

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ความสำคัญทางเศรษฐกิจของข้าว

ข้าวจัดเป็นอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อประชากรโลก ประชากรกว่าครึ่งโลก บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ประเทศไทยนั้นมีการบริโภคข้าวเป็นอาหารหลักและเป็นแหล่งของอาหารที่ให้พลังงานที่สำคัญ อีกทั้งข้าวยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศในภูมิภาคเอเชียที่นิยมรับประทานข้าวเป็นอาหารหลักมากกว่าในภูมิภาคอื่นของโลก

ดังนั้นการผลิต การบริโภค และการค้าข้าวส่วนใหญ่จึงกระจายตัวอยู่ในทวีปเอเชีย โดยปีการผลิต 2556/57 ทั่วโลกมีผลผลิตข้าวสารรวม 471.51 ล้านตัน ปริมาณผลผลิตรวมที่คาดว่า จะได้รับมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากปีที่แล้ว 2.01 ล้านตันข้าวสาร หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.43 ประเทศที่มี ปริมาณผลผลิตรวมมากที่สุด คือ จีน (ร้อยละ 30.46) รองลงมาได้แก่ อินเดีย (ร้อยละ 22.24) อินโดนีเซีย (ร้อยละ 7.78) บังกลาเทศ (ร้อยละ 7.20) เวียดนาม (ร้อยละ 5.90) ไทย (ร้อยละ 4.30) ฟิลิปปินส์ (ร้อยละ 2.43) และพม่า (2.27) ตามลำดับ ซึ่งไทยมีผลผลิตข้าวอยู่ที่อันดับ 6 สำหรับ สถานการณ์การบริโภคและใช้ประโยชน์จากข้าวของโลก ปีการผลิต 2555/56 กระทรวงเกษตร สหรัฐอเมริกา ได้ประเมินเบื้องต้นว่า ทั่วโลกจะมีปริมาณการบริโภคและใช้ประโยชน์จากข้าวรวม 467.069 ล้านตันข้าวสาร ปริมาณเพิ่มขึ้นจากปีการผลิต 2554/55 (ที่ระดับ 460.045 ล้านตันข้าวสาร) จำนวน 7.024 ล้านตันข้าวสาร หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 1.53

สำหรับประเทศไทยปริมาณการส่งออกข้าวในปีการค้า 2557 จะมีปริมาณ 8.500 ล้านตันข้าวสาร เพิ่มขึ้นจากปีที่ผ่านมา 1.800 ล้านตันข้าวสาร หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 26.87 โดยไทย ส่งออกข้าวเป็นลำดับที่ 2 รองจากอินเดีย ส่วนการนำเข้าข้าวสารในปีการค้า 2556 (ปีการผลิต 2555/56) ประเทศที่มีการนำเข้าสูงสุดคือ จีน รองลงไปได้แก่ ไนจีเรีย อิหร่าน อิรัก สหภาพยุโรป ไอวอร์โคสต์ ซาอุดีอาระเบีย เซเนกัล และฟิลิปปินส์ ตามลำดับ (กรมการข้าว, 2557) ซึ่งจะเห็นได้ว่าปัจจุบันทั่วโลกมีการผลิตข้าวเพิ่มมากขึ้นจากปีก่อน อีกทั้งมีการเติบโตของปริมาณการส่งออก และการนำเข้าข้าวในแต่ละประเทศมากขึ้นในแต่ละปี ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประชากรโลกมีความ ต้องการบริโภคและใช้ประโยชน์จากข้าวในปริมาณเพิ่มขึ้น

ประวัติและความเป็นมาของข้าว

ข้าวเป็นพืชล้มลุกตระกูลหญ้าที่จัดอยู่ในสกุลออไรซา (Genus *Oryza*) ของวงศ์เกรมินี (Family Poaceae หรือ Gramineae) สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น จำนวนชนิด (species) ทั้งหมดที่พบในสกุลออไรซาของข้าวนั้นมีประมาณ 20 ชนิด โดยส่วนใหญ่จะเป็นพวกที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 2 ชุด (diploid, $2n = 24$) และส่วนน้อยเป็นพวกที่มีโครโมโซม 4 ชุด (tetraploid $2n = 48$) เนื่องจากความแตกต่างทางสภาพพื้นที่และภูมิอากาศของแหล่งปลูกข้าว จึงเป็นสาเหตุให้มีการแบ่งข้าว *Oryza sativa* L. เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

1. ข้าวอินดิกา (Indica) เป็นข้าวที่มีเมล็ดยาวเรียวยาว เจริญเติบโตได้ดีในบริเวณเขตร้อน เช่น ศรีลังกา จีนตอนใต้และตอนกลาง อินเดีย อินโดนีเซีย บังกลาเทศ ไทย ฟิลิปปินส์ เป็นต้น
2. ข้าวจาปอนิกา (Japonica) เป็นข้าวเมล็ดสั้นป้อม มีเปอร์เซ็นต์อะไมโลสต่ำ เจริญเติบโตได้ดีในเขตอบอุ่น เช่น ประเทศจีนตอนเหนือและตะวันออก ญี่ปุ่น เกาหลี ยุโรปตอนใต้ รัสเซีย อเมริกาใต้ เป็นต้น
3. ข้าวจาวานิกา (Javanica) เป็นข้าวต้นสูง เมล็ดป้อมใหญ่ สันนิษฐานว่าเกิดขึ้นจากการคัดเลือกพันธุ์มาจากข้าวอินดิกาและได้นำเข้ามาปลูกในประเทศอินโดนีเซียครั้งแรกในระยะเวลามากกว่า 1,800 ปีก่อนคริสตกาล และต่อมาก็ได้มีการนำเข้ามาปลูกในประเทศฟิลิปปินส์ ไต้หวัน และญี่ปุ่น อย่างไรก็ตามข้าวจาวานิกานี้ส่วนใหญ่จะปลูกในประเทศอินโดนีเซีย (บุญหงส์, 2547)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

ส่วนต่างๆ ของต้นข้าวที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตทางลำต้น ได้แก่ ราก ลำต้น และใบ มีลักษณะสำคัญคือ

1. ราก (Root) ข้าวมีระบบรากเป็นระบบรากฝอย (Fibrous root system) ซึ่งประกอบด้วยราก 2 ชนิด ได้แก่ รากปฐมภูมิ (Primary root) ที่มีชื่อเรียกว่า รากแรกเกิด (Seminal root) ซึ่งงอกออกมาจากส่วนของเรดิเคิล (Radical) รากชนิดนี้เป็นรากชั่วคราวทำหน้าที่รองรับส่วนต่างๆ ของต้นข้าวให้ทรงตัวอยู่ได้ และรากทุติยภูมิ (Secondary root) ที่มีชื่อเรียกว่า รากเสริม (Adventitious root) รากชนิดนี้จะงอกออกมาจากส่วนของข้อต่างๆ ใต้ดินของลำต้นใหม่ ในทิศทางขนานกับผิวดิน และมีการแตกแขนงข้อรากอย่างอิสระ เป็นรากที่เกิดขึ้นเพื่อทดแทนรากแรกเกิดเมื่อต้นข้าวเจริญเติบโตและมีอายุมากขึ้น อาจมีรากค้ำจุน (Prop roots) เกิดขึ้นโดยรอบข้อเหนือ

ระดับดิน และรากชนิดนี้อาจเกิดขึ้น บริเวณส่วนปลายของลำต้น บริเวณใกล้ผิวน้ำในพันธุ์ข้าวขึ้นน้ำ

รากข้าวนอกจากจะทำหน้าที่ดูดน้ำและแร่ธาตุ ยังช่วยในการยึดลำต้นข้าวไว้กับพื้นดินเพื่อไม่ให้ล้ม นอกจากนั้นอาจทำหน้าที่สะสมอาหารที่เหลือใช้ไว้ให้ต้นข้าวใช้ในช่วงขาดแคลน และอาจทำหน้าที่ช่วยในการหายใจได้อีกด้วย โดยนำออกซิเจนไปใช้ ทั้งนี้เป็นเพราะเซลล์ต่างๆ ในชั้นเนื้อเยื่อคอร์เท็กซ์ (Cortex) ที่อยู่ถัดจากชั้นผิวราก (Epidermis) เข้ามาข้างในมีการสลายตัวเป็นช่องอากาศขนาดใหญ่ (Lysigenous intercellular space) ทำให้รากข้าวสามารถแช่อยู่ในน้ำขังได้

2. ลำต้น (Stem or culm) ลำต้นของข้าวมีลักษณะทรงกลม ส่วนกลางกลวงตรง ส่วนของปล้อง (Internode) และต้นตรงส่วนของข้อ (Node) โดยทั่วไปลำต้นจะมีลักษณะตั้งตรง เช่น ในข้าวนาสวน (Lowland rice) ลำต้นข้าวอาจมีลักษณะเลี้ยวหรือล้มราบ โดยโดยเฉพาะส่วนของยอดขึ้นตั้งตรง ในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นของข้าว

ปล้อง (Internode) ลักษณะของปล้องที่โคนต้นจะสั้น และหนากว่าปล้องที่อยู่ตรงส่วนปลายของลำต้น โดยปกติต้นข้าวจะมีปล้องยาวประมาณ 25-30 ปล้อง ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและสภาพแวดล้อม ปล้องสุดท้ายที่อยู่บนสุดได้รวงข้าว จะมีความยาวมากที่สุด

ข้อ (Node) ของลำต้นซึ่งทำหน้าที่แบ่งลำต้นออกเป็นปล้องๆ นั้นจะมีตาเกิดขึ้นข้อละ 1 ตา ที่บริเวณซอกใบของแต่ละใบซึ่งเกิดขึ้นสลับกันในแต่ละข้อของลำต้น ความสูงของลำต้นอาจอยู่ระหว่าง 100-200 เซนติเมตร ซึ่งขึ้นอยู่กับพันธุ์และสภาพแวดล้อมต้นข้าวจะมีการยืดปล้อง (Internode elongation) ในเวลาที่เริ่มสร้างช่อดอก โดยเกิดขึ้นที่ปล้อง 2-3 ได้รวงข้าวลงมา

3. ใบ (Leaf) ใบของข้าวจัดเป็นใบเดี่ยว (Simple leaf) ที่เป็นใบแท้ มีลักษณะเป็นแผ่นแบนบาง ค่อนข้างยาวรูปหอก ใบข้าวประกอบด้วยตัวใบ (Leaf blade) และกาบใบ (Leaf sheath) โดยมีข้อต่อใบ (Leaf collar) เป็นตัวแบ่งให้กาบใบแยกออกจากตัวใบอย่างเห็นได้ชัด ตัวใบจะยึดออกจากลำต้นโดยทำมุมกว้างหรือแคบกับลำต้น ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ข้าว เส้นใบของข้าวจะขนานกันตั้งแต่โคนถึงปลายใบ และมีเส้นกลางใบ (Midrib) แบ่งตัวใบออกเป็น 2 ซีกเท่าๆ กัน พันธุ์ข้าวส่วนใหญ่มักมีขนอ่อนบนใบ กาบใบจะทำหน้าที่ลำเลียงน้ำ และแร่ธาตุจากราก และลำต้นไปยังใบเพื่อใช้ปรุงอาหาร และลำเลียงอาหารสังเคราะห์จากตัวใบไปยังส่วนต่างๆ ของต้นข้าว นอกจากนั้นกาบใบยังช่วยสะสมอาหารไว้สำหรับรวงข้าวและช่วยเสริมให้ลำต้นแข็งแรงขึ้นอีกด้วย ตรงบริเวณด้านในข้อต่อใบจะปรากฏเยื่อบางๆ รูปสามเหลี่ยมมีปลายแยกออกเป็นสองแฉก แนบติดกับส่วนของลำต้น เรียกว่า เยื่อกั้นน้ำฝน (Ligule) นอกจากนี้ที่บริเวณนี้ยังมี เขี้ยวกันแมลง (Auricles) 2 อัน ซึ่งมีลักษณะเป็นขนรูปร่างโค้งคล้ายเคียวติดอยู่ข้างละอันของข้อต่อใบ การที่ใบข้าวมีทั้งเยื่อกั้นน้ำฝน และเขี้ยวกันแมลงอยู่ด้วยกัน จึงทำให้แตกต่างจากใบของต้นหญ้า ซึ่งมักมี

อวัยวะดังกล่าวเพียงอย่างเดียวหนึ่ง หรืออาจจะไม่มีเลยก็ได้ อย่างไรก็ตามในใบข้าวที่แก่แล้ว อาจไม่ปรากฏเขียวกันแมลงให้เห็น เพราะได้ร่วงหล่นไปก่อนแล้ว (บุญหงส์, 2547)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว

ประเทศไทยอยู่ในเขตศูนย์กลางแหล่งกำเนิดและการแพร่กระจายของข้าว ประกอบกับสภาพพื้นที่และภูมิอากาศมีความแตกต่างกันในแต่ละภาค จึงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ข้าวในแหล่งปลูกข้าวต่างๆ ทั่วประเทศไทย ทั้งในข้าวปลูกและข้าวป่า ข้าวปลูกมีอยู่ด้วยกันมากมายหลายพันธุ์ซึ่งเหมาะสมกับแต่ละพื้นที่ โดยจำแนกตามนิเวศการปลูกข้าวออกเป็นข้าวไร่ ข้าวนาสวนน้ำฝน ข้าวนาสวนนาชลประทาน ข้าวน้ำลึก และข้าวขึ้นน้ำ (กรมการข้าว, 2557) นอกจากนี้ยังมีข้าวที่มีเมล็ดสีแดงซึ่งเป็นข้าวป่าหรือข้าวพื้นเมืองที่มีการสะสมแอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานินในส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด โดยข้าวเมล็ดม่วงดำเกิดจากการสะสมของแอนโทไซยานิน ส่วนข้าวเมล็ดสีแดงเกิดจากการสะสมโปรแอนโทไซยานิน ซึ่งสารทั้งสองมีวิธีการสังเคราะห์และสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ร่วมกัน ในข้าวเมล็ดม่วงดำมียีน *OSBI* ซึ่งเป็นยีนควบคุม (regulatory gene) ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์แอนโทไซยานินที่สามารถทำงานได้ ส่วนในข้าวเมล็ดแดงและขาวไม่พบการทำงานของยีนดังกล่าว (Lim and Ha, 2013) ส่วนในข้าวเมล็ดแดงมียีน *Rc* และ *Rd* ควบคุมการสังเคราะห์โปรแอนโทไซยานิน โดยยีน *Rc* เป็นยีนควบคุม (regulatory gene) ที่ควบคุมการแสดงออกของยีนโครงสร้างในวิธีการสังเคราะห์โปรแอนโทไซยานิน ซึ่งในข้าวม่วงดำและข้าวขาวเป็นอัลลีลคือยีน ส่วน *Rd* เป็นรหัสของเอนไซม์ DFR ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานิน ซึ่งไม่ทำงานเฉพาะในข้าวขาว (Lim and Ha, 2013) ข้าวที่มีการสะสมแอนโทไซยานิน ได้แก่ ข้าวหอมนิลซึ่งลักษณะสีม่วงเข้มเกือบดำ (บริษัท สีนิล ไรซ์ จำกัด, ระบบออนไลน์: 2556) ข้าวกำหรือข้าวเหนียวดำที่มีลักษณะเด่นคือมีสีม่วงดำทั้งลำต้นและเมล็ด (ผู้จัดการออนไลน์, ระบบออนไลน์: 2557)

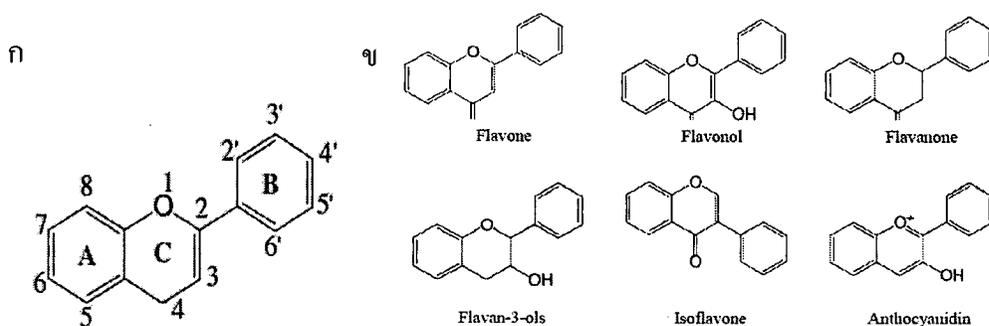
ฟลาโวนอยด์

ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสาร secondary metabolites อยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ในโมเลกุล สามารถละลายน้ำได้ ส่วนใหญ่มักพบอยู่รวม

กับน้ำตาลในรูปของสารประกอบกลูโคไซด์ ฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มสารที่มีคาร์บอน 15 ตัว จัดเรียงในระบบ 3-ring เรียกว่า A-, B-, C-ring การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ C-ring ทำให้แยกฟลาโวนอยด์ออกเป็นชนิดต่างๆ และ hydroxylation ที่ A- และ B-ring ตามตำแหน่งต่างๆ ทำให้เกิดอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ (ภาพ 1) ฟลาโวนอยด์ถูกสังเคราะห์โดย polypropanoid pathway และเริ่มต้นจากโมเลกุล phenylalanine มีโครงสร้างพื้นฐานคือ C6-C3-C6 ประกอบด้วยสองวงแหวนอะโรมาติก C6 rings (A และ B) และ heterocyclic ring (C) ที่มี 1 oxygen atom ซึ่งถูกจัดกลุ่มเป็น 6 กลุ่ม (Ghasemzadeh and Ghasemzadeh, 2011) คือ

1. Flavones (luteonin, apigenin, tangeritin)
2. Flavonols (quercetin, kaempferol, myricetin, isorhamnetin, pachypodol)
3. Flavanones (hesperetin, naringenin, eriodictyol)
4. Flavan-3-ols (catechins and epicatechins)
5. Isoflavones (genistein, daidzein, glycitein)
6. Anthocyanidins compounds (cyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin, petunidin)

ฟลาโวนอยด์พบทั่วไปในพืชและพวกโพรคาริโอต มีฟลาโวนอยด์มากกว่า 6,500 ชนิด ฟลาโวนอยด์ปกป้องพืชจากความเครียดทั้ง biotic และ abiotic stresses และ ดูดซับรังสี UV ที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ ฟลาโวนอยด์ไม่จำเป็นสำหรับการอยู่รอดของพืชแต่ช่วยในการขนส่งฮอร์โมนออกซิน นอกจากนี้ทำให้เกิดสีในดอกไม้และปกป้องพืชจากจุลินทรีย์และแมลง (Samanta et al., 2011)



ภาพ 1 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์

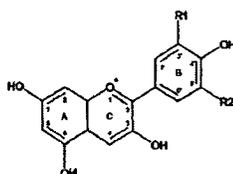
หมายเหตุ (ก) โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์ และ (ข) โครงสร้างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

ที่มา: Ghasemzadeh and Ghasemzadeh, 2011

แอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินเป็นสารที่ละลายน้ำได้อยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ ทำให้เกิดสีแดง ม่วง ฟ้า ในใบ ดอก และผลไม้ มีความคงตัวดี แอนโทไซยานินหลักที่พบในพืชมี 3 ชนิด ในรูปของกลูโคไซด์ ได้แก่ delphinidin 3-glucoside, palargonidin 3-glucoside และ cyanidin 3-glucoside (ภาพ 2) (อ้อมบุญ, 2536)

แอนโทไซยานินเป็นสารที่มีสีน้ำเงินเข้มในสภาวะเป็นด่าง สีม่วงเมื่อเป็นกลาง และเปลี่ยนเป็นสีแดงถึงส้มในสภาวะเป็นกรด เป็นสารสีที่พบได้ทั่วไปในดอกไม้ ผลไม้บางชนิด ใบหรือลำต้นของพืชบางชนิดที่มีสีจัด แอนโทไซยานินพบได้ในพืชเกือบทุกชนิดแต่จะมีน้อยมากในพืชที่มีสีเขียวเป็นหลัก แต่ผลไม้ที่มีสีเข้มจัดหรือดอกไม้สีจัดจะมีแอนโทไซยานินอยู่สูง และมากขึ้นตามระดับความเข้มของสีในผลไม้ พืชที่มีแอนโทไซยานิน ได้แก่ องุ่น สตอเบอร์รี่ บลูเบอร์รี่ เชอร์รี่ หม่อน ชมพู่มะเหมียว ทับทิม ลูกหว้า ลูกไหนด ลูกพรวน เฝือก และ กระเจี๊ยบแดง เป็นต้น ส่วนในดอกไม้ ได้แก่ ดอก pansy, dandelion และ ดอกอัญชัน เป็นต้น และในผัก ได้แก่ หัวผักกาด มันเทศ มะเขือม่วง และ กะหล่ำปลีสีม่วง เป็นต้น ส่วนในข้าวที่มีแอนโทไซยานิน เช่น ข้าวหอมนิล และข้าวเหนียวดำ เป็นต้น (บริษัท แซท ฟอร์ เฮลท์ จำกัด, ระบบออนไลน์: 2555) สำหรับในข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยทั่วไปมีใบสีเขียวและเมล็ดสีขาว แต่พันธุ์ข้าวปามีสีเมล็ดที่หลากหลาย จากการศึกษารายงานว่าเมล็ดข้าวที่สร้างรงควัตถุมี phytochemicals เช่น phenolics, flavonoids, carotenoids, tocopherols และ c-oryzanols มากกว่าข้าวขาว ซึ่งสารเหล่านี้ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Lim and Ha, 2013) ดังนั้นนักปรับปรุงพันธุ์ข้าวและผู้บริโภคจึงให้ความสำคัญต่อพันธุ์ข้าวที่สร้างรงควัตถุเหล่านี้เนื่องจากมีประโยชน์ต่อมนุษย์



Anthocyanidins	R1	R2
Delphinidin	OH	OH
Cyanidin	OH	H
Pelargonidin	H	H
Petunidin	OCH ₃	OH
Peonidin	OCH ₃	H
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃

ภาพ 2 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน

ที่มา: Kim et al., 2007

ประโยชน์ของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินมีบทบาททำให้เกิดรงควัตถุในดอกไม้และผลไม้มากมาย เพื่อดึงดูดให้แมลงช่วยในการผสมเกสร และยังปกป้องพืชจากการทำลายของเชื้อโรค การบุกรุกของแมลง และรังสี UV อีกทั้งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์ในการป้องกันโรคมะเร็ง และเส้นเลือดอุดตัน (Geekiyana et al., 2007) รวมทั้งมีฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ ด้านจุลินทรีย์ ป้องกันการอักเสบ และป้องกันความดันโลหิตสูง (Lim and Ha., 2013) ในข้าวสาลีมีรงควัตถุพวกแอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานิน สารทั้งสองชนิดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเซลล์มะเร็ง ป้องกันไวรัส ลดอัตราการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน แก้อาการปวดข้ออักเสบ และลดอาการผมหงอกก่อนวัย (บริษัท สีนิด ไรซ์ จำกัด, ระบบออนไลน์: 2555) สำหรับแอนโทไซยานินในดอกอัญชัน และจากพืชตระกูลบลูเบอร์รี่ สามารถเพิ่มความสามารถในการมองเห็นหรือชะลอความเสื่อมของดวงตา เนื่องจากเพิ่มความสามารถในการไหลเวียนเลือดในหลอดเลือด ลดปัญหาที่เกิดกับระบบหมุนเวียนของเลือด (บริษัท แซ่ท ฟอว์ เฮอร์ จำกัด, ระบบออนไลน์: 2555)

การสังเคราะห์แอนโทไซยานิน

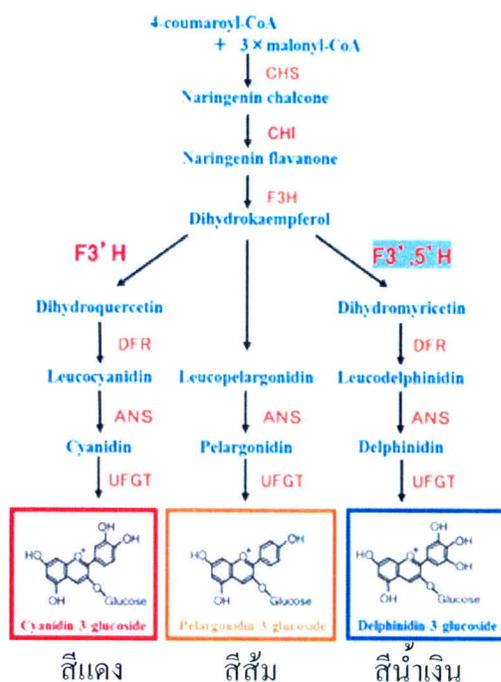
การสังเคราะห์แอนโทไซยานินเกี่ยวข้องกับยีน 2 กลุ่ม คือ ยีนโครงสร้าง และยีนควบคุม ซึ่งเปลี่ยนกรดอะมิโนฟีนิลอะลานีนไปเป็นแอนโทไซยานินที่มีสีม่วงแดง (ภาพ 3) การสร้างรงควัตถุแอนโทไซยานินในข้าวจำเป็นต้องมียีนเด่น 3 กลุ่ม ที่เป็นรหัสของ transcription factor 2 กลุ่ม คือ *B1* หรือ *B2* (basic helix-loop-helix) และ *C1* (R2R3-Myb) และเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในกระบวนการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน คือ dihydroflavonol 4-reductase (DFR) (Furukawa et al. 2007; Nagao and Takahashi 1963; Saitoh et al., 2004 และ Sakamoto et al., 2001) จึงจะทำให้ข้าวสามารถสังเคราะห์แอนโทไซยานินได้

ยีนโครงสร้าง (structural genes)

ในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเกี่ยวข้องกับยีนโครงสร้างหลายยีน เพื่อเปลี่ยนกรดอะมิโนฟีนิลอะลานีนไปเป็นแอนโทไซยานิน ยีนโครงสร้างที่สำคัญ ได้แก่ ยีนสร้างเอนไซม์ chalcone synthase (CHS), chalcone isomerase (CHI), flavonoid 3-hydroxylase (F3H),

dihydroflavonol 4-reductase (DFR), anthocyanidin synthase (ANS), flavonoid 3-glucosyl - transferase (3GT) และ phenyl alanine ammonia lyase (PAL) (Schijlen et al., 2004)

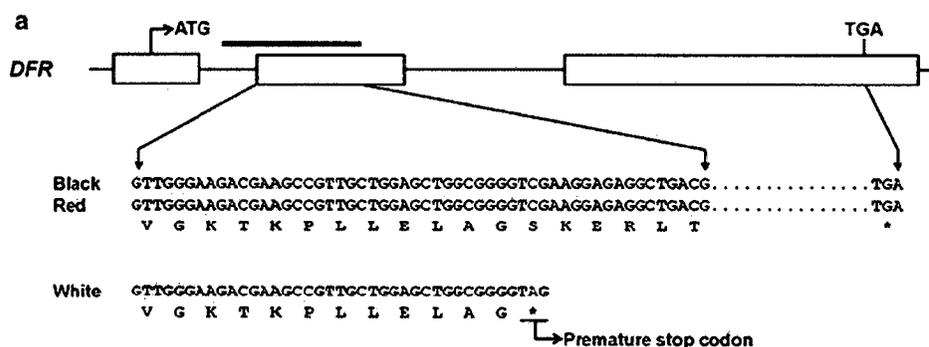
สารตั้งต้นของการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน คือ malonyl-CoA และ *p*-coumaroyl-CoA ซึ่งมาจาก carbohydrate metabolism และ phenylpropanoid pathway ในการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์เอนไซม์ตัวแรกในปฏิกิริยาที่ทำงาน คือ chalcone synthase (CHS) เร่งปฏิกิริยาให้ malonyl-CoA 3 โมเลกุล รวมกับ *p*-coumaroyl-CoA ได้เป็น naringenin chalcone จากนั้นเอนไซม์ chalcone isomerase (CHI) เปลี่ยนโครงสร้าง naringenin chalcone ไปอยู่ในรูปของ flavanone naringenin เอนไซม์ flavonoid 3-hydroxylase (F3H) เร่งปฏิกิริยาการเติมหมู่ OH (hydroxylation) ที่ตำแหน่ง C-3 ของ flavanone ได้เป็น dihydroflavonoid ซึ่ง flavanone naringenin จะถูกเปลี่ยนเป็น dihydrokaempferol (DHK) จากนั้นเอนไซม์ flavonoid 3'-hydroxylase (F3'H) เร่งปฏิกิริยาการเติมหมู่ OH (hydroxylation) ที่ตำแหน่ง 3' หรือทั้งตำแหน่ง 3' และ 5' ของ B-ring ทำให้เปลี่ยน dihydrokaempferol (DHK) ไปเป็น dihydroquercetin (DHQ) ที่จะถูกเปลี่ยนไปเป็น cyanidin อีกทั้งสามารถเปลี่ยนรูป DHK ไปเป็น dihydromyricetin (DHM) สำหรับการสร้าง delphinidin จากนั้นเอนไซม์ dihydroflavonol 4-reductase (DFR) เร่งปฏิกิริยา reduction โดยเปลี่ยน dihydroflavonoid ได้เป็น leucoanthocyanidins (flavan-3,4-diol) โดยใช้ NADPH เป็น co-factor ซึ่ง leucoanthocyanidins เป็นสารตั้งต้นโดยตรงสำหรับการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน โดยเอนไซม์ anthocyanidin synthase (ANS) เปลี่ยน leucoanthocyanidins ไปเป็น anthocyanidins และเอนไซม์ flavonoid 3-glucosyl - transferase (3GT/FGT/GT) จะเร่งปฏิกิริยาการขนส่งกลูโครสจาก UDP-glucose ไปยัง hydroxyl group ในตำแหน่งที่ 3 ของ C-ring ซึ่งเป็นขั้นตอนสุดท้ายที่ทำให้ anthocyanidins มีความเสถียร ซึ่ง 3GT เป็นเอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน (Schijlen et al., 2004)



ภาพ 3 วิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในพืช

ที่มา: Mizuta, 2014

ยีนโครงสร้างที่สำคัญในการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในข้าว คือ ยีน *DFR* ซึ่งเป็นยีนใน late biosynthetic steps ของวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ยีน *DFR* ประกอบด้วย 3 เอกซอน และ 2 อินทรอน ในข้าวเมล็ดขาวยีน *DFR* เกิดการแทนที่เบสจาก C เป็น A ในเอกซอนที่ 2 ทำให้เกิด premature stop codon (ภาพ 4) ซึ่งการกลายพันธุ์นี้อาจส่งผลทำให้เมล็ดข้าวมีสีขาว เนื่องจากไม่สามารถสังเคราะห์แอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานินได้ (Furukawa et al., 2007) นอกจากนี้มีการศึกษาถ่ายยีน *OSB2* จากข้าวร่วมกับยีน *CI* จากข้าวโพด เข้าสู่ข้าวพันธุ์ Kasalath ซึ่งมียีน *DFR* ที่สามารถทำหน้าที่ได้ เพื่อใช้สำหรับเป็นยีนเครื่องหมายคัดเลือกแคลลัสที่ได้รับยีนจากลักษณะของการสร้างสีม่วงของแอนโทไซยานินแทนการใช้สารปฏิชีวนะในการคัดเลือกได้สำเร็จ ซึ่งแคลลัสข้าวที่ผ่านการถ่ายยีนมีจุดสีม่วงเกิดขึ้น (Saika et al., 2011)



ภาพ 4 โครงสร้างยีน *DFR*

ที่มา: Lim and Ha, 2013

ยีนควบคุม (regulatory genes)

ยีนควบคุมเป็นรหัสของ transcription factor ควบคุมการแสดงออกของยีน โครงสร้างในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินที่สำคัญมี 2 กลุ่มคือ MYB transcription factor ซึ่งประกอบด้วยบริเวณกรดอะมิโนซ้ำ 2 บริเวณ (R2 และ R3) บริเวณ R2 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 53 ตัว และ R3 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 51 ตัว ซึ่งมี DNA binding domain เป็นแบบ helix-turn-helix (HTH) (Zhou et al., 2008) และอีกกลุ่มหนึ่งคือ MYC transcription factor มี DNA binding domain เป็นแบบ helix-loop-helix (Geekiyana et al., 2007)

ในข้าวโพดมียีนควบคุม 2 กลุ่ม คือ *R/B* และ *CI/PI* gene families สมาชิกกลุ่มของ *R/B* gene families (*R*, *Lc*, *Sn* และ *B*) เป็นรหัสของ helix-loop-helix (bHLH) myc-type protein ส่วนสมาชิกของ *CI/PI* gene families เป็นรหัสของ myb-related regulatory protein การกระตุ้นยีน โครงสร้างในวิธีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับการทำงานของยีนในกลุ่ม *R/B* และ *CI/PI* อย่างน้อยหนึ่งยีนที่ทำหน้าที่ (active functional gene) จากแต่ละ gene family ต่อการสังเคราะห์รงควัตถุในเนื้อเยื่อ (Sakamoto et al., 2001) มีการศึกษาการถ่ายยีน *CI* (MYB-type transcription factor) และ *R-S* (bHLH-type transcription factor) จากข้าวโพด ซึ่งเป็นยีนควบคุมในการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ เข้าสู่ข้าวโดยใช้อะโกรแบคทีเรีย พบว่ามีการแสดงออกของยีน *CI* และ *R-S* ในเมล็ดข้าว โดยเมล็ดของต้น homozygous transgenic lines รุ่น T_2 และ T_3 มีสีน้ำตาลเข้มและเมล็ดเล็กกว่าเมล็ดรุ่น T_1 และเมล็ดจากต้นที่ไม่ผ่านการถ่ายยีน เนื่องจากต้นข้าวตัดแปลงพันธุกรรมมีการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์หลายชนิด (Shin et al., 2006) แสดงว่ายีนเหล่านี้จากข้าวโพดสามารถทำงานได้ในข้าว

การสร้างแอนโทไซยานินในข้าวสี

ข้าว (*Oryza sativa*) ที่บริโภคส่วนมากมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาวและใบสีเขียว แต่ข้าวบางพันธุ์มีเยื่อหุ้มเมล็ดที่เป็นสีน้ำตาลแดง ม่วง และใบสีม่วง ข้าวที่มีเมล็ดสีม่วงและน้ำตาลมีแอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานิน ตามลำดับ (Sweeney et al., 2006) การเกิดสีโดยแอนโทไซยานินถูกควบคุมโดยยีนโครงสร้างและยีนควบคุม จากรายงานของ Kinoshita (1995) ได้สรุปว่ามี 26 ยีน ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีจากแอนโทไซยานิน และ 5 ยีน ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีจากสารประกอบอื่น เช่น โปรแอนโทไซยานิน โดยยีนในตำแหน่ง *C* และ *A* เกี่ยวข้องกับการสร้างรงควัตถุแอนโทไซยานินที่ประกอบด้วยหลายอัลลีลของยีน ได้แก่ ใน *C* locus พบ 6 อัลลีล และ *A* locus พบ 4 อัลลีล โดยยีน *AI* เป็นรหัสสำหรับเอนไซม์ dihydroflavonol-4-reductase (DFR) มีตำแหน่งที่ 198 cM บนโครโมโซม 3 ของข้าวโพด ในข้าวตำแหน่งของยีน *AI* มีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 1 (Kinoshita, 1995) ส่วน *PI* และ *C* loci มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 4 และ 6 ในข้าวตามลำดับ (Nagao et al., 1957) ส่วนยีน *Rc* และ *Rd* เกี่ยวข้องในการสร้างรงควัตถุสีแดงในเมล็ดข้าว สำหรับ *Rc* และ *rd* เกี่ยวข้องในการสร้างสีน้ำตาลในเมล็ดข้าว (ตาราง 1) (Furukawa et al., 2007)

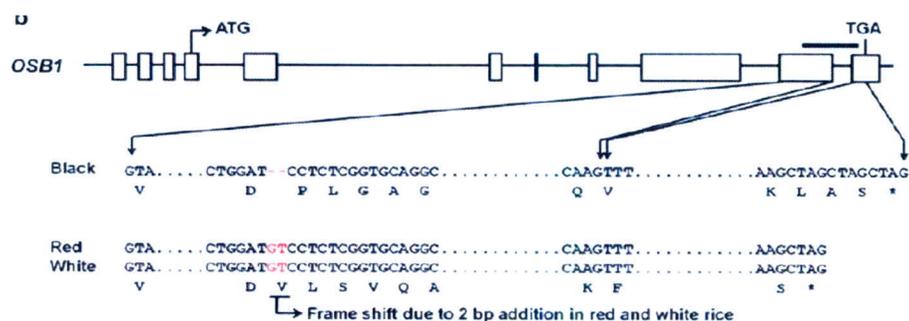
ตาราง 1 ตัวอย่างยีนของข้าวที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์

Pathway	Genetics study	Chromosome	Gene locus	Gene by molecular cloning	Reference
Anthocyanins	Nagao and	1	<i>A</i>	<i>DFR</i>	Furukawa et al., 2007
(Apiculus and leaf color)	Takahashi, 1963	6	<i>C</i>	<i>MYB</i>	Saitoh et al., 2004
		4	<i>PI</i>	<i>bHLH</i>	Sakamoto et al., 2001
Anthocyanins	Kato and Ishikawa,	Unknown	<i>A</i>		
(Grain color)	1921	Unknown	<i>B</i>		
		Unknown	<i>C</i>		
Proanthocyanidins	Nagao and	7	<i>Rc</i>	<i>bHLH</i>	Furukawa et al., 2007
(Grain color)	Takahashi, 1947				Sweeney et al., 2006
		1	<i>Rd</i>	<i>DFR</i>	Furukawa et al., 2007

ที่มา: Furukawa et al., 2007

Purple leaf (Pl) locus ของข้าวควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน คล้ายกับกลุ่มของ *R/B* loci ของข้าวโพด ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ basic helix-loop-helix (bHLH) protein โดยตำแหน่งนี้เป็นที่ตั้งของยีน *OSB1* ที่มีรายงานก่อนหน้านี้คือยีน *Ra1* แต่แตกต่างที่ C-terminus เนื่องจากยีน *OSB1* เกิดการขาดหายไปของเบส 2 bp ส่วน *OSB2* อยู่ทางด้าน downstream ของ *OSB1* coding region ประมาณ 10 Kb ในตำแหน่ง *Pl* มี 3 อัลลีล คือ *Pl*, *Pl'* และ *Pl''* โดยแต่ละอัลลีลทำหน้าที่ชักนำการสังเคราะห์รงควัตถุในรูปแบบแตกต่างกัน โดย *Pl''* กระตุ้นการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในเนื้อเยื่อพืชส่วนเหนือดินยกเว้นข้อของลำต้น และทำให้เกิดสีโดยสร้างรงควัตถุในเยื่อหุ้มเมล็ด ส่วน *Pl* และ *Pl'* ควบคุมการสังเคราะห์รงควัตถุสีม่วงในใบ ซึ่งส่งผลให้ใบข้าวมีสีม่วงมากกว่าพันธุ์ข้าวที่มี *Pl''* นอกจากนี้ *Pl'* ทำให้เกิดรงควัตถุในแผ่นใบ กาบใบ รอยต่อระหว่างแผ่นใบและกาบใบ และข้อของลำต้น จากการศึกษา nearly isogenic *Pl''/Pl''* line ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์ Taichung65 (T65) ที่มี *Pl''* จากข้าว javanica พันธุ์ Pirurutong ใน genetic background ของข้าว T65 พบว่าตำแหน่ง *Pl''* locus ประกอบด้วยยีน *OSB1* และ *OSB2* คล้ายกับยีนในกลุ่ม *R* gene family ของข้าวโพด โดย cDNA ของ *OSB1* มีขนาด 2.2 kb ประกอบด้วย open reading frame (ORF) ที่เป็นรหัสของกรดอะมิโน 588 ตัว ซึ่งคล้ายกับยีน *Ra1* ของข้าว (99.2%) แต่เกิดการขาดหายไปของเบส 2 bp ในยีน *OSB1* ทำให้เกิด frame shift มีผลต่อกรดอะมิโน 44 ตัว ที่ C-terminus นอกจากการขาดหายไปของลำดับเบสยังมี 11 single nucleotide ที่แตกต่างกันระหว่างยีน *OSB1* และ *Ra1* ซึ่งมีผลในการแทนที่กรดอะมิโน 4 ตัว ด้าน upstream ของ frame shift ส่วน cDNA ของ *OSB2* มีขนาด 1.8 Kb ประกอบด้วย ORF ที่มีกรดอะมิโน 451 ตัว ซึ่งสั้นกว่า *OSB1* และ *Ra1* แต่ก็ยังคงมี bHLH domain ที่ C-terminus การเปรียบเทียบ cDNA ในบริเวณ ORF ของยีน *OSB1* และ *OSB2* ของข้าวกับยีน *B-Peru* และ *Lc* ของข้าวโพด พบว่า มีความคล้ายกัน (Sakamoto et al., 2001)

ยีน *OSB1* จากข้าวเมล็ดสีแดงและข้าวขาวแตกต่างจากข้าวเมล็ดดำ คือยีนในข้าวเมล็ดแดงและขาวเกิดการแทนที่ของ ACG codon เป็น ATG (C เปลี่ยนเป็น T) ที่นิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง 191 การเพิ่มของลำดับเบส TG ที่ตำแหน่ง 1,632 และเกิดการขาดหายไปของหนึ่งเบสที่ตำแหน่ง 1,721 bp ทำให้เกิด premature stop codon จึงส่งผลให้กรดอะมิโนหายไป 12 ตัว ที่ C-terminus ซึ่งเป็นบริเวณ DNA binding domain ทำให้ยีน *OSB1* ไม่ทำหน้าที่ในข้าวเมล็ดขาวและเมล็ดแดง (ภาพ 5) สำหรับยีน *OSB2* ไม่พบการแสดงออกในต้นอ่อนของข้าวใบเขียวที่มีเมล็ดสีขาว โดยมีการศึกษาการแสดงออกของข้าวเมล็ดขาวพันธุ์ Nipponbare, Tainong 67 และ Zhonghua 11 ด้วยเทคนิค RT-PCR ไม่พบการแสดงออกของยีน *OSB2* ในข้าวเหล่านี้ อีกทั้งไม่พบการแสดงออกของยีนโครงสร้าง *OsF3H*, *OsDFR* และ *OsANSI* ในต้นข้าว Japonica ที่เป็นข้าวเมล็ดขาว เมื่อเทียบกับข้าวพันธุ์ T65-*Pl''* ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์ Taichung 65 ที่มีใบสีม่วงเนื่องจากมี *Pl''* locus จากข้าว javanica พันธุ์ Pirurutong ซึ่งมีการแสดงออกของยีนโครงสร้างเหล่านี้ (Shih et al., 2008)



ภาพ 5 โครงสร้างยีน *OSB1*

ที่มา: Lim and Ha, 2013

ตำแหน่ง *C* locus ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 6 ในข้าวเป็นตำแหน่งของยีน *OSCI* ซึ่งคล้ายกับยีน *C1* ในข้าวโพด ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ R2R3-Myb transcription factors ยีน *OSCI* ของข้าวพันธุ์ T65 ประกอบด้วย 3 เอกซอน และ 2 อินทรอน (ภาพ 6) และเป็นรหัสสำหรับโปรตีนที่มีกรดอะมิโน 272 ตัว ประกอบด้วย DNA-binding Myb domain ที่ตำแหน่ง N-terminus ซึ่งถูกอนุรักษ์ไว้ในข้าวและข้าวโพด มีการศึกษาในข้าวสี near isogenic lines T65 (C^B) ซึ่งมี C^B allele (functional allele) โดยข้าวพันธุ์ T65 ปกติจะมี C^+ allele ที่ทำให้ไม่เกิดสีในข้าว โดยเปรียบเทียบกับข้าวขาวพันธุ์ IR36 (C^+) และ 868 (C^+) ที่มี C^+ allele พบว่า พันธุ์ข้าวเมล็ดขาว (IR36 และ 868) มีลำดับเบสแตกต่างจากข้าวพันธุ์ T65 (C^B) คือ เกิดการขาดหายไปของลำดับเบส 10 bp (ที่ตำแหน่ง 795-804 จากตำแหน่งเริ่มต้นการแปลรหัส) และเกิดการแทนที่เบส (ที่ตำแหน่ง 918) ทั้ง 2 มีตำแหน่งอยู่ใน R3 repeat ภายในเอกซอนที่ 3 คาดว่าการขาดหายไปของลำดับเบสทำให้เกิด frame shift ทำให้ *OSCI* allele ของข้าวพันธุ์ IR36 และ 868 สูญเสียหน้าที่ ดังนั้นความแตกต่างระหว่างข้าวขาวกับข้าวสีคือในข้าวขาวยีน *OSCI* เกิดการขาดหายไปของเบสและเกิดการแทนที่เบสทำให้โปรตีนสูญเสียหน้าที่โดยเฉพาะเกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสใน R3 repeat ซึ่งเป็นบริเวณที่ใช้ในการจับดีเอ็นเอจึงทำให้สูญเสียหน้าที่และไม่สามารถควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินได้ (Saitoh et al., 2004)



ภาพ 6 โครงสร้างของยีน *OSC1*

ที่มา: Saitoh et al., 2004

รูปแบบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *OSC1* มีความแตกต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์ เมื่อเกิดการกลายพันธุ์ของลำดับเบสจะส่งผลให้ฟีนไทป์เปลี่ยนแปลงซึ่งมีผลต่อการสร้างรงควัตถุ แอนโทไซยานิน จากการศึกษาอัลลีล *OSC1* พบว่า พันธุ์ข้าวที่มีอัลลีล C^+ (108 และ 414; Indica type) มีลำดับเบสเหมือนยีนจากข้าวพันธุ์ IR36 และ 868 เนื่องจากเกิด 10 bp deletion ในเอกซอนที่ 3 นอกจากนี้ข้าวพันธุ์ 734 ซึ่งเป็นข้าว Japonica จากจีน มีอัลลีล C^+ ซึ่งเกิด 2 bp deletion ในเอกซอนที่ 3 (ตำแหน่ง 786-787) โดยทั้งสองตำแหน่งเกิดขึ้นในตำแหน่งที่คาดว่าเป็นบริเวณสำคัญของ transcription factor และทำให้เกิด frame shift ซึ่งทำให้ยีนสูญเสียหน้าที่ สำหรับในข้าว indica และ japonica มีการขายขาดไปของลำดับเบสต่างกัน โดยในข้าว Indica พบ 10 bp deletion ในขณะที่ข้าว japonica พบ 2 bp deletion โดยข้าวพันธุ์ T65 และ A58 มีอัลลีล C^B ซึ่งมีลำดับเบส (haplotype SA1) ที่เกิดการแทนเบสที่ในเอกซอนที่ 3 เมื่อเทียบกับ functional allele ของข้าวพันธุ์ Purpleputtu (Reddy et al., 1988) สำหรับ C^{Bt} เกิดการแทนที่เบสที่ตำแหน่ง 968 และ 34 bp deletion ที่ตำแหน่ง 973 bp ซึ่งทำให้เกิด frame shift หลังกรดอะมิโนตำแหน่ง 166 ส่วน C^{Br} allele ของข้าวพันธุ์ A56 เกิดการแทนที่เบส 2 ตำแหน่ง ที่ตำแหน่ง 744 และ 918 ในเอกซอนที่ 3 นอกจากนี้มีรายงานว่าอัลลีล C^{Bd} , C^{Bk} และ C^{Bc} เกิดการแทนที่เบสที่ตำแหน่ง 122 ใน R2 (ตาราง 2) แม้ว่า C^{Bd} จะมี silent substitution บริเวณอื่น คือในอินทรอนที่ 2 แต่การเปลี่ยนแปลงในบริเวณอื่นนอกเหนือตำแหน่งของ sequence region อาจมีความเกี่ยวข้องในการเปลี่ยนแปลงของฟีนไทป์ด้วยเช่นกัน (Saitoh et al., 2004)

ตาราง 2 ลำดับเบสของยีน *OSCI* ที่แตกต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์

Nucleotide changes among the eight haplotypes in the *OSCI* gene observed within *O. sativa*

Haplo -type	Allele (strain)	Position	Mutation ^a	Effect on protein
SA1	C^B (T65, A58)	918	$C \rightarrow A$	Replacement (Pro \rightarrow Gln) in third exon
SA2	C^{Bs} (A56)	744	$C \rightarrow T$	Replacement (Ser \rightarrow Phe) in R3
		918	$C \rightarrow A$	Replacement (Pro \rightarrow Gln) in third exon
SA3	C^{Bs} (I33), C^{Bp} (A38, A83), C^{Bm} (A136)	-	-	-
SA4	C^{Bt} (A55, A108), C^{Br} (A5)	968-970	$ACG \rightarrow GCA$	Replacement (Thr \rightarrow Ala) in third exon
		973	34-bp deletion	Frameshift in third exon
SA5	C^+ (734)	786	2-bp deletion	Frameshift in R3
SA6	C^+ (IR36, 868, 108, PTB10)	796	10-bp deletion	Frameshift in R3
SA8	C^{Bd} (I47)	122	$C \rightarrow G$	Replacement (Pro \rightarrow Arg) in R2
SA9	C^{Bk} (I32), C^{Bc} (I45)	122	$C \rightarrow G$	Replacement (Pro \rightarrow Arg) in R2

^aCompared with the SA3 sequence, which is the same as that of Purpleputtu (Reddy et al., 1998)

ที่มา: Saitoh et al., 2004

ดังนั้นสำหรับข้าวประกอบด้วยยีนควบคุมสองกลุ่มที่ควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเช่นกันคือ basic helix-loop-helix (bHLH) type R/B family โดยตำแหน่ง *Pl^m* locus ในข้าว isogenic lines T65-*Pl^m* ที่มีสีม่วง พบยีนที่อยู่ตำแหน่งนี้ในกลุ่มของ R/B type bHLH 2 ยีน คือ *OSB1* และ *OSB2* โดย *OSB1* เป็นยีน *Ra1* ของข้าวที่ถูกรายงานก่อนหน้าโดย Hu et al. (1996) ยีนทั้งสองสามารถชักนำให้เกิดการสร้างแอนโทไซยานินโดยไปกระตุ้นยีนโครงสร้าง ได้แก่ ยีน *OsF3H*, *OsDFR*, และ *OsANS* อีกกลุ่มคือ MYB type *C1* family ประกอบด้วยยีน *OSCI* คล้ายกับยีน *C1* ของข้าวโพดซึ่งอยู่ในกลุ่มนี้ (Shih et al., 2008) และสามารถส่งเสริมให้ข้าวสามารถสร้างแอนโทไซยานินโดยไปกระตุ้นยีนโครงสร้าง โดยสามารถจับบริเวณโปรโมเตอร์ของยีน *OsDFR* และ *OsANS* ให้มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้น (Ithal and Reddy, 2004)

การใช้ยีนควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเป็นยีนเครื่องหมาย

การถ่ายยีนเข้าสู่พืชต้องมีการคัดเลือกเนื้อเยื่อที่ได้รับยีนโดยใช้ยีนต้านทานสารปฏิชีวนะหรือสารปราบวัชพืชเป็นยีนคัดเลือก หากพืชได้รับยีนก็สามารถเจริญบนอาหารที่มีสารปฏิชีวนะเหล่านั้นได้ แต่ก็มักเกิดความกังวลในหลายด้าน เช่น การบริโภคนิวคลีโอไซด์ต้านสารปฏิชีวนะหรือยีนต้านสารปราบวัชพืชที่อาจเป็นอันตรายต่อมนุษย์ และสัตว์ อีกทั้งการกระจายของยีนไปสู่จุลินทรีย์ หรือสิ่งแวดล้อมทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายในจุลินทรีย์หรือการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมในพืชท้องถิ่น นอกจากนี้สารปฏิชีวนะอาจส่งผลกระทบต่อเจริญของเซลล์พืชหรือลดการพัฒนาเป็นต้นของเซลล์พืชในระบบการถ่ายยีน ดังนั้นจึงมีการพัฒนาระบบการถ่ายยีนเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ยีนต้านสารปฏิชีวนะและยีนต้านสารปราบวัชพืช เช่น การพัฒนาระบบการถ่ายยีนโดยปราศจากยีนเครื่องหมาย *ipt*-type MAT vector system โดยคัดเลือกพืชที่ได้รับยีนจากลักษณะยอดกระจุกเนื่องจากมียีนสร้างไซโตไคนิน ต้นพืชที่ได้หลังการถ่ายยีนจะไม่มียีนคัดเลือก (Endo et al., 2002) จากปัญหาเหล่านี้จึงมีการพัฒนาระบบการถ่ายยีนโดยใช้ยีนควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเป็นยีนเครื่องหมายคัดเลือกทำให้ไม่ต้องใช้สารปฏิชีวนะและง่ายต่อการคัดเลือกจากลักษณะสีของพืชที่ปรากฏแทนการใช้ยีนต้านสารปฏิชีวนะและยีนต้านสารปราบวัชพืช ซึ่งจะลดข้อวิตกกังวลในเรื่องของการถ่ายยีนในพืชดัดแปลงพันธุกรรมออกไปสู่สิ่งแวดล้อมหรือสิ่งมีชีวิตอื่นโดยมีการถ่ายยีน *OSB2* เข้าสู่ข้าวพันธุ์ Kasalath เพื่อเป็นยีนเครื่องหมายคัดเลือกข้าวดัดแปลงพันธุกรรมจากสีที่ปรากฏ โดยเซลล์ของข้าวพันธุ์ Kasalath ที่ได้จากการถ่ายยีนมีลักษณะสีแดงจากการแสดงออกของยีน *OSB2* (Saika et al., 2011)

นอกจากนี้มีรายงานการใช้ยีนควบคุมการสังเคราะห์แอนโทไซยานินเป็นยีนตรวจตามการปนเปื้อนของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมโดยศึกษาการถ่ายยีน *OSB2* ภายใต้การควบคุมของโปรโมเตอร์ *OsPRI.1* ที่เป็นโปรโมเตอร์ที่ตอบสนองต่อสารเคมีหรือสารเคมีเป็นตัวชักนำการแสดงออกของยีน โดยถ่ายยีนเข้าสู่ข้าว isogenic Taichung 65 พบว่าข้าวที่ได้รับยีนมีการสังเคราะห์แอนโทไซยานินมากขึ้นทำให้ยอดมีสีแดงเมื่อได้รับสารเคมีสอดคล้องกับการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นของยีน *OSB2* และยีน *anthocyanidin synthase (ANS)* ดังนั้นสามารถใช้ประโยชน์จากยีน *OSB2* เป็นยีนรายงานผลในการติดตามการปนเปื้อนของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมจากการแสดงลักษณะสีในข้าวที่ได้รับยีน (Kawahigashi et al., 2007) และการใช้ยีน *OSB2* ภายใต้การควบคุมของโปรโมเตอร์ *CYP72A21* ที่สารกำจัดวัชพืชเป็นตัวชักนำให้โปรโมเตอร์แสดงออกของยีน ทำให้ข้าว isogenic line Taichung-65 C^A มีการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน และต้นมีลักษณะสีแดง สามารถใช้ต้นดัดแปลงพันธุกรรมเป็นตัวติดตามการปนเปื้อนของสารกำจัดวัชพืชในสิ่งแวดล้อมและสามารถตรวจสอบได้ง่ายจากสีของพืช (Hirose et al., 2008)