บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมเป็นอย่างมากเมื่อเทียบกับพันธุ์ปรับปรุงที่มีความสม่ำเสมอทางพันธุกรรมมากกว่า (Oka, 1988) ซึ่งความแปรปรวนของข้าวพื้นเมืองที่มีอยู่มากนั้น เราสามารถคัดเลือกเมล็ดที่มีปริมาณธาตุเหล็กสูง เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ได้ จากการศึกษาความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กในข้าวพื้นเมืองที่ได้จากแต่ละเกษตรกร พบว่ามีความแปรปรวนของระหว่างชื่อพันธุ์ ภายในชื่อพันธุ์เดียวกัน และภายในตัวอย่างของแต่ละเชื้อพันธุ์ สามารถตรวจสอบด้วยวิธีการย้อมสีเพิร์ล พรัสเซียนบลู และการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมี ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นในข้าวพื้นเมืองที่ได้จากเกษตรกร เป็นผลมาจากพันธุกรรม ซึ่งในแต่ละชื่อพันธุ์ที่ต่างกัน มีความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็ก เช่นเดียวกับการรายงานของ Prom-u-thai and Rerkasem (2001) ในขณะเดียวกันภายในชื่อพันธุ์เดียวกันที่ได้จากแต่ละเกษตรกรนั้น พบว่ามีความแปรปรวนเป็นอย่างมาก เช่นในพันธุ์ BB และ BGU (5.6-14.5 และ 7.7-13.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) ซึ่งตัวอย่างเมล็ดที่ได้จากแต่ละเกษตรกรนั้น อาจมีการจัดการหรือกระบวนการในการคัดเลือกพันธุ์ของเกษตรกรเองที่ต่างกัน จึงทำให้เมล็ดที่มีชื่อพันธุ์เดียวกันมีความแปรปรวนเกิดขึ้น นอกจากนั้นยังพบความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กภายในเชื้อพันธุ์ที่ได้จากแต่ละเกษตรกรด้วย เมื่อทดสอบในรุ่นลูก (progeny test) ก็ยังพบว่ามีความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ด ระหว่างชื่อพันธุ์ ภายในชื่อพันธุ์เดียวกัน และภายในตัวอย่างเชื้อพันธุ์ มีค่าอยู่ระหว่าง 9.6-16.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในการปลูกทดสอบในรุ่นลูกนี้ยังพบว่ามี 1 ต้นของพันธุ์ BB ที่ในเมล็ดมีปริมาณธาตุเหล็กสูงถึง 16.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณเหล็กนี้มากกว่าปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวที่ได้มาจากเกษตรกร อีกทั้งยังพบความหลากหลายทางพันธุกรรมของลักษณะสัณฐานวิทยาบางลักษณะในการปลูกทดสอบรุ่นลูก เช่น ลักษณะของสีเมล็ด สีเยื่อหุ้มเมล็ด สียอดดอก สีข้อ สีปล้อง สีแผ่นใบ ภายในแต่ละตัวอย่างพันธุกรรม ซึ่งพบว่ามีความหลากหลายทั้งระหว่างชื่อพันธุ์ ภายในชื่อพันธุ์เดียวกัน และในตัวอย่างเชื้อพันธุ์เดียวกันโดยจะเห็นได้ว่า BK1 มีค่าความหลากหลายมากที่สุด (H' รวม = 3.2358) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างเชื้อพันธุ์อื่น ๆ ถึงแม้ว่าจะไม่พบความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยาใน BGU5 (H' รวม = 0) แต่ก็ยังพบความแปรปรวนของวันออกดอก ความสูง และจำนวนหน่อต่อต้น แสดงว่าภายในตัวอย่างเมล็ดที่ได้จากเกษตรกรนั้น ยังมีความแตกต่างของพันธุกรรมที่เราสังเกตไม่ได้ ลักษณะที่แสดงออกมานั้นเป็นเพียงระดับ phenotype

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เท่านั้น ซึ่งการแยกความแตกต่างของพันธุกรรมให้ออกมาชัดเจนนั้น จำเป็นต้องใช้เทคนิคทางระดับโมเลกุลในการศึกษาขั้นต่อไป

ความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดของข้าวพื้นเมืองที่ได้จากเกษตรกร คาดว่าเป็นพันธุกรรมที่มีลักษณะเป็น heterogeneous population ซึ่งลักษณะของพันธุกรรมแบบนี้ เป็นไปได้ว่าสามารถพบลักษณะของเมล็ดที่มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูงมากกว่าภายในพันธุกรรมเดียวกัน ซึ่งการทดสอบในรุ่นลูกนี้ (progeny test) จะเป็นเครื่องมือในการทดสอบปัจจัยทางพันธุกรรมที่มีผลต่อปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดและสามารถที่จะแยกเมล็ดที่มีปริมาณธาตุเหล็กสูงออกมาจากภายในพันธุกรรมได้ เป็นการเพิ่มแหล่งพันธุกรรมของปริมาณเหล็กสูงในเมล็ด และประโยชน์แก่นักปรับปรุงพันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ข้าวที่มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง

ในการตรวจสอบความแปรปรวนของพันธุกรรมข้าวพื้นเมืองนั้น สามารถใช้วิธีการย้อมสีด้วยเพิร์ล พรัสเซียนบลู (Perl's Prussian blue) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ตรวจสอบความแตกต่างทางปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ประหยัด และรวดเร็ว แม้ว่ามีตัวอย่างปริมาณน้อย เพราะสามารถทำได้ทีละ 1 เมล็ด ก็ทำให้ทราบปริมาณธาตุเหล็กที่มีอยู่ในเมล็ดได้ (Prom-u-thai *et al*., 2003) ซึ่งต่างจากวิเคราะห์ทางเคมีที่ต้องใช้จำนวนเมล็ด 30-40 เมล็ดในการวิเคราะห์แต่ละครั้ง จากการศึกษาพบว่าข้าวพื้นเมืองที่ได้จากเกษตรกรมีความแปรปรวนของการติดสีย้อม ทั้งระหว่างชื่อพันธุ์ ภายในชื่อพันธุ์เดียวกัน และภายในตัวอย่างเชื้อพันธุ์ ซึ่งในระหว่างชื่อพันธุ์ที่มีการติดสีย้อมสีเข้มในปริมาณมาก เช่น BMTA2, BB3, BKK1 และ BC1 ก็จะมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง ในทำนองเดียวกัน พันธุ์ที่มีการติดสีย้อมที่ต่ำก็จะมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดต่ำเช่นกัน เช่น BS BKCM PAKP, PAC และ PAKK เป็นต้น ภายในชื่อพันธุ์เดียวกันนั้นมีความแปรปรวนของการย้อมสีเช่นกัน โดยภายในชื่อพันธุ์เดียวกันนั้น มีบางตัวอย่างเชื้อพันธุ์ที่มีการติดสีย้อมสีเข้มในปริมาณมาก เช่น BB1, BB3, BB4 ก็จะมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง ในขณะเดียวกันก็มีบางตัวอย่างเชื้อพันธุ์ที่มีการติดสีย้อมต่ำเป็นจำนวนมาก เช่น BB6 และ BB9 ก็จะมีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดต่ำ ทำให้ภายในชื่อพันธุ์เดียวกันนั้นมีความแปรปรวน ส่วนภายในตัวอย่างเชื้อพันธุ์ก็มีความแปรปรวนของการติดสีย้อม โดยการติดสีย้อมมีตั้งแต่สีเข้ม จนถึงไม่ติดสีเลย ซึ่งจะเห็นได้ว่าความแปรปรวนของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดของข้าวพื้นเมืองในการย้อมสีเพิร์ล พรัสเซียนบลู มีความสัมพันธ์เป็นไปในทิศทางเดียวกับปริมาณธาตุเหล็กที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมี ($r=0.74^*$) ซึ่งในข้าวพื้นเมืองพันธุ์ CMU122 CMU123 และ CMU124 ติดสีย้อมเป็นสีเข้มในปริมาณมาก ก็พบว่ามีปริมาณเหล็กในเมล็ดสูงเช่นกัน (Prom-u-thai, 2003)

อย่างไรก็ตาม นอกจากปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวจะมีอิทธิพลมาจากพันธุกรรมแล้ว การเคลื่อนย้ายและสะสมธาตุเหล็กในส่วนต่าง ๆ ของพืชก็มีผลต่อปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดเช่นกัน ซึ่งจาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การศึกษาความแตกต่างของการสะสมปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวในระหว่างการพัฒนาการของเมล็ดในข้าวพันธุ์ที่มีเหล็กสูงและต่ำ พบว่าในพันธุ์ที่มีเหล็กในเมล็ดสูง(IR68144 และ CMU122) มีการสะสมธาตุเหล็กในข้าวกล้องเร็วกว่าพันธุ์ที่มีเหล็กในเมล็ดต่ำ (เหนียวอุบล2 และ ขาวดอกมะลิ105) โดยมีการสะสมมากกว่าครึ่งของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดทั้งหมด ตั้งแต่10 วันหลังจากการพัฒนาเมล็ด ทั้งในสภาพที่มีธาตุเหล็กจำกัด และเพียงพอ แต่พบว่า CMU122 มีการสะสมธาตุเหล็กได้สูงสุด ตั้งแต่ 20 วันหลังจากการพัฒนาเมล็ด เมื่อมีธาตุเหล็กจำกัด ในขณะเดียวกันเมื่อมีธาตุเหล็กเพียงพอ มีอัตราการสะสมธาตุเหล็กเหล็กเพิ่มขึ้น แสดงว่า CMU122 ตอบสนองต่อธาตุเหล็กที่ให้ได้ดี เห็นได้จากปริมาณธาตุเหล็กในข้าวกล้องที่มีอยู่สูง ถึงแม้ว่ามีธาตุเหล็กจำกัดหรือว่ามีธาตุเหล็กเพียงพอก็ตาม เนื่องจาก CMU122 เป็นข้าวพันธุ์พื้นเมือง มีคุณสมบัติในการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมได้กว้าง (Frankel, 1995) จึงมีปริมาณธาตุเหล็กของข้าวกล้องในระดับที่สูง ส่วน IR68144 เมื่อมีธาตุเหล็กจำกัด อัตราการสะสมเพิ่มขึ้นตลอดการพัฒนาเมล็ด แต่เมื่อให้เหล็กเพียงพอ จะมีอัตราการสะสมเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน แต่มีการสะสมธาตุเหล็กที่ต่ำกว่าในสภาพที่จำกัด แสดงว่า IR68144 มีการตอบสนองต่อธาตุเหล็กที่ให้ลดลง โดยปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดที่มีต่ำนั้น เป็นเพราะธาตุเหล็กอาจไปสะสมในส่วนอื่น ๆ มาก เช่น ต้น ใบ ใบอ่อน ราก ส่วนในพันธุ์ที่มีปริมาณเหล็กในเมล็ดต่ำ มีการสะสมธาตุเหล็กต่ำกว่าครึ่งของปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดทั้งหมด ตั้งแต่ 10 วันหลังจากการพัฒนาเมล็ด และมีอัตราเพิ่มขึ้น แต่ยังคงมีปริมาณธาตุเหล็กในข้าวกล้องต่ำอยู่ ทั้งในสภาพที่มีธาตุเหล็กจำกัดและเพียงพอ แสดงว่าทั้งสองพันธุ์มีการตอบสนองต่อธาตุเหล็กที่ให้ได้ต่ำ เนื่องจากมีกลไกในการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กต่างจากพันธุ์ที่มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดสูง จึงทำให้มีการสะสมธาตุเหล็กในข้าวกล้องได้ต่างกัน

การเคลื่อนย้ายธาตุอาหารในพืช มักเกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพในการใช้ธาตุอาหารของพืช ซึ่งขึ้นอยู่กับ การดูดธาตุอาหาร การเคลื่อนย้ายธาตุอาหาร ประสิทธิภาพในการใช้ธาตุอาหาร และ การหมุนเวียนของธาตุอาหารนั้น(Marschner, 1995) จากการศึกษาพบว่า ในพันธุ์เหนียวอุบล2 มีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กที่สะสมในรากมาสู่ต้นได้ดี ซึ่งธาตุเหล็กที่สะสมในรากนั้นอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ จึงสามารถเคลื่อนที่ไปได้มาก และมีประสิทธิภาพในการดูดใช้ธาตุเหล็กได้ดี ทำให้มีปริมาณธาตุเหล็กสะสมในต้นมาก ส่วนขาวดอกมะลิ105 และ IR68144 มีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กมาสู่ต้นได้ปานกลางเท่านั้น และมีประสิทธิภาพในการดูดใช้ธาตุเหล็กได้ดี แต่กลับพบว่า มีกลไกบางอย่างที่ทำให้ปริมาณธาตุเหล็กที่สะสมในต้นต่างกัน โดยขาวดอกมะลิ105มีเหล็กสะสมในต้นมากอาจเกิดจากรากมีการดูดธาตุเหล็กจากภายนอกเข้ามาสะสมได้อีก แต่ในรากของ IR68144 ไม่มีการดูดธาตุเหล็กจากสารละลายภายนอกเพิ่มขึ้น จึงทำให้มีธาตุเหล็กสะสมในต้นน้อย อีกทั้งมีการเคลื่อนย้ายไปยังเมล็ดได้มากอีกด้วย แสดงว่า IR68144 สามารถใช้ประโยชน์จากธาตุเหล็กได้มาก ส่วนพันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

CMU122 พบว่ามีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กเข้าสู่ต้นได้ต่ำ จึงมีธาตุเหล็กสะสมอยู่ที่รากเป็นจำนวนมาก อีกทั้งมีการดูดธาตุเหล็กจากภายนอกเพิ่มได้อีก และมีประสิทธิภาพในการดูดใช้ธาตุเหล็กได้ต่ำ แสดงว่ารากที่มีอยู่เป็นจำนวนมากนั้นไม่สามารถเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กมายังต้นได้มากเท่าที่ควร ซึ่งธาตุเหล็กอาจตกตะกอนหรืออยู่ในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ จึงมีธาตุเหล็กสะสมอยู่ในรากเป็นจำนวนมาก ธาตุเหล็กที่สะสมในต้นที่มีมากกว่าพันธุ์อื่น ๆ เนื่องจากมีรากเป็นจำนวนมาก ทำให้มีธาตุเหล็กสะสมมากตามไปด้วย

ความเข้มข้นของธาตุเหล็กที่สะสมในส่วนต่าง ๆ ของพืช ลดลงตลอดการพัฒนาการของเมล็ด เนื่องจากมีการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กไปยังส่วนที่ขยายพันธุ์ หรือ เมล็ด (Garnett and Graham, 2005) จากการทดลองพบว่า พันธุ์เหนียวอุบล2 และขาวดอกมะลิ105 มีความเข้มข้นของส่วนต่าง ๆ ลดลงเช่นกัน แต่ในรากของเหนียวอุบล2 มีการดูดธาตุเหล็กจากสารละลายภายนอกเพิ่มขึ้น ส่วน IR68144 และ CMU122 กลับมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีการเคลื่อนย้ายจากรากได้อีก

ส่วนปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดนั้น พบว่าได้มาจากการปันส่วนจากส่วนต้นและราก ซึ่งการปันส่วนของธาตุเหล็กมายังเมล็ดมีเพียงร้อยละ 0.8-2.5 ของปริมาณธาตุเหล็กทั้งหมดที่ได้จากต้นและรากเท่านั้น ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำมาก เช่นเดียวกับการรายงานของ Grusak *et al* (1999) ซึ่งพบปริมาณเหล็กในต้นทั้งหมดเพียงร้อยละ 4 เท่านั้นที่มีอยู่ในเมล็ด ต่างจากข้าวสาลีที่พบธาตุเหล็กถึงร้อยละ 77 (Garnett and Graham, 2005) ในข้าวอาจมีข้อจำกัดบางประการ เช่น มีข้อจำกัดของท่อลำเลียงน้ำ และอาหาร จากต้นไปยังส่วนเมล็ด จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีการเคลื่อนย้ายธาตุเหล็กเข้าสู่เมล็ดได้ต่ำ (Ogawa *et al.*, 2002) โดยพบว่าพันธุ์ IR68144 มีการปันส่วนของธาตุเหล็กมายังเมล็ดและข้าวกล้องมากที่สุด (0.9-2.5 %) ทั้งสองสภาพเหล็ก แสดงว่าสามารถใช้ประโยชน์จากธาตุเหล็กที่สะสมอยู่ภายในต้นและรากได้ดี จึงมีธาตุเหล็กสะสมในข้าวกล้องมาก ซึ่งเป็นส่วนที่สามารถรับประทานได้ ส่วนพันธุ์ CMU122 เป็นพันธุ์ที่มีปริมาณเหล็กสูงเช่นเดียวกับ IR68144 กลับพบว่ามีการปันส่วนของธาตุเหล็กมายังเมล็ดและข้าวกล้องปานกลางเท่านั้น (0.6-0.9 %)แต่ยังทำให้มีธาตุเหล็กในข้าวกล้องสูงอยู่ เนื่องจากมีขนาดเมล็ดใหญ่ จึงทำให้มีแหล่งในการสะสมธาตุเหล็กมากขึ้น ส่วนเหนียวอุบล2 และขาวดอกมะลิ105 มีการปันส่วนของธาตุเหล็กมายังเมล็ดได้ดี (0.8-1.9 %) แต่มีการปันส่วนมายังข้าวเปลือกได้น้อยมาก เคลื่อนย้ายมายังข้าวกล้องต่ำมาก (0.2-0.6 %) ซึ่งธาตุเหล็กส่วนใหญ่พบในเปลือกมาก จึงทำให้ข้าวกล้องมีปริมาณธาตุเหล็กต่ำ เช่นเดียวกับ IR64 ที่เป็นพันธุ์ที่มีปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดต่ำ และมีธาตุเหล็กสะสมในเปลือกมากกว่า 3.5 เท่า สูงกว่า IR68144 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีเหล็กในเมล็ดสูง (Hao *et al*., 2005)

อย่างไรก็ตาม Marschner (1995) ได้กล่าวไว้ว่า พืชที่มีพันธุกรรมที่แตกต่างกันจะมีสมรรถภาพในการใช้ธาตุอาหารต่างกัน และเป็นผลมาจากการควบคุมกลไกภายใน (homeostatic mechanism) ที่อยู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภายในพืช ซึ่งจะเป็นตัวควบคุมการดูดใช้และการปันส่วนของจุลธาตุ (Welch and Graham 2002) ทำให้พืชมีการสะสมธาตุอาหารได้แตกต่างกัน และจะเห็นได้ว่าปริมาณเหล็กที่สะสมในเมล็ดข้าวมากหรือน้อยนั้น ไม่ได้เป็นผลมาจากการที่มีปริมาณเหล็กในต้นเพียงอย่างเดียว และยังเป็นผลของการปันส่วนของธาตุเหล็กของแต่ละพันธุ์ด้วย ซึ่งการพัฒนากลยุทธ์ สำหรับการเพิ่มปริมาณเหล็กในเมล็ดนั้น จำเป็นต้องเข้าใจความสัมพันธ์ของตัวแปรต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในส่วนของต้น และการควบคุม การปันส่วนของเหล็กที่ดูดซับเข้ามา (Grusak, 1994)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved