

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

2.1 ลักษณะประจำพันธุ์บางประการของข้าวพันธุ์ สุพรรณบุรี 1 และชัยนาท 1

ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 เป็นข้าวปลูกพันธุ์ปรับปรุงที่ได้มาจากการผสมพันธุ์ จากกลุ่มผสมสายพันธุ์ IR 25393-57-2-3 / กข 23 // IR 27316-96-3-2-2 /// SPRLR 77205-3-2-1-1 / SPRLR 79134-51-2-2

และข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นข้าวปลูกพันธุ์ปรับปรุงที่ได้มาจากการผสมพันธุ์ จากกลุ่มผสมสายพันธุ์ IR 13146-158-1 / IR 15514-43-2-3-3 // BKN 6995-16-1-1-2

ซึ่งทั้งสองสายพันธุ์มีลักษณะประจำพันธุ์บางประการดังที่แสดงในตาราง 1
ตาราง 1 ลักษณะประจำพันธุ์บางประการของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 และชัยนาท 1

| ลักษณะประจำพันธุ์ | ชื่อพันธุ์ | |
|----------------------------------|--|--|
| | สุพรรณบุรี 1 | ชัยนาท 1 |
| ชนิด | ข้าวเจ้า | ข้าวเจ้า |
| อายุจากตกกล้าถึงเก็บเกี่ยว (วัน) | 120-125 | 119-130 |
| ความสูง (ซม.) | 125 | 120 |
| ระยะเมล็ดพักตัว (สัปดาห์) | 3-4 | 8 |
| สีเปลือกเมล็ด | สีฟาง | สีฟาง |
| ความยาวข้าวกล้อง (มม.) | 7.3 | 7.7 |
| รูปร่างข้าวกล้อง | เรียวยาว | เรียวยาว |
| คุณภาพหุงต้ม | ร่วนแข็ง | ร่วนแข็ง |
| % อะไมโลส | 29 | 26-27 |
| ลักษณะสำคัญบางประการ | ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว โรคไหม้ โรคใบหูก โรคใบสีส้ม และโรคขอบใบแห้ง | ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว โรคใบหูก (โรคจู๋) และค่อนข้างต้านทานโรคไหม้ |
| ผลผลิตโดยประมาณ (กก./ไร่) | 806 | 725 - 754 |
| ปีที่ออกขยายพันธุ์ (พ.ศ.) | 2537 | 2536 |

ดัดแปลงจาก เอกสงวน (2542)

2.2 ลักษณะโดยทั่วไปของข้าวป่า *Oryza rufipogon* Giff.

มีจำนวน chromosome เป็น $2n=24$ และมี genomic constitution เป็น AA ซึ่งสายพันธุ์ของ *Oryza rufipogon* สามารถแบ่งได้เป็น annual type (ชนิดฤดูเดียว) perennial type (ชนิดหลายฤดู) และ intermediate type (ชนิดที่ก้ำกึ่งระหว่างฤดูเดียวกับหลายฤดู) (Oka, 1988) ประชากรของ perennial type ส่วนใหญ่พบขึ้นริมคลองชลประทาน และทุ่งน้ำข้างๆ ทาง ข้าวป่ามีลักษณะที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโต แพร่กระจายและขยายพันธุ์ในสภาพธรรมชาติ ซึ่งการขยายพันธุ์นั้นทำได้ทั้งแบบอาศัยเพศหรือไม่อาศัยเพศ (Morishima *et al.*, 1996) ข้าวป่ามีลักษณะที่สำคัญคือมีความสูงตั้งแต่ 1-3 เมตรขึ้นอยู่กับความผันแปรของระดับน้ำที่ขึ้นอยู่ กอแผ่ถึงเลื้อย ใบยาว รวงใหญ่ อับเกสรตัวผู้มีขนาดใหญ่ (มีความยาวอับเกสรตัวผู้ 4 - 5 มม.) ติดเมล็ดน้อย เปลือกเมล็ดสีดำและหางยาว (Morishima *et al.*, 1996) สงกรานต์ และคณะ (2538) ยังพบว่าประชากรของข้าวป่า *O. rufipogon* นั้นไวต่อช่วงแสง ประมาณ 72 % นอกจากนั้นเมล็ดของข้าวป่าโดยทั่วไปจะมีช่วงเวลาการพักตัวที่ยาวนาน เมื่อมีการแพร่กระจายและฝังตัวของเมล็ดในดิน เมล็ดข้าวป่าจะงอกก็ต่อเมื่อผ่านช่วงการพักตัวไปเท่านั้นและแต่ละเมล็ดก็จะมีช่วงเวลาการงอกที่ไม่พร้อมกัน (Oka, 1988) ซึ่งจะแตกต่างจากพันธุ์ปลูกที่มีการงอกพร้อมกันทันทีที่ปลูกและมีความสม่ำเสมอ (Morishima *et al.*, 1984)

2.3 สาเหตุที่ทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมในพันธุ์ข้าวปลูกปัจจุบัน

โอกาสที่จะเกิดความหลากหลายขึ้นภายในประชากรของข้าวพันธุ์ปรับปรุง (improved varieties) นั้นก็อาจจะเกิดขึ้นได้เช่นกัน ซึ่งความหลากหลายที่เกิดขึ้นนั้นอาจเกิดมาจากสาเหตุต่างๆ เช่น การปนของเมล็ดพันธุ์ข้าว (contamination) การกลายพันธุ์ (mutation) และการผสมข้ามของพันธุ์ข้าว (outcrossing) เป็นต้น

2.3.1 การปนของเมล็ดพันธุ์

การปนของเมล็ดพันธุ์นั้นมีโอกาสที่จะเกิดขึ้นตั้งแต่ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวในศูนย์วิจัยข้าวหรือสถานีทดลองข้าวไปจนถึงในแปลงเกษตรกร จากการตรวจสอบมาตรฐานเมล็ดพันธุ์ข้าวในภาคเหนือตอนล่าง ดวงอรและคณะ (2542) ได้ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์หลักข้าวที่ผลิตในฤดูนาปี 2541 และฤดูนาปรัง ปี 2542 จากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก สถานีทดลองข้าวโคกสำโรง และสถานีทดลองข้าวชัยนาท พบว่า เมล็ดพันธุ์ข้าวที่ไม่ผ่านมาตรฐานส่วนใหญ่เนื่องมาจากมีข้าวพันธุ์อื่นและข้าวเหนียวปน และพบข้าวแดงปนจำนวนเล็กน้อย

นอกจากนี้ยังพบว่าในปัจจุบันนี้ข้าวเหนียวพันธุ์ส่งเสริมและพันธุ์รับรองทุกพันธุ์ ทั้งที่เป็นพันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือกพันธุ์บริสุทธิ์ พันธุ์อาบรังสีและพันธุ์ที่ได้จากการผสมพันธุ์ พบว่า มีปัญหาการปะปนของข้าวเจ้าเกิดขึ้นทั้งในขั้นตอนการผลิตข้าวพันธุ์คัดและพันธุ์หลัก ทำให้เมล็ดไม่ผ่านมาตรฐาน สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร และกองขยายพันธุ์พืช กรมส่งเสริมการเกษตร จึงได้กำหนดมาตรฐานเมล็ดพันธุ์หลักของข้าวเหนียวทุกพันธุ์ โดยกำหนดให้เมล็ดพันธุ์ข้าวเหนียวมีข้าวเจ้าปนไม่เกิน 10 เมล็ดต่อน้ำหนักเมล็ดพันธุ์หลัก 1 กิโลกรัม (สุเทพ และคณะ, 2533) นอกจากนี้การปนยังเกิดจากเมล็ดข้าวปนมาในขณะปฏิบัติงาน เช่น มีเมล็ดข้าวอื่นหลงเหลืออยู่ในเครื่องเกี่ยว เครื่องนวด เครื่องอบ และลานตาก และเกิดจากข้าวที่ร่วงหล่นอยู่ในนา หรือข้าวเรือ (volunteer seeds)

อีกสาเหตุหนึ่งได้แก่ การปลูกข้าวเพื่อเมล็ดพันธุ์ไว้ใช้เองของเกษตรกร เกษตรกรเองอาจจะมีจัดการที่ไม่ดีพอ เป็นเหตุให้เกิดการปนขึ้นในข้าวได้เช่นกัน การปนเนื่องจากการจัดการของเกษตรกรนี้อาจเกิดขึ้นจากวิธีการจัดการในการได้มาซึ่งเมล็ดพันธุ์ของเกษตรกรในขั้นตอนต่างๆ นิรนาม (2527) ได้สำรวจไว้พบว่า การปลูกข้าวเพื่อเก็บเมล็ดพันธุ์โดยเกษตรกรส่วนใหญ่ (41%) จะไม่มีการแยกแปลงปลูกข้าวที่จะเก็บไว้ทำเมล็ดพันธุ์ หากปลูกแยกแปลงแต่เกษตรกรไม่ตัดต้นข้าวปนในแปลงที่จะเก็บไว้เป็นเมล็ดพันธุ์ ไม่มีการแยกนวดเมล็ดพันธุ์จากเมล็ดข้าวที่จะเก็บไว้บริโภคและขาย และในกรณีของเกษตรกรที่แยกนวดนั้นมีเกษตรกรที่คัดรวงก่อนนวดเพียง 59% และยังพบว่าแหล่งที่มาของเมล็ดพันธุ์ที่เกษตรกรได้รับนั้นมาจากเกษตรกรด้วยกันเองถึง 60% ซึ่งจากสาเหตุต่างๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วนั้นจะเห็นได้ว่ามีโอกาสที่จะเกิดการปนขึ้นในพันธุ์ข้าวขึ้นได้สูง จนเป็นสาเหตุทำให้เกิดความหลากหลายของพันธุกรรมขึ้น ในประชากรของข้าวพันธุ์ปรับปรุงขึ้นได้

2.3.2 การผ่าเหล่า (Mutation)

การผ่าเหล่าของพืชหรือของสิ่งมีชีวิตนั้นเป็นการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสิ่งมีชีวิตที่อาจเกิดขึ้นโดยฉับพลัน หรืออาจเกิดการแลกเปลี่ยน โครโมโซมระหว่างพวกยีนที่เกาะติดกันอย่างใกล้ชิด ซึ่งนานๆ จะเกิดขึ้นครั้งหนึ่งก็จะทำให้เกิดลักษณะใหม่ๆ ขึ้นได้อย่างฉับพลันเช่นกัน (Allard, 1960) การผ่าเหล่าของประชากรในพันธุ์ข้าวขึ้นได้ตามธรรมชาติเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความแปรปรวนของพันธุกรรมภายในประชากรขึ้นได้ จากการศึกษาการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติของข้าวเหนียว 3 พันธุ์ ของ ปรมเส และคณะ (2540) พบว่า อัตราการกลายพันธุ์จากข้าวเหนียวเป็นข้าวเจ้าตามธรรมชาติของข้าวเหนียวพันธุ์ KKNUR 82003-SKN-69-1-1 จะเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ 1.6×10^{-5} ถึง 1.5×10^{-4} (0.001 – 0.015 เปอร์เซ็นต์)

2.3.3 การผสมข้าม (Outcrossing)

การผสมข้ามตามธรรมชาติในประชากรข้าวพันธุ์ปลูกนั้นมีโอกาสเกิดขึ้นได้ทั้งระหว่างพันธุ์ของข้าวพันธุ์ปลูกเอง หรือเกิดขึ้นระหว่างประชากรของข้าวพันธุ์ปลูกและข้าวพันธุ์ป่าหรือพันธุ์ที่เป็น wild species หากพบว่าขึ้นอยู่ในบริเวณใกล้เคียงกันซึ่งการผสมข้ามจะทำให้พันธุ์กรรมภายในประชากรหรือพันธุ์ของข้าวมีการกระจายตัวและทำให้เกิดความหลากหลายภายในพันธุ์ขึ้นได้ ซึ่งอัตราการผสมข้ามนี้จะมีสูงในข้าวปลูกประเภท indica และ wild species มากกว่า ในข้าวปลูกประเภท japonica (Oka, 1988)

การผสมข้ามในพืชจะประสบความสำเร็จได้ พืชต้องประกอบด้วยปัจจัยที่สำคัญคือ มีช่วงเวลาการเจริญในระยะเวลาผสมพันธุ์พร้อมกัน มีช่วงเวลาผสมพันธุ์ที่พร้อมกันคือเกสรตัวเมียมีช่วงเวลาผสมพันธุ์พร้อมกับเกสรตัวผู้ ความมีชีวิตของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียในช่วงเวลาการผสมพันธุ์มีระยะเวลายาวนาน ดอกของพืชที่รับละอองเกสรจะต้องมีการไหลของเกสรตัวเมียเพื่อรับละอองเกสรตัวผู้ พืชที่ให้ละอองเกสรตัวผู้จะต้องมีละอองเกสรจำนวนมาก มีขนาดละอองเกสรตัวผู้ที่มีขนาดใหญ่ และมีกลไกควบคุมไม่ให้พืชผสมตัวเอง (Virmani and Wan, 1988) ซึ่งการถ่ายละอองเกสรและการเปิดรับการผสมพันธุ์ของเกสรตัวเมียของข้าวนั้นจะครอบคลุมระยะเวลาอยู่ในช่วงน้อยที่สุดเท่ากับ 6 นาที จนถึง 1 ชั่วโมง (Messeguer *et al.*, 2001) ละอองเกสรตัวผู้ (pollen grains) ของข้าวส่วนใหญ่จะสูญเสียความมีชีวิตภายในระยะเวลา 5 นาทีภายหลังจากเริ่มโปรยละอองเกสร แต่ก็จะมีละอองเกสรจำนวนเล็กน้อยที่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ถึง 15 นาที ถึงแม้การกระจายไปในแนวราบของละอองนั้นจะเป็นไปอย่างจำกัด แต่ในทางการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสม (hybrid rice) นั้นก็จำเป็นต้องเว้นระยะห่างระหว่างแปลงอื่นถึง 10 เมตร เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของละอองเกสร (Messeguer *et al.*, 2001) และอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการผสมข้ามก็คือทิศทางลม และแมลง เนื่องจากลมและแมลงมีผลต่อการแพร่กระจายของละอองเกสรว่าจะไปในทิศทางใด ปริมาณมากน้อยเท่าไรและไกลเพียงใด ช่วงการเลื่อมล้ำกันของช่วงระยะเวลาการโปรยละอองเกสรตัวผู้ และการพร้อมผสมพันธุ์ของเกสรตัวเมียนั้นมีความสำคัญ คือเมื่อข้าวสองพันธุ์มีช่วงระยะเวลาช่วงระยะเวลาการดอกบานและการพร้อมผสมพันธุ์ของเกสรตัวเมียมีการเลื่อมล้ำกัน และขึ้นอยู่ในบริเวณเดียวกันหรือใกล้กัน โอกาสที่จะเกิดการผสมข้ามพันธุ์ก็มีขึ้นได้

แต่ก็ปัจจัยหลายชนิดในลูกผสมที่ป้องกันไม่ให้เกิดการแลกเปลี่ยนยีนหรือการผสมข้ามเกิดขึ้น (Oka, 1988) เช่น ลูกผสมไม่งอก (F_1 inviability) โดยทั่วไปพบว่าเกิดจาก zygote ของลูกผสมไม่พัฒนาซึ่งเกิดจากการที่ไม่มีการสร้าง endosperm ลูกผสมงอกแต่ไม่แข็งแรง (F_1 weakness) ลูกผสมเป็นหมัน (F_1 sterility) เกิดจากเซลล์สืบพันธุ์ของลูกผสมไม่พัฒนาพบมากในการผสมข้ามระหว่าง Species เช่น ลูกผสมระหว่างข้าวป่าและข้าวปลูก ลูกผสมเป็นปกติแต่ลูกในรุ่น

ต่อไปไม่งอกหรืออ่อนแอ (F_2 weakness) เนื่องจากในชั่วแรกที่ปกติเพราะมียีนที่ข่มลักษณะอ่อนแอไว้ เมื่อถึงระยะ F_2 เกิดการกระจายตัวของยีนคือย เมื่อยีนลักษณะคือยอยู่ร่วมกัน (recessive homozygous) จะทำให้แสดงลักษณะอ่อนแอออกมา (Okuno, 1986) และลูกผสมเป็นปกติแต่ลูกในรุ่นต่อไปเป็นหมัน (F_2 sterility) พบในการผสมข้ามระหว่าง *O. sativa* กับพันธุ์ใกล้เคียง ได้ลูกผสมชั่วแรกเป็นปกติแต่ลูกรุ่นต่อไป (F_2) บางส่วนจะแสดงอาการเป็นหมัน (Oka, 1988)

ในส่วนของข้าวพันธุ์ป่า *Oryza rufipogon* เป็น species ที่มีความสัมพันธ์อันใกล้ชิดกับข้าวพันธุ์ปลูก *Oryza sativa* ซึ่งมีจำนวน chromosome เป็น $2n=24$ และมี genomic constitution เป็น AA เหมือนกับข้าวพันธุ์ปลูก *O. sativa* (Vaughan, 1994) เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่า *O. sativa* มีวิวัฒนาการมาจากข้าวพันธุ์ป่าชนิด *O. rufipogon* (Morishima, 1986) การเกิดการผสมข้ามและแลกเปลี่ยนยีนกันระหว่างข้าวพันธุ์ป่าและข้าวพันธุ์ปลูกทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมและวิวัฒนาการของข้าวทั้งในประชากรของข้าวพันธุ์ป่า และข้าวพันธุ์ปลูก Chitrakon (1995) และ Morishima (1998) รายงานว่า พบข้าวลูกผสมชนิด *spontanea form* ที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างข้าวป่าในธรรมชาติ (*O. rufipogon* Giff.) กับข้าวปลูก (*O. sativa* L.) แล้วมีการกระจายตัวเป็นหลายลักษณะในรุ่นลูกหลานได้ ซึ่งมีรายงานว่าพบการผสมข้ามระหว่างข้าวพันธุ์ปลูกกับข้าวป่าข้าววัชพืช หรือแม้กระทั่งระหว่างข้าวพันธุ์ปลูกด้วยกันเองในหลายประเทศ เช่น

Oka (1988) รายงานว่า ข้าวพันธุ์ ปลูกมีความสามารถผสมข้ามสูงกับพันธุ์วัชพืช (weedy rice หรือ red rice) และให้ลูกที่มีความสามารถในการเจริญพันธุ์และมีชีวิตอยู่รอดได้ และพบว่ามีอัตราการผสมข้ามตามธรรมชาติอยู่ในช่วง 1.08 ถึง 52.18%

ปรเมศ และคณะ (2540) ตรวจสอบการผสมข้ามตามธรรมชาติระหว่างข้าวเหนียวดำกับข้าวเหนียวพันธุ์ กข.6 เมื่อปลูกข้าวทั้ง 2 ชนิด ไว้ใกล้กัน และข้าวทั้ง 2 ชนิดออกดอกพร้อมกันหรือออกดอกเหลื่อมกัน จะมีเปอร์เซ็นต์การผสมข้ามเกิดขึ้นได้เท่ากับ 0 - 0.74%

Messeguer *et al.*, 2001 ซึ่งทำการทดลองในประเทศอิตาลี พบว่า การถ่ายทอดยีนต้านทานสารกำจัดวัชพืชจากข้าวดัดแปลงพันธุกรรม (transgenic herbicide resistance rice) ไปสู่ข้าวที่ไม่ได้ดัดแปลงพันธุกรรมมีค่าอยู่ระหว่าง 0.01 ถึง 0.53%

Gealy *et al.*, 2003 พบว่าอัตราการแลกเปลี่ยนยีน (gene flow) ระหว่างข้าวปลูกกับข้าวปลูกมีค่าน้อยกว่า 1.0% และระหว่างข้าวปลูกสู่ข้าวแดงนั้นมีความผันแปรสูง แต่ก็อยู่ในช่วงเท่ากับระหว่างข้าวปลูกสู่ข้าวปลูก หรือน้อยกว่านั้น

Chen *et al.*, 2004 พบว่าอัตราการแลกเปลี่ยนยีน (gene flow) ระหว่างข้าวปลูก (*O. sativa* L.) สู่ข้าววัชพืช (*O. sativa* f. *spontanea*) มีตั้งแต่ 0.011 ถึง 0.046 % และระหว่างข้าวปลูก (*O. sativa* L.) สู่ข้าวป่า (*O. rufipogon* Giff.) มีตั้งแต่ 1.21 ถึง 2.19%

Lu (2004) พบว่าอัตราการผสมข้ามระหว่างข้าวป่ากับข้าวปลูกจะอยู่ระหว่าง 2 – 3% และข้าววัชพืชกับข้าวปลูกจะอยู่ระหว่าง 0.01 – 0.03%

2.4 การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล Microsatellite markers

Microsatellite markers หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า Simple Sequence Repeat (SSR) เป็นการตรวจสอบความแตกต่างของขนาดชิ้นดีเอ็นเอจำลองที่เกิดจากความแตกต่างของการเรียงตัวของเบส (A, G, T, C) บนโครโมโซมที่มีจำนวนชุดของลำดับเบสซ้ำช่วงสั้นๆ ตั้งแต่ 1 – 7 คู่เบส การซ้ำกันแต่ละหน่วยเกิดอยู่ตั้งแต่ 2 ถึง 35 ครั้ง ซึ่งพบกระจายตัวอยู่ในสารพันธุกรรมของข้าว ชนิดของลำดับเบสซ้ำกัน ได้แก่ ซ้ำสองเบส (di-nucleotide repeat) เช่น AT ซ้ำสามเบส (tri-nucleotide repeat) เช่น AAC ซ้ำสี่เบส (tetra-nucleotide repeat) เช่น GTAC เป็นต้น และลำดับการซ้ำที่พบมากที่สุดได้แก่ di และ tri-nucleotide repeat ตัวอย่าง di-nucleotide repeat ที่พบมากที่สุดในการซ้ำได้แก่ (GA)_n (Chen et al., 1997) โดยทั่วไปเบสซ้ำกันดังกล่าวจะเกิดกระจายทั่วไปในจีโนมของพืช ในพืชแต่ละพันธุ์จะพบการซ้ำที่ไม่เท่ากัน จึงสามารถบอกความแตกต่างของพันธุ์พืชได้ ซึ่งมีผู้รายงานการใช้ประโยชน์ไว้เช่น Gealy *et al.* (2003) สามารถใช้เทคนิค Microsatellite markers แยกกลุ่มข้าวแดงที่มีเปลือกสีฟางและไม่มีหาง ข้าวแดงที่มีเปลือกสีฟางและไม่มีหาง ข้าว Japonica และลูกผสมระหว่างข้าวแดงกับข้าวปลูกได้ Messeguer *et al.* (2001) และ Song *et al.* (2003) ใช้เทคนิค Microsatellite markers ในการตรวจสอบการแลกเปลี่ยนยีนระหว่างข้าวปลูกสู่ข้าวป่า และจากการทดลองของ Yashitola (2002) พบว่า ผลที่ได้จากการใช้ Microsatellite marker ที่เหมาะสมเพียง 1 ตัวก็เพียงพอที่จะประเมินความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์ข้าวปลูกผสมได้