ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความแปรปรวนในปริมาณและการสะสมธาตุเหล็กของเมล็ดในข้าวพันธุ์ไทย

ผู้เขียน นางสาว ทรายคำ ปินตาเสน

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พืชไร่

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ศ.ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม ประธานกรรมการ
รศ.ดร ศันสนีย์ จำจด กรรมการ

บทคัดย่อ

โรคโลหิตจางเนื่องจากขาดธาตุเหล็ก เป็นปัญหาทางโภชนาการที่พบมากที่สุดทั่วโลก เมื่อเปรียบเทียบกับการขาดวิตามินเอ และสังกะสี ซึ่งปริมาณธาตุเหล็กที่ร่างกายของคนเราได้รับมาจากการบริโภคธัญพืชเป็นส่วนใหญ่ แต่ข้าวเป็นธัญพืชที่ มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดที่ต่ำมาก ดังนั้นการเพิ่มปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว เป็นทางเลือกหนึ่งที่จะลดปริมาณการเป็นโรคโลหิตจางได้ มีรายงานว่าปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวมีความแปรปรวนตามพันธุกรรม พันธุ์ข้าวเหล็กต่ำอาจมีความเข้มข้นของธาตุเหล็กเพียงหนึ่งในสามของพันธุ์เหล็กสูง ข้าวพันธุ์หลักของไทยส่วนใหญ่ อาทิ ขาวดอกมะลิ 105 กข 6 สุพรรณบุรี 1 ล้วนแต่มีเหล็กต่ำ แต่พบข้าวพันธุ์พื้นเมืองหลายพันธุ์ที่มีเหล็กสูง ซึ่งอาจใช้ปลูกเพื่อผลิตข้าวเหล็กสูงได้เลยหรือใช้เป็นแหล่งพันธุกรรม ในการปรับปรุงพันธุ์ นอกจากนี้ความเข้าใจในกลไกในการสะสมธาตุเหล็กที่เป็นผลให้เมล็ดมีความเข้มข้นธาตุเหล็กต่างกัน น่าจะเป็นประโยชน์ต่อการคัดเลือกพันธุ์ที่มีความสามารถในการสะสมธาตุเหล็กในเมล็ดได้ดีที่สุด แต่เนื่องจากข้าวพันธุ์พื้นเมืองมักมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง การทดลองนี้จึงได้วัดความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กภายในแหล่งพันธุกรรมข้าวไทย และศึกษาความแตกต่างของการสะสมปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวในระหว่างการพัฒนาการของเมล็ดในข้าวพันธุ์ที่มีเหล็กสูงและต่ำต่างกัน

ในการศึกษานี้ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร และภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ในการทดลองที่ 1 มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดความหลากหลายของปริมาณการสะสมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวภายในพันธุ์ของข้าวพันธุ์พื้นเมืองไทย โดยใช้พันธุ์ข้าวพื้นเมือง (ข้าวไร่ที่สูง) รวบรวมจากเกษตรกรหมู่บ้านห้วยทิชะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตำบลสบเมย อำเภอสบเมย จังหวัดเชียงใหม่ (17°51´ N และ 97° 54´ E) รวม 66 ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ มี 17 ชื่อพันธุ์ โดยแบ่งเมล็ดออกเป็น 3 ส่วนดังนี้ ส่วนแรกสำหรับประเมินปริมาณธาตุเหล็กโดยการย้อมสี ส่วนที่สอง วัดปริมาณธาตุเหล็กโดยวิธีวิเคราะห์ทางเคมี และส่วนสุดท้ายสำหรับปลูกเพื่อจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาและประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม การประเมินปริมาณธาตุเหล็กโดยการย้อมด้วยสีย้อม เพิร์ล พรัสเซียนบลู (Perls' Prussian blue) โดยบันทึกการติดสีย้อมของเมล็ดข้าวแต่ละเมล็ดดังนี้ สีเข้ม (+++), ปานกลาง (++), ต่ำ (+) หรือไม่ติดสี (0) บันทึกการติดสีย้อมภายใต้กล้องสตอริโอ การวัดปริมาณธาตุเหล็กด้วยการวิเคราะห์ทางเคมี ใช้วิธีการ dry-ashing และอ่านค่าปริมาณธาตุเหล็กโดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometry ส่วนการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยใช้ดัชนีความหลากหลายของ Shannon's index (*H'*) ในการพิจารณาความหลากหลายทางพันธุกรรมของลักษณะทางคุณภาพ ซึ่งค่า *H'* สูงหมายถึงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ส่วนลักษณะทางปริมาณพิจารณาโดยใช้ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (sd) ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (cv, %) และการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance)

