

การวิเคราะห์คู่ผสมระหว่างสายพันธุ์และพันธุ์ทดสอบสำหรับความทนทาน
ต่อสภาพเครียดออสโมติกของข้าวโพดในระยะต้นกล้า



ณัฐนันท์ จันทะมิตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชไร่

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2568

การวิเคราะห์คู่ผสมระหว่างสายพันธุ์และพันธุ์ทดสอบสำหรับความทนทาน
ต่อสภาพเครียดออสโมติกของข้าวโพดในระยะต้นกล้า



ณัฐนันท์ จันทะมิตร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชไร่

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2568

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การวิเคราะห์คู่สมระหว่างสายพันธุ์และพันธุ์ทดสอบสำหรับความทนทาน
ต่อสภาพเครียดออสโมติกของข้าวโพดในระยะต้นกล้า

ณัฏฐนันท์ ฉันทะมิตร

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชไร่

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัทมา หาญนอก)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรารักษ์ แสงทอง)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัชณี พุทธา)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยยศ สัมฤทธิ์สกุล)

รองอธิการบดี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	การวิเคราะห์คุณสมบัติระหว่างสายพันธุ์และพันธุ์ทดสอบสำหรับความทนทาน ต่อสภาพเครียดออสโมติกของข้าวโพดในระยะต้นกล้า
ชื่อผู้เขียน	นางสาวณัฏฐนันท์ ฉันทะมิตร
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชไร่
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัทมา หาญนอก

บทคัดย่อ

การคัดเลือกลักษณะในระยะต้นกล้า เป็นหนึ่งในวิธีที่ลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ได้ นอกจากนี้ การใช้เทคนิคด้านโมเลกุลในการคัดเลือกสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชได้อีกทาง ในสภาพอากาศที่แปรปรวน ปัญหาภัยแล้งก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงต่อพืชปลูก พืชที่มีการสะสมน้ำตาลทรีฮาโลสในปริมาณที่สูงสามารถปรับตัวต่อสภาพเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิตได้ดีขึ้น ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงทำการตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส ด้วยเทคนิค RT-PCR เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่เพื่อนำมาผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ผสมโดยใช้แผน Line x Tester งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการประเมินความสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* กับลักษณะฟีโนไทป์ในระยะต้นกล้า พร้อมประเมินค่าทางพันธุกรรมของสายพันธุ์พ่อแม่จากกลุ่มผสมที่ผลิตได้ ผลการทดสอบ พบว่า ระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าความเขียวใบ ความสูงของต้นกล้า น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และน้ำหนักแห้งรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัว พบว่า สายพันธุ์แม่ Grp5-3-1S1 Grp2-1-2S1-3 และ Grp6-3-2S1-5 สายพันธุ์พ่อ Kei1608 แสดงค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไประหว่างค่าเฉลี่ยทั้งหมดของสายพันธุ์พ่อแม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบอีกว่า กลุ่มผสม Grp2-1-2S1-3xKei1608 Grp6-3-2S1-5xKi48 และ Grp4-4-2S1-1xKi48 ให้ค่าความสามารถในการรวมตัวแบบจำเพาะเจาะจงที่สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อลักษณะดังกล่าว ดังนั้น กลุ่มผสมทั้ง 3 คู่นี้จึงควรถูกคัดเลือกไปทดสอบในสภาพแปลงปลูกในลำดับถัดไป

คำสำคัญ : น้ำตาลทรีฮาโลส, การผสมระหว่างสายพันธุ์และสายพันธุ์ทดสอบ, ความสามารถในการรวมตัว, การวิเคราะห์ภาพถ่าย

Title	LINE x TESTER ANALYSIS OF OSMOTIC TOLERANCE IN MAIZE SEEDLING STAGE
Author	Miss Natthanun Chantamit
Degree	Master of Science in Agronomy
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Pattama Hannok

ABSTRACT

Selecting traits at the seedling stage is an effective method to shorten the breeding process. Additionally, molecular selection techniques can further enhance breeding efficiency, especially under unpredictable climate conditions. Droughts can severely damage crops, but plants that accumulate high levels of trehalose are better able to adapt to abiotic stress. This study investigated the expression of genes related to trehalose biosynthesis using RT-PCR to identify parent lines for hybrid seed production, employing a Line x Tester mating design. The objectives were to evaluate the relationship between *Trehalose-6-phosphate synthase* gene expression and seedling-stage phenotypic traits and assess the genetic parameters of parent lines derived from progeny crosses. The results revealed a statistically significant positive correlation between *Trehalose-6-phosphate synthase* gene expression and traits such as leaf greenness, seedling height, shoot dry weight, and total dry weight. Analysis of combining ability showed that the maternal line Grp5-3-1S1 Grp2-1-2S1-3 and Grp6-3-2S1-5 the paternal line Kei1608 exhibited significantly higher general combining ability values than the parent average. Moreover, three progeny crosses, which are Grp2-1-2S1-3xKei1608 Grp6-3-2S1-5xKi48 and Grp4-4-2S1-1xKi48 demonstrated significantly high specific combining ability for the traits studied. Therefore, these three progeny crosses are recommended for further evaluation under field conditions in subsequent trials.

Keywords : Trehalose, Line x Tester, Combining abilities, Image analysis

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (AG-BIO/MHESI)/ AG-BIO62-001-001 และได้รับเงินทุนสนับสนุนการเรียน จากทุนศิษย์ก้นกุฏิ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

การทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัทมา หาญนอก อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ที่คอยให้โอกาส คำแนะนำ คำปรึกษา แนะนำแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ อีกทั้งยังได้รับความช่วยเหลือและสนับสนุนในด้านวัสดุอุปกรณ์สารเคมีในห้องปฏิบัติการ ตลอดระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย รวมทั้งช่วยตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ไว้ ณ ที่นี้เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราภรณ์ แสงทอง ที่ได้สนับสนุนด้านอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนให้คำแนะนำแก่ผู้วิจัยโดยเสมอมา และ ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สิริวิวัฒน์ สาครวาสี ที่ช่วยแนะนำตลอดจนช่วยตรวจสอบข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่คอยสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการศึกษา คอยให้ความรัก ความห่วงใย และเป็นกำลังใจจนสำเร็จการศึกษา สุดท้ายนี้ขอขอบคุณพี่กมลรัตน์ ที่คอยช่วยเหลือและให้คำปรึกษามาโดยตลอด นอกจากนี้ต้องขอขอบคุณ เพื่อน ๆ ใน PATTAMA LAB ที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจกันมาตลอดจนทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ณัฏฐนันท์ ฉันทะมิตร

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ณ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร.....	3
ระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพดตามแบบสากล.....	3
ผลกระทบของพืชภายใต้สภาวะขาดน้ำ.....	5
กลไกการตอบสนองต่อความเครียดจากการขาดน้ำ.....	6
กระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลสในเซลล์พืช.....	7
สภาวะเครียดจากการขาดน้ำและสภาวะเครียดจากแรงดันออสโมติก.....	11
การเหนี่ยวนำสภาพเครียดออสโมติกในระดับห้องปฏิบัติการ	13
การคัดเลือกจีโนไทป์ในระยะต้นกล้า	14
ลักษณะทนแล้งที่ถ่ายทอดได้ทางพันธุกรรม	15
การประเมินความสามารถในการรวมตัวของลักษณะทนแล้ง	17
แผนการผสมแบบ Line x Tester.....	19
ค่าดัชนีความทนทานต่อสภาพเครียด	20
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	22

การทดลองที่ 1 การผลิต F1 progenies	22
การทดลองที่ 1.1 การทดสอบหาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการตอบสนองต่อพืชภายใต้สภาพ เครียดออสโมติก	22
การทดลองที่ 1.2 การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพด เพื่อนำมาใช้ในการผลิต F1 progenies	22
การทดลองที่ 1.3 การผลิต F1 progenies เพื่อนำมาใช้ในการทดสอบ	24
การทดลองที่ 2 การทดสอบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม F1 progenies ภายใต้สภาพเครียดออสโมติก	25
การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ	26
การสกัดอาร์เอ็นเอจากใบและรากของต้นกล้าข้าวโพด	27
การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีนที่สนใจด้วยวิธี Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT- PCR)	28
การวัดค่าความเข้มแถบตีเอ็นเอด้วยโปรแกรม Imagej	30
การวิเคราะห์พื้นที่ส่วนเนื้อรากด้วยโปรแกรม ImageJ	32
การวิเคราะห์ภาพถ่ายส่วนของรากด้วยโปรแกรม Smart root ร่วมกับโปรแกรม ImageJ	34
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	37
การทดลองที่ 1 การผลิต F1 progenies.....	37
ผลการทดลองที่ 1.1 การทดสอบหาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการตอบสนองต่อพืชภายใต้ สภาพเครียดออสโมติก.....	37
ผลการทดลองที่ 1.2 การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพด เพื่อนำมาใช้ในการผลิต F1 progenies.....	38
ผลการทดลองที่ 1.3 การผลิต F1 progenies เพื่อนำมาใช้ในการทดสอบ	39
ผลการทดลองที่ 2 การทดสอบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม F1 progenies ภายใต้สภาพเครียด ออสโมติก	43
ผลการทดลองที่ 2.1 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของยีน <i>Trehalose- 6-phosphate synthase</i> และลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 14 ลักษณะ.....	43
ผลการทดลองที่ 2.2 ผลการวิเคราะห์ของดัชนีความทนทานต่อความเครียด	46

ผลการทดลองที่ 2.2.1 ผลการวิเคราะห์สถิติพรรณนาของดัชนีความทนทานต่อ ความเครียดของลักษณะพื้โนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ	46
ผลการทดลองที่ 2.2.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัว ของดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะ พื้โนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ ..	47
ผลการทดลองที่ 2.2.3 ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (General combining ability) ของดัชนีความทนทานต่อความเครียดของ ลักษณะพื้โนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ	48
ผลการทดลองที่ 2.2.4 ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะ (Specific combining ability) ของดัชนีทนทานต่อความเครียดของลักษณะพื้ โนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ	53
ผลการทดลองที่ 2.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถการเจริญเติบโตของกลุ่มสมในระยะต้นกล้า ภายใต้สภาพปกติ.....	58
ผลการทดลองที่ 2.3.1 ผลการวิเคราะห์สถิติพรรณนาของความสามารถการเจริญ เติบโตของกลุ่มสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ	58
ผลการทดลองที่ 2.3.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถการ เจริญเติบโตของกลุ่มสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ.....	59
ผลการทดลองที่ 2.3.3 ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (General combining ability) ของความสามารถการเจริญเติบโตของกลุ่มสม ในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ.....	60
ผลการทดลองที่ 2.3.4 ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะ (Specific combining ability) ของความสามารถการเจริญเติบโตของกลุ่มสม ในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ.....	65
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	70
บรรณานุกรม.....	71
ประวัติผู้วิจัย.....	85

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 รายละเอียดของระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพดตามแบบสากล (IBSNAT, 1988)	3
ตารางที่ 2 องค์ประกอบสารสำหรับเตรียมปฏิกิริยา Reverse transcription (RT)	28
ตารางที่ 3 องค์ประกอบสารสำหรับเตรียมปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)	29
ตารางที่ 4 แสดงขั้นตอนในการทำปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)	30
ตารางที่ 5 อัตราส่วนความเข้มข้นของแถบดีเอ็นเอของรากและใบของสายพันธุ์ที่ใช้สำหรับคัดเลือกพ่อแม่	40
ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ค่าสถิติพรรณนาของดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะฟีนไทป์ ทั้ง 4 ลักษณะ : ค่าความเขียวใบ (STISPAD) ความสูงของต้นกล้า (STIPH) น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (STIDWshoot) และน้ำหนักแห้งรวม (STIDWtotal)	46
ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัวของดัชนีทนทานต่อ ความเครียดของลักษณะฟีนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ	48
ตารางที่ 8 การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) ของดัชนีความทนทานต่อความ เครียดของลักษณะฟีนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ	52
ตารางที่ 9 การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะเจาะจง (SCA) ของดัชนีทนทานต่อ ความเครียดของลักษณะฟีนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ	56
ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ค่าสถิติพรรณนาของความสามารถการเจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้น กล้าภายใต้สภาพปกติ	58
ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัวของการเจริญเติบโตของ คู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ	60
ตารางที่ 12 การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) ของความสามารถการ เจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ	64
ตารางที่ 13 การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะเจาะจง (SCA) ของความสามารถการ เจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ	68

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 กระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส (Zhou et al., 2014).....	9
ภาพที่ 2 การเตรียมเมล็ดข้าวโพดสำหรับย้ายปลูกลงในปิกเกอร์	23
ภาพที่ 3 การปลูกทดสอบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในระยะต้นกล้า	24
ภาพที่ 4 แผนการผสมแบบ Line x Tester ที่ใช้ในการศึกษา.....	25
ภาพที่ 5 ขั้นตอนการวัดค่าความเข้มแถบดีเอ็นเอ (A) การปรับแต่งภาพสีเทาเป็นสีดำ (B) ภาพที่ได้จากการปรับ	31
ภาพที่ 6 ขั้นตอนการวัดค่าความเข้มแถบดีเอ็นเอ (A) ตั้งค่าการวิเคราะห์ภาพ (B) การกำหนดจุดสำหรับวิเคราะห์	31
ภาพที่ 7 ขั้นตอนการวิเคราะห์พื้นที่ไปด้วยโปรแกรม Image J (A) การนำภาพถ่ายเข้า (B-C) การตั้งค่าสเกลมาตรฐาน (D) เลือกพื้นที่ที่ต้องการวิเคราะห์ (E-F) ปรับสีภาพและการใช้ Wand tools และ (G-H) การใช้เครื่องมือ ROI manager ในการวิเคราะห์ภาพและผลจากการวิเคราะห์	33
ภาพที่ 8 ขั้นตอนการวิเคราะห์ภาพถ่ายส่วนของราก (A) การเลือก SR explorer เพื่อเปิด Smart root (B) การปรับสีของภาพ (C) การเลือกค่าที่ต้องการวิเคราะห์ (D) การตั้งค่า Scale (E) การใช้ Trace root เลือกพื้นที่ราก และ (F) ผลการวิเคราะห์	36
ภาพที่ 9 การแสดงออกของยีน Trehalose-6-phosphate synthase ของแต่ละข้าวโม่งหลังได้รับความเครียดจากการขาดน้ำ.....	38
ภาพที่ 10 การแสดงออกของยีน Trehalose-6-phosphate synthase ของ 17 สายพันธุ์แท้ สำหรับใช้เป็น Testers	40
ภาพที่ 11 การแสดงออกของยีน Trehalose-6-phosphate synthase ของ 45 สายพันธุ์ สำหรับใช้เป็น Lines.....	41
ภาพที่ 12 แผนการผสมเพื่อผลิต F1 progenies สำหรับนำมาใช้ในการทดสอบ.....	42
ภาพที่ 13 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ Pearson ระหว่างการแสดงออกของยีน Trehalose-6-phosphate synthase (TPS exp) และลักษณะ ฟีนไทป์ทั้ง 14 ลักษณะ.....	45

ภาพที่ 14 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดภายใต้สภาวะปกติและภายใต้ความเครียด ออสโมติกของแต่ละสายพันธุ์.....	51
ภาพที่ 15 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดภายใต้สภาวะปกติและภายใต้ความเครียด ออสโมติกของแต่ละคู่ผสม.....	55
ภาพที่ 16 แสดงการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดภายใต้สภาวะปกติของแต่ละสายพันธุ์.....	63
ภาพที่ 17 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดภายใต้สภาวะปกติของแต่ละคู่ผสม	67



บทที่ 1

บทนำ

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ถูกใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตอาหารสัตว์ มีความต้องการใช้เพิ่มมากขึ้นทั้งในและต่างประเทศ ในปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อยู่ที่ 6.7 ล้านไร่ จากการรายงานพบว่า ภาคเหนือเป็นแหล่งผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นหลัก มีพื้นที่เพาะปลูกมากกว่าร้อยละ 60 ของพื้นที่เพาะปลูกทั้งหมด ในขณะที่ภายในประเทศมีความต้องการใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในการผลิตอาหารสัตว์มากถึง 8.9 ล้านตัน แต่ประเทศไทยมีกำลังผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อยู่เพียง 5 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่อยู่ที่ 740 กิโลกรัม/ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร, 2567)

เกษตรกรที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ส่วนใหญ่มีพื้นที่ปลูกอยู่นอกเขตชลประทานมากกว่าร้อยละ 90 และอาศัยน้ำฝนในการเพาะปลูกเพียงอย่างเดียว เมื่อปริมาณน้ำฝนน้อยกว่าปกติ ข้าวโพดจึงได้รับน้ำที่ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต ส่งผลให้ปริมาณผลผลิตลดลง เกษตรกรที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ได้รับผลกระทบจึงเปลี่ยนไปปลูกพืชที่มีอายุสั้นและใช้น้ำน้อยกว่า หรือแม้แต่ปล่อยให้พื้นที่ว่าง ด้วยสาเหตุนี้จึงมีการนำเข้าข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากประเทศเพื่อนบ้านเพิ่มมากขึ้น (สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร, 2567) จากผลกระทบของปรากฏการณ์เอลนีโญที่ผ่านมาในปี พ.ศ. 2567 ผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลดลงเหลือเพียง 4.7 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่อยู่ที่ 700 กิโลกรัม/ไร่ (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2567) โรงงานอุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์ได้รับผลกระทบ ผลผลิตที่ได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการ จึงมีการนำเข้าข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เข้ามาใช้ภายในประเทศ นอกจากนี้ จากรายงานภาวะเศรษฐกิจการเกษตรไตรมาสที่ 3 ในปี พ.ศ. 2567 ของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร พบอัตราหัตถ์ร้อยละ 0.7 เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเดียวกันของปี พ.ศ. 2566 ที่พบว่า ผลผลิตทางการเกษตรบางส่วนในไตรมาสนี้ได้รับผลกระทบจากปรากฏการณ์เอลนีโญในช่วงที่ผ่านมา จึงส่งผลให้มีปริมาณน้ำฝนน้อยกว่าปกติและมีสภาพอากาศแห้งแล้งจนถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2567 ซึ่งส่งผลกระทบให้ภาวะเศรษฐกิจทางการเกษตรมีการหดตัวต่อเนื่องจากไตรมาสที่ 2 (สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร, 2567)

ปัญหากล้งถือเป็นหนึ่งปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจทางด้านการผลิตพืชของประเทศ การเลือกใช้พันธุ์ข้าวโพดอาหารสัตว์ที่มีความทนแล้งอาจช่วยบรรเทาความเสียหายทางเศรษฐกิจได้ อย่างไรก็ตาม การพัฒนาและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพื่อให้ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมมักใช้ระยะเวลานาน การค้นหาวิธีใหม่ที่ใช้เวลาสั้นลง แต่ยังคงมีประสิทธิภาพและความแม่นยำสูงจึงเป็นความท้าทาย ในการศึกษาี้ ผู้วิจัยมีความสนใจในการ

ทดสอบการตอบสนองของพืชในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพเครียดออสโมติก ซึ่งเป็นสภาพที่สามารถควบคุมได้ โดยศึกษาเกี่ยวกับยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างน้ำตาลทรีฮาโลส (Trehalose) ที่เป็นสารคอมแพททิเบิลโซลูท (compatible solutes) ภายในเซลล์ โดยสารดังกล่าวมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการปรับตัวของพืชภายใต้สภาพแล้ง วิธีการดังกล่าวนี้อาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการคัดเลือกจีโนไทป์ที่มีลักษณะส่งเสริมการทนแล้งได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะฟีโนไทป์ในระยะต้นกล้าของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase*
2. เพื่อประเมินความสามารถในการรวมตัวทั่วไปและความสามารถในการรวมตัวเฉพาะของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ใช้ทดสอบ



บทที่ 2

ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

ระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพดตามแบบสากล

ระยะการเจริญเติบโตและการพัฒนาของข้าวโพด เริ่มตั้งแต่ระยะเริ่มงอกถึงระยะเก็บเกี่ยว ซึ่งรวมอายุได้ประมาณ 110 - 120 วัน ข้าวโพดที่เจริญเติบโตสมบูรณ์อาจมีใบได้มากถึง 16 - 18 ใบ และออกไหมเมื่ออายุประมาณ 55 - 60 วัน การจำแนกระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพดตามการพิจารณาของส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพดได้แบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ การเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative; V) และระยะการเจริญเติบโตทางการเจริญพันธุ์ (reproductive; R) ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นจะเริ่มจากระยะงอก (emergence; VE) และเริ่มนับระยะ V1, V2, V3 จนถึง Vn เมื่อข้าวโพดมีใบที่กางสมบูรณ์ (ปรากฏรอยพับด้านหลังใบ หรือ leaf collar) ใบที่ 1, 2, 3, และ n ใบ ตามลำดับ จนถึงระยะ VT ที่ปรากฏช่อดอกตัวผู้ และระยะการเจริญพันธุ์จะเริ่มตั้งแต่ระยะ R1 (ออกไหม) R2 (กำเนิดเมล็ด) จนถึงระยะ R7 (harvest maturity) โดยมีรายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รายละเอียดของระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพดตามแบบสากล (IBSNAT, 1988)

ระยะการเจริญเติบโต	รายละเอียด
การเจริญเติบโตทางลำต้น (Vegetative, V)	
VE	จำนวนต้น 50% ที่ Coleoptile โผล่พ้นดิน
V1	จำนวนต้น 50% ที่ใบที่ 1 กางสมบูรณ์
V2	จำนวนต้น 50% ที่ใบที่ 2 กางสมบูรณ์
V3	จำนวนต้น 50% ที่ใบที่ 3 กางสมบูรณ์
V4	จำนวนต้น 50% ที่ใบที่ 4 กางสมบูรณ์
V5	จำนวนต้น 50% ที่ใบที่ 5 กางสมบูรณ์
V6	จำนวนต้น 50% ที่ใบที่ 6 กางสมบูรณ์
V7	จำนวนต้น 50% ที่ใบที่ 7 กางสมบูรณ์
Vn	จำนวนต้น 50% ที่ใบที่ n กางสมบูรณ์
VT	จำนวนต้น 50% ที่ปรากฏกิ่งสุดท้ายของช่อดอกตัวผู้

ระยะการเจริญเติบโต	รายละเอียด
การเจริญเติบโตทางการเจริญพันธุ์ (Reproductive, R)	
R1	จำนวนต้น 50% ที่ปรากฏไหมโผล่พ้นกาบหุ้มฝัก (ระยะออกไหม, Silking)
R2	จำนวนต้น 50% ที่เมล็ดบนฝักเริ่มมีของเหลวภายในใส (ระยะเมล็ดเจริญ, Blister) ใช้เวลา 10 - 14 วันหลังวันออกไหม
R3	จำนวนต้น 50% ที่เมล็ดบนฝักปรากฏสีเหลือง, ภายในเมล็ดเป็นนํ้านมสีขาว (ระยะนํ้านม, Milky) ใช้เวลา 18 - 22 วัน หลังวันออกไหม
R4	จำนวนต้น 50% ที่เมล็ดเริ่มเป็นแป้ง (ระยะแป้งอ่อน, Dough) ใช้เวลา 24 - 28 วันหลังวันออกไหม
R5	จำนวนต้น 50% ที่แป้งภายในเมล็ดหดตัว (ระยะแป้งแข็ง, Dent) ใช้เวลา 35 - 42 วันหลังวันออกไหม
R6	จำนวนต้น 50% ที่เมล็ดเกิดขึ้นเนื้อเยื่อสีดำ ที่ส่วนโคนของเมล็ด (ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา, Physiological maturity) เมล็ดหยุดการเจริญเติบโต ใช้เวลาตั้งแต่ 45 วัน หลังวันออกไหม
R7	จำนวนต้น 50% ที่เมล็ดพร้อมจะเก็บเกี่ยว (ระยะสุกแก่เก็บเกี่ยว Harvest maturity)

การพัฒนาต้นกล้าข้าวโพดในระยะเริ่มต้นของการเจริญเติบโตหลังจากเมล็ดงอก ถือเป็นช่วงเวลาสำคัญที่มีผลต่อการตั้งตัวของพืชและการเจริญเติบโตในระยะถัดไป ความสมบูรณ์และความแข็งแรงของต้นกล้ามีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการดูดซึมน้ำ ธาตุอาหาร การสังเคราะห์แสง และการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อม ทั้งนี้การพัฒนาต้นกล้าข้าวโพด เริ่มต้นด้วยกระบวนการการดูดน้ำเข้าสู่เมล็ด (imbibition) ทำให้เอนไซม์ในเอ็มบริโอถูกกระตุ้น ส่งผลให้เกิดการย่อยสลายแป้งและโปรตีนภายในเมล็ด เพื่อใช้เป็นพลังงานในการแบ่งเซลล์ (Hanway, 1963) หลังจากนั้นรากแรกเกิด (radicle) จะเจริญทะลุเปลือกเมล็ดออกมาเป็นส่วนแรก ซึ่งบ่งชี้ว่า เมล็ดได้งอกแล้วอย่างสมบูรณ์ จากนั้นในส่วนของปล้องแรก (mesocotyl) ซึ่งอยู่ระหว่างฐานเมล็ดกับยอดอ่อนจะยืดตัวดันปลอกหุ้มยอด (coleoptile) พุ่งขึ้นเหนือผิวดิน หลังจากปลอกหุ้มยอดทะลุผิวดิน ใบจริงชุดแรก (first true leaf) จะทะลุออกมาและเริ่มทำหน้าที่สังเคราะห์แสง กระบวนการนี้ใช้เวลาโดยเฉลี่ย 5 – 10 วันหลังการปลูก ขึ้นกับสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอุณหภูมิและความชื้นของดิน (Nielsen, 2013) ในระบบรากของระยะต้นกล้านั้น เริ่มจากรากหลัก (primary root) และรากพิเศษ

แรกเกิด (seminal roots) ที่พัฒนาอย่างรวดเร็วในช่วง 7 – 14 วันแรก ความลึก ความหนาแน่น และการแตกแขนงของรากในระยะต้นกล้ามีบทบาทสำคัญต่อความสามารถในการดูดน้ำและความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แปรปรวน หลังจากนั้น รากโคนลำต้น (nodal หรือ crown roots) จะเจริญจากข้อของลำต้นใต้ดิน ซึ่งเป็นรากที่ทำหน้าที่ดูดซึมน้ำและยึดพืชในระยะต่อมา ข้าวโพดจะเริ่มพัฒนาใบจริงทีละใบ โดยเฉลี่ยจะปรากฏใบใหม่ทุก 2 – 3 วัน ขึ้นกับอุณหภูมิอากาศ

ระยะต้นกล้ามักหมายถึงช่วงที่มีใบจริงตั้งแต่ 1 ถึง 5 ใบ ลำต้นจะยังไม่สูงมากแต่ส่วนเนื้อเยื่อเจริญส่วนปลาย หรือที่เรียกว่า apical meristem จะเริ่มพัฒนาเป็นข้อและปล้อง ซึ่งต่อมาเป็นโครงสร้างของลำต้นถาวร การพัฒนาใบในระยะนี้เป็นตัวชี้วัดความแข็งแรงของต้นกล้าและความสามารถในการเจริญเติบโตในระยะต่อไป (Lee, 2011) หลังจากช่วง 2 – 3 สัปดาห์ ต้นกล้าจะเข้าสู่ช่วงที่เรียกว่า establishment phase ซึ่งคือช่วงที่พืชสามารถพึ่งพาการสังเคราะห์แสงและระบบรากของตนเองได้อย่างเต็มที่ โดยไม่ต้องพึ่งพาสารอาหารจากเมล็ดอีกต่อไป (Abendroth et al., 2010) ระยะนี้ถือเป็นจุดเปลี่ยนสำคัญที่ส่งผลต่อผลผลิตในระยะยาว พืชที่ตั้งตัวได้ดีในระยะต้นกล้ามักมีแนวโน้มให้ผลผลิตสูงและทนต่อสภาวะเครียดได้ดีกว่า

ผลกระทบของพืชภายใต้สภาวะขาดน้ำ

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีความต้องการใช้น้ำปริมาณมากถึง 500 – 800 มิลลิเมตร ต่อฤดูการเพาะปลูก (Xie et al., 2017) เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อยู่ในสภาวะขาดน้ำ พืชจะได้รับผลกระทบ โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยามีลักษณะผิดปกติหรือเปลี่ยนแปลงไปตั้งแต่ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ (vegetative stage) ระยะสืบพันธุ์ (flowering stage) จนถึงระยะการสะสมน้ำหนักเมล็ด (grain filling) มีรายงานจำนวนมากชี้ให้เห็นถึงความเสียหายของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในแต่ละช่วงระยะการเจริญเติบโต จากรายงานพบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อยู่ในสภาวะขาดน้ำในช่วงระยะ V1 – V5 มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง (Aslam et al., 2015) พืชมีการปิดปากใบเพื่อลดการคายน้ำ พืชจึงแสดงอาการม้วนใบ พื้นที่ใบจึงลดลง และส่งผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ กระบวนการเมตาบอลิซึมมีประสิทธิภาพการทำงานลดลง (Dwyer et al., 1992; Zhang et al., 2018) นอกจากนี้ ยังพบอีกว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อยู่ในสภาวะขาดน้ำในช่วงระยะสืบพันธุ์ ส่งผลให้ผลผลิตลดลงสองถึงสามเท่าเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะขาดน้ำระยะเจริญเติบโตอื่น (Shaw, 1977; Grant et al., 1989; Saini and Westgate, 2000) การขาดน้ำในช่วงระยะนี้ส่งผลให้ละอองเกสรมีความสมบูรณ์ต่ำ ทำให้การผสมเกสรไม่สำเร็จ มีการพัฒนาเอ็มบริโอผิดปกติ ส่งผลให้การติดเมล็ดและการสะสมน้ำหนักของเมล็ดลดลง (Otegui et al., 1995; Zinselmeier et al., 1999)

นอกจากนี้ ยังมีรายงานจาก Campos et al. (2004) ที่กล่าวถึงผลกระทบของการขาดน้ำต่อการออกดอกตัวเมียว่า มีการเกิดฝักที่ต่ำลง ส่งผลต่อการออกไหม (silk emergence) ผลกระทบนี้ทำให้ช่วงระยะห่างวันออกดอกตัวผู้และตัวเมีย (anthesis-silking interval; ASI) กว้างขึ้นกว่าปกติ (Bruce et al., 2002) ส่งผลให้น้ำหนักของผลผลิตลดลงถึง 15 - 50 % (Denmead and Shaw, 1960; Nesmith and Ritchie, 1992; Aslam et al., 2015) จากข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงผลกระทบของความเครียดจากการขาดน้ำต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้รับความเครียดจากการขาดน้ำและยังในช่วงระยะสืบพันธุ์ส่งผลให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลดลงอย่างเห็นได้ชัด

กลไกการตอบสนองต่อความเครียดจากการขาดน้ำ

สภาพการขาดน้ำ มีผลกระทบต่อทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช ตั้งแต่ระยะต้นกล้า ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ และระยะออกดอก อาการของต้นกล้าที่ได้รับผลกระทบจะชะงักการเจริญเติบโต ใบซีดเหลืองไปจนถึงกลายเป็นสีน้ำตาลไหม้ (อินทิรา ชูตแก้ว, 2560) พืชเมื่อได้รับความเครียดในรูปแบบต่าง ๆ มักมีการตอบสนองและแสดงออกหลายรูปแบบ ได้แก่ ด้านลักษณะทางกายภาพ เช่น การมีอายุเก็บเกี่ยวที่สั้นลง การมีวันออกดอกที่เร็วขึ้น ปริมาณรากลดลง การมีแก๊ซเคลือบผิวใบ การมีขนใบเพื่อช่วยลดการคายน้ำ การขาดน้ำที่ระยะก่อนออกช่อดอกตัวผู้เพียงเล็กน้อยจนถึงระยะเริ่มติดเมล็ดมีผลให้การออกช่อดอกตัวผู้และการออกไหมล่าช้าออกไปมากกว่า 2 สัปดาห์ (นวลรัตน์ และราเชนทร์, 2537) การตั้งของใบ การม้วนของใบ และในด้านลักษณะทางสรีรวิทยา เช่น อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง การสังเคราะห์น้ำตาลและแป้งในพืชลดน้อยลง และการปรับแรงดันออสโมติกภายในเซลล์เพื่อรักษาสมดุลของน้ำภายในเซลล์ (ราเชนทร์ และคณะ 2536; ตูลาพร และวัฒนา 2549)

การปรับตัวที่ทำให้พืชมีชีวิตรอดแม้ต้องอยู่ในสภาวะเครียด คือ การหลบหลีก (avoidance) เป็นการปรับตัวด้านสัณฐานวิทยา (morphological adaptation) พืชที่อยู่ในสภาวะแห้งแล้งต้องปรับตัวเพื่อลดการสูญเสียน้ำ การม้วนใบ การปิดปากใบ และโครงสร้างของรากที่เพิ่มขึ้น (Polle and Rennenberg, 1993; Touchette et al., 2007) และความทนทาน (tolerance) ต่อความเครียดเกี่ยวข้องกับการปรับตัวของลักษณะสรีรวิทยา เพื่อป้องกันสภาวะเครียดให้มีผลกับพืชน้อยที่สุด เช่น พืชในวงศ์ Crassulaceae มีการเปิดปากใบในตอนกลางคืน เพื่อตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในรูปของ Malic acid และเก็บไว้ใน vacuole ขณะที่ในตอนกลางวัน เมื่อปากใบปิด Malic acid จะปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาเพื่อสร้างน้ำตาลในกระบวนการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ ในพืชหลายชนิดเมื่อได้รับความเครียดจะมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เพื่อลดความเสียหายจาก

สารประกอบออกซิเจนที่มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยา (Reactive Oxygen Species; ROS) (อินทิรา ชุตแก้ว, 2560)

เมื่อต้นกล้าข้าวโพดอยู่ในสภาพเครียดจากการขาดน้ำ รากของต้นกล้าข้าวโพดมีการปรับตัวโดยการเพิ่มความยาวของรากหลัก และรากแขนง เพื่อขยายพื้นที่ในการดูดซึมน้ำจากดินที่ลึกขึ้น นอกจากนี้ ยังมีการเพิ่มความหนาแน่นของรากแขนง และรากขนอ่อน ซึ่งช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซึมน้ำและธาตุอาหาร (Basu et al., 2016) เช่นเดียวกับการเพิ่มความหนาแน่นของรากฝอย และรากขนอ่อน ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มพื้นที่ผิวของรากที่สัมผัสกับดิน ทำให้พืชสามารถดูดซึมน้ำจากชั้นดินลึกหรือบริเวณที่ยังคงมีความชื้นหลงเหลืออยู่ได้ดียิ่งขึ้น โดยทั่วไปแล้วเมื่อพืชขาดน้ำการเจริญเติบโตในส่วนเหนือรากจะน้อยกว่าส่วนของราก เนื่องจากรากเป็นอวัยวะแรกที่รับรู้ ส่งสัญญาณ และตอบสนองต่อการขาดน้ำ (Wu and Cosgrove, 2000) การปรับตัวเหล่านี้เป็นผลมาจากการปรับสมดุลของการเจริญเติบโตระหว่างส่วนเหนือรากและรากของพืช โดยมีการสะสมมวลชีวภาพมากขึ้นในระบบราก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมน้ำในสภาวะที่มีน้ำในปริมาณจำกัด ดังนั้น การศึกษาและเข้าใจกลไกการปรับตัวของรากในระยะต้นกล้าจึงเป็นพื้นฐานสำคัญในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโพดที่มีความสามารถในการทนต่อความแห้งแล้ง

กระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลสในเซลล์พืช

น้ำตาลทรีฮาโลส ถูกจัดเป็น non-reducing disaccharide ถูกพบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ได้แก่ พืช แบคทีเรีย สัตว์มีกระดูกสันหลัง และยีสต์ น้ำตาลทรีฮาโลสทำหน้าที่เป็นแหล่งเก็บคาร์โบไฮเดรตและขนส่งน้ำตาล มีบทบาทสำคัญในการปกป้องโปรตีนและเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้เสียสภาพเมื่อพืชอยู่ในสภาพเครียดต่าง ๆ เช่น สภาพเครียดจากการขาดน้ำ และ สภาพอุณหภูมิสูงหรือต่ำ (Wiemken, 1990; Crowe et al., 1998; Iordachescu and Imai, 2011) น้ำตาลชนิดนี้ยังเป็นสารป้องกันแรงดันออสโมติก (osmoprotectant) โดยเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก และมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ที่ 342.30 g/mol ซึ่งจัดว่าเป็นน้ำหนักโมเลกุลต่ำ นอกจากนี้ น้ำตาลทรีฮาโลสยังทำหน้าที่ในการรักษาแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ ทำให้สิ่งมีชีวิตสามารถปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้

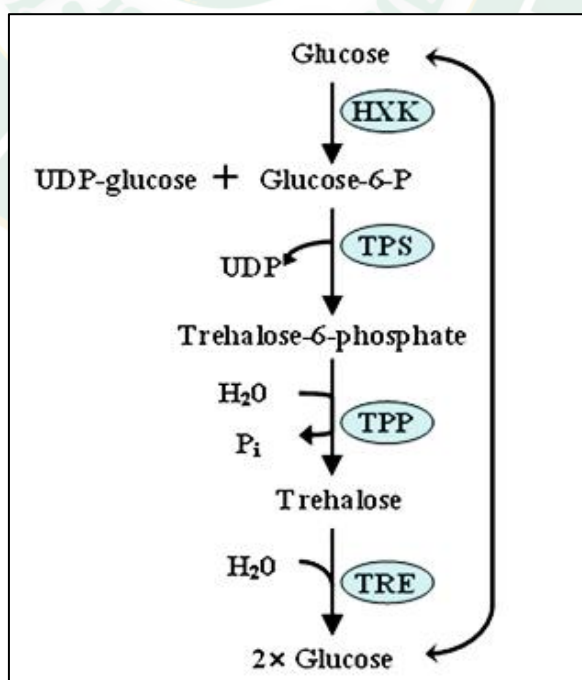
กลไกในการสะสมสารป้องกันแรงดันออสโมติกของพืชมี 2 แบบ คือ การสังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์สิ่งมีชีวิตเอง และการนำสารป้องกันแรงดันออสโมติกจากสิ่งแวดล้อมเข้าสู่เซลล์ สารป้องกันแรงดันออสโมติกมีหลายประเภท ได้แก่ ไขมัน น้ำตาล อนุพันธ์ของน้ำตาล กรดอะมิโน และอนุพันธ์ของกรดอะมิโน ตัวอย่างสารป้องกันแรงดันออสโมติก ได้แก่ กลีเซอรอล ซูโครส น้ำตาลทรีฮาโลส โพรลีน ไกลซีน และบีเทน สารประกอบที่ไม่เป็นพืชเหล่านี้จะทำให้โครงสร้างของเซลล์พืชและ

เอนไซม์มีเสถียรภาพทำหน้าที่ในการเผาผลาญและกำจัดสารประกอบออกซิเจนที่มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยา (Reactive Oxygen Species; ROS) ที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะเครียด (Zulfikar et al., 2019) เพื่อช่วยปรับแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ให้ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม (Hounsa et al., 1998; Goddijn and Dun, 1999; Garg et al., 2002; Paul et al., 2008) นอกจากนี้ ยังมีรายงานอีกว่า น้ำตาลทรีฮาโลสทำหน้าที่เป็น stress-related signaling (John et al., 2017) จากการศึกษาเกี่ยวกับการสะสมน้ำตาลทรีฮาโลส พบว่า มักพบในปริมาณน้อยในต้นพืชที่เจริญเติบโตในสภาพปกติ แต่มีการสะสมในปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อพืชได้รับสภาพเครียด การสะสมของน้ำตาลทรีฮาโลสในปริมาณที่สูงขึ้นจะช่วยให้พืชทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้นานยิ่งขึ้น (Li et al., 2011) เมื่อพืชอยู่ภายใต้สภาวะขาดน้ำ พืชมีการตอบสนองโดยการสังเคราะห์เอนไซม์หลายชนิดเพื่อปรับแรงดันออสโมติก (osmotic adjustment) เพื่อให้ต้นพืชทนต่อสภาวะเครียดจากการขาดน้ำ ในสภาวะนี้พืชสังเคราะห์และสะสมสารคอมแพททิเบิลโซลูท เช่น โพรลีน ไกลซีน บีเทน และ น้ำตาลทรีฮาโลส โดยสะสมที่ไซโทพลาสซึม และถุง vacuole (Garg et al., 2002; Iordachescu and Imai, 2008) สารเหล่านี้มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์พืชเมื่อมีปริมาณที่สูงขึ้น

สารคอมแพททิเบิลโซลูทมีบทบาทสำคัญในการรักษาแรงดันเต่ง (turgor pressure) ช่วยให้ค่าศักย์ของน้ำภายในเซลล์ลดลง โดยไม่ทำให้แรงดันเต่งหรือขนาดเซลล์ลดลงตาม ช่วยกระตุ้นการทำงานของกระบวนการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระและยังช่วยปกป้องโปรตีนชนิดต่าง ๆ ซึ่งทำหน้าที่ในกระบวนการสังเคราะห์แสงในระหว่างที่พืชเครียดอีกด้วย (Ashraf and Foolad, 2007) มีรายงานเกี่ยวกับการตอบสนองของพืชต่อการสะสมสารคอมแพททิเบิลโซลูท พบว่า พันธุ์พืชที่มีการสะสมสารจำพวกโพรลีน ไกลซีน และบีเทนในปริมาณที่สูงสามารถทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดีกว่าพันธุ์พืชที่มีการสะสมสารในปริมาณต่ำ (Chauhan et al., 1980; Saneoka et al., 1995) นอกจากนี้ ในปี ค.ศ. 2008 Kempa et al. ได้รายงานว่า เมื่อ *Arabidopsis thaliana* ได้รับความเครียดจากเกลือในระดับที่สูงขึ้น ตรวจพบว่าพืชมีการสะสมปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Kaplan et al. (2004) ที่พบว่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นถึง 40 องศาเซลเซียส พืชมีการสะสมน้ำตาลทรีฮาโลสเพิ่มขึ้นสองเท่าภายใน 4 ชั่วโมงและมีการสะสมเพิ่มสูงถึงแปดเท่าเมื่อพืชได้รับอุณหภูมิเย็นจัดที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน นอกจากนี้ งานวิจัยของ Gechev et al. (2012) ที่ศึกษากลไกการตอบสนองของ *Myrothamnus flabellifolius* ในระดับโมเลกุล ผลการทดลองพบว่า พืชมีการสะสมน้ำตาลทรีฮาโลส ในปริมาณที่สูงขึ้นเมื่อพืชได้รับสภาพเครียดจากการขาดน้ำ จากข้อมูลข้างต้นชี้ให้เห็นว่า หากพืชมีการสังเคราะห์และสะสมน้ำตาลทรีฮาโลสในปริมาณที่สูงขึ้น พืชจะมีความทนทานต่อสภาพเครียดได้นานมากขึ้น (Bae et al., 2005) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของน้ำตาลทรีฮาโลส โดยการทำ overexpression ของยีน *OsTPS1* ในข้าว เพื่อศึกษาความทนทานต่อสภาพ

เครียดที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิตของข้าว (Li et al., 2011) จากผลการศึกษาพบว่า การทำ overexpression ของยีน *OsTPS1* ช่วยเพิ่มความทนทานต่อสภาพเครียดที่เกิดจากการขาดน้ำ สภาพเครียดที่เกิดจากอุณหภูมิต่ำ และสภาพเครียดเกลือ ข้าวมีการสะสมน้ำตาลทรีฮาโลส และโพรลีน เพิ่มขึ้นกว่าพันธุ์ปกติ ซึ่งชี้ให้เห็นว่ายีน *OsTPS1* อาจช่วยเพิ่มความทนทานต่อความเครียดที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิตได้ นอกจากนี้ Avonce et al. (2004) พบว่า เมื่อทำ overexpression ของยีน *AtTPS1* ใน *Arabidopsis thaliana* ภายใต้สภาพเครียดจากการขาดน้ำ พืชมีการสะสมน้ำตาลทรีฮาโลสเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่สามารถทนต่อสภาพเครียดจากการขาดน้ำได้ และลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่มีการเปลี่ยนแปลง เช่นเดียวกับการศึกษาในยีน *AtTPS1* ในต้น *Arabidopsis* ภายใต้สภาพเครียดที่เกิดจากอุณหภูมิต่ำ พบว่า ต้นพืชมีการสะสมน้ำตาลทรีฮาโลสเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยแต่ยังสามารถทนต่อสภาพเครียดได้เช่นเดียวกัน (Suzuki et al., 2008)

สำหรับกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส (ภาพที่ 1) มีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์ Trehalose-6-Phosphate Synthase (TPS) เป็นเอนไซม์ที่รวมน้ำตาลตั้งต้น UDP-glucose และ glucose-6-phosphate เข้าด้วยกันและสร้างสารสื่อกลาง Trehalose-6-Phosphate (T6P) (Blazquez et al., 1998; Zentella et al., 1999) จากนั้นเอนไซม์ Trehalose-6-Phosphate Phosphatase (TPP) จะเปลี่ยนสารสื่อกลาง Trehalose-6-Phosphate (T6P) ไปเป็นน้ำตาลทรีฮาโลส (Vogel et al., 1998)



ภาพที่ 1 กระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส (Zhou et al., 2014)

ในปี ค.ศ. 2014 Zhou et al. ได้มีการวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลสในข้าวโพด และรายงานว่ ในจีโนมของข้าวโพดมีการระบุยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลสได้ทั้งหมด 37 ยีน ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มหลัก ได้แก่

1. ยีนในกลุ่ม *Trehalose-6-phosphate synthase (TPS)* มีจำนวน 15 ยีน ได้แก่ ยีน *ZmTPS1 - ZmTPS15* ทั้ง 15 ยีนกระจายอยู่บนโครโมโซมที่ 1 ถึง 8 ยีนในกลุ่มนี้มีหน้าที่สำคัญในการเร่งปฏิกิริยาการสร้างสารตั้งต้นของน้ำตาลทรีฮาโลส คือ Trehalose-6-phosphate (T6P) จาก UDP-glucose และ glucose-6-phosphate ปฏิกิริยานี้เป็นขั้นตอนแรกและจำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส (ดังแสดงภาพที่ 1) ซึ่ง T6P นอกจากจะเป็นสารตั้งต้นของน้ำตาลทรีฮาโลสแล้ว ยังมีบทบาทสำคัญในการส่งสัญญาณภายในเซลล์พืชอีกด้วย ในการศึกษานี้ได้นำไพรเมอร์คู่หนึ่งจากงานวิจัยที่ถูกเผยแพร่โดย Lowantha and Hannok (2022) มาใช้ตรวจสอบการแสดงออกของยีน ไพรเมอร์คู่นี้มีชื่อว่า *PH_ZmTPS1-1* ไพรเมอร์คู่นี้มีความจำเพาะต่อยีน *TPS1* และได้รับการออกแบบจากโครโมโซมของข้าวโพด พบอยู่บนโครโมโซมที่ 8 ซึ่งจับกับบริเวณเอ็กซอนที่ 3 ถึง 5 ของยีน *TPS1* ให้ชิ้นส่วนขนาด 370 คู่เบส

2. ยีนกลุ่ม *TPP (Trehalose-6-phosphate phosphatase)* ซึ่งพบจำนวน 12 ยีนในข้าวโพด ได้แก่ ยีน *ZmTPP1 - ZmTPP12* พบอยู่บนโครโมโซมที่ 1, 2, 4, 5, 7 และ 9 ทำหน้าที่แปลง T6P ให้เป็นน้ำตาลทรีฮาโลส โดยการกำจัดหมู่ฟอสเฟตออกจากโมเลกุล T6P ดังแสดงขั้นตอนในภาพที่ 1 ขั้นตอนนี้เป็นกุญแจสำคัญที่นำไปสู่การสร้างน้ำตาลทรีฮาโลส ซึ่งเป็นน้ำตาลทรีฮาโลสที่มีความสามารถในการปกป้องเซลล์และโครงสร้างชีวโมเลกุลต่าง ๆ ภายใต้สภาวะเครียด เช่น รักษาเสถียรภาพของโปรตีน เยื่อหุ้มเซลล์ และเอนไซม์ต่าง ๆ ภายในเซลล์ ส่วน

3. ยีนกลุ่ม *TRE (Trehalase)* จำนวน 1 ยีน พบอยู่บนโครโมโซมที่ 1 มีหน้าที่สลายน้ำตาลทรีฮาโลส ให้กลายเป็นกลูโคส 2 โมเลกุล เป็นการควบคุมระดับน้ำตาลทรีฮาโลสในเซลล์ไม่ให้สะสมมากเกินไป ซึ่งอาจรบกวน เมแทบอลิซึมปกติของพืชได้ การทำงานของ TRE จึงเปรียบเสมือนกลไกการรักษาสมดุลภายในระบบการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส

4. ยีนกลุ่ม *HXK (Hexokinase)* จำนวน 9 ยีน ได้แก่ ยีน *ZmHXK1 - ZmHXK9* พบอยู่บนโครโมโซมที่ 3, 6 และ 8 ซึ่งแม้ไม่ได้เกี่ยวข้องโดยตรงกับกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส

แต่ทำหน้าที่สำคัญในการควบคุมกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลโดยรวมในพืช โดยเร่งการเปลี่ยน glucose เป็น glucose-6-phosphate ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในเส้นทาง TPS นั้นเอง ยีน HXK ยังทำหน้าที่สำคัญในการรับรู้และตอบสนองต่อสัญญาณของน้ำตาลภายในเซลล์พืชอีกด้วย กล่าวคือ ยีน HXK ไม่ได้เป็นเพียงแค่เอนไซม์ที่ใช้อย่างน้ำตาลเท่านั้น แต่ยังทำหน้าที่เสมือนตัวจับสัญญาณ และส่งสัญญาณต่อไปยังยีนอื่น ๆ ให้แสดงออกหรือหยุดทำงานตามความจำเป็น โดยเฉพาะในสภาวะที่พืชอยู่ภายใต้ความเครียด

ทั้งนี้ ยีนในแต่ละกลุ่มยังมีลักษณะการแสดงออกอย่างจำเพาะต่อเนื้อเยื่อ เช่น ราก ใบ หรือ ลำต้น และมีการตอบสนองเฉพาะต่อชนิดของความเครียด เช่น ความเค็ม ความแห้งแล้ง หรือการกระตุ้นด้วยฮอร์โมน แสดงให้เห็นถึงกลไกการควบคุมระดับโมเลกุลที่ซับซ้อนของกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลสในข้าวโพด ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการดำรงชีวิตและการปรับตัวของพืชภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ มีการตรวจสอบรูปแบบการแสดงออกของยีนแต่ละกลุ่มภายใต้สภาวะเครียดต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเครียดจากเกลือ (NaCl 50 mM) ความแห้งแล้ง พบว่า ยีนบางกลุ่มมีการแสดงออกเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนภายใต้สภาพเครียดเหล่านี้ เช่น ยีน *ZmTPS14*, *ZmTPP4*, *ZmTPP8*, *ZmTPP11*, และ *ZmTRE1.1* มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อได้รับความเครียดจากเกลือ ในขณะที่ *ZmTPS3*, *ZmTPP8*, และ *ZmTRE1.1* แสดงออกเพิ่มขึ้นภายใต้สภาวะแห้งแล้ง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ยีนเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการควบคุมกลไกการปรับตัวของข้าวโพดต่อสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ผลจากงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นถึงบทบาทของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลสในข้าวโพด และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีความสามารถในการทนเครียดสูงขึ้นในอนาคต

สภาวะเครียดจากการขาดน้ำและสภาวะเครียดจากแรงดันออสโมติก

สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำ (water stress หรือ drought stress) คือ ภาวะที่พืชได้รับน้ำในปริมาณต่ำกว่าความต้องการ ปัญหานี้มักเกิดจากปัจจัยหลายประการร่วมกัน เช่น การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศที่ทำให้ฝนตกน้อยลงหรือไม่สม่ำเสมอ การระเหยน้ำมากกว่าการดูดซึมของราก สภาพดินที่มีความสามารถอุ้มน้ำต่ำ รวมถึงการจัดการน้ำในการเกษตรที่ไม่มีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะในด้านเกษตรกรรม ความเครียดจากการขาดน้ำส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อพืชเศรษฐกิจ

สำคัญ ซึ่งลดทั้งปริมาณผลผลิตและคุณภาพของเมล็ด (Farooq et al., 2009) แนวทางป้องกันภาวะนี้ในระดับพื้นที่อาจทำได้ผ่านการจัดการน้ำอย่างมีประสิทธิภาพ และอีกหนึ่งทาง คือ การปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้ง ดังนั้น การศึกษาทดลองพืชภายใต้สภาวะขาดน้ำจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยช่วยให้นักวิจัยเข้าใจกระบวนการตอบสนองของพืชต่อความเครียดในระดับสรีรวิทยา ซึ่งเป็นพื้นฐานสำคัญสำหรับการพัฒนาพันธุ์พืชใหม่ที่ทนต่อสภาวะแห้งแล้งได้ดียิ่งขึ้น

การทดสอบความเครียดจากการขาดน้ำสามารถทำได้โดยการควบคุมปริมาณน้ำในดิน หรือการใช้สารเคมีที่จำลองการขาดน้ำ เช่น polyethylene glycol (PEG) เป็นสารละลายที่สร้างแรงดันออสโมติก เนื่องจากสารละลายมีน้ำหนักโมเลกุลสูงไม่สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ของรากพืชได้ สามารถจำลองสถานการณ์ที่พืชประสบกับสภาวะขาดน้ำในสภาพจริงได้ (Michel & Kaufmann, 1973) อย่างไรก็ตาม การทดสอบในสภาพแวดล้อมจริงมักมีข้อจำกัดไม่สามารถควบคุมระดับความเครียดให้สม่ำเสมอได้ และยังมีปัจจัยแวดล้อมอื่นที่อาจส่งผลต่อความแม่นยำในการทดสอบ เช่น

1. ความแปรปรวนของสภาพแวดล้อม เกี่ยวข้องกับปัจจัยด้านอุณหภูมิ ความชื้นในอากาศ ปริมาณแสง ฝน ละมในแปลงปลูกมีความผันแปรตลอดเวลา ทำให้ยากต่อการควบคุมให้แต่ละแปลงได้รับความเครียดในระดับที่เท่าเทียมกัน
2. ความแปรปรวนของการควบคุมระดับความเครียด เช่น การจำกัดน้ำในแปลงปลูกไม่สามารถควบคุมระดับความรุนแรงของความเครียดได้อย่างแม่นยำ เช่น ความลึกของน้ำใต้ดิน การไหลของน้ำจากบริเวณใกล้เคียงอาจส่งผลให้พืชบางต้นได้รับน้ำมากกว่าที่คาด
3. ความแปรปรวนจากคุณสมบัติของดิน เช่น ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความพรุน และ ความลึกมีผลต่อการกักเก็บน้ำและการแพร่กระจายของน้ำในดิน ซึ่งอาจทำให้ผลการทดสอบไม่สม่ำเสมอ
4. ความแปรปรวนจากการทดลองระดับแปลงต้องใช้พื้นที่ขนาดใหญ่ อุปกรณ์ควบคุมและการตรวจวัดจำนวนมาก รวมถึงแรงงานและเวลาในการดำเนินการ ซึ่งมีต้นทุนสูงและมีความยุ่งยากในการจัดการ
5. ความแปรปรวนจากการจำกัดน้ำในแปลงปลูกต้องใช้เวลาานานจึงจะเห็นผลชัดเจน ซึ่งอาจไม่สอดคล้องกับช่วงการเจริญเติบโตที่สำคัญของพืชหรืออาจพลาดช่วงเวลาสำคัญในการเก็บข้อมูล

ด้วยข้อจำกัดเหล่านี้ การใช้วิธีการชักนำความเครียด โดยใช้สาร PEG ในการสร้างแรงดันออสโมติก เพื่อจำลองสภาวะขาดน้ำจึงสามารถควบคุมระดับความเครียดได้ ทำซ้ำได้ง่าย และลดความแปรปรวนของข้อมูลในการศึกษาได้ดีกว่า (Verslues et al., 2006) อีกทั้งวิธีการดังกล่าวยังลด

ผลกระทบขององค์ประกอบทางแร่ธาตุในดินหรือการซึมผ่านของน้ำในรากพืชโดยตรง ซึ่งทำให้สามารถแยกวิเคราะห์ผลกระทบของความเครียดที่แท้จริงได้ดีขึ้น

การเหนี่ยวนำสภาพเครียดออสโมติกในระดับห้องปฏิบัติการ

สำหรับการสร้างแรงดันออสโมติก เพื่อจำลองสภาวะขาดน้ำนั้น กระทำได้โดยใช้สาร polyethylene glycol (PEG) โดยสาร PEG เป็นสารโพลิเมอร์ชนิดหนึ่ง ที่ละลายน้ำได้ดี (hydrophilic) มีน้ำหนักโมเลกุลที่หลากหลาย อยู่ในช่วง 200 – 10,000 ซึ่งสาร PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 4,000 ขึ้นไป จัดว่าเป็นสาร PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งไม่สามารถแทรกซึมผ่านผนังเซลล์ของรากพืชได้ สาร PEG มีคุณสมบัติเป็นสาร osmotic agent หรือ osmoticum กล่าวคือ เป็นสารที่ทำให้สารละลายมีแรงดันออสโมติกเพิ่มขึ้น เมื่อรากพืชถูกแช่อยู่ในสารละลาย PEG สาร PEG จะลดค่าศักย์น้ำของสารละลาย ทำให้สามารถจำลองสภาวะแห้งแล้งให้แก่พืชทดสอบได้ และเมื่อพืชถูกชักนำให้เกิดสภาพเครียดจากแรงดันออสโมติกแล้ว พืชมีการตอบสนองโดยการปรับค่าศักย์ออสโมติก (osmotic potential) ของรากลง เพื่อรักษาแรงดันเต่ง (turgor pressure) ภายในเซลล์ เป็นการป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์รากและรักษาโครงสร้างของเซลล์ไม่ให้เสียสภาพ อย่างไรก็ตามพืชแต่ละชนิดในใบมีการตอบสนองที่แตกต่างกันไป

มีงานวิจัยหลายชิ้นที่นำวิธีนี้มาใช้ในการประเมินลักษณะทนแล้งของพืชในระดับต้นกล้า ตัวอย่างเช่น Khayatnezhad et al. (2010), Raj et al. (2020) และ Mustamu et al. (2023) รายงานการใช้ PEG ในการประเมินความทนแล้งของข้าวโพดในระดับต้นกล้า โดยตรวจสอบลักษณะต่าง ๆ เช่น อัตราการงอก ความยาวของรากและลำต้น และน้ำหนักแห้ง ซึ่งพบว่า สาร PEG สามารถช่วยจำแนกความแตกต่างของสายพันธุ์ข้าวโพดภายใต้ความเครียดจากน้ำได้อย่างชัดเจน คล้ายกับที่ Bhargava and Bruce Paranjpe (2004), Bibi et al. (2012) และ Tsago et al. (2014) รายงานการใช้สาร PEG ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อสร้างภาวะขาดน้ำและประเมินการตอบสนองของต้นกล้าข้าวฟ่าง รวมถึงข้าวสาลี ที่พบรายงานของ Bayoumi et al. (2008), Ye et al. (2013) และ Altaf et al. (2021) ที่แสดงให้เห็นว่า การจำลองสภาพแห้งแล้งด้วยสาร PEG สามารถช่วยประเมินลักษณะทางสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับความทนแล้งได้ เช่น อัตราการคายน้ำ และการสะสมของสารต้านอนุมูลอิสระได้

จากรายงานข้างต้นจะเห็นได้ว่า การใช้ PEG ในการจำลองความเครียดจากการขาดน้ำเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ สะดวก และสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ที่มีความทนแล้งได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า ซึ่งมีประโยชน์อย่างยิ่งต่องานปรับปรุงพันธุ์พืชที่มีพื้นที่และข้อจำกัดด้านการควบคุมความแปรปรวนของสิ่งแวดล้อมภายนอก

การคัดเลือกจีโนไทป์ในระยะต้นกล้า

กระบวนการคัดเลือกแบบดั้งเดิมอาศัยการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยา และผลผลิตในสภาพไร่ ซึ่งมีข้อจำกัดหลายประการ ทั้งในด้านเวลา ทรัพยากร และความแม่นยำของวิธีการประเมินในระบบการคัดเลือกแบบดั้งเดิม จำเป็นต้องปลูกจีโนไทป์จำนวนมากภายใต้สภาพแล้ง เพื่อประเมินการตอบสนองต่อสภาพเครียดน้ำ ความแปรปรวนของสภาพอากาศ มีผลโดยตรงต่อการดำเนินการทดสอบจีโนไทป์ สิ่งเหล่านี้ถือเป็นอุปสรรคในขั้นตอนการคัดเลือกของการปรับปรุงพันธุ์ ดังนั้น การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดในระยะต้นกล้าที่อยู่ภายใต้การจำลองสภาพเครียดน้ำ จึงเป็นวิธีที่ให้ประสิทธิผลเป็นอย่างมาก ช่วยประหยัดเวลา แรงงาน และพื้นที่ในการทดสอบรวมถึงมีการจัดการที่สะดวกขึ้น สามารถจัดการสายพันธุ์พืชในปริมาณที่มากได้

นอกจากนี้ การคัดเลือกจีโนไทป์ในระยะต้นกล้า ยังสามารถใช้ร่วมกับเทคโนโลยีสมัยใหม่ เช่น การใช้เครื่องหมายโมเลกุล (Marker-assisted selection) เพื่อช่วยให้การคัดเลือกสายพันธุ์มีความแม่นยำและรวดเร็วยิ่งขึ้น (Collard and Mackill, 2008)

