

บทความวิจัย (Research Article)

การคัดเลือกในชั่วต้นเพื่อลักษณะแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงและไม่ไวต่อช่วงแสงในลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวพันธุ์กำดอยสะเก็ดและปทุมธานี 1

Early generation selection for high anthocyanin and photoperiod insensitivity in F_2 population between Kumdoisaket and Pathumthani 1

พีรนนท์ มাপัน¹, สุพรรณิกา ตีปขัน¹, ชนาکانต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย¹, ดำเนิน กาละดี¹ และ ศันสนีย์ จำจด^{1,2*}
Peeranan Mapan¹, Suphannika Thipkan¹, Chanakan Thebault Prom-u-thai¹, Dumnern Kaladee¹
and Sansanee Jamjod^{1*}

บทคัดย่อ

ข้าวกำหรือข้าวเหนียวดำเป็นพันธุ์ข้าวที่มีสารแอนโทไซยานินซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง แต่เป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองไวต่อช่วงแสง ปลูกได้แค่ปีละครั้ง งานทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างลูกผสมที่เป็นข้าวกำให้มีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงและไม่ไวต่อช่วงแสง เริ่มจากผสมพันธุ์ระหว่างข้าวเหนียวพันธุ์กำดอยสะเก็ดและข้าวขาว 4 พันธุ์ ปลูกลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ พบว่ายีนที่ควบคุมสีเยื่อหุ้มเมล็ดแสดงออกแบบข่มไม่สมบูรณ์ ส่วนปริมาณแอนโทไซยานิน พบว่าลูกผสมชั่วแรกมีค่าปริมาณแอนโทไซยานินน้อยมากเมื่อเทียบกับพันธุ์กำดอยสะเก็ด หลังจากนั้นเลือกกลุ่มระหว่างข้าวเหนียวพันธุ์กำดอยสะเก็ดและข้าวเจ้าพันธุ์ปทุมธานี 1 มาศึกษาและคัดเลือกพันธุ์ในชั่วที่ 2 และ 3 เพื่อให้ได้ลูกผสมที่ไม่ไวต่อช่วงแสง และมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงทั้งชนิดข้าวเหนียวและข้าวเจ้า ปลูกลูกผสมชั่วที่ 2 ในฤดูนาปรังจำนวน 600 ต้น คัดเลือกต้นไม่ไวแสงได้ 298 ต้น เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยว เก็บแยกต้น นำมาแกะเปลือกประเมินสีเยื่อหุ้มเมล็ดและวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน พบการกระจายตัวของสีเยื่อหุ้มเมล็ดตั้งแต่สีขาวไปจนถึงสีม่วงเกือบทั้งเมล็ด ลูกผสมที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวพบว่าไม่มีสารแอนโทไซยานิน ลูกผสมที่เหลืองมีสีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงหรือน้ำตาลมีการกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินเป็นแบบต่อเนื่อง ส่วนใหญ่มีค่าน้อย ค่อนไปทางพันธุ์ปทุมธานี 1 ต้นที่มีแอนโทไซยานินสูงส่วนใหญ่มีสีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงมากกว่าครึ่งเมล็ด แต่ภายในกลุ่มต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงเข้มนั้นพบทั้งต้นที่ไม่มีแอนโทไซยานินเลย มีบ้างเล็กน้อย ไปจนถึงมีค่าแอนโทไซยานินสูง เมื่อคัดเลือกเฉพาะต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงหรือสีน้ำตาลมาปลูกทดสอบรุ่นลูกในชั่วที่ 3 พบว่า ให้ผลยืนยันทันเดียวกับชั่วที่ 2 จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า วิธีการนี้สามารถคัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงและไม่ไวต่อช่วงแสงในชั่วต้นๆ ได้ อย่างไรก็ตามลักษณะแอนโทไซยานินสูงถูกควบคุมด้วยยีนด้อย มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมเชิงปริมาณด้วยยีนจำนวนมาก ดังนั้นการคัดเลือกจึงควรเพิ่มจำนวนประชากรในการคัดเลือกให้มีขนาดใหญ่มากขึ้น เพื่อเพิ่มโอกาสในการพบต้นที่มีลักษณะที่ต้องการ

คำสำคัญ: การคัดเลือก, ข้าวกำ, แอนโทไซยานิน, ไม่ไวต่อช่วงแสง

¹ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200

² ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200

¹ Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai Province 50200

² Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai Province 50200

* Corresponding author E - mail: Sansanee Jamjod, sansanee.cm@gmail.com

Received: 10 October 2013; Accepted: 30 July 2014

Abstract

Anthocyanin is known as one of the major antioxidant compounds, which commonly observes in the local purple rice (black glutinous rice) that can be grown only once a year because they are photoperiod sensitivity varieties. This experiment was conducted to obtain the hybrid progenies with high anthocyanin and photoperiod insensitivity. First, crosses between purple rice KDK and 4 white rice varieties were made and then F_1 hybrids were compared with the parental lines. We found that the pericarp color is controlled by incomplete dominant gene action. The anthocyanin content in all F_1 hybrids was less than KDK. Cross between KDK and PTT1 were selected to screen for progenies with high anthocyanin, and photoperiod insensitivity both non-glutinous and glutinous endosperm types. The F_2 plants were grown in dry season of 2012 and 298 of 600 F_2 plants were selected as photoperiod insensitivity. At maturity, seeds were individually collected in each plant and evaluated for pericarp color and anthocyanin content. The pericarp color varied from white to purple. No anthocyanin was detected in the white pericarp seed, while those of the purple and brown were skewed continuously toward that of the PTT1 parent. High variation of the anthocyanin content was found in the seeds those appear in purple pericarp more than half of the grain. The F_2 plants with purple and brown pericarp were selected, and progeny tested in F_3 generation and similar result was found between F_2 s and F_3 s. This illustrated that the selection methods used in this study is effective for selecting high anthocyanin content and photoperiod insensitivity traits in the early generation of breeding program. However, high anthocyanin content is a quantitative trait and controlled by recessive genes. Increasing the population size will provide more opportunity to find plants with desirable traits.

Keywords : Selection, purple rice, anthocyanin, photoperiod insensitivity

บทนำ

ข้าวดำ (purple rice) หรือข้าวเหนียวดำ (black glutinous rice) เป็นข้าวพื้นเมืองของประเทศไทย นิยมปลูกในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ลักษณะของข้าวดำจะมีการปรากฏของสีม่วงบนส่วนต่างๆ ของต้น เช่น กาบใบ แผ่นใบ กลีบดอก เปลือกเมล็ด หรือ เยื่อหุ้มเมล็ด [1,8] สีที่เกิดขึ้นนั้นพบว่ามีมาจากการสะสมของรงควัตถุ 3 ชนิดคือ แอนโทไซยานิน ฟลาโวนอล และโปรแอนโทไซยานิน [19] โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารในกลุ่ม flavonoid ซึ่งละลายได้ดีในน้ำ และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) [10] ช่วยลดปัญหาในการเกิดโรคภัยแรง เช่น โรคมะเร็ง เป็นต้น [5] ในพืชสารแอนโทไซยานินมักพบในพืชที่มีสีม่วงทั่วไป เช่น องุ่น กะหล่ำปลี เป็นต้น ซึ่งในข้าวสารแอนโทไซยานิน

ที่พบมีองค์ประกอบหลักเป็นชนิด cyanidin peonidin และ malvadin [3,9,20]

สารแอนโทไซยานินในข้าวพบแสดงออกมีตั้งแต่สีแดงไปจนถึงสีม่วง [10] ซึ่งสามารถแบ่งเจดสีออกได้เป็น 4 ระดับคือ colorless, rose red, pansy purple และ blackish red purple [11] ลักษณะของเจดสีที่แสดงออกขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารที่สะสม โดยพบว่าเมล็ดที่มีเยื่อหุ้มสีม่วงนั้นจะมีการสะสมของสารแอนโทไซยานินปริมาณมาก ในขณะที่เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงและสีน้ำตาลจะมีการสะสมของสารโปรแอนโทไซยานินปริมาณมาก เป็นต้น [6,15] ซึ่งลักษณะของสีที่แสดงออกมานั้นมียีนที่ควบคุมต่างกัน จากการศึกษที่ผ่านมาพบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงถูกควบคุมด้วยยีน *Pp* และ *Pb* [13] ในขณะที่สีแดงและน้ำตาลถูกควบคุมด้วยยีน *Rc* และ *Rd* [6,12,17] โดยการเกิดสีในข้าวนั้นมีการค้นพบว่าเกิดจากการทำงานร่วมกันของยีน 2 คู่ คู่แรกเป็นยีนที่

เกี่ยวข้องกับสารสร้าง Chromogen (C) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตรงควัตถุ ส่วนยีนคู่ที่ 2 คือ Activator (A) ทำหน้าที่เปลี่ยน Chromogen ให้เป็นรงควัตถุที่ทำให้เกิดสี หากยีนคู่ใดคู่หนึ่งหายไปหรืออยู่ในสภาพ homozygous recessive จะทำให้ไม่เกิดสี [12]

นอกจากนี้ยังมียีนอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะการเกิดสี เช่น ยีนที่ควบคุมการกระจายตัวของสีไปยังส่วนต่างๆ ของข้าว (P) และ ยีนที่ยับยั้งการกระจายตัวของยีนที่ทำให้เกิดสีในส่วนต่างๆ ของต้นข้าว (*I*-) และ *I**b* เป็นต้น [14] การศึกษาวิธีการในการคัดเลือกลูกผสมที่พัฒนาจากพันธุ์ข้าวเก่าที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง น่าจะสามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ให้ได้พันธุ์ข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านโภชนาการและเวชสำอางได้

ข้าวเก่าพันธุ์เก่าดอยสะเก็ด คัดเลือกมาจากวิธีการคัดสายพันธุ์แท้ (pure line selection) มาจากประชากรพันธุ์พื้นเมืองชนิดข้าวเหนียว ได้มีการขึ้นทะเบียนพันธุ์โดยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และมีการส่งเสริมปลูกและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ เนื่องจากมีสารแอนโทไซยานินสูง [2] โดยพบว่ามีปริมาณโมโนเมอร์แอนโทไซยานินตั้งแต่ 275-298 µg/g ในตัวทำละลาย pH 6.5 และ 313-352 µg/g ในตัวทำละลาย pH 2.0 [18] เปรียบเทียบกับพันธุ์ลิ้มผัว หอมนิล และกุหลาบดำ ที่มีปริมาณโมโนเมอร์แอนโทไซยานินอยู่ที่ 36.94, 1.08 และ 0.06 µg/g ตามลำดับ [16] จะเห็นว่าข้าวพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดมีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูง เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวเก่าพันธุ์อื่นๆ แต่อย่างไรก็ตาม ข้าวพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดยังเป็นพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสง ต้นสูงและให้ผลผลิตต่ำเมื่อเทียบกับพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ การนำพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดมาผสมพันธุ์กับข้าวพันธุ์สมัยใหม่อย่างพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งเป็นข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง เป็นข้าวขาวเจ้า ต้นเตี้ยเก็บเกี่ยวง่าย ผลผลิตสูง จึงน่าจะเป็นการปรับปรุงลักษณะด้อยของพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดให้ได้ตรงตามลักษณะที่ต้องการ

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมสีเยื่อหุ้มเมล็ดกับปริมาณแอนโทไซยานิน ของลูกผสมระหว่างข้าวพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดและข้าวขาว 4 พันธุ์ และคัดเลือกลูกผสม

ที่มีลักษณะแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงและไม่ไวต่อช่วงแสงในชั่วต้นๆ ในกลุ่มสมระหว่างพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดและปทุมธานี 1 เพื่อช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวทั้งชนิดข้าวเจ้าและข้าวเหนียวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดสูง ไม่ไวต่อช่วงแสงและให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดเดิมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

พันธุ์พ่อแม่

ใช้พันธุ์ข้าว 5 พันธุ์ คือ ก่าดอยสะเก็ด (KDK) ซึ่งเป็นข้าวเหนียว ไวต่อช่วงแสงมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ มีแอนโทไซยานินสูง และพันธุ์ข้าวขาว 4 พันธุ์ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกทั่วไป โดยเป็นข้าวเจ้า 2 พันธุ์คือ ปทุมธานี 1 (PTT1) ไม่ไวต่อช่วงแสง และขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) ไวต่อช่วงแสง ข้าวเหนียว 2 พันธุ์คือ สันป่าตอง 1 (SPT1) ไม่ไวต่อช่วงแสง กข 6 (RD6) ไวต่อช่วงแสง ก่อนปลูกนำมาเมล็ดพันธุ์มาเพาะใน petri-dishes ที่มีกระดาษกรองชุบน้ำจันทน์ ประมาณ 5 วัน ย้ายต้นอ่อนที่สมบูรณ์ลงปลูกในกระถาง

การประเมินลูกผสมชั่วที่ 1

การสร้างประชากรลูกผสม

สร้างประชากรลูกผสมโดยผสมพันธุ์ระหว่างข้าวเก่าดอยสะเก็ด (KDK) กับข้าวขาวทั้ง 4 พันธุ์โดยเพาะเมล็ดและย้ายปลูกข้าวทั้ง 5 พันธุ์ ในกระถางบรรจุดิน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ปลูกจำนวน 1 ต้นต่อหลุม 5 ต้นต่อกระถาง ปลูกพันธุ์ละ 10 กระถาง จัดช่วงระยะเวลาการปลูกโดยเว้นระยะเวลาห่างกันครั้งละ 10 วัน รวมทั้งหมด 5 ช่วงวันปลูก (planting date) เพื่อให้ข้าวมีช่วงเวลาออกดอกพร้อมกันสำหรับการสร้างลูกผสม เมื่อถึงระยะออกดอกผสมพันธุ์แบบสลับพ่อแม่ (reciprocal cross) จำนวน 4 ชุด ชุดละ 2 กลุ่ม รวมเป็น 8 กลุ่ม ดังนี้

ชุดที่ 1 KDK x PTT1 และ PTT1 x KDK

ชุดที่ 2 KDK x KDML105 และ KDML105 x KDK

ชุดที่ 3 KDK x SPT1 และ SPT1 x KDK

ชุดที่ 4 KDK x RD6 และ RD6 x KDK

เมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บเกี่ยวแยกแต่ละกลุ่มผสมเมล็ดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การประเมินลูกผสมเทียบกับพันธุ์พ่อแม่

ปลูกศึกษาในฤดูนาปี ในปี พ.ศ. 2554 เพาะเมล็ดใน petri-dishes ก่อนที่จะเลือกต้นอ่อนที่งอกสม่ำเสมอปลูกในกระถางพลาสติกบรรจุดิน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ปลูกจำนวน 1 ต้นต่อหลุมจำนวน 5 ต้นต่อกระถาง แต่ละคู่ผสม ลูกผสมชั่วที่ 1 และพันธุ์พ่อแม่ ปลูกพันธุ์ละ 3 กระถาง วางแผน การทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ หลังย้ายปลูกในกระถาง 20 วัน ให้ปุ๋ยรองพื้นสูตร 16-20-0 อัตรา 25 กก./ไร่ จากนั้นเมื่อต้นข้าวอายุประมาณ 60 วัน ให้ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 10 กก./ไร่ เมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บเมล็ดแยกต้นนำเมล็ดพันธุ์พ่อแม่และลูกผสมชั่วที่ 1 ของแต่ละคู่ผสม บันทึกลักษณะสีเปลือก สีเยื่อหุ้มเมล็ด ชนิดข้าวเหนียวหรือข้าวเจ้าโดยวิธีการย้อมสีแป้งในเมล็ดด้วย potassium iodine (KI(I)) โดยแบ่งที่ย้อมติดสีน้ำเงินแสดงว่าเป็นข้าวเจ้า และสีน้ำตาลแสดงว่าเป็นข้าวเหนียว จากนั้นสุ่มตัวอย่างเมล็ด นำมาแกะเปลือกออกด้วยมือ ซึ่งข้าวกล้อง 2.5 กรัม มาวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินของเมล็ดข้าวโดยวิธีวิเคราะห์ทางเคมี โดยดัดแปลงจากวิธี pH differential method [7] ค่าที่ได้เป็นปริมาณสารโมโนเมอร์แอนโทไซยานิน (monomeric anthocyanin)

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของลูกผสมชั่วที่ 1 และพันธุ์พ่อแม่

การประเมินและคัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2

คัดเลือกคู่ผสมมาศึกษา 1 คู่คือ KDK x PTT1 เก็บเมล็ดจากการผสมตัวเองของลูกผสมชั่วที่ 1 ในการทดลองก่อนหน้านี้ งานทดลองนี้ปลูกในแปลงทดลองในฤดูนาปรัง ในปี พ.ศ. 2555 ปลูกโดยวิธีปักดำ โดยหว่านเมล็ดพันธุ์พ่อแม่และลูกผสมเมื่อต้นกล้ามีอายุ 1 เดือน ย้ายกล้าปลูกลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 600 ต้นปลูกพ่อแม่พันธุ์ละ 320 ต้นใช้ระยะปลูก 25x25 เซนติเมตร หลังปักดำ 20 วัน หว่านปุ๋ยรองพื้นสูตร 16-20-0 อัตรา 25 กก./ไร่ จากนั้นเมื่อต้นข้าวอายุประมาณ 60 วัน หว่านปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 10 กก./ไร่ เมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บเกี่ยวเมล็ดโดยเก็บเมล็ดแยกต้นแต่ละต้นสุ่มบันทึกสีเยื่อหุ้มเมล็ดจำนวน 10 เมล็ด ทดสอบการติดสี

สารละลายไอโอดีนจาก 10 เมล็ด อีกส่วนนำเมล็ดไปแกะเปลือกออกด้วยมือ และนำข้าวกล้อง 2.5 กรัม วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวคัดเลือกต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงหรือสีน้ำตาลได้ทั้งหมด 205 ต้น เมล็ดลูกผสมชั่วที่ 3 จากแต่ละต้นถือเป็น 1 family นำไปปลูกทดสอบและคัดเลือกในฤดูนาปีถัดไป

วิเคราะห์ช่วงของการกระจายตัว (range) ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ของปริมาณแอนโทไซยานินในประชากรลูกผสมเทียบกับพันธุ์พ่อแม่

การประเมินและคัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 3

ปลูกข้าวลูกผสมชั่วที่ 3 และพันธุ์พ่อแม่ในแปลงทดลองฤดูนาปี ในปี พ.ศ. 2555 แบบต้นต่อแถวจำนวน 205 families แต่ละ family และพันธุ์พ่อแม่ปลูกเป็นแถวๆ ละ 20 ต้น โดยปลูกพันธุ์พ่อแม่คั่นระหว่างลูกผสมชั่วที่ 3 ทุกๆ 10 แถว ปลูกโดยวิธีปักดำใช้ระยะปลูก 25x25 เซนติเมตร การดูแลจัดการต่างๆ ทำเหมือนการทดลองในชั่วที่ 2 เมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บเกี่ยวเมล็ดต้นละ 1 รวง ทั้งหมด 10 ต้นต่อ family นำมารวมกันและนำไปนวด หลังจากนั้นสุ่มเมล็ดของลูกผสมชั่วที่ 3 แต่ละ family และพันธุ์พ่อแม่มาแกะเปลือกออกด้วยมือ ซึ่งเมล็ดจำนวน 2.5 กรัมเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน

วิเคราะห์ช่วงของการกระจายตัว (range) ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ของปริมาณแอนโทไซยานินในประชากรลูกผสมเทียบกับพันธุ์พ่อแม่

ผลการทดลอง

การประเมินลูกผสมชั่วที่ 1

พบความแตกต่างของลักษณะสีเปลือกและเยื่อหุ้มเมล็ด ชนิดข้าวและปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดของพันธุ์พ่อแม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 และคู่ผสมกลับระหว่างข้าวกำลังงอกสะกิด กับข้าวขาว 4 พันธุ์คือ ปทุมธานี 1 ขาวดอกมะลิ 105 สันป่าตอง 1 และ กข 6 (ตารางที่ 1) ข้าวพันธุ์กำลังงอกสะกิด (KDK) เป็นข้าวเหนียวมีเมล็ดเปลือกสีน้ำตาลดำ เยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ

มีสารแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงถึง 18.59 มก./100 ก. ส่วนข้าวขาวทั้ง 4 พันธุ์ มีเปลือกสีฟาง เยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว ไม่พบสารแอนโทไซยานิน ลูกผสมระหว่างข้าวก่ำดอยสะเก็ดกับพันธุ์ข้าวขาว 4 พันธุ์ แตกต่างกันระหว่างกลุ่มผสมดังนี้ ลูกผสมระหว่างพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดกับข้าวเจ้าพันธุ์ปทุมธานี 1 (PTT1) และข้าวดอกมะลิ 105 (KDML105) เป็นชนิดข้าวเจ้ามีเปลือกเมล็ดสีฟาง เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงปนดำมีค่าแอนโทไซยานินน้อยระหว่าง 0.52-0.83 มก./100 ก. ลูกผสมระหว่างก่ำดอยสะเก็ดกับข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง 1 (SPT1) มีเปลือกเมล็ดสีฟาง แต่เยื่อหุ้มเมล็ดสีน้ำตาลปนดำมีสารแอนโทไซยานินน้อยกว่า 0.10 มก./100 ก. ขณะที่ลูกผสมระหว่างก่ำดอยสะเก็ดกับข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 (RD6) มีเปลือกเมล็ดสีฟางขีดน้ำตาล เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงปนดำมีสารแอนโทไซยานินน้อยระหว่าง 0.20-0.31 มก./100 ก. ทุกกลุ่มผสมในทุกลักษณะไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผสมลับพ่อแม่

การประเมินและคัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2

นำกลุ่มผสมระหว่างก่ำดอยสะเก็ดกับปทุมธานี 1 มาศึกษาและคัดเลือกในชั่วที่ 2 และ 3 ในชั่วที่ 2 เมื่อปลูกในฤดูนาปรัง พบว่าลูกผสม 600 ต้น ออกดอกและให้ผลผลิตเมล็ดจำนวน 298 ต้น ซึ่งแสดงลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง ส่วนต้นที่ไม่ออกดอกคิดเป็นสัดส่วน 50.3% การประเมินลูกผสมชั่วที่ 2 นี้ เก็บเกี่ยวเมล็ดลูกผสมได้ทั้งหมด 212 ต้น โดยแต่ละต้นนำมาประเมินลักษณะชนิดข้าว สีเยื่อหุ้มเมล็ดและปริมาณแอนโทไซยานิน (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1) พบว่าลูกผสมมีการกระจายตัวของชนิดแบ่งในเมล็ดเป็น 3 แบบ คือ

ข้าวเจ้าทุกเมล็ด ข้าวเหนียวทุกเมล็ด และข้าวเจ้าปนกับข้าวเหนียวภายในต้นเดียวกัน ชนิดข้าวเจ้าพบมากที่สุดถึง 54.2% รองลงมาคือข้าวเจ้าปนข้าวเหนียว 33.5% และน้อยที่สุดคือข้าวเหนียว 12.3% ส่วนสีเยื่อหุ้มเมล็ดพบว่าแต่ละต้นจำแนกได้เป็นสีม่วง สีน้ำตาลและสีขาวในสัดส่วนใกล้เคียงกัน ประมาณ 3.2- 35.4% ต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวไม่พบปริมาณแอนโทไซยานินเช่นเดียวกับพันธุ์พ่อปทุมธานี 1 ต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงและน้ำตาลมีแอนโทไซยานินเฉลี่ยแต่ละสีที่ 3.31 และ 0.4 มก./100 ก. ตามลำดับ และมีการกระจายตัวของสารแอนโทไซยานินของแต่ละต้น

อยู่ในช่วงของพ่อแม่ แต่ลูกผสมส่วนใหญ่จะมีค่าแอนโทไซยานินต่ำกระจายตัวไปในทิศทางพันธุ์ปทุมธานี 1

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสีเยื่อหุ้มเมล็ดกับปริมาณแอนโทไซยานิน จึงได้นำเมล็ดที่มีสีม่วงและน้ำตาลจากตารางที่ 2 มาแบ่งออกตามการกระจายของสีเป็นสีละ 4 ระดับ ตามความเข้มของสีคือ 3/4 2/4 1/4 และน้อยกว่า 1/4 ของเมล็ด พบว่าที่ระดับสีม่วงเข้มสูงสุด (3/4 ของเมล็ด) และที่ระดับสีม่วงเข้มรองลงมา (2/4 ของเมล็ด) มีเพียงระดับสีละ 1 ต้นเท่านั้นที่มีค่าแอนโทไซยานินสูงเท่ากับพันธุ์แม่ก่ำดอยสะเก็ด โดยมีค่า 17.3 และ 13.3 มก./100 ก. ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 1) ส่วนที่เหลือมีการกระจายตัวตั้งแต่ 0-10.0 มก./100 ก. โดยส่วนใหญ่มากกว่า 80% มีค่าระหว่าง 0-2.5 มก./100 ก. โดยพบว่าภายในแต่ละกลุ่มสีเมล็ด ค่าเฉลี่ยรวมแอนโทไซ-ยานินเพิ่มความเข้มสีเมล็ด โดยกลุ่มที่มีสีม่วงเข้มระดับสูงสุด (3/4 ของเมล็ด) และรองลงมา (2/4 ของเมล็ด) มีค่าเฉลี่ยสูงสุด 4.20 และ 2.62 มก./100 ก. ตามลำดับ ส่วนที่เหลือที่มีความเข้มสีเมล็ดน้อยลงมามีค่าเฉลี่ยแอนโทไซยานิน 0-1.61 มก./100 ก.

การประเมินและคัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 3

คัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2 ที่เมล็ดมีสีม่วงและน้ำตาลไปปลูกแบบต้นต่อแถวและเก็บเกี่ยวเมล็ดรวมทั้งแถวหรือ family สามารถเก็บเกี่ยวได้ทั้งหมด 137 families พบว่า families ที่ derive ไปจาก F₂ ต้นที่มีสีเยื่อหุ้มเมล็ดแตกต่างกัน 8 ระดับมีการกระจายตัวของสารแอนโทไซยานินในช่วงตั้งแต่ 0 จนถึง 10 มก./100 ก. ขณะที่พันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดมีค่าระหว่าง มากกว่า 10 จนถึง 17.5 มก./100 ก. (ตารางที่ 4) และพบว่ามากกว่า 90% ของลูกผสมชั่วที่ 3 มีการกระจายตัวให้ค่าแอนโทไซยานินน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2.5 มก./100 ก. และ 40% ของประชากรไม่พบปริมาณแอนโทไซ-ยานินในเมล็ด พบเพียง 11 families มีค่าแอนโทไซ-ยานินมากกว่า 2.5 และพบ 4 families มีค่ามากกว่า 5 มก./100 ก. โดย 3 families มาจากต้น F₂ ที่มีเมล็ดสีม่วงมากกว่าครึ่งเมล็ดและอีกหนึ่ง family จากสีน้ำตาลครึ่งเมล็ด

ตารางที่ 1 สีเปลือกและเยื่อหุ้มเมล็ด ชนิดข้าวและปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดของพันธุ์พ่อแม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 และคู่ผสมกลับระหว่างข้าวท่าดอยสะเก็ด (P1 = KDK) กับข้าวขาว 4 พันธุ์คือ ปทุมธานี 1 (P2 = PTT1) ขาวดอกมะลิ105 (P3 = KDML105) สันป่าตอง 1 (P4 = SPT1) และกข 6 (P5 = RD6)

พันธุ์/คู่ผสม	สีเปลือกเมล็ด	สีเยื่อหุ้มเมล็ด	ชนิดแป้ง	ปริมาณแอนโทไซยานิน(mg/100g)
<u>พันธุ์พ่อแม่</u>				
KDK (P1)	น้ำตาลดำ	ม่วงดำ	ข้าวเหนียว	18.59a#
PTT1 (P2)	ฟาง	ขาว	ข้าวเจ้า	0
KDML105 (P3)	ฟาง	ขาว	ข้าวเจ้า	0
SPT1 (P4)	ฟาง	ขาว	ข้าวเหนียว	0
RD6 (P5)	ฟาง	ขาว	ข้าวเหนียว	0
<u>ลูกผสมชั่วที่ 1</u>				
P1 x P2	ฟาง	แดงปนดำ	ข้าวเจ้า	0.63b
P2 x P1	ฟาง	แดงปนดำ	ข้าวเจ้า	0.83b
P1 x P3	ฟาง	แดงปนดำ	ข้าวเจ้า	0.73b
P3 x P1	ฟาง	แดงปนดำ	ข้าวเจ้า	0.52b
P1 x P4	ฟาง	น้ำตาลปนดำ	ข้าวเหนียว	0.10b
P4 x P1	ฟาง	น้ำตาลปนดำ	ข้าวเหนียว	0.10b
P1 x P5	ฟางขีดน้ำตาล	แดงปนดำ	ข้าวเหนียว	0.31b
P5 x P1	ฟางขีดน้ำตาล	แดงปนดำ	ข้าวเหนียว	0.20b

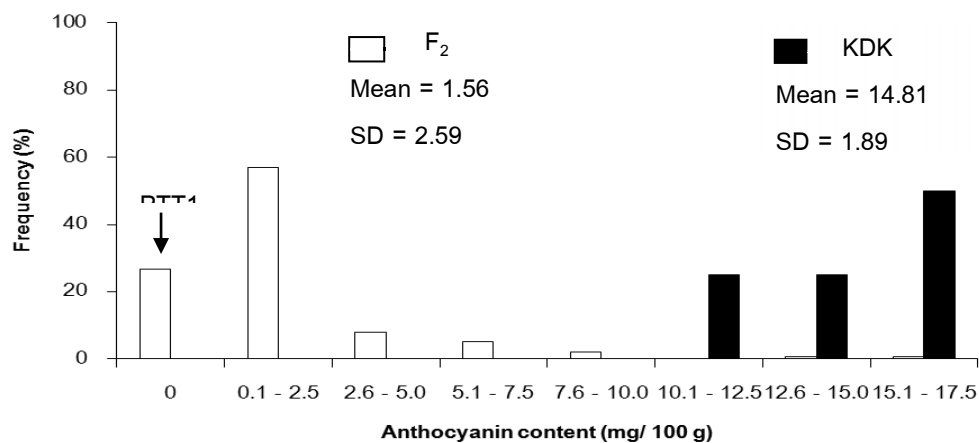
ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วย LSD ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2 การกระจายตัวของลักษณะชนิดแป้ง สีเยื่อหุ้มเมล็ดและปริมาณแอนโทไซยานินในพันธุ์พ่อแม่และลูกผสม
 ครั้งที่ 2 ระหว่างข้าวเหนียวกำดอยสะเก็ด (KDK) x ข้าวเจ้าปทุมธานี 1 (PTT1)

พันธุ์/ ประชากร	สีเยื่อ หุ้มเมล็ด	ชนิดแป้ง	จำนวนต้น	% ของจำนวน ต้นทั้งหมด	Anthocyanin(mg/100g)	
					mean	var
F ₂	ม่วง	ข้าวเจ้า	48	22.6	1.97	6.4
		ข้าวเหนียว	7	3.3	4.38	7.57
		ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว	18	8.5	3.58	18.57
		รวมสีม่วง	73	34.4	เฉลี่ย	3.31a
	น้ำตาล	ข้าวเจ้า	27	12.7	0.51	0.99
		ข้าวเหนียว	12	5.7	0.28	0.22
		ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว	25	11.8	0.41	0.35
		รวมสีน้ำตาล	64	30.2	เฉลี่ย	0.4b
	ขาว	ข้าวเจ้า	40	18.9	0	0
		ข้าวเหนียว	7	3.3	0	0
		ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว	28	13.2	0	0
		รวมสีขาว	75	35.4	เฉลี่ย	0
	รวม		212			
	รวมข้าวเจ้า		115	54.2	0.83	2.46
	รวมข้าวเหนียว		26	12.3	1.55	2.60
	รวมข้าวเจ้าและข้าว เหนียว		71	33.5	1.33	6.31
พันธุ์พ่อแม่						
KDK	ม่วงดำ	ข้าวเหนียว	4	100	14.81	3.57
PTT1	ขาว	ข้าวเจ้า	4	100	0	0

ตารางที่ 3 การกระจายตัวของความเข้มข้นของเยื่อหุ้มเมล็ดภายในกลุ่มที่มีสีดำและน้ำตาล และปริมาณแอนโทไซยานินในลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวเหนียวกำดอยสะเก็ด (KDK) x ข้าวเจ้าปทุมธานี 1 (PTT1)

สีเยื่อหุ้มเมล็ด	ระดับสี	จำนวนต้น	% ของจำนวนต้นทั้งหมด	Anthocyanin			
				mean	min	max	sd
ม่วง	สีม่วง 3/4 ของเมล็ด	21	28.7	4.20	0.21	17.30	4.03
	สีม่วง 2/4 ของเมล็ด	26	35.6	2.65	0	13.32	3.13
	สีม่วง 1/4 ของเมล็ด	24	32.9	1.33	0	5.00	1.44
	สีม่วงน้อยกว่า 1/4 ของเมล็ด	2	2.7	0.31	0	0.63	0.44
รวม		73					
น้ำตาล	สีน้ำตาล 3/4 ของเมล็ด	4	6.3	1.61	0	4.99	2.29
	สีน้ำตาล 2/4 ของเมล็ด	24	37.5	0.41	0	1.67	0.52
	สีน้ำตาล 1/4 ของเมล็ด	24	37.5	0.27	0	1.67	0.40
	สีน้ำตาลน้อยกว่า 1/4 ของเมล็ด	12	18.8	0.38	0	2.50	0.69
รวม		64					



ภาพที่ 1 การกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินในลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวกำดอยสะเก็ด (KDK) x ปทุมธานี 1 (PTT1) ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำและน้ำตาล

ตารางที่ 4 การกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินในลูกผสมชั่วที่ 3 ที่คัดมาจากต้น F_2 ที่มีความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดแตกต่างกัน

สีเยื่อหุ้มเมล็ดจากต้น F_2		จำนวน family	ปริมาณแอนโทไซยานิน								mean	min	max	sd
สี	ระดับสี		0	0.1-2.5	2.6-5.0	5.1-7.5	7.6-10.0	10.1-12.5	12.6-15.0	15.1-17.5				
ม่วง	สีม่วง 3/4 ของเมล็ด	21	4	14	2	1					1.16	0.00	6.88	1.73
	สีม่วง 2/4 ของเมล็ด	26	4	17	3	1	1				1.51	0.00	7.72	1.80
	สีม่วง 1/4 ของเมล็ด	24	10	14							0.50	0.00	2.08	0.62
	สีม่วงน้อยกว่า 1/4 ของเมล็ด	2	0	2							0.94	0.62	1.25	0.44
รวม		73												
น้ำตาล	สีน้ำตาล 3/4 ของเมล็ด	4	2	2							0.16	0.00	0.42	0.20
	สีน้ำตาล 2/4 ของเมล็ด	24	10	12	1	1					0.67	0.00	5.00	1.18
	สีน้ำตาล 1/4 ของเมล็ด	24	14	9	1						0.37	0.00	3.34	0.73
	สีน้ำตาลน้อยกว่า 1/4 ของเมล็ด	12	9	3							0.09	0.00	0.62	0.19
รวม		64												
KDK		4	0	0	0	0	0	1	1	2	14.81	12.32	16.91	1.89
PTT1		4	4								0.00	0.00	0.00	0.00

วิเคราะห์จากเมล็ดรวม 10 ต้นต่อ family หรือพันธุ์พ่อแม่

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากการทดลองนี้พบว่าสามารถคัดเลือกลูกผสมที่ไม่ไวต่อช่วงแสง มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงและมีสารแอนโทไซยานินสูงได้ทั้งชนิดข้าวเจ้าและข้าวเหนียว และการทดลองนี้ยังบ่งชี้ว่าลักษณะที่ศึกษาทุกลักษณะถูกควบคุมด้วยยีนที่แสดงอิทธิพลแบบข่ม ผลการทดลองในลูกผสมชั่วแรกระหว่างข้าวเหนียวก่ำกับข้าวเจ้าขาวทั้ง 4 พันธุ์ พบว่าลูกผสมระหว่างข้าวเหนียวกับข้าวเจ้าทุกคู่เป็นข้าวเจ้าแสดงถึงการข่มสมบูรณ์ของลักษณะข้าวเจ้าเหนือข้าวเหนียว แต่ลูกผสมมีสีเยื่อหุ้มเมล็ดแดงหรือน้ำตาลปนดำแต่ไม่ถึงระดับม่วงดำเหมือนข้าวก่ำ แสดงว่ายีนที่ควบคุมสีม่วงจากข้าวก่ำแสดงออกแบบข่มไม่สมบูรณ์ นอกจากนั้นยังพบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผสมโดยลูกผสมจากทุกคู่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีแดงปนดำยกเว้นลูกผสมจากพันธุ์สันป่าตอง 1 เท่านั้นที่มีสีน้ำตาลปนดำ จึงเป็นไปได้ว่าข้าวพันธุ์สันป่าตอง 1 อาจมี allele แตกต่างจากพันธุ์ที่ศึกษาที่เหลือทั้ง 3 พันธุ์ เช่นเดียวกับการทดลองของ Rahman *et al.* [13] ที่ศึกษาลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดในลูกผสมระหว่างข้าวที่มีเยื่อหุ้มสีม่วงกับข้าวขาว 4 คู่ผสม พบยีนแสดงออกมีทั้งแบบข่มสมบูรณ์และข่มไม่สมบูรณ์ ในขณะที่ Ayoola and Faluyi [4] พบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 จากการผสมระหว่างข้าวที่มีเยื่อหุ้มสีน้ำตาลกับข้าวขาวได้ลูกผสมมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีน้ำตาลทั้งหมด สำหรับปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดพบว่าลูกผสมชั่วแรกทุกคู่ในงานทดลองนี้มีค่าน้อยมาก (0.1-0.8 มก./100 ก.) เมื่อเทียบกับพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด (18.6 มก./100 ก. ตารางที่ 1) แสดงว่าลักษณะแอนโทไซยานินน้อยแสดงออกแบบข่มปริมาณแอนโทไซยานินสูง

ในลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวก่ำดอยสะเก็ดกับพันธุ์ 1 พบการกระจายตัวในลักษณะความไวต่อช่วงแสง โดยพบว่ามีต้นที่ออกดอกและสามารถเก็บเกี่ยวได้มากกว่าครึ่ง เมื่อเก็บเกี่ยวเฉพาะต้นที่ไม่ไวต่อช่วงแสงมาทดสอบชนิดแป้ง สีเยื่อหุ้มเมล็ด และปริมาณแอนโทไซยานินเพื่อคัดเลือกลูกผสมแยกชนิดข้าวเจ้าและข้าวเหนียว และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดกับปริมาณแอนโทไซยานินในกลุ่มผสมนี้พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 2 ที่คัดเลือกมา

กระจายตัวตั้งแต่สีขาวไปจนถึงม่วงเกือบหมดทั้งเมล็ด ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินมีการกระจายตัวแบบต่อเนื่อง (continuous distribution) ก่อนไปทางพันธุ์ปทุมธานี 1 (ภาพที่ 1) ลูกผสมที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวไม่พบปริมาณแอนโทไซยานิน เมื่อคัดเลือกเฉพาะต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงหรือน้ำตาลปลูกทดสอบรุ่นลูกในชั่วที่ 3 และวิเคราะห์ผลรวมของทั้ง family พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับชั่วที่ 2 ที่พบว่ามีกระจายตัวต่อเนื่องเบนไปทางพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ไม่มีแอนโทไซยานิน ซึ่งแสดงถึงการเป็นลักษณะด้อย ต้นที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง มีในสัดส่วนน้อยมาก จึงคาดว่ามีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบปริมาณ ถูกควบคุมด้วยยีนจำนวนมากคู่

ต้นที่มีแอนโทไซยานินสูงนั้นส่วนใหญ่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง ในขณะที่ต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีน้ำตาลมีค่าน้อยมากใกล้เคียงกับเยื่อหุ้มสีขาวซึ่งไม่พบสารแอนโทไซยานินอยู่เลย เช่นเดียวกับการทดลองของ Rahman *et al.* [13] ที่พบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีม่วงดำมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีม่วงปานกลาง สีน้ำตาล และสีขาว ตามลำดับ ทั้งนี้ต้นที่มีแอนโทไซยานินสูงส่วนใหญ่มีสีเยื่อหุ้มเมล็ดตั้งแต่สีม่วงมากกว่าครึ่งเมล็ด ในขณะที่ต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงต่ำกว่าครึ่งเมล็ดมีแอนโทไซยานินเท่ากับหรือใกล้เคียงต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีน้ำตาล แต่ทั้งนี้พบว่าต้นที่มีเยื่อหุ้มสีม่วงเข้มในระดับสูงที่สุด สามารถพบได้ทั้งในต้นที่ไม่มีแอนโทไซยานินเลย มีแอนโทไซยานินบ้างเล็กน้อยไปจนถึงมีค่าแอนโทไซยานินสูง เนื่องจากการทดลองนี้ต้องการคัดเลือกแอนโทไซยานินที่สามารถละลายน้ำได้หรือโมโนเมอร์แอนโทไซยานินซึ่งมีค่าสูงในพันธุ์แม่ก่ำดอยสะเก็ด จึงได้วิเคราะห์โมโนเมอร์แอนโทไซยานิน ดังนั้น จึงอาจเป็นไปได้ว่าต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีม่วงหรือน้ำตาลแต่มีค่าแอนโทไซยานินต่ำในงานทดลองนี้อาจจะมีสารประกอบอยู่ในรูปแบบอื่น เช่น โพรแอนโทไซยานิน เป็นต้น ลูกผสมต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงเข้มเหล่านี้ได้ใช้ปลูกขยายพันธุ์ในชั่วต่อไปเพื่อวิเคราะห์สารแอนโทไซยานินหรือสารอื่นๆ ที่ใกล้เคียงกันในการศึกษาและวิจัยขั้นต่อไป

การศึกษาดังนี้ได้นำแสดงวิธีการคัดเลือกลูกผสมระหว่างข้าวเหนียวดำหรือข้าวเหนียวดำที่ไวต่อช่วงแสงกับข้าวเจ้าขาวไม่ไวต่อช่วงแสง ในเบื้องต้นเริ่มจากการปลูกลูกผสมในฤดูนาปรังเพื่อคัดกรองต้นที่มียืนที่ไวต่อช่วงแสงทิ้งไป หลังจากนั้นประเมินลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดด้วยตาเปล่า และประเมินความเป็นข้าวเจ้าหรือข้าวเหนียวโดยการย้อมแป้งในเมล็ดด้วยสารละลายไอโอดีน และวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า วิธีการที่ใช้สามารถคัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะแอนโทไซยานินในเมล็ดสูงและไม่ไวต่อช่วงแสงในชั่วต้นๆ ได้อย่างไรก็ตามลักษณะแอนโทไซยานินสูงถูกควบคุมด้วยยีนด้อย มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมเชิงปริมาณด้วยยีนจำนวนมาก ดังนั้นการคัดเลือกจึงควรเพิ่มจำนวนประชากรในการคัดเลือกให้มีขนาดใหญ่มากขึ้น เพื่อเพิ่มโอกาสในการพบต้นที่มีลักษณะที่ต้องการ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ (สกอ.) และบัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

1. ดำเนิน กาละดี และศันสนีย์ จำจด. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องพันธุศาสตร์การปรับปรุงพันธุ์และโภชนศาสตร์เกษตรของข้าวเหนียวดำ. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2543.
2. ดำเนิน กาละดี, ศันสนีย์ จำจด, แสงทวี สุริยงค์, กนกวรรณ ศรีงาม, ปณิดา บุญสิทธิ์ และสมทบ นันทะเสน. สารแกมมาโอไรโซนอลและแอนโทไซยานินในความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวกำลังเมืองไทยและความเป็นไปได้ในการสร้างพันธุ์ใหม่เพื่อเพิ่มคุณค่าความเป็นข้าวเพื่อสุขภาพ. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2552.

3. Abdel-Aal, E. S. M., Young, J. C., and Rabalski, I. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple and red cereal grains. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54: 4696-4704.
4. Ayoola, A. O. and Faluyi, J.O. Inheritance of caryopsis/ripened-hull colour in a selection from land race of rice *Oryza sativa* (Linn). *Agr J.* 2007; 2(3): 412-414.
5. Chen, P. -N., Kuo, W. -H., Chiang, C. -L., Chiou, H. -L., Hsieh, Y. -S., and Chu, S. -C. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. *Chemico-Biological Interactions.* 2006; 163(3): 218-229.
6. Furukawa, T., Maekawa, M., Oki, T., Suda, I., Lida, S., Shimada, H., Takamura, I., and Kadowaki, K. The *Rc* and *Rd* genes are involved in proanthocyanidin synthesis in rice pericarp. *The Plant Journal.* 2006; 49: 91-102.
7. Giusti, M.M., and Wrolstad, R.E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Anal. Chem.* 2001; F1.2.1-F1.2.13.
8. Kim, C.K., Cho, M.A., Choi, Y. H., Kim, J.A., Kim, Y.H., Kim, Y.K., and Park, S.H. Identification and characterization of seed-specific transcription factors regulating anthocyanin biosynthesis in black rice. *Plant Genet.* 2011; 52: 161-169.
9. Lee, J.H. Identification and quantification of anthocyanins from the grains of black rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Food Sci. Biotechnol.* 2010; 19: 391-397.
10. Matsuo, T., Futsuhara, Y., Kikichi, F., and Yamaguchi, H. Science of the rice plant. Food and Agriculture Policy research Center. Tokyo, Japan; 1997. 318-336.

11. Nagao, S., and Takahashi, M. Genetic studies on rice plant. VI. Experimental studies on genetic of anthocyanin coloration in rice. *Jap. J. Genet.* 1947; (Supp.1), 1–27.
12. Nagao, S., and Takahashi, M. Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice. *J. Fac. Agr., Hokkaido Univ.* 1963; 53: 76–131.
13. Rahman, M. M., Lee, K. E., Lee, E. S., Matin, M. N., Lee, D. S., Yun, J. S., Kim, J. B., and Kang, S. G. 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. *J. Plant Biol.* 2013; 56: 24-31.
14. Reddy, A.R. Genetic and molecular analysis of the anthocyanin pigmentation pathway in rice. In: Khush G.S. Rice Genetics III. Manila, Philippines IRRI; 1996. 341-352.
15. Reddy, V.S., Dash, S., and Reddy, A.R. Anthocyanin pathway in rice (*Oryza sativa* L.): identification of a mutant showing dominant inhibition of anthocyanins in leaf and accumulation of proanthocyanin in pericarp. *Theor. Appl. Genet.* 1995; 91: 301-312.
16. Suwannalert, P. and Rattanachitthawat, S. High level of phytophenolics and antioxidant activities in *Oryza sativa* - unpolished Thai rice strain of LeumPhua. *Trop J Pharmaceut Res.* 2011; 10(4): 431-436.
17. Takahashi, M.-E., Gene analysis and its related problems. *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* 1982; 61: 91-142
18. Tananuwong, K. and Tewaruth, W. Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. *Food Sci Tech.* 2010; 43: 476-481.
19. Wiriyasuk, K. Extraction and Regulation of genes controlling grain anthocyanin and proanthocyanin (condensed tannins) accumulation in rice. Thesis for Master of Science, Kasetsart University; 2005. 64 p.
20. Yoon, H.H., Pail, Y.S., Kim, J.B., and Halm, T.R. Identification of anthocyanidins from Korean pigmented rice. *Agr. Chem. Biotechnol.* 1995; 33: 581-583.