จากการทดลองพบว่า ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวพื้นเมืองชื่อเดียวกันที่ได้จากเกษตรกรต่างกันอาจมีความความเข้มข้นของธาตุเหล็กในเมล็ดโดยเฉลี่ยแตกต่างกันถึง 3 เท่า ค่าเฉลี่ยของความเข้มสีย้อมในแต่ละตัวอย่างเชื้อพันธุ์ มีความสัมพันธ์สอดคล้องเป็นไปในทิศทางเดียวกับค่าเฉลี่ยความเข้มข้นธาตุเหล็กที่ได้จากการวิเคราะห์ ด้วยวิธีการทางเคมี (r = 0.74*) นอกจากนี้ยังได้พบหลักฐานว่าอาจจะมีความแปรปรวนในปริมาณธาตุเหล็กภายแต่ละตัวอย่างเชื้อพันธุ์หลายตัวอย่าง จากการที่พบระดับความเข้มของสีย้อมทั้ง +++ ++ และ + อยู่ในตัวอย่างเชื้อพันธุ์เดียวกัน เมื่อได้เลือกตัวอย่างเชื้อพันธุ์เพื่อการประเมินความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำนวน 12 ลักษณะ พบความหลากหลายของลักษณะทางคุณภาพทั้งระหว่างชื่อพันธุ์ ภายในชื่อพันธุ์เดียวกัน และภายในตัวอย่างเชื้อพันธุ์ แตกต่างกันจำนวน 9 ลักษณะ ซึ่งมีค่า Shannon-Weaver index (*H'*) รวมของแต่ละเชื้อพันธุ์ตั้งแต่ 0-3.2358 ส่วนลักษณะทางปริมาณมีความแปรปรวนเพียงเล็กน้อย ในความสูง (CV 4-6%) และวันออกดอก (CV 7-15 %) ในการประเมินความเข้มข้นของธาตุเหล็กในเมล็ดที่ได้จากการปลูกทดสอบในรุ่นลูก (progeny testing) ยืนยันว่าในทุกตัวอย่างเชื้อพันธุ์มีความแปรปรวนในปริมาณธาตุเหล็กในข้าวกล้องในช่วงประมาณ 10 - 16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จริง รวมทั้งบือก๊ะ 5 ที่ไม่แสดงความแปรปรวนในลักษณะทางคุณภาพเลย (*H'* = 0)

ส่วนการทดลองที่ 2 มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดความแตกต่างของการสะสมของธาตุเหล็กในระหว่างการพัฒนาการของเมล็ดข้าวในข้าวพันธุ์ที่มีเหล็กสูงและต่ำต่างกัน โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลสองปัจจัยแบบแผนสุ่มในบล็อคสมบูรณ์ (Factorial in Randomized Complete Block Design) ทวนซ้ำ 3 ครั้ง โดยใช้ข้าว 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์IR68144 (พันธุ์ปรับปรุงจากศูนย์วิจัยข้าวนานาชาติและมีธาตุเหล็กในเมล็ดสูง) พันธุ์ CMU122 (พันธุ์พื้นเมืองของไทยและมีปริมาณธาตุ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เหล็กในเมล็ดสูง) พันธุ์เหนียวอุบล 2 (ข้าวไทยพันธุ์ใหม่และมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดต่ำ) และพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ105 (ข้าวพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกและมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดต่ำ) และให้สารละลายที่มีระดับความเข้มข้นของเหล็ก 2 ระดับ คือ 2 ppm (Fe2) และ 7 ppm (Fe7) โดยปลูกในกระถางบรรจุทราย แต่ละกระถางปลูกข้าวหนึ่งพันธุ์ แต่ละพันธุ์ปลูก 4 ต้น โดยย้ายปลูกต้นอ่อนเมื่ออายุ 7 วัน ให้น้ำด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตรของ Yoshida *et al* (1976) ที่มีเหล็กในระดับต่ำ (Fe2) และเหล็กในระดับสูง (Fe7) ทุกวันเช้า-เย็น การเก็บข้อมูล โดยการเก็บตัวอย่างเมล็ดเริ่มเก็บเมล็ดจำนวน 3 ระยะ ได้แก่ ระยะ 10, 20, 30 วันหลังจากผสมเกสร (day after anthesis) ของข้าวแต่ละพันธุ์ เก็บตัวอย่างน้ำหนักแห้ง ราก ต้น ใบ และใบธง ทั้ง 3 ระยะของข้าวแต่ละพันธุ์ นำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์การสะสมของปริมาณธาตุเหล็กแต่ละส่วนในข้าวแต่ละพันธุ์ โดยวิธีการเคมีวิเคราะห์ใช้วิธีการ dry-ashing และอ่านค่าปริมาณธาตุเหล็กโดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometry การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างพันธุ์โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยใช้ LSD (Least Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากการทดลองพบว่า ทั้ง 4 พันธุ์มีผลผลิตเพิ่มขึ้นตลอดการพัฒนาเมล็ด โดยพันธุ์ที่มีเหล็กต่ำ มีผลผลิตอยู่ในเกณฑ์สูง (12.5 - 13.3 กรัมต่อต้น) ส่วนในข้าวที่มีเหล็กต่ำมีผลผลิตอยู่ในช่วงที่ค่อนข้างต่ำ (5.1 - 8.7 กรัมต่อต้น) ปริมาณธาตุเหล็กในต้น พบมากในพันธุ์เหนียวอุบล2 และขาวดอกมะลิ105 เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้าย และดูดใช้ธาตุเหล็กได้ดี กลับพบว่า CMU122 มีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้าย และดูดใช้ธาตุเหล็กได้ไม่ดี แต่มีรากจำนวนมาก จึงทำให้ปริมาณธาตุเหล็กสะสมในต้นมาก ในขณะเดียวกัน พันธุ์ IR68144 ประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้าย และดูดใช้ธาตุเหล็กได้ดี แต่มีรากจำนวนน้อย จึงส่งผลให้มีปริมาณธาตุเหล็กในต้นน้อย ส่วนการสะสมธาตุเหล็กในเมล็ด พบว่าในพันธุ์ที่มีเหล็กสูงจะมีการสะสมธาตุเหล็กได้เร็วกว่าพันธุ์ที่มีเหล็กต่ำ ตั้งแต่ระยะ 10 วันของการพัฒนาเมล็ด ทั้งในสภาพที่มีเหล็กจำกัดและเพียงพอ ซึ่งเมื่อถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา พันธุ์ที่มีธาตุเหล็กสูงจะมีปริมาณธาตุเหล็กในข้าวกล้องที่สูงกว่าพันธุ์ที่มีธาตุเหล็กต่ำ (0.35 ไมโครกรัมต่อเมล็ด ในพันธุ์ที่มีเหล็กสูง และ 0.28 ไมโครกรัมต่อเมล็ด ในพันธุ์ที่มีเหล็กต่ำ) ส่วนความเข้มข้นของธาตุเหล็กในข้าวกล้อง นั้นพบว่ามีความเข้มข้นลดลงตลอดการพัฒนาเมล็ด โดยพันธุ์ IR68144 มีความเข้มข้นของธาตุเหล็กในข้าวกล้องสูงสุด เท่ากับ 27.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา

การปันส่วนของธาตุเหล็กที่สะสมทั้งในต้นและราก มายังส่วนของเมล็ดพบว่ามีปริมาณที่ต่ำมาก โดยพันธุ์ IR68144 มีการปันส่วนจากต้นและรากมายังเมล็ดและข้าวกล้องในสัดส่วนสูง (0.9 - 2.5 %) แต่ CMU122 มีการปันส่วนต่ำกว่า (0.6 - 0.9 %) ส่วนพันธุ์เหนียวอุบล2 และขาวดอกมะลิ 105 มีการปันส่วนมายังเมล็ดค่อนข้างสูง (0.8 - 1.9 %) แต่เหล็กเกือบครึ่งหนึ่งถูกส่งไปสะสมในแกลบ จึงมีการปันส่วนมายังข้าวกล้องที่ต่ำมาก (0.2 – 0.6 %) นอกจากนี้ได้พบว่าพันธุ์เหล็กสูงและ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ต่ำมีอัตราการสะสมเหล็กที่แตกต่างกัน พันธุ์เหล็กสูงสะสม 61-76% ของปริมาณในเมล็ดข้าวกล้องได้ภายใน 10 วันหลังผสมเกสร เทียบกับเพียง 45-48% ในพันธุ์เหล็กต่ำ

จากการศึกษานี้พบว่านอกจากความแตกต่างระหว่างข้าวต่างพันธุ์และระหว่างตัวอย่างที่มีเชื่อเดียวกันแล้ว เมล็ดพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ได้จากเกษตรกรนั้นยังมีความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดภายในตัวอย่างเชื้อพันธุ์ ซึ่งนักปรับปรุงพันธุ์สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีธาตุเหล็กในเมล็ดสูง นำไปใช้ในการผลิตข้าวเหล็กสูงหรือในการปรับปรุงพันธุ์ พันธุ์ข้าวเหล็กสูงมีลักษณะการสะสมเหล็กแตกต่างไปจากในข้าวพันธุ์เหล็กต่ำ พันธุ์ข้าวที่ศึกษา 4 พันธุ์มีปริมาณเหล็กในข้าวเปลือกโดยรวมไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ในพันธุ์เหล็กต่ำปริมาณเหล็กเกือบครึ่งอยู่ในแกลบ ในขณะที่พันธุ์เหล็กสูงสะสมเหล็กในข้าวกล้องได้ถึงร้อยละ 80 ของเหล็กทั้งหมดในข้าวเปลือก นอกจากนี้พันธุ์เหล็กสูงสะสมเหล็กในข้าวกล้องส่วนส่วนใหญ่ (70% ใน IR68144 76% ใน CMU122) ภายใน10 วันแรกของการสร้างเมล็ด ในขณะพันธุ์ข้าวเหล็กต่ำสะสมเพียงประมาณครึ่งหนึ่งของเหล็กในข้าวกล้องในช่วงเวลาเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Grain Iron (Fe) Contents and Accumulation in Thai Rice Varieties
Author	Miss Saicum Pintasen
Degree	Master of Science (Agriculture) Agronomy
Thesis Advisory Committee	Prof. Dr. Benjavan Rerkasem — Chairperson Assoc. Prof. Dr. Sansanee Jamjod — Member

ABSTRACT

Iron (Fe) deficiency anemia is the most serious malnutrition problem. Most of people's Fe intake comes from staple cereals. Among the cereals, rice has the lowest grain Fe concentration. Therefore, the increasing Fe concentration of rice grain may solve this problem. Fe concentration in rice grain has been reported to vary among different rice varieties, with Thailand popular varieties such as KDML105, RD6, CNT1 and SPR1 among the lowest. On the other hand, local Thai rice varieties with high grain Fe have been identified. These could be used as parents in breeding programs aiming to increase Fe in rice that people consume. Local rice germplasm, however, can be genetically variable. This study aimed to examine variation of Fe concentration in the grain of local rice varieties, and to investigate how the accumulation of Fe differ in the grain of high and low Fe varieties.

Two experiments were conducted at Multiple Cropping Center and department of agronomy, faculty of agriculture, Chiang Mai University. Seed of 66 accessions with 17 named varieties of upland rice (*Oryza sativa*) were collected from Tee Cha village, Sob Moei District, Mae Hong Son, Thailand (17°51′ N and 97° 54′ E). Each accession was separated into three parts, the first for staining with Perl's Prussian blue, the second for chemical analysis, and the third for evaluation of genetic variation by progeny testing. The Perls' Prussian blue reaction was determined on individual grains of brown rice and reaction rate as intense (+++), medium (++), low (+) and none (0) under a stereo microscope. Average Fe concentration of each accession

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

(over about 50 seeds) was determined by dry-ashing and atomic absorption spectrophotometry (AA), in mature whole grain brown rice complete with embryo (palea and lemma removed). Variation in qualitative characters was assessed with the Shannon-weaver index (*H'*), high *H'* value indicating high diversity within population. Variation in quantitative characters was determined with mean, standard deviation (sd), coefficient of variation (CV, %) and analysis of variance.

Chemical analysis found up to 3 folds difference in average Fe concentration of accessions sharing the same name. The average Fe concentration was also closely correlated with mean intensity of Perl's Prussian blue staining for each accession (r = 0.74*). Variation in grain Fe within each accession was indicated by variation in the intensity of the stain among individual grains of the same seed lots. Diversity analysis conducted on 2 accessions each of 3 named varieties found the Shannon-Weaver index to vary from 0 to 3.3258 and coefficient of variation (CV) for plant height between 4-6%, and flowering date 7-15 %. Variation in grain Fe within accessions was confirmed by chemical analysis of grain from individual plants that grew from the same seed lots. Brown rice Fe concentration in BGU#5 which the *H*' value = 0 covered the range of 10-16 mg Fe/kg, which was the same as in the other 5 accessions, which showed much more morphological and physiological variation.

To study the pattern of Fe accumulation, a pot experiment was conducted in a factorial in randomized completed block design with three replications. Four rice varieties, 2 with high concentration of grain Fe (IR68144, improve rice variety from IRRI and CMU122, local rice variety) and 2 with low grain Fe concentration (UBON2, new variety and KDML105, population variety) were grown in sand culture with complete nutrients (Yoshida, 1976) except for Fe. Iron was applied to the nutrient solution at 2 levels, 2 ppm of $FeSO_4$ (Fe2) and 7 ppm of $FeSO_4$ (Fe7). Plants were harvested at 10, 20 and 30 days after anthesis and separated into root, shoot, leaf, youngest emerged blade and spikelets (husk, brown rice, and unhusk). Samples were analyzed for Fe by dry-ashing method and spectrophotometer. Data were analyzed with analysis of variances and means compared with least significant difference (LSD) at $P < 0.05$.

Iron concentration in the brown rice grain differed among the varieties as expected, with no effect of Fe levels in the nutrient solution. This difference showed no association with total plant Fe content at maturity, which was highest in CMU122, slightly lower in KDML105 and UBON2, and lowest in IR68144, which was less than half that in CMU122. Very small fraction of the total plant Fe, 0.8-2.5%, was partition into the grain. In KDML105 and UBON2 even less

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

(0.2-0.6%) ended up in the endosperm as almost half of the Fe that was sent to the grain went to the husk.

At maturity, high Fe varieties have grain Fe in brown rice higher than low Fe varieties (0.35 µg/seed in high Fe varieties and 0.28 µg/seed in low Fe varieties). Fe concentrations in brown rice are decrease at the same time of grain development; IR68144 has high Fe concentration in brown rice, it has 27.0 mgFe/kg at maturity. High Fe varieties accumulated Fe in brown rice much faster than low Fe varieties. At ten days after anthesis IR68144 and CMU122 had already accumulated at maturity low grain Fe varieties has higher grain yield than high grain Fe varieties. Increasing Fe in the nutrient solution had no effect on total dry weight at maturity of all 4 varieties, but while KDML105 and UBON2 had accumulated less than half.

This study has shown that there is considerable variation of grain Fe concentration within some of the seed lots of the local upland rice varieties as well as between the different varieties, different seed lots with the same name. This variation was found in an accession that exhibited no apparent variation as well as those that showed some morphological and physiological variation. Findings that high grain Fe varieties accumulate Fe in the grain more rapidly and partition much lower proportion of grain Fe into the husk may be useful to consider when looking for rice genotypes with high grain Fe concentration.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved