การพัฒนาข้าวฟ่างหวานสายพันธุ์อนุรักษ์ของสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน
Development of B-lines for Using to Develop A-lines of Sweet Sorghum *(Sorghum bicolor)*

นิตยา ลุนมาตร[1] ประสิทธิ์ ใจศิล[1] จิรวัฒน์ สนิทชน[1] และ ปรียา พวงสำลี หวังสมนึก[2]
Nittaya Lunmat,[1] Prasit Jaisil,[1] Jirawat Sanitchon[1] and Preeya Puangsomlee Wangsomnuk[2]

Abstract

Male sterility has been used for hybrid development to improve crop productivity. For sweet sorghum in Thailand, production of hybrid varieties using this method has never been explored. The introduction of male sterility into sweet sorghum will be of great benefit to breeding programs and to broaden agronomic traits. However, the screening and selection of the maintainer (B-lines) through conventional hybridization followed by backcrossing are tedious, time-consuming, and ineffective. With the aid of molecular tools, the selection process can be more effective. The objective of this study was to compare the conventional and the molecular methods in identifying B lines of sweet sorghum in segregating population of the cross between a sweet sorghum population and a male sterile line. The segregating population in F_2 generation was used. The individual plants were crossed with A-line and their progenics were tested for male sterility with the primer LW-7 as a molecular marker. The conventional method identified only 2 male sterile plants, whereas the molecular method identified 33 male sterile plant. Howerer, this research should be made more investigation to confirm the result for further conclusion.

Key words : sweet sorghum *(Sorghum bicolor),* male sterility, fertility restorer gene, PCR

บทคัดย่อ

ข้าวฟ่างเมล็ด (grain sorghum) สายพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (male sterile lines) ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเพื่อการค้านานมาแล้วแต่สำหรับข้าวฟ่างหวานยังไม่มีสายพันธุ์ที่เป็นหมันจึงต้องทำการพัฒนาสายพันธุ์นี้ขึ้นมาใหม่ โดยผสมข้ามระหว่างข้าวฟ่างหวาน กับข้าวฟ่างเมล็ดสายพันธุ์อนุรักษ์ (B-lines) เพื่อถ่ายทอดยีนที่ควบคุมลักษณะความหวานมาไว้ในสายพันธุ์ B หลังจากนั้นจึงทำการพัฒนาข้าวฟ่างหวานสายพันธุ์ B ขึ้นมาใหม่โดยการผสมกลับ (backcrossing) แต่การจำแนกข้าวฟ่างหวานสายพันธุ์ B ที่อยู่ในระหว่างการปรับปรุงพันธุ์นั้นทำได้ยาก จึงจำเป็นต้องอาศัยเทคโนโลยีสมัยใหม่เข้ามาช่วยเพื่อย่นระยะเวลาและเพิ่มความแม่นยำในการจำแนก ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการจำแนกสายพันธุ์ B ในประชากรของข้าวฟ่างหวานที่อยู่ระหว่างการกระจายตัว โดยใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบมาตรฐานร่วมกับวิธีการใช้เครื่องหมายโมเลกุล

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
[1] Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand
[2] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
[2] Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

ช่วยคัดเลือก (molecular marker-aided selection : MAS) โดยผสมข้ามระหว่างข้าวฟ่างหวานกับข้าวฟ่างเมล็ดสายพันธุ์ B หลังจากนั้นจึงผสมตัวเอง เพื่อสร้างประชากรที่มีการกระจายตัวแล้วนำเกสรตัวผู้แต่ละต้นในประชากรที่มีการกระจายตัวนี้ไปผสมข้ามกับสายพันธุ์ที่เป็นหมัน (สายพันธุ์ A) แล้วตรวจสอบลูกที่ได้ เพื่อพิสูจน์ว่าต้นไหนที่เป็นสายพันธุ์ B ควบคู่กับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยตรวจสอบผลการทดลอง พบว่า การจำแนกโดยวิธีมาตรฐานสามารถจำแนกต้นสายพันธุ์ B ได้เพียง 2 ต้นซึ่งไม่สอดคล้องกับค่าคาดหมายในขณะที่การจำแนกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกสามารถจำแนกได้จำนวน 33 ต้น อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ควรศึกษาอย่างละเอียดเพื่อยืนยันผลอีกครั้ง

คำสำคัญ : ข้าวฟ่างหวาน *(Sorghum bicolor)* เกสรตัวผู้เป็นหมัน ยีนแก้ความเป็นหมัน PCR

บทนำ

ข้าวฟ่างหวานเป็นพืชหนึ่งที่มีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบผลิตเอทานอล ในปัจจุบันนี้ได้มีการทดลองใช้ข้าวฟ่างหวานเป็นวัตถุดิบเสริมในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอล เนื่องจากอุตสาหกรรมนี้มีการขยายตัวเพิ่มขึ้น ทำให้วัตถุดิบหลักที่มีอยู่ในปัจจุบัน คือ กากน้ำตาลและมันสำปะหลังอาจจะไม่เพียงพอกับความต้องการของโรงงานในอนาคต ดังนั้น เพื่อแก้ปัญหาวัตถุดิบที่อาจจะขาดแคลนในบางช่วงจึงมีผู้สนใจที่จะนำข้าวฟ่างหวานมาเป็นพืชปลูกเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบเสริมสำหรับผลิตเอทานอล เนื่องจากข้าวฟ่างหวานเป็นพืชที่มีอายุเก็บเกี่ยวสั้นเพียง 100 - 120 วัน และสามารถปลูกได้เกือบตลอดปี ในขณะที่อ้อยมีอายุเก็บเกี่ยว 10-12 เดือน และเปิดหีบได้เพียง 4 เดือน (ธ.ค.-มี.ค.) เท่านั้น ดังนั้น ถ้ามีข้าวฟ่างหวานมาเสริมในช่วงที่ขาดแคลนวัตถุดิบก็จะทำให้โรงงานผลิตเอทานอลสามารถเดินเครื่องได้เต็มที่และมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ถึงแม้ว่าข้าวฟ่างหวานจะเป็นพืชที่มีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบเสริมสำหรับผลิตเอทานอล แต่เนื่องจากพืชนี้ยังไม่มีการผลิตในเชิงพาณิชย์จึงไม่ได้รับการพัฒนาเท่าที่ควร พันธุ์ที่มีอยู่ในปัจจุบันให้ผลผลิตต้นสดประมาณ 5 ตัน/ไร่ (ประสิทธิ์, 2548) ซึ่งยังค่อนข้างต่ำ แนวทางหนึ่งในการที่จะปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้มีประสิทธิภาพการผลิตสูงขึ้น คือ การสร้างพันธุ์ลูกผสม ซึ่งคาดว่าจะสามารถเพิ่มผลผลิตได้ไม่ต่ำกว่าเท่าตัว ธำรงศิลป (2531) รายงานว่าปัจจุบันนี้การพัฒนาข้าวฟ่างได้มีการใช้ประโยชน์จากเกสรตัวผู้เป็นหมันเป็นหลัก การเป็นหมันในเพศผู้ของข้าวฟ่างมี 2 ชนิด คือ การเป็นหมันของเพศผู้ เนื่องจากยีนในนิวเคลียส ซึ่งควบคุมด้วยยีนด้อย (recessive gene) 1 คู่ ค้นพบโดย Stephens ในปี 1929 ยีนด้อยที่ก่อให้เกิดการเป็นหมันนี้เกิดจากการกลายพันธุ์ของข้าวฟ่างสายพันธุ์ปกติโดยธรรมชาติ (Ayyangar and Ponnaiya, 1936) แต่เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีข้าวฟ่างสายพันธุ์ที่เป็นหมัน (A-lines) ที่เป็นพันธุ์ข้าวฟ่างหวานโดยตรง ดังนั้นการพัฒนาสายพันธุ์ที่มีเกสร ตัวผู้เป็นหมันของข้าวฟ่างหวานจึงมีความจำเป็น แต่ในขั้นตอนแรกจำเป็นต้องพัฒนาสายพันธุ์อนุรักษ์ (B-lines) ขึ้นมาก่อน เพื่อใช้ในการพัฒนาสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (A-lines) ต่อไป

ในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่เป็นหมันนั้น แม้ว่าวิธีการคัดเลือกพันธุ์โดยวิธีมาตรฐาน (conventional breeding) ก็สามารถทำได้ แต่ต้องใช้เวลานานและสิ้นเปลืองงบประมาณเพราะต้องคัดเลือกจากประชากรจำนวนมาก ปัจจุบันการศึกษาด้านเทคโนโลยีชีวภาพในการใช้เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker-aided selection : MAS) ถูกนำมาใช้เป็นเครื่องมือในงานด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชมากมาย ดังนั้น ถ้าสามารถใช้ MAS มาช่วยในการจำแนกสายพันธุ์ที่เป็นหมันของข้าวฟ่างหวานก็จะทำให้สามารถคัดเลือกได้เร็วและแม่นยำมากยิ่งขึ้น

วิธีการศึกษา

การจำแนกต้นสายพันธุ์ B ของประชากรที่อยู่ระหว่างการกระจายตัวนี้แบ่งการทดลองออกเป็นสองวิธี คือ วิธีการตรวจสอบด้วยวิธีการคัดเลือกพันธุ์แบบมาตรฐาน (conventional breeding) และการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือก (molecular marker-aided selection : MAS)

พันธุ์และการสร้างประชากร

สายพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (ข้าวฟ่างเมล็ด) หรือสายพันธุ์ A (A-lines) และสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันหรือสายพันธุ์ B (B-lines) ที่เป็นคู่ฝาแฝดกัน ได้แก่ Tx2758A เป็นสายพันธุ์ที่มีไซโตพลาสซึมเป็นหมันกลุ่ม A2 และ Tx2758B ส่วนสายพันธุ์แก้ความเป็นหมันหรือสายพันธุ์ R (R-lines) ซึ่งเป็นข้าวฟ่างหวานที่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดีและมีสมรรถนะการผสมสูง (สุภาภรณ์, 2549) ได้แก่ SSV 84 และ Suwan sweet ได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ นำมาปลูกที่แปลงทดลอง หมวดพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยต้องวางแผนให้ทั้งพันธุ์พ่อและแม่ออกดอกพร้อมกัน

การผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันกับสายพันธุ์ที่มียีนแก้ความเป็นหมัน โดยการทำลายเกสรตัวผู้ (emasculate) ในสายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน การตอนเกสรตัวผู้ใช้ปากคีบ (forceps) ดึงอับละอองเกสรตัวผู้ที่มี 3 อันออกก่อนที่ดอกจะบาน สำหรับการเตรียมเกสรตัวผู้สายพันธุ์แก้ความเป็นหมันจะคลุมช่อดอกในต้นที่พร้อมจะบานในวันรุ่งขึ้น บันทึกรายละเอียดของคู่ผสมและวันที่ผสม สำหรับการผสมข้ามจะทำในตอนเช้า นำเมล็ดชั่วรุ่นที่ 1 มาปลูกในปลายฤดูฝน พ.ศ.2549 (กรกฎาคม - พฤศจิกายน) ปล่อยให้ผสมตัวเอง 1 ครั้งเพื่อผลิตประชากรชั่วรุ่นที่ 2 แล้วนำเมล็ดมาปลูกในช่วงต้นฤดูฝน พ.ศ.2550 (เมษายน - กรกฎาคม) พร้อมกับนำแต่ละต้นไปผสมกับสายพันธุ์ A (Tx2758A) เพื่อตรวจสอบว่าต้นไหนเป็นสายพันธุ์ B โดยนำเมล็ดที่ได้ไปปลูกเพื่อดูลักษณะการเป็นหมันในรุ่นลูก ถ้าต้นใดมีลักษณะเกสรตัวผู้ปกติแสดงว่าต้นนั้นไม่ใช่สายพันธุ์ B ถ้าต้นใดมีลักษณะเกสรตัวผู้เป็นหมัน แสดงว่าสายพันธุ์ในชั่วรุ่นที่ 2 ของต้นนั้นเป็นสายพันธุ์ B (Fig. 1) ขณะเดียวกันจะทำการคัดเลือกสายพันธุ์ B จากเมล็ดที่เหลือ ของต้นนั้นเพื่อที่จะนำมาใช้ในการพัฒนาสายพันธุ์ B ด้วยวิธีการผสมกลับต่อไป

การตรวจสอบยีโนไทป์ของประชากรข้าวฟ่างหวาน

Wen et al. (2002) รายงานว่าเครื่องหมายโมเลกุล marker LW-7 เป็นเครื่องหมายที่เชื่อมอยู่กับลักษณะยีนแก้ความเป็นหมัน (fertility restorer gene) ในข้าวฟ่างสายพันธุ์ R ดังนั้น จึงได้นำข้าวฟ่างพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองมาปลูกและทำการสกัดดีเอ็นเอ ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Dellaporta et al. (1983) และนำดีเอ็นเอมาตรวจสอบความแตกต่างระหว่างพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคปฏิกิริยา PCR-based marker LW-7

การใช้ปฏิกิริยา PCR (polymerase chain reaction) ตรวจสอบพันธุกรรมของประชากรข้าวฟ่างหวาน

เทคนิคปฏิกิริยา PCR (polymerase chain reaction) เป็นวิธีการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอขึ้นในหลอดทดลองด้วยการทำปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ โดยอาศัยเอ็นไซม์ DNA polymerase ในการทำปฏิกิริยา ในการตรวจสอบพันธุกรรมของประชากรข้าวฟ่างหวาน โดยใช้ปฏิกิริยา PCR นำมาใช้ในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ และทำการเตรียมสารละลายเพื่อสังเคราะห์ดีเอ็นเอปริมาตร 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1x PCR buffer 1.8 mM, MgCl2 0.2 mM และ dNTP Tag DNA polymerase ความเข้มข้น 0.2 ยูนิต/ไมโครลิตร ไพรเมอร์ ความเข้มข้น 0.5 mM DNA ต้นแบบ 50 ngDNA ในหลอดเซนตริฟิวซ์ขนาด 0.20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี นำไปเข้าเครื่อง Thermal cycler (Corbett Research Palm Cycle) โดยตั้งอุณหภูมิและเวลาดังต่อไปนี้ ขั้นที่ 1 อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 1 รอบ ขั้นที่ 2 อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำ ในขั้นตอนที่ 2 จำนวน 35 รอบ ขั้นสุดท้ายตามด้วยอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที อีก 1 รอบ จากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR มาตรวจสอบผลด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซีส (electrophoresis techniques) โดยใช้วุ้นอะกาโรสเจล (agarose gel) ที่มีความเข้มข้น 2% เป็นตัวกลางในการแยก ที่ใช้กระแสไฟฟ้าที่มีความต่างศักย์ 75 โวลต์ ในสารละลาย TBE และย้อมดีเอ็นเอด้วย เอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นภายใต้แสง UV และเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp DNA ladder plus) วิเคราะห์ขนาดของแถบดีเอ็นเอโดยใช้โปรแกรม PhotoCaptMw (Vilber Lourmat, France)

การวิเคราะห์วิธีการตรวจสอบต้น B-line ที่กระจายตัวในข้าวฟ่างหวาน

นำข้อมูลที่ได้จากวิธีการตรวจสอบทั้ง 2 วิธี (Fig. 2) มาวิเคราะห์หาค่า Chi square โดยใช้สูตร

$$\text{Chi-squared } (X^2) = \frac{(o_1 - e_1)^2}{e_1} + \frac{(o_2 - e_2)^2}{e_2} + \ldots\ldots\ldots + \frac{(o_n - e_n)^2}{e_n}$$

o=observed, e=expected (ไพศาล, 2541)

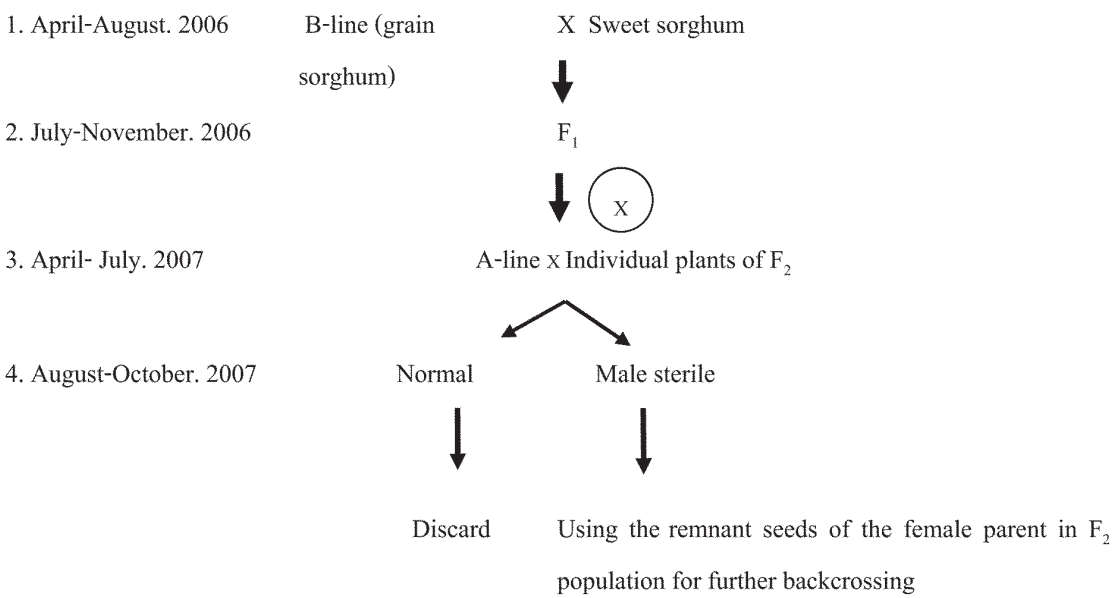

Fig. 1 The schematic on identifying maintainer sweet sorghum lines in segregated population by conventional breeding.

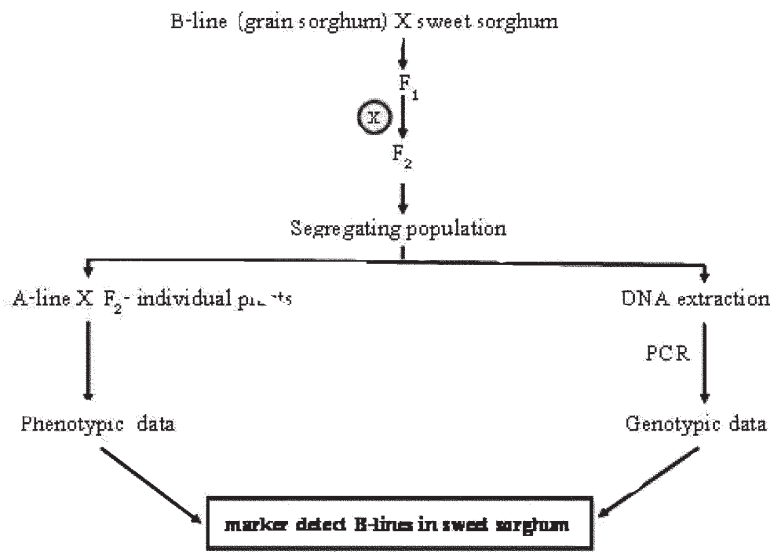

Fig. 2 The schematic on identifying maintainer sweet sorghum lines in segregated population by conventional breeding and molecular marker-aided selection (MAS).

ผลการศึกษา

การจำแนกต้น B-line ที่กระจายตัวในประชากร ข้าวฟ่างหวานชั่วรุ่นที่ 2 โดยใช้วิธีการคัดเลือกพันธุ์แบบมาตรฐาน

การจำแนกข้าวฟ่างหวานสายพันธุ์อนุรักษ์เพศผู้เป็นหมัน (B-lines) โดยการผสมระหว่างสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (Tx2758A) กับต้นที่มีการกระจายตัวในชั่วรุ่นที่ 2 แต่ละต้น หลังจากนั้นนำเมล็ดที่ได้ไปปลูกเพื่อตรวจสอบการเป็นหมันของเกสรตัวผู้โดย ถ้าต้นข้าวฟ่างหวานต้นใดมีเกสรตัวผู้ปกติแสดงว่าต้นพ่อของข้าวฟ่างหวานต้นนั้นไม่ใช่สายพันธุ์ B จะคัดทิ้ง ถ้าต้นข้าวฟ่างหวานต้นใดมีเกสรตัวผู้เป็นหมันแสดงว่าต้นพ่อของข้าวฟ่างหวานต้นนั้นเป็นสายพันธุ์ B และจากการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (Tx2758A) กับสายพันธุ์ลูกผสมชั่วรุ่นที่ 2 จำนวน 100 คู่ผสม และนำลูกผสมมาปลูกในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2550 พบว่า ข้าวฟ่างหวานที่มีเกสรตัวผู้ปกติมีจำนวน 98 ต้น ส่วนข้าวฟ่างหวานที่มีเกสรตัวผู้เป็นหมัน พบว่า มีจำนวน 2 ต้น (Table 1)

การใช้เครื่องหมายโมเลกุล จำแนกต้นสายพันธุ์ B ที่กระจายตัวในประชากรข้าวฟ่างหวานชั่วรุ่นที่ 2

จากการใช้เครื่องหมายโมเลกุล marker LW-7 ซึ่งเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมอยู่กับลักษณะยีนแก้ความเป็นหมัน (fertility restorer gene) ในข้าวฟ่างหวานสายพันธุ์ R ได้ทำการเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่เป็นผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR โดยแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏแถบ 779 bp นั้นเป็นตำแหน่งที่เชื่อมกับลักษณะพันธุกรรมที่มียีนแก้ความเป็นหมันในข้าวฟ่างหวานสายพันธุ์ R ส่วนแถบดีเอ็นเอที่ไม่ปรากฏแถบ 779 bp จะเป็นสายพันธุ์ B (Fig. 3) จากผลการทดลอง พบว่า จำนวนต้นที่ไม่แสดงแถบดีเอ็นเอขนาด 779 bp หรือสายพันธุ์ B มีจำนวน 33 ต้น ในขณะที่จำนวนต้นแสดงแถบขนาด 779 bp หรือสายพันธุ์ R มีจำนวน 67 ต้น (Table 1)

Table 1 Segregation for fertile : sterile in the progenies of B-line X R-line seft pollinated (F_2-lines).

Technique tested	Fertile : sterile ratio		Total	Chi square
	Expected	Observed		
Conventional	75 :25	98 :2	100	28.21*
Non conventional	75:25	67:33	100	3.41^{ns}

* = significant at 0.05 levels, ns = non significant

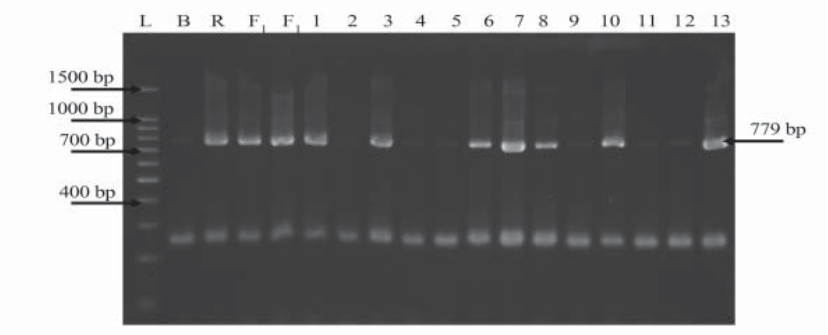

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of DNA fragment obtained from PCR marker LW-7, L : Ladder 100 bp DNA marker, B : Maintianer male sterility, R : Fertility restorer gene, F_1 : F_1-hybrids and 1-13 : F_2-lines individuals.

สรุปและวิจารณ์

การศึกษาวิธีการตรวจสอบต้น B-lines ในประชากรข้าวฟ่างหวานชั่วรุ่นที่ 2 ที่กำลังกระจายตัว โดยวิธีมาตรฐานร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือก โดยการผสมระหว่าง A-lines กับแต่ละต้นในประชากรชั่วรุ่นที่ 2 พบว่า ในรุ่นลูกมีจำนวนต้นที่เป็นหมันโดยมีค่าไคสแควร์เท่ากับ 28.21 และ 3.41 ตามลำดับ (Table 1) จากการตรวจสอบ โดยวิธีมาตรฐานสัดส่วนของจำนวนต้นที่เป็นหมัน : ไม่เป็นหมัน ของข้าวฟ่างหวานไม่เป็นไปตามที่คาดหมาย เมื่อถูกควบคุมด้วยยีนด้อย 1 คู่ (Pring et al. 1999) ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะ A-lines ที่นำมาใช้อาจจะไม่บริสุทธิ์และอาจจะมีลักษณะการเป็นหมันแบบ partial จึงทำให้ต้นที่เป็นหมันเกิดการผสมตัวเองได้บ้าง ทำให้ลักษณะการเป็นหมันที่แสดงออกมาไม่มีความชัดเจน ข้อมูลที่ได้จึงไม่เป็นไปตามที่คาดหมาย ในขณะที่การจำแนกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกนั้นเป็นไปตามที่คาดหมาย แสดงว่าการนำ marker LW-7 ซึ่งเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมอยู่กับยีนแก้ความเป็นหมันในข้าวฟ่างสายพันธุ์ R มาใช้ในการจำแนกต้น B-lines ยังไม่ได้ผล ในขณะที่ Wen et al. (2002) รายงานว่า marker LW-7 สามารถจำแนกต้น B-line ในประชากรข้าวฟ่างเมล็ดควบคู่ไปกับการใช้วิธีมาตรฐานได้ ดังนั้น เทคนิคการใช้ marker LW-7 ที่นำมาใช้ในการจำแนกจำนวนต้นสายพันธุ์ B อาจจะใช้ได้กับข้าวฟ่างเมล็ดเท่านั้น แต่ในกรณีข้าวฟ่างหวานวิธีมาตรฐานน่าจะเป็นวิธีที่ใช้จำแนกต้น B-lines โดยการรอตรวจสอบรุ่นลูกที่เป็นหมันที่ได้จากการผสมข้ามระหว่าง A-lines กับ แต่ละต้นในประชากรรุ่น F_2 ด้วยสายตาจะเหมาะสมกว่า แต่ต้องรอให้รุ่นลูกที่ได้จากการผสมข้ามระหว่าง A-lines กับแต่ละต้นในประชากรรุ่น F_2 อยู่ในระยะดอกบานก่อน จึงจะสามารถจำแนกต้นที่เป็นหมันเพื่อสืบย้อนกลับไปยังต้น B-lines และนำ B-lines ไปผสมกลับเพื่อพัฒนาให้เป็นข้าวฟ่างหวานต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และมูลนิธิการศึกษาเชล 100 ปี ที่ได้สนับสนุนทุนอุดหนุนและส่งเสริมการเรียนและการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ธำรงศิลป โพธิสูง. 2531. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่าง. เอกสารวิชาการฉบับพิเศษ ลำดับที่ 4 โครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 75 หน้า.

ประสิทธิ์ ใจศิล. 2548. “ข้าวฟ่างหวาน : พืชพลังงานทดแทนที่มีศักยภาพ”. หน้า 62-94. ในรายงานสัมมนาเรื่องพืชพลังงานทดแทนที่มีศักยภาพ ณ ห้องประชุมกวี จุติกุล อาคาร AG 08 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น, 12-13 พฤษภาคม 2548.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2541. สถิติเพื่อการวิจัยและวางแผนทดลอง. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สุภาภรณ์ ไกรวิมล. 2549. การศึกษาสมรรถนะการรวมตัวของข้าวฟ่างหวาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Ayyangar, G.N.R. and B.W.X. Ponnaiya. 1936. The occurrence and inheritance of earhead with empty anther sacs in sorghum, pp. 390-395.

Dellaporta, S.L., J. Wood and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA minipreparation: version II. Plant Molecular Biology Reporter. Available from http://www.springerlink.com/index/G7V73820733J67M4.pdf on March 23, 2006.

Pring D.R., H.V. Tang, W. Chen, W. Howad and F. Kempken. 1999. Aunique two-gene gametophytic male sterility system in sorghum involving a possible role of RNA editing in fertility restoration. J. Heredity. 90:386 - 393.

Stephens, J.C. 1937. Male sterility in sorghum : It's possible utilization in production of hybrid seed. J. Amer. Soc. Agron. 29 : 690-696.

Wen L., H.V Tang, W. Chen, R. Chang, D.R. Pring, P.E. Klein, K.L. Childs and R.R. Klein. 2002. Development and mapping of AFLP markers linked to the sorghum fertility restorer gene rf4. Theor. Appl. Genet. 104:577 - 585.