

การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของสีเยื่อหุ้มเมล็ดใน ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน Induced Mutation for Pericarp Color in Pathumthani 1 (PTT1) Rice Variety by Acute Gamma Irradiation

ธานี ศรีวงศ์ชัย*, ณัฏฐา ผดุงศิลป์ และประภา ศรีพิจิตร

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Tanee Sreewongchai*, Natta Padungsil and Prapa Sripichitt

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok Campus,

Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

บทคัดย่อ

ข้าวเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงมีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 (PTT1) ถูกนำมาฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันซึ่งมี ^{137}Cs เป็นต้นกำเนิดรังสีด้วยปริมาณ 220 gray อัตราการรอดชีวิตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 อยู่ที่ 59.38 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 มีการตอบสนองต่อรังสีแกมมาต่ำเมื่อเทียบกับรายงานก่อนหน้าของพันธุ์อื่น ๆ หลังจากกะเทาะเปลือกเมล็ด M_2 พบการกลายพันธุ์ 2 ลักษณะ ได้แก่ ข้าวเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง (สายพันธุ์ R684 และ R2535) และข้าวเมล็ดขุ่น (สายพันธุ์ L211) เมื่อตรวจสอบปริมาณมิลลิโมลของสายพันธุ์ R684, R2535 และ L211พบว่าในสายพันธุ์ L211 มีปริมาณมิลลิโมลต่ำลง แต่ทั้ง 3 สายพันธุ์ ยังคงจัดอยู่ในกลุ่มปริมาณมิลลิโมลต่ำเช่นเดียวกับพันธุ์ปทุมธานี 1 ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 กับสายพันธุ์ที่กลายพันธุ์ถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดเอสเอสอาร์จำนวน 20 ไพร์เมอร์ พบว่าสายพันธุ์ R684, R2535 และ L211 มีความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม 85, 95 และ 75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ปทุมธานี 1 ตามลำดับ ยืนยันว่าลักษณะที่ปรากฏเป็นผลมาจากการกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมา สายพันธุ์ใหม่ที่ได้จะถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อคุณภาพทางโภชนาการต่อไป

คำสำคัญ : การกลายพันธุ์; การฉายรังสีแกมมา; เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง; เมล็ดขุ่น

Abstract

Red pericarp rice has high nutritive content and health benefits. Seeds of Pathumthani 1 (PTT1) were subjected to gamma irradiation from ^{137}Cs source using a dose of 220 gray. Survival rate of PTT1 was 59.38 % which indicated that PTT1 had low radio sensitivity to gamma radiation than previous

report of other varieties. After husk removing of M₂ seeds were found two types of mutation with red pericarp (line number R684 and R2535) and opaque endosperm (line number L211). Validating amylose content of R684, R2535 and L211 lines showed that amylose content of L211 line was decreased, whereas the three mutant lines should be classified into low amylose content groups which were the same as PTT1. The three mutant lines analyzed by 20 SSR markers, i.e. R684, R2535 and L211 lines, manifested 85, 95 and 75 percentages of genetic similarity to PTT1, respectively. This confirmed that these observed phenotypes were resulted from mutation by gamma irradiation. The obtained mutant lines will be used in breeding for nutritional quality improvement.

Keywords: mutation; gamma irradiation; red pericarp; opaque endosperm

1. คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตข้าวขนาดใหญ่และมีความหลากหลายทางด้านพันธุกรรม แต่ข้าวที่นิยมปลูกและรับประทานกลับเป็นข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว ทั้งนี้การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีสีแดง ซึ่งเป็นรวงควัตถุที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค จะสอดคล้องกับแนวโน้มการบริโภคที่กำลังเปลี่ยนไปในขณะนี้ ข้าวเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงในประเทศไทยสามารถแบ่งกลุ่มตามการตอบสนองต่อช่วงแสงได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ข้าวไวต่อช่วงแสง ได้แก่ สังข์หยดพัทลุง และข้าวหอมแดง ส่วนข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง ได้แก่ กข69 (ทับทิมชุมแพ) มีลักษณะท้องไข่นึ่งทั้งเมล็ด และข้าวหอมกุหลาบแดงซึ่งมีปริมาณอมิโลสต่ำ 13.90 เปอร์เซนต์ ทำให้ข้าวสุกจะมีลักษณะเหนียว ในการนำข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งเป็นข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง ท้องไข่น้อย มีปริมาณอมิโลส 15-19 เปอร์เซนต์ ซึ่งทำให้ข้าวสุกมีลักษณะ นุ่มเหนียว และมีกลิ่นหอมอ่อน (กรมการข้าว, 2560) มาใช้ประโยชน์เป็นแหล่งพันธุกรรมสำหรับงานปรับปรุงพันธุ์จึงมีความเหมาะสมเนื่องจากมีลักษณะที่ดีหลายประการดังกล่าวแล้ว สีเยื่อหุ้มเมล็ดของข้าวเกิดจากการสะสมรงควัตถุ โดยข้าวเมล็ดสีแดงและน้ำตาลเกิดจากการสะสมรงควัตถุโปรแอนโทไซยา-

นินดินที่เยื่อหุ้มเมล็ด ซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ ลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดอุดตันในสมอง (Itani and Ogawa, 2004) การสังเคราะห์โปรแอนโทไซยานินเกี่ยวข้องกับยีน 2 กลุ่ม คือ ยีนควบคุม และยีนโครงสร้าง ยีนควบคุมที่สำคัญเป็นรหัสของ transcription factor คือ ยีน Rc ประกอบด้วย 8 exon โดย exon ที่ 8 กำหนดรหัสของโปรตีนบริเวณ basic helix-loop-helix (bHLH) โปรตีนที่สังเคราะห์ได้จากยีน Rc เป็น transcription factor ที่อยู่ในกลุ่ม MYC-like protein มีหน้าที่ควบคุมการถอดรหัสของยีนโครงสร้างซึ่งจะถูกแปลรหัสให้เป็นเอนไซม์ และควบคุมให้เกิดการสะสมรงควัตถุในเยื่อหุ้มเมล็ด (pericarp) ของเมล็ดข้าวสีแดง ส่วนยีน rc ในข้าวขาว เกิดจากการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์จำนวน 14 คู่เบส (14-bp deletion) ทำให้เกิดรหัสหยุดก่อนกำหนดทำให้โปรตีนสายสั้นลงและไม่สามารถทำงานได้ (รอยพิมพ์ และคณะ, 2558) เนื่องจากข้าวเป็นพืชผสมตัวเอง ลักษณะทางพันธุกรรมจึงอยู่ในสภาพคงตัว (homozygosity) การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมตามธรรมชาติเกิดขึ้นได้ยากและต้องใช้เวลาอันยาวนาน วิธีที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมได้เร็วขึ้น คือ การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งเป็นการ

เปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมและสามารถถ่ายทอดไปยังชั่วต่อไปได้ การใช้รังสีแกมมาเพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้เกิดลักษณะที่แปลกใหม่ เป็นการเพิ่มความหลากหลายของพันธุกรรม และมีโอกาสคัดเลือกลักษณะที่ดี (อรุณี, 2550; พิรณช, 2553) จึงเป็นที่มาของการปรับปรุงพันธุ์ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ให้มีสีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีแดงโดยการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันเพื่อชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคและสอดคล้องกับแนวโน้มการบริโภคที่กำลังเปลี่ยนไปในขณะนี้ รวมถึงเป็นแนวทางในการใช้รังสีแกมมาเพื่อปรับปรุงข้าวพันธุ์อื่น ๆ ต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 อุปกรณ์

2.1.1 เมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

2.1.2 เครื่องฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน (acute gamma irradiation) รุ่น Mark-I (Cesium-137)

2.1.3 กระบอสำหรับการฉายรังสีขนาด 5 x 5.5 นิ้ว

2.1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบปริมาณอมิโอส ได้แก่ spectrophotometer

2.2 วิธีการ

2.2.1 การทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ก่อนนำไปฉายรังสี

นำเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์ปทุมธานี 1 มาเพาะลงในจานพลาสติก (petri dish) จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 100 เมล็ด บันทึกจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติเมื่อครบ 14 วันหลังเพาะเมล็ด แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอก ดังนี้

เปอร์เซ็นต์ความงอก = (จำนวนต้นเมล็ดที่งอก ÷ จำนวนเมล็ดที่เพาะทั้งหมด) × 100

2.2.2 การตรวจสอบปริมาณรังสีแกมมา

แบบเฉียบพลันในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นกล้าข้าว

นำเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์ปทุมธานี 1 จำนวน 12,096 เมล็ด ไปฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่ปริมาณรังสี 220 gray ซึ่งเป็นปริมาณรังสีที่เหมาะสมสำหรับการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในข้าว ตามรายงานของ ธนพร และคณะ (2560) ที่ได้ทดลองเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (LD₅₀) ของข้าวไว้ โดยมี ¹³⁷Cs เป็นต้นกำเนิดรังสีได้เป็นเมล็ดข้าวที่ M₁ หลังจากนั้นนำมาเพาะลงในกระบะปลูกข้าว จนกระทั่งข้าวมีอายุครบ 30 วัน บันทึกจำนวนต้นกล้าที่รอดชีวิตเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ไม่ได้รับการฉายรังสี แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ดังนี้

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต = (จำนวนต้นกล้าที่รอดชีวิต ÷ จำนวนต้นกล้าทั้งหมด) × 100

2.2.3 การปลูกและคัดเลือกลักษณะการกลายพันธุ์ของสีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 หลังจากการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลัน

นำเมล็ดข้าวที่ M₂ มาปลูกทดสอบในแปลง โดยวางแผนการทดลองแบบ (randomized complete block design, RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ และปลูกสายพันธุ์ละ 10 ต้น เมื่อต้นข้าวอยู่ในระยะสุกแก่จึงเก็บเกี่ยวและกะเทาะเปลือกเมล็ดออกเพื่อคัดเลือกลักษณะการกลายพันธุ์ของสีเยื่อหุ้มเมล็ด

2.2.4 การตรวจสอบปริมาณอมิโอสในเมล็ดข้าว

วิเคราะห์หาปริมาณอมิโอส (AC, amylose content) ในเมล็ดข้าวสารโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Juliano (1971) ดังนี้

(1) บดเมล็ดข้าวสารให้ละเอียดจนเป็นแป้งข้าว เมื่อได้แป้งข้าวแล้วชั่งแป้งข้าว 20 มิลลิกรัม ใส่หลอดทดลองขนาดกลาง

(2) เติมนิเตรตความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่าเบา ๆ แล้วเติมนิเตรตโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ

(3) นำไปต้มในน้ำเดือดประมาณ 30 นาที จนน้ำแข็งเริ่มจับตัวเป็นเจลใส ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าให้สารละลายเข้ากัน

(4) นำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองทดลองขนาดกลาง เติมน้ำ

กลั่นให้ได้ปริมาตรประมาณ 10 มิลลิลิตร ลงไปก่อน แล้วเติมกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร

(5) เติมนิเตรตไอโอดีน 400 ไมโครลิตร จากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 20 นาที

(6) ทำเช่นเดียวกันนี้แต่ไม่ใส่สารตัวอย่างเพื่อใช้เป็นแบล็ก (blank) วัดความเข้มข้นของสารละลายโดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณอมิเลส

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 กับสายพันธุ์กลายโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดเอสเอสอาร์

Marker	Primer sequence	
	Forward primer	Reverse primer
RM495	AATCCAAGGTGCAGAGATGG	CAACGATGACGAACACAACC
RM414	ATTGCAGTCATGCAGCAGTC	ATATCTCCAATGTGGCAGGG
RM300	GCTTAAGGACTTCTGCGAACC	CAACAGCGATCCACATCATC
RM208	TCTGCAAGCCTTGTCTGATG	TAAGTCGATCATTGTGTGGACC
RM55	CCGTCGCCGTAGTAGAGAAG	TCCCGGTTATTTTAAGGCG
RM518	CTCTTCACTCACTCACCATGG	ATCCATCTGGAGCAAGCAAC
RM317	CATACTTACCAGTTCACCGCC	CTGGAGAGTGTGAGCTAGTTGA
RM5994	CAGGCACTGCAGCATGTC	AGGCTCGGCGAGATATTCTC
RM510	AACCGGATTAGTTTCTCGCC	TGAGGACGACGAGCAGATTC
RM5371	GGCTAGCTTTAGCTGCGTTG	ACCCAGATCGAAACAACCTGC
RM295	CGAGACGAGCATCGGATAAG	GATCTGGTGGAGGGGAGG
RM6650	AGCAGTCTCTGTTGCGCG	GACGACGACGACGATGACG
RM38	ACGAGCTCTCGATCAGCCTA	TCGGTCTCCATGTCCCAC
RM444	GCTCCACCTGCTTAAGCATC	TGAAGACCATGTTCTGCAGG
RM205	CTGGTTCTGTATGGGAGCAG	CTGGCCCTTCAGTTTTCAGTG
RM7217	TTTGTAGGATGACACGTGGC	CGGGATTTTCAGTACCTCACG
RM484	TCTCCCTCCTCACCATTGTC	TGCTGCCCTCTCTCTCTCTC
RM479	CCCCTTGCTAGCTTTTGGTC	CCATACCTCTTCTCCTCCCC
RM209	ATATGAGTTGCTGTCGTGCG	CAACTTGCATCCTCCCCTCC
RM3739	AGTTGCGCAGCTAATCGATC	AAGATCCAACGGGTTCTGTG

2.2.5 การตรวจสอบความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของข้าวสายพันธุ์กลายกับพันธุ์ปทุมธานี 1

ตรวจสอบความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของข้าวสายพันธุ์กลายกับพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดเอสเอสอาร์ จำนวน 20 ไพรเมอร์ (ตารางที่ 1) โดยใช้ชุด Phire®Plant Direct PCR Kit เป็นชุดสำเร็จรูปที่สามารถทำ PCR ได้โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอก่อน (Benbouza et al., 2006)

2.2.6 การศึกษาลักษณะการกระจายตัวของเมล็ดข้าวในประชากรข้าว M_3

นำเมล็ดข้าวข้าว M_2 ที่คัดเลือกลักษณะของสีเยื่อหุ้มเมล็ดได้แล้ว มาปลูกและนำเมล็ดที่ได้จากต้นข้าวข้าว M_2 มาแกะเปลือกเมล็ดออกเพื่อศึกษาลักษณะของสีเยื่อหุ้มเมล็ด หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์หาอัตราส่วนการกระจายตัวของลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดด้วยการทดสอบไค-สแควร์ (Chi-square test)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ก่อนนำไปฉายรังสี

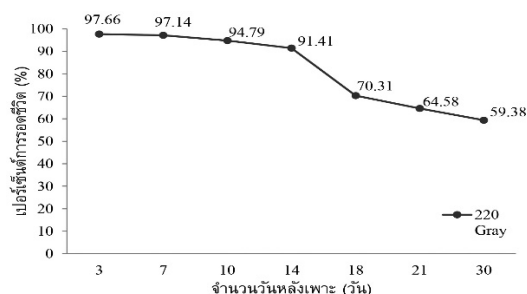
การทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ก่อนนำไปฉายรังสี พบว่ามีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกที่อายุ 14 วันหลังเพาะ 91 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) ซึ่งถือว่าผ่านมาตรฐานความงอกปกติของข้าว คือ 80 เปอร์เซ็นต์ (ราชกิจจานุเบกษา, 2556) จึงนำเมล็ดพันธุ์ชุดนี้ไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2 ผลของปริมาณรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นกล้าข้าว

รายงานของ ธนพร และคณะ (2560) ได้ทดลองเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (LD_{50}) ในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และ CH1 พบว่าที่ปริมาณรังสี 210 และ 220 gray ทำให้ข้าวมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่การทดลองครั้งนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นข้าวที่ M_1 ที่อายุ 30 วันหลังเพาะ คือ 59.38 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 1) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 มีการตอบสนองต่อรังสีแกมมาต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานก่อนหน้านี้ของพันธุ์อื่น ๆ

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่อายุ 14 วันหลังเพาะ

ซ้ำที่	เปอร์เซ็นต์ความงอก
1	91
2	90
3	92
ค่าเฉลี่ย	91



รูปที่ 1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้น M_1 ที่อายุ 30 วันหลังเพาะ

3.3 ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันที่มีต่อลักษณะการกลายพันธุ์ของสีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

หลังจากแกะเปลือกเมล็ดข้าวที่ M_2 ที่ได้จากต้นข้าวที่ M_1 พบการกลายพันธุ์ของลักษณะ

เมล็ด 2 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงในข้าวสายพันธุ์ R684 และ R2535 (รูปที่ 2 และ 3) และลักษณะเมล็ดสีขาวขุ่นในข้าวสายพันธุ์ L211 (รูปที่ 4) จากการรายงานของ Steven *et al.* (2008) พบการกลายพันธุ์จากข้าวเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวที่ถูกควบคุมโดยยีน *rc* ซึ่งเกิดจากการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ 14 คู่เบส ทำให้เกิดรหัสหยุดก่อนกำหนดทำให้โปรตีนสายสั้นลงและไม่สามารถทำงานได้ไปเป็นข้าวเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงโดย exon ที่ 8 ที่กำหนดรหัสของโปรตีนบริเวณ basic helix-loop-helix (bHLH) ซึ่งโปรตีนที่สังเคราะห์ได้จากยีน *Rc* นี้มีหน้าที่ควบคุมการถอดรหัสของยีนโครงสร้าง ซึ่งจะถูกแปลรหัสให้เป็นเอนไซม์ และควบคุมให้เกิดการสะสมรงควัตถุในเยื่อหุ้มเมล็ด แสดงให้เห็นว่าการกลายพันธุ์ของลักษณะเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวไปเป็นเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงเป็นการกลายพันธุ์จากยีนด้อยไปเป็นยีนเด่น

3.4 ปริมาณอมิโลสในเมล็ดข้าวสายพันธุ์กลาย

เมื่อตรวจสอบปริมาณอมิโลสในข้าวสายพันธุ์กลายทั้ง 3 สายพันธุ์ และเปรียบเทียบกับพันธุ์ปทุมธานี 1 พบว่าข้าวเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงสายพันธุ์ R684 และ R2535 มีปริมาณอมิโลส 16.76 และ 17.53 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งมีปริมาณอมิโลส 17.28 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในข้าวเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวขุ่นสายพันธุ์ L211 มีปริมาณอมิโลส 13.05 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ L211 มีปริมาณอมิโลสต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งทั้ง 3 สายพันธุ์ จัดอยู่ในกลุ่มข้าวที่มีปริมาณอมิโลสต่ำเช่นเดียวกับพันธุ์ปทุมธานี

3.5 ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของข้าวสายพันธุ์กลายกับพันธุ์ปทุมธานี 1

การตรวจสอบความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของข้าวสายพันธุ์กลายทั้ง 3 สายพันธุ์

กับพันธุ์ปทุมธานี 1 โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด เอสเอสอาร์ พบว่าสายพันธุ์ R684, R2535 และ L211 มีความคล้ายคลึงกับพันธุ์ปทุมธานี 1 คิดเป็น 85, 95 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)



รูปที่ 2 ลักษณะเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงของสายพันธุ์ R684 เปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1



รูปที่ 3 ลักษณะเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงของสายพันธุ์ R2535 เปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1



รูปที่ 4 ลักษณะเมล็ดสีขาวขุ่นของสายพันธุ์ L211 เปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

ตารางที่ 3 ปริมาณและประเภทอมิโลสของข้าวสายพันธุ์กลายทั้ง 3 สายพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

พันธุ์/สายพันธุ์	ปริมาณอมิโลส (%)	ประเภทอมิโลส
ปทุมธานี 1	17.28	ต่ำ
R684 (เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง)	16.76	ต่ำ
R2535 (เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง)	17.53	ต่ำ
L211 (เยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวขุ่น)	13.05	ต่ำ

ตารางที่ 4 ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรมของสายพันธุ์กลายเปรียบเทียบกับพันธุ์ปทุมธานี 1

สายพันธุ์	ความคล้ายคลึงทางพันธุกรรม (%)
R684 (เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง)	85
R2535 (เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง)	95
L211 (เมล็ดสีขาวขุ่น)	75

3.6 การกระจายตัวของเมล็ดข้าวในประชากรข้าว M_3

การศึกษาการกระจายตัวของลักษณะเมล็ดข้าวในประชากรข้าว M_3 ในสายพันธุ์ R684 และ R2535 พบว่าสายพันธุ์ R684 มีการกระจายตัวของลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ด 2 ลักษณะ ได้แก่ เยื่อหุ้ม

เมล็ดสีแดงจำนวน 23 ต้น กับเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวจำนวน 6 ต้น และสายพันธุ์ R2535 มีการกระจายตัวของเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงจำนวน 21 ต้น กับเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวจำนวน 7 ต้น เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างต้นที่มีลักษณะเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงกับต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว พบว่ามีอัตราส่วนเท่ากับ 3:1 ทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยมีไค-สแควร์เป็น 0.288 และ 0.00 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จึงยอมรับอัตราส่วนดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงนั้นเป็นยีนเด่นที่ควบคุมลักษณะเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวไว้ หรืออาจกล่าวได้ว่าพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงถูกควบคุมด้วยยีน 1 ตำแหน่ง ส่วนสายพันธุ์ L211 มีการกระจายตัวของลักษณะเมล็ด 2 ลักษณะ ได้แก่ เมล็ดขาวขุ่นจำนวน 22 ต้น กับเมล็ดขาวใสจำนวน 4 ต้น เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างต้นที่มีลักษณะเมล็ดขาวขุ่นกับต้นที่มีเมล็ดขาวใส พบว่ามีอัตราส่วนเท่ากับ 3:1 โดยมีค่าไค-สแควร์เป็น 0.92 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จึงยอมรับอัตราส่วนดังกล่าว (ตารางที่ 5) แสดงให้เห็นว่าพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะเมล็ดขาวขุ่นนั้นเป็นยีนเด่นที่ควบคุมลักษณะเมล็ดขาวใสไว้ หรืออาจกล่าวได้ว่าพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะเมล็ดขาวขุ่นถูกควบคุมด้วยยีน 1 ตำแหน่ง

ตารางที่ 5 การกระจายตัวของลักษณะเมล็ดข้าวในประชากรข้าว M_3 ในสายพันธุ์ R684 R2535 และ L211

สายพันธุ์	จำนวนต้นที่มีลักษณะต่าง ๆ				รวม	$\chi^2 (3:1)$
	เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง	เยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว	เมล็ดขาวขุ่น	เมล็ดขาวใส		
R684	23	6			29	0.288 ^{ns}
R2535	21	7			28	0.00 ^{ns}
L211			22	4	28	0.92 ^{ns}

4. สรุป

ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 มีอัตราการรอดชีวิต 59.38 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือว่าการตอบสนองต่อรังสีแกมมาต่ำเมื่อเทียบกับรายงานก่อนหน้าของพันธุ์อื่น ๆ การฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันในข้าวไม่สามารถคาดเดาทิศทางที่จะเกิดขึ้นได้แต่สุดท้ายทำให้ได้มาซึ่งข้าวเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงสายพันธุ์กลายขึ้นมาใหม่ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เป็นไปตามแนวโน้มความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น ซึ่งข้าวเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงและข้าวเมล็ดขาวุ่นเกิดจากการกลายพันธุ์จากยีนด้อยไปเป็นยีนเด่น

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนงานวิจัยนี้

6. รายการอ้างอิง

- กรมการข้าว, องค์ความรู้เรื่องข้าว, แหล่งที่มา : <http://www.brrd.in.th/rkb/Varieties>, 13 มิถุนายน 2560.
- ชนพร อัมมดาหลี, ประภา ศรีพิจิตร และธานี ศรีวงศ์ชัย, 2560, ผลของรังสีแกมมาต่อความงอกของเมล็ด ความรอดชีวิตของต้นกล้า และความเป็นหมันของละอองเกสรตัวผู้ในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และ CH1, น.119-125, ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พินุช จอมพุก, 2553, เทคโนโลยีนิวเคลียร์กับการเกษตร, ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- รอยพิมพ์ สุขเกษม, แสงทอง พงษ์เจริญกิจ, ศรีเมฆ ชาวโพพาง, วราภรณ์ แสงทอง, ยุพเยาว์ คบพิมาย และช่อทิพา สกุลสิงหาโรจน์, 2558, การขาดหายของนิวคลีโอไทด์ 14 คู่เบส ในยีน *Rc* ทำให้เกิดการกลายพันธุ์แบบเฟรมชิฟท์ในข้าวขาวและดำ, น. 282-288. ใน การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 19, มหาวิทยาลัยขอนแก่นและสมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย, ขอนแก่น.
- ราชกิจจานุเบกษา, 2556, ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 130 ตอนพิเศษที่ 58 ง, หน้า 26.
- อรุณี วงศ์ปิยะสกลิต, 2550, การกลายพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Benbouza, H., Jacquemin, J.M., Baudoin, J.P. and Mergeai, G., 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 10: 77-81.
- Itani, T. and Ogawa, M., 2004, History and recent trends of red rice in Japan, *Jap. J. Crop Sci.* 73: 137-147.
- Juliano, B.O., 1985, Criteria and Tests for Rice Grain Qualities, pp. 443-524, In Juliano, B.O. (Ed.), *Rice Chemistry and Technology*, The American Association of Cereal Chemists, St. Paul.
- Steven, B., Wengui, Y., Aaron, J. and Christopher, D., 2008. A natural mutation in *rc* reverts white-rice-pericarp to red and results in a new, dominant, wild-type allele: *Rc-g*. *Theor. Appl. Genet.* 117: 575-580.