

การตรวจสอบลักษณะความหอมและคุณภาพการหุงต้มของข้าวเจ้าหอม สายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน

Validation of Grain Aroma and Cooking Quality Characters of Improved Aromatic Rice Lines Resistance to Blast Disease and Tolerance to Submergence

ลดารัตน์ ทันต์¹, ฉันทมาศ เชื้อแก้ว¹, ศักดา คงสีลา¹, อุไรวรรณ คชสถิตย์² และสุรีพร เกตุงาม^{1*}

Ladarut Tuntee¹, Chantamart Chueakaew¹, Sakda Kongsila¹, Uraiwan Kotchasatit² and Sureeporn Kate-ngam^{1*}

Received date: 26 ม.ค. 67 Revised date: 22 ส.ค. 67 Accepted date: 2 ต.ค. 67

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2025.06.16.002>

บทคัดย่อ

ความหอมและคุณภาพการหุงต้ม ถือเป็นลักษณะเป้าหมายสำคัญหนึ่งของการพัฒนาพันธุ์ข้าวเจ้าหอมพื้นนุ่ม ซึ่งได้รับความนิยมสูงจากผู้บริโภค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบลักษณะความหอมและคุณภาพการหุงต้มของข้าวเจ้าสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน จำนวน 7 สายพันธุ์ ซึ่งได้จากการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับและใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกระหว่างพันธุ์หอมวาริน (พันธุ์รับซึ่งมีลักษณะทนน้ำท่วมฉับพลัน) และ กข 75 (พันธุ์ให้ยีนต้านทานโรคไหม้) ยืนยันการคงอยู่ของยีน *badh2*, *Wx^b* และ *SSIIa-TT* ควบคุมลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ โดยใช้เครื่องหมาย Aromarker, Waxy และ SNP2340-41 ตามลำดับ ประเมินความหอมและคุณภาพการหุงต้ม ประกอบด้วย ปริมาณอะไมโลส ความคงตัวของแป้งสุก และอุณหภูมิแป้งสุก โดยวิธีเดิมกลั่น วิเคราะห์ colorimetric การวัดระยะทางการไหลของแป้งสุก และการทดสอบการสลายตัวของเมล็ดข้าว ในสารละลายต่าง ตามลำดับ ผลจากการประเมิน พบว่าข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน ทั้ง 7 สายพันธุ์ เมล็ดมีกลิ่นหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ (15.60-16.32 เปอร์เซ็นต์) ความคงตัวแป้งสุกอ่อน (91.33-120.67 มิลลิเมตร) และมีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ (ASV เท่ากับ 6.7-7.0) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์เปรียบเทียบกับ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลันดังกล่าวเป็นข้าวเจ้าหอมปริมาณอะไมโลสต่ำแป้งสุกอ่อนนุ่มและอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงเหล่านี้จะนำเข้าสู่ขั้นตอนการศึกษาพันธุ์ การประเมินศักยภาพและเสถียรภาพการให้ผลผลิตในระดับสถานี ระหว่างสถานี และแปลงเกษตรกร ต่อไป

คำสำคัญ: การปรับปรุงพันธุ์ข้าว การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือก ความหอม คุณภาพการหุงต้ม

Abstract

Fragrance and cooking quality are pivotal traits in the development of aromatic and soft-textured rice varieties, which are highly favored by consumers. This study aimed to validate these attributes in seven improved rice lines that were developed for resistance to blast disease and tolerance to submergence. These lines were derived from a cross between HomWarin, a recipient variety conferring submergence tolerance, and RD75, a donor variety for blast resistance, through marker-assisted backcrossing. The presence of the *badh2*, *Wx^b*, and *SSIIa-TT* genes, associated with grain fragrance, low amylose content, and low gelatinization temperature, was confirmed using Aromarker, Waxy, and SNP2340-41 markers, respectively. The grain fragrance and cooking qualities,

¹ ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุบลราชธานี 34190

² ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี อุบลราชธานี 34000

¹ Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani 34190

² Ubon Ratchathani Rice Research Center, Ubon Ratchathani 34000

* Corresponding author: sureeporn.k@ubu.ac.th

including amylose content, gel consistency, and gelatinization temperature of the seven improved lines, were evaluated through sensory testing, colorimetric analysis, gel consistency measurements, and alkali tests, respectively. The results demonstrated that these lines exhibited notable grain fragrance, low amylose content (15.60–16.32%), soft gel consistency (91.33–120.67 mm), and low gelatinization temperature (alkali spreading value [ASV] 6.7–7.0). Furthermore, these improved lines, which are resistant to blast and tolerant to submergence, were comparable to the widely cultivated KDML105 variety. These aromatic, soft-textured, and low gelatinization temperature rice lines will undergo further selection for superior agronomic traits, and evaluate for yield performance and stability in intra-, inter-, and farmer-level trials.

Keywords: rice breeding, marker-assisted selection (MAS), grain fragrance, cooking qualities

คำนำ

ความหอมและคุณภาพการหุงต้มถือเป็นลักษณะสำคัญที่ใช้กำหนดคุณภาพและราคาของข้าว และมีผลต่อการตัดสินใจเลือกซื้อข้าวของผู้บริโภค ข้าวแต่ละพันธุ์จะมีกลิ่นหอมที่แตกต่างกันไปตามพันธุกรรมของข้าวพันธุ์นั้น ๆ เช่น ข้าวหอมมะลิ (ขาวดอกมะลิ 105 และ กข15) เป็นข้าวคุณภาพพรีเมียมของประเทศไทยมีกลิ่นหอมคล้ายใบเตย ซึ่งเกิดจากการผสมผสานของสารหอมระเหยมากมายหลายชนิด โดยมีสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) เป็นสารหลักของกลิ่นหอมดังกล่าว โดยจะถูกเก็บสะสมไว้ในส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าวโดยเฉพาะในเมล็ด ส่วนข้าวบาสมาดิซึ่งเป็นข้าวหอมของประเทศอินเดียมีกลิ่นหอมคล้ายถั่วหอม เป็นต้น (Riabroy et al., 2013)

เมล็ดข้าวมีคาร์โบไฮเดรตที่มีสตาร์ชเป็นองค์ประกอบเคมีหลักร้อยละ 95 รองลงมาเป็นโปรตีน ไขมัน ในอาหาร และเถ้า (Hori and Sun, 2022; Naivikul, 2007) ซึ่งองค์ประกอบต่าง ๆ เหล่านี้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและสภาพแวดล้อมของพื้นที่ปลูก แป้งข้าวเป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่อยู่ในรูปของ anhydroglucose unit (AGU) เชื่อมต่อกันเป็นสายยาวในรูปของเม็ดแป้ง (starch granule) ซึ่งน้ำตาล AGU จัดเรียงโมเลกุลในลักษณะเส้นตรงเรียกว่า อะไมโลส (amylose) และโมเลกุลเชิงกิ่ง เรียกว่า อะไมโลเพกติน (amylopectin) สัดส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินจะแตกต่างกันออกไปแล้วแต่ชนิดและพันธุ์ข้าว ซึ่งปริมาณอะไมโลสและอะไมโลเพกตินนี้เองที่ทำให้ข้าวมีคุณภาพการหุงต้มและรับประทานที่ต่างกัน (Naivikul, 2007) คุณภาพการหุงต้มของข้าวเป็นลักษณะทางเคมีของแป้งในเอนโดสเปิร์มที่ถูกควบคุมด้วยลักษณะที่สำคัญ 3 ลักษณะ คือ ปริมาณอะไมโลส (amylose content, AC) อุณหภูมิแป้งสุก (gelatinization temperature, GT) และความคงตัวแป้งสุก (gel consistency, GC) โดยที่ปริมาณอะไมโลสเป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดความนุ่มเหนียวของข้าว โดยข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำเมื่อหุงสุกจะได้ข้าวที่มีลักษณะนุ่มเหนียว ในขณะที่ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูงข้าวสุกจะมีลักษณะแข็งและร่วนฟูขึ้นห่อ อุณหภูมิแป้งสุกเป็นอุณหภูมิที่ทำให้แป้งข้าวเปลี่ยนเป็นเจลมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการหุงต้ม ข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกสูงจะใช้เวลาในการหุงต้มนานกว่าข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ (Fitzgerald et al., 2009; Naivikul, 2007; Waters et al., 2006) และความคงตัวแป้งสุกเป็นลักษณะที่ใช้คาดคะเนว่าข้าวสุกเมื่อเย็นแล้วจะมีแนวโน้มที่เนื้อสัมผัสจะแข็งมากหรือน้อย ซึ่งมีผลต่อความนุ่มเหนียวและแข็งกระด้างของข้าวเมื่ออุณหภูมิลดลง ข้าวที่มีความคงตัวของแป้งสุกแข็งเมื่อหุงสุกจะได้ข้าวที่แข็งกระด้างมากกว่าข้าวที่มีความคงตัวแป้งสุกอ่อน (Kuntawong et al., 2015; Naivikul, 2007) ทั้งนี้เกิดจากการคืนตัวของแป้งข้าว (retrogradation) ซึ่งเป็นผลจากคุณสมบัติการคืนตัวของแป้งอะไมโลสที่สุกแล้วจะทำให้ข้าวมีความเหนียวนุ่มลดลง โดยที่คุณสมบัติของแป้งเมื่อหุงสุกและเกิดเป็นเจล (gelatinization) จะขึ้นกับสัดส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินที่มีอยู่ในแป้งข้าว อะไมโลสเมื่อเกิดเป็นเจลจะมีความแข็งแรงมากกว่าอะไมโลเพกตินที่มีเจลอ่อน มีผลทำให้เกิดการคืนตัวของแป้งได้ง่ายกว่าอะไมโลเพกติน (Cuevas and Fitzgerald, 2012; Wang et al., 2015) ดังนั้นคุณภาพการหุงต้มของข้าวในแต่ละพันธุ์จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับลักษณะสำคัญสามลักษณะดังกล่าว

ปัจจุบันมีการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความเฉพาะเจาะจงกับยีนควบคุมลักษณะความหอมและคุณภาพการหุงต้ม ได้แก่ เครื่องหมาย Aromarker ซึ่งจำเพาะเจาะจงกับยีน *badh2* ซึ่งมีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 8 ควบคุมลักษณะความหอม เครื่องหมาย Waxy พัฒนาให้มีความจำเพาะกับแอลลิล *Wx^b* ของยีน *Waxy* ซึ่งมีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 6 ควบคุมลักษณะปริมาณอะไมโลสต่ำ และเครื่องหมาย SNP2340-41 ซึ่งพัฒนาให้มีความจำเพาะกับยีน *SSIIa-TT* มีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 6 ควบคุมลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ (Bao et al., 2006; Jantaboon et al., 2011; Kate-ngam et al., 2008) ซึ่งเครื่องหมายดีเอ็นเอดังกล่าวถูกนำไปใช้เป็นเครื่องมือช่วยคัดเลือกในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความหอมและคุณภาพการหุงต้มได้ตามเป้าประสงค์ของนักปรับปรุงพันธุ์ได้อย่างแม่นยำ เนื่องจากการคัดเลือกที่ยีนควบคุมลักษณะเป้าหมายดังกล่าว ทำให้การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความหอมและคุณภาพการหุงต้มตามความต้องการของผู้บริโภคสามารถดำเนินการได้อย่างรวดเร็วในปัจจุบัน (Kate-ngam, 2003; 2014)

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกคิดเป็นร้อยละ 60 ของพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 38 ล้านไร่ จากทั้งประเทศประมาณ 62 ล้านไร่ (Office of agricultural economics, 2023) ส่วนใหญ่เกษตรกรปลูกข้าวหอมมะลิ (ข้าวดอกมะลิ 105 และ กข15) ไร่ชาและปลูกข้าวเหนียวไว้บริโภคในครัวเรือน ข้าวหอมมะลิ จัดเป็นข้าวคุณภาพสูง (high premium) ข้าวเมื่อหุงสุกจะมีความหอมและนุ่มเหนียวได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทั้งภายในและภายนอกประเทศ อย่างไรก็ตามข้าวหอมมะลิให้ผลผลิตต่ำและอ่อนแอต่อศัตรูข้าวโดยเฉพาะโรคไหม้ ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นที่จะปรับปรุงพันธุ์ข้าวใหม่ให้มีความหอมและคุณภาพการหุงต้มคล้ายข้าวขาวดอกมะลิ 105 และมีลักษณะต้านทานโรคไหม้ รวมถึงลักษณะทนทานต่อสภาพแวดล้อมวิกฤต เช่น ฝนแล้ง และท่อน้ำท่วมฉับพลัน เป็นต้น

ข้าวหอมวารินเป็นข้าวเจ้าหอมพื้นนุ่มที่มีการพัฒนามาจากข้าวสายพันธุ์ทนแล้ง IR57514 ผลผลิตสูง ปรับตัวได้ดีในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนในลุ่มแม่น้ำโขง (Kate-ngam et al., 2011) สามารถทนน้ำท่วมฉับพลันและให้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 750 กิโลกรัมต่อไร่ในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ต่อมามีการพัฒนาต่อยอดงานวิจัยเพิ่มลักษณะต้านทานโรคไหม้เข้าไปยังข้าวเจ้าหอมวาริน โดยใช้หอมวารินเป็นพันธุ์รับและ กข75 เป็นพันธุ์ให้ยีนต้านทานโรคไหม้ ใช้วิธีปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับจนได้ต้นแบบข้าวเจ้าหอมสายพันธุ์ปรับปรุงที่มียีนต้านทานโรคไหม้ (*qB1* และ *qB11*) และยีนทนน้ำท่วมฉับพลัน (*Sub1*) อย่างไรก็ตามก่อนที่จะนำเข้าสู่ขั้นตอนการศึกษาพันธุ์ การประเมินศักยภาพและเสถียรภาพการให้ผลผลิต จำเป็นต้องมีการตรวจสอบลักษณะสำคัญของสายพันธุ์ดังกล่าว ซึ่งลักษณะความหอมและคุณภาพการหุงต้มก็เป็นลักษณะประจำพันธุ์ที่สำคัญของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้ และทนน้ำท่วมฉับพลัน ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบและประเมินลักษณะความหอมและคุณภาพการหุงต้มในต้นแบบข้าวเจ้าสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลันซึ่งถูกควบคุมโดยยีน *badh2*, *Wx^b* และ *SSIIa-TT* ข้อมูลความหอมและคุณภาพการหุงต้มซึ่งเป็นลักษณะประจำพันธุ์ของสายพันธุ์ข้าวเหล่านี้จะนำมาใช้เป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจคัดเลือกสายพันธุ์ดีเด่น ต่อไป

วิธีการศึกษา

ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน

ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน (BC₂F₄) จำนวน 7 สายพันธุ์ พัฒนามาจากคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์หอมวาริน (พันธุ์รับซึ่งมียีน *Sub1* ควบคุมลักษณะทนน้ำท่วมฉับพลัน) และกข75 (พันธุ์ให้ยีนต้านทานโรคไหม้ *qB1* และ *qB11*) ปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมกลับและใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือก (Kate-ngam et al., 2014)

การตรวจสอบยีนควบคุมลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ

สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน โดยใช้ Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) based method ซึ่งประยุกต์มาจากวิธีการสกัดดีเอ็นเอของ Doyle

and Doyle (1990) จากนั้นนำมาตรวจสอบยีน *badh2* และยีน *Waxy* (Wx^b) โดยใช้เครื่องหมาย Aromarker และ *Waxy* (Table 1) ตามวิธีการของ Juntaboon et al. (2011) ส่วนยีน *SSIIa-TT* ที่ควบคุมลักษณะอุณหภูมิแป้งสุก ตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมาย SNP2340-41 (Table 1) ตามวิธีการของ Kate-ngam et al. (2008)

Table 1 DNA markers for grain fragrance, low amylose content, and low gelatinization temperature in improved rice lines resistance to blast disease and tolerance to submergence

Markers	Traits	Genes/QTLs	Chr.	Target allele size (bp)	References
1. Aromarker	Grain aroma	<i>badh2</i>	8	392	Jantaboon et al. (2011)
2. <i>Waxy</i>	Low amylose content	<i>Wx^b</i>	6	325	Jantaboon et al. (2011)
3. SNP2340-41	Low gelatinization temperature	<i>SSIIa-TT</i>	6	500, 458	Kate-ngam et al. (2008)

การประเมินความหอม และคุณภาพการหุงต้มของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน

ประเมินลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลส ความคงตัวแป้งสุก และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ ในข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง จำนวน 7 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับพันธุ์แม่ (หอมวาริน) พันธุ์พ่อ (กข75) และพันธุ์เปรียบเทียบ ข้าวดอกมะลิ 105 (positive check variety) และ IR57514 (negative check variety) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 3 ซ้ำ โดยมีรายละเอียด ดังนี้

การประเมินความหอมด้วยการดมกลิ่น (sensory test) ตามวิธีการของ Sood and Siddiq (1978) โดยนำเมล็ดข้าวกล้องมาทำการผ่าครึ่งเมล็ดจำนวน 5 เมล็ด จากนั้นใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 200 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นให้ผู้ทดสอบดมกลิ่น แล้วบันทึกคะแนนความหอมที่ได้กลิ่นตั้งแต่ 0 ถึง 1 โดยคะแนน 0 คือ ข้าวไม่มีกลิ่นหอม และ 1 คือ ข้าวมีกลิ่นหอม

การประเมินปริมาณอะไมโลสด้วยวิธี colorimetric ตามวิธีการของ Juliano et al. (1981) โดยชั่งแบ่งข้าว 0.1000 กรัม เติมน้ำ 95% เอทานอล 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายแล้วเติมน้ำสารละลาย 1N NaOH 9 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นปรับปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ตูตสารละลายน้ำแบ่ง 5 มิลลิลิตร เติมน้ำสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นเขย่าให้เข้ากันแล้วนำวัดปริมาณอะไมโลส โดยวัดความสามารถในการดูดกลืนช่วงแสงที่ 620 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง spectrophotometer เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐาน กำหนดค่าปริมาณอะไมโลส ดังนี้ คือ ปริมาณอะไมโลส 10-20 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวอะไมโลสต่ำ, 20-25 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวอะไมโลสปานกลาง และ มากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นข้าวอะไมโลสสูง (Graham, 2002; Naivikul, 2007)

การประเมินความคงตัวแป้งสุกโดยวัดจากระยะทางการไหลของแป้งสุกตามวิธีการของ Cagampang et al. (1973) โดยชั่งแบ่งข้าว 0.1 กรัม ใส่หลอดทดลองขนาด 11x100 มิลลิลิตร เติมน้ำ 0.025% thymol blue ethanol 0.21 มิลลิลิตร และเติมน้ำ 0.2 N KOH 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 8 นาที นำไปแช่น้ำเย็น นาน 20 นาที จากนั้นนำไปวางบนจานกระดาษกราฟนาน 30 นาที แล้วบันทึกผลโดยวัดระยะทางที่แป้งสุกไหล เป็นมิลลิเมตร การแบ่งความคงตัวของแป้งสุกข้าวเมื่อเย็นตัวลงโดยใช้ระยะทางการไหลของแป้งสุกเป็นเกณฑ์ เปรียบเทียบกับค่าเจลาตราฐาน สามารถแบ่งข้าวได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้ เจลแข็ง (hard gel) มีระยะทางการไหลของแป้งสุกเท่ากับ 26-40 มิลลิลิตร เจลนุ่มปานกลาง (medium gel) มีระยะทางการไหลเท่ากับ 41-60 มิลลิลิตร และเจลอ่อน (soft gel) มีระยะทางการไหลมากกว่า 60 มิลลิลิตร (Graham, 2002; Naivikul, 2007)

การประเมินอุณหภูมิแบ่งสุกโดยประเมินจากค่าการสลายตัวของเมล็ดข้าวในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.7 เปอร์เซ็นต์ (alkali spreading value, ASV) ตามวิธีการของ Little et al. (1958) โดยสุ่มเมล็ดข้าวจำนวน 10 เมล็ด วางลงในจานแก้วที่มีฝาปิด (petri dish) แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.7 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยให้เมล็ดข้าวจมในสารละลาย จากนั้นปิดฝาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 23 ชั่วโมง บันทึกผลการสลายตัวของเมล็ดข้าวโดยมีเกณฑ์การให้คะแนน ตั้งแต่ 1 ถึง 7 (International Rice Research Institute, 2013) โดยคะแนน 1 หมายถึง เมล็ดข้าวยังสมบูรณ์, 2 หมายถึง เมล็ดข้าวเริ่มพองตัว, 3 หมายถึง เมล็ดข้าวพองตัว และมีโครงสร้างอยู่บ้าง, 4 หมายถึง เมล็ดข้าวพองตัวเต็มที่ และไม่เห็นโครงสร้างเมล็ด, 5 หมายถึง เมล็ดข้าวแยกจากกัน, 6 หมายถึง เมล็ดข้าวสลายตัวแต่ยังเห็นเนื้อเมล็ดข้าว และ 7 หมายถึง เมล็ดข้าวสลายตัวหมดโดยไม่เห็นลักษณะเมล็ดข้าวเหลืออยู่ ค่าการสลายตัวของเมล็ดข้าวสามารถนำมาจัดกลุ่มลักษณะอุณหภูมิแบ่งสุกของข้าวได้ โดยข้าวที่มีค่า ASV ตั้งแต่ 1-3 หมายถึง ข้าวที่มีอุณหภูมิแบ่งสุกสูง (74.5-80 องศาเซลเซียส), ข้าวที่มีค่า ASV ตั้งแต่ 4-5 หมายถึง ข้าวที่มีอุณหภูมิแบ่งสุกปานกลาง (70-74 องศาเซลเซียส) และ ข้าวที่มีค่า ASV ตั้งแต่ 6-7 หมายถึง ข้าวที่มีอุณหภูมิแบ่งสุกต่ำ (น้อยกว่า 70 องศาเซลเซียส) (Graham, 2002; Naivikul, 2007)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลการประเมินลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลส ความคงตัวแบ่งสุก และอุณหภูมิแบ่งสุก ด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least Significance Difference (LSD) โดยใช้โปรแกรม STAR statistical tool for agricultural research (version 2.0.1)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การตรวจสอบยีนควบคุมลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลส และอุณหภูมิแบ่งสุก

จากการตรวจสอบยีน *badh2* *Wx^b* และ *SSIIa-TT* ควบคุมลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ และอุณหภูมิแบ่งสุกต่ำ โดยใช้เครื่องหมาย Aromarker Waxy และ SNP2340-41 ตามลำดับ (Table 1) ในข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน พบว่าข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงทั้ง 7 สายพันธุ์ ปรากฏแถบแอลลีลของยีน *badh2* ขนาด 398 bp แถบแอลลีล *Wx^b* ขนาด 325 bp และ แถบแอลลีลของ *SSIIa-TT* (ที่ตำแหน่ง 2340-2341) ขนาด 550, 458 bp ตามลำดับ เช่นเดียวกับแอลลีลของยีนดังกล่าวในพันธุ์พ่อและแม่ (กข75 และ หอมวาริน) และพันธุ์เปรียบเทียบบวดอกมะลิ 105 ซึ่งบ่งชี้ว่า ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงดังกล่าวทั้ง 7 สายพันธุ์เป็นสายพันธุ์ข้าวที่เมล็ดมีกลิ่นหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ และอุณหภูมิแบ่งสุกต่ำ เช่นเดียวกับพันธุ์แม่ (หอมวาริน) พันธุ์พ่อ (กข75) และพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 แตกต่างจาก IR57514 ซึ่งปรากฏแถบแอลลีลของ *Badh2* ขนาด 400 bp แอลลีลของ *Wx^a* ขนาด 310 bp แถบแอลลีลของ *SSIIa-GC* ขนาด 550, 126 bp ซึ่งบ่งชี้ว่า IR57514 เป็นสายพันธุ์ข้าวที่เมล็ดไม่มีความหอม ปริมาณอะไมโลสสูง และมีอุณหภูมิแบ่งสุกสูง ตามลำดับ (Figure 1)

