บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร และภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือน มิถุนายน พ.ศ. 2547 ถึง เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2550 การศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย 2 การทดลองหลัก มีรายละเอียดของงานทดลองดังนี้

พันธุกรรม

ศึกษาในพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ พันธุ์พื้นเมือง สายพันธุ์ก้าวหน้า จำนวน 11 พันธุ์/สายพันธุ์ (ตารางที่ 3.1) ลูกผสมชั่วที่ 1 และชั่วที่ 2 ดังนี้

ตาราง 3.1 รายชื่อพันธุ์/สายพันธุ์ pedigree และความสามารถในการสะสมปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ด

พันธุ์	pedigree	ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง
IR68144	IR72/Zawa Bonday	เหล็กสูง (Gregorio *et al*., 2000)
CMU122	ข้าวพันธุ์พื้นเมือง อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่	เหล็กสูง (Prom-u-thai, 2003)
Jalmagna	ข้าวพันธุ์พื้นเมือง ประเทศอินเดีย	เหล็กสูง (Gregorio *et al*., 2000)
เหนียวอุบล 2	SPT7149-429-3/IR21848-65-3-2	เหล็กต่ำ (Prom-u-thai, 2003)
ขาวดอกมะลิ 105	คัดเลือกสายพันธุ์บริสุทธิ์จากพันธุ์พื้นเมือง	เหล็กต่ำ (Prom-u-thai, 2003)
สุพรรณบุรี 1	IR25393-57-2-3/RD23//IR27316-96-3-2-2///SPRLR77205-3-2-1-1/SPRLR79134-51-2-2	เหล็กต่ำ (Prom-u-thai, 2003)
ชัยนาท 1	IR13146-158-1/IR15314-43-2-3-3//BKN6995-16-1-1-2	เหล็กต่ำ (Prom-u-thai, 2003)
กข 6	ใช้รังสีแกมมาชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ105	เหล็กต่ำ (Prom-u-thai, 2003)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 3.1 (ต่อ)

พันธุ์	pedigree	ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง
หอมสุพรรณบุรี	F_1 SPR84177-8-2-2-2-1/SPR85091-13-1-14// ขาวดอกมะลิ105	เหล็กต่ำ (11.4 มก./กก.†)
บางแตน	SPR60/IR60//IR64	เหล็กต่ำ (11.1 มก./กก.†)
ก่ำดอยสะเก็ด	ข้าวพันธุ์พื้นเมือง จ. เชียงใหม่	เหล็กต่ำ (13.3 มก./กก.†)

† เพ็ญนภา งานยังไม่ได้ตีพิมพ์

ลูกผสมชั่วที่ 1

ชุดที่ 1 *ฤดูปลูกที่ 1*

ปลูกพันธุ์พ่อแม่ จำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ IR68144 CMU122 ชัยนาท 1 ขาวดอกมะลิ 105 และก่ำดอยสะเก็ด ในกระถางพลาสติกบรรจุดิน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร จำนวน 5 ต้นต่อกระถาง พันธุ์ละ 3 กระถาง จัดช่วงระยะการปลูกโดยเว้นระยะห่างครั้งละ 10 วัน รวมทั้งหมด 4 ช่วงวันปลูก (planting date) เพื่อให้ข้าวมีช่วงเวลาออกดอกพร้อมกัน ผสมพันธุ์ข้าวเมื่อข้าวออกดอกพร้อมกัน สร้างลูกผสมชั่วที่ 1 ได้จำนวน 4 คู่ผสม ประกอบด้วย

1. IR68144 x ชัยนาท 1
2. CMU122 x ขาวดอกมะลิ 105
3. CMU122 x IR68144
4. ขาวดอกมะลิ 105 x ก่ำดอยสะเก็ด

ชุดที่ 1 *ฤดูปลูกที่ 2*

ปลูกพันธุ์พ่อแม่จำนวน 7 พันธุ์ ได้แก่ IR68144 CMU122 ชัยนาท 1 สุพรรณบุรี 1 ขาวดอกมะลิ 105 กข 6 และเหนียวอุบล 2 วางแผนการทดลองเหมือนกับฤดูปลูกที่ 1 สร้างลูกผสมชั่วที่ 1 ได้จำนวน 11 คู่ผสม ประกอบด้วย

1. ชัยนาท 1 x IR68144
2. IR68144 x ขาวดอกมะลิ 105
3. ขาวดอกมะลิ 105 x IR68144
4. IR68144 x สุพรรณบุรี 1
5. สุพรรณบุรี 1 x IR68144
6. เหนียวอุบล 2 x IR68144
7. กข 6 x IR68144
8. CMU122 x ชัยนาท 1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

9. ชัยนาท 1 x CMU122 10. CMU122 x สุพรรณบุรี 1

11. สุพรรณบุรี 1 x CMU122

ชุดที่ 2

ลูกผสมชั่วที่ 1 ได้รับความอนุเคราะห์จากคุณวิไลลักษณ์ สมมติ ศูนย์วิจัยข้าวปราจีนบุรี จำนวน 8 คู่ผสม ประกอบด้วย

1. IR88144 x บางแตน
2. บางแตน x IR68144
3. IR68144 x หอมสุพรรณบุรี
4. หอมสุพรรณบุรี x IR68144
5. Jalmagna x IR68144
6. IR68144 x Jalmagna
7. Jalmagna x ขาวดอกมะลิ 105
8. บางแตน x Jalmagna

ลูกผสมชั่วที่ 2 คัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่าง IR68144 x ชัยนาท1 มาใช้ในการศึกษา

การทดลองที่ 1 การแสดงออกของลักษณะในลูกผสมชั่วที่ 1

วิธีการทดลอง

นำเมล็ดพันธุ์พ่อแม่และลูกผสมชั่วที่ 1 ที่สร้างได้จำนวน 15 คู่ผสม มาเพาะใน Petri-dishes วางเมล็ดบนกระดาษกรองชุบน้ำจนชุ่ม ประมาณ 5 วันย้ายต้นที่สมบูรณ์ปลูกลงในกระถางพลาสติกบรรจุดินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร รองกระถางด้วยถุงพลาสติก วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ โดยปลูก 5 ต้นต่อซ้ำ ให้ปุ๋ย 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 หลังปลูก 10 วัน ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 25 กิโลกรัม/ไร่ ครั้งที่ 2 ก่อนข้าวออกรวง 30 วัน ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 10 กิโลกรัม/ไร่ เก็บเกี่ยวเมล็ดเมื่อถึงระยะสุกแก่ โดยเก็บเมล็ดแยกต้น ระมัดระวังและหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของเหล็กจากวัสดุต่าง ๆ ตั้งแต่ปลูกจนถึงขั้นตอนการวิเคราะห์ธาตุเหล็ก

สุ่มตัวอย่างแบ่งเมล็ดออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้

1. สำหรับวัดปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องโดยวิธีวิเคราะห์ทางเคมี (Chemical analysis)
2. สำหรับประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าวกล้อง
3. สำหรับปลูกเพื่อทดสอบการกระจายตัวทางพันธุกรรมในลูกผสมชั่วที่ 2

สำหรับลูกผสมชั่วที่ 1 ชุดที่ 2 และพันธุ์พ่อแม่ ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวปราจีน นำมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องโดยวิธีวิเคราะห์ทางเคมี ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

วิธีการวัดปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องโดยใช้วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำเมล็ดพันธุ์พ่อแม่และลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้งหมด มาแกะเปลือกออกด้วยมือเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของธาตุเหล็กที่อาจติดมาจากการใช้เครื่องสีหรืออุปกรณ์อื่น นำไปวัดปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้วิธีการ dry-ashing และอ่านค่าปริมาณธาตุเหล็กโดยใช้เครื่อง Atomic Absorbtion Spetrophotometry,AA (Delhaize *et al*., 1984) นำเมล็ดข้าวที่แกะเปลือกออกแล้วเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ชั่งตัวอย่างเมล็ดข้าวที่อบแล้วตัวอย่างละ 1 กรัมใส่ใน crucible แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ให้ขี้เถ้าเป็นสีเทา-สีน้ำตาล แล้วทิ้งไว้ให้เย็น นำตัวอย่างที่ได้มาย่อยด้วยสารละลายผสมของ HCl:deionize water อัตรา 1:1 ปริมาณ 2 มิลลิลิตรต่อ 1 ตัวอย่าง แล้วล้างด้วย double deionize water นำ crucible วางบน hot pan ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ล้างสารละลายตัวอย่างที่ได้ใส่หลอดทดลองด้วย double deionize water ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร นำไปกรองด้วยกระดาษเบอร์ 5 นำสารละลายที่กรองได้ไปอ่านผลปริมาณธาตุเหล็กด้วยเครื่อง Atomic Absorbtion Spetrophotometry, AA นำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณค่าปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ด ดังสูตร

$$\text{Fe (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)} = \frac{\text{10 (มิลลิลิตร)}}{\text{Wt (กรัม)}} \times \text{Absorbance (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)}$$

โดย 10 = ปริมาตรของสารละลายในแต่ละหลอดทดลอง (มิลลิลิตร)

Wt = น้ำหนักของตัวอย่างเมล็ดข้าวในแต่ละ crucible (กรัม)

Absorbance = ค่าการดูดซับอะตอมของธาตุเหล็กที่อ่านได้จาก Atomic Absorbtion Spetrophotometry,AA (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

<u>การประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมล็ดข้าวกล้อง</u>

นำเมล็ดข้าวกล้องที่แกะเปลือกออกด้วยมือของพันธุ์พ่อแม่ จำนวน 9 พันธุ์ ได้แก่ IR68144 CMU122 เหนียวอุบล 2 ขาวดอกมะลิ 105 สุพรรณบุรี 1 กข 6 ชัยนาท1 หอมสุพรรณบุรี และ Jalmagna ลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 16 คู่ผสม ได้แก่ CMU122 x ชัยนาท 1 ชัยนาท 1 x CMU122 ชัยนาท 1 x IR68144 IR68144 x สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 1 x IR68144 กข 6 x IR68144 เหนียวอุบล 2 x IR68144, CMU122 x สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 1 x CMU122, IR68144 x ขาวดอกมะลิ 105 และขาวดอกมะลิ 105 x IR68144 IR68144 x Jalmagna Jalmagna x IR68144 IR68144 x หอมสุพรรณบุรี หอมสุพรรณบุรี x

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

IR68144 Jalmagna x ขาวดอกมะลิ 105 และขาวดอกมะลิ 105 x Jalmagna แต่ละต้น จำนวน 20 เมล็ด วัดความยาว ความกว้าง

แบ่งกลุ่มลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Prom-U-Thai *et al*., 2007)

ความยาวเมล็ด แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่

1. ยาวมาก >7.5 มิลลิเมตร
2.ยาว = 6.51-7.50 มิลลิเมตร
3. ปานกลาง = 5.51-6.50 มิลลิเมตร
4. สั้น <5.50 มิลลิเมตร

รูปร่างเมล็ด โดยใช้อัตราส่วนของความยาว: ความกว้างของเมล็ด แบ่งเป็น 3 กลุ่ม

1. เรียว > 3.0 มิลลิเมตร
2. ปานกลาง = 2.1-3.0 มิลลิเมตร
3. หนา = 1.1-2.0 มิลลิเมตร

การวิเคราะห์ข้อมูล

ปริมาณธาตุเหล็กที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีและลักษณะทางสัณฐานของเมล็ดข้าวกล้อง นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

การทดลองที่ 2 การถ่ายทอดทางพันธุกรรมและตำแหน่งยีนที่ควบคุมปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง

<u>วิธีการทดลอง</u>

นำเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสมระหว่าง IR68144 x ชัยนาท 1 และพันธุ์พ่อแม่ มาปลูกในกระถางโดยวิธีการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เมื่อต้นข้าวอายุประมาณ 30 วันหลังปลูก เก็บตัวอย่างใบพันธุ์พ่อแม่และลูกผสมชั่วที่ 2 ทุกต้น โดยเก็บแยกต้น นำตัวอย่างใบบรรจุในถุงกระดาษ เก็บไว้ในถุงซิลิกาเจลประมาณ 3 วัน เพื่อให้ตัวอย่างใบแห้ง จากนั้นนำตัวอย่างใบออกจากถุงซิลิกาเจล เก็บในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ เมื่อถึงระยะสุกแก่ เก็บเกี่ยวเมล็ด โดยเก็บเมล็ดแยกต้น ระมัดระวังและหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของเหล็กจากวัสดุต่าง ๆ ตั้งแต่ปลูกจนถึงขั้นตอนการวิเคราะห์ธาตุเหล็ก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สุ่มตัวอย่างแบ่งเมล็ดออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

1. นำไปวัดปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องโดยวิธีวิเคราะห์ทางเคมี (เหมือนการทดลองที่ 1)

2. นำไปประเมินปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องโดยการย้อมสีเพิร์ล พรัสเซียนบูล (Perls' Prussian blue, PPB)

<u>วิธีการประเมินปริมาณธาตุเหล็กโดยการย้อมสีเพิร์ล พรัสเซียนบูล (Perls' Prussian blue, PPB)</u>

นำเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 2 และพันธุ์พ่อแม่ ต้นละ 10 เมล็ด มาแกะเปลือกออกด้วยมือเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของธาตุเหล็กที่อาจติดมาจากการใช้เครื่องสีหรืออุปกรณ์อื่น นำเมล็ดแช่ในน้ำกลั่นที่อยู่ในหลอด eppendorf tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ปิดฝาทิ้งไว้ประมาณ 4-5 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดข้าวออกจากขวดโดยใช้คีมพลาสติกคีบออกมาวางไว้ในจานแก้วหรือพลาสติก หลังจากนั้นผ่าครึ่งเมล็ดตามยาวด้วยใบมีดที่เคลือบเทฟลอน (Teflon knife) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของธาตุเหล็ก หยดสารละลายที่ใช้สำหรับย้อมสี โดยเตรียมจาก 2% HCl ผสมกับ 2% $K_4Fe((CN)_6.3H_20)$ ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แล้วแช่ในน้ำกลั่น 2 นาที (สารละลายสำหรับใช้ในการย้อมสีนี้ต้องใช้ทันทีหลังจากที่เตรียม ไม่สามารถเก็บไว้ได้นาน) บันทึกการติดสีย้อมของเมล็ดข้าวกล้องบริเวณคัภพะ (Embryo) แต่ละเมล็ดดังนี้ ติดสีเข้ม (+++) ปานกลาง (++) ต่ำ (+) โดยทำการบันทึกการติดสีย้อมภายใต้กล้องสเตอริโอ (Prom-u-thai *et al*., 2003)

<u>วิธีการศึกษาตำแหน่งยีนที่ควบคุมปริมาณธาตุเหล็กโดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่าง SSR marker และลักษณะปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง</u>

นำตัวอย่างใบแห้งของพันธุ์พ่อแม่และประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 แต่ละต้น มาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ บดให้ละเอียดโดยใช้ไนโตรเจนเหลว เทตัวอย่างใส่ใน eppendorf tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปสกัดดีเอ็นเอ (Xie *et al*.,1999) นำดีเอ็นเอมาตรวจสอบปริมาณและคุณภาพ โดยใช้วิธี agarose gel electrophoresis เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่ได้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ไว้ใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) เพื่อนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองโดยใช้ปฏิกริยา PCR โดยอาศัยเทคนิค SSR markers จำนวน 77 makers ที่กระจายอยู่บนโครโมโซมทั้ง 12 แท่งของข้าว ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR นำไปแยกขนาดดีเอ็นเอด้วย 10 % polyacrylamide gel electrophoresis นำแผ่นเจลที่ได้ย้อมสีด้วย ethidium bromide เพื่อนำไปดูการเกิดลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ภายใต้แสงยูวีของเครื่อง UV transilluminator บันทึกภาพด้วยกล้องดิจิตอล เพื่อนำไปวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิเคราะห์ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ (Polymorphism) ในพันธุ์พ่อแม่ที่เป็นพันธุ์เหล็กต่ำ (ชัยนาท 1) และพันธุ์เหล็กสูง (IR68144) และลูกผสมชั่วที่ 2 โดยดัดแปลงจากวิธี Bulk Segregant Analysis (Masojc´, 2002) โดยแบ่งลูกผสมชั่วที่ 2 เป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มต้นที่มีเหล็กสูงสุดจำนวน 5 ต้น และกลุ่มต้นที่มีเหล็กต่ำสุดจำนวน 5 ต้น เลือก marker ที่แสดงความสัมพันธ์กับลักษณะปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องในลูกผสมชั่วที่ 2 นำไปศึกษาในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ทั้งหมด

การวิเคราะห์ข้อมูล

<u>ลักษณะทางปริมาณ</u>

- ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีนำมาจัดแยกกลุ่มการกระจายตัวของลูกผสมชั่วที่ 2 เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ โดยต้นที่ปริมาณเธาตุเหล็กอยู่ในช่วงของพันธุ์ IR68144 (เหล็กสูง) จัดเป็นต้นที่มีเหล็กสูง ส่วนต้นที่มีปริมาณธาตุเหล็กอยู่ในช่วงพันธุ์ชัยนาท 1 (เหล็กต่ำ) จัดเป็นต้นที่มีเหล็กต่ำ ส่วนต้นที่มีปริมาณธาตุเหล็กต่ำกว่าช่วงของพันธุ์ IR68144 และสูงกว่าช่วงของพันธุ์ชัยนาท 1 จัดเป็นต้นที่มีเหล็กปานกลาง คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน (sd) ค่าความแปรปรวน ของประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 และพันธุ์พ่อแม่ ทดสอบการกระจายตัวของปริมาณธาตุเหล็กโดยวิธี chi-square test (χ^2 test) ที่สัดส่วนการกระจายตัวแบบ 1 (สูง) :2 (ปานกลาง) :1 (ต่ำ) ลักษณะถูกควบคุมด้วย 1 ยีน และสัดส่วนการกระจายตัวแบบ 1 (สูง) :14 (ปานกลาง) :1 (ต่ำ) ลักษณะถูกควบคุมด้วย 2 ยีน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

- คำนวณค่าสหสัมพันธ์ (correlation) ของการติดย้อมสีเพิร์ลพรัสเซียนบูลกับปริมาณธาตุเหล็ก

โดยที่

แกน Y = ค่าเฉลี่ยการติดสีในเมล็ดที่ระดับการติดสีต่าง ๆ ของแต่ละตัวอย่าง

คำนวณได้จากสูตร (Pintasen *et al*., 2007)

$$= \sum \left[\frac{\%\, intensity(a)}{100} \times a \right] + \left[\frac{\%\, intensity(b)}{100} \times b \right] + \left[\frac{\%\, intensity(c)}{100} \times c \right]$$

โดย a = ระดับการติดสีย้อมสีเข้ม (+++ = 3)

b = ระดับการติดสีย้อมปานกลาง (++ = 2)

c = ระดับการติดสีย้อมต่ำ (+ = 1)

แกน X = ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความสัมพันธ์ระหว่าง marker และลักษณะปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง

นำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 จัดกลุ่มการกระจายตัวของ marker class เปรียบเทียบกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพันธุ์พ่อแม่ โดยลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มี ลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนพันธุ์แม่ที่เป็นเหล็กสูง (IR68144) แทนสัญญลักษณ์ด้วย A type ลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนพันธุ์พ่อที่เป็นเหล็กต่ำ (ชัยนาท 1) แทนสัญญลักษณ์ด้วย B type ส่วนลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มี ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของทั้งพันธุ์พ่อและแม่ แทนสัญญลักษณ์เป็น H type ทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยปริมาณธาตุเหล็กของลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่าง A type และ B type โดยวิธี unpaired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง markers และลักษณะปริมาณธาตุเหล็ก โดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ MAP Manager QTXb20 ด้วยวิธี Interval mapping ใช้หลักของ maximum likelihood method โดย LOD $\geq$ 2.5 แสดงว่ามีความสัมพันธ์ระหว่าง marker และลักษณะปริมาณธาตุเหล็ก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved