หัวข้อวิทยานิพนธ์ การกระจายตัวทางพันธุกรรมของปริมาณแอนโทไซยานินใน

ประชากรลูกผสมระหว่างข้าวเหนียวคำพื้นเมืองจากที่สูงกับข้าวพันธุ์

สมัยใหม่ปทุมธานี 1

ผู้เขียน นาย พิทวัส สมบูรณ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืช ไร่)

คณะกรรมการที่ปรึกษารองศาสตราจารย์ คร. สันสนีย์ จำจดอาจารย์ที่ปรึกษาหลักรองศาสตราจารย์ คร. ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมอาจารย์ คร. ต่อนภา ผุสดีอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

## บทคัดย่อ

ข้าวก่ำพื้นเมืองมีลักษณะเฉพาะคือมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง ซึ่งเป็นแหล่งสะสมแอนโทไซยานินที่ มีประโยชน์ต่อร่างกาย มีคุณสมบัติด้านอนุมูลอิสระ ข้าวพันธุ์พื้นเมือง จะให้ปริมาณแอนโทไซยานิน ในเมล็ดสูงในแหล่งปลูกที่มีความเฉพาะเจาะจง การปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ข้าวก่ำพันธุ์พื้นเมืองที่ให้ ปริมาณแอนโทไซยานินสูงในพื้นที่ปลูกที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างกันนั้น นักปรับปรุงพันธุ์ต้อง เข้าใจถึงการแสดงออกทางพันธุกรรมที่ควบคุมปริมาณแอนโทไซยานิน และอิทธิพลของ สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมในเมล็ด ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการแสดงออกทางพันธุกรรมของการสะสมปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดในลูกผสมชั่วที่ 1 และชั่วที่ 2 และประเมินปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมต่อปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดใหม่ คล ะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และแปลงปลูกของเกษตรกร บ้านทุ่งหลวง ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ ดำเนินการวิจัยระหว่างเดือนพฤษภาคม 2557 ถึง มีนาคม 2559

การทดลองที่ 1 ประเมินลักษณะทางสัณฐานของลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างข้าวก่ำพื้นเมืองจากที่ สูงที่มีค่าแอนโทไซยานินสูง 7 พันธุ์กับข้าวพันธุ์สมัยใหม่ปทุมธานี 1 เปรียบเทียบพันธุ์พ่อแม่ ผล การศึกษาพบว่าสีเยื่อหุ้มเมล็ดมีการแสดงออกของยืนแบบข่ม ไม่สมบูรณ์ ลักษณะชนิดแป้งแสดง ออกแบบข่มสมบูรณ์โดยข้าวเจ้าข่มข้าวเหนียว ในลักษณะจำนวนวันออกดอกพบว่าลูกผสมออกดอก เร็วกว่าพันธุ์พ่อแม่ สำหรับลักษณะความสูงต้นและจำนวนหน่อต่อต้นของลูกผสมมีค่าอยู่ระหว่าง พันธุ์พ่อแม่ ในส่วนของน้ำหนักเมล็ดต่อต้นของลูกผสมมีค่าน้อยกว่าพันธุ์พ่อแม่ โดยที่พันธุ์พ่อมี น้ำหนัก 18.7 กรัมต่อต้น พันธุ์แม่ทั้ง 7 พันธุ์มีน้ำหนัก อยู่ในช่วง 4.9-12.0 กรัมต่อต้น วัดความเข้มของ สีเยื่อหุ้มเมล็ด โดยนำเมล็ดข้าวกล้องไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้ว วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร พบว่าเมล็ดลูกผสมมีค่าอยู่ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ เมื่อเปรียบเทียบลูกผสมทุกคู่ผสมพบว่าลูกผสมระหว่างพันธุ์ปิอิซูกับปทุมธานี 1 มีค่าการดูดกลืนแสง และน้ำหนักเมล็ดต่อต้นเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 0.2513 และ 5.303 กรัม ตามลำดับ

การทดลองที่ 2 ประเมินปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมต่อปริมาณ แอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างข้าวก่ำพื้นเมืองพันธุ์ปิอิซูและ ปทุมธานี 1 โดยปลูกทดลองในฤดูนาปี เพาะเมล็ดลูกผสมทั้งหมด 265 ต้น และพันธุ์พ่อแม่ แยกต้น กล้าเป็นสองส่วนแล้วปลูกลงกระถางบรรจุดิน นำไปปลูกทดลอง 2 พื้นที่ คือ ที่ลุ่มที่คณะ เกษตรสาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และที่สูงที่บ้านทุ่งหลวง ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ เมื่อถึง ระยะสุกแก่เก็บเกี่ยวเมล็ดแยกต้น บันทึกสีเยื่อหุ้มเมล็ดจำนวน 10 เมล็ดต่อต้น วัดขนาดเมล็ด ข้าวเปลือก ทดสอบการเป็นชนิดข้าวเจ้าหรือข้าวเหนียวด้วยวิธีทดสอบการติดสีสารละลายไอโอดีน และวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ด พบว่าลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดมีการกระจายตัวของสี ทั้งหมด 3 แบบ คือ สีม่วง : สีน้ำตาล : สีขาว เท่ากับ 9:3:4 โดยถูกควบคุมด้วย 2 ยีน คัดเลือกเมล็ดจาก ต้นที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง 100 ต้น นำไปวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าว เปรียบเทียบ ระหว่าง 2 พื้นที่ปลูก และทดสอบการเป็นชนิดข้าวเจ้าหรือข้าวเหนียว

พบความแตกต่างในการตอบสนองต่อแหล่งปลูกในลักษณะสีเยื่อหุ้มเมล็ดและปริมาณแอน โทไซยานินในเมล็ด พันธุ์พ่อปทุมธานี 1 ที่เป็นพันธุ์ข้าวขาวและไม่พบแอนโทไซยานินในเมล็ด พันธุ์ แม่ปีอิซูเมื่อปลูกในที่ลุ่มมีค่าปริมาณแอนโทไซยานิน 147.10 mg/100g ขณะที่การปลูกในที่สูงมีค่า 312.31 mg/100g ลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินเป็นแบบต่อเนื่องมีค่า ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ โดยการปลูกในที่สูงมีสีเยื่อหุ้มเมล็ดเข้มกว่าและมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงเป็น สองเท่าของข้าวที่ปลูกในที่ลุ่ม เมื่อปลูกในที่ลุ่มมีปริมาณแอนโทไซยานินเลลี่ย 24.87 mg/100g และ ปลูกบนที่สูงมีค่าเลลี่ย 58.89 mg/100g ลูกผสมส่วนใหญ่มีการกระจายตัวค่อนข้างไปในทิศทางของ พันธุ์พ่อ ปทุมธานี 1 พบจำนวน 4 ต้นที่ถูกจัดกลุ่มอยู่ในระดับเดียวกับพันธุ์แม่ปีอิซู พบความสัมพันธ์

ในทางบวกระหว่างแหล่งปลูกมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ระหว่างทั้งสองแหล่งเท่ากับ 0.788\*\* ใน ลักษณะชนิคแป้งพบว่ามีการกระจายตัว 3 แบบ คือ ข้าวเจ้า ข้าวเหนียว และทั้งข้าวเจ้าและข้าวเหนียว ในต้นเดียวกัน ในสัดส่วนเท่ากับ 58% 13% และ 29 % ตามลำดับ

สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะเมื่อปลูกต่างแหล่งปลูก ในส่วนของลักษณะสีเยื่อหุ้ม เมล็ด พบว่าการปลูกในที่สูงภายในกลุ่มระดับความเข้มสีเดียวกัน เมื่อปลูกในที่ลุ่มมีการกระจายตัว ของระดับความเข้มของสีเยื่อหุ้มเมล็ดลดลงและยังพบว่าปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดจะเพิ่มขึ้น ตามระดับความเข้มของสีเยื่อหุ้มเมล็ด ในขณะเดียวกันยังพบว่าน้ำหนักเมล็ดต่อต้นของสองพื้นที่ ไม่มี ความสัมพันธ์กันระหว่างพื้นที่ปลูก และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเมล็ดต่อต้นและ ปริมาณแอนโทไซยานินในแต่ละต้นของทั้งสองพื้นที่ปลูก พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน โดยที่น้ำหนัก เมล็ดต่อต้นจะมากหรือน้อยก็ไม่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่สะสมให้เมล็ด

จากการศึกษานี้ ได้ประเมินลักษณะทางสัณฐานของลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ แสดง ให้เห็นว่ามีการแสดงออกแบบข่มสมบูรณ์ ข่ม ไม่สมบูรณ์ และการข่มข้ามคู่ของลักษณะต่าง ๆ และยัง แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของสภาพแวดล้อมมีผลต่อการสะสมปริมาณแอน โท ไซยานินในเมล็ด ซึ่ง ความรู้และความเข้าใจที่ ได้จะสามารถนำ ไปใช้ประโยชน์ในการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์ และการ คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีปริมาณแอน โท ไซยานินสูง ได้ โดยการเพิ่มจำนวนประชากรในการคัดเลือกเพื่อ เพิ่มโอกาสในการแสดงออกของยืนที่ควบคุมลักษณะแอน โท ไซยานินสูง และในการปลูกคัดเลือก ควรมีการทดสอบในพื้นที่สภาพแวดล้อมเป้าหมายในการคัดเลือกและส่งเสริม

ลิ**ปสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม**่ Copyright<sup>©</sup> by Chiang Mai University All rights reserved Thesis Title Genetic Segregation of Anthocyanin Contents in Progeny Populations

Between Black Glutinous Local Rice Varieties from Highland and Modern

Variety, Pathumthani 1

**Author** Mr. Pittawat Somboon

**Degree** Master of Science (Agronomy)

Advisory Committee Assoc. Prof. Dr. Sansanee Jumjod Advisor

Assoc. Prof. Dr. Chanakarn Thebault Prom-u-thai Co-advisor

Lect. Dr. Tonapa Pusadee Co-advisor

## **ABSTRACT**

Local purple rice has a unique characteristic of purple pericarp where it stores anthocyanin, a health beneficial substance with antioxidant property. Anthocyanin content in the pericarp is highly dependent on the environment of cultivation. Thus, to be able to grow this local purple rice with high anthocyanin content in cultivating area with differed environment, it is essential that we understand the genetic control of anthocyanin and genotype by environment interaction effect on grain anthocyanin content. The objectives of this study were to evaluate gene action of grain anthocyanin content in  $F_1$  and  $F_2$  populations and evaluate genotype by environment interaction on grain anthocyanin content. The research was conducted at the experimental plot of the Division of Agronomy, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University and Thung Luang Village, Mae win Subdistrict, Mae Wang District, Chiang Mai during May 2014 – 2016.

In the first experiment, morphological traits of  $F_1$  hybrids, 7 local purple rice varieties from highland with high anthocyanin and improved white rice variety (Pathumthani 1) were evaluated and compared with the parents. Incomplete dominant of purple color was found in pericarp, while

endosperm type was complete dominant to non-glutinous type. For days of flowering,  $F_1$  hybrids were earlier than the parents. Plant height and the number tillers per plant of the  $F_1$  were in the range of their parents. The grain yield of the male and female parents were 18.7 and 4.9-12.0 g/plant, respectively. The highest grain yield among the hybrids was from Bieisu and Pathumthani 1 with the weight of 5.303 g/plant. This hybrid also exhibited darker purple color than the others. Therefore, the cross was used selected and used in next experiment.

In the second experiment, the genotype by environment interaction on grain anthocyanin content in rice seeds of the F<sub>2</sub> population between Bieisu and Pathumthani 1 was studied during wet season. Parents and 265 F<sub>2</sub> plants were grown in the plastic pots and then each plant was separated into two plants at seedling stage, forming two sets of F<sub>2</sub> plants. The first set was kept at the Faculty of Agriculture, Chiang Mai University as low land condition. The other was transferred to the highland at Thung Luang Village, Mae win Sub-District, Mae Wang District, Chiang Mai. At maturity, seeds from each plant were harvested. The data were recorded for grain yield, pericarp color seed size endosperm type were and grain anthocyanin content. The pericarp colors of the F<sub>2</sub> population were segregated at the ratio of 9 purple: 3 brown: 4 white which was fitted into 2 complementary genes controlling model. Grain anthocyanin content from 100 of purple pericarp plants were compared between the two locations.

Difference response to location in pericarp color and anthocyanin content was found in this study. The modern variety Patumthani 1 had white pericarp without anthocyanin. Anthocyanin contents in the grain of local rice variety Bieisu parent were 147.10 and 312.31 mg/100 g when grown in lowland and highland, respectively. The  $F_2$  population showed continuous distribution of anthocyanin content within the range of the parents. The  $F_2$  plants grown on highland had darker pericarp and higher anthocyanin content than those of the lowland, with the average of 24.87 mg/100g for lowland and 58.89 mg/100g for highland. Most of  $F_2$  skewed toward the Patumthani 1 parent in both locations. Four plants had anthocyanin content close to the Bieisu parent. There was

positive correlation between grain anthocyanin content in F2 population at lowland and highland (r = 0.788\*\*). For endosperm type, three types were found, including all non-glutinous, all glutinous and glutinous mixed with non-glutinous in the same plant with the ratio of 58%:13%:29%, respectively.

When compared between locations, on the plants with dark purple pericarp segregated into several lighter purple shades when grown on lowland with lower anthocyanin contents. There was no relationship of grain yield between locations and between grain yield and anthocyanin content.

Inconclusion, this study evaluates the morphological characters of the hybrids and compared them to the parents, showing modes of inheritance of color and endosperm type as complete dominance, incomplete dominance and epistasis. It indicates the genotype by environment effect on anthocyanin content. This finding could be used in making plans for breeding and the selection of the variety with high anthocyanin content. As small number of  $F_2$  plants with the same level as high anthocyanin parent found, increasing in population size will provide more opportunity for selection of plants with desirable traits and high grain anthocyanin content. The selection should also be done in the targeted environment to ensure the success of the selection.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright<sup>©</sup> by Chiang Mai University All rights reserved