

การปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มสารแอนโทไซยานิน ในเมล็ดข้าวโพดหวานลูกผสม

Breeding for Increase Anthocyanin in the Kernel of Sweet Corn Hybrid

ชฎามาศ จิตต์เลขา และชูศักดิ์ จอมพุท*

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Chadamas Jitlaka and Choosak Jompuk*

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University,
Kamphaeng Saen Campus, Kamphaeng Saen, Nakon Pathom, 73140

Krisada Samphantharak

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus,
Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

Received: August 9, 2019; Accepted: August 22, 2019

บทคัดย่อ

ยีนที่ควบคุมลักษณะความหวาน (*shrunken-2*, *sh₂sh₂*) ยีนควบคุมลักษณะสีม่วง (*purple*, *Pr₁Pr₁*) และยีนที่ทำให้เกิดสี (*color*, *C₁C₁*) ในข้าวโพดยูนโครโมโซมที่ 3, 5 และ 9 ตามลำดับ ถ้า 3 ยีน รวมอยู่ในข้าวโพดพันธุ์เดียวกัน และการแสดงออกของแต่ละยีนเป็นปกติจะก่อให้เกิดสารแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นที่เปลือกหุ้มเมล็ดข้าวโพดหวาน ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อรวมยีนควบคุมลักษณะสีม่วงจากข้าวโพดข้าวเหนียวโอเพกทูสีม่วงมาไว้ในข้าวโพดหวาน โดยการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงกับสายพันธุ์แท้ข้าวโพดหวานได้ลูกผสมชั่วที่ 1 (*F₁*) จากสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 (*S₂*) คัดเลือกเฉพาะเมล็ดเหี่ยวย่น (*wrinkle*) ที่มีสีม่วงหรือสีแดงเพื่อนำไปปลูกและผสมตัวเองเป็นสายพันธุ์ข้าวโพดหวานชั่วที่ 3 (*S₃*) จากนั้นคัดเลือกเฉพาะสายพันธุ์ที่มีเมล็ดสีม่วงผสมตัวเองต่อเนื่องจนถึงชั่วที่ 6 (*S₆*) แล้วคัดเลือก 9 สายพันธุ์ มาผสมพันธุ์แบบทอปครอส (*topcross*) โดยใช้พันธุ์แม่ 8 สายพันธุ์ และพันธุ์พ่อ 1 สายพันธุ์ ได้ลูกผสมเดี่ยว 8 คู่ผสม ผลการทดสอบผลผลิตลูกผสมพบว่าเมล็ดลูกผสมทดสอบมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (182-460 mg/g) น้ำตาลนอกรีต (174-451 mg/g) และปริมาณสารแอนโทไซยานิน (131-141 mg/100g) ในเมล็ดสูง ทุกคู่ผสมมีเมล็ดสีม่วงและมีคุณภาพการรับประทานดี นอกจากนี้สารแอนโทไซ

ยาลินโนเมล็ดลูกผสมทดสอบมีปริมาณสูงกว่าข้าวโพดหวานพันธุ์ร่วมทดสอบทั้งเมล็ดสีม่วง (71 mg/100 g) และเมล็ดสีเหลือง (5 mg/100 g) กลุ่มผสม Ag-PS3 x Ag-PS9 และ Ag-PS7 x Ag-PS9 มีน้ำหนักฝักสด ปริมาณ น้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลนอกรีดิวซ์ ในระดับเดียวกับพันธุ์ลูกผสมร่วมทดสอบ คือ พันธุ์อินทรี 2 และพันธุ์ PAC12081A โดยสรุปแล้วการรวม 2 ลักษณะทางคุณภาพของเมล็ด คือ สีม่วงของเปลือกหุ้มเมล็ด ($Pr_1Pr_1C_1C_1$) กับความหวานในเมล็ด (sh_2sh_2) เป็นข้าวโพดหวานสีม่วงประสบความสำเร็จทั้งในสายพันธุ์แท้ และลูกผสมเดี่ยว ซึ่งสามารถเพิ่มคุณค่าทางอาหารของข้าวโพดหวาน

คำสำคัญ : การปรับปรุงพันธุ์; ข้าวโพดหวาน; แอนโทไซยานิน

Abstract

The *shrunk-2* (sh_2sh_2), purple (Pr_1Pr_1) and color (C_1C_1) genes of corn are located on chromosomes 3, 5 and 9, respectively. If these three genes are combined into a plant and the expression of them is positive, reflecting an increase in anthocyanin in the kernel of sweet corn, it would be more beneficial for consumer health. The objective of this study was to integrate the purple from purple *opaque-2* waxy corn into sweet corn. The purple waxy corn was crossed with sweet corn inbred lines to obtain F_1 hybrids. In the segregation of S_2 progenies, only the purple or red wrinkled kernels were selected and planted to obtain the fixed *shrunk-2* gene in S_3 lines. Only purple lines were advanced to the next generations by self-pollination until the S_6 lines. Eight single cross hybrids were produced using topcross design of 8 female x 1 male parents. From yield trial of hybrids, the results showed that tested hybrids had high total sugar (182-460 mg/g), non-reducing sugar (174-451 mg/g), and total anthocyanin content (131-141 mg/100g) in the kernels. All hybrids had a purple kernel with good flavor. In addition, the anthocyanin in the tested hybrids was higher than that of the purple check (71 mg/100g) and the yellow check (5 mg/100g). The crosses of Ag-PS3 x Ag-PS9 and Ag-PS7 x Ag-PS9 had the same fresh ear weight, total sugar, and non-reducing sugar as check varieties, Insee 2 and PAC12081A. In summary, the combination of two grain quality traits, purple aleurone layer ($Pr_1Pr_1C_1C_1$) and sweetness (sh_2sh_2), referred to the purple sweet corn was fully achieved by inbred lines and their F_1 hybrids improving the food value of this specialty corn.

