

# การกระจายตัวทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวเหนียวดำจากที่สูงและข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ปลูกที่ลุ่มและที่สูง

## Gene Segregation for Anthocyanin Contents in F<sub>2</sub> Population Between Purple Glutinous Rice from Highland and Pathum Thani 1 Grown at Lowland and Highland Locations

พิทวัส สมบูรณ์<sup>1</sup> ชนากานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย<sup>1,2</sup> ต่อนภา ผุสดี<sup>1,2</sup> และ ศันสนีย์ จำจด<sup>1,2\*</sup>

Pittawat Somboon<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.cm@gmail.com

(Received: 18 April 2017; Accepted: 24 August 2017)

**Abstract:** Purple rice contains anthocyanin in/ purple pericarp which acts as an anti-oxidative properties to many diseases. The objectives of this study were to evaluate gene segregation and environment on grain anthocyanin content. A F<sub>2</sub> population was derived from a cross between the local purple glutinous rice variety from highland (Bieisu 037) and improved white rice variety (Pathum Thani 1; PTT1). Two-hundred and sixty five F<sub>2</sub> plants were grown at 2 locations (lowland and highland). The data were recorded for pericarp color, anthocyanin content and grain yield. The pericarp color of the F<sub>2</sub> population were segregated at the ratio of 9 purple: 3 brown: 4 white which was fitted into 2 complementary genes controlling model. One hundred F<sub>2</sub> plants with purple pericarp were further selected to determine grain anthocyanin content and results from both locations were compared. Continuous segregation for the grain anthocyanin content of F<sub>2</sub> populations, ranged from 0.2 to 370.3 mg/100 g with skewed toward that of the PTT1 parent in both locations. Moreover, genotype by environment interaction effect on grain anthocyanin content was observed. The F<sub>2</sub> plants grown on the highland provided the grain anthocyanin (average 58.9 mg/100 g) doubled than that of the lowland (average 24.9 mg/100 g). It implied that the environment affected on anthocyanin content. There was positive correlation between the grain anthocyanin content in F<sub>2</sub> population at lowland and highland ( $r = 0.788^{**}$ ). The dilution effect did not affect grain anthocyanin content. The information from this study will be useful for selection in breeding program for high anthocyanin content rice varieties. However, increasing in population size will provide more opportunity for selection of plants with desirable traits and high grain anthocyanin content. Due to genotype by environmental effect on grain anthocyanin content, therefore the selection should be done in the target locations.

**Keywords:** Purple rice, anthocyanin, selection, breeding

**บทคัดย่อ:** ข้าวก่ำพันธุ์พื้นเมืองมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงเป็นแหล่งสะสมของแอนโทไซยานินที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคสำคัญหลายชนิด การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการกระจายตัวทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว และสภาพแวดล้อมต่อการแสดงออกของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว โดยสร้างลูกผสมระหว่างข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองจากที่สูง (บีอิฐ) กับข้าวขาวพันธุ์ปรับปรุง (ปทุมธานี 1) ปลูกทดสอบลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 265 ต้น ใน 2 พื้นที่ คือ ที่ลุ่มและที่สูง เก็บบันทึกข้อมูลสีเยื่อหุ้มเมล็ด ปริมาณแอนโทไซยานินและผลผลิต ผลการศึกษาพบว่าลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดในสัดส่วน 9 สีม่วง : 3 สีน้ำตาล : 4 สีขาว แสดงว่าถูกควบคุมด้วย 2 ยีน คัดเลือกเมล็ดจากต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง 100 ต้น จากจำนวนทั้งหมด 156 ต้น นำไปวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวและเปรียบเทียบระหว่าง 2 พื้นที่ปลูก พบว่าประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินเป็นแบบต่อเนื่อง ตั้งแต่ระหว่าง 0.2 ถึง 370.3 mg/100 g ซึ่งส่วนใหญ่กระจายตัวไปในทิศทางของพันธุ์พ่อที่มีค่าต่ำ นอกจากนั้นพบว่าปริมาณแอนโทไซยานินตอบสนองต่อแหล่งปลูกแตกต่างกัน โดยการปลูกในที่สูงให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงเป็นสองเท่าของข้าวที่ปลูกในที่ลุ่ม การปลูกบนที่สูงมีปริมาณแอนโทไซยานินเฉลี่ย 58.9 mg/100 g และการที่ปลูกในที่ลุ่มมีค่าเฉลี่ย 24.9 mg/100 g แสดงให้เห็นว่ามีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด โดยมีความสัมพันธ์ในทางบวกมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างทั้งสองแหล่งเท่ากับ 0.788 และพบว่าปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงไม่ได้เกิดจากการมีผลผลิตต่อต้นต่ำ ผลจากการทดลองครั้งนี้จะสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวก่ำให้มีแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงในชั่วต่อไป อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาณประชากรในการศึกษาให้มีขนาดใหญ่ขึ้นจะเพิ่มโอกาสในการกระจายตัวของต้นที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงได้มากขึ้น และควรมีการทดสอบในพื้นที่สภาพแวดล้อมเป้าหมายในการคัดเลือกและส่งเสริมด้วยเนื่องจากแหล่งปลูกมีอิทธิพลต่อการสะสมแอนโทไซยานินเป็นอย่างมาก

**คำสำคัญ:** ข้าวก่ำ แอนโทไซยานิน การคัดเลือก การปรับปรุงพันธุ์

## คำนำ

ข้าวก่ำหรือข้าวเหนียวดำ (purple rice) เป็นข้าวพื้นเมืองที่นิยมปลูกทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย โดยมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างจากข้าวทั่วไป คือ มีการปรากฏของสีม่วงบนส่วนต่างๆ ของต้น เช่น กาบใบ แผ่นใบ กลีบรวงดอก เปลือกเมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ด (Kim *et al.*, 2011) ซึ่งลักษณะเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง นั้นพบว่าการเกิดจากการสะสมของแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งเป็นรงควัตถุในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ละลายน้ำได้ดี พบในพืชหลายชนิดทั้งในดอกและผลที่ให้สีม่วง น้ำเงิน และแดง (Matsuo *et al.*, 1997) มีรายงานพบว่าการแสดงออกของลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่ (Ham *et al.*, 2015) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Rahman *et al.* (2013) ที่พบว่าลักษณะนี้ถูกควบคุมด้วย 2 ยีน คือ *Pb* และ *Pp*

นอกจากนี้ Maeda *et al.* (2014) ยังพบว่าการแสดงออกของสีเยื่อหุ้มเมล็ด ถูกควบคุมด้วย 3 ยีนบนโครโมโซมแท่งที่ 1, 3 และ 4 และพบความแตกต่างของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดระหว่างพันธุ์ข้าวก่ำ โดย Sompong *et al.* (2011) ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวก่ำที่เก็บรวบรวมจาก 3 ประเทศ คือ จีน ศรีลังกา และไทย พบว่ามีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 19.4 ถึง 140.8 mg/100 g นอกจากนี้ Somsana *et al.* (2013) ยังพบว่าสภาพแวดล้อมจากแหล่งปลูกที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด จากการปลูกข้าวก่ำ 7 สายพันธุ์ 8 พื้นที่ พบว่าแต่ละพันธุ์ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงในพื้นที่ปลูกที่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของดำเนิน และศันสนีย์ (2552) พบว่าข้าวก่ำพื้นเมืองที่รวบรวมจากแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทยมีปริมาณสารแอนโทไซยานินอยู่ระหว่าง 93.5 ถึง 125.6 mg/100 g ซึ่งข้าวก่ำพื้นเมืองเหล่านี้สามารถใช้เป็นฐานพันธุกรรมที่นำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว

อย่างไรก็ตามเนื่องจากข้าวเก่าเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองซึ่งไวต่อช่วงแสง ปลูกได้ปีละครั้งและให้ผลผลิตต่ำ เมื่อเทียบกับพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ จากการศึกษาของพีรพันธ์ และคณะ (2557) ได้ศึกษาในกลุ่มสมระหว่างข้าวเก่าพันธุ์ดอยสะเก็ดและพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ปทุมธานี 1 พบว่าสามารถคัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะมีแอนโทไซยานินสูงได้ทั้งชนิดข้าวเจ้าและข้าวเหนียว และนอกจากนี้ การศึกษาเบื้องต้นยังพบว่าพันธุ์ข้าวเก่าพื้นเมืองที่ปลูกบนที่สูงของภาคเหนือตอนบนจำนวนหลายพันธุ์มีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงและสามารถนำมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการผสมพันธุ์กับพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ได้

การศึกษานี้ได้ผสมพันธุ์ข้าวระหว่างข้าวเหนียวดำพื้นเมืองจากที่สูงที่มีค่าแอนโทไซยานินสูง กับข้าวขาวพันธุ์สมัยใหม่ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกระจายตัวทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด และประเมินสภาพแวดล้อมต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวทั้งชนิดข้าวเจ้าและข้าวเหนียวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง

## อุปกรณ์และวิธีการ

### พันธุกรรม

ใช้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากพื้นที่สูงซึ่งเป็นข้าวเหนียวเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง คือ พันธุ์บีอิชู 037 (Bieisu 037; BES037) เป็นพันธุ์แม่ และพันธุ์ข้าวเจ้าขาวปทุมธานี 1 (Pathum Thani 1; PTT1) เป็นพันธุ์พ่อ

### การสร้างประชากรลูกผสม

เพาะเมล็ดพันธุ์พ่อแม่ และย้ายปลูกในกระถางบรรจุดิน สายพันธุ์ละ 3 กระถาง กระถางละ 5 ต้น 1 ต้นต่อหลุม จัดช่วงระยะห่างของเวลาในการปลูกทุก ๆ 10 วัน ทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อให้ข้าวมีระยะออกดอกที่ใกล้เคียงกัน เมื่อถึงระยะออกดอกจึงผสมข้ามพันธุ์โดยให้บีอิชูเป็นพันธุ์แม่ และปทุมธานี 1 เป็นพันธุ์พ่อ เมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บเกี่ยว นวดเมล็ด และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ปลูกลูกผสมชั่วที่ 1 ในกระถางเพื่อผสมตัวเองระหว่างเดือนมกราคม - พฤษภาคม 2558 เมื่อถึงระยะ

ออกดอกใช้ถุงไซโคลมรวงไว้เพื่อให้ได้เมล็ดผสมตัวเองทั้งหมด เมื่อถึงระยะสุกแก่ เก็บเกี่ยวเมล็ดแยกต้น สุ่มตัวอย่างแบ่งเมล็ดไว้เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำมาประเมินลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดตามวิธีของ Maeda *et al.* (2014) ส่วนที่สองนำไปปลูกวัดการกระจายตัวทางพันธุกรรมในลูกผสมชั่วที่ 2

### การประเมินลูกผสมชั่วที่ 2

เพาะเมล็ด และย้ายปลูกลูกผสมชั่วที่ 2 ทั้งหมด 265 ต้น และพันธุ์พ่อแม่ พันธุ์ละ 10 ต้น ในกระถางระหว่างเดือนกรกฎาคม - ธันวาคม 2558 เมื่อต้นกล้าอยู่ในระยะแตกกอประมาณ 20 วันหลังเพาะเมล็ด แบ่งแยกต้นกล้าแต่ละต้นเป็นสองส่วนแล้วย้ายปลูกลงกระถางบรรจุดิน แยกเป็นสองกระถาง ดังนั้นจะมีประชากรทั้งหมด 2 ชุดที่เหมือนกัน นำประชากรลูกผสมและพันธุ์พ่อแม่แยกปลูก 2 พื้นที่ ในที่ลุ่มที่เรือนทดลองสาขาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (CMU) ระดับความสูง 328 เมตร เหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง และมีอุณหภูมิเฉลี่ย 27.6 องศาเซลเซียส และปลูกในที่สูงที่แปลงของเกษตรกรบ้านทุ่งหลวง ต.แม่วีน อ.แม่วาง จ. เชียงใหม่ (TL) ระดับความสูง 978 เมตร เหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง และมีอุณหภูมิเฉลี่ย 24.3 องศาเซลเซียส เมื่อต้นข้าวทั้งสองแหล่งมีอายุ 30 วัน ให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กก./ไร่ จากนั้นเมื่อต้นข้าวอายุประมาณ 60 วัน ให้ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 10 กก./ไร่

เมื่อถึงระยะสุกแก่ เก็บเกี่ยวเมล็ดแยกต้นของทุกต้น นวดเมล็ด บันทึกน้ำหนักเมล็ดต่อต้น และสีเยื่อหุ้มเมล็ด คัดเลือกเมล็ดจากต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง 100 ต้น นำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวโดยแกะเปลือกหุ้มเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 2 และพันธุ์แม่ เพื่อให้ได้ข้าวกล็อง 1 g/plant นำไปสกัดโดยใช้ methanol 70% แล้ววัดโดยวิธี pH differential method ตามวิธีของ Abdel-Aal and Hucl (1999)

### การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลค่าเฉลี่ย และช่วงการกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2

เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ วิเคราะห์หาความ สัมพันธ์ระหว่างลักษณะ และประเมินการกระจาย ตัว โดยการจัดกลุ่ม ทดสอบการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้ม เมล็ดในลูกผสมชั่วที่ 2 โดยใช้ chi-square test ( $\chi^2$  test)

**ผลการทดลอง**

**สีเยื่อหุ้มเมล็ด**

ข้าวเหนียวก่ำพันธุ์แม่มีเยื่อหุ้มเมล็ดทุกเมล็ด เป็นสีม่วง ข้าวพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 ทุกเมล็ดเป็นสีขาว ส่วนลูกผสมชั่วแรกพบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีน้ำตาลทุก เมล็ด สำหรับลูกผสมชั่วที่ 2 พบว่ามีการกระจายตัวให้สี เยื่อหุ้มเมล็ดที่ไม่แตกต่างจากค่าคาดหวัง คือ สีม่วง : สี น้ำตาล : สีขาว สอดคล้องกับอัตราส่วนเท่ากับ 9:3:4 (ตารางที่ 1) ในลูกผสมชั่วที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบสองแหล่ง ปลูก พบการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดที่แตกต่างกัน ระหว่างแหล่งปลูก ซึ่งการปลูกในที่สูงให้จำนวนต้นที่มีเยื่อ หุ้มม่วงทั้งเมล็ดสูงกว่า และให้ความเข้มข้นของสีเยื่อหุ้ม เมล็ดมากกว่าการปลูกในที่ลุ่ม

**ปริมาณแอนโทไซยานิน**

คัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2 จากต้นที่มีลักษณะเยื่อ หุ้มเมล็ดสีม่วงทั้งหมด 100 ต้น และพันธุ์พ่อแม่ที่ปลูกทั้งที่ ลุ่มและที่สูง เมื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด ทั้งสองแหล่งปลูก พบว่ามีการกระจายตัวของปริมาณแอน โทไซยานินในลูกผสมชั่วที่ 2 โดยพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 ไม่

พบแอนโทไซยานิน พันธุ์แม่ และลูกผสมที่ปลูกในที่ลุ่มมี ค่าเฉลี่ยน้อยกว่าการปลูกในที่สูง โดยพันธุ์แม่ปลูกในที่ลุ่ม มีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 147 mg/100 g ในขณะที่ การปลูกที่สูงมีค่าเท่ากับ 312 mg/100 g ในส่วนของ ลูกผสมชั่วที่ 2 ปลูกในที่ลุ่มให้ค่าเฉลี่ย 24.9 mg/100 g กระจายตัวระหว่าง 0.2-154.5 mg/100 g แต่เมื่อปลูกในที่ สูงมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 58.9 mg/100 g กระจายตัวกว้างกว่า มีค่าระหว่าง 0.2-370.3 mg/100 g ซึ่งพบว่าลูกผสมส่วนใหญ่กระจายตัวอยู่ในช่วงค่าแอนโทไซยานินต่ำ (ภาพที่ 1)

เมื่อพล็อตกราฟระหว่างปริมาณแอนโทไซ ยานินในเมล็ดจากทั้งสองแหล่งปลูก พบความสัมพันธ์ แบบเส้นตรงในทางบวกระหว่างการปลูกในที่ลุ่มและใน ที่สูง มีค่าความชัน (b) เท่ากับ 1.91 และสัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.7887\*\* (ภาพที่ 2) โดยพันธุ์ ปิอิชู ซึ่งเป็นพันธุ์แม่ ที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานิน ค่อนข้างสูงในสภาพแวดล้อมทั้ง 2 พื้นที่ และยังพบว่ามี ลูกผสม จำนวน 4 ต้น ที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง ซึ่ง ที่ถูกจัดกลุ่มอยู่ในระดับเดียวกับพันธุ์ปิอิชู

**ผลผลิตเมล็ด**

ในลูกผสมชั่วที่ 2 พบการกระจายตัวของน้ำหนัก เมล็ดต่อดัน เมื่อปลูกในที่ลุ่มให้น้ำหนักเมล็ดเฉลี่ย 7.34 g/plant กระจายตัวระหว่าง 2.54-20.64 g/plant ในขณะที่ การปลูกที่สูง กระจายตัวกว้างกว่าการปลูกในที่ลุ่ม โดยมี ค่าเฉลี่ย 10.38 g/plant กระจายตัวระหว่าง 2.92-31.72 g/plant โดยพันธุ์พ่อให้น้ำหนักเมล็ดต่อดันค่อนข้างสูงทั้ง

Table 1. Distribution of pericarp color in F<sub>2</sub> population between purple rice (BES037) and white rice (PTT1) grown at Chiang Mai University (CMU) and Thung Luang (TL) in 2015

Parent and cross	Pericarp color of grain			Total	$\chi^2$ (9:3:4)	P-value
	Purple	Brown	White			
Parents						
BES037	10			10		
PTT1			10	10		
F <sub>1</sub> (BES037 × PTT1)		10		10		
F <sub>2</sub> (BES037 × PTT1)						
CMU	143	58	64	265	1.582	0.453
TL	156	45	64	265	0.889	0.641

The ratio were not significantly different at P>0.05

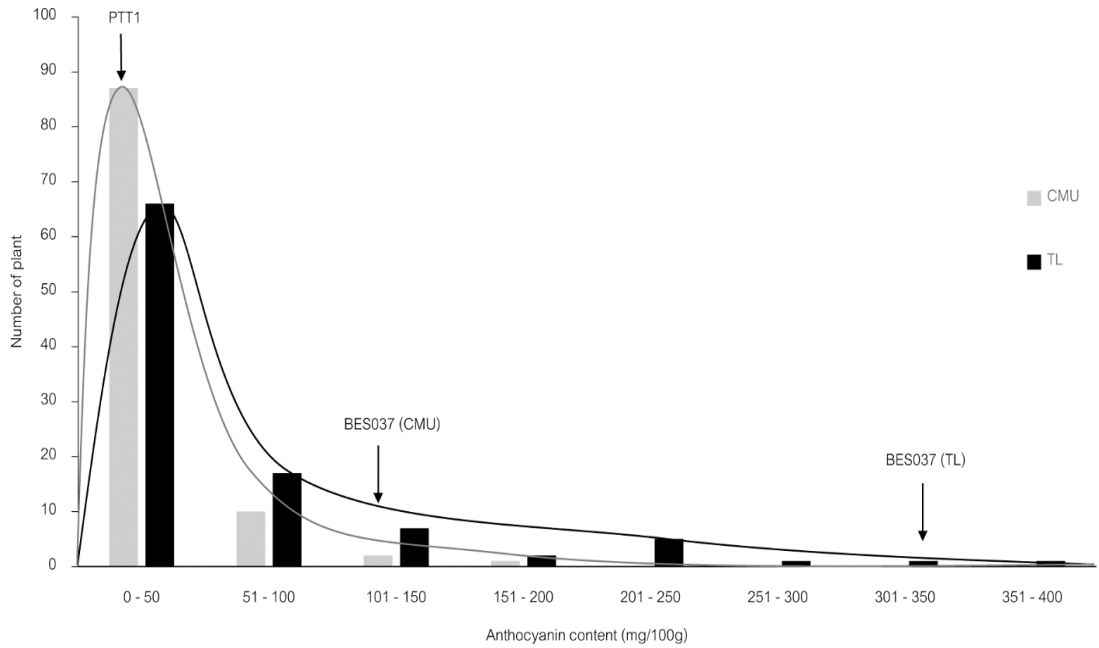


Figure 1. Distribution of anthocyanin content in  $F_2$  population between purple rice (BES037) and white rice (PTT1) grown at lowland (CMU) and highland (TL) conditions

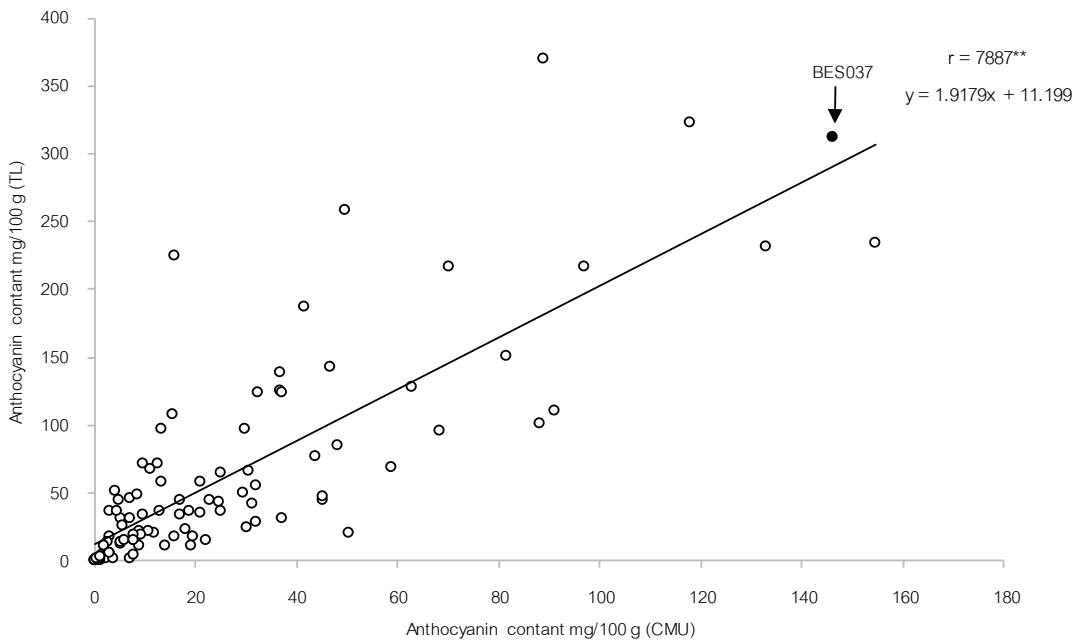


Figure 2. Relationship between anthocyanin content in grain of  $F_2$  population from lowland (CMU) and highland (TL)

สองแหล่งปลูก ในที่ลุ่ม เท่ากับ 12.13 g/plant ที่สูง 16.53 g/plant ในขณะที่พันธุ์แม่ให้น้ำหนักค่อนข้างต่ำทั้งสองแหล่งปลูก (ภาพที่ 3) ในขณะที่การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของน้ำหนักเมล็ดต่อต้นจากการเพาะปลูกของทั้งสองแหล่งปลูก พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างแหล่งปลูก (ภาพที่ 4 a)

### น้ำหนักเมล็ดต่อต้นและปริมาณแอนโทไซยานิน

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเมล็ดต่อต้น และปริมาณแอนโทไซยานินในลูกผสมชั่วที่ 2 ทั้งสองแหล่งปลูก พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างทั้งสองลักษณะ โดยพันธุ์แม่ให้น้ำหนักเมล็ดต่อต้นค่อนข้างต่ำและปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงทั้งสองแหล่งปลูก ส่วนพันธุ์พ่อให้น้ำหนักเมล็ดค่อนข้างสูงทั้งสองแหล่งปลูก และไม่พบปริมาณแอนโทไซยานินเนื่องจากเป็นข้าวขาว (ภาพที่ 4 b, 4 c)

### วิจารณ์

จากการศึกษาลักษณะของสีเยื่อหุ้มเมล็ด ในลูกผสมชั่วที่ 1 พบเป็นสีน้ำตาลทุกเมล็ด แต่เมื่อศึกษาในลูกผสมชั่วที่ 2 จากการปลูกในที่สูงพบว่ามีการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดทั้งสามแบบ คือ สีม่วง : สีน้ำตาล : สีขาว เท่ากับ 9:3:4 แสดงว่าลักษณะของสีเยื่อหุ้มเมล็ดถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่ โดยมีการแสดงออกแบบข่มข้ามคู่ (recessive epistasis) ซึ่งให้ผลที่สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang and Shu (2007) และ Rahman *et al.* (2013) ที่พบการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวในสัดส่วนเดียวกัน และลักษณะสีม่วงของเยื่อหุ้มเมล็ดในข้าวเหนียวดำถูกควบคุมด้วยยีนสองตัว คือ *Pb* และ *Pp* ดังนั้นในการคัดเลือกให้ได้ต้นที่มีแอนโทไซยานินสูงในประชากรที่มีการกระจายตัวทางพันธุกรรมเช่นนี้ประสบความสำเร็จควรจะเพิ่มขนาดประชากรที่จะคัดเลือกให้มากขึ้น

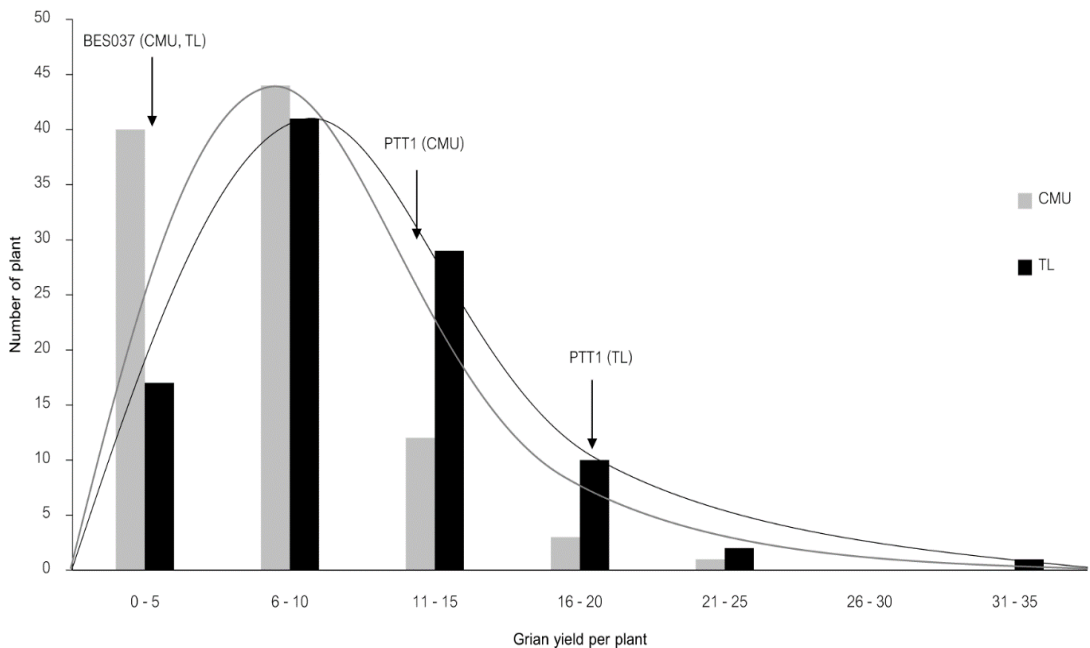


Figure 3. Distribution of grain yield per plant in F2 population between purple rice (BES037) and white rice (PTT1) grown at lowland (CMU) and highland (TL) conditions

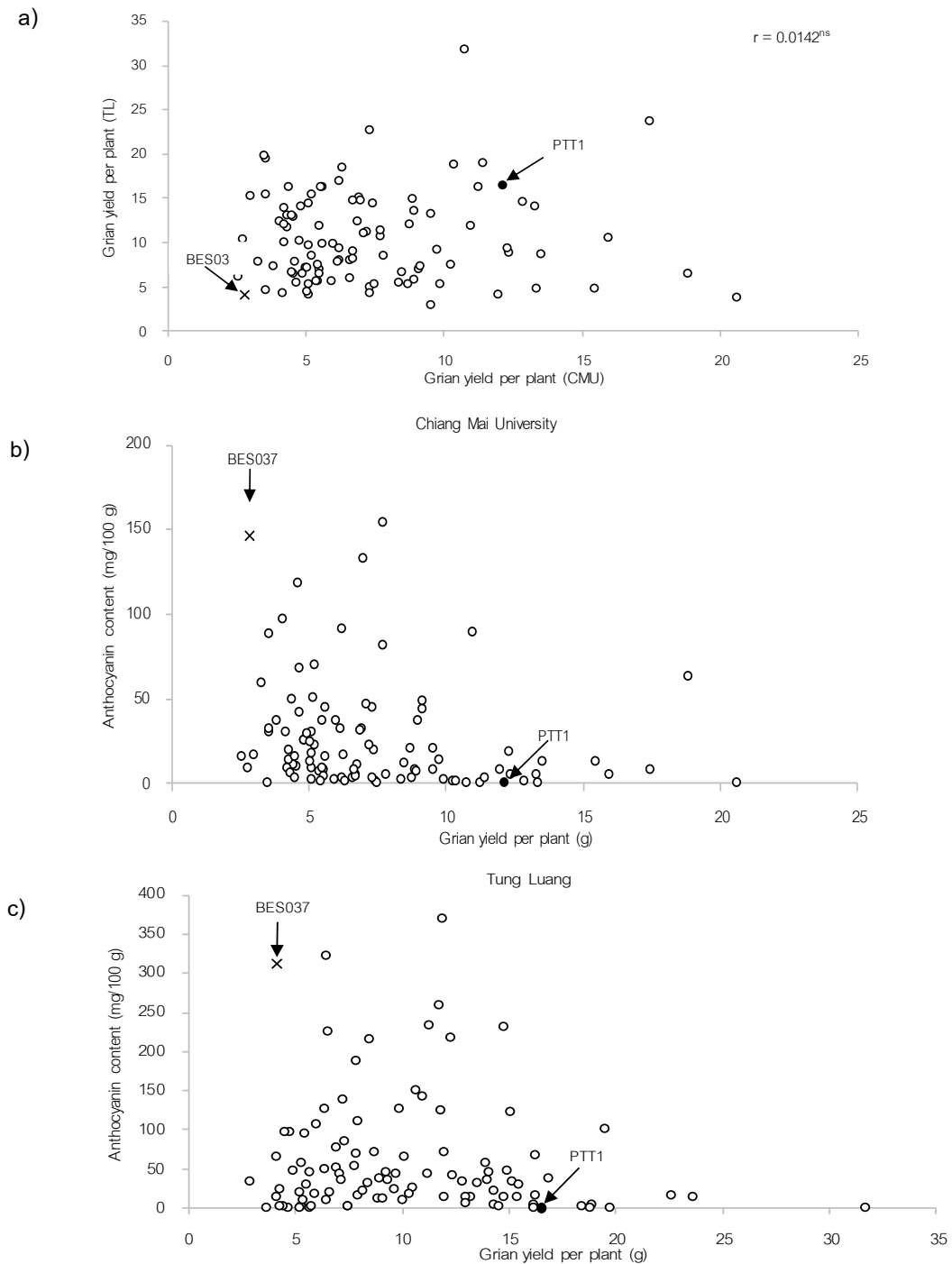


Figure 4. Relationship between (a) grain yield per plant in F<sub>2</sub> population from lowland (CMU) and highland (TL), (b) grain yield per plant and anthocyanin content in F<sub>2</sub> population from lowland (CMU) and (c) grain yield per plant and anthocyanin content in F<sub>2</sub> population from highland (TL)

เพื่อเพิ่มโอกาสในการคัดเลือกให้ได้จำนวนต้นที่มีกาแสดงออกของลักษณะที่ต้องการ และเพิ่มโอกาสในการคัดเลือกต้นที่มีแอนโทไซยานินสูง และจากผลการทดลองเมื่อได้ข้อมูลพันธุ์กรรมที่ควบคุมลักษณะการแสดงออกของสีเยื่อหุ้มเมล็ด จะทำให้สามารถวางแผนคัดเลือกต้นที่มีแอนโทไซยานินสูงได้โดยคัดเลือกจากต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงได้เนื่องจากผลการศึกษาของ Shen *et al.* (2009) และ Ham *et al.* (2015) พบว่าความเข้มของสีเยื่อหุ้มเมล็ดมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมในเมล็ด

การกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีค่าอยู่ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ เป็นการกระจายตัวแบบต่อเนื่อง (continuous distribution) ซึ่งกระจายตัวค่อนข้างไปในทิศทางของปริมาณแอนโทไซยานินต่ำ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของพีรนนท์ และคณะ (2557) ที่พบว่าจำนวนต้นของประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ส่วนใหญ่กระจายตัวไปยังทิศทางที่มีค่าปริมาณแอนโทไซยานินค่อนข้างต่ำ และมีประชากรส่วนน้อยที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงในคู่ผสมระหว่างข้าวกำแพงนครชัยภูมิ และพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ปทุมธานี 1 และในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวกำแพงนครชัยภูมิ กับข้าวขาวพันธุ์ Hwacheong ges (Ham *et al.*, 2015)

นอกจากนี้ ยังพบว่าอิทธิพลของสภาพแวดล้อมในแหล่งปลูกมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว โดยตอบสนองต่อแหล่งปลูกที่ต่างกันเมื่อปลูกประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 เปรียบเทียบใน 2 พื้นที่ปลูก ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาของ Somsana *et al.* (2013) พบว่าข้าวกำแพงนครชัยภูมิที่ปลูกใน 8 สภาพแวดล้อมแตกต่างกัน มีปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ปลูก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Rerkasem *et al.* (2015) พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวกำแพงนครชัยภูมิที่ปลูกบนพื้นที่สูงและที่ราบลุ่มให้ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดที่ต่างกัน โดยในการทดลองนี้พบว่าประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ปลูกในที่ลุ่ม (CMU) ให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดต่ำกว่าการปลูกในที่สูง (TL) ผลที่ได้เป็นไปได้ว่าการปลูกในที่สูงมีอุณหภูมิเฉลี่ยที่ต่ำกว่าในที่ลุ่ม ซึ่งอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในพืชชนิดอื่น

ด้วยเช่นกัน พบว่าอุณหภูมิปลูกในพื้นที่ที่มีอุณหภูมิประมาณ 15-20 องศาเซลเซียส จะให้ผลผลิตที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าการปลูกในพื้นที่ที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Yamane *et al.*, 2006) และเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโทไซยานินจากต้นที่ปลูกในที่ลุ่ม (CMU) และต้นที่ปลูกในที่สูง (TL) พบว่ามีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก แสดงว่าต้นที่ปลูกในสภาพที่ลุ่มให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูง เมื่อปลูกในที่สูงก็จะให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงเช่นกัน

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักรวมเมล็ดต่อต้นทั้งสองแหล่งปลูก ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กัน และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักรวมเมล็ดต่อต้นกับปริมาณแอนโทไซยานิน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของสุภาภรณ์ และชนากานต์ (2559) ที่พบว่าข้าวเหนียวกำแพงนครชัยภูมิ 19 พันธุ์ ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด แสดงว่าปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดที่สูงไม่ได้เกิดจากผลผลิตต่ำ (non dilution effect) จากผลการศึกษานี้จะช่วยให้เกิดความเข้าใจและเป็นประโยชน์ต่อการวางแผนงานพัฒนาและการปรับปรุงพันธุ์ ทำให้นักปรับปรุงพันธุ์สามารถใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกต้นที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงได้ ดังนั้นนักปรับปรุงพันธุ์จึงต้องมีการวางแผนปลูกทดสอบสายพันธุ์ชั่วที่ 2-3 จำนวนมากพอและคัดเลือกในสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศที่เหมาะสม

## สรุป

จากผลการศึกษาพบว่าลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่ ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวแบบต่อเนื่องค่อนข้างไปในทิศทางของแอนโทไซยานินต่ำ และสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันมีผลต่อการสะสมของปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด โดยการปลูกในที่สูง (TL) มีการกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินกว้างกว่าการปลูกในที่ลุ่ม (CMU) และให้ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดมากกว่าเป็นสองเท่า



## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ ภายใต้สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## เอกสารอ้างอิง

ดำเนิน กาละดี และ ศันสนีย์ จำจด. 2552. ความแตกต่างทางพันธุกรรมของสีม่วง. หน้า 49-73. ใน: รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องพันธุศาสตร์การปรับปรุงพันธุ์และโภชนาศาสตร์เกษตรของข้าวเหนียวดำ. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

พีรพันธ์ มาบั้น สุพรรณนิภา ตี๋ขันธ์ ชนากานต์ เทโบลด์ พรหมอุทัย ดำเนิน กาละดี และ ศันสนีย์ จำจด. 2557. การคัดเลือกในช่วงต้นเพื่อลักษณะแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงและไม่ไวต่อช่วงแสงในลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดและปทุมธานี 1. วารสารนเรศวรพะเยา 7(2): 160-171.

สุภาพรณ์ ภูะเมืองมอญ และ ชนากานต์ เทโบลด์ พรหมอุทัย. 2559. ความแปรปรวนของปริมาณแอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมืองของไทย. วารสารเกษตร 32(2): 191-199.

Abdel-Aal, E.-S.M. and P. Hucl. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry* 76: 350-354.

Ham, T.H., S.W. Kwon, S.N. Ryu and H.J. Kon. 2015. Correlation analysis between grain color and cyanidin-3-glucoside content of rice grain in segregate population. *Plant Breeding and Biotechnology* 3: 160-166.

Kim, C.K., M.A. Cho, Y.H. Choi, J.A. Kim, Y.H. Kim, Y.K. Kim and S.H. Park. 2011. Identification and characterization of seed-specific transcription factors regulating anthocyanin biosynthesis in black rice. *Journal of Applied Genetics* 52: 161-169.

Maeda, H., T. Yamaguchi, M. Omoteno, T. Takarada, K. Fujita, K. Murata, Y. Iyama, Y. Kojima, M. Morikawa, H. Ozaki, N. Mukaino, Y. Kidani and T. Ebitani. 2014. Genetic dissection of black grain rice by the development of a near isogenic line. *Breeding Science* 64: 134-141.

Matsuo, T., Y. Futsuhara, F. Kikichi and H. Yamaguchi. 1997. *Science of the Rice Plant*. Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo.

Rahman, M.M., K.E. Lee, E.S. Lee, M.N. Matin, D.S. Lee, J.S. Yun, J.B. Kim and S.G. Kang. 2013. The genetic constitutions of complementary genes *Pp* and *Pb* determine the purple color variation in pericarps with cyanidin-3-O-glucoside depositions in black rice. *Journal of Plant Biology* 56: 24-31.

Rerkasem, B., S. Jumrus, N. Yimyam and C. Prom-uthai. 2015. Variation of grain quality among Thai purple rice genotypes grown at two different altitudes. *ScienceAsia* 41: 377-385.

Shen, Y., L. Jin, P. Xiao, Y. Lu and J.S. Bao. 2009. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *Journal of Cereal Science* 49: 106-111.

Sompong, R., S. Siebenhandl-Ehn, G. Linsberger-Martin and E. Berghofer. 2011. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties

- from Thailand, China and Sri Lanka. Food Chemistry 124: 132-140.
- Somsana, P., P. Wattana, B. Suriham and J. Sanitchon. 2013. Stability and genotype by environment interactions for grain anthocyanin content of Thai black glutinous upland rice (*Oryza sativa*). SABRAO Journal of Breeding and Genetics 45(3): 523-532.
- Wang, C.X. and Q.Y. Shu. 2007. Fine mapping and candidate gene analysis of purple pericarp gene *Pb* in rice (*Oryza sativa* L.). Chinese Science Bulletin 52: 3097-3104.
- Yamane, T., S.T. Jeong, N. Goto-Yamamoto, Y. Koshita and S. Kobayashi. 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. American Journal of Enology and Viticulture 57: 54-59.
-