

# การคัดเลือกข้าวลูกผสมระหว่างพันธุ์แสง 5 และพันธุ์ปทุมธานี 1 เพื่อเพิ่มปริมาณสารฟีนอลิกและผลผลิตในชั่วที่ 4 และชั่วที่ 5

## Selection of Cross Between Saeng 5 and Pathum Thani 1 Rice Varieties to Increase Phenolic Content and Yield in the F4 and F5 Generations

เกริกเกียรติ ปัญญาหล้า<sup>1</sup> ชนาکانต์ เทโบลต์ พรมอุทัย<sup>1,2</sup>  
ต่อนภา พุสดี<sup>1,2</sup> และ ศันสนีย์ จำจด<sup>1,2\*</sup>  
Kroegiat Panyala<sup>1</sup>, Chanakan Thebault Prom-u-thai<sup>1,2</sup>,  
Tonapha Pusadee<sup>1,2</sup> and Sansanee Jamjod<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

<sup>1</sup>Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

<sup>2</sup>ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

<sup>2</sup>Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

\*Corresponding author: Email: sansanee.j@cmu.ac.th

(Received: 19 April 2024; Accepted: 4 October 2025)

**Abstract:** The Saeng 5 variety, a local purple rice is characterized by its purple pericarp and high grain phenolic content, which possesses antioxidant properties. However, it has low yield compared to modern rice varieties. This research aimed to evaluate and select rice lines with black pericarp, high phenolic content, and high yield. The selection was made from the 3<sup>rd</sup> generation cross between Saeng 5 and Pathum Thani 1, with a total of 14 plants with pigmented pericarp and high grain phenol content. In the 4<sup>th</sup> generation, the segregating population was grown in experimental pots under greenhouse conditions during the off-season in 2020, with 10 plants per populations. Four plants with high yield and high phenolic content were selected. Seeds of F<sub>5</sub> lines were grown in the field during the rainy season in 2020. The final 7 lines of purple rice were selected for high phenol content, black pericarp, and high grain yield. The phenolic content ranged from 753.0 to 1237.4 mg of GAE per 100 g, which is higher than the Saeng 5 variety (533.34 mg of GAE per 100 g) and the Pathum Thani 1 variety (not detectable level of phenol content). In addition, the selected lines produced high grain yield which ranged from 20.2 to 24.6 g per plant. The selected lines can serve as a vital genetic resource for breeding and as a genetic base for selecting high-phenol, high-yield rice varieties in the future.

**Keywords:** Selection, purple rice, black sticky rice, phenol

**บทคัดย่อ:** ข้าวก่ำพันธุ์แสง 5 เป็นข้าวพื้นเมืองที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำและมีสารฟีนอลสูง (phenol) ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) แต่ให้ผลผลิตต่ำเมื่อเทียบกับข้าวสายพันธุ์สมัยใหม่ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวลูกผสมที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ ปริมาณฟีนอลสูง และให้ผลผลิตสูง โดยคัดเลือกจากประชากรลูกผสมชั่วที่ 3 ระหว่างข้าวพันธุ์แสง 5 และปทุมธานี 1 ได้ทั้งหมดจำนวน 14 ต้น นำไปปลูกประเมินและคัดเลือกในชั่วที่ 4 และ 5 โดยในประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 ปลูกในกระถางทดลองสภาพนาสวน ในโรงเรือนทดลอง ในฤดูนาปรัง พ.ศ. 2563 ปลูกประชากรละ 10 ต้นคัดเลือกได้ทั้งหมด 4 ต้นที่ให้ผลผลิตและมีปริมาณฟีนอลสูงเป็นตัวแทนของประชากร ในชั่วที่ 5 ปลูกคัดเลือกในแปลงทดลอง พบว่าพันธุ์แม่แสง 5 มีปริมาณฟีนอล 533.3 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม ในขณะที่พันธุ์พ่อปทุมธานี 1 ไม่พบสารฟีนอล สามารถคัดเลือกต้นที่มีปริมาณฟีนอลสูง เยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ และผลผลิตสูงกว่าพันธุ์แม่ได้ 7 สายพันธุ์ โดยมีปริมาณฟีนอลระหว่าง 753.0-1237.4 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม และผลผลิตระหว่าง 20.2-24.6 กรัมต่อต้น สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ในครั้งนี้สามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวคุณภาพพิเศษที่มีปริมาณฟีนอลสูงและให้ผลผลิตสูงในอนาคต

**คำสำคัญ:** การคัดเลือก ข้าวก่ำ ข้าวเหนียวดำ ฟีนอล

## คำนำ

ข้าวก่ำ หรือข้าวเหนียวดำ เป็นสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีการปลูกในพื้นที่ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ด้วยลักษณะเฉพาะที่แตกต่างไปจากข้าวทั่วไป คือการปรากฏของสีม่วง ตามส่วนต่าง ๆ เช่น ใบ กาบใบ ลำต้น เปลือกเมล็ดข้าว รวมไปถึงการปรากฏสีม่วงบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นต้น (Kaladee *et al.*, 2000) ในข้าวพื้นเมืองที่มีการปรากฏสีม่วงเหล่านั้นนี้ เกิดจากการสะสมของสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งเป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เช่นเดียวกับฟีนอล (phenol) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สารคุณภาพพิเศษดังกล่าวพบในข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำเป็นส่วนใหญ่ จากการศึกษาของ Lichanporn *et al.* (2019) ที่วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลในข้าวก่ำ 2 สายพันธุ์และข้าวขาว 3 สายพันธุ์ พบว่า ข้าวก่ำทั้ง 2 สายพันธุ์มีปริมาณฟีนอลในเมล็ดรวม สูงกว่าข้าวขาวทุกสายพันธุ์ ซึ่งสารคุณภาพพิเศษที่พบในข้าวเหนียวดำ มีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นให้ร่างกายเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานต่อโรคต่าง ๆ นอกจากนั้น ในสารประกอบฟีนอลยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยป้องกันโรคเรื้อรัง เช่น เบาหวาน ความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ และมะเร็ง โดยกลไกหลัก

จากฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน ซึ่งช่วยลดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายที่เป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ (González-Burgos and Gómez-Serranillos, 2021) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวที่เป็นสีม่วงเกิดจากการควบคุมของยีนในกลุ่ม *Rc* (red pericarp) และ *Pb* (purple pericarp) ซึ่งควบคุมการแสดงออกของสารแอนโทไซยานินในเยื่อหุ้มเมล็ด โดยยีน *Rc* เป็นยีนเด่นที่ควบคุมลักษณะสีแดงของเยื่อหุ้มเมล็ด ในขณะที่ยีน *Pb* เป็นยีนด้อยที่ควบคุมลักษณะสีม่วงของเยื่อหุ้มเมล็ด ซึ่งการแสดงออกของทั้งสองยีนนี้ทำให้เกิดสีม่วงเข้มของเยื่อหุ้มเมล็ด (Sweeney *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตาม ปัจจัยสภาพแวดล้อม เช่น ความเครียดจากอุณหภูมิ และสภาวะขาดน้ำ ก็มีผลต่อการสะสมของสารประกอบฟีนอลในเมล็ดข้าวด้วยเช่นกัน (Sharma *et al.*, 2019) ดังนั้น ในการคัดเลือกข้าวที่มีปริมาณฟีนอลสูง จึงต้องพิจารณาทั้งอิทธิพลของพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมประกอบการคัดเลือก

กลุ่มวิจัยทรัพยากรพันธุกรรมและธาตุอาหารพืช มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ได้เก็บรวบรวมพันธุ์ข้าวพื้นเมืองจากที่สูงภาคเหนือของประเทศไทย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินและคัดเลือกพันธุ์บริสุทธิ์เพื่อคุณภาพพิเศษคุณค่าทางโภชนาการสูงเช่น แอนโทไซยานิน ธาตุเหล็ก ฟีนอลในเมล็ด (Jamjod *et al.*, 2015) ปลูกประเมินลักษณะทางสัณฐานและประเมินปริมาณ

สารฟีนอลเปรียบเทียบกับพันธุ์มาตรฐาน ไม่พบการกระจายตัวในลักษณะทางสัณฐาน และสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีค่าปริมาณฟีนอลสูง คือ พันธุ์แสง 5 มช. (Khao Saeng 5; KS5) ซึ่งมีปริมาณฟีนอลในเมล็ดข้าวกล้องสูง 655.4 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม (Plant Varieties Protection Office, 2020) อย่างไรก็ตามพบว่า ในสายพันธุ์ข้าวไร่ที่ได้คัดเลือก สามารถปลูกได้เพียงปีละหนึ่งครั้ง และมีผลผลิตที่ต่ำ เมื่อเทียบกับข้าวพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ที่ให้ผลผลิตที่สูงและสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี จึงได้สร้างลูกผสมระหว่างข้าวพันธุ์คัดเลือกคุณภาพพิเศษสูงกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่เป็นข้าวพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่โดยข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 เป็นข้าวเจ้า ไม่ไวต่อช่วงแสง ลำต้นแข็งแรง ให้ผลผลิตสูง เพื่อปรับปรุงข้อด้อยของพันธุ์ข้าวแสง 5 มช. โดย Tonking *et al.* (2022) ได้ศึกษาในประชากรลูกผสมชั่วที่ 1 และ 2 ระหว่างข้าวพันธุ์แสง 5 เป็นพันธุ์แม่ และปทุมธานี 1 เป็นพันธุ์พ่อ พบว่าในประชากรลูกผสมชั่วที่ 1 มีจำนวนหน่อต่อต้น จำนวนรวงต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อรวง มีค่าใกล้เคียงกับพันธุ์แม่ อย่างไรก็ตามประชากรลูกผสมมีความสูงต้นเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์แม่ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 95 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่าพันธุ์แม่ที่มีความสูงต้นเฉลี่ย 80 เซนติเมตร ในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 พบการกระจายตัวในลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ด คัดเลือกต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในเมล็ดจำนวน 129 ต้น คัดเลือกต้นที่มีปริมาณฟีนอลในเมล็ดสูงกว่าพันธุ์พ่อแม่ แต่ยังคงมีผลผลิตเฉลี่ยระหว่างสายพันธุ์พ่อแม่เป็นตัวแทนประชากรปลูกประเมินและคัดเลือกในชั่วที่ 3

สำหรับงานวิจัยนี้ เป็นงานวิจัยต่อเนื่อง ซึ่งได้เมล็ดพันธุ์ชั่วที่ 3 ระหว่างข้าวพันธุ์แสง 5 และพันธุ์ปทุมธานี 1 จากการศึกษาของ Tonking *et al.* (2022) ระหว่างข้าวพันธุ์แสง 5 และปทุมธานี 1 เป็นประชากรตั้งต้น เพื่อประเมินและคัดเลือกในชั่วที่ 4 และชั่วที่ 5 ถัดไป โดยในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวลูกผสมที่มีปริมาณฟีนอลในเมล็ดสูง มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ และให้ผลผลิตสูงเมื่อเทียบกับพันธุ์แสง 5 สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการเป็นฐานพันธุกรรม

ในการคัดเลือกหรือนำไปวางแผนปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไปในอนาคต

## อุปกรณ์และวิธีการ

### ประชากรศึกษา

ใช้ประชากรลูกผสมระหว่างข้าวพันธุ์แสง 5 (KS5) ที่มีลักษณะเด่นเป็นเมล็ดสีดำและมีปริมาณฟีนอลในเมล็ดสูง กับข้าวเจ้าพันธุ์ปทุมธานี 1 (PTT1) ที่เป็นพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่และไม่ไวต่อช่วงแสง ในชั่วที่ 2 คัดเลือกประชากรที่มีปริมาณฟีนอลสูง ใกล้เคียงพันธุ์แม่หรือมากกว่า ในฤดูนาปี พ.ศ. 2561 (Tonking *et al.*, 2022) ปลูกชั่วที่ 3 และพันธุ์พ่อแม่อย่างละ 10 ต้น ในฤดูนาปี พ.ศ. 2562 คัดเลือกลูกผสมที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำได้ 54 ต้น วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในเมล็ดแบบแยกต้น ตามวิธีของ Folin and Ciocalteu (1927) พบว่ามีปริมาณฟีนอลในเมล็ดระหว่าง 46.6 ถึง 711.6 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม (Figure 1) โดยที่พันธุ์ปทุมธานี 1 และพันธุ์แสง 5 มีปริมาณฟีนอลในเมล็ดเท่ากับ 0 และ 226.8 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม จึงคัดเลือกต้นที่มีปริมาณฟีนอลในเมล็ดระหว่าง 427.1 ถึง 711.6 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม ซึ่งสูงกว่าพันธุ์แม่จำนวน 14 ต้น เพื่อเป็นตัวแทนประชากรปลูกประเมินในชั่วที่ 4

### การประเมินลักษณะประชากรลูกผสมชั่วที่ 4

ปลูกประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 และพันธุ์พ่อแม่ในกระถางทดลองสภาพนาสวน ในโรงเรือนทดลองสาขาวิชาพืชไร่ ศูนย์วิจัย บูรณาการ สาธิตและฝึกอบรมนวัตกรรมการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในฤดูนาปี พ.ศ. 2563 ตั้งแต่เดือน มกราคม ถึงเมษายน เพาะเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 4 ในถาดเพาะเมล็ดเมื่อต้นกล้ามีอายุครบ 10 วัน นำไปย้ายปลูกลงในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 16 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูกเป็นดินร่วนปนทราย จัดอยู่ในหน่วยสัมพันธู์ดินโคราชและชุดสติ๊ก (Kt/Suk) (Chiangmai Land Development Station, 2024) ปลูกจำนวน 1 ต้น

