บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

ความสำคัญของข้าว

ความสำคัญต่อเกษตรกรและผู้บริโภค ประชากรของโลกส่วนใหญ่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลักทุกวัน โดยเฉพาะในแถบเอเชียและประเทศไทยก็เป็นหนึ่งในนั้นที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก จากการที่ประชากรของโลกนับวันจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ แต่การผลิตอาหารกลับลดน้อยลง เนื่องจากคุณภาพของดินเสื่อมลง การเกิดภัยพิบัติทางธรรมชาติ อีกทั้งพื้นที่ปลูกข้าวมีปริมาณเท่าเดิมหรือลดลง ทำให้ผลผลิตของข้าวมีไม่เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกรและผู้บริโภค ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาค้นคว้าเทคโนโลยีใหม่ๆ มาใช้ในการเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ให้สูงขึ้น เช่น การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกลูกผสมกลับ เป็นต้น

ความสำคัญต่อเศรษฐกิจ จากการที่ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความอุดมสมบูรณ์เหมาะแก่การเกษตรและเหตุที่คนไทยบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก จึงทำให้ประเทศไทยผลิตข้าวได้เป็นจำนวนมาก อีกทั้งยังสามารถส่งออกทำรายได้เข้าประเทศได้อีกด้วย โดยมีปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นทุกปี ในปี 2546 ไทยส่งออกข้าวถึง 7.3 ล้านตัน จากปริมาณซื้อขายในโลกทั้งหมดประมาณ 26-27 ล้านตัน และในปี 2547 ปริมาณการส่งออกทั้งหมดอยู่ที่ประมาณ 9.27 ล้านตันและเป็นปีแรกที่ไทยส่งออกข้าวไปต่างประเทศมากที่สุด (นุชฤดี, 2549) แต่กระทรวงเกษตรสหรัฐฯ (USDA) ได้ประมาณการผลผลิตข้าวทั่วโลกในปี 2548/2549 ว่าจะมีปริมาณ 405.6 ล้านตัน ขณะที่การบริโภคมีประมาณ 413.4 ล้านตัน ซึ่งปริมาณการบริโภคนั้นมีมากกว่าการผลิต คาดว่าจะทำให้ข้าวที่เก็บสะสมไว้ของทั้งโลกที่มีอยู่ประมาณ 65.6 ล้านตัน ลดลง 10.6 เปอร์เซ็นต์ (รายงานการซื้อขายสินค้าเกษตรล่วงหน้าแห่งประเทศไทย, 2548) ด้วยเหตุนี้ประเทศที่ทำการผลิตและส่งออกข้าวจึงต้องทำการผลิตข้าวออกมาให้มีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค

แหล่งกำเนิดและวิวัฒนาการของข้าว

ข้าวเป็นพืชที่มนุษย์เราปลูกเป็นอาหารมานับพันปีแล้ว โดยข้าวจัดอยู่ในสกุลออไรซา (Genus *Oryza*) ของวงศ์เกรมินี (Family *Gramineae*) โดยส่วนใหญ่จะเป็นพวกที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 2 ชุด (diploid 2n = 24) (บุญหงษ์, 2547) ข้าวที่เกิดขึ้นในท้องที่ต่างๆ ของโลกเรานี้

แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ ออไรซา ซาไทวา (*Oryza sativa* L.) มีปลูกกันทั่วไปออไรซา แกลเบอร์ริมา (*Oryza glaberrima* S.) มีปลูกเฉพาะในแอฟริกาเท่านั้น และข้าวป่าซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในประเทศต่างๆ ที่ปลูกข้าว (ai_pauhunk, 2545)

สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร ได้จำแนกข้าวตามลักษณะทรงต้นข้าว ซึ่งแบ่งได้ 3 ชนิด คือ อินดิคา (indica type) จาโปนิคา (japonica type) และจาวานิคา (javanica type) ซึ่งลักษณะของข้าวแต่ละชนิด แสดงดังตาราง 1

ตาราง 1 แสดงข้อแตกต่างระหว่างลักษณะที่สำคัญของข้าวอินดิคา จาโปนิคา และจาวานิคา

ลักษณะ	ชนิดของข้าว		
	อินดิคา (indica)	จาโปนิคา (japonica)	จาวานิคา (javanica)
1. ใบ	กว้างและสีเขียวอ่อน	แคบและสีเขียวแก่	กว้างแข็งและสีเขียวอ่อน
2. เมล็ด	ยาวค่อนข้างแบน	สั้นกลม	กว้างหนา
3. กอ	แตกกอมาก	แตกกอปานกลาง	แตกกอน้อย
4. ต้น	สูงอ่อน	เตี้ย แข็ง	สูง แข็ง
5. หางของเมล็ด	สั้นมาก	สั้นมาก ยาว	สั้นมาก ยาว
6. ขนบนของข้าวเปลือก	สั้น	ขนมากและยาว	ยาว
7. การร่วงของเมล็ด	ง่าย	ยาก	ยาก

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว มีอยู่ 2 ลักษณะ คือ

1. ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตทางลำต้น ได้แก่

ราก (root) เป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) ประกอบด้วยรากเล็กๆ แตกออกจากข้อโคนต้นที่อยู่ใต้ดิน รากเล็กๆ นี้จะมีขนราก (root hair) ทำหน้าที่ดูดอาหาร

ลำต้น (clum) ตั้งตรง กลม ประกอบด้วยข้อปล้องสลับกันไป แกนกลางกลวง ความสูงของลำต้นขึ้นกับพันธุ์และสิ่งแวดล้อม พันธุ์ข้าวพื้นเมืองของไทยมีความสูงเฉลี่ย 120-150 เซนติเมตร ส่วนข้าวขึ้นน้ำมีรายงานว่าสูงถึง 8 เมตร

ใบ (leaf) มีลักษณะแบนบาง ยาวแคบ เกิดที่ข้อบนลำต้น เกิดสลับกันเป็น 2 แถวในทิศทางตรงกันข้าม ใบประกอบด้วยกาบใบ (leaf sheath) ซึ่งเป็นส่วนของก้านใบที่แผ่เป็นกาบหุ้มส่วนที่เป็นข้อปล้อง ซึ่งหนากว่าแผ่นใบ (leaf blade) รอยต่อระหว่างกาบใบและแผ่นใบจะมีลักษณะรอยพับ เรียกว่าข้อต่อใบ (collar) ทำมุมทแยงยื่นออกไปจากลำต้น ที่ข้อต่อมีเยื่อกันน้ำฝน (ligule) เป็นเยื่อบางๆ รูปสามเหลี่ยมมุมแหลม

2. ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ ได้แก่

ช่อดอกหรือรวงข้าว (inflorescence or panicle) เมื่อมีการผสมพันธุ์ในดอกข้าว ระหว่างเซลล์สืบพันธุ์ของเพศผู้และเพศเมียจะทำให้มีการพัฒนาเกิดเป็นเมล็ดภายในแต่ละดอก เรียกช่อดอกที่พัฒนาไปเป็นช่อเมล็ดว่า รวงข้าว

ดอกข้าว (spikelet) ประกอบด้วยกลีบดอกใหญ่ (lemma) และกลีบดอกเล็ก (palea) 2 กลีบประกบกัน ที่ผิวกลีบดอกทั้ง 2 ชนิดอาจมีขนหรือไม่มีขนก็ได้ ที่ปลายสุดของกลีบดอกใหญ่จะมีลักษณะแหลมยื่นออกมาเรียกว่า หาง เกสรเพศผู้ (stamen) และเกสรเพศเมีย (pistil) จะอยู่ภายในดอกข้าวโดยมีกลีบดอกใหญ่และกลีบดอกเล็กหุ้มไว้ ในแต่ละดอกจะมีเกสรเพศผู้จำนวน 6 อัน และเกสรเพศเมีย (stigma) จำนวน 2 อัน ส่วนบนสุดของเกสรเพศผู้จะเป็นกระเปาะสีเหลือง เรียกว่า อับเรณู (anther) ซึ่งภายในมีละอองเรณู (pollen grains) ขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก ส่วนเกสรเพศเมียมีลักษณะคล้ายขนนกขนาดเล็กจำนวน 2 อัน ทำหน้าที่รองรับละอองเรณู และตั้งอยู่บนก้านเกสรเพศเมีย (style) ซึ่งเชื่อมติดอยู่กับรังไข่ (ovary) ภายในรังไข่จะมีออวุล (ovule) ซึ่งเมื่อไข่ (egg) ได้รับการผสมจากละอองเรณูแล้วออวุลจะพัฒนาเป็นเมล็ดในที่สุด

เมล็ด (seed) เมล็ดข้าวหรือข้าวกล้องประกอบด้วยเอนโดสเปิร์ม (endosperm) และเอ็มบริโอ (embryo) ซึ่งถูกหุ้มไว้ด้วยผนังผล (pericarp) ซึ่งเป็นเยื่อหุ้มชั้นนอก เยื่อหุ้มชั้นกลางเป็นเปลือกเมล็ดและนิวเซลลัส (seed coat and nucellus) และเยื่อหุ้มชั้นในเป็นชั้นแอลิวโรน (aleurone layer) เมล็ดข้าวจะถูกพัฒนาขึ้นมาหลังจากการผสมพันธุ์ระหว่างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย ไข่ก็จะกลายไปเป็นเอ็มบริโอ เราเรียกส่วนของเมล็ดข้าวที่ถูกหุ้มด้วยกลีบดอกใหญ่ และกลีบดอกเล็กว่า เมล็ดข้าวเปลือก (paddy)