Keywords: breeding; sweet corn; anthocyanin

1. คำนำ

ข้าวโพดหวาน (*Zea mays* L. *saccharata*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญพืชหนึ่งของประเทศไทย มีคุณค่าทางอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ และเป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภคในการบริโภคฝักสด นอกจากนี้ยังสามารถแปรรูปเป็นเมล็ดข้าวโพด

บรรจุกระป๋อง (canned whole kernel) เมล็ดยืด ข้าวโพดหวานแช่แข็ง (frozen whole kernel) ครีม ข้าวโพด (cream style corn) และข้าวโพดบรรจุทั้งฝัก (corn on the cob) ประเทศไทยนิยมปลูกข้าวโพดหวานลูกผสมเดี่ยวที่ควบคุมด้วยยีน *shrunk-2* (sh_2) ซึ่งเป็นยีนด้อย (recessive gene)

อยู่บนโครโมโซมที่ 3 ส่งผลให้ข้าวโพดมีรสชาติหวานมาก เนื่องจากการสะสมน้ำตาลซูโครสและเมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตฝักสดแล้ว ยังสามารถคงความหวานและความชื้นในเมล็ดได้ยาวนานกว่ายีนข้าวโพดหวานชนิดอื่น ๆ (Creech, 1965) ประเทศไทยมีการใช้ประโยชน์จากข้าวโพดหวานสีเหลืองที่ควบคุมด้วยยีน *shrunk-2* เพื่อบริโภคฝักสดและการแปรรูปมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ นอกจากความหวานซึ่งเป็นลักษณะคุณภาพที่มีความสำคัญสำหรับข้าวโพดหวานแล้ว ลักษณะสีของเยื่อหุ้มเมล็ด (aleurone layer) ก็เป็นอีกลักษณะที่ได้รับความสนใจมากขึ้นในตลาดข้าวโพดหวาน (Brewbaker and Martin, 2015) อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันมีข้าวโพดสีม่วงที่เกิดจากการสะสมสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ในส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (Li *et al.*, 2011) สารแอนโทไซยานิน มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยสามารถป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ ลดและยังยั้งการเกิดมะเร็ง (Cevallos-Casals and Cisneros-Zevallos, 2003; Li *et al.*, 2011) แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุทางธรรมชาติที่พบได้ในดอกไม้และผลไม้บางชนิดที่มีสีส้ม ชมพู แดง ม่วง หรือสีน้ำเงิน (Castaneda-Ovando *et al.*, 2009) ยีนที่ควบคุมลักษณะสีม่วง (Pr_1Pr_1) ในข้าวโพดอยู่บนโครโมโซมที่ 5 ทำงานร่วมกับยีนที่ทำให้เกิดสี (C_1C_1) อยู่บนโครโมโซมที่ 9 ส่งผลให้มีการผลิตสารแอนโทไซยานิน ในทางตรงข้ามหากถูกควบคุมด้วยยีนด้อย (c_1c_1) จะไม่มีการสร้างสารแอนโทไซยานินในเปลือกหุ้มเมล็ด (Rosemary, 2000) ยีนควบคุมความหวาน (sh_2sh_2) ยีนควบคุมลักษณะเมล็ดสีม่วง (Pr_1Pr_1) และยีนควบคุมการเกิดสี (C_1C_1) เป็นยีนที่อยู่ต่างโครโมโซมกัน ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดหวานโดยการรวมทั้ง 3 ยีน เข้าด้วยกัน และมีการแสดงออกของแต่ละยีนได้ตามปกติ คือ มีการสร้างสารแอนโทไซ

ยานินและมีการสะสมน้ำตาลซูโครสที่เมล็ดข้าวโพดดังกล่าวนี้จะมีคุณค่าทางอาหารที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้บริโภค การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงลูกผสมเดี่ยว (single cross hybrid) ให้มีสารแอนโทไซยานินในเมล็ดสูง มีความหวาน และคุณภาพการรับประทานที่ดี

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงและการสร้างลูกผสมเดี่ยว

2.1.1 การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วง

ผสมพันธุ์ระหว่างข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง (purple waxy corn, PWx) กับสายพันธุ์ข้าวโพดหวานสีเหลือง (yellow sweet corn, YSC) ที่ควบคุมด้วยยีน *shrunk 2* (sh_2sh_2) ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1 hybrid) ปลูกและผสมตัวเองเป็นสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1) จากนั้นคัดเลือกข้าวโพดหวานที่มีเมล็ดสีม่วงแล้วผสมตัวเองต่อเนื่องไป 4 ชั่ว (generation) จนได้สายพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงผสมตัวเองชั่วที่ 5 (S_5)