ต่อหลุม จำนวน 5 ต้นต่อกระถาง กระถางละ 1 ประชากร ประชากรละ 10 ต้น และปลูกพันธุ์พ่อแม่พันธุ์ละ 10 ต้น บันทึกวันออกดอกร้อยละ 50 ในระยะสุกแก่ เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยว วัดความสูงจากโคนต้นถึงฐานรวง และบันทึกจำนวนรวงต่อต้น จากนั้นดำเนินการเก็บเกี่ยวโดยแยกเป็นรายต้น ซึ่งน้ำหนักผลผลิตเมล็ด และสุ่มตัวอย่างรวงเพื่อบันทึกองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ ความยาวรวง จำนวนระแนงต่อรวง จำนวนเมล็ดทั้งหมดต่อรวง และจำนวนเมล็ดดีต่อรวง เป็นต้น หลังจากนั้นคัดเลือกต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์แม่ และมีปริมาณฟีนอลในเมล็ดในช่วงที่ 3 สูงกว่าพันธุ์แม่ สำหรับปลูกประเมินและคัดเลือกในชั่วถัดไป

#### การประเมินลักษณะประชากรลูกผสมชั่วที่ 5

ปลูกประชากรลูกผสมชั่วที่ 5 ในฤดูนาปี ในแปลงทดลองภายในพื้นที่ของศูนย์วิจัยบูรณาการ สาธิตและฝึกอบรมนวัตกรรมการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย จัดอยู่ในหน่วยสัมพันธ์ชุดดินโคราชและชุดสติก (Kt/Suk) (Chiangmai Land Development Station, 2024) โดยปลูกด้วยวิธีการปักดำ ระยะปลูก 25 x 25 เซนติเมตร ปลูก 1 ต้นต่อหลุม จำนวน 4 ประชากร ประชากรละ 12 ต้น จำนวน 3 ซ้ำและปลูกพ่อแม่สายพันธุ์ละ 12 ต้น

คั่นระหว่างลูกผสมแต่ละซ้ำ เมื่อถึงระยะสุกแก่ เก็บเกี่ยวแยกเป็นรายต้น เก็บข้อมูลทางพืชไร่ และองค์ประกอบผลผลิตเช่นเดียวกับชั่วที่ 4 คัดกรองเบื้องต้นโดยใช้เมล็ดรวมจากทุกต้นภายในประชากร ต้นละ 5 กรัม นำมารวมกันและวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในเมล็ดแบบรวม หลังจากนั้นคัดเลือกประชากรที่มีปริมาณฟีนอลในเมล็ดรวมสูงกว่าพันธุ์แม่ นำเมล็ดแต่ละต้นจากประชากรคัดเลือกมาแกะเปลือกเมล็ด คัดเลือกต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำทั้งเมล็ดนำมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลแบบแยกต้น (Figure 2)

#### การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในเมล็ด

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในเมล็ดข้าว โดยประยุกต์ใช้วิธีของ Folin and Ciocalteu (1927) โดยเริ่มจากนำตัวอย่างข้าวเปลือกที่ความชื้น 12 % จำนวน 3 กรัม มาแกะและนำไปบดให้ละเอียด จากนั้นชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 0.5 กรัม ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) และสกัดด้วยสารละลายเมทานอล ความเข้มข้น 50% เก็บสารสกัดที่ได้ แล้วนำสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยากับ Folin Ciocalteu reagent และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

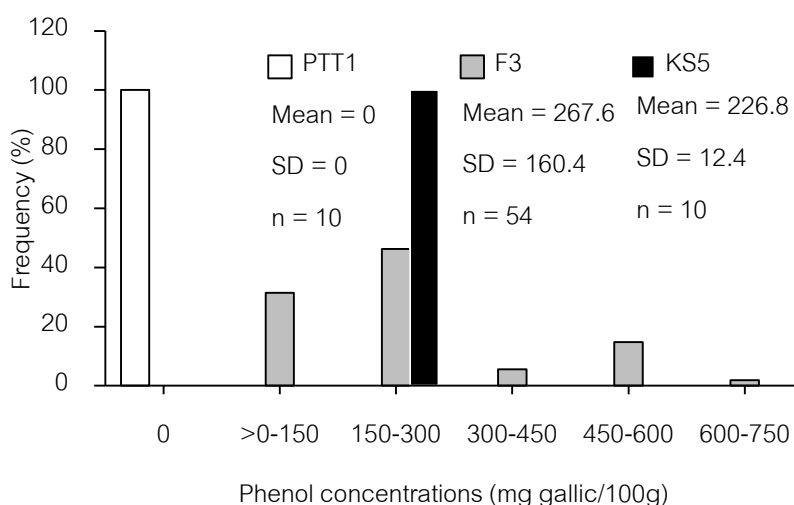


Figure 1. Frequency distribution (%) of phenol concentrations of 54 plants and parents (KS5 and PTT1)

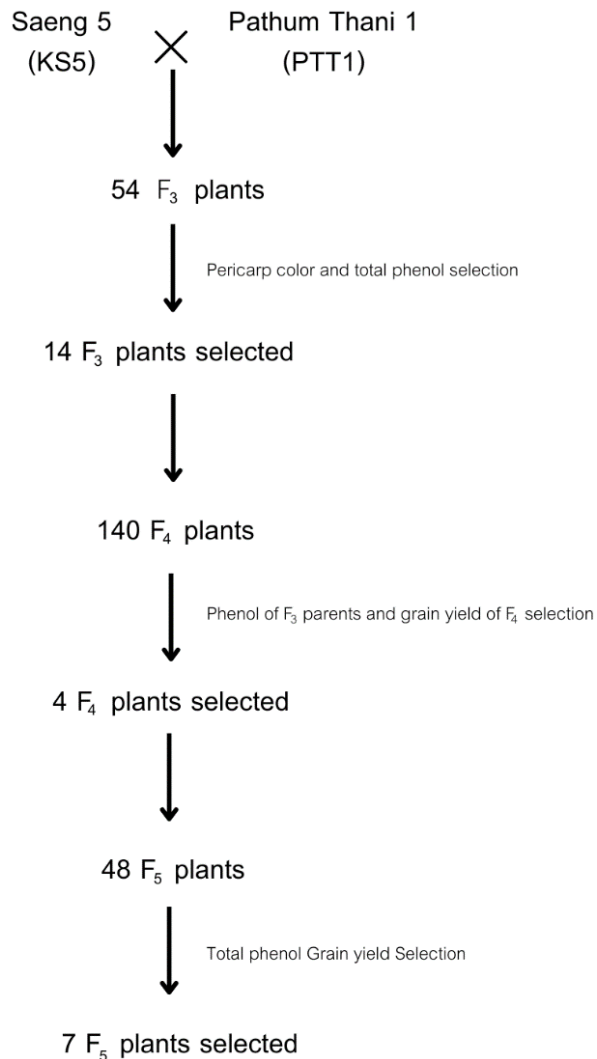


Figure 2. Source of advanced line in  $F_3 - F_5$  generations between KS5 x PTT1 in this study

(spectrophotometer) จัดทำกราฟมาตรฐานโดยใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน แล้วคำนวณปริมาณสารฟีนอลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักตัวอย่างเมล็ดข้าว 100 กรัม

#### การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 และ 5 วิเคราะห์ช่วงของการกระจายตัว (range) ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) และ ค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน (coefficient

of variation, CV) เทียบกับพันธุ์พ่อแม่ ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ Statistix 9

#### ผลการศึกษาและวิจารณ์

การประเมินและคัดเลือกประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 ลักษณะทางพืชไร่

พันธุ์ปทุมธานี 1 และพันธุ์แสง 5 มีอายุออกดอกเฉลี่ย 117 และ 75 วัน และมีความแปรปรวนภายใน

พันธุ์ระหว่าง 1.2 และ 2.0 ตามลำดับ ลูกผสมชั่วที่ 4 มีค่าเฉลี่ยอายุออกดอกภายในประชากร ระหว่าง 73 ถึง 155 วัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของอายุออกดอกระหว่าง 0.4 ถึง 12.5 เปอร์เซ็นต์ใกล้เคียงหรือมากกว่าพันธุ์พ่อแม่ (Figure 3a) สำหรับลักษณะความสูงต้น พันธุ์พ่อและพันธุ์แม่มีความสูงเฉลี่ย 117.6 และ 97.8 เซนติเมตรตามลำดับ ประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 มีความสูงเฉลี่ยน้อยกว่าพันธุ์พ่อแม่ โดยมีความสูงกระจายตัวระหว่าง 68.6 ถึง 95.5 เซนติเมตร (Figure

3b) ส่วนผลผลิตต่อต้นพบว่าพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่มีผลผลิตเฉลี่ย 9.4 และ 2.3 กรัมต่อต้นตามลำดับ ประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 มีผลผลิตต่อต้นกระจายตัวระหว่าง 1.5 ถึง 2.8 กรัมต่อต้น โดยลูกผสมส่วนใหญ่มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนภายในประชากรของลักษณะความสูงและผลผลิตมากกว่าพันธุ์พ่อแม่ (Figure 3c) แสดงให้เห็นว่าในลูกผสมชั่วที่ 4 ยังมีความแปรปรวนของลักษณะต่าง ๆ ภายในประชากรและระหว่างประชากรสูง

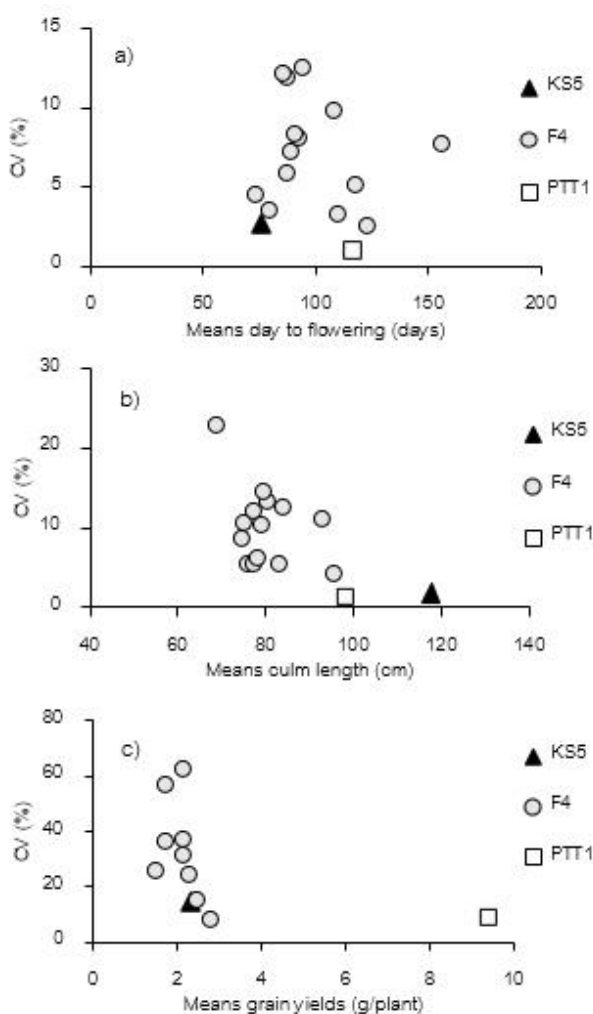


Figure 3. Means and CV within families of a) days to flowering b) culm length and c) grain yield of 14 F4 families and parents (KS5 and PTT1)

### การคัดเลือก

ในประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 พบว่าไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ทั้งหมด สาเหตุเนื่องจากมีอุณหภูมิสูงในช่วงกลางวันตั้งแต่ระยะกำเนิดช่อดอกไปจนถึงระยะดอกบาน ซึ่งส่งผลกระทบต่อความมีชีวิตของเกสรและอัตราการติดเมล็ดน้อย ส่งผลให้ผลผลิตลดลง (Hu *et al.*, 2021) ทำให้ปริมาณเมล็ดที่เก็บเกี่ยวได้ไม่เพียงพอสำหรับใช้วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลในเมล็ด ในประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เพียง 42 ต้น จากทั้งหมด 140 ต้น การคัดเลือกจึงใช้ข้อมูลปริมาณฟีนอลในเมล็ดจากชั่วที่ 3 ร่วมคัดเลือกกับลักษณะผลผลิต (Figure 4) สามารถคัดเลือกต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดดำ ผลผลิตสูง และปริมาณฟีนอลในเมล็ดพันธุ์ชั่วที่ 3 สูงกว่าพันธุ์แสง 5 ได้จำนวน 4 ต้น เป็นตัวแทนประชากรชั่วที่ 4 สำหรับปลูกประเมินและคัดเลือกในชั่วถัดไป (Figure 4)

### การประเมินและคัดเลือกประชากรลูกผสมชั่วที่ 5

#### ลักษณะทางพืชไร่

ข้าวลูกผสมชั่วที่ 5 จำนวน 4 ประชากร มีอายุออกดอกเฉลี่ยระหว่าง 64 ถึง 78 วัน พันธุ์ปทุมธานี 1 และพันธุ์แสง 5 มีอายุออกดอกเฉลี่ยเท่ากับ 96 และ 87 วันตามลำดับ (Figure 6a) ความสูงต้นเฉลี่ยของลูกผสมชั่วที่ 5 มีค่าระหว่าง 68.3 ถึง 75.9 เซนติเมตร โดยพันธุ์ปทุมธานี 1 และพันธุ์แสง 5 มีความสูงเฉลี่ย 67.7 และ 85.4 เซนติเมตร ตามลำดับ (Figure 6b) เช่นเดียว น้ำหนักต่อน้ำหนักต้นซึ่งในลูกผสมชั่วที่ 5 มีค่าเฉลี่ยแต่ละประชากรระหว่าง 10.5 ถึง 32.2 กรัม โดยพันธุ์ปทุมธานี 1 และพันธุ์แสง 5 มีน้ำหนักต้นเฉลี่ยเท่ากับ 34.9 และ 15.8 กรัม ตามลำดับ (Figure 6c) ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) ภายในประชากรของประชากรลูกผสมชั่วที่ 5 ในเกือบทุกต้น มีค่าอยู่ในช่วงของพ่อแม่ และมีค่าต่ำกว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนภายในประชากรของชั่วที่ 4 แสดงให้เห็นว่าการคัดเลือกในชั่วที่ 4 นั้นมีประสิทธิภาพในการเพิ่มความสม่ำเสมอของลักษณะทางพืชไร่ภายในประชากรความสม่ำเสมอของลักษณะพืชไร่นี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการประเมินศักยภาพของสายพันธุ์นั้น ๆ และเป็นปัจจัยสำคัญในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีคุณภาพ

ที่เหมาะสมสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป เช่นเดียวกับการศึกษาของ Wongput (2019) ที่ได้คัดเลือกประชากรข้าวลูกผสมชั่วที่ 4 ถึง 6 ระหว่างข้าวท่าออยสะเกิดและข้าวปทุมธานี 1 พบว่า ในลักษณะทางพืชไร่ของสายพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวแสดงค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนที่ลดลงเมื่อปลูกในชั่วถัดไป และในชั่วที่ 6 ถึง 8 พบว่า ความแปรปรวนของลักษณะทางพืชไร่ในแต่ละสายพันธุ์มีน้อยมาก เนื่องจากยีน (gene) ที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวเริ่มเข้าสู่ homozygosity ซึ่งสอดคล้องกับหลักการทางพันธุศาสตร์และการปรับปรุงพันธุ์พืชที่ Acquaaah (2012) ได้อธิบายไว้ กล่าวคือ การผสมข้ามพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมจะสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมและความแปรปรวนของลักษณะทางฟีโนไทป์ (phenotype) ในประชากรลูกผสมชั่วแรก ๆ แต่เมื่อผ่านกระบวนการคัดเลือกและผสมตัวเองไปหลายชั่วอายุ ความแปรปรวนจะลดลงและสายพันธุ์ที่คัดเลือกจะแสดงลักษณะที่พึงประสงค์ชัดเจนขึ้น อันเนื่องมาจากการสะสมยีนที่ดีและการกำจัดยีนที่ไม่ต้องการออกจากประชากร

#### ปริมาณฟีนอลในเมล็ด

ในการคัดกรองเบื้องต้นโดยการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลแบบรวมตัวอย่างเมล็ดข้าวกล้องจากทุกต้นในแต่ละประชากร พบว่า มีค่าปริมาณฟีนอลในเมล็ดกระจายตัวในช่วง 209.4 ถึง 722.7 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม และเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์แสง 5 ซึ่งมีปริมาณฟีนอลในเมล็ดเท่ากับ 431.2 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม (Figure 5) พบ 2 ประชากรที่มีปริมาณฟีนอลสูงกว่าพันธุ์แม่ โดยมีค่าระหว่าง 575.4 และ 722.7 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม

จากสองประชากรที่ถูกคัดเลือก คัดเลือกต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำทั้งเมล็ดได้ 12 ต้น จากประชากรที่ 1 จำนวน 6 ต้น และประชากรที่ 3 จำนวน 6 ต้น นำมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลแบบแยกรายต้นเปรียบเทียบกับพันธุ์แม่ พบว่าพันธุ์แสง 5 ที่มีปริมาณฟีนอล 533.3 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม ลูกผสมที่คัดเลือกทั้ง 12 ต้น มีปริมาณฟีนอลในเมล็ดระหว่าง 179.3 ถึง 1237.4 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก

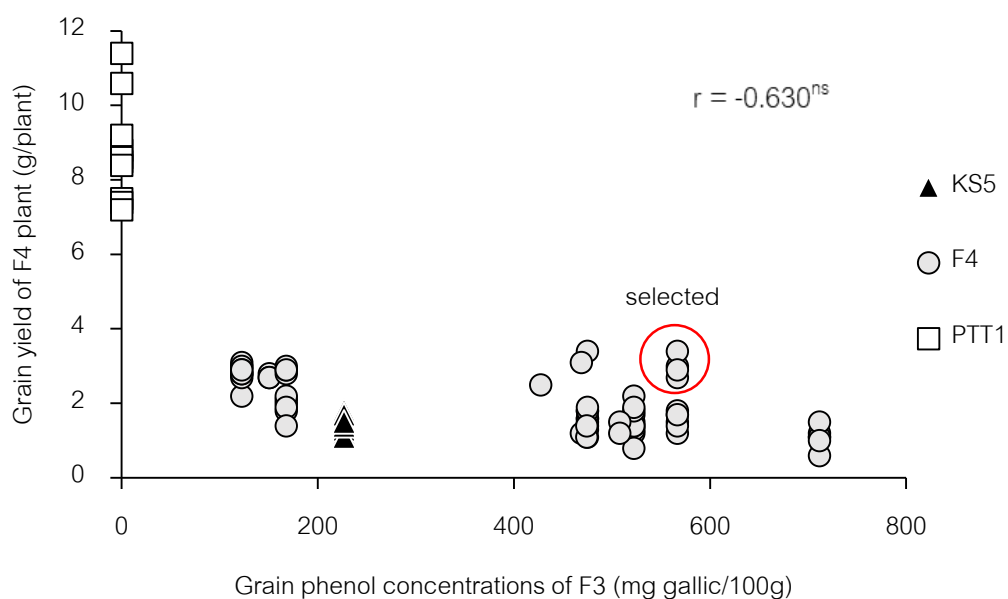


Figure 4. Distribution of grain phenol concentrations in F3 families and grain yield in 42 F4 families and parents (KS5 and PTT1)

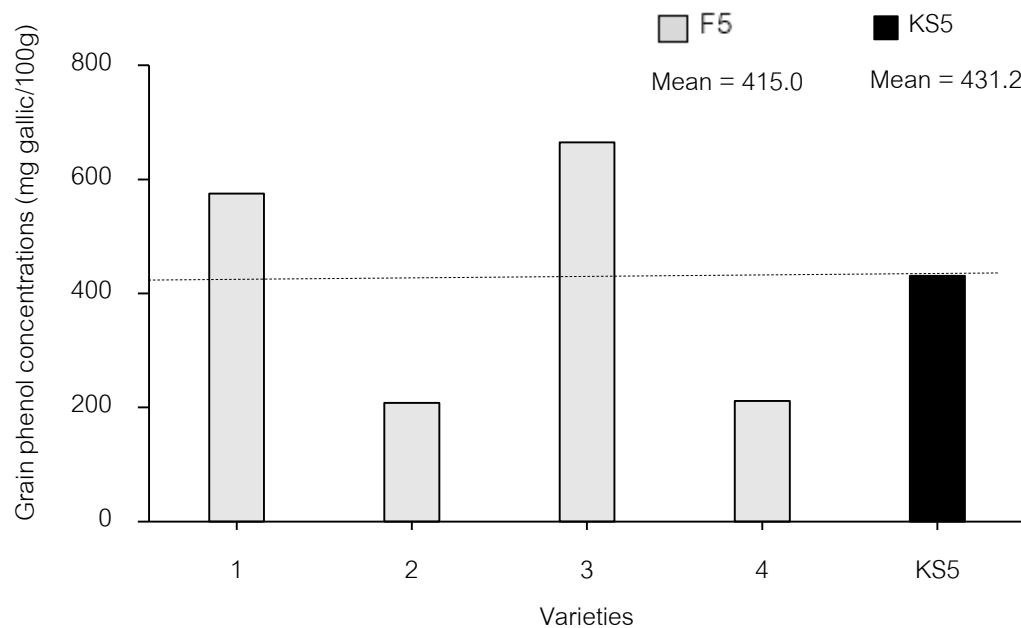


Figure 5. Grain phenol concentrations in 4 varieties of F5 families and female parent (KS5). Dashed line represents the phenol concentration of KS5 parent

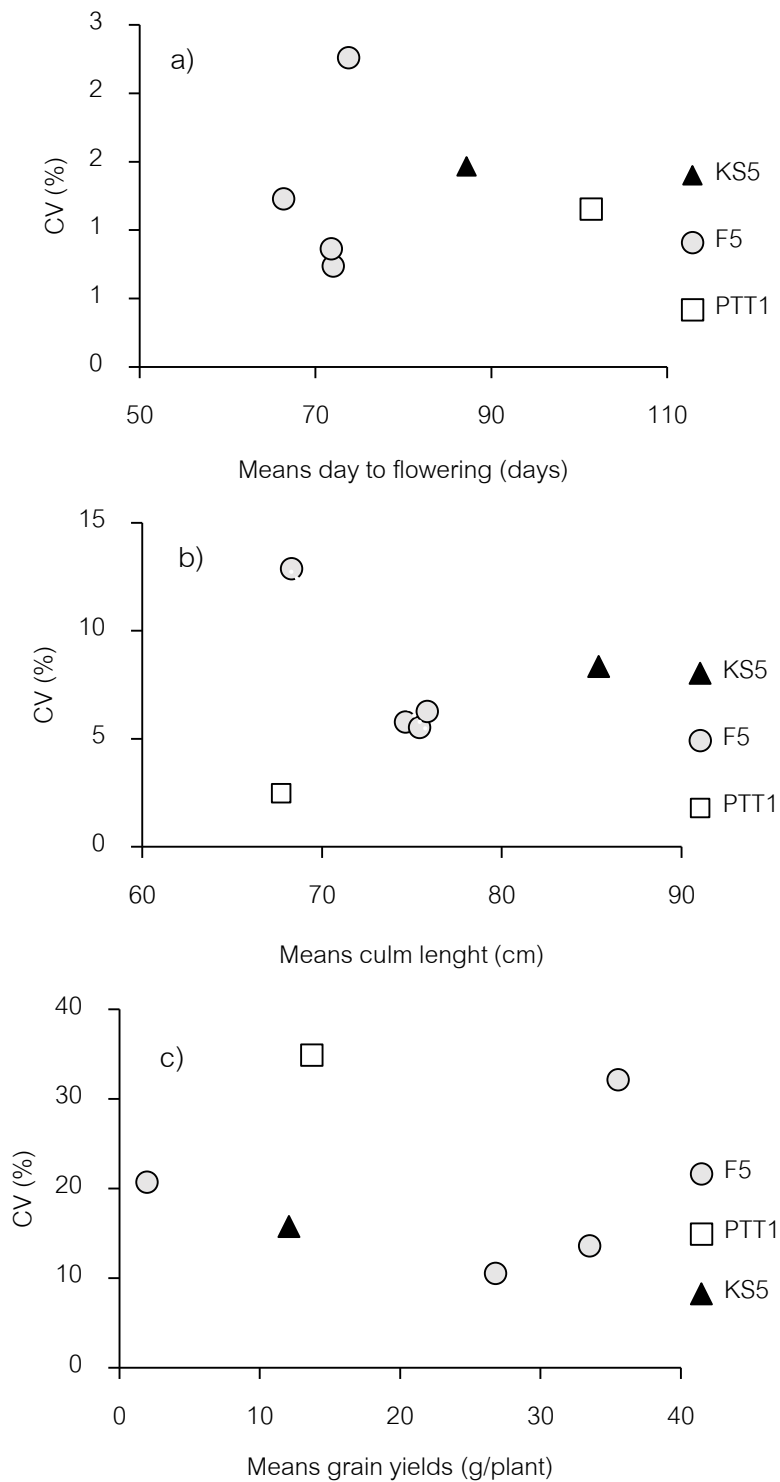


Figure 6. Means and CV within population of a) days to flowering b) culm length and c) grain yield of 4 F5 families and parents (KS5 and PTT1)

ต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม (Figure 7 และ Figure 8) และพบ 7 ต้นที่มีปริมาณฟีนอลสูงกว่าพันธุ์แม่ โดยมีค่าปริมาณฟีนอลในเมล็ดระหว่าง 753.0 ถึง 1237.4 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม

#### การกระจายตัวระหว่างปริมาณฟีนอลในเมล็ดและผลผลิต

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลในเมล็ดและผลผลิตของประชากรข้าวลูกผสมชั่วที่ 5 ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสองลักษณะดังกล่าว ( $r = -0.556$ ; ns) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tonking *et al.* (2022) ที่ได้ประเมินปริมาณฟีนอลในเมล็ดและผลผลิตในลูกผสมชั่วที่ 2 ซึ่งพบว่าไม่พบความสัมพันธ์ของทั้งสองลักษณะ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Kunnam *et al.* (2023) ซึ่งได้วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวมในเมล็ดข้าวจากข้าว 6 สายพันธุ์ และศึกษาความสัมพันธ์กับผลผลิตของข้าว ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า การเพิ่มขึ้นของปริมาณฟีนอลในเมล็ดข้าว ไม่ส่งผลกระทบโดยตรงต่อศักยภาพการให้ผลผลิต ซึ่งจากผลการศึกษาปริมาณฟีนอลในเมล็ดและผลผลิตต่อต้น พบว่าสายพันธุ์ลูกผสมที่คัดเลือกนั้นมีการตอบสนองต่อการคัดเลือก โดยพบปริมาณสารฟีนอลในเมล็ดสูงกว่าพันธุ์แม่ในทุกชั่ว และยังคงแสดงผลผลิตที่สูงกว่าพันธุ์แม่เช่นกัน ซึ่งมีความเป็นไปได้ในสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มทั้งปริมาณสารฟีนอลและผลผลิตไปพร้อมกันได้ อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอที่จะสรุปได้ว่าการเพิ่มปริมาณสารฟีนอลในเมล็ดจะไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของข้าว เนื่องจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เป็นเพียงการบ่งชี้ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรเท่านั้น การวิเคราะห์ path analysis เพิ่มเติมจะช่วยให้สามารถประเมินอิทธิพลทางตรงและทางอ้อมของปัจจัยต่าง ๆ รวมถึงปริมาณสารฟีนอล ที่มีต่อผลผลิตของข้าวได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

ในการศึกษานี้ได้คัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณฟีนอลสูง โดยใช้วิธีการคัดเลือกแบบสองขั้นตอน

ขั้นตอนแรกเป็นการคัดกรองประชากรที่มีปริมาณฟีนอลรวมสูง และขั้นตอนที่สองเป็นการคัดเลือกต้นข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำภายในประชากรที่ผ่านการคัดเลือกในขั้นตอนแรก เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลแบบรายต้น ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Poonlamai *et al.* (2022) ที่ได้คัดเลือกข้าวเก่าเพื่อให้ได้ธาตุหลักในเมล็ดผลผลิตสูง โดยใช้วิธีการคัดเลือกและวิเคราะห์ธาตุหลักในเมล็ดแบบรวมคัดกรองในช่วงแรกตามด้วยการคัดเลือกปริมาณธาตุหลักและผลผลิตต้นเดียว ซึ่งพบว่าการคัดเลือกแบบรวมนั้นมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะใช้เป็นการคัดเลือกเบื้องต้นได้

จากการทดลองนี้สามารถคัดเลือกประชากรลูกผสมชั่วที่ 5 จำนวน 7 ต้นเป็นตัวแทนประชากรที่มีปริมาณฟีนอลในเมล็ดและผลผลิตสูงกว่าพันธุ์แม่ในสายพันธุ์ที่คัดเลือก มีอายุออกดอกระหว่าง 71 ถึง 73 วัน มีความสูงต้นระหว่าง 71 ถึง 80 เซนติเมตร มีจำนวนรวงระหว่าง 8 ถึง 10 รวงต่อต้น มีความยาวรวงระหว่าง 24.4 ถึง 28.3 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดระหว่าง 73.9 ถึง 87.7 เปอร์เซ็นต์ และมีผลผลิตของต้นที่คัดเลือกระหว่าง 17.7 ถึง 23.8 กรัมต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ทั้ง 7 สายพันธุ์ที่ถูกคัดเลือกมีค่าฟีนอลระหว่าง 753.0 ถึง 1,237.4 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม ในขณะที่พันธุ์แสง 5 มีค่า  $533.3 \pm 35.6$  มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม โดยปริมาณฟีนอลนั้นพบว่า มีความสัมพันธ์กับลักษณะสีดำของเยื่อหุ้มเมล็ด นอกจากนี้ สายพันธุ์ลูกผสมที่คัดเลือกยังแสดงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สูง โดยมีค่าระหว่าง 441.2 ถึง 663.1 มิลลิกรัม Trolox สมมูลต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม ซึ่งสูงกว่าพันธุ์แสง 5 ที่มีค่า  $257.1 \pm 33.4$  มิลลิกรัม Trolox สมมูลต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม (Table 1) จากการศึกษาสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวลูกผสมที่มีศักยภาพสูงในการให้ผลผลิตและมีคุณค่าทางโภชนาการ โดยมีปริมาณฟีนอลในเมล็ดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าพันธุ์แม่ ซึ่งสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้

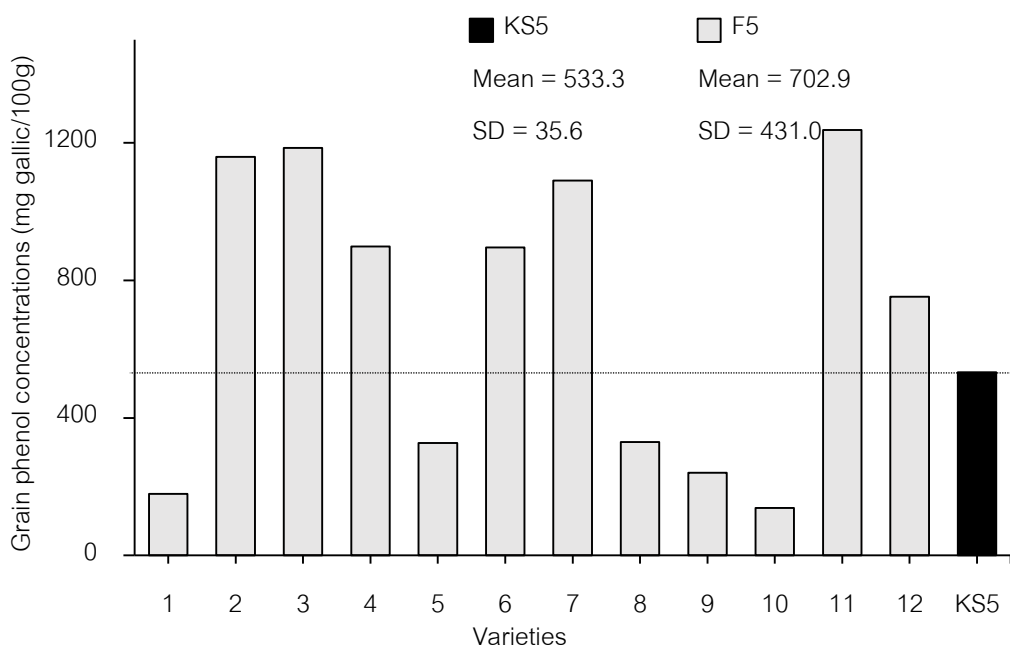


Figure 7. Grain phenol concentrations in 4 families by 12 individual plants with black pericarp and female parents (KS5). Dashed line represents the phenol concentration of KS5 parent

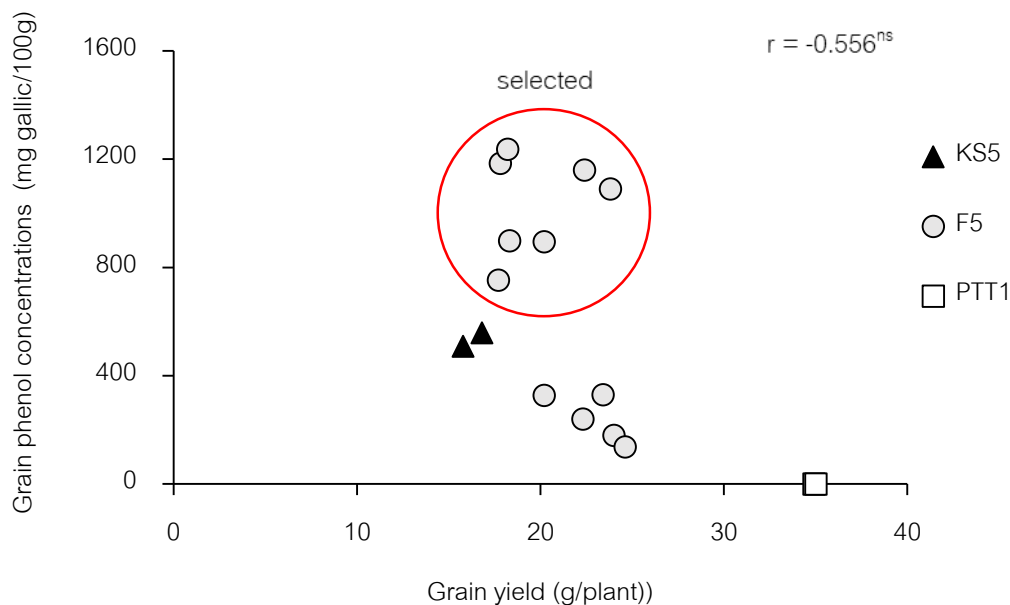


Figure 8. Distribution between grain phenol concentrations and grain yield in 12 F5 lines, analyzed by individual plant and parents (KS5 and PTT1)

Table 1. Agronomic characteristics, phenol, and antioxidant concentrations in 7 selected plants from F5 population and parents (KS5 and PTT1)

| Selection/<br>Parent | Phenol<br>(mg gallic/100g) | Antioxidant<br>(mg Trolox/100g) | Pericarp<br>color | Days to<br>flowering | Clum<br>length<br>(cm) | Number of<br>panicles | % Filled<br>grain | Grain yield<br>(g/plant) |
|----------------------|----------------------------|---------------------------------|-------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|-------------------|--------------------------|
| 1                    | 1,237.4                    | 647.8                           | Black             | 73                   | 79.5                   | 8                     | 87.7              | 18.2                     |
| 2                    | 1,185.5                    | 663.1                           | Black             | 71                   | 78                     | 9                     | 81.3              | 17.8                     |
| 3                    | 1,159.7                    | 464.3                           | Black             | 73                   | 71                     | 9                     | 75.2              | 22.4                     |
| 4                    | 1,090.9                    | 566.8                           | Black             | 73                   | 73                     | 10                    | 73.9              | 23.8                     |
| 5                    | 898.5                      | 646.3                           | ¾ Black           | 72                   | 75                     | 9                     | 86.9              | 18.3                     |
| 6                    | 895.5                      | 645.7                           | ¾ Black           | 73                   | 70                     | 10                    | 76.3              | 20.5                     |
| 7                    | 753.0                      | 441.2                           | ¾ Black           | 72                   | 80                     | 9                     | 84.7              | 17.7                     |
| Mean                 | 1031.5                     | 582.2                           |                   | 72.4                 | 75.2                   | 9.1                   | 80.9              | 19.8                     |
| SD                   | 182.5                      | 94.0                            |                   | 0.8                  | 4.1                    | 0.7                   | 5.8               | 2.5                      |
| KS5                  | 533.3 ± 35.6 <sup>a</sup>  | 257.1 ± 33.4                    | Black             | 89 ± 0.8             | 76 ± 6.3               | 7 ± 2.1               | 86.8 ± 1.5        | 15.7 ± 1.9               |
| PTT1                 | 0                          | 0                               | White             | 96 ± 1.2             | 70 ± 1.0               | 15 ± 2.7              | 93.7 ± 3.5        | 38.6 ± 4.8               |

## สรุป

ในการศึกษานี้ได้แสดงผลการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวลูกผสมระหว่างข้าวพันธุ์แสง 5 และพันธุ์ปทุมธานี 1 เพื่อปริมาณฟีนอลในเมล็ดสูง มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ และผลผลิตสูง โดยคัดเลือกเมล็ดจากประชากรครั้งที่ 3 เพื่อปลูกประเมินลักษณะทางพืชไร่ และปริมาณฟีนอลในเมล็ดในประชากรลูกผสมครั้งที่ 4 และ 5 ผลการทดลองพบการกระจายตัว ทั้งในลักษณะทางพืชไร่และปริมาณฟีนอลในเมล็ด ทั้งระหว่างประชากรและภายในประชากร พบการกระจายตัวของปริมาณฟีนอลในเมล็ดสูงเหนือขอบเขตของพ่อแม่ (transgressive segregation) ในทุกชั่ว ในประชากรลูกผสมครั้งที่ 5 สามารถคัดเลือกได้ 7 ต้นที่มีปริมาณฟีนอลในเมล็ดข้าวกล้องระหว่าง 753.0-1,237.4 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม และมีผลผลิตระหว่าง 20.2-24.6 กรัมต่อต้น ซึ่งสูงกว่าพันธุ์แม่ที่มีปริมาณฟีนอล 533.3 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ด 100 กรัม และผลผลิตเฉลี่ย 15.7 กรัมต่อต้น เป็นตัวแทนของประชากรครั้งที่ 5 สายพันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือกนี้สามารถใช้เป็นฐานพันธุ์กรรมหรือพัฒนาเป็นสายพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณฟีนอลในเมล็ดและผลผลิตสูงต่อไปในอนาคต

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนบางส่วนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก.)

## เอกสารอ้างอิง

Acquaah, G. 2012. Principles of Plant Genetics and Breeding. 2<sup>nd</sup> ed. Wiley-Blackwell, Oxford. 768 p.

Chiangmai Land Development Station. 2024. Soil series map of Chiang Mai province. (Online). Available: <http://www.chiangmai>

[land.go.th/data/soil/soil\\_series.html](http://land.go.th/data/soil/soil_series.html) (July 26, 2024). (in Thai)

Folin, O. and V. Ciocalteu. 1927. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry* 73: 627-650.

González-Burgos, E. and M.P. Gómez-Serranillos. 2021. Effect of phenolic compounds on human health. *Nutrients* 13(11): 3922, doi: 10.3390/nu13113922.

Hu, Q., W. Wang, Q. Lu, J. Huang, S. Peng and K. Cui. 2021. Abnormal anther development leads to lower spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.) under high temperature during the panicle initiation stage. *BMC Plant Biology* 21(1): 428, doi: 10.1186/s12870-021-03209-w.

Jamjod, S., C. Prom-u-thai, N. Yimyan and S. Lordkaew. 2015. Collection, evaluation and characterization for special quality in Thai rice varieties from Chiang Mai, Chiang Rai and Mae Hong Son provinces. Final report. Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai. 71 p. (in Thai)

Kaladee, D., P. Pongpiachan and S. Jamjod. 2000. Genetics, breeding, and agriculture nutritional immunity of purple rice (*Oryza sativa* L.). Final report. Science and Technology Research Institute. Chiang Mai University. Chiang Mai. 74 p. (in Thai)

Kunnam, J., W. Pinta, R. Ruttanaprasert, D. Bunphan, T. Thabthimtho and C. Aninbon. 2023. Stability of phenols, antioxidant capacity and grain yield of six rice genotypes. *plants* 12 ( 1 5 ) : 2 7 8 7 , doi: 10.3390/plants12152787.

Lichanporn, I., N. Nanthachai, P. Tanganurat and P. Akkarakultron. 2019. The studies of phenolic compound and antioxidant of the

- native varieties of rice in Pathum Thani province. *Khon Kaen Agriculture Journal* 47 (Suppl. 1): 637-642. (in Thai)
- Plant Varieties Protection Office. 2020. Advertisement of a request for the certificate of a new plant variety registration according to the Plant Varieties Protection Act, B.E 1975. (Online). Available: [https://www.doa.go.th/pvp/wp-content/uploads/2020/11/AnnoDOA\\_Public\\_233.pdf](https://www.doa.go.th/pvp/wp-content/uploads/2020/11/AnnoDOA_Public_233.pdf) (February 12, 2024). (in Thai)
- Poonlamai, S., C. T. Prom-u-thai, T. Pusadee and S. Jamjod. 2022. Purple rice selection for high grain iron and yield rice lines in F4 and F5 generations from cross between Kum Hom Mor Chor and Pathum Thani 1. *Journal of Agriculture* 38(1): 51-61. (in Thai)
- Sharma, A., B. Shahzad, A. Rehman, R. Bhardwaj, M. Landi and B. Zheng. 2019. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules* 24(13): 2452, doi: 10.3390/molecules24132452.
- Sweeney, M.T., M.J. Thomson, B.E. Pfeil and S. McCouch. 2006. Caught red-handed: Rc encodes a basic helix-loop-helix protein conditioning red pericarp in rice. *The Plant Cell* 18(2): 283-294.
- Tonking, P., C. T. Prom-u-thai, T. Pusadee and S. Jamjod. 2022. Evaluation of progeny populations between purple rice with high grain phenol cv. Saeng 5 and modern variety cv. Pathum Thani 1. *Journal of Agriculture* 38(2): 293-303. (in Thai)
- Wongput, C. 2019. Selection of purple rice lines for photoperiod insensitivity during F4 to F6 generations between Kum Doi Saket and Pathum Thani 1. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 64 p. (in Thai)
-