บทที่ 1

บทนำ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติของข้าว

ข้าวเป็นธัญญพืชที่สำคัญอย่างหนึ่งของมนุษย์โลกที่ใช้บริโภคกันมานานแล้ว ปัจจุบันข้าวที่มนุษย์เพาะปลูกและใช้บริโภคเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ Oryza sativa ซึ่งปลูกกันทั่วไป และ Oryza glaberrima ซึ่งปลูกเฉพาะในทวีปอัฟริกา นอกจากนี้ยังมีข้าวพันธุ์ป่าที่เกิดขึ้นในธรรมชาติตามแหล่งต่าง ๆ ที่เพาะปลูกข้าวอีกหลายชนิด ที่สำคัญได้แก่ Oryza spontanea, Oryza perennis, Oryza officinalis และ Oryza nivara ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่า Oryza perennis เป็นต้นตระกูลของข้าวที่ใช้ปลูกและบริโภคกันอยู่ทุกวันนี้ (1)

จากการศึกษาของนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นได้สรุปว่า Oryza sativa ที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศต่าง ๆ ยังสามารถแบ่งย่อยได้เป็น 3 ssp. โดยยึดถือเอาลักษณะภายนอกของลำต้น, เมล็ด และเปอร์เซนต์เมล็ดลีบของข้าวลูกผสม (hybrid sterility) ระหว่างข้าวทั้ง 3 ssp.เป็นหลักในการพิจารณา ข้าวทั้ง 3ssp.นี้ได้แก่

| | |
|---|---|
| **Japonica** | ปลูกกันมากในเขตอบอุ่น เช่น เอเชียตะวันออก |
| **Indica** | ปลูกกันมากในเขตร้อน เช่น เอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ |
| **Javanica** | ปลูกเฉพาะในอินโดนีเซียเท่านั้น |

ลักษณะของข้าว

เมื่อนำเมล็ดข้าวมาเพาะจะได้ต้นข้าวอ่อน ๆ ที่เรียกว่า ต้นกล้า (seedling) หลังจากที่ต้นกล้ามีอายุได้ 40 วัน จะมีหน่อใหม่เกิดขึ้นโดยเจริญเติบโตออกมาจากตาที่โคนต้น ต้นกล้าแต่ละต้นสามารถแตกกอได้หน่อใหม่ประมาณ 5 – 15 หน่อขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว ระยะปลูก และความอุดมสมบูรณ์ของดิน ข้าวแต่ละหน่อจะเจริญให้ช่อดอก 1 ช่อ เมื่อดอกผสมเกสรแล้วจะเจริญเติบโตเป็นเมล็ดข้าว ข้าว 1 รวง จะมีเมล็ดข้าวประมาณ 100 – 150 เมล็ด ปกติต้นข้าวที่โตเต็มที่จะสูงจากพื้นดินถึงปลายรวงประมาณ 100 – 200 ซม.

ลักษณะของข้าวแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ

1. ลักษณะที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโต

1.1 ราก ข้าวมีรากเป็นส่วนที่อยู่ใต้ผิวดิน และบางครั้งมีรากที่เกิดขึ้นที่ข้อเหนือผิวดิน รากข้าวจะเป็นรากฝอยแตกแขนงกระจายอยู่ใต้ผิวดิน แต่ละแขนงจะมีรากขนอ่อนช่วยดูดแร่ธาตุ และน้ำเพื่อนำไปสังเคราะห์แสง

1.2 ลำต้น ข้าวมีลำเป็นปล้อง ๆ ถูกห่อหุ้มด้วยกาบใบ ภายในมีลักษณะกลม จำนวนปล้องจะแตกต่างกัน ปกติจะมีปล้องประมาณ 25 – 30 ปล้อง ซึ่งเท่ากับจำนวนใบปล้องที่อยู่ตรงโคนจะสั้นและหนากว่าปล้องที่อยู่ตรงปลาย โดยปกติแล้วปล้องที่อยู่ตรงโคนจะมีขนาดใหญ่กว่าปล้องตรงปลาย ยกเว้นพวกข้าวชื้นน้ำจะมีปล้องที่อยู่ใกล้ผิวน้ำขนาดใหญ่กว่าและยาวกว่าปล้องที่อยู่ตรงโคน ที่ข้อของลำต้นจะมีตาสำหรับเจริญเติบโตออกมาเป็นหน่อข้อละหนึ่งตาสลับกัน สีของข้อจะแตกต่างกันตามชนิดของพันธุ์ข้าว ซึ่งอาจจะมีสีเหลืองหรือสีแดงก็ได้ นอกจากนี้ความยาวของปล้องยังขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ข้าวด้วย

1.3 ใบ ใบประกอบด้วยกาบใบและแผ่นใบเชื่อมติดกันด้วยข้อต่อของใบ กาบใบเป็นส่วนที่ติดอยู่กับข้อและห่อหุ้มลำต้นไว้ แต่ละข้อจะมีเพียง 1 กาบใบเท่านั้น แผ่นใบเป็นส่วนที่อยู่เหนือข้อต่อของใบ มีลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ ทำหน้าที่สังเคราะห์แสง พันธุ์ข้าวแต่ละพันธุ์จะมีความยาว ความกว้าง รูปร่าง สีของใบ ขน และการทำมุมของใบกับลำต้นแตกต่างกันไปตามชนิดของพันธุ์ข้าว ใบข้าวใบสุดท้ายที่ติดอยู่กับรวงข้าวเรียกว่า ใบธง ปกติใบธงจะมีลักษณะสั้น และทำมุมกับลำต้นแตกต่างจากใบอื่น ๆ

บริเวณข้อต่อของใบมีลักษณะคล้าย ๆ กับข้อที่กั้นแบ่งต้นข้าวออกเป็นปล้อง ๆ นอกจากนี้ยังมีเขี้ยวกันน้ำฝน (ligule) และเขี้ยวกันแมลง (auricle) ติดอยู่ด้วย เขี้ยวกันน้ำฝนมีอันเดียว ลักษณะเป็นแผ่นบาง ๆ อยู่ด้านในของข้อต่อของใบ และประกบติดอยู่กับลำต้น ขนาดและสีของเขี้ยวกันน้ำฝนจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพันธุ์ข้าว ส่วนเขี้ยวกันแมลงจะมีอยู่ 2 อัน ลักษณะเป็นกลุ่มคล้ายหางกระรอกติดอยู่กับข้อต่อของใบข้างละอัน ในใบข้าวที่แก่ ๆ เขี้ยวกันแมลงอาจร่วงหล่นไปได้จึงไม่ค่อยเห็นในใบแก่ สำหรับใบในหน่อข้าวที่แตกออกมานั้นมักจะมีจำนวนน้อยกว่าใบในต้นเดิม

2. ลักษณะที่เกี่ยวกับการสืบพันธุ์

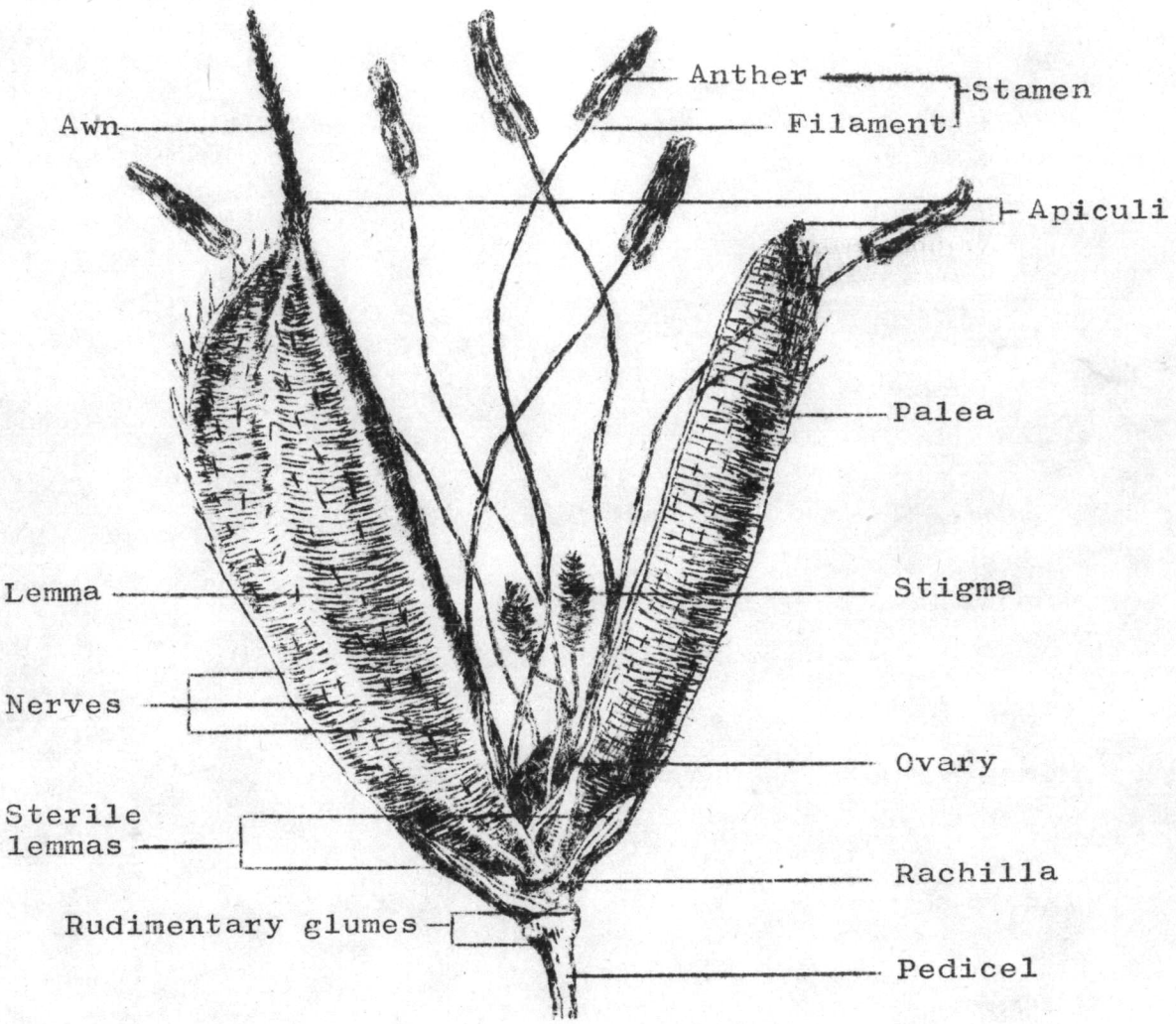
2.1 รวงข้าว รวงข้าวหมายถึงช่อดอก (inflorescence) เกิดที่ข้อบนสุดของต้นข้าว ระยะระหว่างข้อบนสุดกับข้อต่อของใบธง เรียกว่าคอรวง นอกจากนี้ข้อบนสุดอาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า ฐานของคอรวง

รวงข้าวประกอบด้วยก้านที่มีขนาดใหญ่ และมีการแตกแขนงแบบ raceme ออกไปมากมาย แต่ละข้อของก้านจะแตกแขนงออกไปเรียกว่า primary branch และแต่ละข้อของ primary branch จะแตกแขนงออกไปอีกเรียกว่า secondary branch จากนี้จะมีก้านออกไปเรียกว่า spikelet เชื่อมติดกับดอกข้าว

ลักษณะของรวงข้าว เช่น รูปร่าง ความถี่ห่างระหว่างข้อของ primary branch และ secondary branch ตลอดจนมุมการแตกแขนงของ primary branch secondary branch จะแตกต่างกันไปตามชนิดของพันธุ์ข้าว รวงที่มีข้อของ primary branch และ secondary branches ถี่ เรียกว่า มีระแง้ถี่ ทำให้มีจำนวนดอกข้าวต่อรวงมากขึ้นด้วย ซึ่งเป็นลักษณะของพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง

2.2 <u>ดอกข้าว</u> ดอกข้าวเป็นดอกสมบูรณ์เพศ (perfect flower) ซึ่งแต่ละดอกประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ดังภาพที่ 1 โดยมีเปลือกนอกสองแผ่นประสานกัน อาจมีขนหรือไม่มีก็ได้ ถ้าเปลือกไม่มีขนใบก็มักจะไม่มีขนและผิวเรียบด้วย เปลือกนอกแผ่นใหญ่ เรียกว่า lemma แผ่นเล็กเรียกว่า palea ปลายสุดของ lemma มักจะมีลักษณะเป็นปลายแหลมยื่นออกมา เรียกว่า หาง (awn) ลักษณะของหางจะสั้นหรือยาวขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว พันธุ์ที่มีหางยาวมักจะเป็นพันธุ์ที่ไม่ต้องการ เพราะทำให้เก็บเกี่ยวและนวดยากที่ปลายด้านล่างของ lemma และ palea เท่านั้นที่ประสานต่อกันบนก้านสั้น ๆ ที่เรียกว่า rachilla และที่ด้านบนของ rachilla จะมีแผ่นบาง ๆ สองแผ่น ขนาดเท่ากันเรียกว่า lodicule ทำหน้าที่บังคับให้ lemma และ palea ปิดหรือเปิดได้ ที่ฐานของ rachilla มี sterile lemma สองแผ่น ลักษณะเป็นเปลือกบาง ๆ รูปร่างคอนข้างยาวประกบอยู่ที่ฐานของ lemma และ palea แต่มีขนาดเล็กกว่า ปลายด้านล่างของ sterile lemma ก็ประสานติดกันอยู่รอบ ๆ ข้อที่เรียกว่า rudimentary glume ถัดลงมาเป็นก้านดอก หรือ pedicel ซึ่งติดอยู่บน secondary branch ของรวงข้าว

ภายใน lemma และ palea จะมีเกสรตัวผู้ (stamen) และเกสรตัวเมีย (pistil) เกสรตัวผู้ประกอบด้วยอับเรณู (anther) สีเหลือง จำนวน 6 อันซึ่งภายในมีเรณู (pollen grain) ขนาดเล็กจำนวนมาก อับเรณู




ภาพที่ 1 ส่วนต่าง ๆ ของดอกข้าว (1)

นี้ติดอยู่บนก้านยาวที่เรียกว่า ก้านชูอับเรณู (filament) ซึ่งเชื่อมติดอยู่กับฐานของดอก ส่วนเกสรตัวเมียประกอบด้วยที่รับเรณู เรียกว่ายอดเกสรตัวเมีย (stigma) จำนวน 2 อัน มีลักษณะคล้ายหางกระรอกขนาดเล็ก แต่ละอันมีก้านเรียกว่าคอเกสรตัวเมีย (style) เชื่อมติดอยู่กับรังไข่ (ovary) ภายในรังไข่จะมีไข่ (ovule)

ธรรมชาติของข้าวเป็นพืชพวก autogamy คือ มีการผสมตัวเอง (self pollination) ส่วนการผสมเกสรแบบข้ามต้น (cross pollination) นั้นมีเป็นจำนวนน้อย ประมาณ 0.5 – 5% เท่านั้น ปกติแล้วจะเกิดการผสมตัวเองในเวลาเช้า โดย lemma และ palea จะบานออกก่อนเล็กน้อย ดอกข้าวจะเริ่มบานจากปลายรวงมาสู่โคนรวงข้าว และรวงหนึ่ง ๆ จะใช้เวลาประมาณ 7 วัน เพื่อให้ดอกทุกดอกบานและมีการผสมเกสร

2.3 ผล (เมล็ดข้าวเปลือก) ชั้นนอกสุดของเมล็ดข้าวเปลือก คือ lemma และ palea เมื่อแกะเปลือกออกจะได้เมล็ดข้าวที่เรียกว่าข้าวกล้อง (brown rice) เมล็ดข้าวกล้องมักจะมีสีน้ำตาลอ่อน เมื่อทำการศึกษาเมล็ดข้าวอย่างละเอียดโดยผ่าตามความยาว จะพบว่าเมล็ดข้าวกล้องประกอบด้วยเยื่อชั้นนอกบาง ๆ เรียกว่า pericarp layer จำนวนสองชั้น เยื่อชั้นกลางหนึ่งชั้นเรียกว่า tegmen และเยื่อชั้นในบาง ๆ อีกหนึ่งชั้นเรียกว่า aleurone layer สีของเมล็ดข้าวกล้องขึ้นอยู่กับ pericarp ภายในเป็น endosperm มีลักษณะเป็นแป้งสีขาวหรือใส บางชนิดจะมี endosperm สีแดงแต่น้อยมาก ข้าวเหนียวจะมี endosperm สีขาวขุ่น ส่วนข้าวเจ้าจะมี endosperm ใสกว่า แต่อาจมีสีขาวขุ่นบริเวณด้านข้างหรือตรงกลางเมล็ดข้าวก็ได้ ซึ่งเรียกว่า ท้องไข่หรือท้องปลาชิว

ในด้านเศรษฐกิจ ข้าวมีความสำคัญต่อมนุษย์มาก ชาวเอเชียส่วนใหญ่นิยมบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก นอกจากนี้ยังเป็นสินค้าออกที่ทำรายได้ให้กับหลายประเทศ โดยเฉพาะประเทศไทย ข้าวมีความสำคัญในด้านเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก และเป็นสินค้า

ออกที่ทำรายได้ให้กับประเทศมากที่สุด ในปี 2520 ชาวนาไทยสามารถผลิตข้าวคิดเป็นเงินประมาณ 32,964.1 ล้านบาท หรือประมาณ 231 กก./ไร่ แต่ถ้าเปรียบเทียบกับประเทศอื่น ๆ พบว่าผลผลิตที่ได้นี้ค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับข้าวในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะข้าวพันธุ์พื้นเมืองของไทยจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่จะช่วยพัฒนาวิธีการเพิ่มผลผลิตและเพิ่มรายได้ให้กับประเทศเป็นอย่างยิ่ง

ปัจจุบันข้าวลูกผสมพันธุ์ดีที่ผ่านการพิจารณาของคณะกรรมการพิจารณาพันธุ์และนำออกขยายพันธุ์อย่างเป็นทางการโดยกองการข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ มี 12 พันธุ์ คือ กข 1, กข 2, กข 3, กข 4, กข 5, กข 6, กข 7, กข 8, กข 9, กข 11, กข 13 และ กข 15 ในจำนวนนี้เป็นข้าวเจ้าจำนวน 8 พันธุ์ และข้าวเหนียวจำนวน 4 พันธุ์ ข้อสังเกตง่าย ๆ คือ ตัวเลขที่ตามหลังคำว่า กข ถ้าเป็นเลขคี่ หมายถึงข้าวเจ้า แต่ถ้าเป็นเลขคู่ หมายถึงข้าวเหนียว

## ประวัติการเพาะเลี้ยงอับเรณูและเรณูของพืช

การเพาะเลี้ยงอับเรณูของพืชทำได้โดยเอาดอกอ่อน ๆ ในขณะที่ยังตูมมาฟอกฆ่าเชื้อ และผ่าตัดเอาอับเรณูหรือเรณูไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสม เทคนิคนี้ได้เกิดขึ้นเป็นครั้งแรกเมื่อปี 1953 โดย **Tulecke** (24) ได้เพาะเลี้ยงเรณูของ Gymnosperm คือ *Ginkgo biloba* ให้เจริญเติบโตเป็น haploid callus ได้สำเร็จบนอาหารสูตร White's + yeast exstract + 0.25% + IAA 1 ppm.

ปี 1959 Tulecke (25) ได้เพาะเลี้ยงอับเรณูของ *Taxus* ให้เจริญเติบโตเป็น haploid tissue ได้สำเร็จโดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร White 2, 4-D 0.6 ppm. + น้ำมะพร้าว 15%

ปี 1963 Tulecke และ Sehgal (26) ได้เพาะเลี้ยงอับเรณู ของ Torreya nucifera ที่มีเรณูในระยะ 2 เซล และได้ haploid callus ในปีเดียวกัน Konar (15) ก็สามารถสร้าง haploid callus จากเรณูของ Ephedra foliata โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร White's+ 2, 4– D 1.5 ppm + น้ำมะพร้าว 15%

ปี 1964 Guha และ Maheshwari (10) สามารถเพาะเลี้ยงอับเรณูของ Angiosperm สำเร็จเป็นครั้งแรก โดยเพาะเลี้ยงอับเรณูของ Datura innoxia ให้เจริญเติบโตเป็น embryoid และกลายเป็นต้นอ่อน

ต่อมานักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้สนใจเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงอับเรณู และได้ทำการศึกษาวิจัยกับพืชอื่น ๆ เช่น Bourgin และ Nitsch (2), Nakata และ Tanaka (17), Nitsch (12), Sunderland และ Wicks (23) ได้ทำการศึกษากับยาสูบเป็นผลสำเร็จ, Harn (12) ได้ทำการศึกษากับ Solanum nigrum เป็นผลสำเร็จ และยังกล่าวว่าต้นอ่อนที่ได้มีจุดกำเนิดมาจากเรณู

สำหรับพืชพวก Monocot นั้น Niizeki และ Oono (18) เป็นคนแรกที่สามารถเพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าว (Oryza sativa L.) ได้สำเร็จในปี 1968 โดยเพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าวในระยะ uninucleate microspore ให้เจริญเติบโตจนกลายเป็นต้นข้าวที่มีจำนวนโครโมโซมชุดเดียว (haploid plantlets) โดยใช้อาหารสูตร Blaydes แต่พบว่าเปอร์เซนต์การเกิด haploid callus ต่ำมาก ประมาณ 0.57% เท่านั้น

ปี 1972 Iyer และ Raina (14) ได้เพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าวจำนวน 15 พันธุ์ ในอาหารสูตร Blaydes' + 2, 4– D 1 mg/l +

IAA 1.5 mg/l + kinetin 1.5 mg/l + น้ำมะพร้าว 15% พบว่าเกิด haploid callus เพียง 4 พันธุ์ แต่สามารถเพาะเลี้ยงให้เจริญเติบโตกลายเป็นต้นข้าวได้เพียงพันธุ์เดียวเท่านั้น คือ พันธุ์ IRRI 5788 นอกจากนี้เขายังกล่าวว่าการเพาะเลี้ยงอับเรณูในที่มืด 2 – 3 สัปดาห์เป็นสิ่งจำเป็นต่อการเกิดแคลลัส และน้ำมะพร้าวมีบทบาทสำคัญต่อการชักนำให้เกิด embryogenesis จากเรณูของข้าว

ปี 1974 Chu, Wang และ Sun (7) ได้ศึกษาเกี่ยวกับอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าวเพื่อเพิ่มเปอร์เซนต์การชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นข้าว โดยให้ความสนใจเกี่ยวกับธาตุอาหารไนโตรเจน (Nitrogen source) ในอาหารสูตร Miller เขาได้พบว่าธาตุอาหารที่ให้ไนโตรเจนซึ่งได้จากแอมโมเนียมซัลเฟต 3.5 mM. และโปแตสเซียมไนเตรท 28 mM. เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งสามารถเพิ่มเปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสได้ถึง 7.5% และเรียกอาหารสูตรนี้ว่า $N_6$ medium.

ปี 1977 Chen (5) ได้นำอับเรณูของข้าวที่มีเรณูอายุต่าง ๆ กันมาเพาะเลี้ยง พบว่าอับเรณูที่มีเรณูในระยะ mid uninucleate จะให้เปอร์เซนต์การเกิดแคลลัสสูงสุดเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงแบบ <u>in vitro</u>

จะเห็นว่าในต่างประเทศได้ทำการเพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าวมานานแล้ว แต่ในประเทศไทยซึ่งมีพันธุ์ข้าวดี ๆ มากมาย ยังไม่มีการศึกษาทางด้านนี้เลย ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้นำพันธุ์ข้าว กข 1, กข 3, กข 5, กข 7, กข 9 และ กข 11 มาศึกษาวิจัยเพื่อให้อับเรณูเจริญเติบโตเป็นแคลลัสและกลายเป็นต้นซึ่งสามารถนำไปปลูกได้

วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย

เพื่อต้องการทำให้เซลในอับเรณูของข้าวเจริญเติบโตกลายเป็นแคลลัส หรือ embryoid และกลายเป็นต้นข้าวในที่สุด ซึ่งสามารถนำไปปลูกได้สำเร็จ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. นำไปสร้าง homozygous plant โดยการเพิ่มโครโมโซม เพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าว

2. นำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยเพาะเลี้ยงอับเรณูของข้าวใน selective media หรือ mutagen ต่าง ๆ เพื่อสร้างข้าวพันธุ์ใหม่ที่ต้องการ

3. เพื่อทำให้ได้พันธุ์ข้าวที่ต้องการในระยะเวลาที่สั้นกว่าการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยวิธีอื่น ๆ