

การรวมยีนความหอม ยีนต้านทานโรคไหม้ และโรคขอบใบแห้ง เข้าสู่ข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง 1 โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ช่วยในการคัดเลือก

Pyramiding of fragrant, blast and bacterial blight resistant genes into a glutinous rice cultivar ‘SPT1’ using marker-assisted selection

วราวุธ โล๊ะสุข¹, ศิริพร กออินทร์ศักดิ์²,ธีรยุทธ ตูจันดา² และ ไวพจน์ กันจู^{1*}

Waravut Losuk¹, Siriporn Korinsak², Theerayut Toojinda² and Vaiphot Kanjoov^{1*}

บทคัดย่อ: ข้าวสันป่าตอง 1 (SPT1) เป็นข้าวเหนียวไม่ไวต่อช่วงแสง ให้ผลผลิตสูง เนื่องจากว่าไม่มีความหอม และอ่อนแอต่อเชื้อโรคไหม้และโรคขอบใบแห้งบางไอโซเลต งานวิจัยนี้มีเป้าหมายที่จะปรับปรุงพันธุ์ข้าว SPT1 ให้มียีนความหอม (*badh2*) ยีนต้านทานต่อโรคไหม้ (*qBL11*) และโรคขอบใบแห้ง (*xa5*, *Xa21*) อย่างกว้าง ด้วยวิธีการผสมกลับรวมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก โดยผสมข้ามสายพันธุ์ลูกผสมกลับระหว่าง BC₂F₂ SPT1/กข6 และ BC₂F₂ SPT1/RGD no.15 ปัจจุบันสามารถพัฒนาประชากรรวมยีนชั่วที่ F₂ ที่มีรูปแบบการรวมตัวของยีนในแบบต่าง ๆ (gene combination) คงตัวแล้วจำนวน 13 สายพันธุ์ ในจำนวนนี้มี 2 สายพันธุ์ที่มียีนเป้าหมายครบทั้ง 4 ยีน (*badh2+qBL11+xa5+Xa21*) ซึ่งทั้งหมดมีลักษณะทรงต้นคล้ายกับพันธุ์ SPT1 จากนั้นจะนำไปประเมินความหอม ความต้านทานโรคทั้งสองในสภาพโรงเรือน และทดสอบผลผลิตต่อไป

คำสำคัญ: ข้าวเหนียว, การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก, ความหอม, โรคไหม้, โรคขอบใบแห้ง

ABSTRACT: San Pah Tawng 1 (SPT1) is a non-photosensitive glutinous rice cultivar with high yield potential. However, this cultivar is a non-fragrant rice and susceptible to some blast (BL) and bacterial blight (BB) isolates. This research aims to improve SPT1 for carrying genes for fragrance (*badh2*) and broad spectrum resistances to BL (*qBL11*) and BB (*xa5*, *Xa21*) diseases using marker assisted backcrossing breeding. Now, the 13 lines of F₂ pyramid lines (PLs) were selected with gene combinations. Of these, 2 PLs carrying all 4 genes in a combination (*badh2+qBL11+xa5+Xa21*) were found. Most of them have plant-type skew to SPT1. All of target PLs will evaluate for fragrance, BL and BB resistances under greenhouse condition and yield potential as well.

Keywords: glutinous rice, marker assisted selection, fragrance, blast, bacterial blight

¹ สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา

Institute of Agriculture, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao

² หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

Rice Gene Discovery Unit, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency

* Corresponding author: kanjoov@gmail.com

บทนำ

ข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง 1 เป็นข้าวเหนียวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง ผลผลิตสูง เฉลี่ยประมาณ 630 กก./ไร่ ลำต้นแข็งแรงต้านทานต่อการหักล้มได้ดี และค่อนข้างต้านทานต่อโรคไหม้และโรคขอบใบแห้ง จากความโดดเด่นดังกล่าวของข้าวสันป่าตอง 1 จึงทำให้เป็นที่นิยมปลูกของเกษตรกรในภาคเหนือตอนบนและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตพื้นที่นาชลประทาน สามารถปลูกได้ทั้งฤดูนาปีและนาปรัง (กรมการข้าว, 2552) แต่สันป่าตอง 1 มีข้อด้อยคือเป็นข้าวไม่หอม และจากการประเมินความต้านทานต่อโรคไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Magnaporthe oryzae* (Couch and Kohn, 2002) และโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ou et al., 1971) ในสภาพโรงเรือน ที่หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน พบว่ามีเชื้อโรคไหม้และโรคขอบใบแห้งบางไอโซเลต (isolate) สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์นี้ได้ การพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีความหอมและต้านทานต่อโรคทั้งสอง นับเป็นแนวทางหนึ่งที่จะทำให้มูลค่าของข้าวสูงขึ้นและช่วยบรรเทาความเสียหายของผลผลิตอันเนื่องมาจากการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคได้

ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) ที่จำเพาะต่อยีนที่ควบคุมลักษณะที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในข้าวจำนวนมาก เช่น เครื่องหมายดีเอ็นเอ Aromarker ที่จำเพาะต่อตำแหน่ง 8 bp deletion ที่ exon 7 ของยีนความหอม (*badh2*) สามารถใช้จำแนกข้าวหอมออกจากข้าวไม่หอมได้ (Vanavichit et al., 2004; Wanchana et al., 2005; ไหวพจน์ และคณะ, 2013) เครื่องหมายดีเอ็นเอ PAXa5 ที่จำเพาะต่อยีน *xa5* (Korinsak et al., 2014) และ PB7-8 ที่จำเพาะต่อยีน *Xa21* ที่ควบคุมความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง (Chunwongse et al. 1993; Korinsak, 2009) นอกจากนี้ยังมีเครื่องหมายดีเอ็นเอ

ชนิด SSR ที่มีตำแหน่งเชื่อมโยงกับยีน และสามารถใช้คัดเลือกต้นพืชที่มียีนดังกล่าวได้ค่อนข้างแม่นยำ เช่น เครื่องหมายดีเอ็นเอ RM224 และ RM144 มีตำแหน่งเชื่อมโยงกับยีน *qBL11* ที่ควบคุมความต้านทานโรคไหม้ (Wongsaprom et al., 2010) โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอเหล่านี้ได้มีการนำมาใช้ติดตามยีนเป้าหมายในประชากรข้าวลูก ทำให้การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวมีความแม่นยำมากขึ้น จนได้สายพันธุ์ข้าวปรับปรุงใหม่ที่มีลักษณะตามที่ต้องการอย่างรวดเร็ว (Yi et al., 2009; Win et al., 2013; ธีรยุทธ และคณะ, 2555) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีเป้าหมายที่จะปรับปรุงพันธุ์ข้าวสันป่าตอง 1 ให้มีความหอม ต้านทานต่อโรคไหม้และโรคขอบใบแห้งอย่างกว้าง (broad spectrum resistance) ด้วยวิธีการผสมกลับร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก

วิธีการศึกษา

พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา

พันธุ์ข้าวที่ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการทำวิจัยครั้งนี้ มี 3 พันธุ์ ได้แก่ 1) ข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง 1 (SPT1) ใช้เป็นพันธุ์รับ (recipient parent) 2) กข6 (RD6) ใช้เป็นพันธุ์ให้ (donor parent) เพื่อถ่ายทอดยีน *badh2* โดยทั้ง 2 พันธุ์ พัฒนาพันธุ์โดยการรวมการข้าว ได้รับความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์จากศูนย์วิจัยข้าวเชียงราย และ 3) ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง RGD07585-5-B-MAS-12-1-MAS-14 (RGD no.15) ใช้เป็นพันธุ์ให้ เพื่อถ่ายทอดยีน *qBL11*, *xa5* และ *Xa21* ถูกพัฒนาสายพันธุ์ขึ้นโดยหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว

การพัฒนาประชากรข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง 1 ให้มีถิ่นความหอม ยีนต้านทานโรคไหม้ และยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง

ทำการพัฒนาประชากรข้าวเหนียวลูกผสมกลับในฐานพันธุ์กรรมข้าวสันป่าตอง 1 จากคู่ผสม 2 คู่ จนถึงชั่วที่ BC_2F_2 ได้แก่ คู่ผสมที่ 1 สันป่าตอง 1 x กข6 เพื่อ

สร้างประชากรข้าวเหนียวลูกผสมกลับที่มียีน *badh2* และคู่ผสมที่ 2 สันป่าตอง 1 x RGD no.15 เพื่อสร้างประชากรข้าวเหนียวลูกผสมกลับที่มียีน *qBL11*, *xa5* และ *Xa21* โดยเริ่มดำเนินการผสมพันธุ์ในปี พ.ศ. 2555 จนถึงปี พ.ศ. 2559 ที่แปลงปฏิบัติการด้านพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ในแต่ละชั่วจะใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะยีนเป้าหมาย ได้แก่ Aromarker ใช้คัดเลือกยีน *badh2*, RM144-RM224 ใช้คัดเลือกยีน *qBL11*, PAXa5 ใช้คัดเลือกยีน *xa5* และ PB7-8 ใช้คัดเลือกยีน *Xa21* (Table 1) หลังจากนั้นจะนำต้นข้าวลูกผสมกลับชั่วที่ BC₂F₂ จากคู่ผสมทั้งสองที่มียีนเป้าหมายคงตัวแล้วหรือโฮโมไซกัส (homozygous) มาผสมเข้าหากันเพื่อสร้างประชากรรวมยีนชั่วที่ 1 (F₁ pyramiding) จากนั้นปล่อยผสมตัวเองจนถึงประชากรรวมยีนชั่วที่ 2 (F₂ pyramiding) และจะทำการคัดเลือกต้นข้าวที่มียีนเป้าหมายทั้ง 4 ยีน อยู่ในต้นเดียวกัน วิธีการพัฒนาประชากรแสดงใน Figure 1

การตรวจสอบจีโนไทป์

ในแต่ละชั่วของการพัฒนาประชากร จะทำการเก็บตัวอย่างใบอ่อนจากต้นข้าวมาสกัดดีเอ็นเอ โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป DNATrap® ของห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน แล้วทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนเป้าหมายด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ (PCR) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อยีนเป้าหมาย (Table 1) องค์ประกอบของสารเคมีและสภาพปฏิกิริยา PCR จะใช้ตามวิธีของ Myint et al. (2012) หลังจากนั้นนำผลผลิต PCR มาแยกด้วยกระแสไฟฟ้าเพื่อตรวจสอบรูปแบบของแถบดีเอ็นเอ โดยผลผลิต PCR ที่ได้จากเครื่องหมายดีเอ็นเอ Aromarker, RM144 และ RM224 จะใช้เจลโพลีอะครีลาไมด์ (polyacrylamide gel) ความเข้มข้น 4.5% แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเทคนิคซิลเวอร์ (silver staining) (Caetano, 1997) ส่วนผลผลิต PCR ที่ได้จากเครื่องหมายดีเอ็นเอ PAXa5 และ PB7-8 จะใช้เจลอะกาโรส (agarose gel) ความเข้มข้น 1.5% ย้อมด้วยเอทิดียมโบรไมด์ (ethidium bromide)

Table 1 DNA markers used for genotyping in SPT1 introgression lines.

Marker	Chromosome	Targeted gene	Trait	PCR product size (bp)	Reference
Aromarker	8	<i>badh2</i>	fragrance	320	Vanavichit et al. (2004); Wanchana et al. (2005); ไวพจน์ และคณะ (2013)
RM144	11	<i>qBL11</i>	BL resistance	225	Wongsaprom et al. (2010)
RM224	11	<i>qBL11</i>	BL resistance	159	Wongsaprom et al. (2010)
PAXa5	5	<i>xa5</i>	BB resistance	134	Korinsak et al. (2014)
PB7-8	11	<i>Xa21</i>	BB resistance	1,000	Chunwongse et al. (1993) Korinsak (2009)

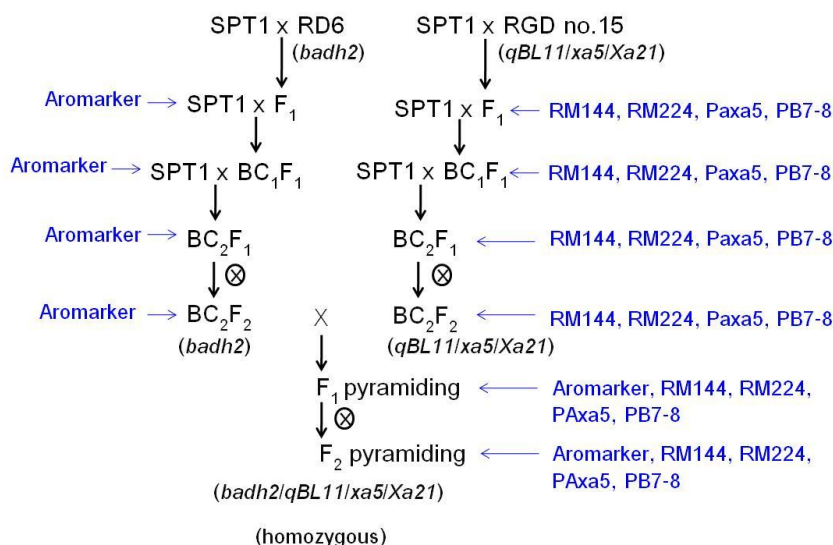


Figure 1 Scheme representation of gene pyramiding using marker assisted backcrossing method.

การบันทึกข้อมูล และการวิเคราะห์ทางสถิติ

บันทึกจำนวนต้นของประชากรข้าวที่นำมาตรวจสอบจีโนไทป์ ในแต่ละชั่วตามรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เหมือนพันธุ์ให้ หรือพันธุ์รับ หรือเหมือนทั้งพันธุ์ให้ และพันธุ์รับ โดยจะนับจากรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 5 ตำแหน่ง เปรียบเทียบกับพันธุ์พันธุ์ให้ (กข6 และ RGD no.15) และพันธุ์รับ (สันป่าตอง 1) โดยพิจารณาจากขนาดของแถบดีเอ็นเอ ถ้ามีแถบดีเอ็นเอเหมือนพันธุ์ให้เท่านั้น แสดงว่ามีจีโนไทป์เป็นโฮโมไซกัสยีนเป้าหมาย ถ้ามีแถบดีเอ็นเอเหมือนพันธุ์รับเท่านั้น แสดงว่ามีจีโนไทป์เป็นโฮโมไซกัสไม่มียีนเป้าหมาย และถ้ามีแถบดีเอ็นเอเหมือนทั้งพันธุ์ให้และพันธุ์รับแสดงว่ามีจีโนไทป์เป็นเฮเทอโรไซกัส (heterozygous) และทำการสรุปจำนวนต้นที่แสดงจีโนไทป์ต่าง ๆ เพื่อหาความถี่ และทดสอบความสอดคล้องของการกระจายตัวของยีนโดยใช้การทดสอบไคสแควร์ (Chi-square: χ^2)

$$\chi^2 = \sum (O - E)^2 / E$$

เมื่อ O = โอกาสที่ได้รับต้นที่มียีนเป้าหมายจากการทดลอง

E = โอกาสที่จะได้รับต้นที่มียีนเป้าหมายตามความคาดหวัง

ในส่วนของคุณลักษณะทรงต้นของประชากรข้าวในแต่ละชั่ว จะทำการประเมินด้วยสายตาเปรียบเทียบกับข้าวสันป่าตอง 1

ผลการศึกษา

การพัฒนาประชากรข้าวเหนียวลูกผสมกลับให้มียีนเป้าหมายในฐานพันธุ์กรรมข้าวสันป่าตอง 1

ประชากรข้าวเหนียวลูกผสมกลับเข้าหาข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 จากกลุ่มผสมทั้ง 2 คู่ คือ สันป่าตอง 1 x กข6 ที่มียีนความหอม *badh2* และ สันป่าตอง 1 x RGD no.15 ที่มียีน *qBL11*, *xa5* และ *Xa21* จากทั้ง 2 กลุ่มผสมได้ต้นชั่วที่ F₁ คู่ละ 5 ต้น จากนั้นผสมกลับเพื่อสร้างประชากรชั่วที่ BC₁F₁ ได้กลุ่มผสมละ 25 และ 28 ต้น ตามลำดับ คัดเลือกต้นที่มียีนเป้าหมายเป็นเฮเทอโรไซกัสได้ 10 และ 4 ต้น ตามลำดับ และทำการผสมกลับเพื่อสร้างประชากรชั่วที่ BC₂F₁ ได้กลุ่มผสมละ 30 และ 29 ต้น คัดเลือกต้นที่มียีนเป้าหมายเป็นเฮเทอโรไซกัสได้ 6 และ 1 ต้น ตามลำดับ จึงปล่อยผสมตัวเองได้ชั่วที่ BC₂F₂ โดยประชากรชั่วที่ BC₂F₂ จากกลุ่มผสมระหว่างสันป่าตอง 1 x กข6 ที่มียีนความหอม *badh2* และแสดงจีโนไทป์เป็นแบบโฮโมไซกัสเหมือน กข6 มีจำนวน 4

ต้น จาก 50 ต้น ได้แก่ สายพันธุ์ PYO13-034-12-16, PYO13-034-12-20, PYO13-034-12-33 และ PYO13-034-12-39 ส่วนประชากรชั่วที่ BC_2F_2 จากกลุ่มผสมสันป่าตอง 1 x RGD no.15 ที่มียีน *qBL11*, *xa5* และ *Xa21* ครบทั้ง 3 ยีน และแสดงจีโนไทป์เป็นโฮโมไซกัสเหมือนสายพันธุ์ RGD no.15 ที่เครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 4 ตำแหน่ง มีจำนวน 1 ต้น จาก 300 ต้น ได้แก่ สายพันธุ์ PYO13-040-5-134 ซึ่งใช้เป็นต้นพ่อแม่สำหรับการผสมข้ามกับต้นข้าวชั่วที่ BC_2F_2 ที่มียีน *badh2* เพื่อรวมยีนทั้ง 4 ยีน ให้อยู่ในต้นเดียวกัน

การรวมยีนเข้าสู่ฐานพันธุกรรมสันป่าตอง 1

จากการผสมข้ามระหว่างข้าวเหนียวลูกผสมกลับชั่วที่ BC_2F_2 ที่มียีนความหอม *badh2* กับสายพันธุ์ที่มียีนต้านทานโรค *qBL11*, *xa5* และ *Xa21* สามารถผลิตเมล็ดลูกผสมชั่วที่ F_1 pyramiding ได้จำนวน 2,477 เมล็ด เมื่อนำมาเพาะให้งอกและปลูกต่อ ได้ต้นกล้าที่แข็งแรงและคัดเลือกมาตรวจสอบจีโนไทป์จำนวน 215 ต้น พบต้นที่แสดงจีโนไทป์เป็นเฮเทอโรไซกัสที่เครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 5 ตำแหน่ง จำนวน 191 ต้น

จากนั้นคัดเลือกต้นที่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดีจำนวน 3 ต้น แล้วนำเมล็ดมาปลูกต่อเพื่อสร้างประชากรชั่วที่ F_2 pyramiding จำนวน 561 ต้น นำมาตรวจสอบจีโนไทป์ พบต้นที่แสดงจีโนไทป์เป็นโฮโมไซกัสเหมือนพันธุ์ให้จำนวน 27 ต้น (มีรูปแบบการรวมตัวของยีนแบบต่าง ๆ) (Table 2 และ Table 3) ในจำนวนนี้มีต้นที่มียีนเป้าหมายครบทั้ง 4 ยีน และแสดงจีโนไทป์เป็นโฮโมไซกัสที่เครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 5 ตำแหน่งเหมือนพันธุ์ให้จำนวน 2 ต้น ได้แก่ สายพันธุ์ PYO16-001-3-24 และ PYO16-001-3-162 ซึ่งพบว่าโอกาสที่ได้ต้นที่มียีนครบทั้ง 4 ยีนในต้นเดียวกัน เป็นไปตามสัดส่วน 1 ใน 256 ต้น ($\chi^2 = 7.03$) ที่ระดับ $p \leq 0.05$ ($\chi^2 = 3.84$) โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ RM144 และ RM224 ที่จำเพาะต่อยีน *qBL11* จะมีตำแหน่งใกล้เคียงกัน (linkage) จึงมักจะถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกด้วยกัน เมื่อประเมินลักษณะทรงต้นโดยรวมในประชากรข้าวชั่วที่ F_2 pyramiding ด้วยสายตา พบว่ามีลักษณะคล้ายกับข้าวสันป่าตอง 1 คือ ใบธงตั้ง เมล็ดข้าวเปลือกสีเหลืองฟาง มีความสูง และทรงกอกคล้ายกับข้าวสันป่าตอง 1

Table 2 Number of SPT1 introgression lines developed in each generation

Generation	Crossing population	Marker for genotyping	Number of plant for genotyping (plant)	Number of plant carrying targeted gene (plant)
F_1	SPT1xRD6	Aromarker	10	5 (heterozygous)
	SPT1xRGD no.15	RM224, RM144, PAxa5, PB7-8	7	5 (heterozygous)
BC_1F_1	SPT1xRD6	Aromarker	25	10 (heterozygous)
	SPT1xRGD no.15	RM224, RM144, PAxa5, PB7-8	28	4 (heterozygous)
BC_2F_1	SPT1xRD6	Aromarker	30	6 (heterozygous)
	SPT1xRGD no.15	RM224, RM144, PAxa5, PB7-8	29	1 (heterozygous)
BC_2F_2	SPT1xRD6	Aromarker	50	4 (homozygous)
	SPT1xRGD no.15	RM224, RM144, PAxa5, PB7-8	300	1 (homozygous)
F_1 pyramiding (SPT1xRD6) x(SPT1xRGD no.15)		Aromarker, RM224, RM144, PAxa5, PB7-8	215	191 (heterozygous)
F_2 pyramiding (SPT1xRD6) x(SPT1xRGD no.15)		Aromarker, RM224, RM144, PAxa5, PB7-8	561	2 (homozygous)

Table 3 Number of SPT1 pyramiding lines in each combination of targeted genes.

Combination of targeted genes	No. of plant (plant)	Pedigree of plant carrying targeted genes
<i>badh2</i>	5	PYO16-001-3-15, PYO16-001-7-48, PYO16-001-9-142, PYO16-001-9-205, PYO16-001-9-215
<i>xa5</i>	6	PYO16-001-3-43, PYO16-001-7-11, PYO16-001-7-42, PYO16-001-7-118, PYO16-001-9-29, PYO16-001-9-181
<i>qBL11</i> + <i>Xa21</i>	8	PYO16-001-3-125, PYO16-001-3-130, PYO16-001-7-23, PYO16-001-7-56, PYO16-001-7-64, PYO16-001-7-90, PYO16-001-7-146, PYO16-001-9-6
<i>badh2</i> + <i>xa5</i>	4	PYO16-001-3-96, PYO16-001-9-59, PYO16-001-9-77, PYO16-001-9-161
<i>badh2</i> + <i>qBL11</i> + <i>Xa21</i>	2	PYO16-001-7-59, PYO16-001-9-52
<i>badh2</i> + <i>qBL11</i> + <i>xa5</i> + <i>Xa21</i>	2	PYO16-001-3-24, PYO16-001-3-162

วิจารณ์

จากการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่า จำนวนต้นข้าวข้าวที่ F_2 pyramiding ที่มียืนเป้าหมายครบทั้ง 4 ยีน มีจำนวนน้อยเกินไป อาจไม่เพียงพอสำหรับขั้นตอนการคัดเลือกลักษณะทางการเกษตรที่ดี ดังนั้นควรจะมีการสร้างประชากรข้าวในข้าวที่ F_2 pyramiding ให้มีจำนวนมากพอ เพื่อเพิ่มโอกาสที่จะได้รับต้นที่มียืนเป้าหมายครบทั้ง 4 ยีนมากขึ้น นอกจากนี้ยังควรเพิ่มการคัดเลือกในประชากรข้าวลูกผสมสายพันธุ์แท้ (recombinant inbred lines: RILs) ที่เกิดจากการปล่อยให้ผสมตนเองในข้าวต่าง ๆ ด้วย ซึ่งอาจทำให้ได้สายพันธุ์ที่มีลักษณะอื่น ๆ ดีเด่นเพิ่มมากขึ้นด้วย

สรุป

ขณะนี้ ผู้วิจัยสามารถพัฒนาประชากรข้าวเหนียวที่มียืนความหอม (*badh2*) ยืนต้านทานโรคไหม้ (*qBL11*) และโรคขอบใบแห้งอย่างกว้าง (*xa5* และ *Xa21*) ครบทั้ง 4 ยีน ในฐานะพันธุ์กรรมข้าวสันป่าตอง 1 โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก ได้จำนวน 2 สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่มียืนความหอมจำนวน 5 สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่มียืนความหอมแต่มียืน

qBL11, *xa5* และ *Xa21* ไม่ครบ จำนวน 6 สายพันธุ์ ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้จะถูกนำไปปลูกคัดเลือกเพื่อให้มีความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมมากขึ้น และเพื่อขยายเมล็ดสำหรับนำไปทดสอบความหอม ประเมินความต้านทานโรคไหม้และโรคขอบใบแห้งในสภาพโรงเรือนที่หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ตลอดจนทำการทดสอบผลผลิตในสภาพแปลงทดลองที่มหาวิทยาลัยพะเยา ต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนเพื่อดำเนินการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยพะเยา และเงินทุนสนับสนุนนิสิตบัณฑิตศึกษาช่วยทำวิจัยจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ตามสัญญาสนับสนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา โครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย เลขที่ TGIST 01-57-001

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว. 2552. ฐานข้อมูลพันธุ์ข้าวรับรองของไทย. แหล่งข้อมูล: <https://goo.gl/MkGJPG>. ค้นเมื่อ 1 ตุลาคม 2560.

- ธีรยุทธ ตูจันดา, มีชัย เชียงหลิว, โจนาลิซ่า เชียงหลิว, จุฑารัตน์ จันทบุรณ์, ยี่โก ธีรวัชรณ, ศิริพร กออินทร์ศักดิ์, ชนาภานต์ วงษาพรหม, กาญจนา ปัญญาแวว, ศิริภา กออินทร์ศักดิ์, กฤตยา สายสมัย, วัชรวัชรณ แจ่มบุญศรี, เกรียงไกร พันธุ์วรรณ และบุญรัตน์ จงดี. 2555. รายงานฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวนาข้าวพื้นโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพภายใต้ความร่วมมือระหว่างสถาบันวิจัยข้าวกับศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.
- ไวพจน์ กันจู, สุภัญญา เรืองข้า, สุมณ ห้อยมาลา, อนุชา พลัฒา, อภิชาติ วรรณวิจิตร และธีรยุทธ ตูจันดา. 2013. การตรวจสอบความหอมในเชื้อพันธุ์กรรมข้าวไรไทยโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อยีน Os2AP และการวิเคราะห์คุณภาพทุ่งตัมและความหนาแน่นของธาตุเหล็กในเมล็ด. Thai J. Genet. 6: 11-24.
- Caetano, A. 1997. Resolving DNA amplification products using polyacrylamide gel electrophoresis and silver staining. pp.119-134. In: R. M. Micheli, and R. Bova. Fingerprinting methods based on PCR. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Chunwongse, J., G. B. Martin, and S. D. Tanksley. 1993. Pre-germination genotype screening using PCR amplification of half-seeds. Theor. Appl. Genet. 86: 694-698.
- Couch, B. C., and L. M. Kohn. 2002. A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. Mycologia. 94: 683-693.
- Korinsak, S. 2009. Marker-assisted pyramiding bacterial blight resistant genes (xa5, Xa21, xa33(t) and Xa34(t) and qBB11 in rice. M. S. Thesis. Kasetsart University, Bangkok.
- Korinsak, S., K. Sirithunya, and T. Toojinda. 2014. Identifying a source of a bacterial blight resistance gene xa5 in rice variety 'IR62266' and development of a functional marker 'PAXa5', the easy agarose based detection. Thai J. Genet. 7: 164-172.
- Myint, K. M., S. Arikrit, S. Wanchana, T. Yoshihashi, K. Choowongkamon, and A. Vanavichit. 2012. A PCR-based marker for a locus conferring the aroma in Myanmar rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 125: 887-896.
- Ou, S. H., F. L. Nuque, and J. P. Silva. 1971. Varietal resistance to bacterial blight of rice. Plant Dis. Rep. 55: 17-21.
- Vanavichit, A., T. Yoshihashi, S. Wanchana, S. Areekit, D. Saengsak, W. Kamolsukyong, J. Lanceras, T. Toojinda, and S. Tragoonrung. 2004. Positional cloning of Os2AP, the aromatic gene controlling the biosynthetic switch of 2-acetyl-1-pyrroline and gamma aminobutyric acid (GABA) in rice. pp.71-80. In: Proceedings of the 1st international conference on rice for the future. August 31-September 3, 2004, Bangkok, Thailand.
- Wanchana, S., W. Kamolsukyong, S. Ruengphayak, T. Toojinda, S. Tragoonrung, and A. Vanavichit. 2005. A rapid construction of a physical contig across a 4.5 cM region for rice grain aroma facilitates marker enrichment for positional cloning. Sci. Asia. 31: 299-306.
- Win, K. M., S. Korinsak, P. Sirithunya, J. Lanceras-Siangliw, W. Jamboonsri, T. Da, S. Patarapuwadol, and T. Toojinda. 2013. Marker assisted introgression of multiple genes for bacterial blight resistance into aromatic Myanmar rice MK-75. Field Crops Res. 154: 164-171.
- Wongsaprom, C., P. Sirithunya, A. Vanavichit, G. Pantuwan, B. Jongdee, N. Sidhiwong, J. L. Siangliw, and T. Toojinda. 2010. Two introgressed quantitative trait loci confer a broad-spectrum resistance to blast disease in the genetic background of the cultivar RD6 a Thai glutinous jasmine rice. Field Crops Res. 119: 245-251.
- Yi, M., K. T. Nwe, A. Vanavichit, W. Chai-arree, and T. Toojinda. 2009. Marker assisted backcross breeding to improve cooking quality traits in Myanmar rice cultivar Manawthukha. Field Crops Res. 113: 178-186.