2.1.2 การสร้างลูกผสมเดี่ยวข้าวโพดหวานสีม่วง

คัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดหวานสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 5 (S_5) ที่เมล็ดมีสีม่วง แล้วผสมตัวเองอีก 1 ครั้ง ได้สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 (S_6) จำนวน 9 สายพันธุ์ คือ Ag-PS1, Ag-PS2, Ag-PS3, Ag-PS4, Ag-PS5, Ag-PS6, Ag-PS7, Ag-PS8 และ Ag-PS9 แล้วผสมพันธุ์แบบ topcross โดยใช้สายพันธุ์ Ag-PS1 ถึง Ag-PS8 เป็นพันธุ์แม่ และใช้สายพันธุ์ Ag-PS9 เป็นพันธุ์พ่อ ได้ลูกผสมจำนวน 8 คู่ผสม คือ Ag-PS1 x Ag-PS9, Ag-PS2 x Ag-PS9, Ag-PS3 x Ag-PS9, Ag-PS4 x Ag-PS9, Ag-PS5 x Ag-PS9, Ag-PS6 x Ag-PS9, Ag-PS7 x

Ag-PS9 และ Ag-PS8xAg-PS9 เพื่อนำลูกผสมเดี่ยวไปปลูกทดสอบผลผลิตและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเมล็ด

2.2 ปลูกทดสอบผลผลิตข้าวโพดหวานลูกผสมเดี่ยว

ปลูกทดสอบผลผลิตข้าวโพดหวานสีม่วงลูกผสมเดี่ยวจำนวน 8 คู่ผสม และพันธุ์ข้าวโพดหวานลูกผสมเดี่ยวรวมทดสอบ 2 พันธุ์ คือ ข้าวโพดหวานสีเหลืองพันธุ์อินทรี 2 (Insee 2) จากศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และข้าวโพดหวานสีม่วงพันธุ์ PAC12081A จาก บริษัท แปซิฟิก เมล็ดพันธุ์ จำกัด วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ ขนาดแปลงย่อย (plot size) แกวยาว 5 เมตร จำนวน 4 แถว ระยะปลูก 0.75x0.25 ตารางเมตร ปลูก 2 เมล็ด/หลุม เมื่อข้าวโพดอายุ 14 วันถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น/หลุม ใส่ปุ๋ยรองพื้น 15-15-15 ปริมาณ 25 กก./ไร่ ใส่พร้อมกับการยกร่อง และใส่ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ปริมาณ 30 กก./ไร่ เมื่อข้าวโพดอายุ 21 วัน ให้น้ำแบบสปริงเกอร์ (sprinkler) จำนวน 4 ครั้ง ในช่วง 3 สัปดาห์แรกหลังปลูก หลังจากนั้นให้น้ำแบบตามร่องปลูก (furrow irrigation) ประมาณ 30 มม./ครั้ง ทุก ๆ สัปดาห์ การเก็บเกี่ยวผลผลิตจะเก็บเมื่อข้าวโพดหวานมีอายุ 21 วันหลังการผสมเกสร การปลูกทดสอบผลผลิตทำในฤดูฝนปี พ.ศ. 2560 ที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอบางเขน จังหวัดนครราชสีมา บันทึกข้อมูลลักษณะทางการเกษตร ได้แก่ วันออกดอกตัวผู้ วันออกดอกตัวเมีย ความสูงต้นและความสูงฝัก ผลผลิตฝักทั้งเปลือก และผลผลิตฝักปอกเปลือก นอกจากนี้ได้ทดสอบความชอบของผู้บริโภค (flavor) ที่มีต่อข้าวโพดต้ม โดยการกั๊กชิมจากผู้ทดสอบ 3 คน แล้วให้คะแนนความชอบ การคำนวณ

ผลผลิตฝักทั้งเปลือก และผลผลิตฝักปอกเปลือกคำนวณได้ดังสมการ

$$\text{ผลผลิตฝักทั้งเปลือก (กก./ไร่)} = [\text{น้ำหนักฝักทั้งเปลือก (กก.)} \times 1,600 \text{ ม}^2] \div 7.875 \text{ ม}^2$$

$$\text{ผลผลิตฝักปอกเปลือก (กก./ไร่)} = [\text{น้ำหนักฝักปอกเปลือก (กก.)} \times 1,600 \text{ ม}^2] \div 7.875 \text{ ม}^2$$

2.3 วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินและความหวานในเมล็ด

การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินและปริมาณน้ำตาลในเมล็ด ได้แก่ น้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลนอกรีต ใช้ตัวอย่างข้าวโพดฝักสดที่อายุ 21 วันหลังการผสมเกสร

2.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ด

ทำตามวิธีของ Galicia และคณะ (2008) โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดสด 20 เมล็ด นำมาอบให้แห้งด้วย hot air oven ที่ 60 °C นาน 24 ชม. แล้วนำตัวอย่างแห้งมาบดตัวอย่างด้วยเครื่อง cyclone mill ให้มีขนาด 0.08 มิลลิเมตร ชั่งผงตัวอย่างปริมาณ 20 มิลลิกรัม (mg) เติม 1 % TFA (trifluoroacetic acid) ปริมาตร 1.3 มิลลิลิตร (mL) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 °C บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 90 นาที แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 14,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายสีทั้งหมดมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) นำส่วนที่เหลือมาสกัดซ้ำอีกครั้งเช่นเดียวกับการสกัดครั้งแรก แต่ใช้เวลาสกัด 60 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงเช่นเดียวกับการสกัดครั้งแรก นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ pelargonidin chloride เนื่องจากพันธูกรรมของข้าวโพดข้าวเหนียวที่นำมาใช้เป็นพันธุ์มี pelargonidin-3- glucoside เป็นองค์ประกอบหลัก แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์แอนโทไซยานิน

2.3.2 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) และน้ำตาลนอนรีดิทซ์ (non-reducing sugar)

ทำตามวิธีของ Nelson และคณะ (1979) โดยนำตัวอย่างเมล็ดสดมาบดด้วยโกร่งบดตัวอย่าง แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง นำสารละลายที่ผ่านการกรองเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C แล้วนำสารแขวนลอยที่ได้ไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 5 แล้วดูดสารละลาย 0.05 mL ใส่หลอดทดลองปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 15 มิลลิลิตร วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย D-glucose

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ของข้อมูลทำตามแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) โดยใช้โปรแกรม R statistics (R Core Team, 2019; ชูศักดิ์, 2555) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Least significant difference (LSD)

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 สายพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วง

เมื่อผสมพันธุ์ระหว่างข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง (purple waxy corn) กับพันธุ์ข้าวโพดหวานสีเหลือง (yellow sweet corn) ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1 hybrid) แล้วปลูกข้าวโพดลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) เพื่อผสมตัวเองได้สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1) นำเมล็ดที่ได้ไปปลูกแล้วผสมตัวเองได้สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 (S_2) ผักที่เก็บเกี่ยวได้มีทั้งที่มีเมล็ดสีเหลือง สีแดง และสีม่วง เลือกเฉพาะผักที่มีเมล็ดสีแดงและสีม่วง เมื่อเมล็ดสุกเสียความชื้นจนแห้งเมล็ดในแต่ละผักจะประกอบไปด้วยเมล็ดปกติ (normal kernel) และเมล็ดเหี่ยวย่น (wrinkle kernel) (รูปที่ 1) การคัดเลือกเมล็ดเหี่ยวย่นจากแต่ละผัก

เป็นการคัดเลือกยีน *shrunk-2* เนื่องจากยีน *shrunk-2* เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase) ที่มีผลต่อการสะสมแป้งในเอนโดสเปิร์ม (Thevenot *et al.*, 2005) ทำให้ข้าวโพดหวานมีน้ำตาลซูโครสมากกว่าข้าวโพดปกติถึง 3 เท่า (Creech, 1965) นอกจากนี้ยีน *shrunk-2* ยังสามารถสร้างน้ำตาลได้สูงและเก็บความหวานไว้ได้นานหลังการเก็บเกี่ยว (Garwood *et al.*, 1976) และเป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภค (Evensen and Boyer, 1986) ดังนั้นจึงเลือกเฉพาะเมล็ดเหี่ยวย่นเท่านั้นไปปลูกและใช้การผสมพันธุ์แบบผสมตัวเองเพื่อเพิ่มระดับความคงตัวของพันธุกรรม (homozygosity) จนถึงสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 5 (S_5) ถึงแม้ว่าในแต่ละชั่วของการผสมพันธุ์จะยังมีการกระจายตัวของสีเมล็ดอยู่บ้าง ดังนั้นการคัดเลือกในแต่ละชั่วได้คัดเลือกเฉพาะสายพันธุ์ที่เมล็ดมีสีม่วงเท่านั้น อย่างไรก็ตาม มีสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 3 (S_3) จำนวน 5 สายพันธุ์ ที่แสดงลักษณะเมล็ดสีม่วงทั้งหมด ตั้งแต่ชั่วที่ 3 จนถึงชั่วที่ 5 ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้ได้คัดเลือกและผสมตัวเองเป็นสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 จำนวน 9 สายพันธุ์ คือ Ag-PS1, Ag-PS2, Ag-PS3, Ag-PS4, Ag-PS5, Ag-PS6, Ag-PS7, Ag-PS8 และ Ag-PS9 โดยมีรายละเอียดของกลุ่มผสมเริ่มต้น (Original cross) ปริมาณน้ำตาล ปริมาณสารแอนโทไซยานินและสีเมล็ดดังตารางที่ 1

การแสดงออกของสีม่วงในเมล็ดข้าวโพดเกิดเนื่องจากยีนสีม่วง (Purple gene, Pr_1Pr_1) ทำงานร่วมกับยีนที่ทำให้เกิดสี (Color gene, C_1C_1) ส่งผลให้มีการผลิตสารแอนโทไซยานิน ในทางตรงข้ามถ้ายีนที่ทำให้เกิดสีควบคุมด้วยยีนด้อย (colorless gene, c_1c_1) จะไม่มีการสร้างสารแอนโทไซยานินในเปลือกหุ้มเมล็ด (Rosemary, 2000; Sharma, *et al.*, 2011) ดังนั้นถ้าสายพันธุ์ผสมตัวเองสายพันธุ์ใดมียีนที่ทำให้เกิดสีเป็นเฮเทอโรไซกัส (C_1c_1) การแสดงออกของ



Figure 1 S_2 generation (a) red and purple of wrinkle kernels, (b) red-purple of round and wrinkle kernels, and (c) purple of round and wrinkle kernels

Table 1 Kernel chemical composition and kernel color for S_6 lines of sweet corn grown at the National Corn and Sorghum Research Center

Lines	Original cross	Total sugar (mg/g)	Non reducing sugar (mg/g)	Anthocyanin (mg/100g)	Kernel color
Ag-PS1	YSC1 x PWx	353	267	345	Red
Ag-PS2	YSC1 x PWx	464	325	313	Red
Ag-PS3	YSC2 x PWx	430	339	264	Red
Ag-PS4	YSC2 x PWx	241	178	399	Red
Ag-PS5	YSC3 x PWx	223	173	390	Red
Ag-PS6	YSC3 x PWx	257	201	416	Red
Ag-PS7	YSC4 x PWx	311	259	419	Red
Ag-PS8	YSC4 x PWx	207	155	429	Red
Ag-PS9	YSC5 x PWx	307	245	402	Purple
F-test	-	**	**	**	-
$LSD_{(0.05)}$	-	36.17	37.61	64.41	-
$LSD_{(0.01)}$	-	50.74	52.72	90.3	-
CV (%)	-	5.26	8.89	10.42	-

- = not determined; * and ** significant at the 0.05 and 0.01 levels, respectively

Table 2 Means of ear yield with husk (EwH), ear yield without husk (EwoH), relative to ear yield with husk of check (RE. to Chk.), day to flowering of male and female, plant and ear heights, and flavor

Hybrids	Yield (kg/rai)		RE. to Chk. (%)	Day to flowering (d)		Height (cm)		Flavor (1-5) ^{1/}
	EwH	EwoH		Male	Female	Plant	Ear	
Ag-PS1 x Ag-PS9	2,062	1,539	121	53	53	175	92	3
Ag-PS2 x Ag-PS9	2,560	1,580	124	47	47	164	90	4
Ag-PS3 x Ag-PS9	2,147	1,531	121	48	48	156	81	4
Ag-PS4 x Ag-PS9	2,428	1,727	136	52	52	204	115	4
Ag-PS5 x Ag-PS9	2,303	1,639	129	51	51	167	96	4
Ag-PS6 x Ag-PS9	2,291	1,737	137	50	50	155	84	3
Ag-PS7 x Ag-PS9	2,184	1,554	122	51	51	171	86	4
Ag-PS8 x Ag-PS9	2,276	1,681	132	49	49	175	91	4
Insee 2 (Chk. 1)	2,337	1,453	114	49	49	158	97	4
PAC12081A (Chk. 2)	1,986	1,270	100	53	53	179	89	4
Mean	2,257	1,571	-	50	50	170	92	4
F-test	ns	**	-	*	*	**	**	ns
LSD _{0.05}	-	217	-	3.7	3.7	6.89	6.4	-
LSD _{0.01}	-	294	-	-	-	9.32	8.65	-
C.V. (%)	10.01	9.49	-	5.07	5.07	2.77	4.79	16.1

- = not determine; ns = non-significant difference ($p > 0.05$); * = significant difference ($p < 0.05$); ** = highly significant difference ($p < 0.01$); ^{1/} = (1 is poor, and 5 is best)

สายพันธุ์ในรุ่นลูกสามารถเป็นไปได้อันที่มีสีม่วงและไม่มีสีม่วงเกิดขึ้นที่ส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดทำให้เห็นเมล็ดเป็นสีม่วงจากการผลิตสารแอนโทไซยานินหรือเห็นเมล็ดเป็นสีเหลืองเนื่องจากไม่มีการผลิตสารแอนโทไซยานิน สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้นำมาผสมพันธุ์แบบ topcross ได้ลูกผสมเดี่ยวจำนวน 8 คู่ผสม คือ Ag-PS1 x Ag-PS9, Ag-PS2 x Ag-PS9, Ag-PS3 x Ag-PS9, Ag-PS4 x Ag-PS9, Ag-PS5 x Ag-PS9, Ag-PS6 x Ag-PS9, Ag-PS7 x Ag-PS9 และ Ag-PS8 x Ag-PS9 โดยใช้สายพันธุ์ที่มีความสูงและมีละอองเกสรตัวผู้มากเป็นสายพันธุ์พ่อ นอกจากนี้ยังเป็นสายพันธุ์ที่มาจากต่างคู่ผสมกันกับสายพันธุ์แม่ (ตารางที่ 1)

3.2 ผลผลิตข้าวโพดหวานลูกผสม

การปลูกเปรียบเทียบผลผลิตข้าวโพดหวานลูกผสมสีม่วงพบว่าผลผลิตฝักสดเปลือกเปลือก (ear without husk, EwoH) และลักษณะทางการเกษตร ได้แก่ วันออกดอกตัวผู้ วันออกดอกตัวเมีย ความสูงต้น และความสูงฝัก มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ยกเว้นผลผลิตฝักสดทั้งเปลือก (ear with husk, EwH) และความชอบของผู้บริโภค (flavor) ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 2) ผลผลิตฝักสดทั้งเปลือกของข้าวโพดหวานสีม่วงพันธุ์ทดสอบมีค่าเฉลี่ย 2,062-2,560 กก./ไร่ และไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์เปรียบเทียบทั้งพันธุ์อินทรี 2 (2,337 กก./ไร่) และ

พันธุ์ PAC12081A (1,986 กก./ไร่) ขณะที่ผลผลิตฝักสดปอกเปลือกมีค่าเฉลี่ย 1,531-1,731 กก./ไร่ และทุกกลุ่มผสมทดสอบมีผลผลิตฝักสดปอกเปลือกดีกว่าข้าวโพดหวานสีม่วงพันธุ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ PAC12081A (1,270 กก./ไร่) คิดเป็น 121-137 เปอร์เซ็นต์ และทุกกลุ่มผสมมีเมล็ดสีม่วง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าทุกกลุ่มผสมมีระดับผลผลิตอยู่ในเกณฑ์ดีและแข่งขันกับพันธุ์การค้าได้ นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Ag-PS9 ที่ใช้เป็นพันธุ์พ่อแม่พันธุ์กรรมที่แตกต่างจากสายพันธุ์แม่ทุกสายพันธุ์ (Ag-PS1 ถึง Ag-PS8) ผลของความแตกต่างทางพันธุกรรมอาจเป็นผลมาจากการผสมข้ามระหว่างข้าวโพดหวานกับข้าวโพดข้าวเหนียว ซึ่งมีรายงานการทดลองก่อนหน้านี้ที่ผสมระหว่างข้าวโพดหวานกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (field maize) เพื่อใช้ในการพัฒนาพันธุ์กรรมข้าวโพดหวาน (Tracy, 2001; Abe *et al.*, 2019) นอกจากนี้ ยังชี้ให้เห็นว่ายีนควบคุมลักษณะเมล็ดสีม่วง (*PrPr*) บนโครโมโซมที่ 5 และยีนทำให้เกิดสี (CC) บนโครโมโซมที่ 9 ของข้าวโพดหวานสีม่วงสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 6 (S_6) อยู่ในสภาพโฮโมไซกัส (homozygous) และการทำงานของทั้งสองยีนแสดงออกได้อย่างสมบูรณ์ในลูกผสมเดี่ยว (Sharma, *et al.*, 2011)

3.3 วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินและความหวานในเมล็ด

3.3.1 ปริมาณน้ำตาล

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวโพดหวานทั้ง 10 พันธุ์ ที่อายุ 21 วัน หลังการผสมเกสร พบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) น้ำตาลนอนรีดิทซ์ (non-reducing sugar) และปริมาณสารแอนโทไซยานินมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3) ข้าวโพดหวานสีม่วงพันธุ์ทดสอบมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดอยู่ระหว่าง 181.5 mg/g

ค่าเฉลี่ยวันออกดอกตัวผู้และวันออกดอกตัวเมียของลูกผสมทดสอบมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 47-53 วัน ทั้งตัวผู้และตัวเมียของพันธุ์เดียวกันจะออกดอกพร้อมกัน โดยลูกผสมข้าวโพดหวานสีม่วง Ag-PS2xAg-PS9 และ Ag-PS3xAg-PS9 ให้ค่าเฉลี่ยวันออกดอกตัวผู้และวันออกดอกตัวเมียเร็วสุดที่ 47 และ 48 วัน ตามลำดับ ซึ่งต่างกับพันธุ์เปรียบเทียบกับ PAC12081A ที่ให้ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 53 วัน

ข้าวโพดหวานลูกผสมสีม่วงพันธุ์ทดสอบมีค่าเฉลี่ยความสูงต้น 155-204 ซม. และมีความสูงฝัก 81-115 ซม. ซึ่งส่วนใหญ่มีค่าเฉลี่ยความสูงต้นและความสูงฝักใกล้เคียงกับพันธุ์เปรียบเทียบกับ PAC12081A ยกเว้นกลุ่มผสม Ag-PS4xAg-PS9 ที่มีความสูงต้นและความสูงฝักสูงกว่าพันธุ์เปรียบเทียบกับ

คุณภาพการรับประทานฝักสดของลูกผสมข้าวโพดหวานสีม่วงมีคุณภาพการรับประทานในระดับเดียวกับพันธุ์เปรียบเทียบกับเมล็ดสีม่วงพันธุ์ PAC12081A และพันธุ์เปรียบเทียบกับสีเหลืองพันธุ์อินทรี 2 แสดงให้เห็นว่าสีม่วงหรือแอนโทไซยานินไม่มีผลต่อคุณภาพการรับประทานด้านความหวานและความชอบ แต่มีคุณค่าทางอาหารที่เพิ่มขึ้นมากกว่า

(Ag-PS1 x Ag-PS9) ถึง 459.7 mg/g (Ag-PS7 x Ag-PS9) ในขณะที่ข้าวโพดหวานสีม่วงพันธุ์การค้า PAC12081A มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 449.4 mg/g และข้าวโพดหวานสีเหลืองพันธุ์อินทรี 2 มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 347.4 mg/g ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่ามีข้าวโพดหวานสีม่วงพันธุ์ทดสอบ 2 พันธุ์ คือ Ag-PS3xAg-PS9 (392.3 mg/g) และ Ag-PS7xAg-PS9 (459.7 mg/g) มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในระดับเดียวกับพันธุ์การค้า PAC12081A ($LSD_{0.05} = 65.75$ mg/g) ขณะที่น้ำตาลนอนรีดิทซ์มีค่าเฉลี่ย 173.6-451.0 mg/g และพันธุ์การค้า PAC12081A มี

ค่าเฉลี่ย 393.8 mg/g นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลนอนรีดิวซ์มีความสัมพันธ์ในแนวทางเดียวกัน มีค่าสหสัมพันธ์สูง ($r=0.99^{**}$) ความหวานในเมล็ดข้าวโพดหวานเกิดจากน้ำตาลซูโครสในเอนโดสเปิร์มที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงสูงสุด จากนั้นความหวานจะลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเมล็ดมีอายุมากขึ้นและมีปริมาณโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) เพิ่มขึ้นในช่วงเมล็ดสุกแก่สมบูรณ์ (Hannah, 2005) ส่วนข้าวโพดหวานจากยีน *shrunk-2* ผักที่เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 20 วันหลังการผสมเกสร จะมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในเมล็ด

สูงสุด (289 mg/g) และจะลดลงเหลือ 186 mg/g เมื่อข้าวโพดหวานมีอายุ 29 วันหลังการผสมเกสร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลง 36 เปอร์เซ็นต์ใน 9 วัน หรือ 4 เปอร์เซ็นต์/วัน ดังนั้นปริมาณน้ำตาลและอัตราการเปลี่ยนแปลงจึงเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพข้าวโพดหวานที่ต้องนำมาพิจารณาเสมอในการคัดเลือกพันธุ์ (Soberalske and Andrew, 1978) นอกจากนี้ความหวานของลูกผสมแต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกันเนื่องจากมีความแปรปรวนของยีนตำแหน่งอื่น ๆ ที่มีอิทธิพลต่อน้ำตาลซูโครสและน้ำตาลทั้งหมด (Wong *et al.*, 1994)

Table 3 Means of total sugar, non-reducing sugar, and total anthocyanin content of F_1 hybrids and two check varieties in the kernel at 21 days after pollination

Hybrids	Total sugar	Non-reducing sugar	Anthocyanin
	(mg/g)	(mg/g)	(mg/100g)
Ag-PS1 x Ag-PS9	181.5	173.6	131.0
Ag-PS2 x Ag-PS9	262.7	256.0	140.5
Ag-PS3 x Ag-PS9	392.3	384.9	241.7
Ag-PS4 x Ag-PS9	271.4	261.7	255.1
Ag-PS5 x Ag-PS9	216.1	210.5	118.4
Ag-PS6 x Ag-PS9	354.3	345.3	162.5
Ag-PS7 x Ag-PS9	459.7	451.0	141.1
Ag-PS8 x Ag-PS9	224.7	218.1	130.4
Insee 2 (Chk. 1)	347.4	314.7	4.5
PAC12081A (Chk. 2)	449.4	393.8	71.1
Mean	315.9	301.0	139.6
F-test	**	**	**
LSD _{0.05}	65.75	63.76	24.5
LSD _{0.01}	93.53	90.69	33.42
C.V. (%)	9.34	9.5	10.29

** = highly significant difference ($p < 0.01$)

3.3.2 สารแอนโทไซยานิน

การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดของลูกผสมข้าวโพดหวานสีม่วงพบว่า ลูกผสมข้าวโพดหวานสีม่วงทั้ง 8 สายพันธุ์ มีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงกว่าพันธุ์เปรียบ เทียบ โดยมีปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ด 118.4-255.1 mg/100 g และลูกผสม Ag-PS4 x Ag-PS9 ให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ด สูงสุด ขณะที่พันธุ์เปรียบเทียบเมล็ดสีม่วง PAC12081A มีปริมาณสารแอนโทไซยานิน 71.1 mg/100 g และพันธุ์เปรียบเทียบเมล็ดสีเหลืองพันธุ์ อินทรี 2 มีสารแอนโทไซยานินต่ำสุด (4.5 mg/100 g) สำหรับข้าวโพดเมล็ดสีม่วง andean purple corn ปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวโพดเมล็ดสูงถึง 1,642 mg ของสาร cyaniding-3-glucoside/100 g น้ำหนักแห้ง (Cevallos-Casals and Cisneros-Zevallos, 2003) หรือ 290-1,333 mg/100 g ของ น้ำหนักแห้ง อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างของ ปริมาณสารแอนโทไซยานินยังขึ้นอยู่กับอีกหลาย ปัจจัย เช่น สภาพพื้นที่ปลูก วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ สารแอนโทไซยานิน (Jing and Giusti, 2005) โดย ในธรรมชาติสารแอนโทไซยานินที่พบในข้าวโพดมี 3 ชนิด คือ cyanindin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside และ peonidin-3-glucoside (Zhao *et al.*, 2008)

4. สรุป

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดหวานสีม่วงได้ ลูกผสมเดี่ยว คู่ผสม Ag-PS3 x Ag-PS9 และ Ag-PS7 x Ag-PS9 ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิต ผักสดในระดับเดียวกับพันธุ์การค้า ลูกผสมมีความ หวานและคุณภาพการรับประทานอยู่ในเกณฑ์ดี รวมทั้งมีสารแอนโทไซยานินในเมล็ดเพิ่มขึ้นมาก กว่า 3 เท่าของข้าวโพดหวานสีม่วงพันธุ์การค้า หรือ มากกว่า 30 เท่าของข้าวโพดหวานสีเหลือง ซึ่งเป็น

ส่วนเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้แก่ผู้บริโภค

5. กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการ วิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปี 2559 เรื่อง การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด หวานเพื่อเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินและทริปโต แพนในเมล็ด

6. รายการอ้างอิง

- ชูศักดิ์ จอมพุท, 2555, สถิติ : การวางแผนการ ทดลอง และการวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัย ด้านพืชด้วย “R”, พิมพ์ครั้งที่ 2, สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Abe, A., Lasisi, O.A. and Akinrinbola, O.J., 2019. Field performance of *shrunk-2* super-sweet corn populations derived from tropical field maize x *shrunk-2* super-sweet corn crosses in Ibadan, Nigeria, J. Plant Breed. Crop Sci. 11: 158-163.
- Brewbaker, J.L. and Martin, I., 2015, Breeding tropical vegetable corns, Plant Breed. Rev. 39: 125-198.
- Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Hernandez, M.L., Paez-Hernandez, M.E., Rodriguez, J.A. and Galan-Vidal, C.A., 2009, Chemical studies of anthocyanins: A review, Food Chem. 113: 859-871.
- Cevallos-Casals, B.A. and Cisneros-Zevallos, L., 2003, Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from Andean purple corn and red-fleshed sweetpotato, J. Agric. Food Chem. 51: 3313-3319.
- Creech, R.G., 1965, Genetic control of carbohydrate synthesis in maize, Genetics

- 52: 1175-1186.
- Evensen, K.B. and Boyer, C.D., 1986, Carbohydrate composition and sensory quality of fresh and stored sweet corn, *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 111: 734-738.
- Galicia, L., Nurit, E., Rosales, A. and Palacios, R.N., 2008, Laboratory Protocols 2009: Maize Nutritional Quality and Plant Tissue Analysis Laboratory, CIMMYT, Mexico D.F.
- Garwood, D.L., McArdle, F.J., Vanderslice, S.F. and Shannon, J.C., 1976, Postharvest carbohydrate transformations and processed quality of high sugar maize in genotypes, *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 101: 400-404.
- Hannah, L.C., 2005, Starch synthesis in maize endosperm, *Maydica* 50: 497-506.
- Jing, P. and Giusti, M.M., 2005, Characterization of purple corn cobs (*Zea mays* L.) anthocyanin-rich waste and its application in dairy products, *J. Agric. Food Chem.* 53: 8775-8781.
- Li, J., Walker, C.E. and Faubion, J.M., 2011, Acidulant and oven type affect total anthocyanin content of blue corn cookies, *J. Sci. Food Agric.* 91: 38-43.
- Nelson, O.E., Mertz, E.T. and Bates, L.S., 1979, Inheritance of amino acid content in cereals: Seed protein improvement in cereal and grain legumes, *Science* 145: 279-280.
- R Core Team, 2019, R: A language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, Available Source: <http://www.R-project.org>, August 8, 2019.
- Rosemary, H.F., 2000, Inheritance of kernel color in corn: Explanations & investigations, *Am. Biol. Teach.* 62: 181-188.
- Sharma, M., Cortes-Cruz, M., Ahern, K.R., McMullen, M., Brutnell, P.T. and Chopra, S., 2011, Identification of the *Pr1* gene product completes the anthocyanin biosynthesis pathway of maize, *Genetics* 188: 69-79.
- Soberalske, R.M. and Andrew, R.H., 1978, Gene effects kernel moisture and sugars of near-isogenic lines of sweet corn, *Crop Sci.* 18: 743-746.
- Thevenot, D., Delignette-Muller, M.L., Christians, S. and Vernozy-Rozand, C., 2005, Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dried sausage processing plants and their products, *Int. J. Food Microbiol.* 102: 85-94.
- Tracy, W.F., 2001, Sweet Corn, pp. 155-197, In Hallauer, A.R. (Ed.), *Specialty Corns*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Wong, A.D., Juvik, J.A., Breeden, D.C. and Swiader, J.M., 1994, *Shrunken2* sweet corn yield and the chemical components of quality, *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119: 747-755.
- Zhao, X., Zhang, C., Guigas, C., Ma, Y., Corrales, M., Hu, X. and Tauscher, B., 2008, Composition and thermal stability of anthocyanins from Chinese purple corn (*Zea mays* L.), *J. Agric. Food Chem.* 56: 20761-20766.