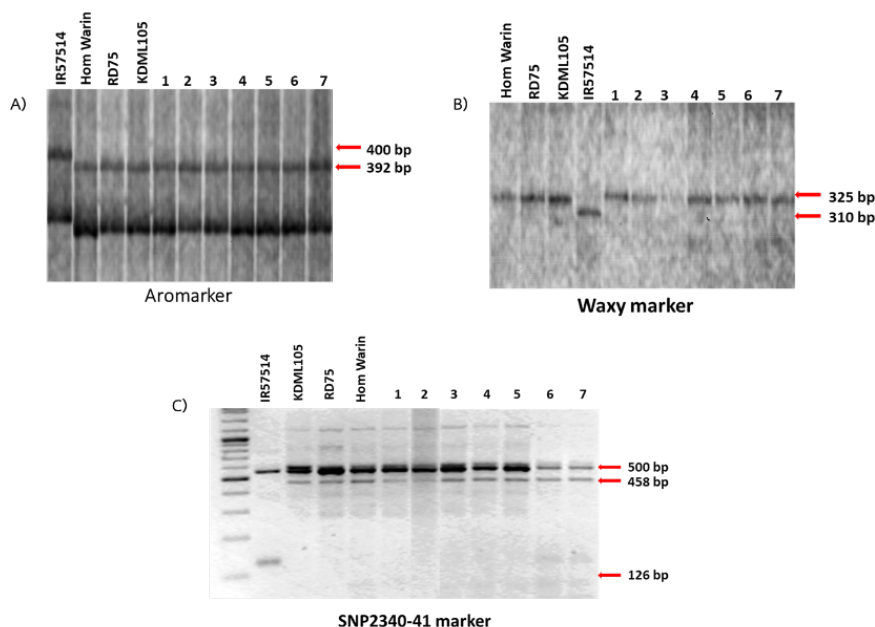


Figure 1 A), B) Polyacrylamide gel electrophoresis and C) Agarose gel electrophoresis of PCR amplification products in seven improve rice lines resistance to blast and tolerance to submergence (number 1-7), female parent (HomWarin), male parent (RD75), KDML105 (positive check variety) and IR57514 (negative check variety) using Aromarker, Waxy marker and SNP2340-41

การประเมินลักษณะความหอมและคุณภาพการหุงต้มของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงด้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน

การประเมินลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลส ความคงตัวแป้งสุก และอุณหภูมิแป้งสุก ดำเนินการในข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงปรับปรุงด้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน จำนวน 7 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับพันธุ์แม่ (หอมวาริน) พันธุ์พ่อ (กข75) ข้าวดอกมะลิ 105 พันธุ์เปรียบเทียบกับซึ่งมีความหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ ความคงตัวแป้งสุกอ่อน และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ และ IR57514 เป็นสายพันธุ์เปรียบเทียบกับซึ่งมีลักษณะไม่หอม ปริมาณอะไมโลสสูง ความคงตัวแป้งสุกปานกลาง และอุณหภูมิแป้งสุกสูง

จากการประเมินลักษณะความหอมที่ควบคุมด้วยยีน *badh2* ในข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงฯ จำนวน 7 สายพันธุ์ โดยวิธีการดมกลิ่น (sensory test) พบว่า ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงดังกล่าวมีค่าคะแนนความหอมเฉลี่ยเท่ากับ 1 เช่นเดียวกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 กข75 และหอมวาริน บ่งชี้ว่าข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ดังกล่าวเป็นข้าวที่มีกลิ่นหอม ส่วนข้าว IR57514 มีค่าคะแนนความหอมเท่ากับ 0 บ่งชี้ว่าเป็นข้าวที่ไม่มีกลิ่นหอม ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงด้านทานโรคไหม้ทั้ง 7 สายพันธุ์ (Table 2) ผลการประเมินความหอมโดยวิธีการดมกลิ่นให้ผลสอดคล้องกับการตรวจสอบยีน *badh2* . โดยใช้เครื่องหมาย Aromarker (Figure 1A)

Table 2 Amylose content, gel consistency, and gelatinization temperature of seven improved rice lines resistance to blast and tolerance to submergence derived from a cross between HomWarin and RD75

Lines/varieties	Cooking quality traits			
	AC (%)	GT (ASV)	GC (mm.)	Aroma
1. UBN14008-811-1	15.95	6.7	99.67	1
2. UBN14008-858-1	15.71	6.7	94.00	1
3. UBN14008-886-2	15.60	6.7	104.67	1
4. UBN14008-922-1	16.05	6.7	110.00	1
5. UBN14008-928-2	15.83	6.7	120.67	1
6. UBN14008-936-2	16.32	6.7	91.33	1
7. UBN14008-942-1	15.61	7.0	99.33	1
8. HomWarin (recipient female parent)	15.95	6.7	104.67	1
9. RD75 (donor male parent)	15.67	6.7	109.33	1
10. IR57514 (negative check)	30.22	2.7	57.33	0
11. KDML105 (positive check)	15.71	7.0	65.67	1
F-test	*	*	*	-
LSD 0.05	0.90	0.48	6.27	-
Mean ^{1/}	15.87	6.71	102.81	1
CV (%)	3.1	4.4	3.8	-

AC = amylose content, GT = gelatinization temperature (ASV = alkaline spreading value); GC = gel consistency

*= Significance at 0.05 probability level

^{1/} Mean of seven improved rice lines resistance to blast and tolerance to submergence

ลักษณะความหอมถูกควบคุมด้วยยีนด้วย *badh2* (betaine aldehyde dehydrogenase homologue 2) มีตำแหน่งบนโครโมโซม 8 (Riabroy et al., 2013; Vanavichit et al., 2005; Wanchana et al., 2005) โดยทั่วไปยีน *Badh2* (*Os2AP*) ทำหน้าที่สังเคราะห์เอนไซม์ Betaine aldehyde dehydrogenase (BADH) หรือเอนไซม์ amino aldehyde dehydrogenase (AMADH) ซึ่งจะเปลี่ยนสาร γ -aminobutyraldehyde (GABald) ไปเป็นสาร γ -aminobutyric acid (GABA) มีผลทำให้ข้าวไม่มีกลิ่นหอม เมื่อเกิดการกลายพันธุ์จากยีนเด่น *Badh2* ไปเป็นยีนด้อย *badh2* โดยมีการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์จำนวน 8 นิวคลีโอไทป์ในบริเวณเอกซอน 7 ในยีน *Badh2* มีผลทำให้การแปลรหัสหยุดก่อนกำหนด (premature stop codon) ทำให้ข้าวพันธุ์ดังกล่าวไม่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ BADH เพื่อไปเปลี่ยนสาร GABald ไปเป็นสาร GABA ได้ แต่จะมีการสร้างสาร 2-Acetyl-1-Pyrroline (2AP) ขึ้นแทน ส่งผลทำให้ข้าวมีกลิ่นหอม (Riabroy et al., 2013; Vanavichit et al., 2005) เครื่องหมาย Aromarker มีความจำเพาะเจาะจงกับยีนที่ควบคุมลักษณะความหอม (gene specific marker) สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือช่วยในการคัดเลือก (marker-assisted selection) ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความหอมได้อย่างมีประสิทธิภาพ เครื่องหมายดังกล่าวถูกนำไปใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความหอมทั้งในประเทศและต่างประเทศอย่างกว้างขวาง (Jantaboon et al., 2011; Kate-ngam et al., 2011; Khanthong et al., 2018; Oo et al., 2015; Yi et al., 2009) ตัวอย่างเช่น การปรับปรุงสายพันธุ์ข้าว IR57514 ให้มีความหอมและมีคุณภาพการหุงต้มคล้ายข้าวขาวดอกมะลิ 105 จนได้ข้าวพันธุ์ใหม่ “หอมวาริน” (Kate-ngam et al., 2011) และการปรับปรุงพันธุ์ Manawthukha ของพม่า ซึ่งเป็นข้าวไม่มีกลิ่นหอม และมีปริมาณอะไมโลสสูงให้เป็นข้าว Manawthukha สายพันธุ์ปรับปรุงที่มีกลิ่นหอมและมีปริมาณอะไมโลสปานกลางคล้ายข้าวบาสมติ (Yi et al., 2009) เป็นต้น การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความหอมจะช่วยยกระดับราคาข้าวให้กับ

เกษตรกรได้ อย่างไรก็ตามนอกจากเกษตรกรจะเลือกปลูกข้าวที่เป็นพันธุ์ข้าวหอมแล้วยังต้องคำนึงถึงสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความหอมของข้าวอีกด้วย หากข้าวได้รับอุณหภูมิต่ำในขณะที่ข้าวสร้างรวงอ่อน ออกดอก และสร้างเมล็ด จะทำให้ข้าวสามารถสร้างสารหอมได้มากกว่าในสภาพอุณหภูมิสูง โดยข้าวที่ได้รับอุณหภูมิต่ำในระยะเก็บเกี่ยวโดยเฉพาะในระยะพลับพลึง (ข้าวออกดอกแล้ว 28-30 วัน) และมีการจัดการระบายน้ำออกจากแปลง สามารถช่วยลดการสูญเสียสารหอม 2AP ในช่วงเก็บเกี่ยวได้ (Itani et al., 2004)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลสในข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลันโดยใช้วิธี colorimetric วัดการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานแป้งที่ทราบปริมาณอะไมโลส และกราฟมาตรฐานที่มีค่า Correlation coefficient (R^2) เท่ากับ 1.000 ที่ได้จากค่าดูดกลืนแสงของข้าวพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐาน จำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105, กข21, กข23, ชัยนาท 1 และ กข6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลส พบว่า ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงทั้ง 7 สายพันธุ์ มีปริมาณอะไมโลสอยู่ในช่วง 15.60-16.32 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างสถิติกับปริมาณอะไมโลสของข้าวขาวดอกมะลิ 105 (15.71 เปอร์เซ็นต์) กข75 (15.67 เปอร์เซ็นต์) และหอมวาริน (15.95 เปอร์เซ็นต์) แต่แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับปริมาณอะไมโลสของข้าวสายพันธุ์ IR57514 ซึ่งเป็นพันธุ์ตรวจสอบที่มีปริมาณอะไมโลสสูง (30.22 เปอร์เซ็นต์) (Table 2) ผลการประเมินปริมาณอะไมโลสให้ผลสอดคล้องกับการตรวจสอบยีน Wx^b โดยใช้เครื่องหมาย Waxy (Figure 1B) ลักษณะปริมาณอะไมโลสต่ำ ถูกควบคุมด้วยแอลลีล Wx^b ของยีน Waxy ซึ่งมีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 6 ทำหน้าที่สังเคราะห์เอนไซม์ granule bound starch synthase (GBSS) ในการสังเคราะห์อะไมโลส โดยยีน Waxy มี 3 แอลลีล ประกอบด้วย แอลลีล Wx^a ส่วนใหญ่พบในข้าวเจ้าอินดิกาที่มีปริมาณอะไมโลสปานกลางถึงสูง ส่วนแอลลีล Wx^b พบในข้าวเจ้าอินดิกาที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำและข้าวจาปอนิกา และแอลลีลด้อย wx พบในข้าวเหนียว Wanchana et al. (2003) รายงานการเพิ่มขึ้นของนิวคลีโอไทป์ใน exon 2 ของยีน Waxy จำนวน 23 นิวคลีโอไทป์ (23 bp duplication) ทำให้เกิดการแปลรหัสหยุดก่อนกำหนด ส่งผลให้ข้าวสังเคราะห์อะไมโลสได้น้อยลงหรือสร้างไม่ได้เลย ตัวอย่างเช่น ข้าวเหนียว กข6 ส่วนข้าวที่มีแอลลีล Wx^a จะมีลำดับนิวคลีโอไทด์ AGGTATA ที่ตำแหน่ง 5' splice site ใน intron 1 ของยีน Waxy เป็นการแสดงออกของยีนแบบปกติ (common allele) ส่งผลให้ข้าวสร้างเอนไซม์ GBSS ที่สมบูรณ์ ทำให้สามารถสังเคราะห์อะไมโลสได้ในปริมาณสูง โดยพบว่ามีปริมาณอะไมโลสสูงกว่าข้าวที่มีแอลลีล Wx^b ถึง 10 เท่า (Sano, 1984) เช่น ข้าวพันธุ์เส้าไห้ มีปริมาณอะไมโลสสูงประมาณ 27-28 เปอร์เซ็นต์ ส่วนข้าวที่มีแอลลีล Wx^b เป็นผลมาจากการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ ตรงตำแหน่ง 5' splice site ใน intron 1 จากนิวคลีโอไทป์ G ไปเป็น T (AIGTATA) [G-T polymorphism] ทำให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ GBSS ลดลง ส่งผลให้ข้าวมีปริมาณอะไมโลสในปริมาณต่ำ (Ayres et al., 1997; Hirano et al., 1998) เช่น ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งมีปริมาณอะไมโลสประมาณ 13-18 เปอร์เซ็นต์ ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำเมื่อหุงสุกจะมีความนุ่มเหนียวมากกว่าข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสปานกลางถึงสูง อย่างไรก็ตามข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสเท่ากันก็ยังมีมีความนุ่มของข้าวสุกที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจจะเกี่ยวข้องกับความคงตัวของแป้งสุกและอุณหภูมิแป้งสุกซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญต่อลักษณะคุณภาพการหุงต้มของข้าวในแต่ละพันธุ์ด้วย (Tan et al., 1999) การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อการบริโภคและส่งออกในปัจจุบันนิยมพันธุ์ข้าวหอมพื้นนุ่มที่มีคุณภาพการหุงต้มคล้ายกับข้าวดอกมะลิ 105 เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งสายพันธุ์ข้าวปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลันจากงานวิจัยนี้ก็มีลักษณะสำคัญดังกล่าวเช่นกัน

จากผลการประเมินลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกของข้าวโดยใช้ค่าการสลายตัวของเมล็ดข้าวในสารละลายด่าง (KOH) ความเข้มข้น 1.7 เปอร์เซ็นต์ (ASV) (Table 2 และ Figure 2) พบว่า ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลันทั้ง 7 สายพันธุ์ มีค่า ASV อยู่ในช่วง 6.7-7.0 ไม่แตกต่างทางสถิติกับค่า ASV ของพันธุ์พ่อ (กข75, ASV=6.7) พันธุ์แม่ (หอมวาริน, ASV=6.7) และพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ตรวจสอบอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ (ASV=7.0) บ่งชี้ว่าข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ดังกล่าวมีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ แต่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับค่าการสลายตัวของเมล็ดข้าวในสารละลายด่างของ IR57514 (ASV=2.7) ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์ตรวจสอบที่มีอุณหภูมิแป้งสุก

สูง ค่า ASV มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิที่ทำให้แป้งข้าวกลายเป็นเจล ซึ่งค่าดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในการประเมินระยะเวลาในการหุงต้มข้าวได้ โดยข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ เช่น ข้าวดอกมะลิ 105 นั้นพบว่าอุณหภูมิที่ทำให้แป้งข้าวเปลี่ยนเป็นเจlnั้นใช้อุณหภูมิต่ำกว่า 69 องศาเซลเซียส ซึ่งจะสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ใช้สำหรับหุงข้าวให้สุก ประมาณ 12-17 นาที ส่วนข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกสูง ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ ใช้ IR57514 ซึ่งเป็นสายพันธุ์แม่ของหอมวารี เป็นพันธุ์ตรวจสอบที่มีอุณหภูมิแป้งสุกสูง พบว่า อุณหภูมิที่ทำให้แป้งข้าวของ IR57514 เปลี่ยนเป็นเจlnั้นต้องใช้อุณหภูมิมากกว่า 75 องศาเซลเซียส โดยจะใช้เวลาในการหุงต้มมากกว่า 24 นาที (Department of Agriculture, 2004) ซึ่งผลการประเมินอุณหภูมิแป้งสุกของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงดังกล่าวให้ผลสอดคล้องกับการตรวจสอบยีน *SSIIa-TT* โดยใช้เครื่องหมาย SNP2340-41 (Figure 1C)

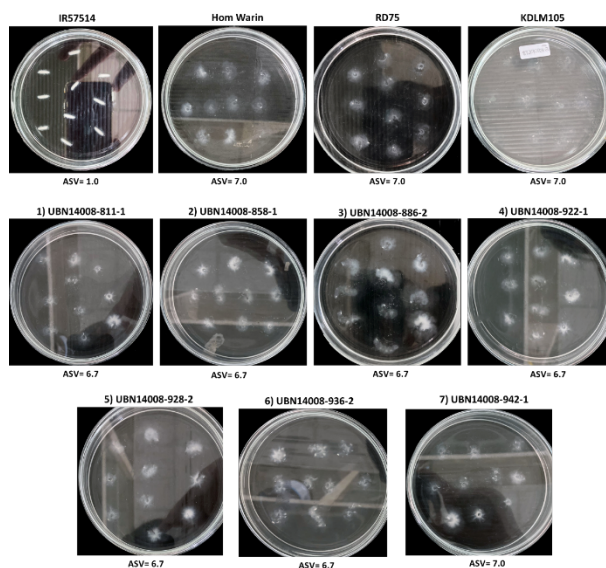


Figure 2 Assessment of alkali digestion and spreading in rice seeds of seven improve rice lines resistance to blast and tolerance to submergence (number 1-7), female parent (HomWarin), male parent (RD75), KDML105 (positive check variety) and IR57514 (negative check variety) using 1.7% KOH solution

ลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกต่ำถูกควบคุมด้วยยีน *SSIIa-TT* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 6 ทำหน้าที่สังเคราะห์เอนไซม์ *soluble starch synthase II a (SSIIa)* (Bao et al., 2006; Kate-ngam et al., 2008; Siangliw et al., 2000; Tian et al., 2005) มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์อะไมโลเพคติน การแทนที่ของนิวคลีโอไทป์จาก GC ไปเป็น TT (dinucleotide SNP) ที่ตำแหน่ง 2340-41 ใน exon 8 ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนจากลิวซีน (leucine) ในข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกปานกลางถึงสูง ไปเป็นฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ในข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ โดยข้าวที่มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ (แอลลีล *SSIIa-TT*) จะสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ทำให้แป้งข้าวสุกได้เร็วกว่าข้าวอุณหภูมิแป้งสุกปานกลาง-สูง (แอลลีล *SSIIa-GC*) จากความแตกต่างดังกล่าว Kate-ngam et al. (2008) ได้พัฒนาเครื่องหมาย SNP2340-41 เพื่อใช้ในการติดตามลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกของข้าวได้ เครื่องหมาย SNP2340-41 ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำอย่างกว้างขวางในประเทศไทย (Kate-ngam et al., 2011; Oo et al., 2015; Win et al., 2013; Yi et al., 2009) สอดคล้องกับ Jin et al. (2010) ซึ่งรายงานการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกต่ำและปริมาณอะไมโลสต่ำ โดยใช้เครื่องหมาย *SSIIa-TT* และเครื่องหมาย *Waxy* ที่

ตามลำดับ โดยนำไปคัดเลือกในประชากรลูกผสมกลับระหว่างข้าวพันธุ์ II-32B (พันธุ์รับ) และพันธุ์ Yixiang B (พันธุ์ให้) นำต้นที่ผ่านการคัดเลือกมาวิเคราะห์คุณภาพการหุงต้มโดยวิธีการทางเคมี พบว่า ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง BC₂F₄ ที่คัดเลือกได้มีอุณหภูมิแป้งสุกต่ำโดยมีค่า pasting temperature อยู่ในช่วง 71.7-73.9 องศาเซลเซียส และมีปริมาณอะไมโลสต่ำเฉลี่ยตั้งแต่ 14.4-15.5 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับข้าว Yixiang B ที่มีลักษณะอะไมโลสต่ำและอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ

นอกเหนือจากลักษณะปริมาณอะไมโลสและอุณหภูมิแป้งสุกแล้ว ความคงตัวแป้งสุกเป็นอีกหนึ่งลักษณะสำคัญที่ใช้ประเมินคุณภาพการหุงต้มของข้าว ถึงแม้ลักษณะดังกล่าวจะยังไม่มีการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้คัดเลือก แต่การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้มีคุณภาพการหุงต้มตามเป้าประสงค์ก็จำเป็นต้องมีการประเมินลักษณะความคงตัวแป้งสุกเพื่อใช้เป็นข้อมูลประจำสายพันธุ์ข้าวที่มีการพัฒนาขึ้นมาด้วย จากผลการประเมินลักษณะความคงตัวแป้งสุกโดยใช้ค่าระยะทางการไหลของแป้งสุก พบว่า ระยะทางการไหลแป้งสุกของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงด้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลันทั้ง 7 สายพันธุ์ มีความผันแปรตั้งแต่ 91.33 มิลลิเมตร (UBN14008-936-2) ถึง 120.67 มิลลิเมตร (UBN14008-928-2) (Table 2) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับพันธุ์แม่ (หอมวาริน , 104.67 มิลลิเมตร) พันธุ์พ่อ (กข75, 109.33 มิลลิเมตร) และขาวดอกมะลิ 105 (65.67 มิลลิเมตร) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีความคงตัวแป้งสุกอ่อน โดยมีระยะการไหลของแป้งสุกมากกว่า 60 มิลลิเมตร (Graham, 2002; Naivikul, 2007) ถึงแม้จะมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญก็ตาม ($p>0.05$) (Table 2) ส่วน IR57514 ซึ่งใช้เป็นพันธุ์ตรวจสอบความคงตัวแป้งสุกนุ่มปานกลาง พบว่ามีระยะทางการไหลแป้งสุกเท่ากับ 57.33 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับระยะทางการไหลของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงฯ ทั้ง 7 สายพันธุ์ ลักษณะความคงตัวแป้งสุกเป็นอีกหนึ่งลักษณะที่มีความสำคัญต่อคุณภาพการหุงต้มของข้าวถูกควบคุมด้วยยีนหลัก *Waxy* บนโครโมโซม 6 และยีนรองบนโครโมโซม 1, 2, 7 (Lanceras et al., 2000; Tian et al., 2005; Zhang et al., 2012) ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสใกล้เคียงกันพบว่าจะมีคุณภาพการรับประทาน (eating quality) แตกต่างกัน ทั้งนี้เป็นผลมาจากความแตกต่างของความคงตัวแป้งสุกและอุณหภูมิแป้งสุกของข้าว พันธุ์ดังกล่าว ผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมรับประทานข้าวที่มีความคงตัวแป้งสุกอ่อน (soft gel consistency) ตัวอย่างเช่น ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ กข15 ดังนั้น ยีน *Waxy* นอกจากจะมีบทบาทสำคัญต่อลักษณะปริมาณอะไมโลสแล้วยังมีบทบาทต่อลักษณะความคงตัวแป้งสุกอีกด้วย Bao et al. (2006) รายงานว่าจากการแทนที่ของนิวคลีโอไทป์ที่ exon 10 ของยีน *Waxy* จาก C ไปเป็น T ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนจากซีรีน (serine) ในข้าวที่มีความคงตัวแป้งสุกแข็งไปเป็นโพรลีน (proline) ส่งผลให้ข้าวมีความคงตัวแป้งสุกอ่อน นอกจากนั้นยังมีอิทธิพลของยีน *SSIIa* ที่ควบคุมลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกเข้ามาเกี่ยวข้องอีกด้วย (Waters et al., 2006) ปัจจุบันนักปรับปรุงพันธุ์ข้าวส่วนใหญ่ของไทยให้ความสำคัญต่อลักษณะปริมาณอะไมโลสต่ำและความคงตัวแป้งสุกอ่อนเพื่อปรับปรุงคุณภาพการรับประทานและการหุงต้ม (eating and cooking qualities) ของข้าวพันธุ์ใหม่ให้มีลักษณะนุ่มเหนียวคล้ายขาวดอกมะลิ 105

จากการประเมินความหอมและคุณภาพการหุงต้มของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงด้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน พบว่า ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงฯ ทั้ง 7 สายพันธุ์ เมล็ดมีกลิ่นหอม มีปริมาณอะไมโลสต่ำ และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ เช่นเดียวกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 พันธุ์แม่ (หอมวาริน) และพันธุ์พ่อ (กข75) ผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการนำเครื่องหมาย Aromarker *Waxy* และ SNP2340-41 ที่จำเพาะกับยีน *badh2 Wx^b* และ *SSIIa-TT* มาใช้เป็นเครื่องมือช่วยตรวจสอบยีนควบคุมลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ ตามลำดับ ในสายพันธุ์ปรับปรุงด้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน เครื่องหมายดีเอ็นเอดังกล่าวจัดเป็นเครื่องหมายที่มีความจำเพาะกับยีนควบคุมลักษณะเป้าหมาย (gene specific markers) สามารถคัดเลือกที่ตำแหน่งของยีนได้โดยตรง ไม่มีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงมีความแม่นยำสูง การนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้เป็นเครื่องมือช่วยติดตามยีนเป้าหมายหรือช่วยคัดเลือกสามารถช่วยย่นระยะเวลาและลดค่าใช้จ่ายในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวได้ เนื่องจากการคัดเลือกลักษณะดังกล่าวต้องรอให้ข้าวสุกแก่เก็บเกี่ยวแล้วจึงนำมาประเมินคุณภาพการหุงต้มตามวิธีการประเมินลักษณะต่างๆ ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความหอมและคุณภาพการหุงต้มโดยใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐาน (conventional breeding) จึงใช้เวลานานไม่ต่ำกว่า 8-10 ปี รวมทั้งเสีย

ค่าใช้จ่ายในการดูแลต้นข้าวตลอดอายุการเจริญเติบโต อีกทั้งกรณีของลักษณะความหอมซึ่งถูกควบคุมด้วยยีนด้อย ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความหอมโดยใช้การปรับปรุงแบบผสมกลับนั้น ในกรอบของการผสมกลับจำเป็นต้องมีการผสมตัวเองเพื่อให้ยีนด้อยแสดงลักษณะดังกล่าวออกมา จึงจะคัดเลือกลักษณะความหอมได้ ขณะที่การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกสามารถคัดเลือกยีนความหอม (*badh2*) ซึ่งเป็นยีนด้อยได้อย่างมีประสิทธิภาพตั้งแต่ต้นข้าวมีอายุเพียง 2-3 สัปดาห์ ไม่ทำลายต้นข้าว และที่สำคัญสามารถคัดเลือกลักษณะเป้าหมายได้หลายลักษณะพร้อม ๆ กัน (Kate-ngam, 2014) ดังนั้นการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอจึงเข้ามามีบทบาทในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความหอมและคุณภาพการหุงต้มตามเป้าประสงค์ของผู้บริโภคและอุตสาหกรรม ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงด้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลันที่มีการยืนยันลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ ความคงตัวแป้งสุกอ่อนนุ่ม และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ จะถูกนำเข้าสู่ขั้นตอนการศึกษาพันธุ์ การประเมินศักยภาพและเสถียรภาพการให้ผลผลิตในระดับสถานี ระหว่างสถานี และแปลงเกษตรกรต่อไป

สรุปผลการศึกษา

การตรวจสอบยีน *badh2* *Wx^b* และ *SSIIa-TT* ในข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงด้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลันทั้ง 7 สายพันธุ์ ให้ผลสอดคล้องกับการประเมินลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลส และอุณหภูมิแป้งสุก สายพันธุ์ข้าวปรับปรุงดังกล่าวมีลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ ความคงตัวแป้งสุกอ่อนนุ่ม และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ เช่นเดียวกับพันธุ์แม่ (หอมวาริน) พันธุ์พ่อ (กข75) และข้าวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐาน ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงถึงประสิทธิภาพการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการตรวจสอบลักษณะความหอมและคุณภาพการหุงต้มในสายพันธุ์ข้าวปรับปรุงด้านทานโรคไหม้และทนน้ำท่วมฉับพลัน

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความวิจัยนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (สวก.) และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ขอขอบคุณศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีที่ให้ความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวในการประเมินคุณภาพการหุงต้มในงานวิจัยนี้

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ความคิดริเริ่ม และ สมมุติฐาน: สุธีพร เกตุงาม. การออกแบบการทดลอง และ criteria: สุธีพร เกตุงาม. การปฏิบัติการวิจัยและการเก็บข้อมูล: ลดารัตน์ ทันทิ, ศักดา คงสีลา. การจัดเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผล: ลดารัตน์ ทันทิ, สุธีพร เกตุงาม, ฉันทมาศ เชื้อแก้ว. การวิพากษ์วิจารณ์ผล การแสดงการเปรียบเทียบกับข้อสรุปหรือองค์ความรู้ หรือทฤษฎีเดิม: ลดารัตน์ ทันทิ สุธีพร เกตุงาม. การมีส่วนร่วมในการเขียนต้นฉบับบทความ: ลดารัตน์ ทันทิ, ฉันทมาศ เชื้อแก้ว. การให้การสนับสนุนเครื่องมือ ห้องปฏิบัติการ และ ทรัพยากร: สุธีพร เกตุงาม, อุไรวรรณ คชสถิตย์. การแก้ไขและปรับปรุงบทความวิจัย: สุธีพร เกตุงาม, ฉันทมาศ เชื้อแก้ว. การจัดทำภาพประกอบและตารางข้อมูล: ฉันทมาศ เชื้อแก้ว.

เอกสารอ้างอิง

- Ayres, N. M., McClung, A. M., Larkin, P. D., Bligh, H. F. J., Jones, C. A., & Park, W. D. (1997). Microsatellites and a single-nucleotide polymorphism differentiate apparent amylose classes in an extended pedigree of US rice germplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, 94(6), 773–781.
- Bao, J. S., Corke, H., & Sun, M. (2006). Nucleotide diversity in *starch synthase IIa* and validation of single nucleotide polymorphisms in relation to starch gelatinization temperature and other physicochemical properties in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, 113(7), 1171–1183.
- Cagampang, G. B., Perez, C. M., & Juliano, B. O. (1973). A gel consistency test for eating quality of rice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 24(1), 1589–1594.
- Cuevas, R. P., & Fitzgerald, M. A. (2012). **Genetic Diversity in Plants-Genetic Diversity of Rice Grain Quality**. Retrieved from: <http://www.intechopen.com/books/genetic-diversity-in-plants/genetics-of-grain-quality>.
- Department of Agriculture. (2004). **Quality of Rice and Testing for the Detection of Contaminants in Thai Hom Mali Rice**. Jirawat Express Co., Ltd. (in Thai).
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, 12(1), 13–15.
- Fitzgerald, M. A., McCouch, S. R., & Hall, R. D. (2009). Not just a grain of rice: the quest for quality. **Trends in Plant Science**, 14(3), 133–139.
- Graham, R. (2002). **A Proposal for IRRI to Establish a Grain Quality and Nutrition Research Center**. International Rice Research Institute.
- Hirano, H. Y., Eiguchi, M., & Sano, Y. (1998). A single base change altered the regulation of the waxy gene at the posttranscriptional level during the domestication of rice. **Molecular Biology and Evolution**, 15(8), 978–987.
- Hori, K., & Sun, J. (2022). Rice grain size and quality. **Rice**, 15(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s12284-022-00579-z>.
- International Rice Research Institute. (2013). **SES Standard Evaluation System for Rice**. International Rice Research Institute.
- Itani, T., Tamaki, M., Hayata, Y., Fushimi, T., & Hashizume, K. (2004). Variation of 2-acetyl-1-pyrroline concentration in aromatic rice grains collected in the same region in Japan and factors affecting its concentration. **Plant Production Science**, 7(2), 178–183.
- Jantaboon, J., Siangliw, M., Im-mark, S., Jamboonsri, W., Vanavichit, A., & Toojinda, T. (2011). Ideotype breeding for submergence tolerance and cooking quality by marker-assisted selection in rice. **Field Crops Research**, 123(3), 206–213.
- Jin, L., Lu, Y., Shao, Y., Zhang, G., Xiao, P., Shen, S., Corke, H., & Bao, J. (2010). Molecular marker assisted selection for improvement of the eating, cooking and sensory quality of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Cereal Science**, 51(1), 159–164.
- Juliano, B. O., Perez, C. M., Blakeney, A. B., Castillo, T., Kongseeree, N., Laignelet, B., Lapis, E. T., Murty, V. V. S., Paule, C. M., & Webb, B. D. (1981). International cooperative testing on the amylose content of milled rice. **Starch-Stärke**, 33(5), 157–162.
- Kate-ngam, S. (2003). DNA markers in plant breeding. **Journal of Ubon Ratchathani University**, 5(2), 37–58. (in Thai).
- Kate-ngam, S. (2014). **Molecular Plant Breeding**. Ubon Ratchathani University Press. (in Thai).
- Kate-ngam, S., Kimchaiyong, W., Wanchana, S., & Toojinda, T. (2008). Association analysis and functional marker development of *soluble starch synthase IIa (SSIIa)* and gelatinization properties in Thai rice. In **Proceeding of the 5th International Crop Science Congress & exhibition: Recognizing Past Achievements, Meeting Future Needs**, pp. 1–4. Jeju International Convention Center.
- Kate-ngam, S., Kotchasatit, U., Jairin, J., Kongsila, S., Tuntree, L., & Lakote, P. 2014. Molecular breeding for the development of blast and brown planthopper resistance in Jasmine IR57514 rice line. In **The 4th International Rice Congress (IRC2014)**, pp. 107. International Trade and Exhibition Centre (BITEC).
- Kate-ngam, S., Riabroy, K., Toojinda, T., & Kotchasatit, U. (2011). Conversion of wide adapted rice cultivar IR57514 into Jasmine-like cooking quality through marker assisted backcrossing. In **Proceeding of BIT's 2nd World DNA and Genome Day 2011: Reopen Bio-Gateway to Green Economy Era**, pp. 286. Dalian World EXPO Center.

- Khanthong, S., Kate-ngam, S., Riabroy, K., Lanceras-Siangliw, J., & Toojinda, T. (2018). Development of aromatic glutinous rice for rainfed lowland areas by marker assisted selection. **Chiang Mai Journal of Science**, 45(6), 2312-2321.
- Kuntawong, W., Jamjod, S., Yimyam, N., & Prom-u-thai, C. T. (2015). Genotypic variation of cooking qualities in local rice varieties from Chiang Mai, Chiang Rai and Mae Hong Son provinces. **Khon Kaen Agriculture Journal**, 43(4), 687-698. (in Thai).
- Lanceras, J. C., Huang, Z. L., Naivikul, O., Vanavichit, A., Ruanjaichon, V., & Tragoonrung, S. (2000). Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai jasmine rice (KDML105). **DNA Research**, 7(2), 93-101.
- Little, R. R., Hilder, G. B., & Dawson, E. H. (1958). Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. **Cereal Chemistry**, 35(2), 111-126.
- Naivikul, O., (2007). **Rice: Science and Technology**. 2nd Ed. Kasetsart University Press. (in Thai).
- Office of Agricultural Economics. (2023). **Agricultural Economic Information**. Retrieved from: <https://oae.go.th/uploads/files/2025/05/16/ddfa8a4b80299884.pdf>. (in Thai).
- Oo, K. S., Kongjaimun, A., Khanthong, S., Yi, M., Myint, T. T., Korinsak, S., Siangliw, J. L., Myint, K. M., Vanavichit, A., Malumpong, C., & Toojinda, T. (2015). Characterization of Myanmar Paw San Hmwe accessions using functional genetic markers. **Rice Science**, 22(2), 53-64.
- Riabroy, K., Khanthong, S., Toojinda, T., & Kate-ngam, S. (2013). Fragrance gene and molecular basis of fragrant rice. **Thai Journal of Genetics**, 6(2), 93-114. (in Thai).
- Sano, Y. (1984). Differential regulation of *waxy* gene expression in rice endosperm. **Theoretical and Applied Genetics**, 68(5), 467-473.
- Siangliw, J., Huang, Z. L., Naivikul, O., Vanavichit, A., Ruanjaichon, V., & Tragoonrung, S. (2000). Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai jasmine rice (KDML105). **DNA Research**, 7(2), 93-101.
- Sood, B. C., & Siddiq, E. A. (1978). A rapid technique for scent determination in rice [India]. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, 38(2), 268-271.
- Tan, Y., Li, J., Yu, S., Xing, Y., Xu, C., & Zhang, Q. (1999). The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou 63. **Theoretical and Applied Genetics**, 99(1), 642-648.
- Tian, R., Jiang, G. H., Shen, L. H., Wang, L. Q. & He, Y. Q. (2005). Mapping quantitative trait loci underlying the cooking and eating quality of rice using a DH population. **Molecular Breeding**, 15(2), 117-124.
- Vanavichit, A., Yoshihashi, T., Wanchana, S., Areekit, S., Saengsraku, D., Kamolsukyunyong, W. J., Lanceras, J., Toojinda, T., & Tragoonrung, S. (2005). Positional cloning of *Os2AP*, the aromatic gene controlling the biosynthetic switch of 2-acetyl-1-pyrroline and gamma-aminobutyric acid (GABA). In **5th International Rice Genetics Symposium**, pp. 44. International Rice Research Institute.
- Wanchana, S., Kamolsukyunyong, W., Ruengphayak, S., Toojinda, T., Tragoonrung, S., & Vanavichit, A. (2005). A rapid construction of a physical contig across a 4.5 cm region for rice grain aroma facilitates marker enrichment for positional cloning. **ScienceAsia**, 31(3), 299-306.
- Wanchana, S., Toojinda, T., Tragoonrung, S., & Vanavichit, A. (2003). Duplicated coding sequence in the *waxy* allele of tropical glutinous rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Science**, 165(6), 1193-1199.
- Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q., & Wang, S. (2015). Starch retrogradation: a comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 14(5), 568-585.
- Waters, D. L. E., Henry, R. J., Reinke, R. F., & Fitzgerald, M. A. (2006). Gelatinization temperature of rice explained by polymorphisms in starch synthase. **Plant Biotechnology Journal**, 4(1), 115-122.
- Win, K. M., Korinsak, S., Sirithunya, P., Lanceras-Siangliw, J., Jamboonsri, W., Da, T., Patarapuwadol, S., & Toojinda, T. (2013). Marker assisted introgression of multiple genes for bacterial blight resistance into aromatic Myanmar rice MK-75. **Field Crops Research**, 154(1), 164-171.
- Yi, M., Nwe, K. T., Vanavichit, A., Chai-arree, W., & Toojinda, T. (2009). Marker assisted backcross breeding to improve cooking quality traits in Myanmar rice cultivar Manawthukha. **Field Crops Research**, 113(2), 178-186.
- Zhang, Z., Li, M., Fang, Y., Liu, F., Lu, Y., Meng, Q., Peng, J., Yi, X., Gu, M., & Yan, Y. (2012). Diversification of the *waxy* gene is closely related to variations in rice eating and cooking quality. **Plant Molecular Biology**, 30(1), 462-469.