การเจริญเติบโตของต้นข้าว

การเจริญเติบโตของต้นข้าว แบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ

1. การเจริญเติบโตและพัฒนาทางลำต้น แบ่งเป็น 2 ระยะ คือ

1.1 ระยะต้นกล้า (seedling stage) คือระยะตั้งแต่ข้าวเริ่มงอกจนถึงต้นข้าวอายุประมาณ 30 วัน

1.2 ระยะแตกกอ (tillering stage) คือระยะที่ต้นข้าวเริ่มมีการแตกหน่อใหม่หน่อแรก จนถึงระยะแตกกอสูงสุด

2. การเจริญเติบโตและพัฒนาทางการสืบพันธุ์ แบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ

2.1 ระยะกำเนิดช่อดอกหรือระยะสร้างรวงอ่อน (panicle initiation stage) เป็นระยะที่ต้นข้าวมีลักษณะลำต้นกลมอย่างเด่นชัด การให้กำเนิดช่อดอกหรือรวงอ่อนนี้ ปกติจะอยู่ในช่วงระยะเวลาประมาณ 30 วัน ก่อนข้าวออกรวง

2.2 ระยะตั้งท้อง (booting stage) จะอยู่ในช่วงระยะเวลา 5-6 วันก่อนการออกดอก

2.3 ระยะออกรวง (heading stage) คือระยะที่ช่อดอกหรือรวงข้าวโผล่พ้นออกมาจากกาบใบธงซึ่งจะเกิดขึ้นในระยะเวลาประมาณ 30 วัน ก่อนการเก็บเกี่ยว

2.4 ระยะดอกบาน (flowering or anthesis stage) หมายถึงระยะเวลาการปิดกลีบดอกและเปิดกลีบดอกข้าวโดยปกติจะใช้เวลาประมาณ 1-2.5 ชั่วโมง

3. การเจริญเติบโตและพัฒนาของเมล็ด

คือระยะที่ข้าวมีการผสมพันธุ์จนถึงช่วงเมล็ดสุกแก่เต็มที่พร้อมที่จะเก็บเกี่ยว โดยใช้เวลาประมาณ 30 วัน

การจำแนกข้าวตามฤดูปลูก

การจำแนกข้าวตามฤดูปลูก แบ่งเป็น

1. ข้าวนาปี (rain fed rice) คือข้าวที่ปลูกในฤดูการทำนา สำหรับในประเทศไทยเริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคม และจะเก็บเกี่ยวเสร็จสิ้นไม่เกินสิ้นเดือนกุมภาพันธ์

2. ข้าวนาปรัง (off-season rice) จะเริ่มปลูกตั้งแต่เดือนมกราคมในบางท้องที่ และจะเก็บเกี่ยวอย่างช้าสุดไม่เกินเดือนเมษายน นิยมปลูกในท้องที่ที่มีการชลประทานดี (มหาวิทยาลัยแม่โจ้, 2549)

ลักษณะประจำพันธุ์ข้าว

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 (glutinous rice cv. RD 6)

เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวหอมพันธุ์แรก ที่ได้รับการพิจารณาจากคณะกรรมการพิจารณาพันธุ์ของกรมวิชาการเกษตรให้ใช้เป็นพันธุ์รัฐบาล เพื่อขยายพันธุ์ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือในปี พ.ศ. 2520 กข 6 ได้จากข้าวหอมมะลิ 105 ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 10 กิโลแรด ที่สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ ในปี พ.ศ. 2508 ได้ทำการปลูกและคัดเลือกครั้งแรกที่สถานีทดลองข้าวบางเขนและพิมาย (Geocities, 2549) กข 6 เป็นพันธ์ข้าวเหนียวที่มีคุณภาพการสีดี และคุณภาพการหุงต้มดีมาก ข้าวสุกมีกลิ่นหอมอ่อนนุ่ม และให้ผลผลิตสูง ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง ไม่ต้านทานแมลงบั่วและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (กรมวิชาการเกษตร, 2549)

ข้าวเจ้าพันธุ์ กข 1 (non-glutinous rice cv. RD 1)

ข้าวเจ้าพันธุ์ กข 1 เป็นข้าวเจ้าพันธุ์ผสมต้นเตี้ย ได้มาจากการผสมพันธุ์ระหว่างไออาร์8 (IR8) จากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ ประเทศฟิลิปปินส์ กับพันธุ์ข้าวเหลืองทอง (มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ, 2549) ข้าวเจ้าพันธุ์ กข 1 นั้นได้ทำการผสมพันธุ์ที่สถานีทดลองข้าวบางเขนในฤดูนาปรังเมื่อปี พ.ศ. 2509 ให้ผลผลิตประมาณ 740 กิโลกรัมต่อไร่ ปลูกได้ทั้งในฤดูนาปีและนาปรัง อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 130 วัน มีความสูงประมาณ 115 เซนติเมตร ต้านทานต่อโรคใบจุดสีน้ำตาล แตกกอดี และไม่ล้มง่าย คณะกรรมการพิจารณาพันธุ์ให้ใช้ขยายพันธุ์เมื่อวันที่ 15 ธันวาคม 2512 (ศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวนครสวรรค์, 2549)

การปฏิวัติเขียว (Green Revolution)

ในปี 1960-1996 ประชากรโลกมีจำนวนเพิ่มขึ้นจาก 6 พันล้านคนถึง 2 เท่า โดยในประเทศที่กำลังพัฒนาพบว่ามีประชาชนผู้หิวโหยอยู่ประมาณ 1000 ล้านคน ซึ่งคิดเป็น 50% ของประชากรทั้งหมดในประเทศที่กำลังพัฒนานี้ (สมพิศ สามิภักดิ์ และ พิเชษฐ กิจธารา, 2547) โดยพบว่าในประเทศจีนมีจำนวนประชากรที่อดอยากเพิ่มขึ้น 11 เปอร์เซ็นต์ จาก 536 ล้านคนเป็น 597 ล้านคน ทางตอนใต้ของทวีปอเมริกา จำนวนประชากรที่อดอยากเพิ่มขึ้น 19 เปอร์เซ็นต์ ส่วนทางตอนใต้ของประเทศในแถบเอเชีย จำนวนประชากรที่อดอยากคิดเป็น 9 เปอร์เซ็นต์เท่ากับจำนวนประชากรที่ไม่อดอยากอาหาร (Rosset *et al.*, 2000) สาเหตุที่ทำให้จำนวนอาหารที่ผลิตได้ไม่

เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภคนั้น เนื่องจากสายพันธุ์ข้าวและข้าวสาลีซึ่งเป็นอาหารหลักของประชากรทั่วโลกที่ปลูกในยุคก่อนการปฏิวัติเขียวนั้นมีลำต้นสูง มีใบมาก ดัชนีการเก็บเกี่ยวมีค่าน้อย และเมื่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในปริมาณมาก สายพันธุ์ข้าวท้องถิ่นจะมีความสูงมาก เนื่องจากการเจริญทางด้านความสูงมีมากเกินไป ล้มง่ายจึงทำให้ผลผลิตน้อย (Khush, 2001) ทำให้ในช่วงระยะเวลานี้เองที่เกิดการปฏิวัติเขียวขึ้น ผลผลิตที่ได้จากการเกษตรมีจำนวนมากขึ้น เนื่องมาจากพืชที่ปลูกมีต้นเตี้ยลง ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นในระดับที่มากกว่าอัตราการเพิ่มของประชากร โดยจะเห็นได้จากการเปรียบเทียบจำนวนประชากรที่อดอยากทั่วโลกในปี 1970 เทียบกับปี 1990 พบว่ามีอัตราการผลิตอาหารเพิ่มสูงขึ้น ส่วนประชากรที่อดอยากมีจำนวนลดลง ซึ่งจำนวนอาหารทั้งหมดคิดเป็นต่อคนแล้วเพิ่มขึ้นเป็น 11 เปอร์เซ็นต์ ทำให้จำนวนคนที่อดอยากลดลงจาก 942 ล้านคน เป็น 786 ล้านคนโดยลดลง 16 เปอร์เซ็นต์ (Rosset *et al.*, 2000)

การปฏิวัติเขียวเกิดขึ้นครั้งแรกในปี 1960 เป็นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวสาลี โดย Dr. Borlaug และคณะได้ใช้เวลาศึกษาปรับปรุงพันธุ์ข้าวสาลีถึง 20 ปี (Steller, 2006) สถานที่ทำการทดสอบผลผลิตอยู่ทางตะวันตกเฉียงเหนือของประเทศเม็กซิโกโดยใช้ข้าวสาลีพันธุ์ Norin 10 ซึ่งมีต้นเตี้ยในการปรับปรุงพันธุ์ โดยทำการคัดเลือกเอาประชากรในแต่ละรุ่นที่มีการกระจายตัวของยีนที่สามารถปรับตัวได้ดีในสภาวะอากาศที่แตกต่างกันและในสถานที่ต่างกัน (Khush, 2001) สุดท้ายจึงได้พันธุ์ข้าวสาลีที่มีผลผลิตมากเป็น 2-3 เท่าของข้าวสาลีสายพันธุ์เดิม โดยพบว่าที่ประเทศปากีสถานผลผลิตของข้าวสาลีเพิ่มขึ้นเป็น 3.8 ล้านตัน ส่วนที่ประเทศอินเดียผลผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 7.7 ล้านตัน ในระยะเวลาเพียง 5 ปี (Steller, 2006) สาเหตุที่ทำให้สายพันธุ์ที่ปรับปรุงขึ้นใหม่นี้มีผลผลิตมากกว่าสายพันธุ์เดิม เพราะว่าข้าวสาลีสายพันธุ์ใหม่นี้มีต้นเตี้ยลง ทำให้ตอบสนองต่อปุ๋ยเคมีและระบบชลประทานได้มากกว่าสายพันธุ์เดิม (Rosset *et al.*, 2000) ปัจจุบันทราบแล้วว่ายีนที่ทำให้ข้าวสาลีมีต้นเตี้ยคือยีน *Rht* ซึ่งถูกค้นพบโดย Penget โดยพบว่าข้าวสาลีที่มีต้นเตี้ยเกิดจากการแทนที่เบสในส่วนของ *Rht-B1b* และ *Rht-D1b* ทำให้เกิด stop codon ใน DELLA region เมื่อแปลรหัสเป็นโปรตีนแล้ว จะทำให้ส่วนของ DELL domain ของ gibberellin signal domain สั้นลง ทำให้ความสูงของต้นข้าวสาลีลดลงและให้ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้นซึ่งถือว่าเป็นการปฏิวัติเขียวในช่วงนั้น (Hedden, 2002) ทำให้ต่อมาในปี 1970 Dr. Borlaug ได้รับรางวัลโนเบลจากการปรับปรุงพันธุ์ข้าวสาลีให้ต้นเตี้ยและมีผลผลิตสูงเพียงพอต่อประชากรที่เพิ่มขึ้น (จรัญญา, 2548)

ส่วนการปรับปรุงพันธุ์ในข้าวนั้นเริ่มจากผู้จัดตั้ง International Rice Research Institute (IRRI) คือ รอคกี้เฟลเลอร์ (Rockefeller) และมูลนิธิฟอร์ด (Ford Foundations) ได้ทำการผลิตข้าวพันธุ์ IR8 ออกมาในปี 1966 ซึ่งถูกเรียกว่า " miracle rice" (Hedden, 2002) และได้แพร่ขยายไปยังแถบเอเชียอย่างรวดเร็ว โดยผลผลิตที่ได้ในประเทศเวียดนามในปี 1966 คือ 4 ตันต่อ

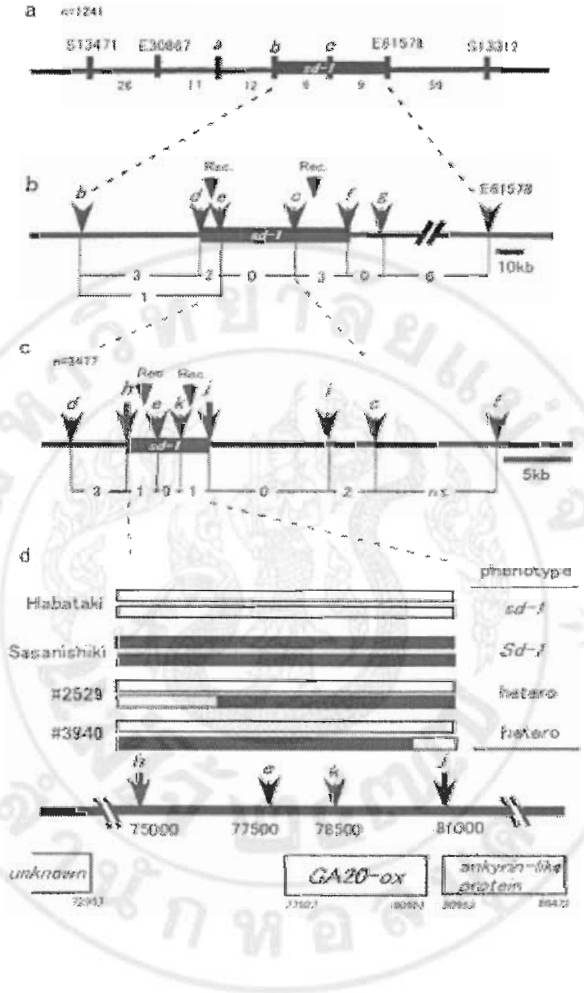
เฮกตาร์ มากกว่าสายพันธุ์พื้นเมืองที่มีผลผลิต 2 ตันต่อเฮกตาร์ (Tran, 2002) ส่วนในประเทศอินเดียและจีนในปี 1961-2001 ผลผลิตข้าวเพิ่มสูงขึ้นเฉลี่ยต่อปี 2.7 และ 2.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Fan *et al.*, 2003) การที่ข้าวมีต้นเตี้ยเกิดจากการทำงานของยีนด้อย (recessive gene) คือ *sd1* gene (Khush, 2001) ทำให้ข้าวต้นเตี้ยมีดัชนีการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น ต้านทานการล้ม ตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนได้ดีขึ้น ทำให้ยีน *sd1* เป็นที่รู้จักกันในชื่อ "ยีนปฏิวัติเขียว" (Green Revolution Gene) (Monna *et al.*, 2002) ในไต้หวันได้ทำการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีผลผลิตสูงโดยใช้สายพันธุ์ข้าวต้นเตี้ยของจีน คือ Dee-geo-woo ทำให้ได้สายพันธุ์ข้าว Taichung Native 1 (TN-1) ที่มีผลผลิตสูงพันธุ์ข้าวที่ถูกปรับปรุงพันธุ์ให้มีลักษณะลำต้นเตี้ย ได้แก่ข้าวพันธุ์ TN-1 และ IR8 ซึ่งได้ถูกนำไปเป็นพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อผลิตสายพันธุ์อินดิคา (indica) ต้นเตี้ยในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน รวมทั้งสายพันธุ์จาโปนิคา (japonica) ในประเทศเกาหลีและรัฐแคลิฟอร์เนีย ส่วนในประเทศไทยนั้นข้าวพันธุ์ IR8 เป็นพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ของข้าวต้นเตี้ยที่ให้ผลผลิตสูง ได้แก่ ข้าวพันธุ์ กข 1 กข 3 และ กข 4 (อัมมาร และวิโรจน์, 2533)

จะเห็นว่าจากการเกิดการปฏิวัติเขียวขึ้นนั้นทำให้อัตราการเพิ่มขึ้นของผลผลิตที่ได้มีมากกว่าอัตราการเพิ่มของประชากร จำนวนอาหารทั้งหมดเมื่อคิดเป็นต่อคนแล้วเพิ่มขึ้น แต่ในประเทศที่กำลังพัฒนานั้น กลับพบว่าอัตราการเพิ่มของผลผลิตลดลง เมื่อเทียบกับอัตราการเพิ่มของประชากร (Rosset *et al.*, 2000) สาเหตุที่จำนวนผลผลิตลดลงก็คือพืชที่ปลูกนั้นมีต้นสูง ล้มง่าย ทำให้ผลผลิตลดลง รวมทั้งคุณภาพของดินที่เสื่อมลงเนื่องจากการทำเกษตรกรรม และในปี 2040 คาดว่าทั่วโลกจะมีจำนวนประชากรมากรวมถึง 9-10 พันล้านคน ซึ่งจากอัตราการเจริญเติบโตของจำนวนประชากรที่สูงขึ้นนี้ จะทำให้มีพื้นที่ไม่เพียงพอที่จะบำรุงเลี้ยงประชากรที่เพิ่มขึ้นได้ ดังนั้นจะเห็นว่าเราต้องการการปฏิวัติเขียวครั้งที่ 2 (Knight, 2006) โดยที่ผลผลิตนั้นจะต้องเพิ่มขึ้นและจะต้องไม่เป็นผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ตำแหน่งของอัลลีล *Sd1/sd1* ในข้าว

Monna *et al.* (2002) ได้ทำการโคลนหาตำแหน่งของอัลลีล *Sd1/sd1* ด้วยวิธี position cloning พบว่าอัลลีลดังกล่าวเป็นรหัสพันธุกรรมของ gibberellin 20-oxidase (GA20ox) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน โดยทำการวิเคราะห์ประชากรของต้นข้าวจำนวน 3,477 ต้นที่มีการกระจายตัวของยีนโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด PCR-based marker คือ cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) derived-CAPS และ single

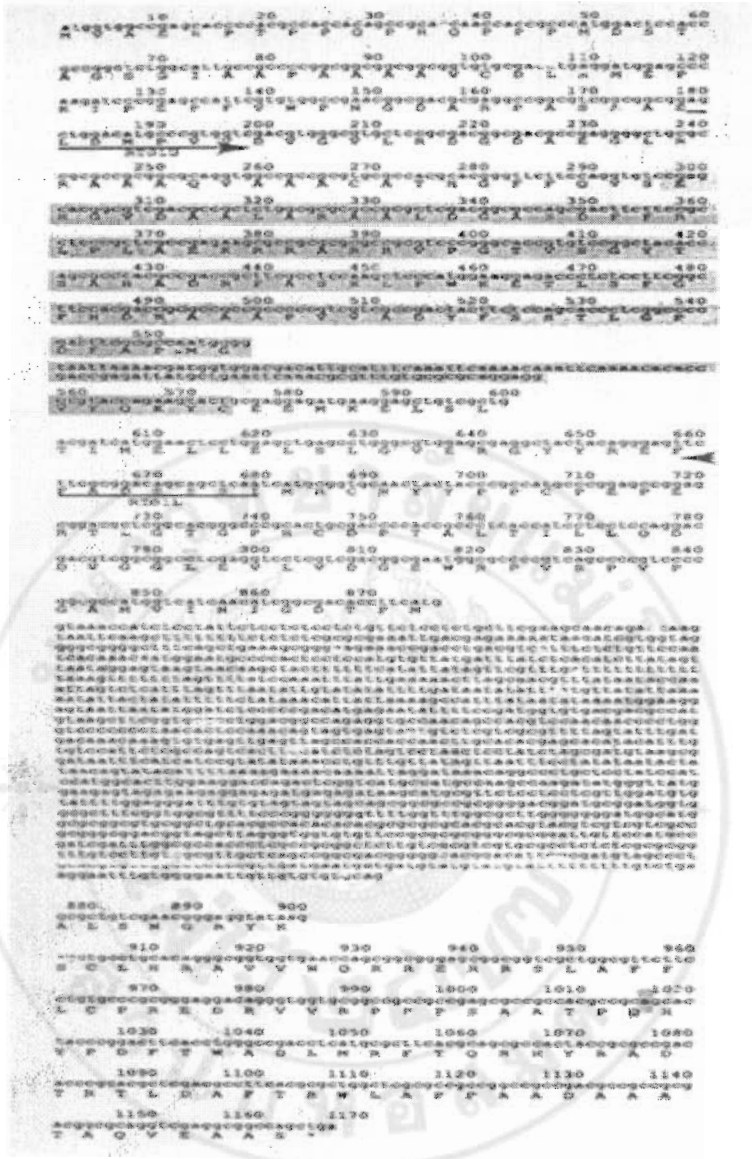
nucleotide polymorphisms ทำให้ได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 6 kb ซึ่งจะพบ open reading frame (ORF) เพียง 1 ORF เท่านั้นและเป็นรหัสพันธุกรรมของ gibberellin 20-oxidase ดังภาพ 1



ภาพ 1 genetic map ของอัลลีล *Sd1/sd1* ที่ได้จากประชากรของ SBIL5 ที่มีการกระจายตัว
ที่มา: Monna *et al.* (2002)

จากการศึกษาลำดับเบสใน ORF ซึ่งเป็นรหัสพันธุกรรมของ gibberellin 20-oxidase ในข้าวต้นสูง (normal-type rice cultivars) จำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ Nipponbare Sasanishiki และ Calrose พบว่ามีลำดับเบสเหมือนกัน คือประกอบด้วย 3 เอกซอน (exons) ที่มีจำนวนเบส 558 318 และ 291 คู่ ตามลำดับ และ 2 อินทรอน (introns) ที่มีจำนวนเบส 105 และ 1,471 คู่ ตามลำดับ ส่วนลำดับเบสใน ORF ซึ่งเป็นรหัสพันธุกรรมของ gibberellin 20-oxidase ในพันธุ์ข้าวต้นเตี้ยที่มียีน Dee-Geo-woo-Gen-type *sd-1* จำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ Habataki Milyang 23 และ IR24 พบว่ามี

การขาดหายไปของจำนวนเบส 383 คู่ ในจีโนม (ใน mRNA มีจำนวนเบสขาดหายไป 278 คู่) ซึ่งการขาดหายไปของลำดับเบสเริ่มจากช่วงกลางของเอกซอน 1 จำนวน 262 คู่ ในอินทรอน 1 จำนวน 105 คู่ และช่วงต้นของเอกซอน 2 จำนวน 16 คู่ การขาดหายไปของจำนวนเบสดังกล่าวทำให้เกิดการเคลื่อนของรหัสพันธุกรรม (frame-shift) จึงเกิดรหัสหยุด (termination codon) อยู่หลังตำแหน่งที่ขาดหายไป ส่วนลำดับเบสใน ORF ซึ่งเป็นรหัสพันธุกรรมของ gibberellin 20-oxidase ในข้าว Calrose 76 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวต้นเตี้ยที่มีอัลลีล radiation-induced *sd-1* พบว่ามีการแทนที่ของเบส 1 ตำแหน่งในเอกซอน 2 โดยเปลี่ยนจากลิวซีน (leucine) [*C*TC] ไปเป็นฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) [*T*TC] (ภาพ 2) และจากข้อมูลใน gramene (http://www.gramene.org) ทำให้รู้ว่าพันธุ์ข้าวต้นเตี้ยที่เกิดจากการขาดหายไปของอัลลีลเด่น *Sd1* นั้นเกิดจากธรรมชาติ



ภาพ 2 ลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) และกรดอะมิโน (amino acid) ของข้าวพันธุ์ Nipponbare Sasanishiki และ Calrose ที่มีอัลลีลเด่น *Sd1* ทำให้ข้าวมีต้นสูง

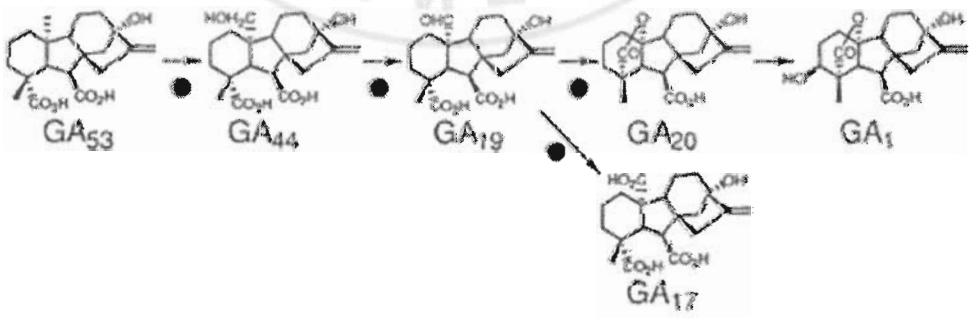
ที่มา: Monna *et al.* (2002)

จากภาพ 2 บริเวณที่ไม่ได้ถูกแปลรหัสเป็นกรดอะมิโนคือส่วนของอินทรอน แถบสีบริเวณตั้งแต่ช่วงกลางของเอกซอน 1 อินทรอน 1 และช่วงต้นของเอกซอน 2 คือส่วนที่ขาดหายไปของจำนวนเบสในข้าวต้นเตี้ยพันธุ์ Habataki Milyang 23 และ IR24 ส่วนแถบสีในช่วงท้ายของเอกซอน 2 คือส่วนของลำดับเบสที่มีการแทนที่เบส 1 ตำแหน่ง โดยเปลี่ยนจากลิวซีน [CTC]

ไปเป็นฟีนิวอะลานีน[*TTC*] ของข้าวต้นเตี้ยพันธุ์ Calrose 76 ซึ่งเกิดจากการฉายรังสี ซึ่งการขาดหายไปของจำนวนเบสหรือการแทนที่ของลำดับเบสนี้ ทำให้ข้าวมีต้นเตี้ยลง

หน้าที่ของอัลลีลด้อย *sd1*

ยีนต้นเตี้ยในข้าว (rice semidwarfing gene หรือ *sd1*) เป็นที่รู้จักกันในชื่อ "ยีนปฏิวัติเขียว" (green revolution gene) ซึ่งถูกแยกออกมาด้วยวิธี position cloning และพบว่ายีนดังกล่าวเป็นรหัสพันธุกรรมของ gibberellin 20-oxidase (GA20ox) (Monna *et al.*, 2002) ต้นเตี้ยนี้เป็นผลมาจากการขาดจิบเบอเรลลินที่มีประสิทธิภาพในการทำงานในส่วนของลำต้นที่กำลังยืดยาว เนื่องมาจากการขาดเอนไซม์ GA20ox ซึ่งเอนไซม์นี้จะมีผลต่อการเปลี่ยนรูปของจิบเบอเรลลินจาก GA_{44} ไปเป็น GA_{19} และจาก GA_{19} ไปเป็น GA_{20} ดังภาพ 3 ซึ่งวงกลมสีดำแสดงปฏิกิริยาออกซิเดชันที่คะตะไลซ์โดยใช้เอนไซม์ GA20oxidase โดยพบว่าข้าวต้นเตี้ยจะมีปริมาณของ GA_{20} และ GA_1 ลดลง (Spielmeyer *et al.*, 2002) ทำให้การยืดยาวของปล้องด้านล่าง (lower internodes) มีความยาวน้อยกว่าปล้องด้านบน (upper internodes) เนื่องจากมีการยับยั้งการแบ่งเซลล์ในระหว่างที่ลำต้นมีการยืดยาว และจากงานวิจัยของ Spielmeyer *et al.* (2002) พบว่า ข้าวพันธุ์ Doongara ซึ่งเป็นข้าวต้นเตี้ยมีปริมาณของ GA_1 ลดลง 65 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับข้าวพันธุ์ Kyeema ซึ่งเป็นข้าวต้นสูง และข้าวพันธุ์ Calrose 76 ซึ่งเป็นข้าวต้นเตี้ยมีปริมาณของ GA_1 ลดลง 80 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับข้าวพันธุ์ Calrose ซึ่งเป็นข้าวต้นสูง ซึ่งการลดลงของ GA_1 จะทำให้ต้นข้าวมีความสูงลดลง 25 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 3 แสดงเส้นทางการเปลี่ยนรูปของจิบเบอเรลลินในพืชชั้นสูงจาก GA_{53} ไปเป็น GA_{20} และ GA_1

ที่มา: Spielmeyer *et al.* (2002)

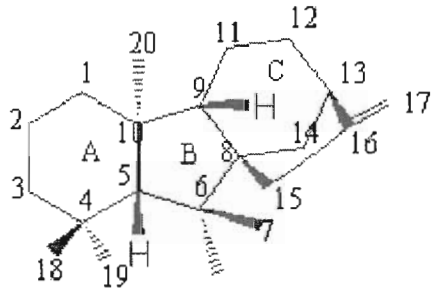
การที่ข้าวมีความสูงลดลงเนื่องจากมีอัลลีลด้อย *sd1* (Garland and Henry, 2001) ทำให้ต้นข้าวมีความต้านทานต่อการล้มมากขึ้น เพิ่มดัชนีการเก็บเกี่ยว มีการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนได้ดีขึ้น ทำให้มีผลผลิตเพิ่มสูงขึ้นโดยไม่มีผลต่อรวงข้าวและคุณภาพของเมล็ด (Monna *et al.*, 2002)

ในจีโนมข้าวพบยีน GA20ox อย่างน้อย 2 ชนิดคือ GA20ox-1 และ GA20ox-2 โดยยีน GA20ox-1 มีการแสดงออกมากในดอกที่ยังไม่บาน ส่วนยีน GA20ox-2 มีการแสดงออกมากที่ใบ ลำต้นและดอกที่ยังไม่บาน โดยพบว่ายีน GA20ox-2 นั้นมีตำแหน่งอยู่ที่บริเวณของอัลลีล *Sd1/sd1* บนแขนข้างยาวของโครโมโซมที่ 1 ในขณะที่ยีน GA20ox-1 นั้นไม่เกี่ยวข้องกับตำแหน่งของอัลลีล *Sd1/sd1* เลย (Sasaki *et al.*, 2002)

จากการที่ยีน GA20ox-2 เกิดการเปลี่ยนแปลงไปของลำดับเบสทำให้ในข้าวต้นเตี้ยไม่น่าจะมีเอนไซม์ GA20oxidase เหลืออยู่เพื่อใช้ในการทำงาน แต่กลับพบว่ายังมีเอนไซม์ GA20oxidase ที่มีประสิทธิภาพในการทำงานอยู่ซึ่งได้จากการทำงานของยีน GA20ox-1 ที่อยู่บนโครโมโซมที่ 3 ทำให้ยังมีการสังเคราะห์ GA_1 โดยการทำงานของยีน GA20ox-1 นั้นคิดเป็นครึ่งหนึ่งของการทำงานของยีน GA20ox-2 ที่พบในปล้อง (Spielmeyer *et al.*, 2002)

กระบวนการผลิตจิบเบอเรลลินที่มีผลต่อการยืดยาวของพืช

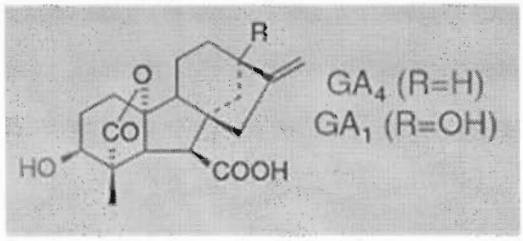
จิบเบอเรลลินเป็นสารพวกไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid) ที่มีโครงสร้างหลักเป็น ent-gibberellane (ภาพ 4) โดยจิบเบอเรลลินแต่ละชนิดจะแตกต่างกันที่ตำแหน่งของ double bond และหมู่ hydroxyl จึงเรียกชื่อต่างกันไป (ปรารถนา และคณะ, 2549) (ภาพ 5)



ent-gibberellan

ภาพ 4 สูตรโครงสร้าง *ent*-gibberellane

ที่มา: HAa (2000)

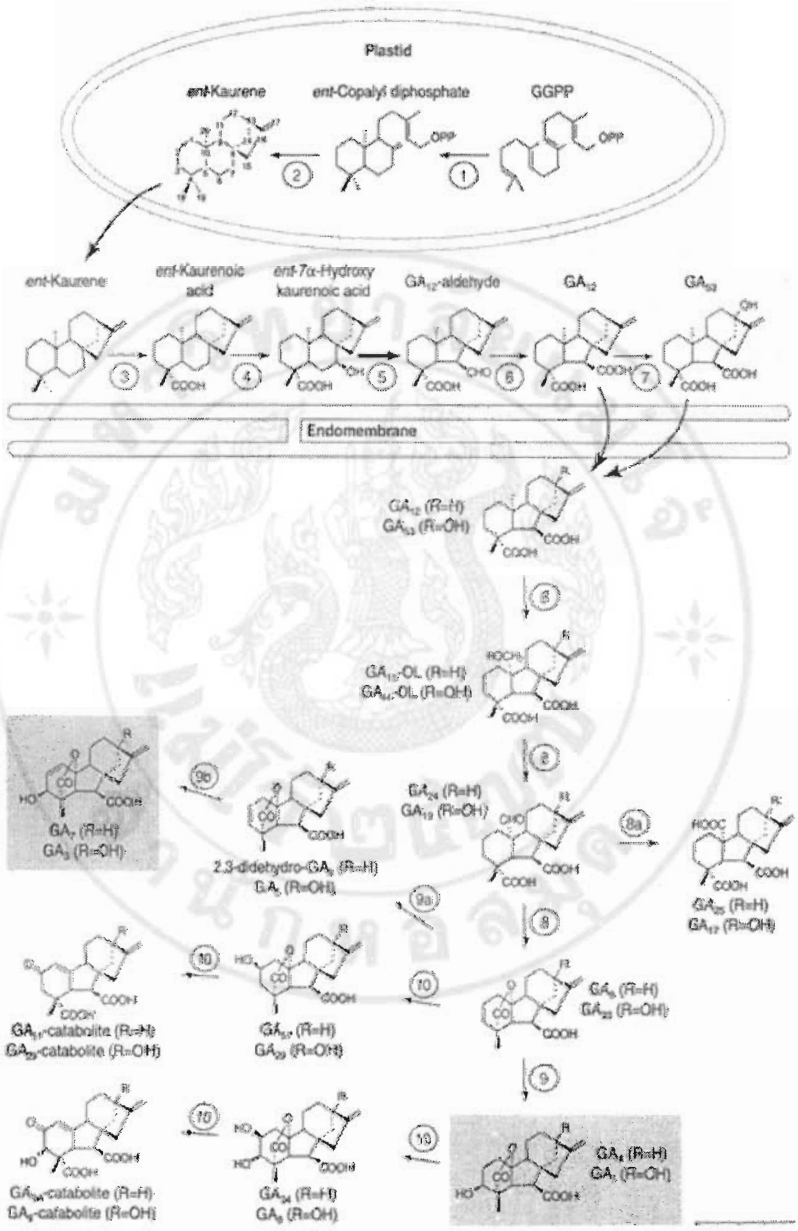


ภาพ 5 สูตรโครงสร้างของ GA_4 และ GA_1
ที่มา: Hedden and Phillips (2000)

จากการวิเคราะห์จิบเบอเรลลินโดยใช้ gas chromatography และ mass spectrometry (GC-MS) พบว่าจิบเบอเรลลินนั้นมีหลายชนิดมากถึง 126 ชนิด พบทั้งในพืชชั้นสูง ราและแบคทีเรีย (Hedden and Phillips, 2000)

กระบวนการสร้างจิบเบอเรลลินในพืชชั้นสูงนั้น ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนใหญ่ๆ คือ (ภาพ 6) ขั้นตอนแรก เริ่มจาก trans-geranylgeranyl diphosphate (GGPP) ซึ่งได้มาจากกระบวนการเมแทบอลิซึม เช่นที่บริเวณแคโรทีนอยด์ (carotenoids) และคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) จะถูกเปลี่ยนไปเป็น *ent*-copalyl diphosphate (CPP) โดยใช้เอนไซม์ CPP synthase (CPS) จากนั้น CPP จะถูกเปลี่ยนไปเป็น *ent*-kaurene โดยการทำงานของเอนไซม์ *ent*-kaurene synthase (KS) ซึ่งกระบวนการดังกล่าวจะเกิดในพลาสติด ขั้นตอนต่อมา *ent*-kaurene จะถูกเปลี่ยนเป็น ent-kaurenoic acid, ent-7α-hydroxykaurenoic acid และ GA_{12}–aldehyde โดยใช้เอนไซม์ *ent*-kaurene 19-oxidase (EKO), *ent*-kaurene acid 7β-hydroxylase และ GA_{12}–aldehyde synthase โดยกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) ที่ตำแหน่ง C-19, C-7 และ C-6 ตามลำดับ ซึ่งกระบวนการดังกล่าวเกิดที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ข้างนอกพลาสทิด (plastid) จากนั้นเอนไซม์ GA7-oxidase (GA7ox) จะทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดกระบวนการออกซิเดชันของ GA_{12}– aldehyde ที่ตำแหน่ง C-7 กลายเป็น GA_{12} และ GA_{12} จะเกิดกระบวนการไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) ขึ้นที่ตำแหน่ง C-13 เกิดเป็น GA_{53} ซึ่ง GA_{12} และ GA_{53} นั้นจะเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินที่สำคัญของกระบวนการสร้างจิบเบอเรลลินในขั้นตอนสุดท้าย โดย GA_{12} และ GA_{53} จะถูกเปลี่ยนเป็น GA_9 และ GA_{20} ตามลำดับโดยการทำงานของเอนไซม์ GA 20-oxidase (GA20ox) ซึ่งเกิดจากกระบวนการออกซิเดชันที่ตำแหน่ง C-20 เกิดเป็นอัลดีไฮด์ (aldehyde) และเกิดการย้ายคาร์บอนอะตอมในตำแหน่งนี้อีกและสร้างเป็นแลคโตน (lactone) ตามลำดับ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ GA 3β-hydroxylase (GA3ox) และในพืชบางสปีชีส์นั้น GA_9 และ GA_{20} จะถูกเปลี่ยนไปเป็น GA_7

และ GA_3 โดยผ่านการเปลี่ยนรูปเป็น 2, 3-didehydro GA_9 และ GA_9 ตามลำดับ ด้วยการทำงานของเอนไซม์ GA3ox ซึ่งกระบวนการดังกล่าวนี้จะเกิดในบริเวณไซโทพลาซึม (ภาพ 6)

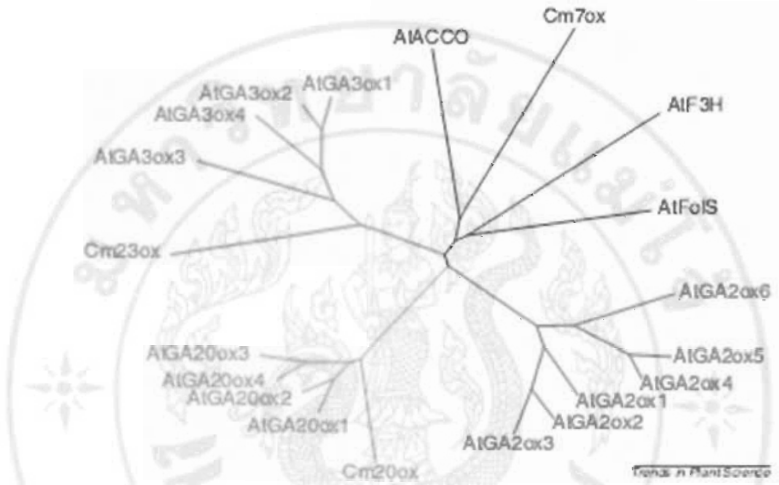


ภาพ 6 กระบวนการสร้างจิบเบอเรลลินในพืชชั้นสูง

ที่มา: Hedden and Phillips (2000)

Hedden and Phillips (2000) ได้ศึกษาเกี่ยวกับยีนและ gene family ที่ใช้ในการสร้าง จิบเบอเรลลิน พบว่าใน Arabidopsis เอนไซม์ที่ใช้ในช่วงแรกของเส้นทาง (pathway) ได้แก่

เอนไซม์ CPS KS และ EKO ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกิดจากการทำงานของยีนเพียง 1 ยีนเท่านั้น ในขณะที่ช่วงหลังของเส้นทางจะเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ GA20ox GA3ox และ GA2ox โดย GA20ox และ GA3ox นั้นเกิดจากการทำงานของเอนไซม์อย่างน้อย 4 ตัว ในขณะที่ GA2ox เกิดจากการทำงานของเอนไซม์อย่างน้อย 6 ตัว และถึงแม้เอนไซม์ dioxygenase ทั้ง 3 ชนิด (GA20ox GA3ox และ GA2ox) จะมีการทำงานที่คล้ายกันต่อ GA substrates แต่จากการวิเคราะห์การจัดกลุ่มความสัมพันธ์แล้วพบว่า dioxygenase ทั้ง 3 ชนิด ไม่มีความใกล้ชิดกัน (ภาพ 7)

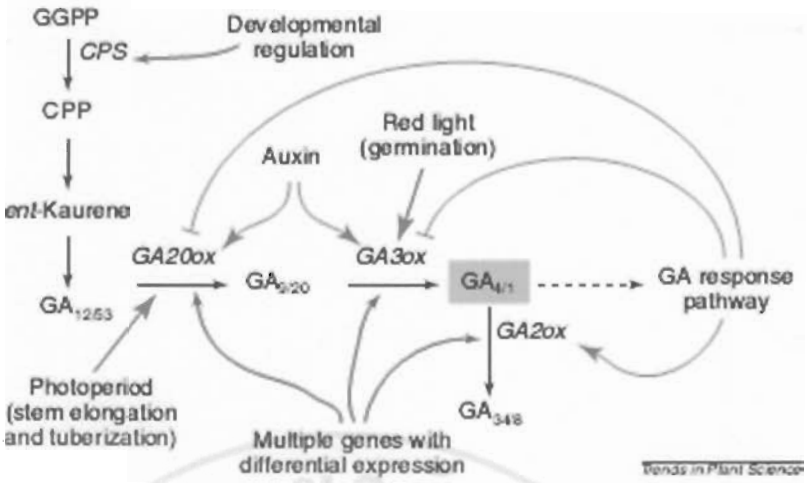


ภาพ 7 การวิเคราะห์การจัดกลุ่มของ Arabidopsis 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase GA20ox GA3ox และ GA2ox enzyme classes

ที่มา: Hedden and Phillips (2000)

กระบวนการควบคุมเมแทบอลิซึมของจิบเบอเรลลิน

จากการศึกษาของ Hedden *et al.* (2000) ทำให้รู้ว่าการควบคุมเมแทบอลิซึมของจิบเบอเรลลินนั้นมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่นถูกควบคุมด้วยการพัฒนาของเนื้อเยื่อ แสง และการตอบสนองต่อฮอร์โมน (ภาพ 8)



ภาพ 8 กลไกควบคุมการแสดงออกของยีนที่ผลิตเอนไซม์ที่มีผลต่อเมแทบอลิซึมของจิบเบอเรลลิน

ที่มา: Hedden and Phillips (2000)

1. การควบคุมด้วยการพัฒนาของเนื้อเยื่อ

ในช่วงแรกของการสร้างจิบเบอเรลลินนั้น GGPP จะถูกเปลี่ยนไปเป็น CPP ด้วยการทำงานของเอนไซม์ CPS ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ต้องการใช้ในปริมาณน้อย โดยใน Arabidopsis นั้น ยีน CPS จะมีการแสดงออกมากในเนื้อเยื่อที่มีการเจริญที่รวดเร็วและที่เนื้อเยื่อลำเลียง (vascular elements) ในใบพืช ส่วนการสร้าง *ent*-kaurene ในถั่วและข้าวสาลีนั้น จะพบอยู่ในโพรพลาสติด (proplastids) ในส่วนของเนื้อเยื่อเจริญที่ปลายยอด (shoot meristem) ส่วนยีนที่ผลิตเอนไซม์ dioxygenases ในกระบวนการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินนั้นพบว่ามีการแสดงออกที่ต่างกัน เช่นยีน GA20ox1 และยีน GA3ox1 ของ Arabidopsis จะมีการแสดงออกในเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญในระยะเวเจเททีฟ (vegetative) โดยยีน GA3ox1 นั้นจะแสดงออกที่ดอกด้วย ส่วนยีน GA3ox2 จะมีการแสดงออกในต้นอ่อนในระยะที่มีการแตกกอ (Hedden and Phillips, 2000) ส่วนในข้าวนั้นยีน GA20ox-1 จะมีการแสดงออกมากในดอกที่ยังไม่บาน ส่วนยีน GA20ox-2 จะมีการแสดงออกมากที่ใบ ลำต้น และดอกที่ยังไม่บาน (Sasaki *et al.*, 2002)

2. การควบคุมด้วยฮอร์โมน

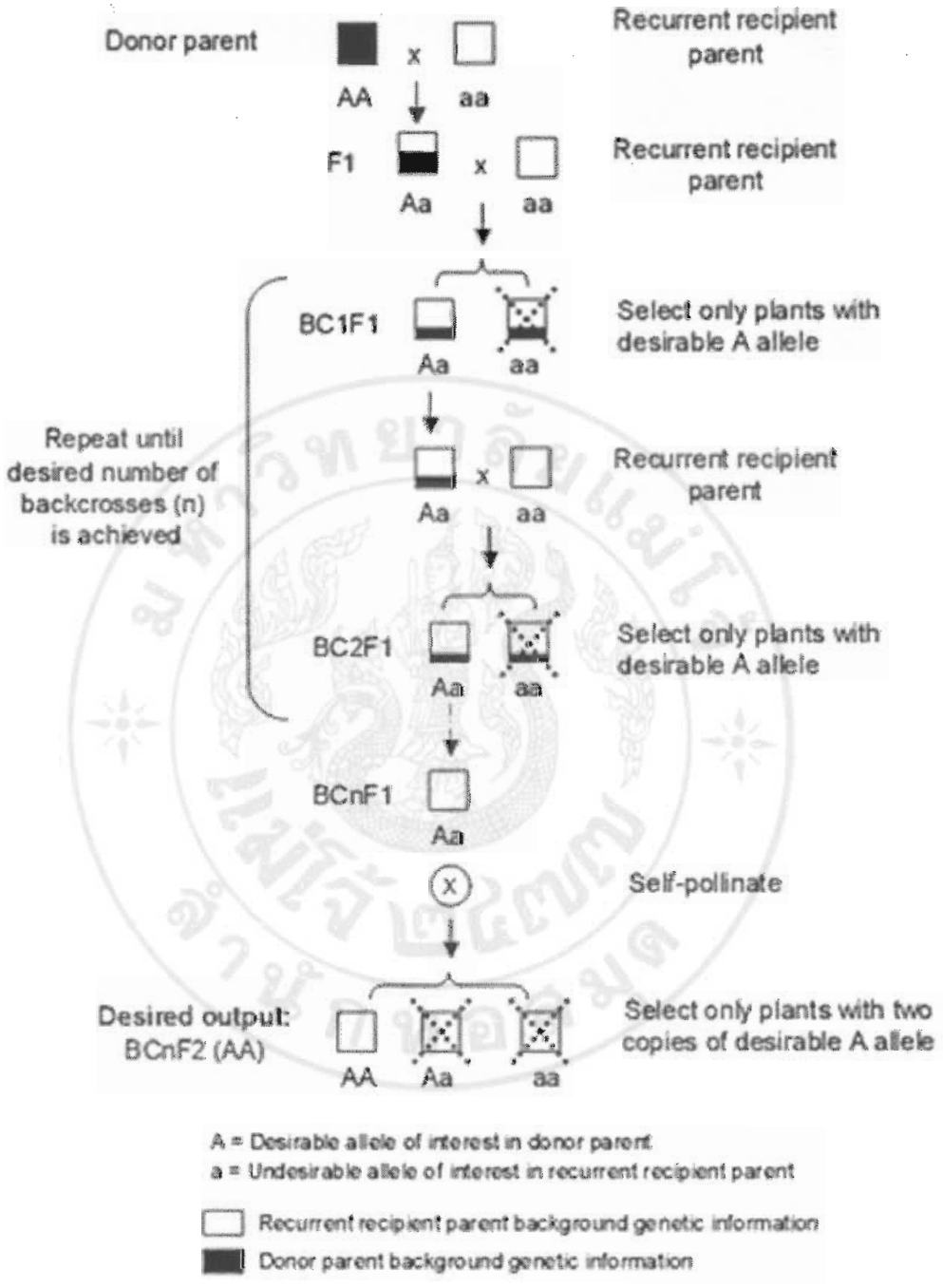
การควบคุมด้วยฮอร์โมนเช่น ออกซิน จะทำให้ยีน GA20ox และยีน GA3ox มีระดับการถอดรหัส (transcription) สูงขึ้น ในทางกลับกัน การให้ bioactive GA แก่พืชจะทำให้ระดับการ ถอดรหัสของทั้ง 2 ยีนลดลง

3. การควบคุมด้วยแสง

การแสดงออกของยีนที่ผลิตเอนไซม์ GA20ox จะเพิ่มมากขึ้นในพืชพวก rosette plants Arabidopsis และผักขม (*Spinacia oleracea*) หลังจากที่ได้รับแสงในสภาพช่วงวันยาวซึ่งทำให้เกิดการยืดยาวของลำต้น ส่วนในมันฝรั่งพบว่ามีการแสดงออกของยีนที่ผลิตเอนไซม์ GA20ox ในใบที่เจริญภายใต้ช่วงแสงที่เป็นวันสั้น โดยจะพบว่าจะมีปริมาณของเอนไซม์ GA20ox เพิ่มสูงขึ้นในระหว่างที่ได้รับแสงและมีปริมาณลดลงเมื่อไม่ได้รับแสง และยังพบอีกว่าในมันฝรั่งไฟโทโครมบี (phytochrome B) เป็นตัวที่ควบคุมการสร้างจิบเบอเรลลิน อีกทั้งยังมีผลต่อการงอกของเมล็ดในสภาวะที่ได้รับแสงสีแดง ทำให้เกิดการผลิตเอนไซม์ GA3ox ในเมล็ดของกะหล่ำ และใน Arabidopsis ด้วย

การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมกลับแบบดั้งเดิม (conventional backcrossing)

การผสมกลับ (backcrossing) คือ การนำลูกผสม ผสมกลับไปหาพ่อหรือแม่ของมันเอง ซึ่งเป็นการเพิ่มอัตราส่วนของพ่อหรือแม่ข้างใดข้างหนึ่งให้สูงขึ้น โดยถ้าการผสมกลับเป็นไปอย่างต่อเนื่อง ก็จะเหลือยีนเพียงจำนวนเล็กน้อยของพืชชนิดหนึ่งถ่ายทอดเข้าไปสู่พืชอีกชนิดหนึ่ง (กฤษฎา, 2546) ในการผสมกลับนั้นจะทำการผสมกลับอย่างน้อย 6-7 ครั้ง หรืออาจมากกว่า 10 ครั้ง ถึงจะเพียงพอที่จะทำให้ genomic background คล้ายกับสายพันธุ์รับยกเว้นตำแหน่งของยีนที่เราสนใจ (Newbury, 2003) การผสมกลับนั้นจะประกอบด้วยสายพันธุ์ให้ยีน (donor parent) และสายพันธุ์รับยีน (recipient parent) (Iastate, 2006) โดยสายพันธุ์รับนั้นจะเป็นตัวที่จะนำไปผสมกลับกับลูกผสมอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะทำให้ตัวรับนั้นมีอัตราส่วนพันธุกรรมสูงขึ้น 50 เปอร์เซ็นต์ในการผสมกลับแต่ละครั้ง ในขณะที่พันธุกรรมจากสายพันธุ์ให้จะลดลง 50 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน (กฤษฎา, 2546) ดังนั้นหลังจากผสมกลับแต่ละครั้งจะทำให้เปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับสายพันธุ์รับมากขึ้นถ้าผสมกลับเป็นจำนวนมากครั้งพอ คือยีนทุกตำแหน่งอยู่ในสภาพโฮโมไซกัส (homozygous) ของพันธุ์รับ แต่ในตำแหน่งที่มียีนที่ต้องการ (target locus) นั้นจะยังคงอยู่ในสภาพเฮเทอโรไซกัส (heterozygous) ซึ่งจะต้องทำการผสมตัวเองในขั้นตอนสุดท้ายเพื่อให้ได้ต้นพืชที่มีลักษณะต่างๆ เหมือนกับสายพันธุ์รับทุกประการยกเว้นลักษณะที่ต้องการที่ได้รับจากสายพันธุ์ให้ (ภาพ 9) ซึ่งการผสมกลับครั้งสุดท้ายนั้นควรใช้สายพันธุ์รับจากหลายๆ ต้น เพราะความแตกต่างเล็กน้อยของสายพันธุ์รับอาจมีมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่ได้รับการถ่ายทอด (กฤษฎา, 2546)



ภาพ 9 การผสมกลับสำหรับลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยยีนเด่น

ที่มา: Dreher *et al.* (2000)

ในการคัดเลือกลูกผสมที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมนี้ การมีอยู่ของยีนที่สนใจจะต้องดูจากทางฟีโนไทป์ที่แสดงออกมา ซึ่งยีนนี้จะต้องให้ลักษณะที่สามารถมองเห็นได้หรือวัดผลได้ (Newbury, 2003) โดยต้องอาศัยความชำนาญของผู้เชี่ยวชาญ ซึ่งอาจทำให้การคัดเลือกนั้นเกิดความผิดพลาดได้ อีกทั้งในการคัดเลือกต้นพืชนั้นจะต้องทำการปลูกต้นพืชในปริมาณที่มาก ทำให้สิ้นเปลืองเวลา แรงงาน ค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมากเพื่อให้ได้มาซึ่งสายพันธุ์ที่ต้องการ

การปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก (Molecular marker-assisted backcrossing)

เครื่องหมายโมเลกุล (Molecular markers)

เครื่องหมายโมเลกุล (Molecular markers) เป็นเครื่องหมายที่สร้างมาจากชิ้นส่วนดีเอ็นเอ มีจำนวนมากมายมหาศาล สภาพแวดล้อมและระยะการเจริญเติบโตของพืชไม่มีอิทธิพลต่อการแสดงออกของ marker (อรรัตน์, 2549) เครื่องหมายทางโมเลกุลมี 2 ระดับคือ ระดับโปรตีนซึ่งเป็นการตรวจสอบที่โมเลกุลของโปรตีนชนิดต่างๆ และระดับดีเอ็นเอซึ่งตรวจสอบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ การตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอนั้นมีข้อดีกว่าการตรวจสอบในระดับโปรตีน เพราะการตรวจสอบในระดับโปรตีนนั้นมีข้อจำกัดมากมาย ได้แก่ จำนวนยีนที่ตรวจสอบได้ยังมีไม่มากนัก ไม่กระจายครอบคลุมทั้งจีโนม ผลที่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดของเนื้อเยื่อ ระยะการเจริญเติบโตและสิ่งแวดล้อมด้วย ไม่สามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้นาน อีกทั้งโอกาสการตรวจพบความแตกต่างในระดับโปรตีนยังมีค่าต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับการตรวจสอบระดับ ดีเอ็นเอ (สุรินทร์, 2545) ดังนั้นการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลในระดับดีเอ็นเอจึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการปรับปรุงพันธุ์แบบ conventional breeding ให้สูงขึ้น ลดต้นทุนและระยะเวลาให้น้อยลง (Newbury, 2003) และการที่สามารถใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายได้เนื่องจากเกิดความแปรปรวน (variation) ของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ หรือเกิดโพลีมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอนั่นเอง (สุรินทร์, 2545) สำหรับเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้กันอยู่ในอดีตจนถึงปัจจุบันที่สำคัญได้แก่ Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) Simple Sequence Repeat (SSR) Sequence Tag Site (STS) Expressed Sequence Tag (EST) และ Resistance Gene Analog Polymorphism (RGAP) เป็นต้น ซึ่งการเลือกเครื่องหมายโมเลกุลนั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถของเครื่องหมายโมเลกุลนั้นๆ ใน

การแยกแยะความแตกต่างของประชากร ความยากง่ายในการดำเนินการ และจุดประสงค์ของการทดลอง รวมทั้งความสามารถในการเชื่อมโยงเข้ากับแหล่งข้อมูลอื่นๆ ด้วย

วิธีการผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก (Molecular marker-assisted backcrossing)

การผสมพันธุ์พืชแบบผสมกลับนั้นเป็นที่รู้จักกันดีว่าเป็นกระบวนการที่แทรกยีนที่เราสนใจ (target gene) จากพันธุ์ให้เข้าไปในสายพันธุ์ผู้รับ ซึ่งทำให้ตำแหน่งของยีนบริเวณนั้นเป็นเฮเทอโรไซกัสสำหรับอัลลีลของพันธุ์ให้ (Newbury, 2003) ในการผสมกลับแต่ละครั้งนั้นถ้าใช้เครื่องหมายโมเลกุล (marker) ช่วยในการคัดเลือกจะทำให้การคัดเลือกต้นที่มีจีโนมเหมือนกับพันธุ์รับสูงสุดมีประสิทธิภาพมากขึ้นโดยถ้าทำการผสมกลับ 3 ครั้งและใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกจะทำให้ได้ต้นที่มียีนทุกตำแหน่งเหมือนกับของพันธุ์รับ 98 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าทำการผสมกลับ 4 ครั้งจะทำให้ยีนทุกตำแหน่งเหมือนกับของพันธุ์รับ 99 เปอร์เซ็นต์ ขั้นตอนการคัดเลือกต้นพืชที่ได้จากการผสมแบบผสมกลับและใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกนั้น Newbury (2003) อธิบายว่ามี 3 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนแรก ใช้เครื่องหมายโมเลกุลคัดเลือกตำแหน่งของยีนที่สนใจเป็นเฮเทอโรไซกัส ขั้นตอนที่ 2 ทำการลดจำนวนของอัลลีลที่ไม่ต้องการที่ติดมาจากพันธุ์ให้ (linkage drag) โดยคัดเลือกต้นที่เป็นโฮโมไซกัสสำหรับอัลลีลของพันธุ์รับ ที่ตำแหน่งของ flanking marker ทั้ง 2 ตัวซึ่งห่างจากยีนข้างละ 2 cM แต่ถ้าไม่สามารถหาต้นที่มีตำแหน่งเป็นโฮโมไซกัสได้ทั้ง 2 ตัวก็ให้ทำการเลือกต้นที่เป็นโฮโมไซกัสเพียงตำแหน่งเดียวก่อน แล้วจึงหาอีกหนึ่งตำแหน่งในภายหลัง ขั้นตอนที่ 3 การคัดเลือก background marker บนโครโมโซมของพันธุ์รับ โดยทำการคัดเลือกต้นที่เป็นโฮโมไซกัสของพันธุ์รับมากที่สุด ในการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับนั้นหลังจากผสมกลับแต่ละครั้งจะทำให้เปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับสายพันธุ์รับมากขึ้นถ้าผสมกลับเป็นจำนวนมากครั้งพอ โดยจะทำให้ลักษณะต่าง ๆ เหมือนกับสายพันธุ์รับทุกประการยกเว้นลักษณะที่ต้องการที่ได้รับจากสายพันธุ์ให้ ดังนั้นการใช้ target marker เพื่อตรวจสอบการมีอยู่ของยีนที่สนใจในต้นพืช การใช้ flanking marker เพื่อจำกัดขนาดของจำนวนอัลลีลที่ไม่ต้องการที่ติดมาจากพันธุ์ให้ และทำให้ชิ้นส่วนโครโมโซมที่ล้อมรอบยีนที่เราสนใจสั้นลง และ background marker เพื่อตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับสายพันธุ์รับช่วยในการตรวจสอบ จะทำให้ได้พืชที่มีลักษณะตามที่เราต้องการ ดังนั้นการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก (Molecular marker assisted selection, MAS) นั้นจึงเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและความเร็วในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้ (Holland, 2004)

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกต้นพืชที่มีลักษณะที่ต้องการนั้น เทคนิคPCR-based marker นั้นเป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอชิ้นส่วนที่ต้องการโดยเมื่อปฏิกิริยา PCR ดำเนินไปประมาณ 30-40 รอบ ดีเด็นเอจะมีปริมาณเพิ่มขึ้น 2^{30-40} เท่า นับเป็นจำนวนมากมายมหาศาลหลายล้านโมเลกุล (อรรัตน์, 2549) อีกทั้งยังใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นน้อย (สุรินทร์, 2545) ใช้ระยะเวลาสั้น แรงงานน้อย ค่าใช้จ่ายต่ำและแปลผลง่าย

กรอบแนวความคิด

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม เพราะประชากรส่วนใหญ่ภายในประเทศมีอาชีพหลักคือการเพาะปลูกพืชเกษตร เนื่องจากมีพื้นดินที่อุดมสมบูรณ์ โดยพบว่าพื้นที่เพาะปลูกส่วนใหญ่ใช้ในการปลูกข้าวเนื่องจากคนไทยนิยมบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก และส่งออกด้วย แต่ปัจจุบันนี้พบว่าพื้นที่ที่ใช้ในการปลูกข้าวลดน้อยลง ทำให้ผลผลิตข้าวและการส่งออกข้าวลดต่ำลง เมื่อเทียบกับจำนวนประชากรที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งมีสาเหตุมาจากการขยายตัวของชุมชนเมือง คุณภาพของดินที่เลวลงเนื่องจากมีการใช้ปุ๋ยและสารเคมีกำจัดแมลงมากขึ้น รวมทั้งภัยพิบัติทางธรรมชาติ ดังนั้นจึงต้องใช้เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืชที่มีประสิทธิภาพในการแก้ปัญหาดังกล่าวที่เกิดขึ้น ซึ่งจะเป็นการช่วยให้ผลผลิตข้าวสูงขึ้นและเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค โดยใช้พื้นที่ที่มีอยู่อย่างจำกัด วิธีที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวมีหลายวิธีได้แก่ การปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม การปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม และการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมนั้นจะต้องอาศัยความชำนาญของผู้เชี่ยวชาญในการสังเกตลักษณะที่ต้องการซึ่งแสดงออกมาเป็นฟีโนไทป์ เป็นการปรับปรุงพันธุ์ที่ใช้ระยะเวลานาน ต้นทุนสูง ใช้แรงงานมาก และสภาพแวดล้อมมีผลต่อฟีโนไทป์ที่แสดงออก ส่วนการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมนั้นประเทศไทยยังไม่ยอมรับพืชที่ได้จากเทคนิคนี้เพราะยังกลัวเรื่องความปลอดภัยของผู้บริโภค รวมทั้งผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นกับสิ่งแวดล้อม ส่วนการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุลนั้นสามารถนำมาใช้ในการแก้ปัญหาที่เกิดจากการปรับปรุงพันธุ์ทั้ง 2 วิธีข้างต้นได้โดยการผสมผสานการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมเข้ากับการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล เช่นการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก ทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์น้อยลง ต้นทุนต่ำและใช้แรงงานน้อย ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม อีกทั้งพืชที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์แล้วไม่ต้องกังวลเกี่ยวกับความปลอดภัยของผู้บริโภคหรือผลกระทบที่อาจมีกับสิ่งแวดล้อมเพราะพันธุ์ที่ใช้ในการปรับปรุงนั้นเป็นพันธุ์ที่ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาพันธุ์ให้ใช้ขยายพันธุ์ออกสู่

เกษตรกรมาเป็นพ่อแม่พันธุ์ ทำให้ปัจจุบันนี้ประเทศไทยมีข้าวมากมายหลายสายพันธุ์ทั้งเป็นพันธุ์ที่มีอยู่ดั้งเดิมและพันธุ์ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ โดยข้าวที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์นี้จะเป็นพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะดีอยู่แล้วแต่ขาดบางลักษณะเท่านั้น เช่น ข้าวที่ต้านทานโรค ทนต่อสภาพแวดล้อมไม่ไวแสง เป็นต้น ทำให้ข้าวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์แล้วมีคุณสมบัติที่เพิ่มขึ้น แต่ข้าวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์แล้วส่วนใหญ่มีผลผลิตน้อย เนื่องจากมีต้นสูง ล้มง่าย มีผลทำให้ดัชนีการเก็บเกี่ยวลดลง ผลผลิตจึงลดลงตามไปด้วย ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลำต้นเตี้ยด้วยวิธีผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก จึงเป็นการเพิ่มผลผลิตข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังช่วยลดระยะเวลา ต้นทุนและแรงงานให้น้อยลงรวมไปถึงขจัดความกังวลของผู้บริโภคเกี่ยวกับข้าว GMO และผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นกับสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย