

ความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กภายในและระหว่างพันธุ์ ของข้าวพื้นเมืองไทย

Variation of Rice Grain Iron Content Within and Between Varieties of Thai Local Rice

ทรายคำ ปินตาเสน^{1/}, ชนาگانต์ พรหมอุทัย^{1/} ศันสนีย์ จำจด^{1/} และ เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม^{1/}
Saicum Pintasen^{1/}, Chanakan Prom-u-thai^{1/}, Sansanee Jamjod^{1/} and Benjavan Rerkasem^{1/}

Abstract: This experiment examined variation of Fe concentration in rice grain of local rice varieties. Seeds of 17 named varieties were collected in 66 accessions from farmers in Huai Tee-Cha village, Sob Moei District, Mae Hong Son. Brown rice from each accession was stained individually with Perls' Prussian blue, with IR68144 (high grain Fe) and KDML105 (low grain Fe) as checks. A whole range of grain Fe contents were found between the different varieties, different seed lots with the same name and within some of the seed lots, notably Bue Bang, Bue Gua and Bue Kee. The Fe concentration in these varieties was confirmed by chemical analysis. Two accessions of each variety with intense and grain Fe concentration was selected, 30 seeds from each were grown for progeny testing. There was morphological variation between plants in each accession in characteristics such as pigmentation of the apiculus, pericarp and seed coat. Seeds from progeny test were analysed for Fe concentration. It was found that Fe concentration in the grain ranged from 9.5 to 16 mgFe/kgDW brown rice. We have shown that variation in grain Fe concentration in Thai rice may be found between varieties with different names, between seed lots with the same name and within individual seed lots.

Keywords: grain iron, genetic variation, local rice variety, Perls' Prussian blue

^{1/} ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

บทคัดย่อ: งานทดลองนี้ได้ตรวจสอบความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดในพันธุ์ข้าวพื้นเมืองโดยรวมพันธุ์ข้าวจำนวน 17 พันธุ์ จากเกษตรกรทั้งหมด 66 ราย จากหมู่บ้านห้วยทิซะ อำเภอสบเมย จังหวัดแม่ฮ่องสอน โดยการย้อมสีเมล็ดข้าวกล้องในแต่ละตัวอย่างด้วยวิธีเพิร์ล พรัสเซียนบลู (Perls' Prussian blue) โดยเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์ IR68144 (พันธุ์ที่มีปริมาณเหล็กในเมล็ดสูง) และพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) (พันธุ์ที่มีปริมาณเหล็กในเมล็ดต่ำ) พบว่าพันธุ์ป้อบ่าง ป้อกั่ว และป้อกี้ มีปริมาณธาตุเหล็กอยู่สูง โดยทั้ง 3 พันธุ์มีการติดสีย้อมเพิร์ล พรัสเซียนบลู แตกต่างกันภายในแต่ละตัวอย่าง ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของเหล็กในเมล็ด คัดเลือกตัวอย่างที่มีปริมาณเหล็กในเมล็ดสูงมาพันธุ์ละ 2 ตัวอย่าง นำมาปลูกทดสอบรุ่นลูก จำนวน 30 ต้น ในแต่ละตัวอย่างพบว่า ระหว่างต้นในแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกัน ในหลายลักษณะ อาทิ สียอดดอก สีกลีบรองดอก สีเยื่อหุ้มเมล็ด และสีเปลือก นอกจากนั้นเมล็ดที่ได้จากการปลูกทดสอบรุ่นลูกแต่ละต้นเมื่อวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของธาตุเหล็กในเมล็ดพบว่าปริมาณเหล็กในเมล็ดอยู่สูงตั้งแต่ 9.5 ถึง 16 มิลลิกรัมเหล็กต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้งของข้าวกล้อง การทดลองนี้ได้แสดงให้เห็นความหลากหลายทางพันธุกรรม ของปริมาณเหล็กภายในประชากรข้าวพันธุ์พื้นเมือง ในเชื้อพันธุ์ข้าวที่มีชื่อต่างกัน ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวชื่อเดียวกันจากเกษตรกรหลายรายในหมู่บ้านเดียวกัน และระหว่างเมล็ดในเชื้อพันธุ์เดียวกัน ซึ่งควรต้องระมัดระวังในการหาและใช้แหล่งของพันธุกรรมข้าวพื้นเมือง ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง

คำสำคัญ: ธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว, ความแปรปรวนทางพันธุกรรม, พันธุ์ข้าวพื้นเมือง, เพิร์ล พรัสเซียนบลู

คำนำ

โรคโลหิตจางเนื่องจากขาดธาตุเหล็กเป็นปัญหาที่พบอยู่ทั่วโลก โดยจะพบว่าเกิดขึ้นในเด็กก่อนวัยเรียน และหญิงมีครรภ์ (IFPRI, 1999) จากการสำรวจประชากรหลายกลุ่มในประเทศฟิลิปปินส์ พบว่า ปริมาณธาตุเหล็กที่ได้รับเข้าไปในร่างกายมาจากการบริโภคธัญพืชมากกว่าร้อยละ 50 ในประชากรทุกกลุ่ม โดยข้าวซึ่งเป็นอาหารหลักของประชากรในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แต่พบว่าข้าวมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดต่ำสุดในกลุ่มของธัญพืชด้วยกัน (Senadhira *et al.*, 1998) จึงได้มีการสำรวจแหล่งของพันธุกรรมข้าวที่มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงเพื่อนำมาใช้ในการกระบวนการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ข้าวที่มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงและเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (Welch and Graham, 2002) จากการศึกษาที่ศูนย์วิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) พบความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวอยู่ระหว่าง 7-24 mgFe/kgDW (Senadhira *et al.*, 1998) ในภาคเหนือของประเทศไทยมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องพบว่ามี

ค่าระหว่าง 7-19 mgFe/kgDW (Prom-u-thai and Rerkasem, 2001) ซึ่งพันธุ์เหล่านี้เป็นพันธุ์ที่ได้จากหมู่บ้านชาวเขา ดังนั้นการเพิ่มปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มปริมาณธาตุเหล็กจากการบริโภคของประชากรและช่วยลดปริมาณการเป็นโรคโลหิตจางเนื่องจากการขาดธาตุเหล็ก การศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีการที่ง่ายและรวดเร็วในการประเมินปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ด โดยวิธีการย้อมสีเพิร์ล พรัสเซียนบลู (Prom-u-thai *et al.*, 2003) ซึ่งวิธีการนี้ทำให้เห็นความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดเดี่ยว ๆ และในแต่ละตัวอย่างที่ได้จากเกษตรกรของหมู่บ้านห้วยทิซะ และสามารถยืนยันผลโดยการวิเคราะห์ทางเคมี

อุปกรณ์และวิธีการ

รวบรวมพันธุ์ข้าว 17 พันธุ์จากเกษตรกร 66 ราย จากหมู่บ้านห้วยทิซะ ตำบลสบเมย อำเภอสบเมย จังหวัดแม่ฮ่องสอน แกะเปลือกออกด้วยมือตัวอย่างละ 20 เมล็ด เพื่อนำมาย้อมสีเพิร์ล พรัสเซียนบลู (Prom-u-thai *et al.*, 2003) วิธีการนี้ เป็นวิธีที่ใช้ตรวจสอบตำแหน่งของ Fe (III)

ในเนื้อเยื่อสัตว์ ซึ่งมีความรวดเร็ว สาร reagent สามารถแทรกซึมเข้าไปยังเนื้อเยื่อที่มีความซับซ้อน โดยจะให้สีฟ้าเห็นได้ชัดเจน (Baker, 1958) เทคนิคนี้ได้ถูกนำไปใช้แสดงให้เห็นธาตุเหล็กในเนื้อเยื่อ aleurone ของเมล็ดข้าว (Krishnan *et al.*, 2001) และในส่วนของเมล็ด (Prom-u-thai *et al.*, 2003) นำเมล็ดข้าวกลองมาแช่น้ำกลั่นประมาณ 4-5 ชั่วโมง จากนั้นผ่าเมล็ดตามยาวด้วยมีดโกนที่เคลือบเทฟลอน (teflon knife) เพื่อกันสนิม หยดสารละลายใช้สำหรับย้อมสี (เตรียมจาก 2% HCl ผสมกับ 2% potassium ferrocyanide) นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 นาที บันทึกการติดสีของแต่ละเมล็ดดังนี้ ติดสีเข้ม (+++), ปานกลาง (++) , ต่ำ (+) และไม่ติดสี (0) ภายใต้กล้องสเตอริโอ และนำเมล็ดข้าวกลองแต่ละตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเหล็กด้วยวิธีการ dry-ashing และ atomic absorption spectrophotometry, AA (Delhaize *et al.*, 1984) เพื่อยืนยันปริมาณการสะสมของธาตุเหล็กอีกครั้ง จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างที่มีปริมาณการติดสีเข้มและปริมาณเหล็กในเมล็ดสูง นำมาปลูกทดสอบในรุ่นลูก บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะทรงกอ สีแผ่นใบ สีกาบใบ สีหูใบ สีลั่นใบ สีข้อ สีปล้อง สีกลีบรองดอก สียอดดอก สีเปลือก วันออกดอก ความสูง และจำนวนต้นต่อกอ ของแต่ละต้นในแต่ละตัวอย่าง เก็บเมล็ดจากรุ่นลูกมาย้อมสีเฟิร์ล พร็อสเซียนบลู และวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อยืนยันผลอีกครั้ง

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการตรวจสอบ พบความแปรปรวนภายในตัวอย่างและระหว่างตัวอย่างของเมล็ดข้าวทั้ง 66 ตัวอย่างจาก 17 พันธุ์ในการย้อมสีเฟิร์ล พร็อสเซียนบลู และการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว โดยผลการย้อมสีนั้นเป็นไปในทางเดียวกันกับผลการวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว (ตารางที่ 1) ในพันธุ์ IR68144 เป็นพันธุ์ที่มีเหล็กในเมล็ดสูง (20 mgFe/kgDW) (Prom-u-thai and Rerkasem, 2001) จะติดสีเข้ม (+++) และปานกลาง (++) ในขณะที่พันธุ์ KDML105 เป็นพันธุ์ที่มีเหล็กในเมล็ดต่ำ (10 mgFe/kgDW) (Prom-u-thai and Rerkasem, 2001)

จะติดสีต่ำ (+) ในจำนวนข้าวที่ได้จากเกษตรกรมีความแปรปรวนของการย้อมสีในเมล็ดเดียว ๆ ทั้งภายในตัวอย่างและระหว่างตัวอย่างที่มีชื่อพันธุ์เหมือนกัน ในพันธุ์ป๊อแก้วเบอร์ 6 ป๊อบ้างเบอร์ 3,4,8 มีการย้อมสีติดสีเข้มสูง ซึ่งมีความสัมพันธ์เป็นไปในทางเดียวกับปริมาณความเข้มข้นของธาตุเหล็กในเมล็ดที่วิเคราะห์ได้ทางเคมี และในพันธุ์เหล่านี้พบว่าบางเบอร์มีการย้อมสีติดต่ำมาก เช่น ป๊อแก้วเบอร์ 7 และป๊อบ้างเบอร์ 6 เป็นต้น ซึ่งจะมีปริมาณความเข้มข้นของเหล็กในเมล็ดต่ำตามไปด้วย ในระหว่างพันธุ์พบว่ามีความแปรปรวนของความเข้มข้นของธาตุเหล็ก ซึ่งตรงกับการรายงานของ Liang *et al.* (2005) ว่ามีความแปรปรวนในปริมาณความเข้มข้นของธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกลองอยู่ระหว่าง 9.4-44.6 mgFe/kgDW โดยพันธุ์ป๊อมือตาบ้องเบอร์ 5 ป๊อบ้างเบอร์ 3 ป๊อบ้างเบอร์ 4 ป๊อกี้เบอร์ 1 และป๊อกี้เบอร์ 2 มีปริมาณความเข้มข้นธาตุเหล็กในเมล็ดสูง (13.2-14.5 mgFe/kgDW) แต่กลับพบว่าในพันธุ์เดียวกันบางเบอร์จะมีปริมาณธาตุเหล็กต่ำ เช่น ป๊อบ้างเบอร์ 6 ป๊อแก้วเบอร์ 4 และป๊อแก้วเบอร์ 7 (5.6-8.5 mgFe/kgDW) (ตารางที่ 1) การศึกษาในขั้นตอนนี้ พบความแปรปรวนของปริมาณเหล็กในเมล็ดของข้าวพื้นเมืองมีอยู่สูง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ทวยแก้ว (2547) ว่ามีความหลากหลายของปริมาณความเข้มข้นของธาตุเหล็กอยู่ทั้งภายในและระหว่างเมล็ดพันธุ์ของข้าวที่มีชื่อเหมือนกันที่ได้จากแต่ละเกษตรกร จากนั้นได้คัดเลือกพันธุ์ป๊อบ้าง ป๊อแก้ว และป๊อกี้ พันธุ์ละ 2 ตัวอย่างที่มีปริมาณการติดสีเข้มและมีปริมาณเหล็กในเมล็ดสูง ปลูกทดสอบ (progeny testing) ตัวอย่างละ 30 ต้น เพื่อตรวจสอบความแตกต่างพื้นฐานทางพันธุกรรมของปริมาณเหล็กในเมล็ดภายในตัวอย่าง พบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางลักษณะที่แตกต่างกัน อาทิ สียอดดอก สีกลีบรองดอก สีเยื่อหุ้มเมล็ด สีเปลือก ผลการวิเคราะห์ทางเคมี พบว่าพันธุ์ป๊อบ้างเบอร์ 3 จะมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงที่สุดคือ 16.24 mgFe/kgDW (ตารางที่ 2) อย่างไรก็ตามยังคงมีความแปรปรวนภายในตัวอย่างของแต่ละพันธุ์ และระหว่างพันธุ์ โดยมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดตั้งแต่ 9.5-16.2 mgFe/kgDW ในการทดสอบรุ่นลูกนั้นแสดงให้เห็นความแปรปรวนของปริมาณเหล็กในเมล็ดของข้าวไทย จะพบความแปรปรวน

ในระหว่างพันธุ์ที่มีชื่อต่างกัน ในระหว่างตัวอย่างที่มีชื่อเหมือนกัน และ ในตัวอย่างเดียวกัน ซึ่งความแปรปรวนของปริมาณความเข้มข้นของธาตุเหล็กดังกล่าว สามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้

ได้ข้าวที่มีเหล็กในเมล็ดสูง เพราะถ้ามีปริมาณธาตุเหล็กเพิ่มขึ้นก็เท่ากับว่าเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของข้าวได้ ซึ่งความหลากหลายของข้าวพื้นเมืองของไทยสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมของลักษณะนี้ได้

Table 1 The percent of grain with different intensity of Perls' Prussian blue staining in local rice varieties relative to low and high grain Fe check varieties of 66 accessions with 17 varieties name of rice from Huai Tee Cha village.

Variety	Seed lot	Frequency (%) of Perls' Prussian blue			Fe (mgFe/kg)
		+++ [†]	++	+	
Bue Mue Ta Bong	1	0 [†]	37	63	11.25±0.25 [§]
	2	40	50	10	13.55±0.15
	3	5	80	15	12.25±0.35
	4	0	45	55	13.25±0.15
	5	25	65	10	14.2±0.5
	6	0	35	65	10.25±0.15
	7	35	50	15	12.7±1.00
Bue Bang	1	20	50	30	13.5±0.2
	2	35	50	15	nd
	3	40	60	0	14.5±0.3
	4	65	35	0	14.1±0.1
	5	35	50	15	13±0.4
	6	0	10	90	5.6±0
	7	25	75	0	14±1.2
	8	60	40	0	12.75±0.15
	9	0	60	40	9.45±0.55
	10	30	50	20	12.7±0.7
Bue Goal	1	20	70	10	11.4±0.2
	2	25	65	10	10.55±0.25
	3	30	60	10	12.65±0.25
	4	10	75	15	12.95±0.65
	5	50	50	0	13.35±0.65
Bue Gua	1	15	65	20	10.6±0.1
	2	25	55	20	12.55±0.05
	3	10	70	20	10.75±0.05
	4	0	0	100	8.5±0.1
	5	30	50	20	13.05±0.55
	6	30	70	0	12.25±0.55
	7	0	0	100	7.7±0.3
Bue Paw Low	1	16	79	5	11.7±0.1
	2	16	68	16	nd
	3	5	45	50	13±0.2
	4	6	94	0	11.25±0.55

Table 1 (Contd.)

Variety	Seed lot	Frequency (%) of Perls' Prussian blue			Fe (mgFe/kg)
		+++ [†]	++	+	
Bue Tho Lae	1	0	20	80	10.45±0.05
	2	5	30	65	9.3±0.4
	3	0	32	68	10.15±0.45
Bue Pho Lae	1	0	75	25	11±0.4
Bue Kee	1	30	70	0	14.2±0.8
	2	20	75	5	13.2±0.2
Bue Sae	1	0	0	100	6.85±0.25
Bue Khu Koo	1	45	50	5	14.35±0.45
Bue Cho	1	55	45	0	12.6±0.2
Bue Ka Chang Mae	1	0	35	65	7.45±0.25
Pa Ai Ku Pae	1	0	0	100	nd
	2	0	0	100	8.45±0.05
	3	0	0	100	8.1±0.2
	4	0	75	25	9.15±0.35
	5	0	50	50	9.15±0.45
	6	0	15	85	7.55±0.15
	7	0	0	100	7.35±0.05
	8	0	5	95	8.25±0.35
	9	0	0	100	9.1±0.3
	10	5	25	70	7.65±0.15
	11	0	0	100	8.75±0.35
	12	0	5	95	7.65±0.15
	13	0	20	80	8.9±0
	14	0	15	85	nd
	15	0	10	90	7.75±0.15
Pa Ai Kee Kai	1	10	70	20	8.9±0.2
Pa Ai Chai	1	5	53	42	9.95±0.25
	2	5	32	63	7.7±0.3
Pa Ai Sae	1	0	15	85	10.6±0.7
Pa Ai Goal	1	5	65	30	8.45±0.15
	2	5	85	10	9.3±0.5
	3	25	75	0	10.05±0.25
	4	0	65	30	8.85±0.15
IR68144		90	10	0	16
KDML105		0	0	100	8

[†]+++=intense intensity, ++=medium intensity, +=low intensity

[‡]Percent from the 20 seeds of Perls' Prussian blue staining.

[§]Fe concentration ± standard error.

Table 2 Grain iron concentration (mgFe/kgDW) in Bue Bang, Bue Gua, and Bue Kee in progeny testing.

Parameter	Variety					
	Bue Bang#3	Bue Bang#4	Bue Gua#5	Bue Gua#6	Bue Kee#1	Bue Kee#2
MEAN	12.49	13.54	12.32	13.58	12.29	13.46
SE	0.24	0.23	0.29	0.2	0.24	0.27
%CV	10.38	9.73	11.96	8.05	10.34	9.45
RANGE	10.81-16.24	11.3-15.83	10.03-15.40	10.92-15.50	9.55-14.82	10.32-15.92
IR68144 [†]	16.0 (mgFe/kgDW)					
KDML105 [‡]	8.59 (mgFe/kgDW)					

[†]Check variety with high grain Fe.

[‡]Check variety with low grain Fe.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมูลนิธิ McKnight ที่ให้การสนับสนุน
ในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ทรายแก้ว มีสิน. 2547. โครงสร้าง ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 107 หน้า.
- Baker, J.R. 1958. Principles of biological micro-technique. A study of fixation and dyeing. Methuen, London. 304 pp.
- Delhaize, E., B. Dell, G. Kirk, J. Loneragan, R. Nable, D. Plaskett and M. Webb 1984. Manual of Research Procedures. First edition. Plant Nutrition Research Group, School of Environmental and Life Science. Murdoch University, Australia.
- International Food Policy Research Institute. (IFPRI) 1999. World Food Prospects: Critical Issue for the Early Twenty-first Century. IFPRI, Washington, D.C.
- Krishnan, S., G.A.I. Ebenezer and P. Dayanadan. 2001. Histochemical localization of storage components in caryopsis of rice (*Oryza sativa* L.). Current Science 80: 567-571.
- Liang J.F., M.J.R. Nout and R.J. Hamer. 2005. Variation of phytic acid, iron and zinc in rice in China. pp. 400-401. Proceedings of the 15th International Plant Nutrition Colloquium, Beijing, China.
- Prom-u-thai, C., and B. Rerkasem. 2001. Iron concentration in Thai rice germplasm. Development of Plant and Soil Science 92: 350-351.
- Prom-u-thai, C., B. Dell, G. Thomson and B. Rerkasem. 2003. Easy and rapid detection of iron in rice grain. Science Asia 29: 213-217.
- Senadhira, D., G. Gregorio and R.D. Graham. 1998. Breeding iron and zinc dense rice. Paper presented at the International Workshop on Micronutrient Enhancement of Rice for Developing Countries. Rice Research and Extension Center, Stuttgart.
- Welch, R.M. and R.D. Graham. 2002. Breeding crops for enhanced micronutrient content. Plant and Soil 245: 205-214.