มเก็บรวงข้าวของต้น BC_1F_2 ที่มีอัตราการแข่งขันเท่ากัน จำนวน 100 กอ กล่าวคือเก็บตัวอย่างต้น BC_1F_2 ที่มีต้น BC_1F_2 ต้นอื่นชนาบข้างครบทั้งสี่ด้าน ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการเก็บตัวอย่างในประชากร F_2 ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ทำการนับจำนวนเมล็ดดี และเมล็ดลีบรวมกันทั้งหมด จากนั้นคำนวณหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อรวงสำหรับแต่ละต้น จากผลการเก็บข้อมูลฟีโนไทป์ได้ค่าเฉลี่ยของประชากร BC_1F_2 เท่ากับ 141 เมล็ดต่อรวง ดังภาพ 38 ในขณะที่ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 และพันธุ์เมืองไทร เท่ากับ 119 และ 231 เมล็ดต่อรวง ดังแสดงในตารางผนวก 7 และ 8 ตามลำดับ (ภาคผนวก ก) เมื่อนำข้อมูลฟีโนไทป์ของตัวอย่างในประชากร BC_1F_2 จำนวน 100 ต้น มาวิเคราะห์การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยโปรแกรม SAS พบว่า ประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างชยันนาท 1 กับเมืองไทรนั้นมีการกระจายตัวแบบปกติ ($P=0.7379$) ดังแสดงในภาพ 39 ค่า skewness ซึ่งอธิบายความเบ้ของกราฟเท่ากับ 0.177 ดังแสดงในตารางผนวก 37 (ภาคผนวก ค) มีการกระจายตัวของจำนวนเมล็ดต่อรวงอยู่ระหว่าง 98 ถึง 193 เมล็ด ค่าเฉลี่ยของประชากร BC_1F_2 เท่ากับ 141 เมล็ด เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 กับพันธุ์เมืองไทร พบว่ามีจำนวนเมล็ดต่างกันถึง 112 เมล็ด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.0001$) ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร BC_1F_2 กับข้าวพันธุ์ชยันนาท 1 เท่ากับ 22 เมล็ด เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยพบที่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) และผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร BC_1F_2

กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไทร เท่ากับ 90 เมล็ด มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) เช่นเดียวกัน ดังแสดงในตาราง 15

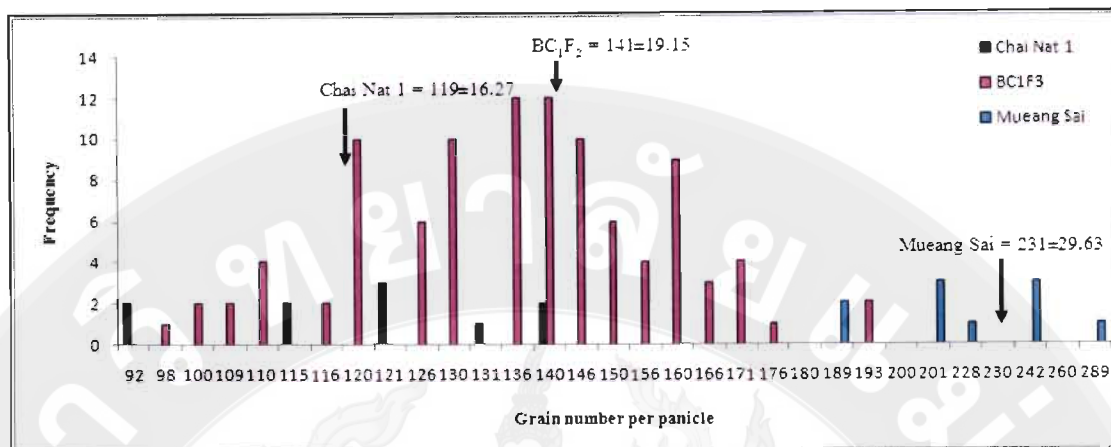
ตาราง 15 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 พันธุ์ให้เมืองไทร และ ประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างชันนาท 1 กับเมืองไทร

ประชากร	ค่าพิสัย	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน	ระยะห่าง	P-value
ชันนาท 1 (recurrent parent)	92-142	119 $\pm$ 17.15	-22	0.0010**
BC_1F_2	98-193	141 $\pm$ 19.15		
เมืองไทร (donor parent)	189-289	231 $\pm$ 31.23	+90	<0.0001**

หมายเหตุ ** หมายความว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง



ภาพ 38 แสดงฟีนไทป์ของประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไทร เมื่อ (a) คือ ข้าวพันธุ์ชันนาท 1 (b) คือ BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 กับข้าวพันธุ์เมืองไทร และ (c) คือ ข้าวพันธุ์เมืองไทร



ภาพ 39 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัชนาท 1 กับเมืองไพรในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553

6.3.2 การตรวจสอบจีโนไทป์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ในประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัชนาท 1 กับเมืองไพร

ทำการเก็บใบข้าวของต้น BC_1F_2 ทั้ง 100 ต้น มาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีการที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น เพื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร BC_1F_2 แต่ละต้น ในการทำพีซีอาร์ใช้เครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 3.2 โดยยีน *Gn1a* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10316 ยีน *SPP1* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM10402 ยีน *Ghd7* ตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM21330 แล้วตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยในประชากร BC_1F_2 นี้ จะมีการกระจายตัวของยีนได้จีโนไทป์ 3 แบบ คือ homozygous ของพันธุ์รับ homozygous ของพันธุ์ให้ และ heterozygous สำหรับยีน *WFP* นั้นไม่ได้ทำการตรวจสอบในประชากรนี้ เนื่องจากทำการตรวจสอบในประชากร $F_{3,4}$ ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัชนาท 1 กับเมืองไพร แล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจึงตัดสินใจไม่ทำการตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* ในประชากร BC_1F_2 นี้

จากการตรวจสอบจีโนไทป์ของจีโนไทป์ของประชากร BC_1F_2 แต่ละต้นด้วยเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* พบว่าตัวอย่างต้น BC_1F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนชัชนาท 1 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 26 ต้น แถบดีเอ็นเอเหมือนเมืองไพร มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มี

จำนวน 21 ต้น และต้น BC_1F_2 ที่แสดงแถบสีอ่อนของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไทรมีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 53 ต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

เมื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร BC_1F_2 แต่ละต้นด้วยเครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPP1* พบว่าตัวอย่างต้น BC_1F_2 ที่แสดงแถบสีอ่อนเหมือนชั้นนาท 1 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 21 ต้น แถบสีอ่อนเหมือนเมืองไทรมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 24 ต้น และต้น BC_1F_2 ที่แสดงแถบสีอ่อนของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไทรมีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 55 ต้น สำหรับใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPP1* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

เมื่อตรวจสอบจีโนไทป์ของประชากร BC_1F_2 แต่ละต้นด้วยเครื่องหมาย RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Ghd7* พบว่าตัวอย่างต้น BC_1F_2 ที่แสดงแถบสีอ่อนเหมือนชั้นนาท 1 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนเป็น 0 มีจำนวน 19 ต้น แถบสีอ่อนเหมือนเมืองไทรมีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนเป็น 2 มีจำนวน 19 ต้น และต้น BC_1F_2 ที่แสดงแถบสีอ่อนของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไทรมีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนเป็น 1 มีจำนวน 61 ต้น เพื่อใช้เป็นข้อมูลจีโนไทป์ในการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Ghd7* กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง

ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือฟีนไทป์ และการให้คะแนนจีโนไทป์ของเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ดังแสดงในตารางผนวก 10 (ภาคผนวก ก)

6.3.3 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวง

ทำการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวง โดยใช้ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ที่ได้จากข้อ 6.3.1 และ 6.3.2 ด้วยวิธี single regression เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีนแต่ละยีนนั้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงหรือไม่ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8 ในการวิเคราะห์ข้อมูล พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงใน

ประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย โดยเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 11,819 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0436 ($P=0.1150$) เครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *SPP1* ที่ระยะ 62,830 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0077 ($P=0.6865$) และเครื่องหมาย RM21330 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Ghd7* ที่ระยะ 294,497 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0313 ($P=0.2140$) ซึ่งผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางผนวก 40-42 (ภาคผนวก ก) สรุปได้ดังตาราง 16

ตาราง 16 การวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* แต่ละเครื่องหมายกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย จำนวน 100 ต้น

Gene	Chromosome	Marker	R-square	F-value	P-value
<i>Gn1a</i>	1	RM10316	0.0436	2.21	0.1150 ^{ns}
<i>SPP1</i>	1	RM10402	0.0077	0.38	0.6865 ^{ns}
<i>Ghd7</i>	7	RM21330	0.0313	1.57	0.2140 ^{ns}

หมายเหตุ ns หมายความว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

6.4 การวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย

ทำการวิเคราะห์หาค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมาย RM10316, RM10402 และ RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ทั้งหมดที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี multiple-locus regression เพื่อวิเคราะห์ว่าเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีนแต่ละยีนทั้งหมดนั้น เครื่องหมายใดมีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุด โดยใช้ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ที่ได้จากข้อ 6.3.1 และ 6.3.2 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8 พบว่าเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยืดยึดติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 11,819 เบส มีความสัมพันธ์กับ

ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุด โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.0453$) และมีค่า partial R-square เท่ากับ 0.0403

จากผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2 พบว่าเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุด กล่าวได้ว่าประชากร BC_1F_2 นี้ได้รับยีน *Gn1a* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงจากข้าวพันธุ์ให้เมืองไทร เนื่องจากเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร BC_1F_2 (141 เมล็ด) กับข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 (119 เมล็ด) พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P=0.001$) แสดงให้เห็นว่าประชากร BC_1F_2 ได้รับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงบางยีนจากพันธุ์ให้เมืองไทร ทำให้ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร BC_1F_2 มากกว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 ในขณะที่ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร BC_1F_2 (141 เมล็ด) กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไทร (231 เมล็ด) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.0001$) เช่นเดียวกัน ซึ่งสันนิษฐานว่าอาจมียีนตำแหน่งอื่นในข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรที่มีอิทธิพลต่อลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงทำให้มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก แต่ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้นำมาใช้ในการตรวจสอบ และศึกษาความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างชัยนาท 1 กับเมืองไทร และถึงแม้ว่าจะตรวจพบความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* แต่อิทธิพลของยีนดังกล่าวมีผลต่อลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงน้อย หรืออาจเป็นยีนที่อยู่ในกลุ่มยีนรอง (minor QTL) เนื่องจากค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร BC_1F_2 คือ 141 เมล็ด มีค่าแตกต่างจากค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 คือ 119 เมล็ด และค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร BC_1F_2 ยังต่างจากค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของพันธุ์ให้เมืองไทรถึง 90 เมล็ด

ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี single regression แล้วปรากฏว่าไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2 แต่เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี multiple-locus regression ซึ่งมีหลักการเดียวกับ composite interval mapping สามารถตรวจพบความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* ได้ สอดคล้องกับรายงานของ Nagabhushana และคณะ (2006) ซึ่งได้ศึกษาและเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ QTL ของลักษณะการเจริญและปริมาณผลผลิตของข้าวด้วยวิธี simple interval mapping (SIM) ซึ่งมีหลักการเดียวกับ single regression และ composite interval mapping (CIM) ที่มีหลักการเดียวกับ

multiple-locus regression พบว่าการวิเคราะห์วันออกดอก (days to flowering) ด้วยวิธี SIM ไม่สามารถตรวจพบ QTL ได้ แต่เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี CIM สามารถตรวจพบ 1 QTL บนโครโมโซมที่ 3 และเมื่อวิเคราะห์ลักษณะปริมาณผลผลิต (grain yield) ด้วยวิธี SIM ตรวจพบเพียง 2 QTL บนโครโมโซมที่ 6 และ 8 ในขณะที่วิเคราะห์ด้วยวิธี CIM สามารถตรวจพบ 3 QTL บนโครโมโซมที่ 3 6 และ 8 ซึ่งจากรายงานสรุปได้ว่าการวิเคราะห์ QTL ด้วยวิธี CIM นั้นมีประสิทธิภาพ และความไวในการตรวจพบมากกว่าวิธี SIM เนื่องจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี CIM จะรวมความแปรปรวนที่เกิดจาก QTL อื่นๆ มาวิเคราะห์ร่วมด้วย ในขณะที่การวิเคราะห์ด้วยวิธี SIM ใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับ QTL ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์เท่านั้น จึงมีประสิทธิภาพ และขอบเขตในการตรวจพบน้อยกว่าการวิเคราะห์ด้วยวิธี CIM

สาเหตุที่พบเครื่องหมายโมเลกุล RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* ที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2 ต่างจากประชากร $F_{3,4}$ ที่ไม่พบความสัมพันธ์นั้นเพราะประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างชัยนาท 1 กับเมืองไทยเป็นข้าวต้นเดี่ยวทั้งหมด มีอายุออกดอกใกล้เคียงกัน ดังภาพ 40 จึงไม่มีอิทธิพลจากการหักล้มของต้นข้าวรวมถึงความแปรปรวนจากอายุออกดอกที่แตกต่างกันมาเกี่ยวข้องกับจำนวนเมล็ดต่อรวง การแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงใน ประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างชัยนาท 1 กับเมืองไทยนี้ จึงได้รับอิทธิพลจากการทำงานของยีนเท่านั้น ดังนั้นจึงควรค้นหา และศึกษาอื่นที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงตำแหน่งอื่นๆ เพิ่มเติม เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากได้ต่อไป



ภาพ 40 แสดงลักษณะความสูง และอายุออกดอกของต้นข้าวในประชากร BC_1F_2 ของกลุ่มสมระหว่างชัยนาท 1 กับเมืองไทย ในฤดูนาปี (กรกฎาคม – ธันวาคม) พ.ศ. 2553

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

ในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมาก ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในกลุ่มประชากรตัวอย่าง โดยคัดเลือกข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้เพื่อสร้างประชากรตัวอย่าง คัดเลือกข้าวพันธุ์รับได้ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ซึ่งมีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 207 เมล็ด และคัดเลือกข้าวพันธุ์แปดริ้วที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 266 เมล็ด เป็นพันธุ์ให้ (donor parent) คัดเลือกได้ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นพันธุ์รับ ซึ่งมีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 133 เมล็ด คัดเลือกข้าวพันธุ์เมืองไทยที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 338 เมล็ด เป็นพันธุ์ให้ สำหรับสร้างประชากรตัวอย่าง

การหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในข้าว ได้ทำการคัดเลือกเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีนดังกล่าวมาตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว รวมทั้งข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 และพันธุ์ให้เมืองไทย พบว่าเครื่องหมาย RM10318, RM10395, RM21335 และ RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ระยะ 84,355 10,202 76,610 และ 68,830 เบส ตามลำดับ แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว ขณะที่เครื่องหมาย RM10316, RM10402, RM21330 และ RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ระยะ 11,819 62,830 294,497 และ 97,813 เบส ตามลำดับ แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 และพันธุ์ให้เมืองไทย

ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ใช้ประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้วที่ได้จากการผสมตัวเองของต้น F_1 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมาย Glu23 มีจีโนไทป์เป็นเฮเทอโรไซกัส และประชากร BC_2F_2 -1988-4181 ซึ่งมีประชากรเริ่มต้น คือ ต้น F_1 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมาย Glu23 มีจีโนไทป์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส แล้วทำการผสมกลับไปหาพันธุ์รับ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC_2F_1 จากนั้นทำการคัดเลือกต้น BC_2F_1 ด้วยเครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a* คัดเลือกได้ต้นที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัส แล้วทำการผสมกลับไปหาพันธุ์รับ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC_2F_1 ต่อมาทำการคัดเลือกต้น BC_2F_1 ด้วยเครื่องหมาย RM10318, RM10395 และ RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือ

ยิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ตามลำดับ คัดเลือกได้ต้น BC₂F₁-1988-4181 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัสทั้งสามเครื่องหมาย แล้วจึงทำการผสมตัวเองของต้น BC₂F₁-1988-4181 ได้เมล็ด BC₂F₂-1988-4181 จำนวน 484 เมล็ด สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

สำหรับกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไพรทำการศึกษาในประชากร F_{3,4} ซึ่งมีประชากรเริ่มต้น คือ ต้น F₁ ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมาย Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R มีจีโนไทป์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส แล้วทำการผสมตัวเองได้เมล็ด F₂ จากนั้นทำการผสมตัวเองของต้น F₂ ผลิตได้เมล็ด F₃ จำนวน 200 สายพันธุ์ สำหรับประชากร BC₁F₂-4100 ซึ่งมีประชากรเริ่มต้น คือ ต้น F₁ ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมาย Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R มีจีโนไทป์เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส แล้วทำการผสมกลับไปหาพันธุ์รับชัชนาท 1 เพื่อผลิตเมล็ด BC₁F₁ จากนั้นทำการคัดเลือกรุ่น BC₁F₁ ด้วยเครื่องหมาย RM10316, RM10402 และ RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ตามลำดับ คัดเลือกได้ต้น BC₁F₁-4100 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮเทอโรไซกัสทั้งสามเครื่องหมาย แล้วจึงทำการผสมตัวเองของต้น BC₁F₁-4100 ได้เมล็ด BC₁F₂-4100 จำนวน 1,260 เมล็ด เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

การศึกษาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* แต่ละยีนที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F₂ ของกลุ่มผสมระหว่าง กข 6 กับแปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552 ด้วยวิธี single regression พบว่าเครื่องหมาย SSR marker ทั้งสามเครื่องหมายนั้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวง โดยเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *SPPI* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) กับจำนวนเมล็ดต่อรวง มีค่า R-square เท่ากับ 0.0953 ในขณะที่เครื่องหมาย RM10318 และ RM21335 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *Gn1a* และ *Ghd7* นั้นมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) กับจำนวนเมล็ดต่อรวง มีค่า R-square เท่ากับ 0.0829 และ 0.0830 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* กับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี multiple-locus regression พบว่าเครื่องหมาย RM10395 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยิดติดกับยีน *SPPI* เท่ากับ 10,202 เบส มีค่า partial R-square เท่ากับ 0.0949 และมีค่าระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.0018 เป็นเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุดในการศึกษาประชากร F₂ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว

สำหรับประชากร BC₂F₂-1988-4181 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ไห้แปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 วิเคราะห์ผลการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี multiple-locus regression พบเครื่องหมาย RM23428 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *WFP* ที่ระยะ 97,813 เบส เป็นเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากรดังกล่าวมากที่สุด โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.0356$) และมีค่า partial R-square เท่ากับ 0.0363 ในขณะที่ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี single regression พบว่าเครื่องหมาย SSR marker ทั้งสี่เครื่องหมายนั้นไม่แสดงความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร BC₂F₂-1988-4181 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ไห้แปดริ้ว เนื่องจากปัญหาการหักกล้มของต้นข้าวที่ส่งผลการแสดงออกของยีนควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง ทำให้มีการแสดงออกได้ไม่เต็มที่ จึงทำให้ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีนแต่ละยีนกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC₂F₂-1988-4181 นี้ ให้ผลการศึกษาไม่สอดคล้องกับประชากร F₂ ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_{3:4} ของกลุ่มผสมระหว่างพันธุ์รับชัยนาท 1 กับพันธุ์ไห้เมืองไทร ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 นั้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 11,819 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0294 เครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPPI* ที่ระยะ 62,830 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0227 เครื่องหมาย RM21330 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Ghd7* ที่ระยะ 294,497 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0448 และเครื่องหมาย RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *WFP* ที่ระยะ 97,813 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0084 ตามลำดับ เนื่องจากอาจมียีนตำแหน่งอื่นที่มีผลต่อลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงซึ่งยังไม่สามารถตรวจพบ ประกอบกับการแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงได้รับอิทธิพลของความแปรปรวนจากการกระจายตัวของลักษณะความสูงของต้นข้าว และอายุออกดอกของต้นข้าวในประชากรนี้

เมื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC₁F₂-4100 ซึ่งเป็นประชากรต้นเดี่ยว มีอายุออกดอกในประชากรใกล้เคียงกัน ด้วยวิธี single regression พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 11,819 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0436 เครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยืติดกับยีน *SPPI* ที่ระยะ 62,830 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0077 และ RM21330 ซึ่งอยู่ใกล้

หรือยีนติดกับยีน *Ghd7* ที่ระยะ 294,497 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0313 แต่เมื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ด้วยวิธี multiple-locus regression พบว่าเครื่องหมาย RM10316 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยีนติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 11,819 เบส เป็นเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC₁F₂-4100 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรมากที่สุด โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P=0.0453$) และมีค่า R-square เท่ากับ 0.0403

ซึ่งจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร BC₁F₂-4100 กับทั้งข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 และพันธุ์ให้เมืองไทร แสดงให้เห็นว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร BC₁F₂-4100 ซึ่งเท่ากับ 141 เมล็ด มากกว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 คือ 119 เมล็ด ขณะที่ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของ BC₁F₂-4100 นี้น้อยกว่าข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรถึง 90 เมล็ด เนื่องจากประชากร BC₁F₂-4100 ที่ใช้ในการศึกษาได้จากการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยีนติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง เพราะตรวจพบความสัมพันธ์กับเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยีนติดกับยีน *Gn1a* เพียงเครื่องหมายเดียว แสดงให้เห็นว่ายีนดังกล่าวมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงน้อย จึงอาจมียีนตำแหน่งอื่นๆ ของข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรที่มีผลต่อจำนวนเมล็ดต่อรวง ซึ่งยังไม่ได้คัดเลือก และทำการศึกษาในครั้งนี้

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยีนติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง พบว่ากลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร พบเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยีนติดกับยีน *Gn1a* มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC₁F₂-4100 สำหรับกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับกข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว พบเครื่องหมาย RM10318, RM10395 และ RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยีนติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ตามลำดับ มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F₂ และเครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยีนติดกับยีน *WFP* มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC₂F₂-1988-4181 ซึ่งเครื่องหมายที่แสดงความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรตัวอย่างของทั้งสองกลุ่ม โดยเฉพาะเครื่องหมาย RM10395, RM10316 และ RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยีนติดกับยีน *SPP1*, *Gn1a* และ *WFP* เป็นเครื่องหมายที่มีแนวโน้มที่สามารถนำไปใช้คัดเลือกในการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากได้ต่อไป นอกจากนี้ควรค้นหายีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงอื่นๆ และทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากได้ต่อไป

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงเป็นลักษณะเชิงปริมาณ จึงมีขั้นตอนที่ควบคุมการ
แสดงออกของลักษณะหลายตำแหน่ง การค้นหาตำแหน่งอื่นๆ เพิ่มเติม รวมถึงการค้นหา
เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนนั้นๆ เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง
เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ด
ต่อรวงในกลุ่มประชากรตัวอย่าง จะช่วยให้การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์
ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากประสบผลสำเร็จได้ รวมถึงการคัดเลือกข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ในการ
สร้างประชากรเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ดังกล่าว จำเป็นต้องพิจารณาลักษณะที่ศึกษาให้มีความแตกต่าง
กันมากที่สุด แต่ลักษณะอื่นๆ ควรมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ซึ่งจากการคัดเลือกข้าวพันธุ์รับ
และพันธุ์ให้ระหว่างกลุ่มสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้วนั้น มีลักษณะความสูง และอายุออกดอก
ใกล้เคียงกัน ในขณะที่กลุ่มสมของข้าวพันธุ์ ชัยนาท 1 กับเมืองไทรนั้นมีความแตกต่างกันมากทำให้มี
การกระจายตัวของลักษณะความสูงของต้นข้าว และอายุออกดอก ซึ่งความแปรปรวนที่เกิดจากการ
กระจายตัวของลักษณะความสูง และอายุออกดอกมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะ
จำนวนเมล็ดต่อรวง รวมถึงจำนวนตัวอย่างของประชากรที่ทำการศึกษามีจำนวนมาก (150-200
ตัวอย่าง) เพื่อให้มีการกระจายตัวของลักษณะที่ศึกษาได้ดี การศึกษาในข้าวต้นสูงที่เกิดปัญหาต้นข้าว
หักล้มเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อการพัฒนาดอก และรวง ดังนั้นควรทำการศึกษาในข้าวที่มีความสูง
ปานกลาง หรือต้นเตี้ยเพื่อลดปัจจัยที่จะส่งผลต่อศักยภาพ และการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะ
จำนวนเมล็ดต่อรวง นอกจากนี้ต้องควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อสภาพแวดล้อมให้มีความสม่ำเสมอ

บรรณานุกรม

กมลทิพย์ บุญรัตน์. 2551. การหาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว กข 6 ให้ต้านเคย์และศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของอัลลีล *Sd1/sd1* ในข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 131 น.

กรมการข้าว. 2554. รายงานสถานการณ์ข้าวรายสัปดาห์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.ricethailand.go.th/rice%20web/Price%20of%20Rice/no.29-54.pdf> (11 สิงหาคม 2554).

_____. 2554. สถานการณ์การผลิต และการตลาดข้าวของโลก ปีการผลิต 2554/2555. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.ricethailand.go.th/rice%20web/Rice%20Situation/data/54-55/Aug11.pdf> (30 สิงหาคม 2554).

กรมวิชาการเกษตร. 2543. พันธุ์พืชขึ้นทะเบียนและพันธุ์พืชรับรอง ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518. กรุงเทพฯ: ฝ่ายพันธุ์พืช กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 293 น.

_____. เอกสารการจดทะเบียนพันธุ์พืชใหม่ คพ1. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://m.doa.go.th/pvp/kp1-3.html> (11 สิงหาคม 2554).

กรุงเทพธุรกิจออนไลน์. 2554. ไทยส่งออกข้าว'สูงเป็นประวัติการณ์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.bangkokbiznews.com/home/detail/business/business/20110727/401992/ไทยส่งออกข้าวสูงเป็นประวัติการณ์.html> (11 สิงหาคม 2554).

จำรัส โปร่งศิริวัฒนา. 2534. ความรู้เรื่องข้าว. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตร และสหกรณ์. 267 น.

เจตศรีณย์ สุวรรณธานี. 2550. การศึกษาผลของยีน *Wx* และ *wx* ต่อผลผลิตของข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 131 น.

ดาวรุ่ง กังวานพงศ์. 2546. พันธุศาสตร์. เชียงใหม่: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 518 น.

ดำเนิน กาสะดี. 2545. เทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์พืช. เชียงใหม่: โรงพิมพ์มีเมือง. 256 น.

บุญหงษ์ จงกิด. 2547. ข้าวและเทคโนโลยีการผลิต. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 184 น.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2550. พันธุศาสตร์ประชากรและปริมาณ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 215 น.

- ผู้จัดการออนไลน์. 2554. นักวิชาการหนุนยึดจีนต้นแบบ‘ข้าวลูกผสม’เพิ่มรายได้เกษตรกรไทย ก่อนถูกเวียตนามแซง. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.manager.co.th/China/ViewNews.aspx?NewsID=9510000058319> (30 สิงหาคม 2554).
- วราภรณ์ ศิริตล. 2551. การคัดเลือกพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก. ปัญหาพิเศษ ปรียญตรี. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 112 น.
- วิไลลักษณ์ พลกลาง. 2541. ลักษณะประจำพันธุ์ข้าวพันธุ์พื้นเมืองของไทย. ปรานีนบุรี: ศูนย์วิจัยข้าวปรานีนบุรี. 473 น.
- ศิริพร พงศ์สุกสมิทธิ์. 2547. การปรับปรุงพันธุ์พืช. เชียงใหม่: ภาควิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 253 น.
- สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 2544. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกับข้าวไทย. กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 156 น.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2554. สถิติการส่งออก (Export) -- ข้าว (รวม): ปริมาณ และมูลค่าการส่งออกรายเดือน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php (11 สิงหาคม 2554).
- สุภาวดี พุ่มพวง. 2550. จีโนมสัตว์น้ำ และการทำแผนที่ยีน. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 109 น.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอฟดีและเอฟแอลพี. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 116 น.
- สุริพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 5(2): 37-59.
- สุสกุล ปาลกะวงศ์ ณ อยุธยา. ม.ป.ป. ชีวสารสนเทศศาสตร์ (Bioinformatics) : ศาสตร์ใหม่แห่งวงการชีววิทยา. น. 27-30. ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ปทุมธานี: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.
- อภิชาติ วรรณวิจิตร. 2544. เอกสารประกอบการสอนวิชา 003579 ชีวโมเลกุลในการปรับปรุงพันธุ์. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.
- อรรจน์ มงคลพร. 2548. เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. 95 น.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 366 น.

- อัมมาร สยามวาลา และ วิโรจน์ ณ ระนอง. 2533. **ประมวลความรู้เรื่องข้าว**. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยเพื่อการพัฒนาประเทศไทย. 436 น.
- Acquaah, G. 2007. **Principles of Plant Genetics and Breeding**. UK: Blackwell publishing Ltd. 565 p.
- Ashikari, M., H. Sakakibara, S. Lin and M. Matsuoka. 2005. Cytokinin oxidase regulates rice grain production. **Science** 309: 741-745.
- Fan, C. C., Y. Z. Xing and Q. F. Zhang. 2006. GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. Cited by Yan, C., S. Yan and Y. Yang. 2009. Development of gene-tagged markers for Quantitative trait loci underlying rice yield components. **Euphytica** 169: 215-226.
- Franco-Zorrilla, J. M., A. Valli, M. Todesco, I. Mateos, M. I. Puga, I. Rubio-Somoza, A. Leyva, D. Weigel, J. A. García and J. Paz-Ares 2007. Target mimicry provides a new mechanism for regulation of microRNA activity. Cited by Jiao, Y., Y. Wang, D. Xue, J. Wang, M. Yan, G. Liu, G. Dong, D. Zeng, Z. Lu, X. Zhu, Q. Qian, and J. Li. 2010. Regulation of OsSPL14 by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice. **Nat Genet** 42(6): 541-544.
- Frisch, M., M. Bohn and A. E. Melchinger. 1999. Minimum Sample Size and Optimal Positioning of Flanking Markers in Marker-Assisted Backcrossing for Transfer of a Target Gene. **Crop Sci** 39: 967-975.
- Fukuta, Y., E. Araki, L. A. Ebron, P. R. Cuevas, D. Mercado-Escueta, G. S. Khush, J. E. Sheehy, H. Tsunematsu and H. Kato. 2004. Identification of low tiller gene in rice two varieties, Aikawa 1 and Shuho in rice (*Oryza sativa* L.). Cited by Jiao, Y., Y. Wang, D. Xue, J. Wang, M. Yan, G. Liu, G. Dong, D. Zeng, Z. Lu, X. Zhu, Q. Qian, and J. Li. 2010. Regulation of OsSPL14 by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice. **Nat Genet** 42(6): 541-544.
- Gomez, K. A. 1972. **Techniques for Field Experiments with Rice**. Laguna: International Rice Research Institute. 49 p.

- Gupta, P.K. 2007. Pyramiding of Genes/QTLs for Crop Improvement using Marker-Assisted Selection (MAS). pp. 145-172. **In Search for New Genes**. New Delhi: National Academy of Agricultural Science (NAAS).
- Hospital, F. and A. Charcosset. 1997. Marker-assisted introgression of quantitative trait loci. **Genetics** 147: 1469-1485.
- International Rice Genome Sequencing Project. 2005. The map-based of the rice genome. **Nature** 436: 793-800.
- Jiao, Y., Y. Wang, D. Xue, J. Wang, M. Yan, G. Liu, G. Dong, D. Zeng, Z. Lu, X. Zhu, Q. Qian, and J. Li. 2010. Regulation of OsSPL14 by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice. **Nat Genet** 42(6): 541-544.
- Kovi, M., X. Bai, D. Mao and Y. Xing. 2011. Impact of seasonal changes on spikelets per panicle, panicle length and plant height in rice (*Oryza sativa* L.). **Euphytica**: 1-13.
- Lin, H. X., H. R. Qian and K. L. Zheng. 1996. RFLP mapping of QTLs for yield and related characters in rice (*Oryza sativa* L.). **Theor Appl Genet** 92: 920-927.
- Lin, H. X., Z. W. Liang, T. Sasaki and M. Yano. 2003. Fine mapping and characterization of quantitative trait loci Hd4 and Hd5 controlling heading date in rice. Cited by Zhang, Y., L. Luo, C. Xu, Q. Zhang and Y. Xing. 2006. Quantitative trait loci for panicle size, heading date and plant height co-segregating in trait-performance derived near-isogenic lines of rice (*Oryza sativa*). **Theor Appl Genet** 113: 361-368.
- Liu, T., D. Mao, S. Zhang, C. Xu and Y. Xing. 2009. Fine mapping *SPP1*, a QTL controlling the number of spikelets per panicle, to a BAC clone in rice (*Oryza sativa*). **Theor Appl Genet** 118:1509-1517.
- Lu, C., L. Shen, P. He, Y. Chen, L. Zhu, Z. Tan and Y. Xu. 1997. Comparative mapping of QTLs for agronomic traits of rice across environments by using a doubled-haploid population. Cited by Yagi T., K. Nagata and T. Terao. 2001. QTL mapping of spikelet number in rice (*Oryza sativa* L.). **Breeding Science** 51: 53-56.

- Matsushima, S. 1970. Crop science in rice. Tokyo: Fuji Publ. Co., Ltd.. Cited by Yoshida, S., 1981. **Fundamentals of Rice Crop Science**. Laguna: The International Rice Research Institute.
- Miura, K., M. Ikeda, A. Matsubara, X.-J. Song, M. Ito, K. Asano, M. Matsuoka, H. Kitano and Ashikari, M. 2010. *OsSPL14* promotes panicle branching and higher grain productivity in rice. **Nat Genet** 42(6): 545-549.
- Miyamoto, N., Goto Y., M. Matsui, Y. Ukai, M. Morita and K. Nemoto. 2004. Quantitative trait loci for phyllochron and tillering in rice. Cited by Jiao, Y., Y. Wang, D. Xue, J. Wang, M. Yan, G. Liu, G. Dong, D. Zeng, Z. Lu, X. Zhu, Q. Qian, and J. Li. 2010. Regulation of *OsSPL14* by *OsmiR156* defines ideal plant architecture in rice. **Nat Genet** 42(6): 541-544.
- Nagabhushana, K., S. P. Mane and S. Hittalmani. 2006. Comparative studies on QTL mapping by simple interval mapping and composite interval mapping models for selected growth and yield traits in rice (*Oryza sativa* L.). **Indian J. Crop Science** 1(1-2): 97-101
- Prag, S. and J.C. Adams. 2003. Molecular phylogeny of the kelch-repeat superfamily reveals an expansion of BTB/kelch proteins in animals. Cited by Tian, F., Z. Zhu and C. Q. Sun. 2006. Fine mapping of a quantitative trait locus for grain number per panicle from wild rice (*Oryza rufipogon* GriV.). **Theor Appl Genet** 113: 619–629.
- Prasanna, B. M. 2007. **QTL Mapping and It's Applications in Crop Plants**. [Online.] Available http://www.iasri.res.in/ebook/EB_SMAR/e-book_pdf%20files/Manual%20IV/10-QTL.pdf. (11 August 2011)
- Septiningsih, E. M., J. Prasetyono, E. Lubis, T. H. Tai, T. Tjubaryat, S. Moeljopawiro and S. R. McCouch. 2003. Identification of quantitative trait loci for yield and yield components in an advanced backcross population derived from the *Oryza sativa* variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*. Cited by Zhang, Y., L. Luo, T. Liu, C. Xu and Y. Xing. 2009. Four rice QTL controlling number of spikelets per panicle expressed the characteristics of single Mendelian gene in near isogenic backgrounds. **Theor Appl Genet** 118: 1035–1044.

- Song, X. J., W. Huang, M. Shi, M. Z. Zhu and H. X. Lin. 2007. A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. Cited by Yan, C., S. Yan and Y. Yang. 2009. Development of gene-tagged markers for Quantitative trait loci underlying rice yield components. **Euphytica** 169: 215-226.
- Stefani, G. and F. J. Slack. 2008. Small non-coding RNAs in animal development. Cited by Jiao, Y., Y. Wang, D. Xue, J. Wang, M. Yan, G. Liu, G. Dong, D. Zeng, Z. Lu, X. Zhu, Q. Qian, and J. Li. 2010. Regulation of OsSPL14 by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice. **Nat Genet** 42(6): 541-544.
- Tian, F., Z. Zhu and C. Q. Sun. 2006. Fine mapping of a quantitative trait locus for grain number per panicle from wild rice (*Oryza rufipogon* GrV.). **Theor Appl Genet** 113: 619-629.
- Wanchana S., T. Toojinda, S. Tragoonrung and A. Vanavichit. 2003. Duplicated coding sequence in waxy allele of tropical glutinous rice. อ้างโดย เจตศรัณย์ สุวรรณธานี. 2550. การศึกษาผลของยีน *Wx* และ *wx* ต่อผลผลิตของข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 131 น.
- Xiao, J., J. Li, L. Yuan and S. D. Tanksley. 1996. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross. Cited by Yagi T., K. Nagata and T. Terao. 2001. QTL Mapping of Spikelet Number in Rice (*Oryza sativa* L.). **Breeding Science** 51: 53-56.
- Xiao, J, J. Li, S. Grandillo, S. N. Ahn, L. Yuan, S. D. Tanksley and S. R. McCouch. 1998. Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. **Genetics** 150: 899-909.
- Xie, K., C.Wu and L. Xiong. 2006. Genomic organization, differential expression, and interaction of SQUAMOSA promoter-binding-like transcription factors and microRNA156 in rice. Cited by Jiao, Y., Y. Wang, D. Xue, J. Wang, M. Yan, G. Liu, G. Dong, D. Zeng, Z. Lu, X. Zhu, Q. Qian, and J. Li. 2010. Regulation of OsSPL14 by OsmiR156 defines ideal plant architecture in rice. **Nat Genet** 42(6): 541-544.

- Xing, Y., Y. F. Tan, C. G. Xu, J. P. Hua and X. L. Sun. 2001. Mapping and isolation of quantitative trait loci controlling plant height and heading date in rice. . Cited by Xing, Y. Z., W. J. Tang and Q. Zhang. 2008. Fine mapping of a major quantitative trait loci, *qSSP7*, controlling the number of spikelets per panicle as a single Mendelian factor in rice. **Theor Appl Genet** 116: 789–796.
- Xing, Y. Z., Y. F. Tan, J. P. Hua, X. L. Sun, C. G. Xu and Q. F. Zhang. 2002. Characterization of the main effects, epistatic effects and their environmental interactions of QTL on the genetic basis of yield traits in rice. Cited by Xing, Y. Z., W. J. Tang and Q. Zhang. 2008. Fine mapping of a major quantitative trait loci, *qSSP7*, controlling the number of spikelets per panicle as a single Mendelian factor in rice. **Theor Appl Genet** 116: 789–796.
- Xing, Y. Z., W. J. Tang and Q. Zhang. 2008. Fine mapping of a major quantitative trait loci, *qSSP7*, controlling the number of spikelets per panicle as a single Mendelian factor in rice. **Theor Appl Genet** 116: 789–796.
- Xiong, L. Z., K. D. Liu, X. Dai, C. G. Xu and Q. F. Zhang. 1999. Identification of genetic factors controlling domestication-related traits of rice using an F2 population of a cross between *Oryza sativa* and *O. rufipogon*. Cited by Zhang, Y., L. Luo, T. Liu, C. Xu and Y. Xing. 2009. Four rice QTL controlling number of spikelets per panicle expressed the characteristics of single Mendelian gene in near isogenic backgrounds. **Theor Appl Genet** 118: 1035–1044.
- Xue, W., Y. Xing and Q. Zhang. 2008. Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. **Nat Genet** 40(6): 761–76.
- Yagi, T., K. Nagata and T. Terao. 2001. QTL mapping of spikelet number in rice (*Oryza sativa* L.). **Breeding Science** 51: 53–56.
- Yan, C., S. Yan and Y. Yang. 2009. Development of gene-tagged markers for Quantitative trait loci underlying rice yield components. **Euphytica** 169: 215–226.
- Yano, M., Y. Nagamura, N. Kurata and T. Sasaki. 1996. Genetic linkage map of DNA markers and its application to genetic analysis in rice. Cited by Yagi T., K. Nagata and T. Terao. 2001. QTL Mapping of spikelet number in rice (*Oryza sativa* L.). **Breeding Science** 51: 53–56.

- Yoshida, S. and F. T. Parao. 1976. Climatic influence on yield and yield components of lowland rice in the tropics. Laguna: International Rice Research Institute. Cited by
- Yoshida, S.. 1981. **Fundamentals of Rice Crop Science**. Laguna: International Rice Research Institute.
- Yoshida, S. 1981. **Fundamentals of Rice Crop Science**. Laguna: International Rice Research Institute. 269 p.
- Yu, S.B., J. X. Li, C. G. Xu, Y. F. Tan, Y. J. Gao, X. H. Li, Q. Zhang and M. A. Saghai Maroof. 1997. Importance of epistasis as the genetic basis of heterosis in an elite rice hybrid. Cited by Xing, Y. Z., W. J. Tang and Q. Zhang. 2008. Fine mapping of a major quantitative trait loci, *qSSP7*, controlling the number of spikelets per panicle as a single Mendelian factor in rice. **Theor Appl Genet** 116: 789–796.
- Yu, S. B., J. X. Li, C. G. Xu, Y. F. Tan, X. H. Li and Q. Zhang. 2002. Identification of quantitative trait loci and epistatic interactions for plant height and heading date in rice. Cited by Xing, Y. Z., W. J. Tang and Q. Zhang. 2008. Fine mapping of a major quantitative trait loci, *qSSP7*, controlling the number of spikelets per panicle as a single Mendelian factor in rice. **Theor Appl Genet** 116: 789–796.
- Zhang, Z. H, P. Li, L. X. Wang, Z. L. Hua, L. H. Zhu and Y. G. Ying-Guo Zhu. 2004. Genetic dissection of the relationships of biomass production and partitioning with yield and yield related traits in rice. Cited by Zhang, Y., L. Luo, T. Liu, C. Xu and Y. Xing. 2009. Four rice QTL controlling number of spikelets per panicle expressed the characteristics of single Mendelian gene in near isogenic backgrounds. **Theor Appl Genet** 118: 1035–1044.
- Zhang, Y., L. Luo, C. Xu, Q. Zhang and Y. Xing. 2006. Quantitative trait loci for panicle size, heading date and plant height co-segregating in trait-performance derived near-isogenic lines of rice (*Oryza sativa*). **Theor Appl Genet** 113: 361–368.
- Zhang, Y., L. Luo, T. Liu, C. Xu and Y. Xing. 2009. Four rice QTL controlling number of spikelets per panicle expressed the characteristics of single Mendelian gene in near isogenic backgrounds. **Theor Appl Genet** 118: 1035–1044.

Zhuang, J. Y., H. X. Lin, J. Lu, H. R. Qian, S. Hittalmani, N. Huang and K. L. Zheng. 1997.

Analysis of QTL×environment interaction for yield components and plant height in rice. Cited by Yagi T., K. Nagata and T. Terao. 2001. QTL mapping of spikelet number in rice (*Oryza sativa* L.). **Breeding Science** 51: 53-56.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง และจีโนไทป์

ตารางผนวก 1 ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ของข้าวพันธุ์ กข 6 ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552

ประชากร กข 6	ฟิโนไทป์			
	เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวนเมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ดต่อรวง (เมล็ด)
1	694	145	839	168
2	993	79	1,072	214
3	813	57	870	174
4	640	46	640	128
5	697	84	781	156
6	998	81	1,079	216
7	817	41	858	172
8	996	71	1,067	213
9	593	36	629	126
10	814	71	885	177
11	687	94	781	156
12	749	30	779	156
13	847	74	921	184
14	875	35	910	182
15	1,100	45	1,145	229
Max	1,100	145	1145	229
Min	593	30	629	126
AVE	821	66	884	177
SD	±149.40	±29.95	±155.09	±31.02

หมายเหตุ เฉลี่ยจากข้าวพันธุ์ กข 6 ทั้งหมด 15 กอ จำนวนกอละ 5 รวง

ตารางผนวก 2 ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ของข้าวพันธุ์แปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552

ประชากร แปดริ้ว	ฟิโนไทป์			
	เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวนเมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ดต่อรวง (เมล็ด)
1	742	372	1,114	223
2	791	458	1,249	250
3	754	429	1,183	237
4	713	458	1,171	234
5	751	408	1,159	232
6	688	442	1,130	226
7	689	383	1,072	214
8	448	455	903	181
9	873	716	1,589	318
10	276	99	375	188
11	933	429	1,362	272
12	960	482	1,442	288
13	846	476	1,322	264
14	830	500	1,330	266
15	810	475	1,285	257
Max	960	716	1,589	318
Min	276	99	375	181
AVE	740	439	1,179	243
SD	±176.69	±122.57	±276.62	±36.33

หมายเหตุ เฉลี่ยจากข้าวพันธุ์แปดริ้วทั้งหมด 15 กอ จำนวนกอละ 5 รวง

ตารางผนวก 3 ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ของแต่ละยีน ในประชากร F₂ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ในฤดู
นาปี พ.ศ. 2552

ลำดับ	ประชากร F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์
1	1171-1	1,084	189	1,273	255	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
2	1171-2	809	276	1,085	217	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
3	1171-3	775	155	930	186	PR	2	PR	2	PR	2
4	1171-4	905	165	1,070	214	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
5	1171-5	730	56	786	157	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
6	1171-6	681	192	873	175	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
7	1171-7	676	257	933	187	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
8	1171-8	657	245	902	180	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
9	1171-9	813	104	917	183	PR	2	PR	2	RD 6	0
10	1171-10	913	116	1,029	206	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
11	1171-11	1,058	238	1,296	259	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
12	1171-12	1,027	127	1,154	231	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
13	1171-13	808	44	852	170	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1

ตารางผนวก 3 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์
14	1171-14	755	83	838	168	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0
15	1171-15	747	258	1,005	201	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
16	1171-16	1,038	82	1,120	224	PR	2	Hetero	1	Hetero	1
17	1171-17	714	251	965	193	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
18	1171-18	895	216	1,111	222	PR	2	PR	2	Hetero	1
19	1171-19	878	259	1,137	227	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
20	1171-20	664	140	804	161	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
21	1171-21	809	215	1,024	205	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
22	1171-22	770	234	1,004	201	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
23	1171-23	1,184	158	1,342	268	PR	2	PR	2	Hetero	1
24	1171-24	1,015	136	1,151	230	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
25	1171-25	912	48	960	192	PR	2	PR	2	PR	2
26	1171-26	970	75	1,045	209	Hetero	1	RD 6	0	Hetero	1
27	1171-27	1,131	206	1,337	267	PR	2	PR	2	Hetero	1

ตารางผนวก 3 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F_2	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์
28	1171-28	783	310	1,093	219	PR	2	PR	2	Hetero	1
29	1171-29	888	454	1,342	268	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
30	1171-30	839	176	1,015	203	PR	2	PR	2	RD 6	0
31	1171-31	962	278	1,240	248	PR	2	PR	2	RD 6	0
32	1171-32	795	69	864	173	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
33	1171-33	983	183	1,166	233	PR	2	PR	2	Hetero	1
34	1171-34	848	76	924	185	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
35	1171-35	1,176	184	1,360	272	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
36	1171-36	816	305	1,121	224	RD 6	0	Hetero	1	Hetero	1
37	1171-37	725	164	889	178	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
38	1171-38	1,090	59	1,149	230	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0
39	1171-39	586	155	741	148	PR	2	Hetero	1	PR	2
40	1171-40	780	266	1,046	209	PR	2	PR	2	Hetero	1
41	1171-41	346	142	488	163	PR	2	PR	2	RD 6	0

ตารางผนวก 3 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	กะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10395)	กะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	กะแนน จีโนไทป์
42	1171-42	703	92	795	159	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
43	1171-43	930	206	1,136	227	PR	2	PR	2	Hetero	1
44	1171-44	1,039	133	1,172	234	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
45	1171-45	905	101	1,006	201	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
46	1171-46	695	434	1,129	226	Hetero	1	RD 6	0	PR	2
47	1171-47	741	283	1,024	205	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
48	1171-48	174	740	914	183	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
49	1171-49	907	194	1,101	220	PR	2	PR	2	Hetero	1
50	1171-50	865	146	1,011	202	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
51	1171-51	849	306	1,155	231	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
52	1171-52	677	194	871	174	PR	2	PR	2	Hetero	1
53	1171-53	873	265	1,138	228	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
54	1171-54	873	231	1,104	221	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
55	1171-55	974	281	1,255	251	Hetero	1	Hetero	1	PR	2

ตารางผนวก 3 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์
56	1171-56	584	211	795	159	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
57	1171-57	805	325	1,130	226	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
58	1171-58	925	314	1,239	248	PR	2	PR	2	Hetero	1
59	1171-59	1,046	82	1,128	226	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
60	1171-60	677	173	850	170	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
61	1171-61	793	227	1,020	204	PR	2	PR	2	RD 6	0
62	1171-62	1,001	260	1,261	252	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
63	1171-63	1,098	263	1,361	272	PR	2	PR	2	RD 6	0
64	1171-64	418	249	667	167	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
65	1171-65	750	221	971	194	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
66	1171-66	597	169	766	153	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
67	1171-67	548	176	724	145	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
68	1171-68	843	312	1,155	231	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
69	1171-69	818	175	993	199	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1

ตารางผนวก 3 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F_2	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	กะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10395)	กะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	กะแนน จีโนไทป์
70	1171-70	622	195	817	163	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
71	1171-71	716	101	817	163	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
72	1171-72	884	221	1,105	221	PR	2	PR	2	Hetero	1
73	1171-73	1,119	245	1,364	273	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
74	1171-74	846	241	1,087	217	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
75	1171-75	790	246	1,036	207	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
76	1171-76	842	263	1,105	221	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
77	1171-77	725	322	1,047	209	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
78	1171-78	866	373	1,239	248	PR	2	PR	2	PR	2
79	1171-79	1,124	104	1,228	246	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
80	1171-80	948	307	1,255	251	PR	2	PR	2	Hetero	1
81	1171-81	736	404	1,140	228	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
82	1171-82	1,070	319	1,389	278	PR	2	PR	2	Hetero	1
83	1171-83	741	206	947	189	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0

ตารางผนวก 3 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F_2	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์
84	1171-84	695	365	1,060	212	PR	2	PR	2	RD 6	0
85	1171-85	412	135	547	182	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
86	1171-86	609	203	812	203	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
87	1171-87	863	545	1,408	282	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
88	1171-88	990	190	1,180	236	PR	2	PR	2	Hetero	1
89	1171-89	613	274	887	177	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
90	1171-90	746	232	978	196	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
91	1171-91	748	503	1,251	250	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
92	1171-92	771	276	1,047	209	Hetero	1	PR	2	PR	2
93	1171-93	862	430	1,292	258	PR	2	PR	2	Hetero	1
94	1171-94	686	305	991	198	PR	2	PR	2	PR	2
95	1171-95	846	317	1,163	233	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
96	1171-96	987	373	1,360	272	PR	2	PR	2	Hetero	1
97	1171-97	900	237	1,137	227	Hetero	1	Hetero	1	PR	2

ตารางผนวก 3 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F ₂	ฟีโนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์
97	1171-97	900	237	1,137	227	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
98	1171-98	1,171	218	1,389	278	PR	2	PR	2	RD 6	0
99	1171-99	810	106	916	183	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0
100	1171-100	877	388	1,265	253	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
	Max	1,184	740	1,408	282						
	Min	174	44	488	145						
	Ave	825	231	1,053	213						
	SD	±178.64	±113.53	±190.46	±34.35						

หมายเหตุ ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ยจากกอละ 5 รวง

RD 6 คือ ต้น F₂ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือน กข 6 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 0
Hetero คือ ต้น F₂ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 1
PR คือ ต้น F₂ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 2

ตารางผนวก 4 ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ของข้าวพันธุ์ กข 6 ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553

ประชากร กข 6	ฟิโนไทป์			
	เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวนเมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ดต่อรวง (เมล็ด)
1	956	394	1,350	193
2	777	464	1,241	248
3	761	413	1,174	168
4	946	448	1,394	199
5	787	509	1,296	185
6	965	242	1,207	172
7	887	158	1,045	149
8	945	240	1,185	169
9	1,093	337	1,430	204
10	682	359	1,041	149
Max	1,093	509	1,430	248
Min	682	158	1,041	149
AVE	880	356	1,236	184
SD	±124.55	±112.67	±133.75	±29.64

หมายเหตุ เกลี่ยจากข้าวพันธุ์ กข 6 ทั้งหมด 10 กอ จำนวนกอละ 7 รวง

ตารางผนวก 5 ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ของข้าวพันธุ์แปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553

ประชากร แปดริ้ว	ฟิโนไทป์			จำนวนเมล็ดต่อรวง (เมล็ด)
	เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวนเมล็ด (เมล็ด)	
1	1,258	127	1,385	198
2	1,066	89	1,155	165
3	1,419	126	1,545	221
4	1,397	118	1,515	216
5	1,244	122	1,366	195
6	1,316	118	1,434	205
7	1,222	89	1,311	187
8	1,496	137	1,633	233
9	1,209	125	1,334	191
10	1,231	162	1,393	199
Max	1,496	162	1,633	233
Min	1,066	89	1,155	165
AVE	1286	121	1407	201
SD	±124.28	±21.29	±134.55	±19.22

หมายเหตุ เฉลี่ยจากข้าวพันธุ์แปดริ้วทั้งหมด 10 กอ จำนวนกอละ 7 รวง

ตารางผนวก 6 ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ของแต่ละขึ้น ในประชากร BC₂F₂ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553

ลำดับ	ประชากร BC ₂ F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	อื่น <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	อื่น <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	อื่น <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	อื่น <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
1	1902-1	1,086	392	1,478	211	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
2	1902-2	1,213	210	1,423	203	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	PR	2
3	1902-3	1,054	579	1,633	233	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
4	1902-4	886	99	985	197	Hetero	1	PR	2	Hetero	1	Hetero	1
5	1902-5	1,044	207	1,251	179	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
6	1902-6	1,158	152	1,310	187	PR	2	PR	2	RD 6	0	Hetero	1
7	1902-7	840	435	1,275	182	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
8	1902-8	783	465	1,248	178	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
9	1902-9	896	373	1,269	181	RD 6	0	PR	2	PR	2	Hetero	1
10	1902-10	1,177	207	1,384	173	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	Hetero	1
11	1902-11	868	245	1,113	159	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	Hetero	1

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₃ F ₂	ฟินไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
12	1902-12	899	452	1,351	193	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
13	1902-13	871	524	1,395	199	Hetero	1	PR	2	PR	2	Hetero	1
14	1902-14	842	320	1,162	166	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	Hetero	1
15	1902-15	918	594	1,512	216	PR	2	PR	2	Hetero	1	Hetero	1
16	1902-16	1,246	181	1,427	204	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
17	1902-17	1,226	595	1,821	260	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
18	1902-18	853	398	1,251	179	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	Hetero	1
19	1902-19	1,124	104	1,228	175	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	PR	2
20	1902-20	862	239	1,101	157	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	RD 6	0
21	1902-21	1,177	383	1,560	223	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	PR	2
22	1902-22	809	246	1,055	176	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
23	1902-23	1,171	238	1,409	201	Hetero	1	RD 6	0	PR	2	RD 6	0

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₃ F ₂	ฟีโนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
24	1902-24	1,029	381	1,410	201	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
25	1902-25	886	319	1,205	172	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	Hetero	1
26	1902-26	1,011	255	1,266	181	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	RD 6	0
27	1902-27	879	394	1,273	182	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
28	1902-28	946	267	1,213	173	Hetero	1	RD 6	0	Hetero	1	Hetero	1
29	1902-29	1,263	405	1,668	238	RD 6	0	RD 6	0	PR	2	Hetero	1
30	1902-30	853	196	1,049	175	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	Hetero	1
31	1902-31	1,035	551	1,586	227	PR	2	PR	2	Hetero	1	PR	2
32	1902-32	730	311	1,041	174	PR	2	PR	2	PR	2	Hetero	1
33	1902-33	1,331	372	1,703	243	Hetero	1	PR	2	Hetero	1	Hetero	1
34	1902-34	513	201	714	179	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	RD 6	0
35	1902-35	891	464	1,355	194	PR	2	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₂ F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	กะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	กะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	กะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	กะแนน จีโนไทป์
36	1902-36	1,013	171	1,184	169	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
37	1902-37	918	422	1,340	191	Hetero	1	PR	2	Hetero	1	PR	2
38	1902-38	1,041	280	1,321	189	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
39	1902-39	891	391	1,282	214	Hetero	1	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
40	1902-40	985	295	1,280	256	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
41	1902-41	1,032	383	1,415	202	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
42	1902-42	777	209	986	197	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
43	1902-43	1,249	278	1,527	218	PR	2	PR	2	Hetero	1	PR	2
44	1902-44	1,039	141	1,180	236	Hetero	1	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
45	1902-45	718	470	1,188	170	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0
46	1902-46	809	314	1,123	187	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	Hetero	1
47	1902-47	977	261	1,238	177	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	PR	2

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₂ F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด คอร่วง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
48	1902-48	1,022	358	1,380	230	PR	2	PR	2	PR	2	Hetero	1
49	1902-49	786	414	1,200	171	PR	2	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
50	1902-50	807	542	1,349	193	RD 6	0	RD 6	0	PR	2	RD 6	0
51	1902-51	997	170	1,167	233	RD 6	0	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
52	1902-52	1,151	492	1,643	235	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
53	1902-53	880	632	1,512	216	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	RD 6	0
54	1902-54	939	388	1,327	190	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	RD 6	0
55	1902-55	764	201	965	193	PR	2	PR	2	PR	2	RD 6	0
56	1902-56	1,253	455	1,708	244	PR	2	PR	2	Hetero	1	Hetero	1
57	1902-57	580	225	805	161	Hetero	1	PR	2	RD 6	0	PR	2
58	1902-58	1,126	695	1,821	260	PR	2	PR	2	Hetero	1	PR	2
59	1902-59	1,007	271	1,278	183	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₂ F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
60	1902-60	794	276	1,070	214	PR	2	PR	2	Hetero	1	PR	2
61	1902-61	1,140	146	1,286	184	RD 6	0	Hetero	1	RD 6	0	PR	2
62	1902-62	1,065	152	1,217	174	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
63	1902-63	1,165	243	1,408	201	RD 6	0	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
64	1902-64	933	446	1,379	197	PR	2	PR	2	PR	2	RD 6	0
65	1902-65	1,072	118	1,190	170	RD 6	0	RD 6	0	PR	2	Hetero	1
66	1902-66	790	366	1,156	165	PR	2	PR	2	Hetero	1	Hetero	1
67	1902-67	983	553	1,536	219	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
68	1902-68	1,070	293	1,363	195	RD 6	0	RD 6	0	PR	2	Hetero	1
69	1902-69	1,222	336	1,558	223	RD 6	0	Hetero	1	RD 6	0	PR	2
70	1902-70	1,145	75	1,220	174	Hetero	1	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1
71	1902-71	997	510	1,507	215	PR	2	Hetero	1	RD 6	0	PR	2

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₂ F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ด้อยรวม (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
72	1902-72	990	404	1,394	199	PR	2	Hetero	1	RD 6	0	Hetero	1
73	1902-73	1,160	339	1,499	214	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0
74	1902-74	708	204	912	182	PR	2	PR	2	RD 6	0	Hetero	1
75	1902-75	1,153	330	1,483	212	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
76	1902-76	1,070	274	1,344	192	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
77	1902-77	609	321	930	186	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	RD 6	0
78	1902-78	983	413	1,396	233	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	Hetero	1
79	1902-79	1,127	484	1,611	230	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	PR	2
80	1902-80	615	188	803	161	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	RD 6	0
81	1902-81	977	502	1,479	211	RD 6	0	RD 6	0	PR	2	Hetero	1
82	1902-82	996	313	1,309	187	PR	2	PR	2	PR	2	PR	2
83	1902-83	895	313	1,208	173	PR	2	PR	2	PR	2	PR	2

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC_1F_2	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
84	1902-84	1,051	689	1,740	249	PR	2	PR	2	PR	2	RD 6	0
85	1902-85	734	483	1,217	174	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
86	1902-86	799	408	1,207	172	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	PR	2
87	1902-87	1,348	287	1,635	234	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	Hetero	1
88	1902-88	851	276	1,127	161	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	PR	2
89	1902-89	1,056	381	1,437	205	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	Hetero	1
90	1902-90	1,184	188	1,372	196	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	Hetero	1
91	1902-91	945	224	1,169	195	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
92	1902-92	1,114	334	1,448	207	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
93	1902-93	1,196	342	1,538	220	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
94	1902-94	1,187	315	1,502	215	PR	2	PR	2	RD 6	0	RD 6	0
95	1902-95	1,025	187	1,212	173	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	RD 6	0

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₂ F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
96	1902-96	1,164	216	1,380	197	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0	PR	2
97	1902-97	1,032	539	1,571	224	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
98	1902-98	1,271	327	1,598	228	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	Hetero	1
99	1902-99	1,081	65	1,146	229	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
100	1902-100	804	101	905	181	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	RD 6	0
101	1902-101	602	138	740	148	PR	2	RD 6	0	Hetero	1	Hetero	1
102	1902-102	906	343	1,249	250	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	PR	2
103	1902-103	746	87	833	167	PR	2	PR	2	RD 6	0	Hetero	1
104	1902-104	972	127	1,099	220	PR	2	PR	2	Hetero	1	Hetero	1
105	1902-105	630	129	759	152	RD 6	0	PR	2	RD 6	0	RD 6	0
106	1902-106	784	210	994	199	RD 6	0	Hetero	1	RD 6	0	RD 6	0
107	1902-107	872	72	944	189	PR	2	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₂ F ₂	ฟีโนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
108	1902-108	1,060	170	1,230	246	RD 6	0	RD 6	0	PR	2	PR	2
109	1902-109	746	135	881	176	RD 6	0	RD 6	0	PR	2	PR	2
110	1902-110	1,091	310	1,401	280	PR	2	Hetero	1	PR	2	RD 6	0
111	1902-111	1,098	137	1,235	247	PR	2	PR	2	RD 6	0	Hetero	1
112	1902-112	880	100	980	196	PR	2	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0
113	1902-113	801	156	957	191	PR	2	PR	2	RD 6	0	RD 6	0
114	1902-114	677	249	926	185	RD 6	0	RD 6	0	PR	2	RD 6	0
115	1902-115	592	147	739	148	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
116	1902-116	626	251	877	175	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
117	1902-117	804	257	1,061	212	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	PR	2
118	1902-118	1,172	218	1,390	278	Hetero	1	RD 6	0	RD 6	0	PR	2
119	1902-119	673	118	791	158	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0	RD 6	0

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₂ F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี	เมล็ดลีบ	รวมจำนวน	จำนวนเมล็ด	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
		(เมล็ด)	(เมล็ด)	เมล็ด	ต่อรวง								
120	1902-120	865	175	1,040	208	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	RD 6	0
121	1902-121	1,408	220	1,628	233	RD 6	0	RD 6	0	Hetero	1	PR	2
122	1902-122	1,409	217	1,626	232	Hetero	1	Hetero	1	PR	2	Hetero	1
	Max	1,409	695	1,821	280								
	Min	513	65	714	148								
	Ave	968	304	1,272	200								
	SD	±190.64	±142.75	±249.71	±28.39								

หมายเหตุ ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ยจากกอละ 5-7 รวง
RD 6 คือ ต้น BC₂F₂ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือน กข 6 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุรับ ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 0
Hetero คือ ต้น BC₂F₂ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้ง กข 6 และแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 1
PR คือ ต้น BC₂F₂ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนแปดริ้ว มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุให้ ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 2

ตารางผนวก 7 ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในฤดูนาปี

พ.ศ. 2553

ประชากร ชัยนาท 1	ฟิโนไทป์			จำนวนเมล็ดต่อรวง (เมล็ด)
	เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวนเมล็ด (เมล็ด)	
1	924	68	992	142
2	508	133	641	92
3	780	65	845	121
4	862	58	920	131
5	743	86	829	118
6	555	89	644	92
7	904	77	981	140
8	697	101	798	114
9	744	113	857	122
10	781	73	854	122
Max	924	133	992	142
Min	508	58	641	92
Ave	750	86	836	119
SD	±136.58	±23.50	±120.02	±17.15

หมายเหตุ เฉลี่ยจากข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ทั้งหมด 10 กอ จำนวนกอละ 7 รวง

ตารางผนวก 8 ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ของข้าวพันธุ์เมืองไทย ในฤดูนาปี
พ.ศ. 2553

ประชากร เมืองไทย	ฟีนไทป์			จำนวนเมล็ดต่อรวง (เมล็ด)
	เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวนเมล็ด (เมล็ด)	
1	1,469	295	1,764	252
2	1,145	322	1,467	210
3	1,448	321	1,769	253
4	1,816	207	2,023	289
5	1,106	426	1,532	219
6	1,356	176	1,532	219
7	1,465	304	1,769	253
8	1,152	171	1,323	189
9	1,530	135	1,665	238
10	1,163	186	1,349	193
Max	1,816	426	2,023	289
Min	1,106	135	1,323	189
Ave	1,365	254	1,619	231
SD	±226.09	±92.40	±218.61	±31.23

หมายเหตุ เฉลี่ยจากข้าวพันธุ์เมืองไทยทั้งหมด 10 กอ จำนวนกอละ 7 รวง

ตารางผนวก 9 ข้อมูลจำนวนเมล็ดคั่วรวง (ฟีนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ของแต่ละขึ้นในประชากร $F_{3:4}$ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทย ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553

ลำดับ	ประชากร $F_{3:4}$	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด คั่วรวง (เมล็ด)	ขึ้น <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ขึ้น <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ขึ้น <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ขึ้น <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
1	2101-2	958	31	989	198	CN1	0	CN1	0	CN1	0	CN1	0
2	2102-1	1,117	113	1,230	176	CN1	0	CN1	0	MU	2	CN1	0
3	2103-2	783	83	866	173	CN1	0	CN1	0	MU	2	MU	2
4	2104-2	1,418	142	1,560	223	MU	2	MU	2	Hetero	1	MU	2
5	2105-2	1,514	115	1,629	233	CN1	0	MU	2	Hetero	1	MU	2
6	2106-1	992	88	1,080	216	Hetero	1	Hetero	1	MU	2	CN1	0
7	2107-2	1,156	58	1,214	243	MU	2	MU	2	CN1	0	Hetero	1
8	2108-2	824	48	872	174	MU	2	Hetero	1	MU	2	CN1	0
9	2109-1	1,021	73	1,094	219	CN1	0	CN1	0	MU	2	CN1	0
10	2110-1	735	40	775	155	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0	CN1	0
11	2111-2	870	39	909	182	Hetero	1	MU	2	MU	2	CN1	0
12	2112-1	907	96	1,003	201	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0
13	2113-2	764	86	850	170	CN1	0	CN1	0	CN1	0	Hetero	1

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F _{3,4}	ฟิโนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ขึ้น <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ขึ้น <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ขึ้น <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ขึ้น <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
14	2114-2	764	106	870	174	Hetero	1	MU	2	MU	2	MU	2
15	2115-2	790	48	838	168	MU	2	MU	2	CNI	0	CNI	0
16	2117-2	879	107	986	197	Hetero	1	Hetero	1	MU	2	CNI	0
17	2118-1	876	39	915	183	MU	2	MU	2	CNI	0	MU	2
18	2119-2	782	61	843	169	MU	2	MU	2	CNI	0	MU	2
19	2120-2	667	175	842	168	MU	2	MU	2	MU	2	MU	2
20	2121-2	986	187	1,173	168	CNI	0	CNI	0	CNI	0	MU	2
21	2122-2	951	58	1,009	202	MU	2	MU	2	Hetero	1	Hetero	1
22	2123-2	848	167	1,015	203	MU	2	CNI	0	MU	2	Hetero	1
23	2124-2	494	98	592	118	CNI	0	CNI	0	CNI	0	MU	2
24	2125-1	700	80	780	156	CNI	0	CNI	0	MU	2	Hetero	1
25	2126-1	639	42	681	136	CNI	0	CNI	0	MU	2	MU	2
26	2127-2	508	438	946	189	Hetero	1	Hetero	1	MU	2	CNI	0
27	2128-1	922	77	999	200	CNI	0	Hetero	1	CNI	0	CNI	0
28	2129-2	1,101	59	1,160	232	CNI	0	CNI	0	CNI	0	CNI	0

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F _{3:4}	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ตัวอย่าง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
29	2130-2	893	95	988	198	CN1	0	CN1	0	Hetero	1	CN1	0
30	2131-1	904	38	942	188	MU	2	MU	2	Hetero	1	Hetero	1
31	2133-1	754	67	821	164	Hetero	1	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
32	2134-1	1,024	56	1,080	216	MU	2	CN1	0	Hetero	1	MU	2
33	2135-1	1,113	216	1,329	266	MU	2	MU	2	CN1	0	MU	2
34	2136-1	1,176	58	1,234	247	MU	2	MU	2	CN1	0	MU	2
35	2137-1	898	49	947	189	MU	2	MU	2	CN1	0	Hetero	1
36	2138-1	686	23	709	142	MU	2	CN1	0	MU	2	CN1	0
37	2139-2	733	22	755	151	CN1	0	CN1	0	Hetero	1	CN1	0
38	2141-2	958	55	1,013	203	Hetero	1	MU	2	CN1	0	Hetero	1
39	2142-1	950	77	1,027	205	MU	2	MU	2	MU	2	CN1	0
40	2143-1	744	221	965	193	Hetero	1	Hetero	1	MU	2	CN1	0
41	2144-1	1,251	76	1,327	190	MU	2	MU	2	MU	2	MU	2
42	2145-2	847	42	889	178	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0	MU	2

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F _{3:4}	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	อื่น <i>Gn1a</i> (RM10318)	กะแนน จีโนไทป์	อื่น <i>SPPI</i> (RM10395)	กะแนน จีโนไทป์	อื่น <i>Ghd7</i> (RM21335)	กะแนน จีโนไทป์	อื่น <i>WFP</i> (RM23428)	กะแนน จีโนไทป์
43	2146-3	962	63	1,025	146	MU	2	MU	2	CN1	0	MU	2
44	2147-4	1,021	105	1,126	161	CN1	0	CN1	0	Hetero	1	Hetero	1
45	2149-1	1,533	106	1,639	234	CN1	0	CN1	0	MU	2	MU	2
46	2150-2	1,094	38	1,132	162	Hetero	1	CN1	0	Hetero	1	CN1	0
47	2151-1	529	123	652	130	CN1	0	CN1	0	MU	2	MU	2
48	2152-2	956	70	1,026	205	MU	2	CN1	0	MU	2	MU	2
49	2154-2	743	68	811	162	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0	MU	2
50	2155-1	1,076	255	1,331	190	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0
51	2157-1	1,377	134	1,511	216	CN1	0	CN1	0	MU	2	Hetero	1
52	2158-2	710	92	802	160	MU	2	MU	2	Hetero	1	CN1	0
53	2159-3	1,057	145	1,202	172	MU	2	MU	2	CN1	0	MU	2
54	2160-3	1,092	163	1,255	179	MU	2	MU	2	CN1	0	CN1	0
55	2162-1	512	479	991	198	CN1	0	Hetero	1	MU	2	CN1	0
56	2164-2	1,058	138	1,196	171	CN1	0	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร F _{3:4}	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
57	2165-2	872	27	899	180	CN1	0	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
58	2166-1	577	152	729	146	MU	2	MU	2	Hetero	1	Hetero	1
59	2167-5	1,599	74	1,673	239	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
60	2168-1	764	83	847	169	CN1	0	CN1	0	CN1	0	MU	2
61	2169-2	707	68	775	155	MU	2	MU	2	CN1	0	CN1	0
62	2170-1	883	445	1,328	190	CN1	0	Hetero	1	CN1	0	MU	2
63	2172-2	1,223	217	1,440	206	CN1	0	CN1	0	Hetero	1	CN1	0
64	2173-2	1,167	28	1,195	171	MU	2	MU	2	Hetero	1	MU	2
65	2174-3	1,498	188	1,686	241	CN1	0	CN1	0	Hetero	1	CN1	0
66	2178-2	1,203	71	1,274	182	CN1	0	CN1	0	MU	2	Hetero	1
67	2179-4	834	112	946	135	CN1	0	CN1	0	MU	2	MU	2
68	2180-5	1,007	108	1,115	159	CN1	0	CN1	0	CN1	0	CN1	0
69	2181-5	884	294	1,178	168	CN1	0	CN1	0	MU	2	CN1	0
70	2182-2	1,023	153	1,176	168	CN1	0	CN1	0	MU	2	Hetero	1

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร $F_{3,4}$	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
71	2183-2	1,008	124	1,132	162	Hetero	1	Hetero	1	MU	2	CN1	0
72	2184-4	829	285	1,114	159	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1	MU	2
73	2185-3	854	171	1,025	146	CN1	0	CN1	0	CN1	0	MU	2
74	2187-3	1,015	372	1,387	198	CN1	0	CN1	0	Hetero	1	Hetero	1
75	2188-2	928	79	1,007	144	CN1	0	MU	2	CN1	0	Hetero	1
76	2189-5	960	157	1,117	160	CN1	0	MU	2	MU	2	MU	2
77	2190-3	899	83	982	140	MU	2	MU	2	CN1	0	MU	2
78	2191-3	1,152	124	1,276	182	CN1	0	CN1	0	CN1	0	CN1	0
79	2192-4	936	182	1,118	160	CN1	0	CN1	0	MU	2	MU	2
80	2193-2	1,030	73	1,103	158	CN1	0	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
81	2194-2	851	171	1,022	146	CN1	0	CN1	0	MU	2	CN1	0
82	2195-2	904	40	944	189	CN1	0	Hetero	1	MU	2	CN1	0
83	2196-3	667	143	810	116	CN1	0	CN1	0	CN1	0	CN1	0
84	2197-5	704	109	813	116	CN1	0	Hetero	1	CN1	0	MU	2

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร $F_{3,4}$	ฟีนไทป์				จีโนไทป์							
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10318)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10395)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21335)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>WFP</i> (RM23428)	คะแนน จีโนไทป์
85	2198-5	967	140	1,107	158	CN1	0	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
86	2199-5	756	70	826	118	Hetero	1	Hetero	1	MU	2	Hetero	1
87	2200-4	930	205	1,135	162	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0	Hetero	1
	Max	1,599	479	1,686	266								
	Min	494	22	592	116								
	Ave	934	119	1,053	179								
	SD	±226.66	±91.78	±236.28	±31.51								

หมายเหตุ ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ยจากกอละ 5-7 รวง

CN1 คือ ตัวอย่าง $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนชั้นนาท 1 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 0

Hetero คือ ตัวอย่าง $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งชั้นนาท 1 และเมืองไพร มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 1

MU คือ ตัวอย่าง $F_{3,4}$ ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนเมืองไพร มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 2

ตารางผนวก 10 ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) และคะแนนจีโนไทป์ของแต่ละยีนในประชากร BC₁F₂ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับ เมืองไทย ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553

ลำดับ	ประชากร BC ₁ F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10316)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10402)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21330)	คะแนน จีโนไทป์
1	2202-1	1,139	90	1,229	176	Hetero	1	Hetero	1	CNI	0
2	2202-2	854	63	917	131	CNI	0	CNI	0	Hetero	1
3	2202-3	868	67	935	134	Hetero	1	CNI	0	CNI	0
4	2202-4	1,008	65	1,073	153	CNI	0	MU	2	Hetero	1
5	2202-5	836	62	898	128	Hetero	1	MU	2	CNI	0
6	2202-6	766	154	920	131	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
7	2202-7	1,240	112	1,352	193	Hetero	1	CNI	0	CNI	0
8	2202-8	876	106	982	140	MU	2	MU	2	MU	2
9	2202-9	1,032	98	1,130	161	Hetero	1	Hetero	1	CNI	0
10	2202-10	863	110	973	139	Hetero	1	Hetero	1	MU	2
11	2202-11	1,151	65	1,216	174	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
12	2202-12	1,119	96	1,215	174	Hetero	1	CNI	0	CNI	0
13	2202-13	1,070	53	1,123	160	MU	2	MU	2	Hetero	1

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC_1F_2	พีนไทป์				จินไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10316)	คะแนน จินไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10402)	คะแนน จินไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21330)	คะแนน จินไทป์
14	2202-14	1,016	120	1,136	162	MU	2	MU	2	Hetero	1
15	2202-15	895	108	1,003	143	Hetero	1	Hetero	1	MU	2
16	2202-16	913	86	999	143	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
17	2202-17	685	278	963	138	Hetero	1	MU	2	Hetero	1
18	2202-18	984	113	1,097	157	Hetero	1	Hetero	1	CNI	0
19	2202-19	923	145	1,068	153	MU	2	MU	2	Hetero	1
20	2202-20	1,063	88	1,151	164	Hetero	1	Hetero	1	MU	2
21	2202-21	826	108	934	133	CNI	0	CNI	0	Hetero	1
22	2202-22	992	145	1,137	162	MU	2	MU	2	MU	2
23	2202-23	1,067	88	1,155	165	MU	2	MU	2	CNI	0
24	2202-24	822	110	932	133	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
25	2202-25	1,004	148	1,152	165	CNI	0	Hetero	1	Hetero	1
26	2202-26	792	116	908	130	MU	2	Hetero	1	Hetero	1
27	2202-27	908	102	1,010	144	CNI	0	CNI	0	Hetero	1

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC_1F_2	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10316)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10402)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21330)	คะแนน จีโนไทป์
28	2202-28	911	116	1,027	147	MU	2	MU	2	Hetero	1
29	2202-29	784	83	867	124	Hetero	1	Hetero	1	MU	2
30	2202-30	876	126	1,002	143	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
31	2202-31	981	125	1,106	158	MU	2	MU	2	MU	2
32	2202-32	922	158	1,080	154	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
33	2202-33	1,036	85	1,121	160	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
34	2202-34	769	182	951	136	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
35	2202-35	982	63	1,045	149	CNI	0	CNI	0	CNI	0
36	2202-36	1,295	56	1,351	193	MU	2	Hetero	1	Hetero	1
37	2202-37	852	104	956	137	CNI	0	MU	2	Hetero	1
38	2202-38	816	88	904	129	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
39	2202-39	878	104	982	140	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
40	2202-40	735	133	868	124	CNI	0	CNI	0	Hetero	1
41	2202-41	750	220	970	139	Hetero	1	Hetero	1	MU	2

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₁ F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10316)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10402)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21330)	คะแนน จีโนไทป์
42	2202-42	793	58	851	122	CN1	0	MU	2	CN1	0
43	2202-43	787	108	895	128	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
44	2202-44	808	133	941	134	Hetero	1	Hetero	1	MU	2
45	2202-45	796	119	915	131	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0
46	2202-46	590	107	697	100	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
47	2202-47	940	110	1,050	150	CN1	0	Hetero	1	Hetero	1
48	2202-48	1,023	39	1,062	152	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
49	2202-49	945	91	1,036	148	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
50	2202-50	636	142	778	111	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
51	2202-51	793	173	966	138	MU	2	MU	2	Hetero	1
52	2202-52	910	62	972	139	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
53	2202-53	1,035	104	1,139	163	MU	2	MU	2	Hetero	1
54	2202-54	623	66	689	98	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
55	2202-55	1,059	139	1,198	171	CN1	0	Hetero	1	Hetero	1

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC ₁ F ₂	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10316)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPPI</i> (RM10402)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21330)	คะแนน จีโนไทป์
56	2202-56	809	65	874	125	MU	2	MU	2	Hetero	1
57	2202-57	919	91	1,010	144	MU	2	MU	2	Hetero	1
58	2202-58	1,042	110	1,152	165	Hetero	1	Hetero	1	MU	2
59	2202-59	929	79	1,008	144	CN1	0	Hetero	1	Hetero	1
60	2202-60	814	99	913	130	CN1	0	CN1	0	Hetero	1
61	2202-61	966	182	1,148	164	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
62	2202-62	629	194	823	118	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
63	2202-63	973	56	1,029	147	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
64	2202-64	836	128	964	138	MU	2	MU	2	CN1	0
65	2202-65	882	97	979	140	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
66	2202-66	955	128	1,083	155	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
67	2202-67	757	105	862	123	Hetero	1	Hetero	1	MU	2
68	2202-68	967	71	1,038	148	CN1	0	CN1	0	MU	2
69	2202-69	840	107	947	135	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC_1F_2	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10316)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10402)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21330)	คะแนน จีโนไทป์
70	2202-70	871	164	1,035	148	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
71	2202-71	976	49	1,025	146	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0
72	2202-72	742	60	802	115	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
73	2202-73	718	69	787	112	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
74	2202-74	835	128	963	138	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
75	2202-75	747	91	838	120	Hetero	1	Hetero	1	MU	2
76	2202-76	698	67	765	109	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
77	2202-77	780	70	850	121	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
78	2202-78	800	54	854	122	CN1	0	CN1	0	MU	2
79	2202-79	825	65	890	127	CN1	0	CN1	0	MU	2
80	2202-80	888	94	982	140	MU	2	MU	2	MU	2
81	2202-81	810	55	865	124	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
82	2202-82	857	45	902	129	CN1	0	CN1	0	MU	2
83	2202-83	620	83	703	100	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC_1F_2	ฟีนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10316)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10402)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21330)	คะแนน จีโนไทป์
84	2202-84	944	70	1,014	145	MU	2	Hetero	1	MU	2
85	2202-85	741	167	908	130	MU	2	MU	2	Hetero	1
86	2202-86	719	49	768	110	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
87	2202-87	895	71	966	138	CN1	0	CN1	0	CN1	0
88	2202-88	1,002	138	1,140	163	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
89	2202-89	865	85	950	136	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
90	2202-90	789	61	850	121	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0
91	2202-91	942	80	1,022	146	Hetero	1	Hetero	1	CN1	0
92	2202-92	1,119	77	1,196	171	CN1	0	CN1	0	CN1	0
93	2202-93	703	79	782	112	CN1	0	MU	2	Hetero	1
94	2202-94	1,007	85	1,092	156	MU	2	MU	2	CN1	0
95	2202-95	925	116	1,041	149	MU	2	MU	2	Hetero	1
96	2202-96	779	217	996	142	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
97	2202-97	723	35	758	108	MU	2	MU	2	Hetero	1

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

ลำดับ	ประชากร BC_1F_2	ฟีโนไทป์				จีโนไทป์					
		เมล็ดดี (เมล็ด)	เมล็ดลีบ (เมล็ด)	รวมจำนวน เมล็ด (เมล็ด)	จำนวนเมล็ด ต่อรวง (เมล็ด)	ยีน <i>Gn1a</i> (RM10316)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>SPP1</i> (RM10402)	คะแนน จีโนไทป์	ยีน <i>Ghd7</i> (RM21330)	คะแนน จีโนไทป์
98	2202-98	939	53	992	142	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
99	2202-99	665	174	839	120	Hetero	1	Hetero	1	MU	2
100	2202-100	1,005	59	1,064	152	Hetero	1	Hetero	1	Hetero	1
	Max	1,295	278	1,352	193						
	Min	590	35	689	98						
	Ave	884	103	986	141						
	SD	±136.66	±43.16	±134.04	±19.15						

หมายเหตุ ข้อมูลจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ยจากกอละ 5-7 รวง

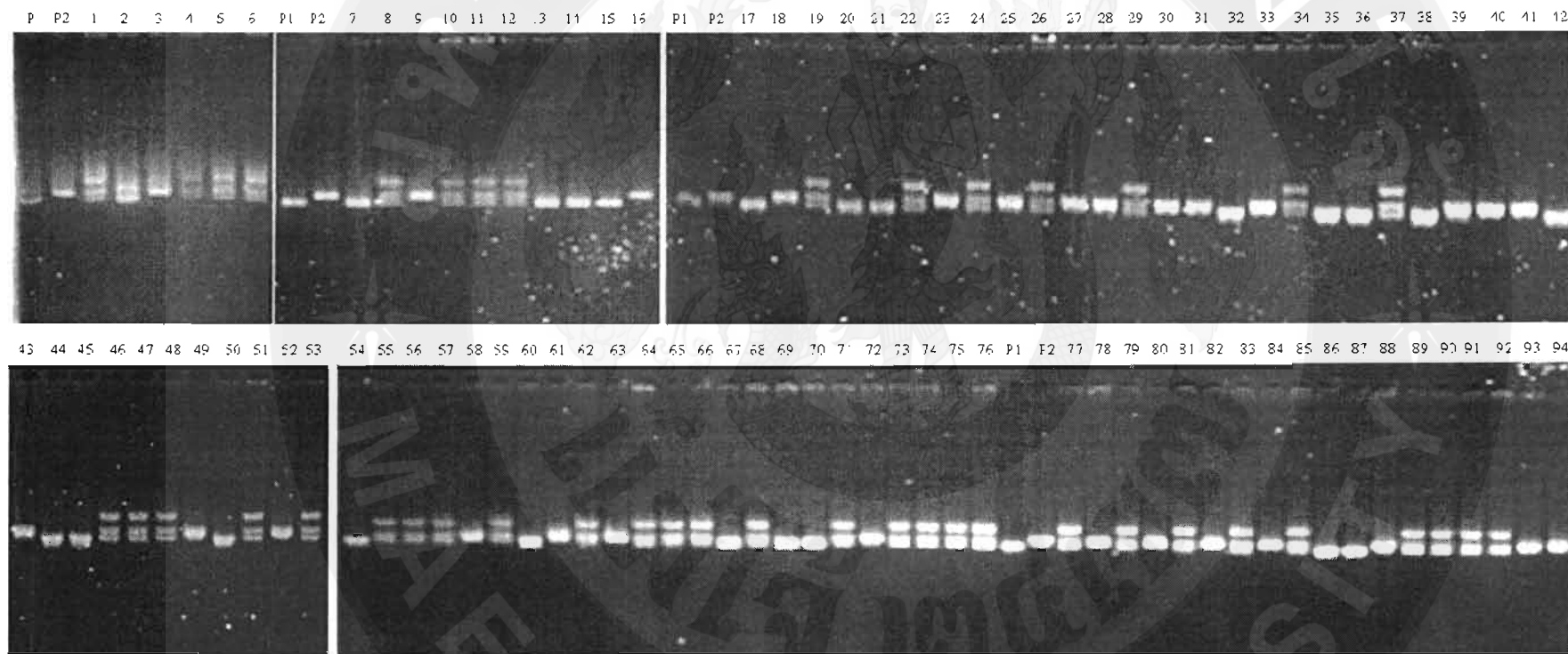
CN1 คือ ต้น BC_1F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนชัชนาท 1 มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์รับ ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 0

Hetero คือ ต้น BC_1F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของทั้งชัชนาท 1 และเมืองไพร มีจีโนไทป์แบบ heterozygous ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 1

MU คือ ต้น BC_1F_2 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอเหมือนเมืองไพร มีจีโนไทป์แบบ homozygous ของพันธุ์ให้ ให้คะแนนจีโนไทป์เป็น 2

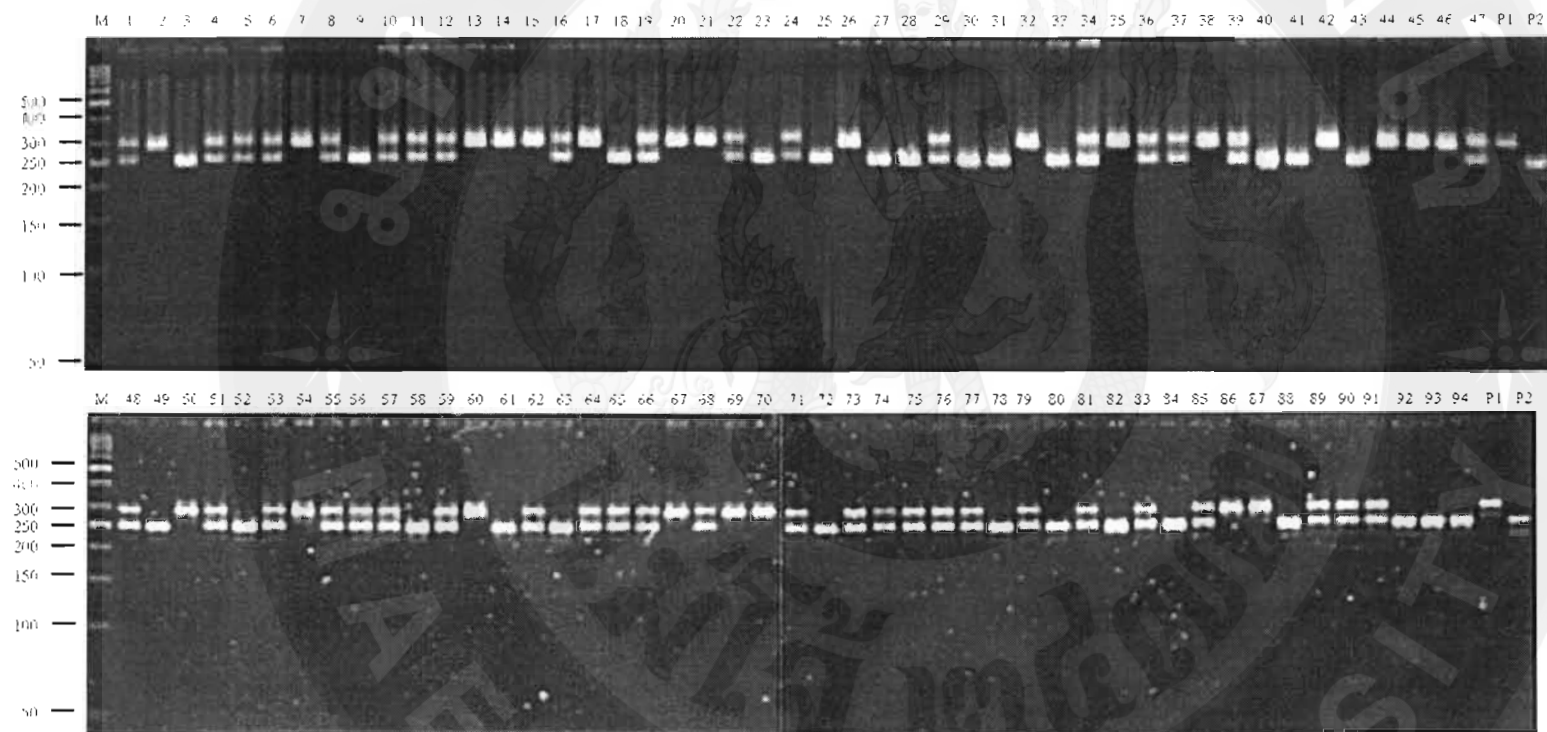


ภาพผนวก 1 แสดงการตรวจสอบจีโนไทป์ในประชากร F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ด้วยเครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับ ยีน *Gn1a*



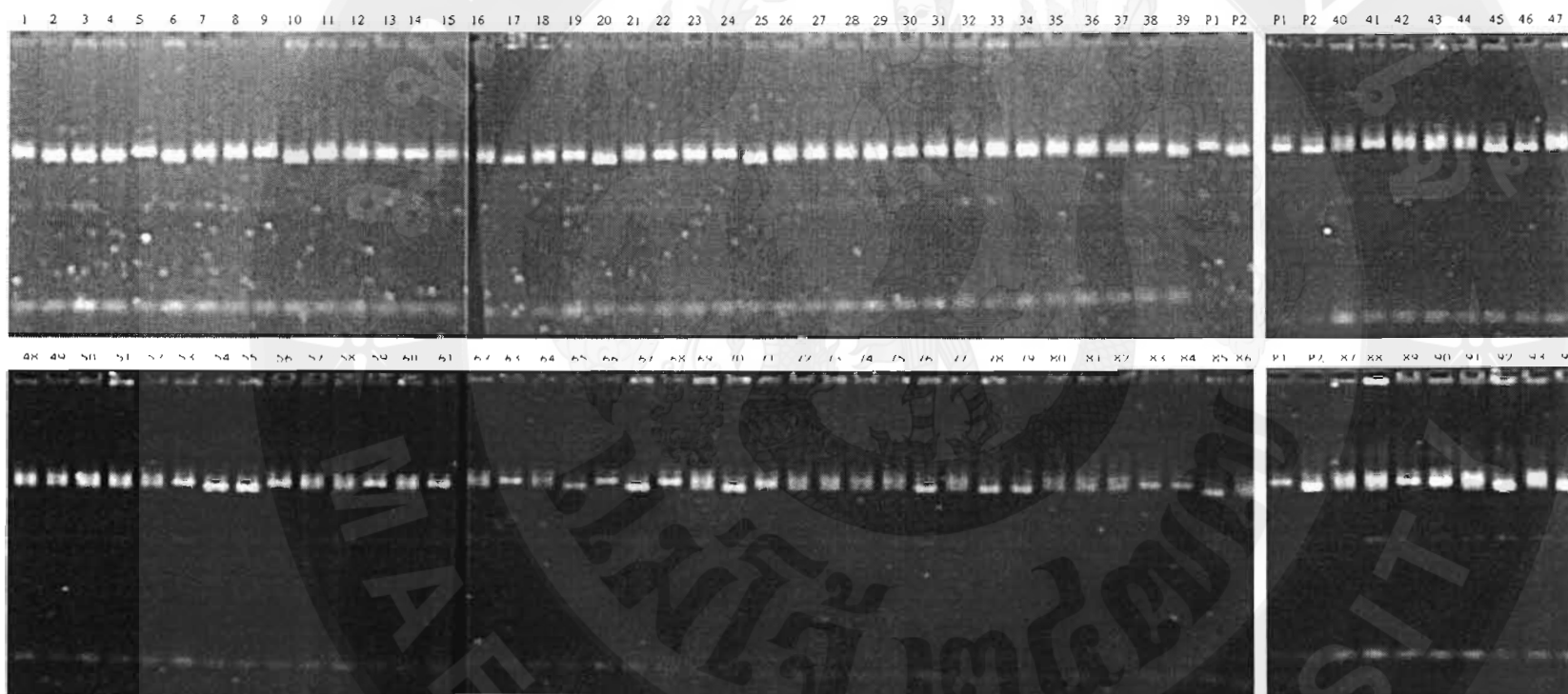
หมายเหตุ สัญลักษณ์ P1 คือ ข้าวพันธุ์ กข 6 P2 คือข้าวพันธุ์แปดริ้ว เลนที่ 1-94 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของประชากร F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ต้นที่ 1-94

ภาพผนวก 2 แสดงการตรวจสอบจีโนไทป์ในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ด้วยเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยัดติดกับ ยีน *SPP1*



หมายเหตุ สัญลักษณ์ M คือ แถบดีเอ็นเอมาตรฐาน 50 bp ladder เลนที่ 1-94 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ดันที่ 1-94 P1 คือ ข้าวพันธุ์ กข 6 (300 bp) P2 คือ ข้าวพันธุ์แปดริ้ว (250 bp)

ภาพผนวก 3 แสดงการตรวจสอบจีโนไทป์ในประชากร F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ด้วยเครื่องหมาย RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับ ยีน *Ghd7*



หมายเหตุ สัญลักษณ์ P1 คือ ข้าวพันธุ์ กข 6 P2 คือข้าวพันธุ์แปดริ้ว แถวที่ 1-94 คือ แถบดีเอ็นเอผลผลิตของพีซีอาร์ของประชากร F_2 ของกลุ่มสมระหว่างข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้ว ต้นที่ 1-94



ภาคผนวก ค

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

ตารางผนวก 11 ผลการวิเคราะห์การกระจายตัวในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้วในฤดูนาปี พ.ศ. 2552 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

The SAS System

The UNIVARIATE Procedure

Variable: Grains

Moments

N	100	Sum Weights	100
Mean	213.12	Sum Observations	21312
Std Deviation	34.3553269	Variance	1180.28848
<u>Skewness</u>	<u>0.06822539</u>	Kurtosis	-0.7652134
Uncorrected SS	4658862	Corrected SS	116848.56
Coeff Variation	16.1201797	Std Error Mean	3.43553269

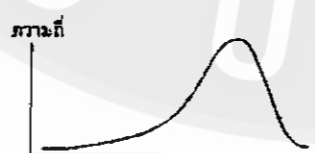
Basic Statistical Measures

Location		Variability	
Mean	213.1200	Std Deviation	34.35533
Median	213.0000	Variance	1180
Mode	209.0000	Range	137.00000
		Interquartile Range	47.50000

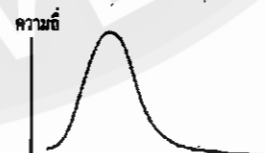
Tests for Normality

Test	--Statistic--	-----p Value-----	
<u>Shapiro-Wilk</u>	W 0.978517	Pr < W	<u>0.1018</u>
Kolmogorov-Smirnov	D 0.055012	Pr > D	>0.1500
Cramer-von Mises	W-Sq 0.054624	Pr > W-Sq	>0.2500
Anderson-Darling	A-Sq 0.444156	Pr > A-Sq	>0.2500

หมายเหตุ ① ถ้า skewness แสดงความเบ้ของกราฟเมื่อค่าติดลบกราฟจะเบ้ซ้ายข้อมูลส่วนมากมีค่ามาก ในทางตรงข้ามหากมีค่าเป็นบวกมากกราฟจะเบ้ขวาข้อมูลส่วนมากมีค่าน้อย ดังภาพ



กราฟเบ้ซ้าย



กราฟเบ้ขวา

② ถ้า Shapiro-wilk อธิบายการกระจายตัวของประชากร ซึ่งจะมีการกระจายตัวแบบโค้งปกติเมื่อค่า p-value ($Pr < W$) มีค่ามากกว่า 0.05

ตารางผนวก 12 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552 (T-Test) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests					
Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	28	-5.42	<.0001
grain	Satterthwaite	Unequal	27.3	-5.42	<.0001

4

Equality of Variances					
Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	14	14	1.37	0.5651

3

- หมายเหตุ 3 ผลการวิเคราะห์ความสม่ำเสมอของความแปรปรวนระหว่างประชากรสองกลุ่ม (homogeneity of variances) ประชากรทั้งสองกลุ่มมีความแปรปรวนสม่ำเสมอเมื่อค่า P value ($P > F$) มีค่ามากกว่า 0.05
- 4 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี pooled variances
- $Pr > |t|$ มีค่ามากกว่า 0.05 แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ns)
- $Pr > |t|$ มีค่าน้อยกว่า 0.05 แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (*)
- $Pr > |t|$ มีค่าน้อยกว่า 0.01 แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (**)

ตารางผนวก 13 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับประชากร F_2 ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552 (T-Test) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests					
Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	113	-3.87	0.0002
grain	Satterthwaite	Unequal	19.6	-4.18	0.0005

Equality of Variances					
Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	99	14	1.23	<u>0.6893</u>

ตารางผนวก 14 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว กับประชากร F_2 ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552 (T-Test) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests					
Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	113	3.15	0.0021
grain	Satterthwaite	Unequal	18	3.03	0.0071

Equality of Variances					
Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	14	99	1.11	<u>0.7176</u>

ตารางผนวก 15 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือยี่ดติดกับยีน *Gn1a* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: X

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	9689.0321	4844.5161	4.39	0.0150
Error	97	107159.5279	1104.7374		
Corrected Total	99	116848.5600			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean
5 0.082920	15.59572	33.23759	213.1200

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Gn1a	2	9689.032101	4844.516051	4.39	0.0150

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Gn1a	2	9689.032101	4844.516051	4.39	6 0.0150

The SAS System							
The MEANS Procedure							
Analysis Variable : X							
Gn1a	N	Obs	N	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	24	24	198.4583333	34.2052363	145.0000000	282.0000000	
1	46	46	212.7608696	31.3228243	153.0000000	273.0000000	
2	30	30	225.4000000	35.2817233	148.0000000	278.0000000	

หมายเหตุ ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ด้วยวิธี single regression analysis

5 ค่า R-Square แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับยีนที่ควบคุมลักษณะที่ศึกษา ซึ่งสามารถอธิบายผลของ QTLs ต่อลักษณะได้ กล่าวคือ

ค่า R-Square เมื่อคิดเป็นร้อยละ แล้วมีค่า >15% เป็น QTL หลัก (major QTL)

ถ้า R-Square เมื่อคิดเป็นร้อยละ แล้วมีค่า ตั้งแต่ 5-15% เป็น QTL รอง (minor QTL)

ถ้า R-Square เมื่อคิดเป็นร้อยละ แล้วมีค่า <5% เป็น polygene

6 ผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

$Pr > F$ มีค่ามากกว่า 0.05 แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ns)

$Pr > F$ มีค่าน้อยกว่า 0.05 แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (*)

$Pr > F$ มีค่าน้อยกว่า 0.01 แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (**)

ตารางผนวก 16 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยี่ดัดกับยีน *SPP1* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ในประชากร F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ไห่แปดริ้ว ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System						
The GLM Procedure						
Dependent Variable: X						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	2	11143.1015	5571.5507	5.11	0.0077	
Error	97	105705.4585	1089.7470			
Corrected Total	99	116848.5600				
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean		
	<u>0.095364</u>	15.48954	33.01132	213.1200		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
SPP1	2	11143.10150	5571.55075	5.11	0.0077	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
SPP1	2	11143.10150	5571.55075	5.11	<u>0.0077</u>	
The SAS System						
The MEANS Procedure						
Analysis Variable : X						
SPP1	N	Obs	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	25	25	198.9600000	33.6160676	145.0000000	282.0000000
1	46	46	211.7173913	32.7764570	148.0000000	273.0000000
2	29	29	227.5517241	32.8639905	163.0000000	278.0000000

ตารางผนวก 17 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยืคติดกับยีน *Ghd7* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System							
The GLM Procedure							
Dependent Variable: X							
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F		
Model	2	9700.6177	4850.3088	4.39	0.0149		
Error	97	107147.9423	1104.6180				
Corrected Total	99	116848.5600					
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean			
	<u>0.083019</u>	15.59487	33.23579	213.1200			
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F		
Ghd7	2	9700.617692	4850.308846	4.39	0.0149		
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F		
Ghd7	2	9700.617692	4850.308846	4.39	<u>0.0149</u>		
The SAS System							
The MEANS Procedure							
Analysis Variable : X							
Ghd7	N	Obs	N	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	24	24	24	203.3750000	35.6087587	153.0000000	278.0000000
1	52	52	52	222.5769231	33.4906169	159.0000000	282.0000000
2	24	24	24	202.3750000	30.0590904	145.0000000	251.0000000

ตารางผนวก 18 ผลการวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมาย RM10318, RM10395 และ RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ไห่แปดริ้ว

The SAS System								
The REG Procedure								
Model: MODEL1								
Dependent Variable: Seed								
Stepwise Selection: Step 1								
Variable SPP1 Entered: R-Square = 0.0949 and C(p) = 0.1731								
Analysis of Variance								
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F			
Model	1	11084	11084	10.27	0.0018			
Error	98	105764	1079.22554					
Corrected Total	99	116849						
Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II SS	F Value	Pr > F			
Intercept	198.19762	5.69851	1305530	1209.69	<.0001			
SPP1	14.34844	4.47717	11084	10.27	0.0018			
Bounds on condition number: 1, 1								

All variables left in the model are significant at the 0.1500 level.								
No other variable met the 0.1500 significance level for entry into the model.								
Summary of Stepwise Selection								
Step	Variable Entered	Variable Removed	Number Vars In	Partial R-Square	Model R-Square	C(p)	F Value	Pr > F
1	SPP1		1	0.0949	0.0949	0.1731	10	0.0018
	7		8				9	

หมายเหตุ ผลการวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่งด้วยวิธี multiple regression analysis

- (7) เครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะที่ศึกษา
- (8) ค่า Partial R-Square แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลนั้นๆ กับยีนที่ควบคุมลักษณะที่ศึกษา

๑ ผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

$Pr > F$ มีค่ามากกว่า 0.05 แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ns)

$Pr > F$ มีค่าน้อยกว่า 0.05 แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (*)

$Pr > F$ มีค่าน้อยกว่า 0.01 แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (**)



ตารางผนวก 19 ผลการวิเคราะห์การกระจายตัวในประชากร BC_2F_2 ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ไหแปดริ้วในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

The SAS System

The UNIVARIATE Procedure

Variable: Grains

Moments

N	122	Sum Weights	122
Mean	199.565574	Sum Observations	24347
Std Deviation	28.3752854	Variance	805.156822
<u>Skewness</u>	<u>0.55287174</u>	Kurtosis	-0.1925859
Uncorrected SS	4956247	Corrected SS	97423.9754
Coeff Variation	14.2185272	Std Error Mean	2.56897763

Basic Statistical Measures

Location		Variability	
Mean	199.5656	Std Deviation	28.37529
Median	195.5000	Variance	805.15682
Mode	173.0000	Range	132.00000
		Interquartile Range	43.00000

Tests for Normality

Test	--Statistic--		-----p Value-----	
Shapiro-Wilk	W	0.968443	Pr < W	0.0058
Kolmogorov-Smirnov	D	0.085202	Pr > D	0.0284
Cramer-von Mises	W-Sq	0.202931	Pr > W-Sq	<0.0050
Anderson-Darling	A-Sq	1.180989	Pr > A-Sq	<0.0050

ตารางผนวก 20 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ไหแปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 (T-Test) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests

Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	18	-1.56	<u>0.1359</u>
grain	Satterthwaite	Unequal	15.4	-1.56	0.1388

Equality of Variances

Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	9	9	2.38	<u>0.2120</u>

ตารางผนวก 21 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับประชากร BC_2F_2 ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 (T-Test) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests					
Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	130	-1.71	<u>0.0905</u>
grain	Satterthwaite	Unequal	10.4	-1.65	0.1297
Equality of Variances					
Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	9	121	1.09	<u>0.7548</u>

ตารางผนวก 22 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว กับประชากร BC_2F_2 ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 (T-Test) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests					
Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	130	0.16	<u>0.8758</u>
grain	Satterthwaite	Unequal	12.5	0.22	0.8310
Equality of Variances					
Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	121	9	2.19	<u>0.1980</u>

ตารางผนวก 23 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือยี่ดัดติดกับยีน *Gn1a* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร BC₂F₂ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System						
The GLM Procedure						
Dependent Variable: X						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	2	1722.42035	861.21018	1.07	0.3460	
Error	119	95701.55506	804.21475			
Corrected Total	121	97423.97541				
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean		
	<u>0.017680</u>	14.21021	28.35868	199.5656		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
Gn1a	2	1722.420351	861.210175	1.07	0.3460	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
Gn1a	2	1722.420351	861.210175	1.07	<u>0.3460</u>	
The SAS System						
The MEANS Procedure						
Analysis Variable : X						
Gn1a	N	Obs	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	34	34	201.0588235	28.1865444	152.0000000	256.0000000
1	59	59	195.9830508	26.9734809	148.0000000	278.0000000
2	29	29	205.1034483	31.2162330	148.0000000	280.0000000

ตารางผนวก 24 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยี่ดัดกับยีน *SPP1* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ในประชากร BC₂F₂ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ไหแปดริ้ว ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System						
The GLM Procedure						
Dependent Variable: X						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	2	1193.15507	596.57754	0.74	0.4804	
Error	119	96230.82034	808.66236			
Corrected Total	121	97423.97541				
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean		
	<u>0.012247</u>	14.24945	28.43699	199.5656		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
SPP1	2	1193.155071	596.577535	0.74	0.4804	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
SPP1	2	1193.155071	596.577535	0.74	<u>0.4804</u>	
The SAS System						
The MEANS Procedure						
Analysis Variable : X						
SPP1	N	Obs	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	35	35	202.3714286	31.2580208	148.0000000	278.0000000
1	59	59	196.3389831	26.0692778	148.0000000	280.0000000
2	28	28	202.8571429	29.5606273	152.0000000	260.0000000

ตารางผนวก 25 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Ghd7* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร BC₂F₂ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ไห่แปดริ้ว ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System						
The GLM Procedure						
Dependent Variable: X						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	2	907.35580	453.67790	0.56	0.5731	
Error	119	96516.61961	811.06403			
Corrected Total	121	97423.97541				
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean		
	<u>0.009313</u>	14.27059	28.47919	199.5656		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
Ghd7	2	907.3557959	453.6778980	0.56	0.5731	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
Ghd7	2	907.3557959	453.6778980	0.56	<u>0.5731</u>	
The SAS System						
The MEANS Procedure						
Analysis Variable : X						
Ghd7	N	Obs	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	37	37	195.9189189	29.6997740	152.0000000	278.0000000
1	50	50	202.4400000	28.1759486	148.0000000	260.0000000
2	35	35	199.3142857	27.5795869	159.0000000	280.0000000

ตารางผนวก 26 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *WFP* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร BC_2F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ไหแปดริ้ว ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System						
The GLM Procedure						
Dependent Variable: X						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	2	3726.65173	1863.32586	2.37	0.0982	
Error	119	93697.32368	787.37247			
Corrected Total	121	97423.97541				
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean		
	<u>0.038252</u>	14.06062	28.06016	199.5656		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
WFP	2	3726.651726	1863.325863	2.37	0.0982	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
WFP	2	3726.651726	1863.325863	2.37	<u>0.0982</u>	
The SAS System						
The MEANS Procedure						
Analysis Variable : X						
WFP	N	Obs	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	29	29	193.0689655	26.9588722	152.0000000	280.0000000
1	59	59	197.9661017	27.6548718	148.0000000	260.0000000
2	34	34	207.8823529	29.6390045	161.0000000	278.0000000

ตารางผนวก 27 ผลการวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมาย RM10318, RM10395, RM21335 และ RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPPI*, *Ghd7* และ *WFP* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ในประชากร BC₂F₂ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ไห่แปดริ้ว

The SAS System								
The REG Procedure								
Model: MODEL1								
Dependent Variable: Seed								
Stepwise Selection: Step 1								
Variable WFP Entered: R-Square = 0.0363 and C(p) = 0.2630								
Analysis of Variance								
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F			
Model	1	3535.35930	3535.35930	4.52	0.0356			
Error	120	93889	782.40513					
Corrected Total	121	97424						
Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II SS	F Value	Pr > F			
Intercept	191.75473	4.46263	1444585	1846.34	<.0001			
WFP	7.50333	3.52982	3535.35930	4.52	0.0356			
Bounds on condition number: 1, 1								

All variables left in the model are significant at the 0.1500 level.								
No other variable met the 0.1500 significance level for entry into the model.								
Summary of Stepwise Selection								
Step	Variable Entered	Variable Removed	Number Vars In	Partial R-Square	Model R-Square	C(p)	F Value	Pr > F
1	WFP		1	0.0363	0.0363	0.2630	4.52	0.0356

ตารางผนวก 28 ผลการวิเคราะห์การกระจายตัวในประชากร $F_{3,4}$ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ
 ชัยนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพรในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป
 SAS version 8

The SAS System				
The UNIVARIATE Procedure				
Variable: Grains				
Moments				
N	87	Sum Weights	87	
Mean	178.908046	Sum Observations	15565	
Std Deviation	31.5667002	Variance	996.456562	
Skewness	0.36148672	Kurtosis	0.03662242	
Uncorrected SS	2870399	Corrected SS	85695.2644	
Coeff Variation	17.644092	Std Error Mean	3.3843055	
Basic Statistical Measures				
Location		Variability		
Mean	178.9080	Std Deviation	31.56670	
Median	174.0000	Variance	996.45656	
Mode	168.0000	Range	150.00000	
		Interquartile Range	39.00000	
Tests for Normality				
Test	--Statistic--		----p Value-----	
Shapiro-Wilk	W	0.981042	Pr < W	0.2321
Kolmogorov-Smirnov	D	0.079021	Pr > D	>0.1500
Cramer-von Mises	W-Sq	0.088494	Pr > W-Sq	0.1618
Anderson-Darling	A-Sq	0.529012	Pr > A-Sq	0.1800

ตารางผนวก 29 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์รับ
ชั้นนาท 1 กับพันธุ์ไห้เมืองไทร ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 (T-Test) ด้วยโปรแกรม
สำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests					
Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	18	-9.97	<u><.0001</u>
grain	Satterthwaite	Unequal	13.9	-9.97	<u><.0001</u>

Equality of Variances					
Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	9	9	3.34	<u>0.0867</u>

ตารางผนวก 30 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์รับ
ชั้นนาท 1 กับประชากร $F_{3,4}$ ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 (T-Test) ด้วยโปรแกรม
สำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests					
Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	95	-5.85	<u><.0001</u>
grain	Satterthwaite	Unequal	17.2	-9.35	<u><.0001</u>

Equality of Variances					
Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	86	9	3.43	<u>0.0495</u>

ตารางผนวก 31 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรกับประชากร $F_{3,4}$ ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 (T-Test) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests					
Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	95	5.00	<u><.0001</u>
grain	Satterthwaite	Unequal	11.2	5.04	<u>0.0004</u>

Equality of Variances					
Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	86	9	1.02	<u>1.0000</u>

ตารางผนวก 32 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยี่ดติดกับยีน *Gn1a* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร $F_{3,4}$ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชยนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไพร ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System						
The GLM Procedure						
Dependent Variable: X						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	2	2518.14243	1259.07121	1.27	0.2857	
Error	84	83177.12194	990.20383			
Corrected Total	86	85695.26437				
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean		
	<u>0.029385</u>	17.58865	31.46750	178.9080		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
Gn1a	2	2518.142428	1259.071214	1.27	0.2857	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
Gn1a	2	2518.142428	1259.071214	1.27	<u>0.2857</u>	
The SAS System						
The MEANS Procedure						
Analysis Variable : X						
Gn1a	N	Obs	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	42	42	174.0238095	32.3543552	116.0000000	241.0000000
1	19	19	179.2631579	26.7516191	118.0000000	239.0000000
2	26	26	186.5384615	33.0916676	140.0000000	266.0000000

ตารางผนวก 33 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยี่ดัดกับยีน *SPP1* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร $F_{3,4}$ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไทร ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System					
The GLM Procedure					
Dependent Variable: X					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	1947.77149	973.88575	0.98	0.3807
Error	84	83747.49288	996.99396		
Corrected Total	86	85695.26437			
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean	
	<u>0.022729</u>	17.64885	31.57521	178.9080	
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
SPP1	2	1947.771490	973.885745	0.98	0.3807
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
SPP1	2	1947.771490	973.885745	0.98	<u>0.3807</u>
The SAS System					
The MEANS Procedure					
Analysis Variable : X					
SPP1	N				
Obs	N	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	39	39	174.3589744	31.6498002	116.0000000
1	21	21	179.0000000	29.0172363	116.0000000
2	27	27	185.4074074	33.3065705	140.0000000

ตารางผนวก 34 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือยี่ดัดกับยีน *Ghd7* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ในประชากร $F_{3:4}$ ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชยันต 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไพร ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System							
The GLM Procedure							
Dependent Variable: X							
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F		
Model	2	3837.77865	1918.88933	1.97	0.1460		
Error	84	81857.48571	974.49388				
Corrected Total	86	85695.26437					
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean			
	<u>0.044784</u>	17.44856	31.21688	178.9080			
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F		
Ghd7	2	3837.778654	1918.889327	1.97	0.1460		
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F		
Ghd7	2	3837.778654	1918.889327	1.97	<u>0.1460</u>		
The SAS System							
The MEANS Procedure							
Analysis Variable : X							
Ghd7	N	Obs	N	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	35	35	35	173.8571429	34.3812046	116.0000000	266.0000000
1	20	20	20	190.8000000	29.8427457	146.0000000	241.0000000
2	32	32	32	177.0000000	28.2534611	118.0000000	234.0000000

ตารางผนวก 35 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับชิ้น *WFP* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ในประชากร $F_{3,4}$ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชยันต 1 กับข้าวพันธุ์ไหเมืองไทร ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System							
The GLM Procedure							
Dependent Variable: X							
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F		
Model	2	719.35617	359.67808	0.36	0.7018		
Error	84	84975.90820	1011.61795				
Corrected Total	86	85695.26437					
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean			
	<u>0.008394</u>	17.77782	31.80594	178.9080			
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F		
Ghd7	2	719.3561694	359.6780847	0.36	0.7018		
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F		
Ghd7	2	719.3561694	359.6780847	0.36	<u>0.7018</u>		
The SAS System							
The MEANS Procedure							
Analysis Variable : X							
Ghd7	N	Obs	N	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	33	33		182.0909091	27.1320424	116.0000000	241.0000000
1	23	23		179.0869565	30.0362100	118.0000000	243.0000000
2	31	31		175.3870968	37.2251505	116.0000000	266.0000000

ตารางผนวก 36 ผลการวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมาย RM10316, RM10402, RM21330 และ RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟิโนไทป์) ในประชากร $F_{3,4}$ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัณษาท 1 กับพันธุ์ไห้เมืองไท

The SAS System								
The REG Procedure								
Model: MODEL1								
Dependent Variable: Seed								
Stepwise Selection: Step 1								
Variable Gn1a Entered: R-Square = 0.0292 and C(p) = 0.6711								
Analysis of Variance								
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F			
Model	1	2502.94758	2502.94758	2.56	0.1135			
Error	85	83192	978.73314					
Corrected Total	86	85695						
Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II SS	F Value	Pr > F			
Intercept	173.84611	4.61186	1390725	1420.94	<.0001			
Gn1a	6.20265	3.87868	2502.94758	2.56	0.1135			
Bounds on condition number: 1, 1								

All variables left in the model are significant at the 0.1500 level.								
No other variable met the 0.1500 significance level for entry into the model.								
Summary of Stepwise Selection								
Step	Variable Entered	Variable Removed	Number Vars In	Partial R-Square	Model R-Square	C(p)	F Value	Pr > F
1	Gn1a		1	0.0292	0.0292	0.6711	2.56	0.1135

ตารางผนวก 37 ผลการวิเคราะห์การกระจายตัวในประชากร BC_1F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ
 ชัยนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพรในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS
 version 8

The SAS System				
The UNIVARIATE Procedure				
Variable: Grains				
Moments				
N	100	Sum Weights	100	
Mean	140.72	Sum Observations	14072	
Std Deviation	19.1638759	Variance	367.254141	
<u>Skewness</u>	<u>0.17671368</u>	Kurtosis	0.10869672	
Uncorrected SS	2016570	Corrected SS	36358.16	
Coeff Variation	13.6184451	Std Error Mean	1.91638759	
Basic Statistical Measures				
Location		Variability		
Mean	140.7200	Std Deviation	19.16388	
Median	140.0000	Variance	367.25414	
Mode	138.0000	Range	95.00000	
		Interquartile Range	24.50000	
Tests for Normality				
Test	--Statistic--		-----p Value-----	
<u>Shapiro-Wilk</u>	W	0.99091	Pr < W	0.7379
Kolmogorov-Smirnov	D	0.044985	Pr > D	>0.1500
Cramer-von Mises	W-Sq	0.027092	Pr > W-Sq	>0.2500
Anderson-Darling	A-Sq	0.191884	Pr > A-Sq	>0.2500

ตารางผนวก 38 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์รัชชินา 1 กับประชากร BC₁F₂ ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 (T-Test) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests					
Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	108	-3.38	<u>0.0010</u>
grain	Satterthwaite	Unequal	11.4	-3.72	0.0032

Equality of Variances					
Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	99	9	1.26	<u>0.7517</u>

ตารางผนวก 39 ผลการวิเคราะห์ผลต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างข้าวพันธุ์ให้เมืองไทร กับประชากร BC₁F₂ ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 (T-Test) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 8

T-Tests					
Variable	Method	Variances	DF	t Value	Pr > t
grain	Pooled	Equal	108	13.39	<u><.0001</u>
grain	Satterthwaite	Unequal	9.69	9.03	<.0001

Equality of Variances					
Variable	Method	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
grain	Folded F	9	99	2.65	<u>0.0171</u>

ตารางผนวก 40 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร BC₁F₂ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชยันต 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพร ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System						
The GLM Procedure						
Dependent Variable: X						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	2	1585.96441	792.98220	2.21	0.1150	
Error	97	34772.19559	358.47624			
Corrected Total	99	36358.16000				
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean		
	<u>0.043621</u>	13.45471	18.93347	140.7200		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
Gn1a	2	1585.964409	792.982205	2.21	0.1150	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
Gn1a	2	1585.964409	792.982205	2.21	<u>0.1150</u>	
The SAS System						
The MEANS Procedure						
Analysis Variable : X						
	N					
Gn1a	Obs	N	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
~~~~~						
	0	26	136.4615385	19.2898538	98.0000000	171.0000000
	1	53	139.9622642	19.1521863	100.0000000	193.0000000
	2	21	147.9047619	17.8826865	108.0000000	193.0000000
~~~~~						

ตารางผนวก 41 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยี่ดัดกับยีน *SPP1* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร BC₁F₂ ของผู้ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชันนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไพร ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System						
The GLM Procedure						
Dependent Variable: X						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F	
Model	2	280.90978	140.45489	0.38	0.6865	
Error	97	36077.25022	371.93041			
Corrected Total	99	36358.16000				
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean		
	<u>0.007726</u>	13.70487	19.28550	140.7200		
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
SPP1	2	280.9097835	140.4548918	0.38	0.6865	
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F	
SPP1	2	280.9097835	140.4548918	0.38	<u>0.6865</u>	
The SAS System						
The MEANS Procedure						
Analysis Variable : X						
SPP1	N	Obs	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
0	21	21	137.8571429	22.9614584	98.0000000	193.0000000
1	55	55	140.8909091	19.0113735	100.0000000	193.0000000
2	24	24	142.8333333	16.1720819	108.0000000	165.0000000

ตารางผนวก 42 ผลการวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือยี่ดัดกับยีน *Ghd7* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร BC₁F₂ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชยันต 1 กับพันธุ์ไห้เมืองไทร ด้วยวิธี single regression analysis

The SAS System					
The GLM Procedure					
Dependent Variable: X					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	1137.68801	568.84401	1.57	0.2140
Error	97	35220.47199	363.09765		
Corrected Total	99	36358.16000			
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	X Mean	
	0.031291	13.54116	19.05512	140.7200	
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Ghd7	2	1137.688014	568.844007	1.57	0.2140
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Ghd7	2	1137.688014	568.844007	1.57	0.2140
The SAS System					
The MEANS Procedure					
Analysis Variable : X					
Ghd7	N	Mean	Std Dev	Minimum	Maximum
Obs	N				
0	19	147.6842105	22.8741791	100.0000000	193.0000000
1	62	139.0967742	18.8677100	98.0000000	193.0000000
2	19	139.0526316	15.0682657	120.0000000	165.0000000

ตารางผนวก 43 ผลการวิเคราะห์ค่าสมการถดถอยหลายตำแหน่ง (multiple-locus regression) ของเครื่องหมาย RM10316, RM10402 และ RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือชิดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* กับจำนวนเมล็ดต่อรวง (ฟีนไทป์) ในประชากร BC₂F₂ ของกลุ่มผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัชนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไท

The SAS System					
The REG Procedure					
Model: MODEL1					
Dependent Variable: Seed					
Stepwise Selection: Step 1					
Variable Gn1a Entered: R-Square = 0.0403 and C(p) = 2.9181					
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	1463.84086	1463.84086	4.11	0.0453
Error	98	34894	356.06448		
Corrected Total	99	36358			
Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II SS	F Value	Pr > F
Intercept	135.40406	3.23023	625640	1757.10	<.0001
Gn1a	5.59572	2.75977	1463.84086	4.11	0.0453
Bounds on condition number: 1, 1					
Stepwise Selection: Step 2					
Variable Ghd7 Entered: R-Square = 0.0625 and C(p) = 2.6233					
Analysis of Variance					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	2273.34887	1136.67444	3.23	0.0437
Error	97	34085	351.38981		
Corrected Total	99	36358			
Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Type II SS	F Value	Pr > F
Intercept	139.83698	4.33905	364959	1038.62	<.0001
Gn1a	5.79340	2.74469	1565.55940	4.46	0.0374
Ghd7	-4.62071	3.04433	809.50802	2.30	0.1323

The REG Procedure
 Model: MODEL1
 Dependent Variable: Seed

Stepwise Selection: Step 2

Bounds on condition number: 1.0023, 4.009

All variables left in the model are significant at the 0.1500 level.

No other variable met the 0.1500 significance level for entry into the model.

Summary of Stepwise Selection

Step	Variable Entered	Variable Removed	Number Vars In	Partial R-Square	Model R-Square	C(p)	F Value	Pr > F
1	<u>Gn1a</u>		1	<u>0.0403</u>	0.0403	2.9181	4.11	<u>0.0453</u>
2	Ghd7		2	0.0223	0.0625	2.6233	2.30	0.1323



ภาคผนวก ง
ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวดวงใจ กิ่งโพธิ์
เกิดเมื่อ	วันที่ 6 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2520
สถานที่เกิด	จังหวัดนครราชสีมา
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2535 ประถมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนอนุบาลเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา พ.ศ. 2537 มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนสุรนารีวิทยา จังหวัดนครราชสีมา พ.ศ. 2539 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนราชสีมาวิทยาลัย จังหวัดนครราชสีมา พ.ศ. 2542 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีวเคมี) มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2542-2546 บริษัท เซมินีส เวเจ็ทเทเบิล ซีดส์ (ประเทศไทย) จำกัด จังหวัดขอนแก่น พ.ศ. 2546-2553 บริษัท สอทิเจนเนติกส์ รีเสิร์ช (เอส.อี.เอเชีย) จำกัด บริษัทในเครือ อีสท์ เวสต์ ซีด จำกัด จังหวัดเชียงใหม่