บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

2.1 ความสำคัญของข้าวป่า

ประเทศไทยเป็นแหล่งของความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว (Chang, 1976) โดยพบข้าวป่าในประเทศไทย 5 ชนิด คือ *Oryza rufipogon* (L.), *O. nivara* Sharma., *O. ridleyi* Hook., *O. officinalis* Wall. และ *O. granulata* Nees. (Chitrakon, 1995) นอกจากนี้ Oka (1988) ยังพบว่ามีข้าวป่าชนิดที่มีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก (spontanea form) ในแปลงเพาะปลูก แหล่งที่อยู่ของข้าวป่าพบทั่วไปในทุกภาค แต่พบมากในเขตภาคกลางและภาคเหนือ เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติและกระจัดกระจายอยู่ตามหนองน้ำ คลองข้างถนน บึง ซึ่งส่วนใหญ่จะพบว่าเป็นข้าวป่า *O. rufipogon* (Chitrakon, 1995)

ข้าวป่าสามารถแบ่งออกตามลักษณะการเจริญเติบโตได้เป็น 2 ลักษณะ คือ แบบปีเดียว (annual) และแบบข้ามปี (perennial) (Morishima *et al.*, 1980) ทั้งสองชนิดจะมีลักษณะการเจริญที่แตกต่างกัน ข้าวป่าชนิดข้ามปีจะพบบริเวณที่มีน้ำขัง เป็นแอ่งน้ำ หรือท้องร่อง มีอัตราการสร้างเมล็ดน้อย มีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ คือการแตกหน่อ และข้าวป่าชนิดปีเดียวจะพบบริเวณที่แห้ง ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด (Oka, 1988) และในข้าวป่าพันธุ์หนึ่งอาจจะมีทั้งชนิดปีเดียว (annual) และ แบบข้ามปี (perennial) (Morishima *et al.*, 1987)

ข้าวป่า สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี มีความต้านทานต่อโรค แมลง และสภาพอากาศที่ไม่เอื้ออำนวย เช่น มีการสุกแก่ของเมล็ดในเวลาต่างๆกัน ต้นกล้าสามารถขึ้นได้ในที่มีความลึกต่างๆกัน บางต้นทนต่อสภาพน้ำขัง น้ำท่วม ลักษณะพันธุกรรมที่ดีจากข้าวป่านี้ได้ถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อใช้เป็นแหล่งของยีนที่ต้านทานต่อโรคและแมลง จากการสำรวจพันธุ์ข้าวของ Chitrakon (1995) พบว่าข้าวป่า *O. officinalis*, *O. minuta* และ *O. ridleyi* มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown plant hopper) ถึง 100 % นอกจากนี้ยังพบลักษณะพันธุกรรมที่ดีอื่นๆ เช่น *O. nivara* และ *O. rufipogon* มีความต้านทานต่อโรคกาบใบแห้ง (Amante *et al.*, 1990) *O. nivara* มีความต้านทานต่อโรคเขียวเตี้ย (grassy stunt virus)(Khush and Ling, 1974) และ *O. officinalis* มีลักษณะที่ต้านทานต่อ หนอนกอ เพลี้ยกระโดดหลังขาว และเพลี้ยกระโดดสีเขียว นอกจากนี้ยังพบการนำพันธุกรรมของข้าวป่าไปใช้ในการปรับปรุงลักษณะทางสรีระวิทยาของข้าว เช่น ข้าวป่า *O. rufipogon* ใช้เป็นแหล่งของลักษณะพันธุกรรมความสามารถในการยืดปล้องเพื่อใช้ในการปรับปรุง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พันธุ์ข้าวน้ำลึก และเป็นแหล่งของพันธุกรรมลักษณะความทนทานต่อดินเค็มในศรีลังกา (Khan *et al.*, 1991)

2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างข้าวปลูกและข้าวป่า

ข้าวป่า (wild rice) และข้าวปลูก (cultivated rice) มีความแตกต่างทั้งทางลักษณะสันฐานวิทยาและสรีระวิทยา เช่น แหล่งที่อยู่ การตอบสนองต่อช่วงแสง การแพร่กระจายของเมล็ด แต่พบว่ามีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมเป็นอย่างมาก ลักษณะที่แตกต่างกันจึงแสดงถึงความสัมพันธ์ของพืชทั้งสองชนิด (Harlan, 1992) ข้าวปลูกเกิดจากวิวัฒนาการและการคัดเลือกโดยมนุษย์ โดยเชื่อกันว่า ข้าวป่า *O. rufipogon* เป็นบรรพบุรุษของข้าวปลูก Oka (1988) พบว่าข้าวทั้ง 2 ชนิดมีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n = 24 และมีชนิดโครโมโซมเป็น AA (genome AA) เหมือนกัน (Vaughan, 1994) มีรายงานว่าพบข้าวป่า *O. rufipogon* ในหลายประเทศของทวีปเอเชีย มีลักษณะทางการเจริญเติบโตที่ใกล้ชิดกับข้าวปลูก เช่น ระยะการออกดอกและเวลาผสมพันธุ์ (Lu, 2004)

ข้าวป่าพบว่ามีลักษณะสรีระวิทยาที่แตกต่างจากข้าวปลูก มีลักษณะที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโต สามารถแพร่กระจายและขยายพันธุ์ในสภาพธรรมชาติ โดยเฉพาะข้าวป่าชนิดข้ามปี (perennial) มีลักษณะที่สำคัญคือ กอแผ่ถึงเลื้อย ลำต้นใหญ่ รวงใหญ่ ใบยาว ติดเมล็ดน้อย อับเกสรตัวผู้มีขนาดใหญ่ หางยาว ขยายพันธุ์ทางเมล็ดและข้อ โดยทั่วไปเมล็ดของข้าวป่าจะมีช่วงเวลาการพักตัวที่ยาวนาน เมื่อมีการแพร่กระจายและฝังตัวของเมล็ดในดิน เมล็ดข้าวป่าจะงอกก็ต่อเมื่อพ้นผ่านช่วงการพักตัวไปเท่านั้น และแต่ละเมล็ดก็จะมีช่วงเวลาของการงอกที่ไม่พร้อมกัน (Oka, 1988) ซึ่งจะแตกต่างจากพันธุ์ปลูกที่มีการงอกพร้อมกันทันทีที่ปลูกและมีความสม่ำเสมอ (Morishima *et al.*, 1984)

2.3 ประโยชน์ของการผสมพันธุ์ข้ามชนิด

ในการปรับปรุงพันธุ์พืช นักปรับปรุงพันธุ์มักเลือกใช้แหล่งพันธุกรรมที่หาได้ง่าย ใช้ได้รวดเร็ว ส่วนใหญ่ได้แก่พันธุ์พืชที่ปรับตัวได้ดีแล้ว และพันธุ์พืชเหล่านั้นต่างอยู่ภายใน species เดียวกันทำให้ไม่พบปัญหาที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ แต่จะทำให้โอกาสที่จะเกิดการรวมตัวของยีนเพื่อเกิดลักษณะใหม่ๆขึ้นมาเป็นไปได้ยาก หากลักษณะที่นักปรับปรุงพันธุ์ต้องการ ไม่พบในพืช species เดียวกัน นักปรับปรุงพันธุ์จำเป็นต้องแสวงหายีนจากประชากรในพืชชนิดอื่นๆ ที่อยู่ต่าง species

นักปรับปรุงพันธุ์สามารถทำให้เกิดการรวมตัวของยีนได้โดยวิธีผสมพันธุ์ (hybridization) ซึ่งเป็นการรวมลักษณะที่ดีจากพันธุ์พืช 2 พันธุ์ หรือมากกว่า 2 พันธุ์ให้มาอยู่ในพืชพันธุ์เดียวกัน นำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไปสู่การก่อให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม (Harlan, 1992) ทำให้นักปรับปรุงพันธุ์มีแหล่งทรัพยากรพันธุกรรมพืช (plant genetic resource) เป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญในงานปรับปรุงพันธุ์พืช สามารถคัดเลือกลักษณะที่ตรงตามความต้องการ ไปใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไปได้

นักปรับปรุงพันธุ์จึงใช้วิธีการผสมข้ามชนิดพันธุ์ (interspecific hybridization) มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช เพื่อเพิ่มเติมลักษณะที่ตรงกับความต้องการของนักปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งแหล่งทรัพยากรพันธุกรรมพืชที่สำคัญคือ พืชพันธุ์ป่า (wild species) เป็นพันธุ์ที่มีพ่อแม่หรือบรรพบุรุษร่วมกันมาเป็นพืชปลูก แต่พบว่ายังคงพบในสภาพธรรมชาติที่เป็นแหล่งกำเนิดของพืช พืชพันธุ์ป่านั้นมีประชากรที่เกิดและเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่องภายใต้สภาพธรรมชาติ โดยปราศจากการทำลายหรือรบกวนจากมนุษย์ มีความผันแปรทางพันธุกรรม เกิดการผ่าเหล่า (mutation)

พืชพันธุ์ป่าจึงเป็นแหล่งของยีนที่นำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ เช่น การใช้ประโยชน์จากข้าว *Oryza graberrima* ที่พบในทวีปอาฟริกา เป็นข้าวที่มีลักษณะดีคือ มีความสามารถในการแก่งแย่งแข่งขันกับวัชพืชและสามารถปรับตัวได้ในสภาพแวดล้อมที่กว้าง แต่พบว่ามีลักษณะที่ไม่ต้องการคือให้ผลผลิตต่ำ จึงได้มีการนำลักษณะที่ดีของข้าว *O. graberrima* มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวปลูก *O. sativa* โดยการผสมข้ามพันธุ์ และใช้วิธีการ anther culture techniques ช่วยในการพัฒนาของต้นอ่อน (Jones *et al.*, 1997) ทำให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะที่มีลักษณะที่ดีและให้ผลผลิตสูง

2.4 การผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในสภาพธรรมชาติ

วิวัฒนาการของข้าวพันธุ์ปลูกในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไป ว่าเกิดจากการผสมข้ามและการแลกเปลี่ยนยีนของข้าวพันธุ์ป่า พบว่าการเคลื่อนย้ายยีนระหว่างพันธุ์พืชในธรรมชาติโดยส่วนมากจะเกิดขึ้นในพืชผสมข้าม (cross pollinated) (Jarvis and Hodgkin, 1999) โดยปกติข้าวป่าจะผสมกับข้าวปลูกได้ยาก เนื่องจากข้าวปลูกมีลักษณะเป็นพืชผสมตัวเอง พบว่าแตกต่างจากข้าวป่าที่มีลักษณะเป็นพืชผสมข้าม (Barbier, 1987) มียอดเกสรตัวเมียที่โผล่ออกมานอกช่อดอก และมีละอองเกสรตัวผู้ที่สามารถโปรยละอองเกสรได้ไกล Morishima *et al.* (1980) พบว่าถ้าเกิดการผสมข้ามก็จะเป็นไปในทางเดียวคือ ละอองเกสรตัวผู้ของข้าวปลูกไปตกในเกสรตัวเมียของข้าวป่าเท่านั้น และเกิดการผสมข้ามได้ยากหากข้าวป่ามีชนิดโครโมโซมแตกต่างจากข้าวปลูก

มีรายงานพบการผสมข้ามระหว่างข้าวป่า *O. rufipogon* Griff. และ *O. sativa* L. ในหลายพื้นที่ (Song *et al.*, 2003) มีอัตราการผสมข้ามระหว่าง 1 - 52% ขึ้นกับชนิดพันธุ์ข้าวปลูกและช่วงเวลาในการออกดอก ข้าวป่าในประเทศไทยมีรายงานว่ามีอัตราการผสมข้ามอยู่ระหว่าง 7.2-55.9% (Barbier, 1989) จากการศึกษาอัตราการผสมข้ามของ Akimoto *et al.* (1999) พบอัตราการผสมข้ามของพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะอยู่ระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก (intermediate type) มีค่า 14-15% ข้าวพันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปลูกมีค่าอัตราการผสมข้าม 6 % และข้าวป่ามีค่าอัตราการผสมข้าม 25% จึงสรุปได้ว่าการเคลื่อนย้ายของยีนโดยส่วนมากจะเกิดในรูปแบบจากพันธุ์ปลูกไปสู่พันธุ์ป่า

Oka (1988) พบว่ามีการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูกในสภาพธรรมชาติ เกิดการแลกเปลี่ยนยีนระหว่างพันธุ์ เกิดพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะเป็นวัชพืชซึ่งมีลักษณะอยู่ระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก ซึ่งเราเรียกว่า ข้าวพันธุ์วัชพืช (weedy rice) ข้าวที่มีลักษณะเป็นวัชพืชบางสายพันธุ์จะมีลักษณะคล้ายข้าวป่าคือ มีสีเยื่อหุ้มเมล็ดแดง เปลือกหุ้มเมล็ดดำ น้ำหนักเมล็ดน้อย มีการพักตัวยาวนาน อัตราการร่วงสูง แต่ในบางสายพันธุ์ก็พบว่ามีลักษณะคล้ายข้าวปลูก (Noldin, 2000) พบทั้งลักษณะการเจริญเติบโตแบบขึ้นควบคู่ไปกับข้าวป่า และแบบกระจายไปตามที่ที่ไม่พบข้าวป่า เช่น ในแปลงนาของเกษตรกร สงกรานต์ (2537) พบว่ามีข้าวพันธุ์วัชพืชมากในนาของเกษตรกรที่ทำนาแบบนาหว่านในประเทศไทย ทำให้เกิดปัญหาของการแพร่ระบาดในแปลงของเกษตรกร เมื่อข้าวพันธุ์วัชพืชขึ้นร่วมกับข้าวปลูกจะทำให้เกิดปัญหาในการจัดการแปลงข้าว ส่งผลให้ผลผลิตของข้าวลดลงและยากต่อการทำลาย เนื่องจากข้าวพันธุ์วัชพืชมีความใกล้ชิดกับข้าวปลูกค่อนข้างมาก (จรรยา, 2547)

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผสมข้ามระหว่างชนิดพันธุ์

การผสมข้ามในพืชจะประสบความสำเร็จได้ พืชต้องประกอบด้วยปัจจัยที่สำคัญคือ มีช่วงเวลาการเจริญในระยะผสมพันธุ์พร้อมกัน มีวันออกดอกพร้อมกัน พืชที่รับละอองเกสรตัวผู้จะต้องมีจำนวนดอกมาก มีช่วงเวลาผสมพันธุ์ที่พร้อมกันคือเกสรตัวเมียมีช่วงเวลาผสมพันธุ์พร้อมกับเกสรตัวผู้ ความมีชีวิตของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียในช่วงเวลาการผสมพันธุ์มีระยะเวลายาวนาน ดอกของพืชที่รับละอองเกสรจะต้องมีการโผล่ของเกสรตัวเมียเพื่อรับละอองเกสรตัวผู้ พืชที่ให้ละอองเกสรตัวผู้จะต้องมีละอองเกสรจำนวนมาก มีขนาดละอองเกสรตัวผู้ที่มีขนาดใหญ่ และมีกลไกควบคุมไม่ให้พืชผสมตัวเอง (Virmani and Wan, 1988)

ในพืชต่าง species นั้นปกติจะถูกแยกจากกันโดยกลไกการกีดขวาง (barrier) หลายชนิดที่ป้องกันไม่ให้เกิดการแลกเปลี่ยนยีนหรือการผสมข้ามเกิดขึ้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ปัจจัย (Stosdkopf *et al.*, 1993) คือ ปัจจัยภายนอก (external barriers) และ ปัจจัยภายใน (internal barriers)

ปัจจัยภายนอก (external barriers) ประกอบไปด้วย

1. Spatial isolation คือการแยกกลุ่มออกโดยสภาพภูมิประเทศทำให้ช่วงความยาววันมีผลต่อการออกดอกของพืช สามารถแก้ปัญหานี้ได้โดยการเพิ่มหรือลดความยาววันเพื่อช่วยให้พืชออกดอกพร้อมกันและสามารถผสมข้ามกันได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. Ecological isolation คือการแยกจากกันโดยสภาพนิเวศวิทยาเช่น อุณหภูมิ ซึ่งมีผลต่อการตอบสนองต่อ vernalization เพื่อชักนำให้เกิดการออกดอก สามารถแก้ปัญหาได้โดย ปลูกพืชในที่ควบคุมอุณหภูมิ

3. Gametic incompatibility คือกลไกที่ทำให้พืชไม่สามารถผลิตเมล็ดได้ เกิดจากละอองเกสรตัวผู้ (pollen) ไม่งอกบนยอดเกสรตัวเมีย (stigma) หรือขึ้นอยู่กับการเจริญและพัฒนาของ pollen tube หลังจากอยู่บน stigma เนื่องจากถูกควบคุมโดย allele S ทำให้เมื่อ เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียมี allele S เหมือนกัน จะทำให้ pollen tube งอกช้าหรือฝ่อ โดยสามารถแบ่งออกได้ใน 2 ลักษณะ Gametophytic incompatibility และ Sporophytic incompatibility

กลไกที่ทำให้เกิดการเป็นหมันของเกสรตัวผู้ (male sterility) ซึ่งจะแสดงออกในรูปของละอองเกสรตัวผู้ที่พัฒนาไม่ได้หรือได้แต่ไม่สมบูรณ์ จะถูกควบคุมจาก 3 ปัจจัย (Allard, 1960)

1. Genetic or genic male sterility คือลักษณะ male sterility ถูกควบคุมโดย single recessive gene (ms) ต้นพืชที่มี genotype เป็น msms จะเป็น male sterile และ ms จะถูกข่มโดย male fertile gene (Ms) ต้นพืชที่มี genotype เป็น MsMs และ Msms จะเป็น male fertile

2. Cytoplasmic male sterility คือลักษณะ male sterility ถูกควบคุมโดย maternal cytoplasmic factors (S) การขยายพันธุ์ทำได้โดยนำ fertile pollen มาผสม

3. Genetic-cytoplasmic male sterility คือลักษณะ male sterility ถูกควบคุมร่วมระหว่าง gene ในนิวเคลียส (msms เป็น sterile และ Ms เป็น fertile) และ cytoplasmic factor (S เป็น stertile และcytoplasm ที่ปกติ เป็น fertile)

Sano (1985) พบว่าเมื่อ cytoplasm ของ *O. sativa* รวมกับ nucleus ของ *O. graberrima* จะชักนำให้เกิด male sterility และ Shinjyo (1984) พบว่าจากการทดสอบข้าวป่า *O. perennis* จำนวน 130 สายพันธุ์มีจำนวน 62 สายพันธุ์ที่ เป็น male sterile cytoplasms และใน 62 สายพันธุ์นี้ เป็นข้าวป่า *O .rufipogon* ถึง 61 สายพันธุ์โดย เกิดจาก sporophytic restorer gene 53 สายพันธุ์ และเกิดจาก gametophytic restorer gene อีก 8 สายพันธุ์ ทำให้ *O. rufipogon* ถูกใช้เป็นแหล่งของ cytoplasmic male sterility (Virmani and Wan, 1988)

ปัจจัยภายใน (internal barriers) ประกอบด้วยสาเหตุที่สำคัญ (Oka, 1988) เช่น

ลูกผสมไม่งอก (F_1 inviability) โดยทั่วไปพบว่าเกิดจาก zygote ของลูกผสมไม่พัฒนา เกิดจากการที่ไม่มีการสร้าง endosperm สามารถแก้ไขได้โดยการใช้วิธีการ embryo rescue เพื่อช่วยให้ลูกผสมมีชีวิตสามารถเจริญต่อไปได้ ตัวอย่างที่พบในข้าวคือ ลูกผสมของข้าวป่าแอฟริกา *O. perennis* (*O. longistaminata*) เมื่อใช้ *O. longistaminata* เป็นต้นแม่ ลูกผสมที่ได้จะเริ่มเสื่อมลงเมื่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผ่านไป 3 วันหลังเพาะ และเมื่อใช้ *O. longistaminata* เป็นต้นพ่อ ลูกผสมจะเริ่มเสื่อมลงเมื่อผ่านไป 6 วันหลังเพาะ

ลูกผสมงอกแต่ไม่แข็งแรง (F_1 weakness) โดยทั่วไปจะไม่พบในการผสมข้ามระหว่าง *O. sativa* และ *O. perennis* แต่จะพบในการผสมข้ามระหว่าง *O. longistaminata* และ *O.glaberrima* ลูกผสมจะแสดงอาการอ่อนแอถึงครึ่งหนึ่งและพบการอ่อนแอของลูกผสมมากในการผสมข้ามระหว่าง American form *O. perennis* และ *O. breviligulata*

ลูกผสมเป็นหมัน (F_1 sterility) เกิดจากเซลล์สืบพันธุ์ของลูกผสมไม่พัฒนา พบมากในการผสมข้ามระหว่าง Species เช่น ลูกผสมระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก

ลูกผสมเป็นปกติแต่ลูกในรุ่นต่อไปไม่งอกหรืออ่อนแอ (F_2 weakness) พบว่าการผสมข้ามระหว่าง ข้าวชนิด japonica และ indica ได้ลูกผสมชั่วแรกที่ปกติ เนื่องจากมียีนที่ข่มลักษณะอ่อนแอไว้ เมื่อถึงระยะ F_2 พบว่ามีทั้งลักษณะที่แข็งแรงและอ่อนแอ ในอัตราส่วน 11:5 เนื่องจากเกิดการกระจายตัวของยีนด้อย เมื่อยีนลักษณะด้อยอยู่ร่วมกัน (recessive homozygous) จะทำให้แสดงลักษณะอ่อนแอออกมา (Okuno, 1986)

ลูกผสมเป็นปกติแต่ลูกในรุ่นต่อไปเป็นหมัน (F_2 sterility) พบในการผสมข้ามระหว่าง *O. sativa* กับพันธุ์ใกล้เคียง ได้ลูกผสมชั่วแรกเป็นปกติแต่ลูกรุ่นต่อไป (F_2) บางส่วนจะแสดงอาการเป็นหมัน ลักษณะพันธุกรรมที่ควบคุมการเป็นหมันเกิดจากการกระทำของยีนมากกว่า 1 ตำแหน่ง และอาการเป็นหมันในลูกชั่วที่ 2 เกิดจากการกระทำร่วมกันของยีนด้อย (recessive sterility gene) ตัวอย่างเช่น ในการผสมข้ามระหว่างข้าวป่า *O. rufipogon* (W106) กับข้าวปลูกชนิด Japonica (T65) และ Indica (Ac108) พบว่าในลูกผสมชั่วที่ 2ของทั้ง 2 คู่ผสมจะแสดงอาการเป็นหมันเล็กน้อย (Oka, 1988)

ความมีชีวิตและความสามารถในการสืบพันธุ์ (fitness) ของลูกผสมจึงมีความสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ โอกาสที่ลูกผสมที่ได้จะมีการเจริญเติบโตและมีชีวิตรอดได้นั้นเป็นจึงเป็นปัญหาสำคัญ Burke *et al* (2001) พบว่าการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่แตกต่างกันจะให้ลูกมีความมีชีวิตและความอุดมสมบูรณ์ลดลง เช่น ลูกผสมระหว่างทานตะวัน *Helianthus annous* และ *H. petiolaris* จะมีความสามารถในการเจริญพันธุ์ลดลง รวมทั้งความสมบูรณ์ของลูกผสมก็ลดลงด้วย

Jena and Khush (1986) พบว่าค่าเฉลี่ยของการติดเมล็ดของลูกผสมคือ 8.8 – 17.3% และพบว่าคู่ผสมที่มีค่าเฉลี่ยของการติดเมล็ดสูงที่สุด คือ SPR 90 x *O. minuta* (G.S.No.5510) มีค่าเฉลี่ยของการติดเมล็ด 44% มีการเจริญของเมล็ดโดยไม่ต้องใช้วิธีการ embryos rescue ส่วนในคู่ผสมอื่นๆ ต้องใช้วิธี embryos rescue ช่วยในการเจริญของต้นอ่อน และเมื่อใช้วิธีการ embryos rescue ในคู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผสมระหว่างข้าวป่า *O. minuta* และข้าวปลูก ลูกผสมจะมีโอกาสรอดชีวิตมากกว่าคู่ผสมของข้าวป่าชนิดอื่นๆ

2.6 การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล Microsatellite markers โดยอาศัยเทคนิค PCR

ความแตกต่างของดีเอ็นเอนั้นเกิดเนื่องจากส่วนที่ไม่ใช่ยีนและมักจะมีลักษณะเป็นเบสซ้ำ (repetitive DNA) เบสซ้ำ พบกระจายอยู่ภายในยีโนม บางชุดพบซ้ำกันมากกว่า 100,000 ครั้ง เบสซ้ำแบบต่อเนื่อง (tandem repeats) ซึ่งมีการเรียงตัว ของเบสซ้ำๆ ต่อเนื่องกันเป็นช่วงยาว สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบ ความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้ดี โดยความแตกต่างที่พบเกิดขึ้นจากจำนวนซ้ำที่ต่างกันในแต่สิ่งมีชีวิต (Goldstein and Schlotterer, 1998)

ลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ (DNA fingerprinting) หมายถึง แถบหรือรูปแบบของ ดีเอ็นเอ ที่ได้จากการนำดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิต ผ่านเทคนิคทางพันธุศาสตร์โมเลกุลจนสามารถใช้ระบุความสัมพันธุ์หรือความแตกต่างกับสิ่งมีชีวิตอื่นได้ และเทคนิค Microsatellite markers เป็นเทคนิคที่ให้ข้อมูลและความแตกต่างระหว่างพันธุ์สูง จึงได้นำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาพันธุกรรมของข้าว ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างพันธุ์ ยืนยันความเป็นลูกผสมเป็นต้น มีรายงานว่า Xiao *et al* (1998) นำเทคนิค Microsatellite markers มาใช้ในการศึกษาลักษณะทางปริมาณ (quantitative trait loci) ของข้าวป่า *O. rufipogon*

Gealy *et al* (2002) พบว่าสามารถใช้เทคนิค Microsatellite markers แยกกลุ่มข้าวแดงที่มีเปลือกสีฟางและไม่มีหาง ข้าวแดงที่มีเปลือกสีฟางและไม่มีหาง ข้าว Japonica และลูกผสมระหว่างข้าวแดงกับข้าวปลูกได้

Gao *et al* (2002) ใช้เทคนิค Microsatellite markers ในการศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมข้าวป่า *O. rufipogon* พบว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved