ตรวจเอกสาร

1. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว

ความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) มักแสดงถึงความแปรปรวนหรือความแตกต่างทางสายพันธุ์ของพืชในแต่ละชนิด ที่ได้ทำการรวบรวมไว้เพื่อเป็นการอนุรักษ์หรือคงไว้และเป็นแหล่งพันธุกรรมของพืชชนิดนั้นๆ ข้าว นับเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีความหลากหลายทางสายพันธุ์ค่อนข้างมาก (Oka, 1975) สามารถจำแนกข้าวออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ คือ

1.ข้าวเอเชีย (*Oryza sativa* L.) สามารถปลูกได้ทั่วไป โดยเฉพาะในแถบเอเชียจะพบข้าวกลุ่มนี้เป็นส่วนใหญ่

2.ข้าวแอฟริกา (*Oryza glaberrima* Steu.) สามารถปลูกได้เฉพาะด้านตะวันออกของทวีปแอฟริกาเท่านั้น

3. ข้าวป่า (Wild rice) เป็นข้าวที่เกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติในแต่ละพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวและมีหลายชนิด (species) แต่ที่สำคัญและเกี่ยวข้องกับข้าว 2 กลุ่มแรก ได้แก่ *Oryza nivara*, *O. rufipogon* ซึ่ง Chang (1976a, 1976b) และ Oka (1974, 1975) เชื่อว่าข้าวป่าทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นบรรพบุรุษของข้าว *O. sativa* และ *O. glaberrima* (ประพาส, 2526)

ปัจจุบันข้าวที่นิยมปลูกเพื่อบริโภคมี 2 ชนิด (species) ได้แก่ *O. sativa* และ *O. glaberrima* พบว่าข้าว *O. sativa* มีจำนวนพันธุ์ ความหลากหลายของลักษณะพันธุ์ การแพร่กระจายและนิยมปลูกเป็นการค้าเพื่อจำหน่ายในตลาดโลกมากกว่า *O. glaberrima* (อัมมาร และวิโรจน์, 2533) และยังสามารถจัดแบ่งข้าวเอเชีย (*O. sativa*) ออกได้ 3 ชนิดย่อย (subspecies) คือ

1. Subspecies Indica เป็นข้าวที่ปลูกแพร่กระจายทั่วไปในแถบเอเชียใต้ เช่น ประเทศอินเดีย ศรีลังกา และแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศลาว เวียดนาม กัมพูชา มาเลเซีย อินโดนีเซีย สาธารณรัฐประชาชนจีน ฟิลิปปินส์ และประเทศไทย ต่อมาได้ถูกนำไปปลูกในทวีปอเมริกา ข้าวในกลุ่มนี้จะมีลักษณะเมล็ดยาว ต้นสูง ไวต่อช่วงแสง ใบมากและโค้งงอ และโดยปกติจะไม่ตอบสนองต่อปุ๋ย จึงให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำแต่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพต่างๆได้ดี

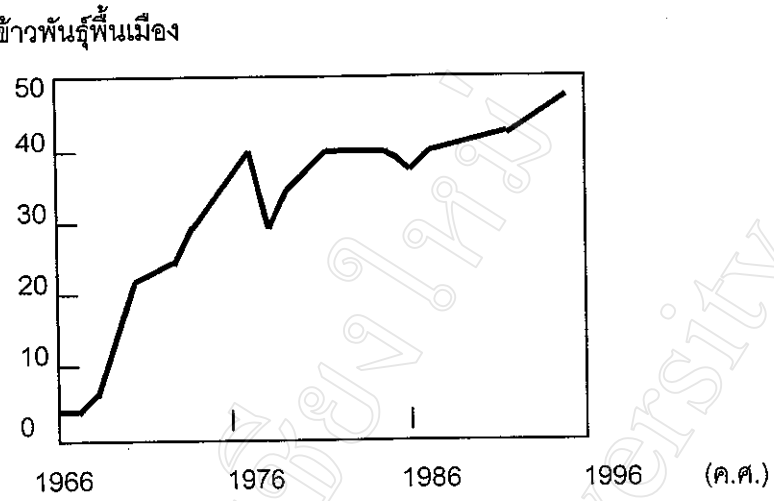
2. Subspecies Japonica เป็นข้าวที่มีการแพร่กระจายและเพาะปลูกทั่วไปในเขตอบอุ่น เช่น ประเทศญี่ปุ่น สาธารณรัฐประชาชนจีน เกาหลี ข้าวกลุ่มนี้จะมีลักษณะเมล็ดป้อม ต้นเตี้ย ใบตั้งและสั้น ไม่ค่อยไวต่อช่วงแสง และตอบสนองต่อปุ๋ยได้ดี

3. Subspecies Javanica ข้าวในกลุ่มนี้มีการปลูกแพร่กระจายทั่วไปในประเทศอินเดียและฟิลิปปินส์ แต่ปริมาณไม่มากนักและไม่นิยมปลูกในปัจจุบัน ข้าวประเภทนี้มีต้นสูงและเมล็ดป้อมใหญ่ ให้ผลผลิตต่ำกว่าข้าว indica และไม่ค่อยตอบสนองต่อปุ๋ย

โดยส่วนใหญ่แล้วข้าวที่ปลูกในประเทศไทยเป็นชนิด *O. sativa* L. และเป็นชนิดย่อย (subspecies) Indica ซึ่งจะมีความหลากหลายของพันธุ์ค่อนข้างมาก ทั้งที่เป็นข้าวเจ้า (non-glutinous rice) และข้าวเหนียว (glutinous rice) แต่เดิมความหลากหลายของพันธุ์ข้าวสามารถพบได้ในแปลงข้าวของเกษตรกรในแต่ละท้องที่ที่มีการปลูกข้าว และพันธุ์ข้าวเหล่านั้นก็เป็นข้าวพื้นเมืองที่ปลูกกันมานานในแต่ละท้องถิ่น เมื่อ 10 ปีที่ผ่านมา พบว่าพันธุ์ข้าวของประเทศ มากกว่าร้อยละ 50 เป็นข้าวพื้นเมือง และน้อยกว่าร้อยละ 50 เป็นพันธุ์ข้าวของรัฐบาล แต่ต่อมาได้มีการนำข้าวพันธุ์ปรับปรุง (improved varieties) ของรัฐบาลเข้ามาปลูกทดแทน เพราะเห็นว่าเป็นข้าวพันธุ์ดีที่ให้ผลผลิตสูง ทนทานต่อโรคและแมลง และเป็นที่ต้องการของตลาด จึงทำให้ความสำคัญของข้าวพื้นเมืองลดน้อยลงปัจจุบันจำนวนข้าวพื้นเมืองลดลงมีไม่ถึงร้อยละ 30 และมีการใช้ข้าวพันธุ์ปรับปรุงของรัฐบาลมากขึ้นกว่าร้อยละ 70 ส่งผลให้ความหลากหลายของพันธุ์ข้าวในแปลงข้าวของเกษตรกรลดลง เหลือเพียง 2-3 พันธุ์ที่เป็นพันธุ์ส่งเสริมและขายได้ราคาดี โดยเฉพาะขาวดอกมะลิ 105 และ กข 15 ที่พบว่ามีพื้นที่ปลูกครอบคลุมเนื้อที่ข้าวนาปีถึง 20 เปอร์เซ็นต์ (กรมวิชาการเกษตร, 2541)

2. ข้าวพื้นเมืองและความสำคัญ

แต่เดิมข้าวพื้นเมืองมีการกระจายทั่วไปในแต่ละพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวและแตกต่างกันไปตามแหล่งที่ปลูก เช่น ข้าวเจ้าพันธุ์เหลืองทอง เก้ารวง ขาวตาอู่ เล็บมือนาง พบบริเวณภาคกลาง พันธุ์ข้าวขาวกาหวิน เล็บนก ข้าวหอมลูกแดง พบได้ที่ภาคใต้ ข้าวเจ้าพันธุ์เจ้าซอย อีเขียวนอนทุ่ง ข้าวเหนียวพันธุ์ขี้ตม ปล้องแอว สาวลืมย่าง ต่างเป็นพันธุ์ข้าวพื้นเมืองของภาคอีสาน และข้าวก่ำดอย สะเก็ด ของภาคเหนือ แต่ปัจจุบันข้าวพื้นเมืองเหล่านี้ได้สูญหายไปและไม่มีการนำมาปลูก หรืออาจมีการปลูกบ้างแต่ในปริมาณที่น้อย และเมื่อระบบการผลิตข้าวเปลี่ยนไปเป็นการผลิตเพื่อการค้า แทนที่จะผลิตเพื่อการยังชีพ ทำให้ข้าวพันธุ์ดีที่ทางราชการส่งเสริมเข้ามามีบทบาทปลูกทดแทนข้าวพันธุ์พื้นเมือง และในที่สุดข้าวพื้นเมืองก็หมดความสำคัญและสูญหายไปจากแปลงปลูกข้าวอย่างรวดเร็ว (บริบูรณ์ และ-สงกรานต์, 2527) แต่ในแง่ของการปรับปรุงพันธุ์ ข้าวพื้นเมืองมีความสำคัญและจำเป็นต่อการสร้างข้าวพันธุ์ใหม่เป็นอย่างมาก Khush (1998) กล่าวว่า การที่จะสร้างหรือพัฒนาข้าวพันธุ์ใหม่ได้นั้นจำเป็นต้องมีข้าวพันธุ์พ่อแม่ ซึ่งเป็นข้าวพื้นเมืองโดยส่วนใหญ่และจำนวนข้าวพื้นเมืองที่ใช้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ (รูปที่ 1)



รูปที่1 จำนวนข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ใช้เป็นพันธุ์พ่อแม่ในการสร้างข้าวพันธุ์ใหม่ (Source: Khush, 1998)

ลักษณะและความสำคัญของข้าวพื้นเมือง

ข้าวพื้นเมือง เป็นข้าวที่เกษตรกรปลูกมาตั้งแต่โบราณ เกือบทั้งหมดเป็นข้าวไวแสง (photoperiod sensitive rice) จะออกดอกได้เฉพาะช่วงที่มีแสงสั้นตามความต้องการของข้าวพันธุ์นั้นๆ ทำให้สามารถกำหนดวันออกดอกได้แน่นอน อาจคลาดเคลื่อนเล็กน้อย ทำให้ปลูกข้าวพื้นเมืองได้เฉพาะฤดูนาปีหรือปลูกตามฤดูกาลได้เท่านั้น มีทั้งที่เป็นข้าวเจ้า (non-glutinons rice) และข้าวเหนียว (glutinous rice) ส่วนใหญ่เป็นข้าวพันธุ์สูง มีความสูงเกิน 140 เซนติเมตร ซึ่งจะมีปัญหาเกี่ยวกับการหักล้ม (lodging) และมีแนวโน้มการหักล้มเพิ่มขึ้น เมื่อระดับของปุ๋ยในดินสูงเกินไปและมีปัญหาเกี่ยวกับน้ำท่วมขัง (waterlogged) ถึงแม้ว่าข้าวพื้นเมืองมีความสามารถในการให้ผลผลิตที่ต่ำเมื่อเทียบกับข้าวพันธุ์ปรับปรุง แต่ความสามารถของการให้ผลผลิตนั้นเป็นลักษณะที่คงที่ เพราะข้าวสามารถปรับตัวได้ดีในเกือบทุกสภาพแวดล้อม ทำให้สามารถแสดงลักษณะที่ดีในทุกสภาพแวดล้อม คุณภาพเมล็ดดี และที่สำคัญคือ เป็นแหล่งพันธุกรรมของข้าวในการปรับปรุงพันธุ์ โดยเฉพาะแหล่งยีนที่แสดงความต้านทานโรคและแมลง ที่สามารถถ่ายทอดไปสู่ข้าวพันธุ์ปรับปรุงได้ (Mackill *et al.*, 1996)

จากความสำคัญดังกล่าว ทำให้นักวิชาการสนใจทำการเก็บรวบรวมข้าวพื้นเมืองของประเทศไทย เพื่อเป็นพื้นฐานทางพันธุกรรม สำหรับโครงการปรับปรุงพันธุ์ และเพื่อเป็นการอนุรักษ์ข้าวพื้นเมืองพันธุ์ต่างๆ ที่กำลังจะสูญหายไป

3. ความรู้เกี่ยวกับข้าวเหนียวดำ

ข้าวเหนียวดำ หรือ ข้าวก่ำ เมื่อเรียกตามภาษาพื้นเมืองทางภาคเหนือ ซึ่งเป็นการเรียกตามลักษณะของเมล็ดที่มีสีม่วงดำหรือสีแดงก่ำ นิยมปลูกในภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ

ไทย ปลูกได้เฉพาะฤดูนาปี ทั้งนี้ส่วนใหญ่เป็นข้าวไวแสงและเป็นข้าวเหนียว มีบางส่วนที่เป็นข้าวเจ้าปนข้าวเหนียว แต่มีปริมาณน้อยมาก ข้าวเหนียวดำมีลักษณะเด่นที่สามารถสังเกตได้ชัดเจน แตกต่างไปจากข้าวที่นิยมปลูกทั่วไป คือ สีที่แสดงบนต้นข้าวและเมล็ด จากความแตกต่างดังกล่าว ธีรพงษ์ (2538) ได้ทำการศึกษาคุณค่าทางอาหารของข้าวเหนียวดำ ประกอบด้วย ปริมาณโปรตีน ไขมัน ฟอสฟอรัส โปตัสเซียม และแคลเซียม ทั้งในส่วนของเปลือกและข้าวกล้อง พบว่าโดยส่วนใหญ่แล้วกลุ่มข้าวเหนียวดำมีปริมาณธาตุอาหารทั้ง 5 ชนิดในข้าวกล้องสูงกว่ากลุ่มข้าวขาว นอกจากคุณค่าทางอาหารในข้าวเหนียวดำแล้ว ยังพบว่าข้าวเหนียวดำมีความหลากหลายของพันธุ์ค่อนข้างมาก โดยเฉพาะเมื่อจัดจำแนกตามสีที่ปรากฏบนต้นข้าว

3.1 รงควัตถุที่ทำให้เกิดสีในข้าวเหนียวดำ

รงควัตถุที่ทำให้เกิดสีในพืช แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆดังนี้ คือ คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) มีสีเขียว คาโรตินอยด์ (carotinoid) มีสีเหลืองจนถึงแดง และฟลาโวนอยด์ (flavoniod) โดยมีรงควัตถุที่สำคัญ คือ แอนโทไซยานิน (anthocyanin) มีสีตั้งแต่สีแดงจนถึงสีม่วงหรือสีน้ำเงิน พบว่าโดยส่วนใหญ่แล้ว สีที่ปรากฏขึ้นบนส่วนต่างๆของต้นข้าวเหนียวดำ เกิดจากรงควัตถุแอนโทไซยานินและรงควัตถุที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน Hayashi (1944) Hayashi and Abe (1952) และ Hayashi and Isaka (1964) ได้ทำการวิเคราะห์และรายงานว่า ใน rice anthocyan มีสารประกอบที่ให้สีคือ แอนโทไซยานิน โดยมีไซยานิดิน (cyanidin) เป็นองค์ประกอบ และเรียกข้าวชนิดนี้ว่า "purple rice"

รงควัตถุกลุ่มนี้จะให้สีบนต้นข้าวแตกต่างกันไป ตั้งแต่สีชมพูจนถึงสีม่วงดำ และมีการกระจายรงควัตถุไปตามส่วนต่างๆของต้นข้าวแตกต่างกันตามสายพันธุ์ ส่วนใหญ่จะพบรงควัตถุและให้สีในทุกส่วนของต้นข้าวที่เป็นลำต้นและใบ (vegetative part) และเกือบทุกส่วนของช่อดอก (floral part) ยกเว้นในส่วนของ embryo หรือ endosperm ที่ไม่พบการกระจายของรงควัตถุ (Chang, 1964) แอนโทไซยานิน จะอยู่ใน vacuole ใน cell ที่อยู่ในชั้นของ epidermal cell ของใบ ดอก และผลของพืช และโครงสร้างของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไป เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ใน vacuole เปลี่ยนไป ถ้า pH = 1 หรือต่ำกว่า 1 จะให้สีส้มแดง ถ้า pH < 6 จะไม่มีสี ถ้า pH > 6 จะให้สีน้ำเงิน-ม่วง แอนโทไซยานิน สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น alcohol และสามารถละลายได้ในน้ำ (Moskowitz and Hrazdina, 1981) โดยทั่วไปแล้ว ลักษณะของการแสดงออกของสีในพืชจะเป็นการแสดงออกที่คงที่มากกว่าลักษณะพื้นฐานอื่นๆที่เป็นลักษณะคุณภาพ (qualitative characters) ถึงอย่างไรก็ตามยังคงมีเงื่อนไขของสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการปรากฏของสี เช่น ระยะของการเจริญเติบโต (growth stage) อุณหภูมิ (temperature) หรือแสงอาทิตย์ (sunlight) ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลกระทบต่อการสังเคราะห์และการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินและความเข้มของสีที่ปรากฏเปลี่ยนไป (Gross, 1987)

3.2 ปัจจัยของสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีในข้าวเหนียวดำ

3.2.1 แสง (light) แสงมีผลต่อการสร้างหรือสังเคราะห์รงควัตถุ ถ้าพืชได้รับแสงมาก จะทำให้การสังเคราะห์รงควัตถุมากขึ้นด้วย เช่น ผลแอปเปิ้ลที่อยู่บริเวณร่มเงาของต้นที่ไม่โดนแสงหรือได้รับแสงน้อย การพัฒนาของสีแดงของเปลือกจะน้อยลงและลดลงกว่าผลที่ได้รับแสงเต็มที่ (Magness, 1928) และการสะสมของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้น เมื่อได้รับความเข้มแสงมากขึ้น (Siegelman and Hendricks, 1958)

3.2.2 อุณหภูมิ (temperature) อุณหภูมิมีผลต่อการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน โดยอุณหภูมิต่ำจะกระตุ้นการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน และอุณหภูมิสูง จะยับยั้งการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน

3.2.3 ดินและปุ๋ย (soil and fertilizer) ความชื้นในดิน (soil moisture) กระตุ้นการสร้างแอนโทไซยานินและในสภาพพื้นที่ที่แห้งแล้ง หรือในฤดูที่อากาศแห้งแล้ง มีความชื้นในดินต่ำ พบว่าการสังเคราะห์แอนโทไซยานินลดลง (Saure, 1990)

ธาตุไนโตรเจน (nitrogen, N) เป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อการสร้างแอนโทไซยานิน ถ้ามีไนโตรเจนมากเกินไป การสร้างแอนโทไซยานินจะลดลง (Kliewer, 1977)

3.2.4 ระยะการเจริญเติบโตของพืช (growth stage) พบว่าปริมาณหรือความเข้มของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามช่วงเวลาของการเจริญเติบโตของพืช เช่น ในการงอก (germination) มักไม่พบแอนโทไซยานิน เนื่องจากในช่วงนี้เกิดขบวนการ hydrolysis ซึ่งแอนโทไซยานินสามารถละลายได้ในน้ำ และในช่วงหลังออกดอก จะพบว่าแอนโทไซยานินจะไปสะสมรวมกันในส่วนของใบ เปลือก และเมล็ดมากกว่าส่วนอื่นๆ (สรศักดิ์, 2531) ในองุ่น การสร้างแอนโทไซยานิน จะเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะแรกของการเจริญและจะมีปริมาณลดลง เมื่อถึงระยะสุกแก่เต็มที่ (Riberau-Gayon, 1982)

3.3 ลักษณะที่ดีของข้าวเหนียวดำ

ข้าวเหนียวดำ หรือ ข้าวก่ำ เป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองในแถบภาคเหนือและภาคอีสาน มีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างไปจากข้าวชนิดอื่นและข้าวในกลุ่มเดียวกัน ซึ่งสามารถสังเกตเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนและเป็นที่น่าสนใจ คือการปรากฏของสีบนต้นข้าว ซึ่งการปรากฏของสีและความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะแตกต่างกันไปตามพันธุ์ นอกจากคุณค่าทางด้านโภชนาการที่พบในข้าวเหนียวดำแล้ว ยังพบว่าข้าวเหนียวดำมีลักษณะที่ดีตามลักษณะของข้าวพื้นเมือง คือ มีคุณภาพเมล็ดดี ถึงแม้ว่าจะให้ผลผลิตต่ำแต่มีความสามารถในการทนแล้งได้ปานกลางและฟื้นตัวจากแล้งได้ดี รวมทั้งสามารถ

ด้านทานเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียวได้ปานกลาง (วิไลลักษณ์, 2541) ในประเทศจีนมีความสนใจที่จะศึกษาและให้ความสำคัญกับข้าวเหนียวดำค่อนข้างมาก ถึงแม้ว่าประเทศจีนสามารถปลูกข้าวเหนียวดำได้เพียงแห่งเดียวในประเทศ (สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯสยามบรมราชกุมารี, 2524) โดยเฉพาะการศึกษาในเรื่องของสี ซึ่งเป็นลักษณะที่น่าสนใจและสังเกตเห็นได้ชัดเจน ในขณะที่ความสำคัญในเรื่องของสีในข้าวหรือในพืชผสมตัวเอง อาจจะมีไม่มากนักเมื่อเทียบกับพืชผสมข้าม ที่ใช้ประโยชน์จากสี เป็นตัวดึงดูดแมลงเพื่อช่วยในการผสมเกสร แต่ในด้านพันธุศาสตร์ พบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของสีในพืชชั้นสูง โดยเฉพาะในพืชปลูกมาเป็นเวลานาน หลังจากมีการพบกฎของเมนเดล(Medelian's law) ทั้งนี้เพราะว่า ลักษณะดังกล่าวมีความคล้ายคลึงกับลักษณะของมนุษย์และเป็นลักษณะเด่นสะดุดตา

Misro *et al.* (1960) ทำการศึกษาการปรากฏของสีในข้าวจำนวน 630 พันธุ์ และสรุปรูปแบบของการปรากฏของสีไว้ว่า เมื่อมีการปรากฏของสีบนส่วนใดส่วนหนึ่งของต้นข้าว ส่วนที่สีปรากฏนั้นจะต้องเป็นยอดดอก (apiculus) (ตารางที่1) ซึ่งรูปแบบดังกล่าวมีบทสรุปเช่นเดียวกับข้าวอีก 240 พันธุ์ที่ทำการศึกษาโดย Takahashi (1957) อาจจะมีข้าวบางพันธุ์ที่ไม่เป็นไปตามบทสรุปดังกล่าว แต่มีจำนวนที่น้อย ดังนั้นจึงมีการยอมรับว่า การเกิดสีบนส่วนยอดดอก เหมาะสมที่จะใช้ในการศึกษาจำนวนยีนที่ควบคุมการเกิดสี หรือการสร้างแอนโทไซยานินในต้นข้าว

3.4 ลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมการเกิดสีในข้าวเหนียวดำ

เริ่มมีการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมการเกิดสีในข้าว ตั้งแต่ ค.ศ. 1910 แต่เป็นการศึกษาในข้าวพันธุ์พื้นเมืองของประเทศอินเดียและญี่ปุ่นเป็นส่วนใหญ่ Jodon (1948, 1955) คาดว่าระบบยีนที่เกี่ยวข้องหรือควบคุมการเกิดสีในต้นข้าวแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับพันธุ์หรือชนิดของข้าว และแตกต่างกันไปตามส่วนต่างๆของต้นข้าว (Dhulppanavar *et al.*, 1973) จากการศึกษาในข้าวจาโปนิคา โดย Nagao and Takahashi (1947) และในข้าวอินดิกา โดย Ramiah and Rao (1953) สรุปได้ว่าลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมการเกิดสีในข้าว เกิดจากการทำงานร่วมกันของยีน ที่ถือเป็นยีนพื้นฐานของการเกิดสีจำนวน 2 คู่ โดยยีนคู่ที่หนึ่ง เกี่ยวข้องกับการสร้าง chromogen ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตรงควัตถุ และยีนอีกคู่ที่เหลือควบคุมการเปลี่ยน chromogen ไปเป็นรงควัตถุที่ทำให้เกิดสี หากยีนคู่ใดคู่หนึ่งขาดหายไปหรือยีนคู่ใดคู่หนึ่งอยู่ในสภาพ homozygous recessive สีในข้าวเหนียวดำก็จะไม่ปรากฏขึ้น (Takahashi, 1964) จากนั้น Chang (1964) ได้ทำการศึกษาและสรุปเพิ่มเติมว่า นอกจากยีนพื้นฐานที่สำคัญทั้ง 2 คู่ที่กล่าวมาแล้วนั้น ยังพบว่ามียีนอีก 1 คู่ที่เป็นตัวกำหนดการกระจายของรงควัตถุไปตามส่วนต่างๆของต้นข้าว

ตารางที่ 1 รูปแบบของการเกิดสีบนส่วนต่างๆของข้าว (Misro *et al.* 1960)

Groups	No. of Varieties	Leaf-sheath	Auricle	Ligule	Junctura	Internode	Pulvinus	Septum	Sterile glumes	Lemma & pale	Apiculus	Stigma
a	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
b	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
c	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
d	44	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
e	5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
f	279	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
g	25	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
h	11	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
I	53	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
j	33	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
k	8	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
l	7	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
m	12	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-
n	6	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
o	6	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
p	28	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+
q	5	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
r	18	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
s	9	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+
t	6	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+
u	11	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+
v	7	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+
Total	630											

หมายเหตุ : + แสดงถึงการเกิดสี และ - แสดงถึงการไม่เกิดสี

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตารางที่ 2 อัตราส่วนระหว่างสีม่วงต่อสีเขียว (ขาว) ในลูกผสมชั่วที่ 2 และจำนวนยีนที่ควบคุมการเกิดสีบนส่วนต่างๆของต้นข้าว

ส่วนของต้นข้าว	อัตราส่วนใน F_2 (ม่วง : เขียว/ขาว)	จำนวนยีน	แหล่งอ้างอิง
Apiculus	3:1	1	Panda *et al.* (1967), Kadam and D′Cruz (1960)
	9:7	2	Rao & Misro (1968), Dhulappanavar *et al.* (1975)
	27:37	3	Ramesh (1984)
Auricle	9:7	2	Vishwakarma *et al.* (1991)
	27:37	3	Wu *et al.* (1994), Dhulappanavar *et al.* (1973)
Glume	9:7	2	Dhulappanavar *et al.* (1973), Hadagal *et al.* (1984)
	3:13	2	Panda *et al.* (1967), Dhulappanavar (1979)
	9:55	3	Vishwakarma *et al.* (1991)
Internode	9:7	2	Dhulappanavar (1973), Dhulappanavar *et al.* (1973)
	27:37	3	Dhulappanavar (1979)
Leaf blade	39:25	3	Nadaf *et al.* (1994)
Leaf sheath	9:7	2	Dhulappanavar (1973), Dhulappanavar *et al.* (1973)
			Kudam and D′Cruz (1960)
	27:37	3	Ramesh (1984)
Ligule	9:7	2	Wu *et al.* (1994)
	45:19	3	Pavithran & Mohandas (1976)
Stigma	9:7	2	Rao & Misro (1968)
	3:13	2	Panda *et al.* (1967), Ramesh (1984)
	27:37	3	Vishwakarma *et al.* (1991)
Pericarp	-	1,4	Annie and Pavithran (1988)

3.5 ประโยชน์ของการศึกษาการถ่ายทอดสีของข้าวเหนียวดำ

นอกจากข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของการเกิดสีและพฤติกรรมในการถ่ายทอดสีของข้าวเหนียวดำแล้ว ยังพบว่า การศึกษาในเรื่องของสีสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการ

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งยีนว่าอยู่บนโครโมโซมเดียวกันหรือไม่ (linkage) โดยเฉพาะยีนที่ควบคุมลักษณะองค์ประกอบผลผลิต โดยใช้เป็นตัวบ่งชี้ (marker) พิจารณาการถ่ายทอดสีควบคู่ไปกับการถ่ายทอดลักษณะทางการเกษตร (agronomic character) ว่ามีการถ่ายทอดลักษณะไปด้วยกันหรือไม่ อย่างไร ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากในงานด้านปรับปรุงพันธุ์

4. ผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะพันธุกรรมที่ควบคุมการถ่ายทอดองค์ประกอบผลผลิตในข้าว

ปัจจุบันความต้องการบริโภคข้าวมีปริมาณเพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นต่อไปในอนาคต เนื่องจากจำนวนประชากรของโลกที่มีจำนวนมากขึ้น ดังนั้นการเพิ่มผลผลิตข้าว จึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง นักปรับปรุงพันธุ์ต่างพยายามหาแนวทางในการเพิ่มผลผลิต ทั้งการสร้างพันธุ์ใหม่หรือนำเข้าพันธุ์ข้าวจากต่างประเทศที่เห็นว่าสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของประเทศได้มาปลูกทดสอบ Peng *et al.* (1994) และ Khush (1996) ได้ทำการสรุปลักษณะของรูปแบบต้นแบบใหม่ของข้าว (New Plant Type) ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตได้สูง ดังนี้คือ

1. แตกกอน้อย มีรวงประมาณ 3-4 รวงต่อต้น
2. ไม่มีต้นที่ไม่ให้รวง
3. ขนาดรวงใหญ่ มีเมล็ดประมาณ 200-250 เมล็ดต่อรวง
4. สูงประมาณ 90-100 เซนติเมตร
5. ลำต้นแข็งแรง
6. ระบบรากสมบูรณ์ แข็งแรง
7. ต้านทานโรคและแมลงได้หลายๆ ชนิด (multiple resistance)
8. มีอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 110-130 วัน
9. ดัชนีเก็บเกี่ยว (HI) สูง ประมาณ 0.6
10. มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง ประมาณ 13-15 ตันต่อเฮกตาร์

ผลผลิตของพืชที่ปรากฏให้เห็น เป็นผลรวมที่เกิดจากองค์ประกอบผลผลิต ซึ่งประกอบด้วย จำนวนต้นต่อพื้นที่ จำนวนหน่วยที่ให้ผลผลิตต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อหน่วยที่ให้ผลผลิต และน้ำหนักเฉลี่ยต่อเมล็ดของพืชแต่ละชนิด เช่นเดียวกันกับผลผลิตของข้าว ที่เป็นผลมาจากองค์ประกอบผลผลิตในแต่ละส่วน ประกอบด้วย จำนวนกอต่อพื้นที่ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และน้ำหนักเมล็ดโดยเฉลี่ย (Matsushima, 1957) พบว่าในระหว่างองค์ประกอบผลผลิตแต่ละส่วน สิ่งแวดล้อมจะมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบที่สาม คือ จำนวนเมล็ดต่อรวง

(Matsushima and Yamaguchi, 1951) ทั้งนี้เพราะว่า จำนวนเมล็ดต่อรวงประกอบไปด้วย เมล็ดบนระแง้แรกและระแง้ที่สอง (Primary and secondary branch) และในบางกรณีอาจรวมถึงเมล็ดบนระแง้ที่สาม (tertiary branch) มีเพียงจำนวนเมล็ดบนระแง้แรกเท่านั้น ที่ถูกควบคุมด้วยลักษณะทางพันธุกรรม

Yoshida (1981) รายงานว่า ระยะของการเจริญเติบโตของข้าวในแต่ละช่วง มีผลต่อองค์ประกอบผลผลิตในแต่ละส่วน ดังนี้

ช่วงของการเจริญที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง	องค์ประกอบผลผลิต
ระยะแตกกอ	จำนวนรวงต่อพื้นที่
ระยะของการเปลี่ยนแปลงและการพัฒนาไปเป็นช่อดอกหรือรวง	จำนวนดอกข้าวต่อรวง
ระยะในการแบ่งตัวของเซลล์สืบพันธุ์ (meiosis) ระยะบานดอก (anthesis) และระยะแรกของการสุกแก่ของเมล็ด	เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี
ระยะสุกแก่ของเมล็ด	น้ำหนักเมล็ด

การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบผลผลิตในแต่ละส่วน มีผลต่อการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของผลผลิตและพบว่ามีสหสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบผลผลิตค่อนข้างสูง และเป็นไปในทางลบ และองค์ประกอบในแต่ละส่วนสามารถชดเชยซึ่งกันและกันได้ Lu (1990) และ Zeng and Weng (1989) ชี้ให้เห็นว่า จำนวนดอกข้าวต่อหน่วยพื้นที่ เป็นองค์ประกอบที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตเมล็ดมากที่สุด ส่วน Prasad *et al.* (1989) รายงานว่าจำนวนดอกข้าวต่อรวง จำนวนเมล็ดต่อรวง และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด มีอิทธิพลต่อผลผลิตมากด้วยเช่นกัน Kim and Rutger (1988) พบว่า จำนวนเมล็ดต่อกอและน้ำหนัก 1,000 เมล็ด มีผลกระทบโดยตรงต่อผลผลิตมากกว่า จำนวนรวงต่อกอ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Virmani *et al.* (1981) ว่า จำนวนเมล็ดต่อกอและน้ำหนัก 1,000 เมล็ด มีความสัมพันธ์แบบบวกกับผลผลิต และผลผลิตไม่ได้มีความสัมพันธ์กับจำนวนรวงต่อพื้นที่ และอัตราส่วนเมล็ดเต็ม

ส่วนลักษณะพันธุกรรมที่ควบคุมการถ่ายทอดลักษณะองค์ประกอบผลผลิต Wallace *et al.* (1972) พบว่า ลักษณะของผลผลิตถูกควบคุมด้วยยีนจำนวนมาก (polygene) และการกระทำของยีนของลักษณะองค์ประกอบผลผลิตที่เป็นแบบข่ม ได้แก่ ผลผลิตเมล็ด น้ำหนักแห้งของฟาง น้ำหนัก 1,000 เมล็ด จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง และน้ำหนักรวงต่อกอ (Ahmad *et al.*, 1988; Kalaimiani and Sundaram, 1989; Kaushik and Sharma, 1989; Kao and Liu, 1988; Sharma *et al.*, 1987; Subramanian and Rathinam, 1989) ส่วนลักษณะผลผลิตและองค์ประกอบอื่นๆ เช่น

น้ำหนักแห้ง จำนวนรวงต่อกอ จำนวนดอกข้าวต่อรวง มีรายงานว่าเกิดจากการกระทำของ polygene และมีการกระทำของยีนเป็นแบบบวก (Kalaimani and Sundaram, 1989; Kumar and Sree Rangasamy, 1988; Mohapatra and Mohanty, 1988; Murai and Kinoshita, 1986) นอกจากนี้พบว่า จำนวนรวงที่สมบูรณ์ เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และน้ำหนักเมล็ดต่อกอ เกิดจากการกระทำของยีนแบบข่มข้ามคู่ (Epistatic)หรือเกิดปฏิกิริยาร่วมของ dominant x dominant gene effect (Guo and Wu, 1990)

5. การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ในพืช

การศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์ เป็นการศึกษาเกี่ยวกับหน่วยที่เล็กที่สุดของสิ่งมีชีวิตที่สามารถแสดงพฤติกรรมทางชีวเคมี และสามารถแบ่งตัวเพิ่มปริมาณได้ ภายในเซลล์ประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ๆ คือไซโตปลาสซึม (cytoplasm) และนิวเคลียส (nucleus) ซึ่งภายในนิวเคลียส มีองค์ประกอบที่สำคัญเกี่ยวกับการศึกษาด้านเซลล์พันธุศาสตร์อยู่ 2 ส่วน คือโครโมโซม (chromosome) และนิวคลีโอลัส (nucleolus) โดยเฉพาะโครโมโซม ที่มีลักษณะเป็นเส้นสายปรากฏอยู่ในนิวเคลียส และเป็นที่ตั้งของหน่วยควบคุมลักษณะหรือหน่วยพันธุกรรม ที่เรียกว่า ยีน (gene) ปกติแล้วภายในเซลล์ของพืชแต่ละชนิดจะมีจำนวน ลักษณะ และพฤติกรรมของโครโมโซมที่แน่นอน พืชบางชนิดอาจมีจำนวนโครโมโซมน้อย เช่น *Haplopappus* sp. มีจำนวนโครโมโซม 2n=2x=4 ไปจนถึง *Ophiglossum reticulatum* ที่มีจำนวนโครโมโซมมากถึง 1,260 แท่ง (2n=2x=1,260) จากลักษณะที่สำคัญและคงที่ของโครโมโซม จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมของพืชต่างพันธุ์ เพื่อนำมาเปรียบเทียบและแสดงลักษณะของพืชนั้นๆ (กฤษฎา, 2519)

การศึกษาเกี่ยวกับรายละเอียดของโครโมโซม ประกอบด้วย จำนวนโครโมโซม รูปร่างโครโมโซม และตำหนิต่างๆที่ปรากฏบนเส้นสายโครโมโซม ในระยะต่างๆของการแบ่งเซลล์ ซึ่งเรียกการศึกษานี้ว่า คารีโอไทป์ (Karyotype) นิยมทำการศึกษาทั้งจากการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส (mitosis) จากเซลล์ร่างกาย (somatic cell) ในส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ อาจเป็นปลายยอดหรือปลายรากพืช หรือศึกษาจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส (meiosis) จากเซลล์สืบพันธุ์ โดยเฉพาะเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ จากละอองเกสร (ภูวดล,2528; วิสุทธิ์, 2536)

การศึกษาคารีโอไทป์จากการแบ่งเซลล์ของเซลล์ร่างกาย โดยเฉพาะในระยะเมตาเฟส (metaphase) ซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมมีการหดตัวมากที่สุด ทำให้เห็นโครโมโซมได้ชัดเจนและมีการกระจายตัวที่ดี สามารถนับจำนวนและสังเกตรูปร่างของโครโมโซมได้ชัดเจน ความแตกต่างของโครโมโซมในคารีโอไทป์ สามารถเปรียบเทียบได้จากการทำอิดิโอแกรม (Idiogram) เป็นการจัดเรียงโครโมโซมทั้งหมดตามขนาดโครโมโซม หรือแสดงในรูปของกลุ่มโครโมโซมตามรูปร่างโครโมโซม

ตำแหน่งเซนโทรเมียร์ (centromere) รวมทั้ง secondary constriction (Dyer,1979) คารีโอไทป์ที่มีขนาดโครโมโซมใกล้เคียงกัน และมีโครโมโซมชนิด metacentric กับ submetacentric chromosome เรียก symmetrical karyotype แต่ถ้าคารีโอไทป์มีขนาดโครโมโซมแตกต่างกันมาก มีทั้งชนิด metacentric submetacentric subtelocentric และtelocentrie chromosomes เรียกคารีโอไทป์ชนิดนี้ว่า asymmetrical karyotype (Stebbins, 1971)

ลักษณะคารีโอไทป์ของข้าว

เริ่มมีการศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมในข้าวเป็นครั้งแรกใน ค.ศ. 1910 โดยเริ่มจากการศึกษาจำนวนโครโมโซม จากการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส (mitosis) พบว่า ข้าว (*Oryza sativa* L.) มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 2n=2x=24 (Kuwada, 1910) เนื่องจากโครโมโซมของข้าวมีขนาดเล็ก ทำให้การสังเกตรายละเอียดต่างๆบนเส้นสายโครโมโซมได้ไม่ชัดเจน ต่อมาได้มีการปรับปรุงเทคนิคในการศึกษาโครโมโซมจนได้วิธีที่เหมาะสมและสามารถศึกษารายละเอียดได้ชัดเจนยิ่งขึ้น พบว่าลักษณะคารีโอไทป์ของข้าวพันธุ์ป่า (wild type) หรือข้าวพันธุ์พื้นเมือง (traditional type) จะแสดงลักษณะเป็น symmetrical karyotype มากกว่าข้าวพันธุ์ปลูก (cultivated type) (Korah,1963; Shastry, 1964) และข้าวชนิด japonica จะแสดงลักษณะคารีโอไทป์เป็นแบบ asymmetrical มากกว่าข้าวชนิด indica (Shastry, 1964)

โดยส่วนใหญ่แล้ว ข้าวมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 24 (2n=2x=24) นอกจากข้าวป่าบางชนิดหรือข้าวบางสปีชีส์ พบว่ามีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ 48 (2n=4x=48) และข้าวแต่ละพันธุ์จะมีขนาดโครโมโซมและรูปร่างโครโมโซมแตกต่างกันไป และเป็นลักษณะเฉพาะของข้าวพันธุ์นั้นๆ (Hu, 1958, 1964; Ishi and Mitsukuri, 1960; Shastry *et al*., 1960)