

บทที่ 2

บททวนเอกสาร

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

ข้าวจัดเป็นพืชล้มลุกตระกูลหญ้า (annual grass) ถูกจัดอยู่ใน genus *Oryza* ของ Family Poaceae หรือ Gramineae สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ส่วนใหญ่เป็นพืชดิพลอยด์ (diploid) โดยมีโครโมโซม $2n=24$ (นพพร กล้ายพงษ์พันธุ์, 2546) จำนวน species ทั้งหมดที่พบใน genus *Oryza* ของข้าวนี้มีประมาณ 22 พันธุ์ ข้าวที่มนุษย์เพาะปลูกในปัจจุบันพัฒนามาจากข้าวป่าในตระกูล *Oryza sativa* สันนิษฐานว่ามีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้นของทวีป Gondwanaland เมื่อ 230-600 ล้านปีมาแล้ว จากนั้นกระจายจากเขตร้อนชื้นของแอฟริกา เอเชียใต้ เอเชียตะวันออกเฉียงเหนือ ออสเตรเลีย อเมริกากลางและใต้ ข้าวสามารถเจริญเติบโตได้ตั้งแต่ความสูงระดับน้ำทะเลถึง 2,500 เมตร หรือมากกว่า ทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ทั้งในที่ราบลุ่มจนถึงที่สูง ครอบคลุมพื้นที่ ตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 53 องศาเหนือ ถึง 35 องศาใต้ (มูลนิธิข้าวไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์, 2550)

ข้าวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีลำต้นเป็นปล้อง มีระบบรากฝอย ใบมีลักษณะยาวรี ปลายแหลม ประกอบด้วยกาบใบซึ่งห่อหุ้มข้อและปล้อง ส่วนที่ติดกับปลายกาบใบ คือ แผ่นใบ กาบใบและแผ่นใบเชื่อมกันด้วยข้อใบ ใบสุดท้ายเรียกว่า ใบธง (flag leaf) ออกดอกเป็นช่อ (inflorescence) เป็นดอกสมบูรณ์เพศ เพราะมีทั้งเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียในดอกเดียวกัน การผสมพันธุ์ส่วนใหญ่จึงเป็นการผสมกันในตัวเองโดยไม่จำเป็นต้องอาศัยแมลง

2.2 ลักษณะทางสัณฐานของข้าว (Chang et al., 1965; Yoshida, 1981)

1. ระบบราก (root system) ข้าวมีระบบรากเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) เมื่อนำเมล็ดข้าวมาเพาะจะเกิดรากปฐมภูมิ (primary root) เรียกว่า รากแรกเกิด (seminal root) งอกออกมาจากส่วนของ radicle ซึ่งเป็นรากชั่วคราว ทิศทางของรากจะพุ่งสู่ใต้ดินในแนวดิ่ง ทำหน้าที่รองรับส่วนต่างๆ ของต้นข้าวให้ทรงตัวอยู่ได้ และรากทุติยภูมิ (secondary root) หรือรากเสริม (adventitious root) โดยจะงอกออกมาจากส่วนของข้อต่างๆ ใต้ดินของลำต้นใหม่ในทิศทางขนาน

กับผิวดิน และมีการแตกแขนงของรากอย่างอิสระ เป็นรากที่เกิดขึ้นเพื่อทดแทนรากแรกเกิดเมื่อต้นข้าวเจริญเติบโตและมีอายุมากขึ้น

2. ลำต้น (stem) ลำต้นของข้าวเรียกว่า clum มีลักษณะทรงกลม ซึ่งประกอบไปด้วยข้อ (node) และปล้อง (internode) ปล้องของข้าวจะมีรูปร่างเป็นทรงกระบอกข้างในกลวงและจะตันเฉพาะบริเวณข้อเท่านั้น ในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นอาจมองเห็นรูปร่างของลำต้นไม่ชัดเจนเนื่องจากมีส่วนของกาบใบหุ้มไว้ แต่ในช่วงออกรวงจะสามารถมองเห็นข้อและปล้องได้ชัดเจนขึ้น เมื่อต้นมีการเจริญเติบโตสมบูรณ์ดีและสภาพแวดล้อมในการปลูกเหมาะสม ต้นข้าวจะมีการแตกหน่อหรือเรียกว่า แดกกอ (tillering) ซึ่งกอข้าวจะประกอบด้วยลำต้นหลัก (main clum) และหน่อ (tiller)

3. ใบ (leaf) ลักษณะเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) มีลักษณะเป็นแผ่นแบนบางค่อนข้างยาวรูปหอก ใบของข้าวประกอบด้วยส่วนต่างๆ 4 ส่วน คือ

3.1 กาบใบ (leaf sheath) เป็นส่วนที่อยู่ล่างสุดของใบ เจริญออกมาจากข้อ ทำหน้าที่หุ้มตาและข้อของลำต้น นอกจากนั้นกาบใบยังช่วยสะสมอาหารไว้สำหรับรวงข้าวและช่วยเสริมให้ลำต้นแข็งแรงขึ้นอีกด้วย

3.2 แผ่นใบ (leaf blade) เป็นส่วนที่ขยายออกไปของใบต่อจากกาบใบ ลักษณะเรียวยาว ขนาดของใบจะกว้างหรือแคบขึ้นอยู่กับพันธุ์ ใบของข้าวจะมีขนและเส้นกลางใบ (mid rib) แบ่งตัวใบออกเป็น 2 ซีกเท่าๆ กัน

3.3 เชือกั้นน้ำ (ligule) จะอยู่ที่รอยต่อระหว่างแผ่นใบและกาบใบ มีลักษณะเป็นเยื่อบางๆ

3.4 เขี้ยวใบ (auricle) เกิดที่ฐานของแผ่นใบ มีลักษณะเป็นขนรูปร่างโค้งคล้ายเกี้ยวติดอยู่ข้างละอันของข้อต่อใบ การที่ใบข้าวมีทั้งเชือกั้นน้ำและเขี้ยวใบ จึงทำให้ใบข้าวแตกต่างจากใบของต้นหญ้า ซึ่งมักมีอวัยวะดังกล่าวเพียงอย่างใดอย่างหนึ่งหรืออาจจะไม่มีเลยก็ได้

4. ดอกข้าว (spikelet) จัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีลักษณะเป็นช่อ ซึ่งเรียกว่า panicle และจะโผล่ออกมาจากปล้องที่อยู่บนสุดของต้นข้าว ซึ่งแต่ละดอกประกอบด้วยกลีบดอกใหญ่ และกลีบดอกเล็ก เปลือกประกบกัน ที่ผิวกลีบดอกทั้ง 2 ชนิดอาจมีขนหรือไม่มีขนก็ได้ ภายในดอกมีเกสรตัวผู้ (stamen) และเกสรตัวเมีย (pistill)

5. เมล็ด (seed) ประกอบด้วยส่วนที่เป็นแป้ง (endosperm) และคัพภะ (embryo) ซึ่งถูกห่อหุ้มไว้ด้วยเยื่อหุ้มชั้นนอก (pericarp) เยื่อหุ้มชั้นกลาง (tegmen) และเยื่อหุ้มชั้นใน (aleurone) เมล็ดข้าวจะถูกพัฒนาขึ้นมาหลังจากการผสมพันธุ์ระหว่างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย โดยที่รังไข่จะกลายเป็นแป้ง และส่วนของไข่ก็จะกลายเป็นคัพภะ เราเรียกส่วนของเมล็ดข้าวที่ถูกห่อหุ้มด้วยกลีบดอกใหญ่ และกลีบดอกเล็กว่า เมล็ดข้าวเปลือก

2.3 การแบ่งประเภทของข้าว

ในสภาพธรรมชาติ ข้าวที่ขึ้นอยู่ในท้องที่ต่างๆ ของโลกแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่

1. *Oryza sativa* มีแหล่งกำเนิดในทวีปเอเชียและปลูกกันทั่วไปในเอเชียและแหล่งอื่นๆ ของโลก
2. *Oryza glaberrima* มีแหล่งกำเนิดและปลูกเฉพาะในแอฟริกา
3. ข้าวป่าซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในประเทศต่างๆ ของทุกทวีปที่ปลูกข้าว

การจำแนกตามคุณสมบัติทางเคมีของเมล็ด แบ่งได้เป็น ข้าวเหนียว (glutinous rice) ซึ่งมีอะไมโลเพกตินสูง แต่มีอะไมโลสต่ำหรือไม่มีเลย และข้าวเจ้า (non-glutinous rice) ซึ่งมีอะไมโลเพกติน 60-90% และมีอะไมโลส 10-30% (นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์, 2547)

จากการสำรวจพบว่าแหล่งปลูกข้าวของเอเชียในสมัยก่อนนั้นมีหลายแห่งด้วยกัน เช่น บริเวณที่ราบของแม่น้ำตอนเหนือในอินเดีย บริเวณตะวันออกตอนล่างของเทือกเขาหิมาลัย และทางตอนใต้ของจีน ซึ่งพันธุ์ข้าวปลูกในบริเวณดังกล่าวนี้จัดอยู่ในพวก *Oryza sativa* หรือที่เรียกว่าข้าวปลูกสายเอเชียทั้งสิ้น (Grist, 1975) ดังนั้น จึงสามารถแบ่งข้าวตามความแตกต่างทางสภาพพื้นที่และภูมิอากาศของแหล่งปลูกข้าว ได้เป็น 3 ชนิด (Chang *et al.*, 1965) ได้แก่

1. *Indica* เป็นข้าวต้นสูง เมล็ดยาวเรียว เจริญเติบโตได้ดีในบริเวณเขตร้อน เช่น ศรีลังกา หมู่เกาะต่างๆ และลุ่มน้ำแยงซีเกียงของจีน ไทย อินเดีย เป็นต้น
2. *Japonica* เป็นข้าวต้นเตี้ย เมล็ดสั้นป้อม เจริญเติบโตได้ดีในเขตอบอุ่น เช่น ประเทศจีนตอนเหนือและตะวันออก ญี่ปุ่น เกาหลี รัสเซีย อเมริกาใต้ เป็นต้น
3. *Javanica* เป็นข้าวต้นสูง เมล็ดใหญ่ป้อม สันนิษฐานว่าเกิดขึ้นจากการคัดเลือกพันธุ์มาจากข้าวกลุ่ม *Indica* ซึ่งข้าวกลุ่ม *Javanica* นี้ส่วนใหญ่จะปลูกในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น

หากแบ่งข้าวไทยตามนิเวศการปลูก (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2554) จะแบ่งได้ดังนี้

1.ข้าวนาสวนเป็นข้าวที่ปลูกในนาที่มีน้ำขังหรือกักเก็บน้ำได้ระดับน้ำลึกไม่เกิน 50 เซนติเมตร ปลูกทุกภาคของประเทศไทย แบ่งออกเป็น

- ข้าวนาสวนน่าน้ำฝน เป็นข้าวที่ปลูกในฤดูนาปี และอาศัยน้ำฝนตามธรรมชาติ ไม่สามารถควบคุมระดับน้ำได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการกระจายตัวของฝน ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวนาฝนประมาณ 70% ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด

- ข้าวนาสวนนาชลประทาน เป็นข้าวที่ปลูกได้ตลอดทั้งปีในนาที่สามารถควบคุมระดับน้ำได้ โดยอาศัยน้ำจากการชลประทาน ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวนาชลประทาน 24% ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด และพื้นที่ส่วนใหญ่จะอยู่ในภาคกลาง

2.ข้าวขึ้นน้ำ เป็นข้าวที่ปลูกในนาที่มีน้ำท่วมขังในระหว่างการเจริญเติบโตของข้าว มีระดับน้ำลึกตั้งแต่ 1-5 เมตร เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 เดือน ลักษณะพิเศษของข้าวขึ้นน้ำ คือ มีความสามารถในการยืดปล้อง (internode elongation ability) การแตกแขนงและรากที่ข้อเหนือผิวดิน (upper nodal tillering and rooting ability) และการชูรวง (kneeing ability)

3.ข้าวน้ำลึก เป็นข้าวที่ปลูกในพื้นที่น้ำลึก ระดับน้ำในนามากกว่า 50 เซนติเมตร แต่ไม่เกิน 100 เซนติเมตร

4.ข้าวไร่ เป็นข้าวที่ปลูกในที่ดอนหรือในสภาพไร่ บริเวณไหล่เขาหรือพื้นที่ซึ่งไม่มีน้ำขัง ไม่มีการทำคันนาเพื่อกักเก็บน้ำ

5.ข้าวนาที่สูง เป็นข้าวที่ปลูกในนาที่มีน้ำขังบนที่สูงตั้งแต่ 700 เมตรเหนือระดับน้ำทะเลขึ้นไป พันธุ์ข้าวนาที่สูงต้องมีความสามารถทนทานอากาศหนาวเย็นได้ดี

2.4 ข้าวบือโปะโละ

ปะกะญอหรือกะเหรี่ยง เป็นชาติพันธุ์ที่ใหญ่ที่สุดในประเทศไทย โดยรวมตัวกันอย่างหนาแน่นในพื้นที่ป่าเขาทางทิศตะวันตกของประเทศไทยตามบริเวณชายแดนไทย-พม่า ปะกะญอได้เคลื่อนย้ายเลื่อนมาทางทิศตะวันออกอย่างช้า ๆ ในระยะแรกประมาณ 200 ปีที่ผ่านมา ปะกะญอในประเทศไทยแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ คือ สะกอ และโป จัดอยู่ในกลุ่มพม่า-ธิเบต ชาวปะกะญอตั้งถิ่นฐานอยู่ตามบริเวณหุบเขา ในระดับความสูงประมาณ 500 เมตร เหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง ดำรงชีพด้วยการปลูกข้าวและผักต่าง ๆ โดยการทำนาค้าและการทำข้าวไร่แบบหมุนเวียน (กลับมาทำที่เดิมทุก 5-10 ปี) นอกจากนี้ยังมีการเลี้ยงหมู ไก่ วัว ควาย และช้าง เพื่อเป็นอาหารและทำพิธีกรรม นอกจากนี้ยังดำรงชีพด้วยการขายและรับจ้างใช้แรงงาน

แต่เดิมครอบครัวปะกะญอยึดถือการสืบเชื้อสายสืบทอดมาทางฝ่ายหญิงเป็นหลัก เมื่อมีการแต่งงานเกิดขึ้นฝ่ายชายจะย้ายไปอาศัยอยู่ในครอบครัวฝ่ายหญิง ปัจจุบันได้เปลี่ยนแปลงไปบ้างตามความสะดวกของแต่ละฝ่าย ครอบครัวเป็นครอบครัวเดี่ยวและถือระบบพัวเดียว-เมียเดียว ปะกะญอที่นับถือศาสนาพุทธจะมีการนับถือลัทธิบูชาผีร่วมด้วย ซึ่งแตกต่างจากปะกะญอที่นับถือศาสนาคริสต์

สภาพพื้นที่ของข้าวนาที่สูงมีลักษณะพิเศษบางอย่าง คือ พื้นที่นาเป็นลักษณะแบบขั้นบันไดอย่างชัดเจน ความกว้างของกระตนาขึ้นกับสภาพความลาดชันของพื้นที่และคันนามีความสูงแตกต่างจากนาแบบอื่น ๆ อยู่ระหว่างหุบเขา อาศัยน้ำฝนและแหล่งน้ำตามธรรมชาติ มีการใช้ปัจจัยการผลิตค่อนข้างต่ำ ผลผลิตมีความแปรปรวนสูงโดยเฉลี่ย 200-600 กิโลกรัม/ไร่ พื้นที่ถือครอง 2-20 ไร่/ครัวเรือน ส่วนใหญ่ผลิตไม่พอเพียงกับการบริโภคขึ้นอยู่กับผลผลิต พื้นที่ถือครองและขนาดของครัวเรือน

พันธุ์ข้าว

ข้าวภาษาปะกะญอใช้คำว่า “บือ” พันธุ์ที่ปลูกเป็นพันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิมที่ผ่านการคัดเลือก โดยภูมิปัญญาของบรรพบุรุษเป็นมรดกสืบทอดกันมา ก่อนข้างมีความหลากหลายทางชีวภาพ การตัดสินใจในการเลือกใช้พันธุ์แตกต่างกันไปในแต่ละบุคคลและท้องถิ่น ขึ้นอยู่กับปัจจัยบางอย่าง เช่น คุณภาพการหุงต้ม ผลผลิต ลักษณะและรูปร่างเมล็ด ทรงต้นข้าว สภาพนิเวศน์ของพื้นที่นา สภาพแวดล้อม รวมทั้งความเชื่อต่าง ๆ ส่วนใหญ่บริโภคข้าวเจ้าเป็นอาหารหลัก ได้แก่ พันธุ์บือโปะโละ บือพะทอ บือกิ บือพะโละ บือแม้ว บือกิโพ บือกวา บือกอ บือพี บือมุโป๊ะ บือเนอมู บือซอมิ บือโซ เป็นต้น นอกจากข้าวเจ้ายังมีพันธุ์ข้าวเหนียว เช่น บือปือจ้อวะ บือปือปือชี แต่ปลูกกันเพียงเล็กน้อย (กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2554)

ประวัติ

บือโปะโละเป็นข้าวนาที่สูงพันธุ์พื้นเมืองชนิดข้าวเจ้า ไร่ต่อช่วงแสง เก็บรวบรวมพันธุ์มาจากบ้านขุนแตะ ตำบลดอยแก้ว อำเภोजอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ เมื่อปี พ.ศ. 2540 ปลูกคัดเลือกพันธุ์ให้บริสุทธิ์ที่สถานีทดลองข้าวสันป่าตองและโครงการพัฒนาพื้นที่รอยต่ออำเภอเมือง อำเภอเมืองปาน และอำเภอแจ้ห่ม จังหวัดลำปาง ระหว่างปี พ.ศ. 2540-2543 ทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคและแมลงศัตรูข้าว วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมีของเมล็ดที่ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ สถานีทดลองข้าวพาน สถานีทดลองข้าวสันป่าตอง และสถานีทดลองข้าวไร่และธัญพืชเมืองหนาวสะเมิง เมื่อปี พ.ศ. 2542

ลักษณะเด่นของพันธุ์

เป็นข้าวเจ้าไร่ต่อช่วงแสง เก็บเกี่ยวประมาณ วันที่ 26-28 ตุลาคม ต้นสูงประมาณ 155-157 เซนติเมตร ทนต่ออากาศหนาวบนที่สูง ปลูกได้ดีตั้งแต่ระดับความสูง 1,000-1,200 เมตร เหนือระดับน้ำทะเลปานกลาง ให้ผลผลิตเฉลี่ย 400 – 495 กิโลกรัมต่อไร่ ต้านทานโรคไหม้และโรคเมล็ดด่างแต่อ่อนแอต่อแมลงบั่ว

ลักษณะประจำพันธุ์

ทรงกอเบะ สีของปล้อง กาบใบและใบสีเขียว ใบมีขน ใบตรงตั้งตรง คอรวงยาว รวงแน่นปานกลาง เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง มีขนบนเมล็ด ความยาวของกลีบรองดอกสั้น เมล็ดข้าวเปลือกยาว 9.89 มิลลิเมตร กว้าง 2.92 มิลลิเมตรและหนา 2.98 มิลลิเมตร จำนวนรวงต่อตารางเมตรเฉลี่ย 164 รวง จำนวนเมล็ดต่อรวง 135 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดข้าวเปลือก 1,000 เมล็ด 20.59 กรัม เมล็ดข้าวกล้องมีรูปร่างค่อนข้างป้อม สีของข้าวกล้องค่อนข้างทึบ เมล็ดข้าวกล้อง เฉลี่ยยาว 6.55 มิลลิเมตร กว้าง 2.55 มิลลิเมตร หนา 1.94 มิลลิเมตร ข้าวสุกมีลักษณะอ่อนนุ่ม เมล็ดมีระยะพักตัวสั้นประมาณ 1 สัปดาห์ มีปริมาณอะไมโลส 10.80 เปอร์เซ็นต์ (กรมการข้าว กลุ่มถ่ายทอดวิทยาการผลิตเมล็ดพันธุ์ดี ศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวขอนแก่น, 2553)



ภาพ 2.1 แสดงลักษณะต้นของข้าวบือโปะโละ
(กรมการข้าว กลุ่มถ่ายทอดวิทยาการผลิตเมล็ดพันธุ์ดี ศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวขอนแก่น, 2553)



ภาพ 2.2 แสดงลักษณะเมล็ดข้าวบือโปะโละ
(การประเมินมูลค่าภูมิปัญญาไทย: กรณีศึกษาพันธุ์กรรมข้าวพื้นเมือง, 2554)

จากการศึกษาพันธุ์กรรมข้าวพื้นเมืองในพื้นที่ชุมชนแจ่มหลวง ซึ่งเป็นชุมชนชาวไทยภูเขาเผ่ากะเหรี่ยง (มิ่งสรรพและคณะ, 2548) พบว่า พันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกในชุมชนบ้านแจ่มหลวง ห้วยยาใน แม่ละอุป และบ้านใหม่พัฒนา มี 7 สายพันธุ์ โดยเป็นพันธุ์ข้าวเจ้าทั้งหมด และพันธุ์ที่นิยมมากที่สุดคือ บือโปะโละ เพราะให้ผลผลิตดี นุ่มเหนียว กินอร่อย และเหมาะสมกับพื้นที่ ซึ่งข้าวเป็นอาหารหลักและมีความสำคัญสูงสุดสำหรับชุมชนไทยภูเขา ดังนั้น การเลือกปลูกข้าวก็เป็นสิ่งสำคัญ เพราะข้าวที่ได้ผลผลิตดีช่วยลดต้นทุนการผลิตของชุมชน ส่งผลต่อความเป็นอยู่ที่ดีของประชากรชาวเขาอีกด้วย

ตาราง 2.1 แสดงพันธุ์ข้าวที่พบในพื้นที่ 4 หมู่บ้านของตำบลแจ่มหลวง (มิ่งสรรพและคณะ, 2548)

บ้าน	ชื่อพันธุ์ข้าว	ประเภทพันธุ์ข้าว	ข้อดี/ข้อเสีย
แจ่มหลวง	บือกะ	ข้าวเจ้า	กินอร่อยและหุงขึ้นหม้อ
	บือขอมิ	ข้าวเจ้า	กินอร่อยและหุงขึ้นหม้อ
	บือปอเมาะ	ข้าวเจ้า	ได้ผลผลิตดี และต้นข้าวแข็งแรง ล้มยาก
	บือโปะโละ	ข้าวเจ้า	ได้ผลผลิตดี นุ่ม/เหนียว กินอร่อย และเหมาะสมกับพื้นที่
	บือวาโบ	ข้าวเจ้า	ได้ผลผลิตดี และกินอร่อย
แม่ละอุป	บือกะ	ข้าวเจ้า	กินอร่อย แต่ต้นข้าวไม่ค่อยแข็งแรง ล้มง่าย
	บือโปะโละ	ข้าวเจ้า	ได้ผลผลิตดี นุ่ม/เหนียว กินอร่อย และเหมาะสมกับพื้นที่
	บือพะโด่	ข้าวเจ้า	ได้ผลผลิตดี แต่ไม่ทนโรค/แมลง
ห้วยยาใน	บือบอ	ข้าวเจ้า	ทนโรค/แมลง และไม่เลือกพื้นที่ แต่ต้นข้าวไม่ค่อยแข็งแรง ล้มง่าย
	บือโปะโละ	ข้าวเจ้า	ได้ผลผลิตดี กินอร่อย ต้นข้าวแข็งแรงไม่ล้มง่าย และเหมาะสมกับพื้นที่ แต่ไม่ทนโรค
ใหม่พัฒนา	บือบอ	ข้าวเจ้า	ได้ผลผลิตดี นุ่ม /เหนียว กินอร่อย และต้นข้าวแข็งแรง ล้มยาก
	บือโปะโละ	ข้าวเจ้า	ได้ผลผลิตดี กินอร่อย และเหมาะสมกับพื้นที่

2.5 การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้พันธุวิศวกรรม

เมื่อ 40 ปีที่ผ่านมาประชากรโลกเพิ่มขึ้นเกือบ 2 เท่า ในขณะที่พื้นที่สำหรับการทำเกษตรกรรมมีจำกัด ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่เป็นแหล่งสำคัญในการผลิตข้าวสู่ตลาดโลก ดังนั้น จึงต้องมีการเพิ่มผลผลิตเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาดโลก วิธีปรับปรุงพันธุ์ที่นิยมใช้กันมาเป็นร้อยปีมาแล้ว คือ การผสมพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) เพื่อสร้างสายพันธุ์ตามลักษณะที่ต้องการ แต่ก็มีข้อเสียคือ ใช้ระยะเวลาค่อนข้างนาน และใช้แรงงานคนจำนวนมากแต่ในปัจจุบันได้มีความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี จึงมีการนำเทคนิคที่เรียกว่า พันธุวิศวกรรม (genetic engineering) หรือการส่งถ่ายยีน (gene transformation) มาประยุกต์ใช้ โดยการตัดต่อยีนที่ควบคุมลักษณะที่เราต้องการแล้วทำการส่งถ่ายยีนเข้าสู่ข้าว เช่น การสร้างข้าวที่เพิ่มผลผลิต เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ ต้านทานต่อยาฆ่าแมลง ต้านทานต่อวัชพืช ต้านทานต่อศัตรูพืช ต้านทานต่อโรค ทนทานต่อความแห้งแล้ง เป็นต้น

2.6 เทคนิคการส่งถ่ายยีนโดยพันธุวิศวกรรม

1. การส่งถ่ายยีนโดยตรง (direct gene transfer)

การถ่ายฝากวิธีนี้ไม่ต้องใช้อุปกรณ์มากนัก เป็นถ่ายยีนผ่านโปรโตพลาสต์ ทำได้โดยการแยกโปรโตพลาสต์จากพืช แล้วนำมาบ่มรวมกับสารละลายดีเอ็นเอ และใส่สารละลายโพลีเอทิลีนไกลคอล (Polyethyleneglycol, PEG) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีประจุลบซึ่งช่วยให้มีการชักนำดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์มากขึ้น Li *et al.*, (1990) ศึกษาการส่งถ่ายยีนที่ต้านทานต่อไฮโกรมัยซิน (*hpt*) เข้าสู่โปรโตพลาสต์ของข้าวกลุ่มจาโปนิกา สายพันธุ์ Nipponbare และ Taipei 309 โดยใช้ polyethylene glycol (PEG) ความเข้มข้น 25% พบว่า โปรโตพลาสต์ที่ได้รับยีนสามารถต้านทานต่อไฮโกรมัยซินในอาหารคัดเลือกได้ นอกจากนี้ยังสามารถชักนำโปรโตพลาสต์ให้เจริญเป็นต้นต่อไปได้

2. การส่งถ่ายยีนโดยใช้กระแสไฟฟ้า (electroporation)

เป็นวิธีที่จะทำให้เกิดช่องว่างขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์โดยใช้กระแสไฟฟ้า โดยการนำโปรโตพลาสต์มาบ่มรวมกับสารละลายดีเอ็นเอ แล้วผ่านกระแสไฟฟ้าเพื่อให้เกิดช่องที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ดีเอ็นเอมีโอกาสที่จะแทรกเข้าสู่เซลล์ตรงช่องนั้นได้ ได้มีการศึกษาการส่งถ่ายพลาสมิดที่มียีนต้านทานามัยซินซึ่งทำงานภายใต้โปรโมเตอร์ 35S เข้าสู่โปรโตพลาสต์ของข้าวสายพันธุ์ Taipei 309

พบว่า โพรโตพลาสต์ที่ได้รับพลาสมิด สามารถต้านทานต่อกลูตามิซินในอาหารคัดเลือกและสามารถชักนำให้เจริญเป็นต้นได้ (Zhang *et al.*, 1988)

แต่เนื่องจากการส่งถ่ายยีนโดยตรงและการใช้กระแสไฟฟ้ามีประสิทธิภาพในการส่งถ่ายยีนต่ำมาก ซึ่งก่อนหน้านี้ Abdullah *et al.* (1989) ศึกษาพบว่า การส่งถ่ายยีนเข้าสู่โพรโตพลาสต์ของข้าวมีประสิทธิภาพชักนำให้เกิดเป็นต้นเดี่ยวและต้นที่ได้มักจะเป็นหมัน และบางครั้งพบลักษณะที่ต่างจากพ่อแม่อีกด้วย

3. การใช้เครื่องยิงอนุภาค (particle gun หรือ biolistic technique)

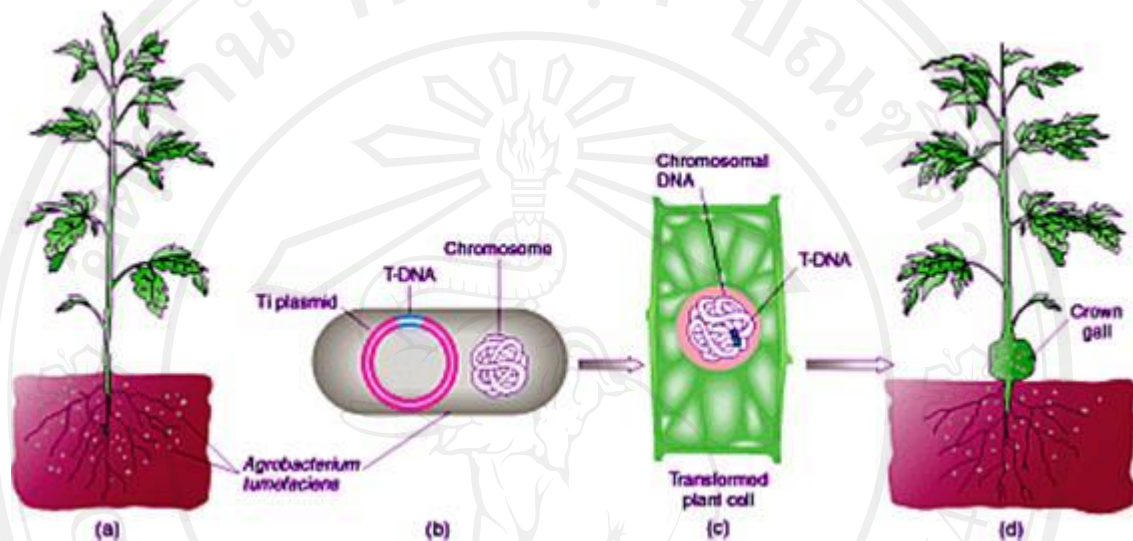
เป็นการใช้อนุภาคทั้งสเต็มหรือทองขนาดเล็ก เคลือบด้วยดีเอ็นเอที่ต้องการ แล้วใส่ลงในเครื่อง particle gun จากนั้นเครื่องจะทำการยิงกระสุนที่เคลือบด้วยดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์ด้วยความเร็วประมาณ 1,400 ฟุตต่อวินาที ทำให้ดีเอ็นเอสามารถเข้าไปแทรกในโครโมโซมของพืชได้ วิธีนี้ง่ายกว่าการฉีด เพราะครั้งหนึ่งๆ สามารถยิงอนุภาคเข้าไปได้เป็นพันอนุภาค อีกทั้งยังใช้กับเซลล์ที่มีผนังเซลล์ได้โดยไม่ต้องทำกับโพรโตพลาสต์ แต่มีข้อจำกัดคือ ทำให้เกิดการแทรกตัวของยีนในจีโนมหลายตำแหน่งทำให้ต้นข้าวรุ่นต่อไปไม่เป็นไปตามกฎของเมนเดล

2.7. การส่งถ่ายยีนโดยใช้อะโกรแบคทีเรีย

เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสะดวก สามารถถ่ายยีนให้กับหลาย ๆ ส่วนของพืช ไม่ต้องใช้เครื่องมือมากมาย เสียค่าใช้จ่ายน้อย และ จำนวนชุดของยีนที่สอดแทรกเข้าไปในจีโนมพืชมีน้อย อะโกรแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมลบอาศัยอยู่ในดิน สามารถบุกรุกเข้าสู่ต้นพืชได้บริเวณที่เกิดบาดแผล ซึ่งทำให้พืชเกิดเป็นลักษณะปุ่มปม หรือก้อนเนื้อ เรียกว่า crown gall disease (ภาพที่ 2.2) ซึ่งต่อมาได้พบว่ากลไกที่ทำให้เกิดเป็นลักษณะปุ่มปมนี้เกิดจากพลาสมิดขนาดใหญ่ที่พบในอะโกรแบคทีเรีย เรียกว่า Ti plasmid (Tumour inducing plasmid) เชื้ออะโกรแบคทีเรียที่พบพลาสมิดนี้คือ *Agrobacterium tumefaciens* ส่วนอีกสายพันธุ์หนึ่งจะทำให้เกิดรากบริเวณที่มีการบุกรุกของแบคทีเรีย คือ *Agrobacterium rhizogenes* ซึ่งจะมี Ri plasmid (Root inducing plasmid)

ลักษณะเนื้อเยื่อที่เป็นปุ่มปมที่เกิดจากการบุกรุกของอะโกรแบคทีเรีย จะมีดีเอ็นเอบางส่วนถูกแทรกเข้าไปในโครโมโซมของพืช เรียกว่า T-DNA (Transfer DNA) ซึ่งจะมียีนที่สร้างสารโอปีน เช่น nopaline synthase (*nos*) agroclonopine synthase (*acs*) octopine synthase (*ocs*) เป็นต้น

Ti-plasmid จะมีส่วน *vir* gene (virulence gene) ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวกับการส่ง T-DNA เข้าไปในเซลล์พืช เมื่อแบคทีเรียส่ง T-DNA เข้าไปในเซลล์พืชแล้ว เซลล์พืชนั้นจะสามารถสร้างสารโอปิโนได้นอกจากนี้ ขอบเขตของ T-DNA ที่จะส่งเข้าไปในเซลล์พืช กำหนดโดยลำดับเบสซ้ำ (terminal repeat) 25 คู่เบส ขนาดทั้ง 2 ข้างของ T-DNA เรียกว่า Left border (LB) และ right border (RB)



ภาพ 2.3 แสดงอะโกรแบคทีเรียที่เริ่มส่งถ่ายบริเวณ T-DNA เข้าสู่เซลล์พืชและทำให้พืชเกิดเป็นปุ่มปม (<http://bib2011genetik.wikispaces.com/Agrobacterium+tumefaciens>)

กลไกในการส่งถ่าย T-DNA เข้าสู่เซลล์พืช

กลไกการส่งถ่ายยีนคล้ายกับการส่งถ่ายพลาสมิดในการจับคู่ conjugation ของแบคทีเรีย กระบวนการส่งถ่ายจะถูกกระตุ้นโดยสารพวก phenolic compound จากพืช คือ acetosyringone (AS) ซึ่งพืชจะปล่อยออกมาเมื่อเกิดบาดแผล และการส่งถ่ายจะถูกควบคุมโดยยีน *chv* ซึ่งอยู่บนโครโมโซมของแบคทีเรีย และยีน *vir* ที่อยู่บน Ti-plasmid โดยที่ T-DNA จะถูกตัดโดยเอนไซม์ที่เป็นผลผลิตของยีน *vir D* ที่ขอบเขตทางขวา (RB) และซ้าย (LB) แล้วส่งถ่ายเข้าสู่เซลล์พืชในแบบดีเอ็นเอสายเดี่ยว (T-strand) กระบวนการดังกล่าวจะอธิบายโดยละเอียดในภาพที่ 2. 3 ดังนี้ (สุรินทร์, 2548)

-
- The diagram illustrates the process of bacterial-plant conjugation, divided into two main sections: the Agrobacterium cell and the Plant cell.
- Agrobacterium cell:**
- Bacterial chromosome:** Contains the *chv A* and *chv B* genes.
 - Ti Plasmid:** A circular plasmid containing several key elements:
 - ori** (origin of replication)
 - trn** (transfer origin)
 - oct** (octopine gene)
 - vir** (virulence genes)
 - vir C**, **vir G**, **vir C**, **vir D**, **vir E** (virulence genes)
 - Constitutive** promoter
 - Octopine induces** (induces octopine production)
 - Octopine Carobolism** (octopine catabolism)
 - Trn** (transfer origin)
 - over drive** (overdrive)
 - Genetic Flow in Agrobacterium:**
 - 11 Bacteria can grow on octopine and conjugate with bacteria** (indicated by a plus sign).
 - 10 Octopine induces** (indicated by a plus sign).
 - 9 Vir D protein nicks DNA** (indicated by a plus sign).
 - 8 T-strand made** (indicated by a plus sign).
 - 7 T-DNA integration** (indicated by a plus sign).
 - 6 T-strand made** (indicated by a plus sign).
 - 5 Vir A protein transports or activates AS** (indicated by a plus sign).
 - 4 AS + vir G protein activate B, C, D, E, F, G** (indicated by a plus sign).
 - 3 Octopine enters** (indicated by a plus sign).
 - 2 AS inducer enters bacterial cell** (indicated by a plus sign).
- Plant cell:**
- Cytoplasm:** Contains the **7 T-DNA integration** and **8 T-DNA genes expressed** (indicated by a plus sign).
 - Nucleus:** Contains the **2 AS inducer enters bacterial cell** (indicated by a plus sign).
 - Genetic Flow in Plant:**
 - 1 Gene products for attachment** (indicated by a plus sign).
 - 2 AS inducer enters bacterial cell** (indicated by a plus sign).
 - 3 Vir A protein transports or activates AS** (indicated by a plus sign).
 - 4 AS + vir G protein activate B, C, D, E, F, G** (indicated by a plus sign).
 - 5 Vir A protein transports or activates AS** (indicated by a plus sign).
 - 6 T-strand made** (indicated by a plus sign).
 - 7 T-DNA integration** (indicated by a plus sign).
 - 8 T-DNA genes expressed** (indicated by a plus sign).
 - 9 Octopine enters** (indicated by a plus sign).
 - 10 Octopine induces** (indicated by a plus sign).
 - 11 Bacteria can grow on octopine and conjugate with bacteria** (indicated by a plus sign).
- Schematic diagram of bacterial-plant conjugation.**

ภาพ 2.4 แสดงกลไกของเชื้ออะโกรแบคทีเรียในการส่งถ่าย T-DNA เข้าสู่เซลล์พืช (Lichtenstein,1986)

Hooykaas and Beijersbergen, (1994) ศึกษาพบว่า อะโกรแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดิน สามารถส่งถ่ายดีเอ็นเอเข้าสู่พืชเมื่อเกิดบาดแผล โดยส่วนใหญ่จะมีรายงานในพืชใบเลี้ยงคู่ เช่น ยาสูบ (Barton *et al.*, 1983) พืชเนย (Jones *et al.*, 1987) และอะราบิดอบซิส (Steven and Andrew, 1998) มีข้อจำกัดคือ ส่วนใหญ่จะใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียส่งถ่ายยีนเข้าสู่พืชใบเลี้ยงคู่ซึ่งเชื้ออะโกรแบคทีเรียบางสายพันธุ์ก็ค่อนข้างจำเพาะเจาะจงต่อพืชมาก ทำให้เกิดปัญหาการส่งถ่ายยีนเข้าสู่พืชใบเลี้ยงเดี่ยว (De Cleene and De Ley, 1976) ดังนั้น จึงได้มีการพัฒนาวิธีการถ่ายยีนโดยใช้ *A. tumefaciens* ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว โดยเริ่มจากการเลือกใช้น้ำเนื้อเยื่อเริ่มต้นที่มีความเหมาะสมนำมาใช้ในการถ่ายยีน เช่น เนื้อเยื่อเจริญซึ่งมีความสามารถในการพัฒนาเป็นต้นสูง การเติมอะซิโตไซริงโคนในอาหาร co-cultivation เพื่อกระตุ้นการทำงานของกลุ่มยีน *vir* ในพลาสมิด Ti ของ *A. tumefaciens* การเลือกใช้ส่วนของโปรโมเตอร์ที่มีความเหมาะสมในการกระตุ้นการแสดงออกของยีนในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว โดยปัจจุบันได้มีรายงานการส่งถ่ายยีนเข้าสู่พืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น ข้าวโพด (Graves and Goldman, 1986) และข้าว (Hiei *et al.*, 1994) ซึ่ง Hiei *et al.* (1994) รายงานการส่งถ่ายยีนโดยใช้อะโกรแบคทีเรียเข้าข้าวกลุ่มจาโปนิกา 3 สายพันธุ์ คือ Tsukinohikari Asanohikari และ Koshihikari โดยศึกษาชนิดของเนื้อเยื่อ ระยะเวลาในการบ่มอะโกรแบคทีเรียร่วมกับเนื้อเยื่อพืช สายพันธุ์ของอะโกรแบคทีเรีย และชนิดของวекเตอร์ พบว่า แคลลัสที่เจริญมาจากเนื้อเยื่อส่วนสควเทลลัม (scutellum) เป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดในการส่งถ่ายยีนเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปลายยอด ชิ้นส่วนของราก แคลลัสที่เจริญมาจากราก เอ็มบริโอที่ยังอ่อนอยู่ และเซลล์แขวนลอย และพบว่าระยะเวลาในการบ่มอะโกรแบคทีเรียร่วมกับเนื้อเยื่อพืชที่เหมาะสมคือ ระยะเวลา 3 วัน ในอาหารที่มีการเติมอะซิโตไซริงโคน อีกทั้งพบว่า การใช้อะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 ที่มีพลาสมิด pTOK233 ส่งถ่ายเข้าสู่ข้าวสายพันธุ์ Tsukinohikari มีประสิทธิภาพการส่งถ่ายยีนมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวอีก 2 สายพันธุ์และศึกษาลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของต้นข้าวที่ได้รับการถ่ายยีนรุ่น R_0 จนถึงรุ่น R_1 โดยติดตามการแสดงออกของยีน *hpt* (hygromycin resistant) พบว่า มีการแทรกตัวของยีน 1-2 ชุดและมีการถ่ายทอดในรุ่นต่อไปตามกฎของเมนเดล

นอกจากนี้ พบว่าข้าวกลุ่มอินดิกามีการศึกษาและรายงานเกี่ยวกับการส่งถ่ายยีนค่อนข้างน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวในกลุ่มจาโปนิกา เนื่องจากข้าวกลุ่มอินดิกาตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่ำ จึงต้องมีการพัฒนาและปรับปรุงให้เหมาะสมต่อการส่งถ่ายยีน เช่น สูตรอาหาร สภาพการเพาะเลี้ยง ลักษณะและประเภทของเนื้อเยื่อ รวมถึงสายพันธุ์อีกด้วย ซึ่งได้มีรายงานการส่งถ่ายยีนเข้าสู่ข้าวกลุ่มอินดิกาโดยการเลือกใช้น้ำเนื้อเยื่อปลายยอดและแคลลัส ดังนี้

Yookongkaew *et al.* (2007) รายงานการส่งถ่ายยีนในเนื้อเยื่อปลายยอดของข้าวขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียผสมสายพันธุ์ EHA105 ที่มีพลาสมิด pCAMBIA1301 และศึกษาความเข้มข้นของ TDZ ที่มีผลต่อการชักนำให้เนื้อเยื่อปลายยอดเจริญเป็นหลายๆ ยอด ซึ่งจากการทดลองพบว่า การใช้ TDZ ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้เกิดยอดได้มากที่สุด นอกจากนี้ พบว่าประสิทธิภาพการส่งถ่ายยีนเท่ากับ 42 เปอร์เซ็นต์โดยดูจากการแสดงออกของยีน *gus* และยังพบว่า มีการแทรกตัวของยีน *gus* ในรุ่น T_0 อีกด้วย

Arockiasamy and Ignacimuthu. (2007) รายงานการส่งถ่ายยีนโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรีย *สายพันธุ์ EHA101* ที่มีพลาสมิด *pRIT1* เข้าสู่เนื้อเยื่อปลายยอดอายุ 4 วันของข้าวกลุ่มอินดิกา 2 สายพันธุ์ คือ *white ponni* (WP) และ *Pusa Basmathi 1* (PB 1) พบว่า สามารถส่งถ่ายยีนได้โดยการติดตามการแสดงออกของยีน *gus* ซึ่งเป็นยีนรายงานผล และประสิทธิภาพของการส่งถ่ายยีนเท่ากับ 6.2 เปอร์เซ็นต์และ 8.08 เปอร์เซ็นต์ในข้าว WP และ PB1 ตามลำดับ นอกจากนี้สามารถชักนำเนื้อเยื่อปลายยอดให้เจริญเป็นต้นได้โดยการเลี้ยงในอาหารสูตร MS+ 300 mg/l Casamino acid + 500 mg/l L-proline + 30 g/l Sucrose + 1 mg/l BAP + 1 mg/l Kinetin และ 0.1 mg/l NAA และพบว่าสามารถติดตามการแสดงออกของยีน *gus* ถึงรุ่น T1 ได้

Hirochika, (1993) รายงานว่า การชักนำเนื้อเยื่อปลายยอดให้เจริญเป็นต้นทำให้เกิดความแปรผันทางพันธุกรรม (somaclonal variation) ได้น้อย เนื่องจาก การกลายพันธุ์ส่วนใหญ่จะเกิดในระยะการเปลี่ยนแปลง (dedifferentiation steps) ในขั้นตอนการชักนำแคลลัสเป็นเวลานานๆ แต่ Park *et al.* (1996) ได้รายงานในการส่งถ่ายยีนโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียมเข้าสู่เนื้อเยื่อปลายยอดของข้าว Maybelle พบว่าประสิทธิภาพในการส่งถ่ายยีนค่อนข้างต่ำประมาณ 0.7 เปอร์เซ็นต์

ข้อดีของการใช้เนื้อเยื่อปลายยอดในการส่งถ่ายยีนคือ ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสั้นจึงเกิดความแปรผันทางพันธุกรรมน้อย สามารถชักนำให้เจริญเป็นต้นโดยใช้ระยะเวลารวดเร็วกว่าการใช้เนื้อเยื่อพวกแคลลัสหรือโปรโตพลาสต์ ซึ่งจะทำให้ประหยัดเวลา แต่มีข้อเสียคือประสิทธิภาพในการส่งถ่ายยีนต่ำและต้นที่ได้รับการถ่ายยีนอาจเกิดลักษณะไคเมอรา (chimera) ได้

รายงานการส่งถ่ายยีนเข้าสู่เซลล์ของข้าวโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรีย

Pipatpanukul *et al.* (2004) ได้ศึกษาสูตรอาหารที่ชักนำแคลลัสในข้าวพันธุ์ กข6 (RD6) โดยพบว่าอาหารสูตร N6 ดัดแปลงที่เติม IAA ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์ และ BA ความเข้มข้น 18 ไมโครโมลาร์ และศึกษาความเข้มข้นของกานามัยซิน พบว่า การใช้กานามัยซินความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการคัดเลือกแคลลัสที่ได้รับการส่งถ่ายยีน โดยในการทดลองนี้ ใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 ที่มีพลาสมิด pBI121 โดยมียีน *nptIII* เป็นยีนคัดเลือก และมียีน *gus* เป็นยีนรายงานผล และใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ EHA105 ที่มีพลาสมิด pCAMBIA1301 ที่มียีน *hpt* เป็นยีนคัดเลือก และมียีน *gus* เป็นยีนรายงานผล ผลการศึกษาสามารถส่งถ่ายยีนเข้าสู่ข้าวพันธุ์ กข6 ได้ โดยพบการแสดงออกของยีน *gus* ในแคลลัสและต้นข้าวดัดแปลงพันธุ์และมีการถ่ายทอดลักษณะทนทานต่อไฮโดรเมทิลซินจากต้นข้าวรุ่น T_0 ไปสู่รุ่น T_1

Lin and Zhang. (2005) ได้รายงานถึงสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสมที่ทำให้ประสิทธิภาพการส่งถ่ายยีนค่อนข้างสูง โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ EHA105 ที่มีพลาสมิด pCAMBIA1301 ส่งถ่ายยีนเข้าสู่แคลลัสข้าวกลุ่มอินดิกา 4 สายพันธุ์ คือ Minghui 63 Zhenshan97 W9864S และ Zhong 419 โดยใช้อาหารสูตร MS N6 L3 ในการชักนำให้เกิดแคลลัส ซึ่งพบว่าอาหารสูตร L3 เหมาะสมในการชักนำแคลลัสมากที่สุดและส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการส่งถ่ายยีนสูงเท่ากับ 23.4 เปอร์เซ็นต์

Samiphak and Siwarungson. (2006) รายงานการส่งถ่ายยีน *GFP* และยีน *hva1* เข้าแคลลัสข้าวหอมดอกมะลิ 105 โดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ EHA105 ที่มีพลาสมิด pCAMBIA 5305 ซึ่งพบว่า ประสิทธิภาพของการส่งถ่ายยีนโดยดูการแสดงออกของยีน *hpt* และ *GFP* เท่ากับ 10 และ 16 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แคลลัสที่ได้รับยีน *GFP* จะเห็นการเรืองแสงสีเขียว ความถี่ของการส่งถ่ายยีนโดยวัดการเรืองแสงของ *GFP* และ การวิเคราะห์ PCR อยู่ในช่วงจากร้อยละ 4 ถึง 5.5 และประสิทธิภาพในการส่งถ่ายยีน *hva1* ที่มีการต้านทานต่อ glufosinate ความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยตรวจจากระดับ mRNA มีค่าร้อยละ 0.54

Dowla *et al.* (2008) ศึกษาการส่งถ่ายยีนโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรียสายพันธุ์ LBA4404 ที่มีพลาสมิด pBI121 ซึ่งมียีน *nptIII* เป็นยีนคัดเลือก และมียีน *gus* เป็นยีนรายงานผล เข้าสู่แคลลัสข้าวกลุ่มอินดิกาสายพันธุ์ BRRI dhan-33 พบว่า สามารถประสบความสำเร็จในการส่งถ่ายยีนและประสิทธิภาพการส่งถ่ายยีนเท่ากับ 4 เปอร์เซ็นต์

ข้อดีของการใช้แคลสในการส่งถ่ายยีน คือ ประสิทธิภาพในการส่งถ่ายยีนสูงและต้นข้าวที่ได้รับยีนจะมีการแสดงออกทั้งต้น แต่ก็มีข้อเสียคือ อาจเกิดการแปรผันทางพันธุกรรมซึ่งจะเกิดในช่วงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลานานๆ โดยเกิดขึ้นในระยะที่เซลล์ของแคลสเปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อและเจริญเป็นต้นสมบูรณ์ (Labra *et al.*, 2001)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved