KHON KAEN AGR. J. 48 (3): 535-546 (2020)./doi:10.14456/kaj.2020.49.

การประเมินประชากรลูกผสมระหว่างข้าวไร่พันธุ์ก่ำหอม มช. กับข้าวพันธุ์ไม่ไวต่อช่วงแสง

Evaluation of progeny population between upland rice KumHomMorChor and photoperiod insensitive rice varieties

เทวา ขอดเรือนแก้ว,[1] ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย,[1,2] ต่อนภา ผุสดี[1,2] และ ศันสนีย์ จำจด[1,2*]

Tewa Khodruankeaw,[1] Chanakan Thebault Prom-u-thai,[1,2] Tonapha Pusadee[1,2] and Sansanee Jamjod[1,2*]

บทคัดย่อ: ข้าวเป็นพืชอาหารที่สำคัญแต่มีปริมาณธาตุเหล็กที่มีความจำเป็นต่อร่างกายน้อยกว่าธัญพืชชนิดอื่นๆ การพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีปริมาณธาตุเหล็กสูงจึงมีความสำคัญเพื่อแก้ปัญหาการขาดธาตุเหล็กสำหรับผู้ที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลักข้าวพันธุ์ก่ำหอม มช. เป็นข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองที่มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง เป็นข้าวเหนียวถูกจัดอยู่ในกลุ่ม tropical japonica ที่มีผลผลิตต่ำและตอบสนองต่อช่วงแสงทำให้สามารถปลูกได้เพียงปีละครั้งการนำข้าวพันธุ์ก่ำหอม มช. มาใช้ประโยชน์จึงจำเป็นต้องมีการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตแต่คงไว้ด้วยปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงดังนั้น การทดลองนี้จึงผสมพันธุ์ระหว่างข้าวก่ำหอม มช. กับข้าวนาสวนไม่ไวต่อช่วงแสงพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยมีจุดประสงค์เพื่อประเมินความเข้ากันได้ทางพันธุกรรม ประเมินลักษณะทางพืชไร่ ลักษณะเมล็ดและปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดของลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์ และคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง มีผลผลิตและมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง ผลการศึกษาพบว่าข้าวพันธุ์ก่ำหอม มช. สามารถผสมกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ได้และให้ลูกผสมที่เป็นปกติ ลูกผสมชั่วแรกออกดอกในฤดูนาปรังแสดงว่าได้รับการถ่ายทอดลักษณะไม่ไวแสงมาจากพันธุ์ปทุมธานี 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวกว้างในทุกลักษณะที่ศึกษา โดยเฉพาะลักษณะผลผลิตและปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดที่มีการกระจายตัวเหนือขอบเขตพ่อแม่ นอกจากนี้ยังพบการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ด และชนิดแป้งในเมล็ดมีทั้งแบบข้าวเจ้าและข้าวเหนียว ทำให้สามารถคัดเลือกต้นที่มีผลผลิตและปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง และมีชนิดแป้งต่างกันได้จำนวน 8 ต้น ลูกผสมเหล่านี้มีผลผลิตมากกว่าพันธุ์ก่ำหอม มช.3-5 เท่า และมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์ปทุมธานี 1 37-95% ซึ่งสายพันธุ์ที่คัดเลือกจากการทดลองนี้จะเป็นแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวใหม่ที่ไม่ตอบสนองต่อช่วงแสง มีผลผลิตและปริมาณธาตุเหล็กสูงได้ในอนาคต

คำสำคัญ: ข้าวเหล็กสูง,ข้าวพันธุ์ก่ำหอม มช., พันธุ์พื้นเมือง, การคัดเลือก

ABSTRACT: Rice is a major cereal crop which is widely consumed among the world population but it contains very low grain iron (Fe) concentration benefits for human health compared with the other cereal crops. Development of rice variety with high grain-Fe concentration is necessary to prevent Fe deficiency for people who consume rice as the staple food.Kum Hom CMU (KH-CMU) is a local rice variety from Thailand having high grain-Fe concentration and categorized in the japonica group with low yielding ability and sensitive to photoperiod which can be cultivated only once a year.

received June 30, 2019

Accepted November 20, 2019

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1]Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

[2] ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[2] Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

* Corresponding author: sansanee.cm@gmail.com

Therefore, the improvement of KH-CMU for high yielding ability with high grain Fe concentration are needed to meet the requirements of farmers as well as consumers. In this study, the variety KH-CMU was crossed with an improve-lowland rice variety, Pathumtani 1 (PTT1) to determine the genetic compatibility between KH-CMU and PTT1, evaluate agronomical characters and variation in grain-Fe concentration in progenies derived from the cross, and select plants with photoperiod insensitive, high yield and grain Fe concentration. The results showed that KH-CMU could crossed with PTT1 and produced the normal hybrids. The F1 hybrids flowered in dry season similar to PTT1 parent, indicated the photoperiod insensitive. The F2 population showed transgressive segregation in all agronomical characters, especially in grain yield and Fe concentration. Moreover, variation in seed coat color and starch types (glutinous and non-glutinous) were found in F2 population, which can be selected for high yield and grain Fe concentration for both the endosperm types. The total of 8 plants were selected from F2 population which showed 3-5 times higher yield than KH-CMU, and exhibited 37-95% higher grain-Fe concentration than PTT1. These selected plants are important genetic resources for the development of new rice variety with high yielding ability and grain-Fe concentration which can be grown several times a year.

Keywords: high Fe rice variety, KumHom CMU, local rice variety, selection

บทนำ

ข้าวเป็นพืชอาหารหลักที่ประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของโลกบริโภคกันเป็นอาหารหลัก โดยเฉพาะในทวีปเอเชียที่มีการบริโภคมากกว่า 300 ล้านตันต่อปี อย่างไรก็ตามกลับพบว่าปริมาณวิตามินและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายที่พบในข้าวมีน้อยมากเมื่อเทียบกับธัญพืชชนิดอื่น โดยเฉพาะธาตุเหล็ก (Graham et al. 2001) การขาดธาตุเหล็กเป็นสาเหตุสำคัญของการป่วยเป็นโรคโลหิตจาง จากรายงานของ World Health Organization (2015) พบว่ามีประชากรกว่าสองพันล้านคนทั่วโลกที่ป่วยเป็นโรคโลหิตจาง ซึ่งร้อยละ 90 ของประชากรเหล่านี้อาศัยอยู่ในประเทศกำลังพัฒนาและบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ดังนั้น การบริโภคข้าวที่มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถแก้ไขปัญหาการขาดธาตุเหล็กได้

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าวสูง มีข้าวพื้นเมืองหลากหลายสายพันธุ์ที่มีลักษณะดีและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง จากการศึกษาของProm-u-thai (2003) พบความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทยและพบพันธุ์ข้าวไร่ที่มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง จากนั้นได้พัฒนาสายพันธุ์ด้วยวิธี Pure line selection จนได้ข้าวสายพันธุ์ “กำหอม มช.” ที่มีความหอมและปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง อย่างไรก็ตามข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวเป็นพันธุ์ข้าวไร่ที่มีผลผลิตต่ำ มีผลผลิตเฉลี่ยเพียง 300 กิโลกรัมต่อไร่ (วรรณภา, 2559) และตอบสนองต่อช่วงแสง ทำให้สามารถปลูกได้เพียงปีละครั้งเท่านั้น ดังนั้น การนำข้าวพันธุ์กำหอม มช. มาใช้ประโยชน์จึงควรปรับปรุงพันธุ์ให้ไม่ตอบสนองต่อช่วงแสง ซึ่งจะทำให้สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี โดยการปรับปรุงให้มีผลผลิตสูงขึ้นนั้นยังคงไว้ด้วยปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงเพื่อเป็นการเพิ่มประโยชน์ทางโภชนาการและมูลค่าของผลผลิต

เพื่อจุดประสงค์ดังกล่าว ได้มีการศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของลักษณะปริมาณธาตุเหล็กสูงในพันธุ์ข้าวกำหอม มช. และปรับปรุงพันธุ์โดยผสมพันธุ์กับข้าวพันธุ์สมัยใหม่คือ ชัยนาท 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ไม่ไวแสงและผลผลิตสูง (เพ็ญนภา, 2550) ผลการศึกษาพบว่า ลักษณะปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องมีการแสดงออกของยีนแบบข่มสมบูรณ์ (complete dominant) แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดทำได้เพียงลูกผสมชั่วแรกเท่านั้น เนื่องจากลูกผสมชั่วที่ 2 เป็นหมันทั้งหมด นอกจากนี้ การศึกษาทางด้าน DNA พบว่า พันธุกรรมของข้าวกำหอม มช. ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของข้าว japonica (Fongfon et al.,2018) ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว การผสมพันธุ์ระหว่างพ่อแม่ที่มีพันธุกรรมต่างกันมาก เช่น การผสมระหว่างข้าว indica และ japonica จะทำให้เกิดความเข้ากันไม่ได้ทางพันธุกรรม (genetic incompatibility) และมักทำให้ลูกผสมเป็นหมัน (Oka, 1974)

เพื่อเป็นการนำมาใช้ประโยชน์และแก้ปัญหาดังกล่าว การศึกษาครั้งนี้จึงได้เปลี่ยนพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ที่ใช้ศึกษาเป็นพันธุ์ปทุมธานี 1 เนื่องจากเป็นพันธุ์

ข้าวปรับปรุงสมัยใหม่ที่มีคุณภาพการบริโภคสูงไม่ไวต่อช่วงแสง ให้ผลผลิตสูง และมีรายงานว่าสามารถใช้เป็นพันธุ์พ่อแม่ในการถ่ายทอดลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสงได้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียวดำ (พีรนันท์ และคณะ 2557, ธรรมนูญ และคณะ 2559, พิทวัส และคณะ 2560) โดยมีจุดประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อ 1) ประเมินความเข้ากันได้ทางพันธุกรรมระหว่างข้าวไร่พันธุ์ก่ำหอม มช. กับและพันธุ์ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสงพันธุ์ปทุมธานี 1 2) ประเมินลักษณะทางพืชไร่ และคุณภาพพิเศษในเมล็ด ของลูกผสมชั่วที่ 1 และชั่วที่ 2 ที่ได้จากการผสมระหว่างข้าวพันธุ์ก่ำหอม มช. และพันธุ์ปทุมธานี 1 และ 3) คัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง มีความสามารถในการให้ผลผลิตสูง และมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง จากประชากรชั่วที่ 2 ที่ได้จากการผสมระหว่างข้าวพันธุ์ดังกล่าวเพื่อพัฒนาเป็นข้าวคุณภาพพิเศษสายพันธุ์ใหม่ต่อไป

วิธีการศึกษา

พันธุกรรม

ใช้ข้าวพันธุ์ก่ำหอม มช. (KH-CMU) เป็นข้าวเหนียวมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำคัดเลือกมาจากข้าวไร่พื้นเมือง มีธาตุเหล็กในเมล็ดสูงเป็นพันธุ์แม่ และใช้ข้าวเจ้าพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่พันธุ์ปทุมธานี 1 (PTT1) เป็นข้าวหอมชนิดไม่ไวต่อช่วงแสง และให้ผลผลิตสูงแต่มีธาตุเหล็กในเมล็ดต่ำเป็นพันธุ์พ่อ

การดูแลรักษา

ทุกงานทดลองในการศึกษานี้ เพาะเมล็ดข้าวใน petri dish บนกระดาษเพาะเมล็ดชุ่มน้ำ หลังจากนั้นย้ายปลูกในกระถางพลาสติกบรรจุดิน ในสภาพนาสวน (ระดับน้ำ 3-5 เซนติเมตร เหนือผิวดินจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต) ตลอดการทดลองให้ปุ๋ย 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 หลังปลูก 30 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ และครั้งที่ 2 หลังปลูก 60 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ในอัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่

การสร้างลูกผสม

ปลูกพันธุ์พ่อแม่ในกระถาง พันธุ์ละ 5 กระถาง กระถางละ 5 ต้น ปลูก 1 ต้นต่อหลุม จัดช่วงระยะห่างของเวลาในการปลูกทุกๆ 10 วัน ทั้งหมด 5 ครั้ง (planting date) เพื่อให้ข้าวพันธุ์พ่อแม่มีระยะออกดอกใกล้เคียงกันและมีละอองเรณูเพียงพอสำหรับการผสมพันธุ์เมื่อถึงระยะออกดอก กำจัดเกสรตัวผู้รวงของต้นแม่ตามวิธีของ Sha (2013) โดยแต่ละรวงตัดดอกทิ้งเหลือไว้รวงละ 15 ดอก ผสมพันธุ์โดยนำอับละอองเรณูจากต้นพ่อมาผสมเกสร โดย 1 ละอองเรณูจะผสมดอกของต้นแม่ 3 ดอก หลังจากผสมเกสร 25 วัน นับจำนวนเมล็ดที่ติดในแต่ละรวงเพื่อประเมินความสามารถในการเข้ากันได้ทางพันธุกรรมและเก็บเกี่ยวเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การประเมินลูกผสมชั่วที่ 1

ทดลองในฤดูนาปรัง ระหว่างเดือนมกราคม – พฤษภาคม 2559 โดยปลูกลูกผสมชั่วที่ 1 และพันธุ์พ่อแม่ในกระถางพลาสติกบรรจุดินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร กระถางละ 5 ต้น บันทึกลักษณะของลูกผสมชั่วที่ 1 และพันธุ์พ่อแม่ในระยะต่างๆ เช่น วันออกดอก ความสูง จำนวนหน่อ จำนวนรวง เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด และผลผลิตต่อต้น ในระยะออกดอก ใช้ถุงไข (glassine bag) คลุมรวงของต้นลูกผสมชั่วที่ 1 เพื่อให้ผสมตัวเอง และเก็บเกี่ยวเมล็ด เพื่อนำไปปลูกประเมินในชั่วที่ 2 ต่อไป

การประเมินลูกผสมชั่วที่ 2

ปลูกประเมินประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ในฤดูนาปี ระหว่างเดือนสิงหาคม – ธันวาคม 2559 โดยเพาะเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 115 ต้น และพันธุ์พ่อแม่ ก่อนย้ายปลูกลงในกระถางพลาสติกบรรจุดินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร กระถางละ 1 ต้น จดบันทึกวันออกดอก ความสูงที่ระยะเก็บเกี่ยว ความยาวรวง จำนวนช่อดอกต่อรวงเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด และผลผลิตต่อต้นของลูกผสมชั่วที่ 2 แต่ละต้นและพันธุ์พ่อแม่ สำหรับลักษณะทางคุณภาพเมล็ด สุ่มเมล็ดจากต้นลูกผสมชั่วที่ 2 แต่ละต้นและพันธุ์พ่อแม่จำนวน 10 เมล็ด เพื่อบันทึกสีเยื่อหุ้มเมล็ดและทดสอบชนิดของแป้งในเมล็ดด้วยวิธี Iodine test (Chang and Bardenas, 1965) และสุ่มตัวอย่างเมล็ดอีกต้นละ 1 กรัม เพื่อตรวจวัดปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดของลูกผสมชั่วที่ 2 และพันธุ์พ่อแม่ ด้วยวิธี dry-ashing จากนั้นอ่านค่าปริมาณธาตุเหล็กด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometry ณ ห้องปฏิบัติการธาตุอาหารพืช (CMUPNlab) ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และคำนวณค่าปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดตามวิธีของ Delhaiza et al. (1984) ดังสูตร

Fe (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) =x Absorbance (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

โดยที่ 10 = ปริมาตรของสารละลายในแต่ละหลอดทดลอง (มิลลิลิตร)

Wt= น้ำหนักของตัวอย่างเมล็ดข้าวในแต่ละ crucible (กรัม)

Absorbance = ค่าการดูดซับอะตอมของธาตุเหล็กที่อ่านได้จาก Atomic AbsorbtionSpetrophotometry, AA (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลค่าเฉลี่ย ช่วงของการกระจายตัว และหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่ศึกษาด้วยวิธี Pearson correlation analysisเปรียบเทียบสัดส่วนการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดและชนิดแป้งในเมล็ดในประชากรชั่วที่ 2 กับสัดส่วนของการควบคุมด้วยยีน 1 และ 2 คู่ด้วยวิธี Chi-square test ความแตกต่างของลักษณะที่ศึกษาระหว่างลูกผสมชั่วที่ 1 และชั่วที่ 2 กับพันธุ์พ่อแม่ แบ่งแยกโดยใช้ค่า Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ STATISTIX8

ผลการศึกษา

ความสามารถในการเข้ากันได้ทางพันธุกรรมและลักษณะทางพืชไร่ของลูกผสมชั่วที่ 1

สามารถผสมข้ามระหว่างพันธุ์ก่ำหอม มช. (พันธุ์แม่) และปทุมธานี 1 (พันธุ์พ่อ) โดยมีการผสมติดระหว่าง 60-100% **(Table 1)** ลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้เจริญเติบโตเป็นปกติและสามารถผลิตเมล็ดสำหรับศึกษาการกระจายตัวของลักษณะต่างๆ ในชั่วที่ 2 ได้ เนื่องจากข้าวพันธุ์ก่ำหอม มช. เป็นข้าวที่ตอบสนองต่อช่วงแสง จึงไม่ออกดอกในฤดูนาปรัง อย่างไรก็ตาม ลูกผสมชั่วที่ 1 ออกดอกในฤดูนาปรังเหมือนกับพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 โดยมีอายุออกดอกที่ 88 วันหลังเพาะเมล็ด ในลักษณะความสูง พันธุ์พ่อแม่มีความสูงเท่ากับ 67 และ 83 เซนติเมตร ส่วนลูกผสมชั่วที่ 1 มีความสูงอยู่ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ ข้าวพันธุ์ก่ำหอม มช. แตกกอโดยเฉลี่ยเพียง 4 หน่อ/ต้นลูกผสมชั่วที่ 1 แตกกอมากกว่าพันธุ์แม่ มีจำนวนหน่อต่อกอโดยเฉลี่ยเท่ากับ 13 หน่อ/ต้น สำหรับผลผลิต ข้าวพันธุ์ก่ำหอม มช. ไม่ออกดอกจึงไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดและผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 87.4% และ13.9 กรัม/ต้น ตามลำดับ ส่วนลูกผสมชั่วที่ 1 ติดเมล็ดน้อย มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดและผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 19.2% และ 3.8 กรัม/ต้น ตามลำดับ **(Table 2)**

Table 1 Fertilization percentage of the cross between KH-CMU and PTT1.

Parent		Panicle	Number of pollinated spikelet	Number of fertilized spikelet	Fertilization percentage
Female	Male	number			
KH-CMU	PTT1	1	15	15	100
KH-CMU	PTT1	2	15	15	100
KH-CMU	PTT1	3	15	15	100
KH-CMU	PTT1	4	15	14	93.3
KH-CMU	PTT1	5	15	10	66.7
KH-CMU	PTT1	6	15	9	60

Table 2 Agronomic characters ofF1 hybrid compare to the parents, KH-CMU and PTT1.

Character	Female parent (KH-CMU)	Male parent (PTT1)	F_1 hybrid
Days to flowering	Not flowering[1]	112 a[2]	88 b
Plant height (cm)	83 a	67 c	77 b
Tillers per plant	4 c	17 a	13 b
Seed setting (%)	Not flowering	87.4 a	19.2 b
Grain yield per plant (g)	Not flowering	13.9 a	3.8 b

[1]Female parent is not flowering in dry season.

[2] Mean values followed by the same lowercase letters within each character are not significantly different at P<0.05 by LSD.

การกระจายตัวของลักษณะทางพืชไร่ของลูกผสมชั่วที่ 2

อายุออกดอก

ข้าวพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ปทุมธานี 1 มีจำนวนวันออกดอกเท่ากับ 83 และ 117 วัน หลังเพาะเมล็ด ตามลำดับ ประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีอายุออกดอกโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 93 วัน หลังเพาะเมล็ด โดยมีการกระจายตัวของวันออกดอกกว้างตั้งแต่ 77-117 วัน (Figure 1A)

ความสูง

ข้าวพันธุ์กำหอมมช. มีความสูงมากกว่าพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 ประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของลักษณะความสูงเหนือขอบเขตของพันธุ์พ่อแม่ โดยมีความสูงกระจายตัวตั้งแต่ 48 เซนติเมตร ไปจนถึง 135 เซนติเมตร (Figure 1B)

ความยาวรวง

ประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีค่าเฉลี่ยความยาวรวงเท่ากับ 26.5 เซนติเมตร โดยมีการกระจายตัวของความยาวรวงตั้งแต่ 17-35 เซนติเมตร ในขณะที่ความยาวรวงของพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ปทุมธานี 1 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 24 และ 28 เซนติเมตร ตามลำดับ (Figure 1C)

จำนวนช่อดอกต่อรวง

ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 มีจำนวนช่อดอก 177 ดอกต่อรวง มากกว่าพันธุ์กำหอม มช. ที่มีจำนวนช่อดอกเฉลี่ย 118 ดอกต่อรวง ประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของจำนวนช่อดอกต่อรวงนอกเหนือขอบเขตของพ่อแม่เช่นเดียวกับลักษณะความสูงและความยาวรวง โดยพบจำนวนช่อดอกน้อยที่สุด 41 ดอกต่อรวง และมากที่สุดจำนวน 343 ดอกต่อรวง (Figure 1D)

เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี

ข้าวพันธุ์พ่อแม่มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีใกล้เคียงกันอยู่ที่ 88% และ 82% ตามลำดับ ในขณะที่ประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีอยู่ระหว่าง 6 – 95% โดยประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ส่วนใหญ่มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดน้อยกว่าพันธุ์พ่อแม่ (Figure 1E)

ผลผลิตต่อต้น

ข้าวพันธุ์พ่อแม่ให้ผลผลิตต่อต้นต่างกันมาก ข้าวพันธุ์กำหอม มช. มีผลผลิตต่อต้นโดยเฉลี่ยเพียง 3.1 กรัม/ต้น ส่วนพันธุ์ปทุมธานี 1 ให้ผลผลิตสูงกว่ามีผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 16.3 กรัม/ต้น ผลผลิตโดยเฉลี่ยของประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีค่าเท่ากับ 6.6 กรัม/ต้น และพบการกระจายตัวนอกเหนือขอบเขตของพ่อแม่ โดยที่ต้นที่มีผลผลิตน้อยที่สุดมีผลผลิตเท่ากับ 0.8 กรัม/ต้น และต้นที่มีผลผลิตมากที่สุดให้ผลผลิตเท่ากับ 18.2 กรัม/ต้น (Figure 1F)

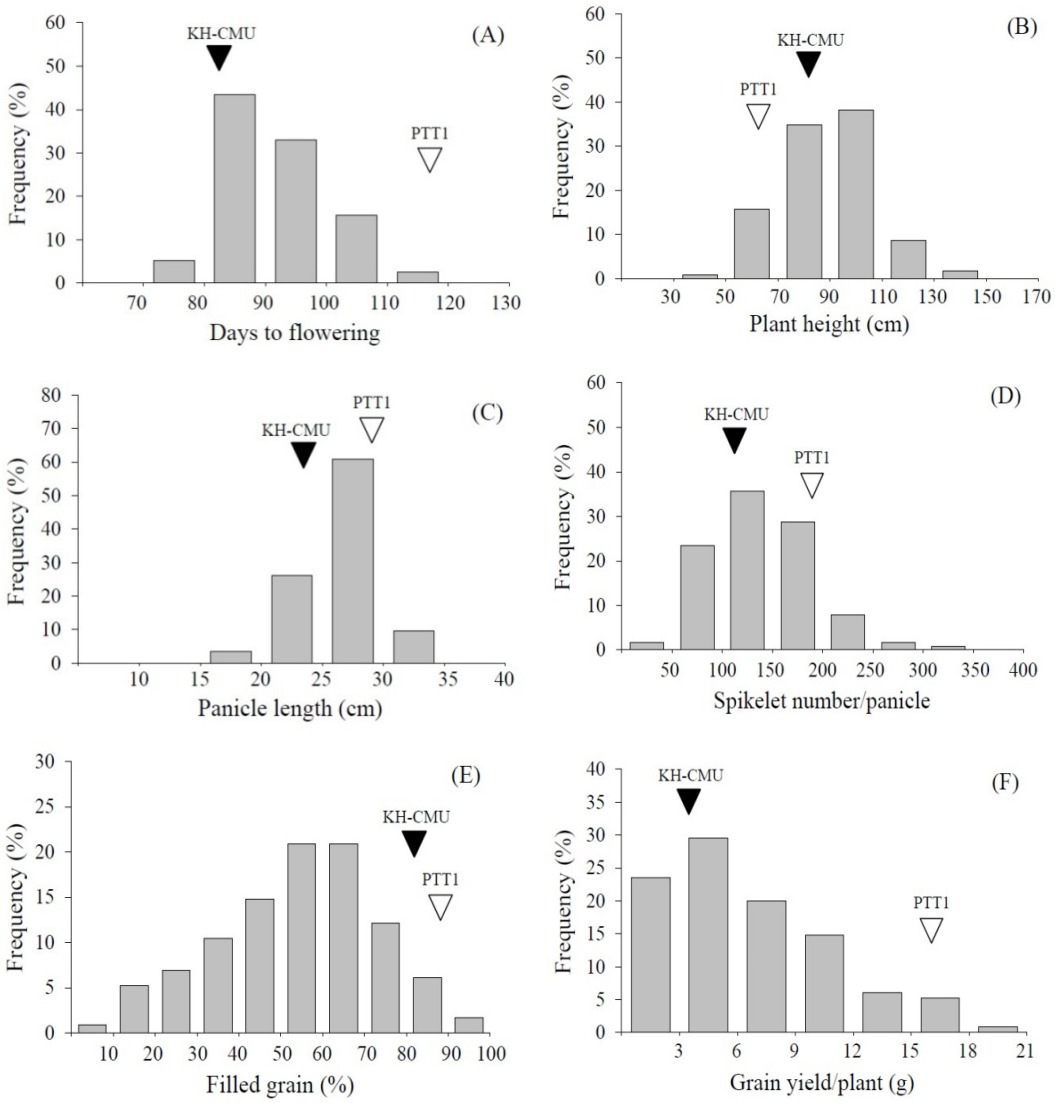

Figure 1 Distribution frequency of days to flowering (A), plant height (B), panicle length (C), spikelet number/panicle (D), percent filled grain (E), and grain yield/plant (F) of F2 population. The black inverted-triangles indicate mean values of female parent (KH-CMU), while the white inverted-triangles indicate mean values of male parent (PTT1) in a given trait.

การกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ด ชนิดแป้งและปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดในลูกผสมชั่วที่ 2

พันธุ์ก่ำหอม มช. เป็นข้าวเหนียวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง ส่วนพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 เป็นข้าวเจ้าและมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว ลูกผสมชั่วที่ 2 กระจายตัวให้เยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงและสีขาวในสัดส่วน 79 ต่อ 36 ต้น สอดคล้องกับการควบคุมด้วยยีน 2 คู่ที่สัดส่วน 12:4 สำหรับลักษณะชนิดแป้ง ลูกผสมกระจายตัวเป็นชนิดข้าวเหนียว ชนิดผสมและชนิดข้าวเจ้า แตกต่างจากสัดส่วนของการควบคุมโดยยีนหนึ่งคู่ โดยกระจายตัวให้ข้าวเหนียวน้อยกว่าค่าคาดหมาย (Table 3)

สำหรับปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ด ข้าวพันธุ์ก่ำหอม มช. มีค่าเฉลี่ยปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดเท่ากับ 14.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สูงกว่าข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่พบปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดเท่ากับ 7.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ส่วนประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวกว้างและพบการกระจายตัวนอกเหนือขอบเขตค่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อแม่เช่นเดียวกับลักษณะทางพืชไร่ โดยมีการกระจายตัวของปริมาณธาตุเหล็กตั้งแต่ 2.7-17.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Figure 2)

Table 3 Variation of seed coat color and endosperm type in F2 population derived from a cross between KH-CMU and PTT1.

Endosperm type	Seed coat color		Total	Expected ratio (1:2:1)	*P* Chi-square
	Purple	White			
Glutinous	15	3	18	28.75	*
Non- glutinous	45	21	66	28.75	
Mix types	19	12	31	57.5	
Total	79	36	115		
Expected ratio (9:7)	64.7	50.3			*
Expected ratio (12:4)	86.25	28.75			ns

* indicated the difference between the observed data and expected ratio at $P<0.05$, while ns is not different.

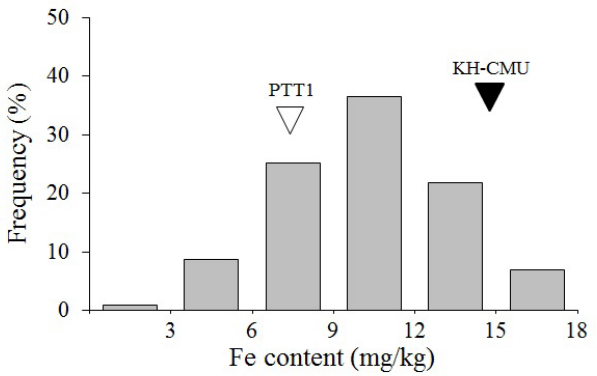

Figure 2 Distribution of grain-Fe content in F2 population and the parents.

ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ด

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดและผลผลิตต่อต้นในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 แสดงให้เห็นว่าทั้ง 2 ลักษณะนี้มีความสัมพันธ์แบบผกผันกัน ($r = -0.31^*$, $P<0.05$) ต้นที่มีผลผลิตสูงส่วนใหญ่จะมีชนิดแป้งแบบข้าวเจ้า ในขณะที่ต้นที่มีชนิดแป้งข้าวเหนียวจะมีผลผลิตต่ำกว่า แต่มีค่าเฉลี่ยปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงกว่า (Figure 3) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดและผลผลิตของประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ศึกษาในการทดลองนี้มีการกระจายตัวกว้างและมี transgressive segregation ทำให้สามารถคัดเลือกต้นที่มีผลผลิตสูง มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงและมีชนิดแป้งที่แตกต่างกันได้จำนวน 8 ต้น โดยต้นที่คัดเลือกมีผลผลิตต่อต้นอยู่ระหว่าง 11.1-18.2 กรัม/ต้น สูงกว่าผลผลิตของพันธุ์แม่กำหอม มช.3-5 เท่า ส่วนปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดของต้นลูกผสมที่คัดเลือกนั้นมีค่าอยู่ระหว่าง 10.0-14.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สูงกว่าปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดที่พบในพันธุ์ปทุมธานี 137-95% (Table 4)

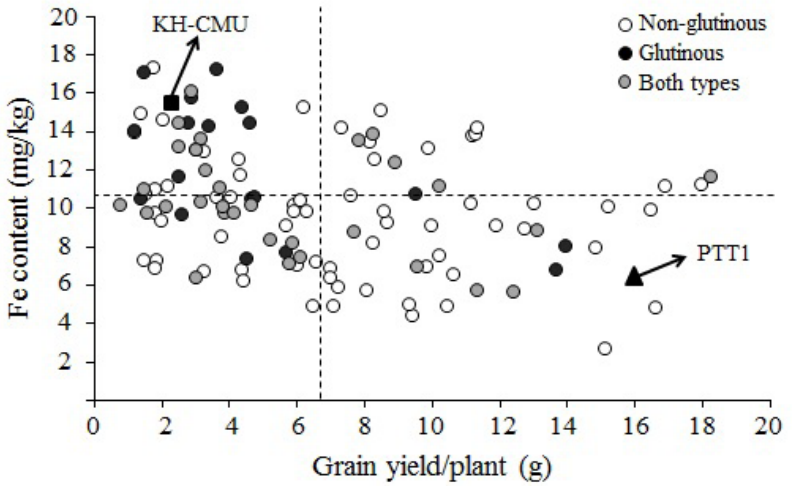

Figure 3 Distribution of F2 population according to grain yield and Fe content. F2 plant that has non-glutinous grain type, glutinous grain type or both types, were presented by the white, black and gray circles, respectively, while dot lines indicated mean values of grain yield and Fe content of F2 population.

Table 4 Grain yield and Fe content of the selected-F2 plants compare to KH-CMU and PTT1.

Selected number	Starch type	Fe content (mg/kg)	Grain yield (g/plant)	Fe content		Grain yield	
				% of KH-CMU	% of PTT1	% of KH-CMU	% of PTT1
1	Non-glutinous	11.3	17.9	76	155	577	110
2	Non-glutinous	11.2	16.8	75	153	542	103
3	Non-glutinous	10.0	16.5	67	137	532	101
4	Non-glutinous	14.2	11.3	95	195	365	69
5	Non-glutinous	13.9	11.2	93	190	361	69
6	Non-glutinous	10.3	11.1	69	141	358	68
7	Glutinous	10.8	13.9	73	148	448	85
8	Both types	11.7	18.2	69	160	587	112
KH-CMU	Glutinous	14.9	3.1	100	204	100	19
PTT1	Non-glutinous	7.3	16.3	49	100	525	100

วิจารณ์

การสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรมเป็นพื้นฐานสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์พืช เนื่องจากทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมและสามารถคัดเลือกพืชที่ลักษณะที่ดีตามความต้องการหรือดีกว่าพันธุ์ที่มีอยู่เดิมได้ การผสมข้ามระหว่างพันธุ์หรือสายพันธุ์นั้นสามารถทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมในรุ่นลูกได้ หากพันธุ์พ่อแม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมมาก โอกาสที่จะเกิดความหลากหลายในรุ่นลูกก็มีมากเช่นกัน (Liu et al.2015) อย่างไรก็ตาม การผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ที่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมมากๆ นั้น มักจะเกิดปัญหาในลูกผสม โดยเฉพาะการผสมพันธุ์ข้ามชนิดหรือต่าง ecotype ซึ่งมักจะพบการกีดขวางทางพันธุกรรมตั้งแต่ผสมไม่ติด ลูกผสมอ่อนแอ ไปจนถึงลูกผสมเป็นหมัน อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้เป็นการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวไร่พันธุ์ก่ำหอม มช.ซึ่งเป็นข้าวที่จัดอยู่ในชนิด japonica (Fongfon et al. 2018) กับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งเป็นข้าวชนิด indica พบว่าสามารถผสมติดและได้ลูกผสมงอกและมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ ลูกผสมส่วนใหญ่ติดเมล็ดน้อยแต่สามารถผลิตเมล็ดในชั่วที่ 2 ซึ่งกระจายตัวสำหรับการคัดเลือกได้ตรงกันข้ามเพ็ญนภา (2550) ใช้ข้าวก่ำหอม มช. เช่นเดียวกันผสมกับข้าว indica พันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดน้อยมาก และลูกผสมชั่วที่ 2 ไม่ติดเมล็ดเนื่องจากเป็นหมันทั้งหมด นอกจากนี้ปุริม และคณะ (2559) ได้ทดลองผสมพันธุ์ระหว่างข้าว japonica พันธุ์ DOA2 กับข้าว indica พันธุ์สุพรรณบุรี 1 และพบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 ไม่สามารถผลิตเมล็ดได้เนื่องจากเป็นหมัน จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า มีความแตกต่างในความเข้ากันได้ทางพันธุกรรม (genetic compatibility) ระหว่างข้าว japonica พันธุ์ก่ำหอม มช. กับข้าว indica พันธุ์ชัยนาท 1 พันธุ์สุพรรณบุรี 1 และพันธุ์ปทุมธานี 1 ดังนั้นการจะนำพันธุ์ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมมากมาใช้ประโยชน์ ควรจะต้องมีการทดสอบความเข้ากันได้ทางพันธุกรรมของพันธุ์พ่อแม่ก่อนที่จะดำเนินการวางแผนขั้นต่อไปในโครงการปรับปรุงพันธุ์

ลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง เป็นอีกลักษณะหนึ่งที่

มีความสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มผลผลิต เพราะทำให้สามารถปลูกข้าวได้มากกว่าหนึ่งครั้งต่อปี ในการศึกษาครั้งนี้ ลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ปลูกทดสอบในฤดูนาปรังออกดอกเป็นปกติเหมือนกับพันธุ์พ่อแสดงให้เห็นว่าลูกผสมได้รับถ่ายทอดลักษณะไม่ไวแสงจากพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 ในชั่วที่ 2 ลูกผสมแสดงการกระจายตัวอย่างต่อเนื่องในทุกลักษณะที่ศึกษา โดยเฉพาะลักษณะทางผลผลิตและปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดที่มีการกระจายตัวเหนือค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ (transgressive segregation) สันนิษฐานว่าเกิดจากการรวมตัวของอัลลีลที่ต่างกันของพันธุ์พ่อแม่ และมีการแสดงออกของยีนแบบบวกสะสม (additive) เมื่อรวมกันจึงทำให้ลูกผสมแสดงบางลักษณะที่แตกต่างออกไป หรือมีการแสดงออกของยีนเหนือกว่าพันธุ์พ่อแม่ ซึ่งมักพบได้ในลูกผสมที่ได้จากการผสมระหว่างพันธุ์พ่อแม่ที่พันธุกรรมต่างกัน (Nolte and Sheets, 2005)

ผลการศึกษาสีเยื่อหุ้มเมล็ดในลูกผสมชั่วที่ 2 แสดงให้เห็นว่าลักษณะนี้ถูกควบคุมด้วยยีนจำนวน 2 คู่ ที่มีปฏิกิริยาร่วมระหว่างยีนที่อยู่คนละตำแหน่ง (epistasis) (Miko, 2008) สอดคล้องกับผลการทดลองของพิทวัส และคณะ (2560) ที่ศึกษาสีเยื่อหุ้มเมล็ดในลูกผสมระหว่างข้าวเหนียวดำกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และพบว่าสีเยื่อหุ้มเมล็ดถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่และมีการแสดงออกแบบ epistasis เช่นกัน สำหรับลักษณะชนิดแป้งในเมล็ดข้าว หลายการศึกษารายงานว่าลักษณะนี้ถูกควบคุมด้วยยีนเพียง 1 ตำแหน่ง (McKenzie and Rutger, 1983; Yan et al. 2011) ในการทดลองนี้ ใช้ข้าวพันธุ์กำหอม มช. ที่เป็นข้าวเหนียว ผสมกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่เป็นข้าวเจ้า โดยลูกผสมชั่วที่ 2 แสดงการกระจายตัวของชนิดแป้งแตกต่างไปจากสัดส่วนของการควบคุมโดยยีน 1 คู่ โดยมีอัตราส่วนของข้าวเหนียวน้อยกว่าปกติ เนื่องจากมีการกระจายตัวในสัดส่วนผิดปกติ หากจะคัดเลือกเพื่อลักษณะข้าวเหนียวจะต้องเพิ่มขนาดประชากรให้มากกว่าปกติด้วย

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดและผลผลิตต่อต้นแสดงให้เห็นว่าทั้ง 2 ลักษณะนี้แปรผกผันกัน ความสัมพันธ์นี้อาจเกิดขึ้นเพราะ dilution effect ซึ่งเป็นลักษณะที่สามารถพบได้ในสารคุณภาพพิเศษอื่นๆ เช่นกัน เช่น ธาตุสังกะสี แอนโทไซยานิน หรือสารต้านอนุมูลอิสระ (พัชรินทร์, 2558; สุภาภรณ์และชนากานต์, 2559; Rerkasem et al. 2015) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดและผลผลิตของประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ศึกษาในการทดลองนี้มีการกระจายตัวกว้างและมี transgressive segregation ทำให้สามารถคัดเลือกต้นที่มีผลผลิตสูง มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงและมีชนิดแป้งที่แตกต่างกันได้จำนวน 8 ต้น ซึ่งต้นที่คัดเลือกนี้ไม่ไวต่อช่วงแสงสามารถเพาะปลูกได้ตลอดทั้งปีมีผลผลิตมากกว่าข้าวพันธุ์กำหอม มช. 3-5 เท่า และมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงกว่าพันธุ์ปทุมธานี 1 อยู่ถึง 37-95% ดังนั้น ต้นลูกผสมที่ได้คัดเลือกจากการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญและสามารถใช้ในการพัฒนาข้าวสายพันธุ์ใหม่ที่ไม่ไวต่อช่วงแสง มีผลผลิตและปริมาณธาตุเหล็กสูงทั้งประเภทข้าวเจ้าและข้าวเหนียวได้ในอนาคต

สรุป

ข้าวพันธุ์กำหอม มช. ที่เป็นข้าวไร่และจัดอยู่ในกลุ่มข้าว japonica สามารถผสมพันธุ์กับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่เป็นข้าวประเภท indica ได้ และให้ลูกผสมชั่วแรกที่เติบโตเป็นปกติและออกดอกในฤดูนาปรังซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นถึงการใช้ประโยชน์จากแหล่งพันธุกรรมต่าง ecotype ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว นอกจากนี้ ลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวกว้างในทุกลักษณะที่ศึกษา โดยเฉพาะผลผลิตและปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดที่มีการกระจายตัวนอกเหนือขอบเขตของพันธุ์พ่อแม่ จึงทำให้สามารถคัดเลือกต้นที่มีผลผลิตและปริมาณธาตุเหล็กสูงได้ทั้งแบบข้าวเจ้าและข้าวเหนียว ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นข้าวสายพันธุ์ที่มีธาตุเหล็กสูงได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการมหาลัยแห่งชาติ ภายใต้สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

ธรรมนูญ หัทยานันท์, ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย และศันสนีย์ จำจด. 2559. การคัดเลือก

สายพันธุ์ก้าวหน้าพันธุ์ข้าวเจ้าก่ำไม่ไวต่อช่วงแสงและมีปริมาณแอนโทไซยานินสูง. วารสารเกษตร, 33: 81-90.

ปุริม คลิ้งทอง, ประภา ศรีพิจิตต์, รัตติกาน เกิดผล และธานี ศรีวงศ์ชัย. 2559. การถ่ายทอดลักษณะความยาวของเมล็ดในการผสมข้ามระหว่างข้าวอินดิกากับข้าวจาปอนิกา. Thai Journal of Science and Technology, 2: 144–149.

พัชรินทร์ ตุ้ยวงค์. 2558. ผลของการพ่นสังกะสีทางใบต่อผลผลิตและการสะสมธาตุสังกะสีในส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

พิทวัส สมบูรณ์, ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย, ต่อนภา ผุสดี และศันสนีย์ จำจด. 2560. การกระจายตัวทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวเหนียวดาจากที่สูงและข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ปลูกที่ลุ่มและที่สูง. วารสารเกษตร, 33: 323–332.

พีรนันท์ มาปัน, สุพรรณนิกา ติ๊บขัน, ชนากานต์ พรมอุทัย, ดำเนิน กาละดี และศันสนีย์ จำจด. 2557. การคัดเลือกในชั่วต้นเพื่อลักษณะแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงและไม่ไวต่อช่วงแสงในลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดและปทุมธานี 1. วารสารนเรศวรพะเยา, 7: 160-171.

เพ็ญนภา จักรสมศักดิ์. 2550. การควบคุมทางพันธุกรรมของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

วรรณภา ก่ำถ้วย. 2559. ผลผลิตและปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวเหนียวก่ำพันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกภายใต้สภาพไนโตรเจนและการจัดการน้ำที่แตกต่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สุภาภรณ์ ยะเมืองมอญ และชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย. 2559. ผลของการจัดการน้ำต่อปริมาณผลผลิต แอนโทไซยานิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวเหนียวก่ำพันธุ์พื้นเมือง. น. 96-99. ใน: งานวิจัยเพื่อรับการเปลี่ยนแปลงของโลก ณ โรงแรมเซ็นทรา ศูนย์ราชการและคอนเวนชันเซ็นเตอร์ กรุงเทพฯ.

Chang, T.T, and E.A. Bardenas. 1965. The morphology and varietal characteristics of the rice plant. Technical Bulletin 4. International Rice Research Institute, Laguna.

Delhaiza, E., B. Dell, G. Kirk, J. Loneragan, R. Nable, D. Plaskett, and M. Webb. 1984. Manual of Research Procedures. 1st edition. Plant Nutrition Research Group School of Environmental and Life Science. Murdoch University, Australia.

Fongfon, S., T. Pusadee, C. Prom-u-thai, and S. Jamjod. 2018. Population structure and genetic diversity of local black rice in Northern Thailand. Unpublished manuscript.

Graham, R.D., R.M. Welch, and H.E. Bouis. 2001. Addressing micronutrient malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods: Principles, perspectives and knowledge gaps. P. 77-142. In: Advances in Agronomy.Academic Press.

Liu, P., Z. Dan, Z. Wang, S. Li, N. Li, H. Yan, X. Cai, and B. Lu. 2015. Predicting hybrid fertility from maker-based genetic divergence index of parental varieties: Implications for utilizing inter-subspecies heterosis in hybrid rice breeding. Euphytica, 203: 47–57.

McKenzie K.S, and J.N. Rutger. 1983. Genetic analysis of amylose content, alkali spreading score, and grain dimensions in rice. Crop Science, 23: 306–313.

Miko, I. 2008. Epistasis: Gene interaction and phenotype effects. Nature Education, 1: 197.

Nolte, A.W, and H.D. Sheets. 2005. Shape

based assignment tests suggest transgressive phenotypes in natural sculpin hybrids (Teleostei, Scorpaeniformes, Cottidae). Frontiers in Zoology, 2:11.

Oka, H. 1974. Analysis of genes controlling F_1 sterility in rice by the use of isogenic lines. Genetics, 77: 521–534.

Prom-u-thai, C. 2003. Iron (Fe) in rice grain. Ph.D. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand.

Rerkasem, B., S. Jumrus, N. Yimyam, and C. Prom-u-thai. 2015. Variation of grain nutritional quality among Thai purple rice genotypes grown at two different altitudes. Science Asia, 41: 377–385.

Sha, X. 2013. Rice artificial hybridization for genetic analysis. P. 1-12. In: Rice Protocols. Humana Press.

World Health Organization. 2015. The global prevalence of anaemia in 2011. Geneva.

Yan, C.J., Z.X. Tian, Y.W. Fang, Y.C. Yang, J. Li, S.Y. Zeng, S.L. Gu, C.W. Xu, S.Z. Tang, and M.H. Gu. 2011.Genetic analysis of starch paste viscosity parameters in glutinous rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics, 122: 63–76.