จากรายงานของ Badr et al. (2020) ที่ศึกษาวิธีการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 40 พันธุ์ในระยะงอกและต้นกล้าภายใต้สภาวะภัยแล้งจำลอง และได้รายงานว่า การคัดเลือกลักษณะน้ำหนักของส่วนเหนือรากและลักษณะน้ำหนักของราก มีประสิทธิภาพในการคัดเลือกจีโนไทป์ในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพเครียดจากการขาดน้ำได้ กล่าวคือ ความเครียดที่เกิดจากการขาดน้ำส่งผลโดยตรงต่อลักษณะของรากและยังกระทบต่อลักษณะต้นกล้าทั้งหมด การเจริญเติบโตของต้นกล้าลดลงอันเป็นผลจากการแบ่งเซลล์และการขยายตัวที่จำกัด เนื่องจากความเครียดจากภัยแล้ง อย่างไรก็ตาม รายงานดังกล่าวพบว่า การเจริญเติบโตของพืชและปริมาณของรากมีความสัมพันธ์เชิงบวก ซึ่งทั้งสองลักษณะนี้สามารถช่วยปรับปรุงความทนทานต่อความเครียดได้ดี ดังนั้น การเลือกสองลักษณะดังกล่าวมีประสิทธิภาพสำหรับการคัดเลือกจีโนไทป์ในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพเครียดจากการขาดน้ำ

นอกจากนี้ Sabir and Ashraf (2007) ได้ใช้วิธีการคัดเลือกในระยะต้นกล้าเช่นกัน โดยศึกษาการคัดเลือกในระยะต้นกล้าของข้าวฟ่างไม้กวาด (sorghum) โดยมุ่งเน้นไปที่ความทนเค็มในระยะเริ่มต้นของการเจริญเติบโต ซึ่งพบว่าสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดเบื้องต้นสำหรับคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับพื้นที่ดินเค็มได้ ขณะที่ Kimbeng and Cox (2003) รายงานผลการศึกษาการใช้ลักษณะต้นกล้าของอ้อยเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงเช่นกัน โดยพบว่า การวัดความสูงต้นกล้าและอัตราการเจริญเติบโตในระยะต้นสามารถทำนายแนวโน้มของผลผลิตได้อย่างแม่นยำ คล้ายกันกับผลการศึกษาของ Chandrasekhar et al. (2007) ที่ได้ทดลองคัดเลือกยางพาราในระยะต้นกล้าโดยประเมินลักษณะการเติบโตในเรือนเพาะชำ ซึ่งใช้เป็นเกณฑ์เริ่มต้นในการคัดเลือกลำต้นที่แข็งแรงสำหรับนำไปปลูกในแปลงถาวร และในส่วนของ Huang et al. (2013) ได้ศึกษาการคัดเลือกลำต้นยาสูบในระยะต้นกล้าเพื่อหาสายพันธุ์ที่ต้านทานโรค โดยใช้การทดสอบภายใต้สภาพเรือนเพาะชำที่ควบคุมสภาวะการติดเชื้อ ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงและต้นทุนในการทดสอบภาคสนาม เช่นเดียวกับ Ahmed et al. (2019) ศึกษาการคัดเลือกพันธุ์ข้าวสาลีชนิดทำขนมปัง (bread wheat) ภายใต้สภาพความเครียดจากความแห้งแล้งในระยะต้นกล้า และพบว่า สามารถระบุสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการทนแล้งได้ตั้งแต่ต้น ซึ่งช่วยลดระยะเวลาการทดลองในสภาพแปลงปลูกได้จริง อีกทั้ง Olanmi and Kyallo (2021) รายงานการคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังในระยะต้นกล้าเพื่อหาสายพันธุ์ที่เจริญเติบโตดีภายใต้สภาพแล้ง โดยใช้ตัวชี้วัดทางสรีรวิทยา เช่น ความยาวรากและปริมาณน้ำในต้นกล้า ซึ่งมีความสัมพันธ์กับผลผลิตในระยะเจริญพันธุ์ จากงานวิจัยเหล่านี้สะท้อนให้เห็นว่าการคัดเลือกในระยะต้นกล้า ไม่เพียงช่วยลดระยะเวลาและทรัพยากรในการคัดเลือกเท่านั้น แต่ยังสามารถใช้เป็นวิธีเบื้องต้นที่มีประสิทธิภาพในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์พืชชนิดต่าง ๆ ได้อย่างกว้างขวาง และเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยให้การปรับปรุงพันธุ์พืชมีความรวดเร็ว แม่นยำ และประหยัดต้นทุน โดยเฉพาะเมื่อนำมาใช้ร่วมกับเครื่องหมายโมเลกุล

ลักษณะทนแล้งที่ถ่ายทอดได้ทางพันธุกรรม

การศึกษากายถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม (heritability) ของลักษณะทนแล้ง มีบทบาทสำคัญต่อประสิทธิภาพของการคัดเลือก กล่าวคือ หากคัดเลือกลักษณะทางพันธุกรรมที่มีค่าความสามารถในการถ่ายทอดสูง จะส่งผลให้รุ่นลูกแสดงลักษณะฟีโนไทป์ที่ต้องการได้ในระดับที่สูง ลักษณะที่ส่งเสริมความทนแล้งสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ในระดับที่แตกต่างกัน

การแสดงออกของลักษณะฟีโนไทป์เป็นผลมาจากอิทธิพลของพันธุกรรม (genotype) อิทธิพลของสภาพแวดล้อม (environment) และอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม

(genotype x environment) การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม (genetic inheritance) ที่ส่งไปยังประชากรอีกรุ่นหนึ่งจะแสดงออกได้มากหรือน้อยมากขึ้นกับ ลักษณะนั้นมีผลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องมากน้อยเพียงใด หากลักษณะฟีโนไทป์ที่แสดงออกได้รับอิทธิพลทางพันธุกรรมสูงกว่าอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม ลักษณะนั้นมักมีความคงตัวและถูกคัดเลือกได้ง่าย การประเมินอัตราทางพันธุกรรมจำแนกเป็น 2 แบบ ได้แก่ ค่าอัตราทางพันธุกรรมแบบกว้าง และค่าอัตราทางพันธุกรรมแบบแคบ

ค่าอัตราทางพันธุกรรมแบบกว้าง (broad sense heritability; H^2) คือ สัดส่วนของความแปรปรวนของลักษณะฟีโนไทป์ที่สามารถอธิบายได้ด้วยความแปรปรวนทางพันธุกรรมรวม ซึ่งหมายถึงรวมถึงอิทธิพลจากผลยีนแบบบวกสะสม (additive) ผลของยีนเด่น (dominance) และผลของปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างยีน (epistasis) ดังสมการนี้

$$H^2 = \frac{V_G}{V_P}$$

โดยที่ V_G คือ genetic variance หรือ ค่าความแปรปรวนของทางพันธุกรรมรวมของประชากรนั้น ๆ และ V_P (phenotypic variance) คือ ค่าความแปรปรวนของลักษณะฟีโนไทป์ ซึ่งเกิดจากผลรวมของค่าความแปรปรวนทางพันธุกรรม (V_G) และ ค่าความแปรปรวนจากสภาพแวดล้อม (V_E) หรือเขียนได้ว่า $V_P = V_G + V_E$ สำหรับค่าความแปรปรวนทางพันธุกรรม (V_G) มีองค์ประกอบย่อยได้แก่ 1) ความแปรปรวนจากยีนแบบบวกสะสม (Additive genetic variance; V_A) ซึ่งเป็นผลรวมของอิทธิพลจากยีนแต่ละตำแหน่งและสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้โดยตรง และ 2) ความแปรปรวนจากยีนที่มีการข่มกัน (Dominance genetic variance; V_D) ซึ่งเกิดจากการที่ยีนหนึ่งข่มการแสดงออกของอีกยีนในคู่เดียวกัน และในบางกรณีอาจรวมถึงความแปรปรวนจากการปฏิสัมพันธ์ของยีนต่างตำแหน่ง (Epistatic variance: V_I) กันอีกด้วย

ส่วนค่าอัตราทางพันธุกรรมแบบแคบ (narrow sense heritability: h^2) มีความสำคัญอย่างยิ่งในงานปรับปรุงพันธุ์ สามารถใช้พยากรณ์ความก้าวหน้าทางพันธุกรรม (genetic gain) ได้ ซึ่งในกรณีนี้เป็นการบอกสัดส่วนของความแปรปรวนที่เกิดจากการแสดงออกของยีนแบบบวกสะสม (additive variance) สามารถหาได้จากสมการ ดังนี้

$$h^2 = \frac{V_A}{V_P}$$

โดยที่ V_A หรือ Additive variance คือ ค่าความแปรปรวนของยีนแบบบวกสะสม เป็นลักษณะที่เกิดจากอิทธิพลของยีนที่ส่งต่อจากพ่อแม่สู่ลูก และ ค่าความแปรปรวนของฟีโนไทป์ทั้งหมด (V_P)

นอกจากนี้ ยังพบรายงานการศึกษาที่เน้นเรื่องการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ซึ่งเกี่ยวข้องกับความสามารถในการทนแล้ง โดย Amin et al. (2014) ได้ดำเนินการทดลองเพื่อประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ภายใต้สภาวะขาดน้ำ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมเพื่อแยกระหว่างอิทธิพลของพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมต่อการแสดงออกของลักษณะสำคัญต่าง ๆ เช่น ความยาวของราก ความสูงของต้น จำนวนแถวในฝัก และน้ำหนักเมล็ดต่อฝัก ผลการศึกษาพบว่า ลักษณะหลายประการที่เกี่ยวข้องกับความความสามารถในการทนแล้ง เช่น ความยาวราก และจำนวนเมล็ดต่อฝัก มีค่าความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมอยู่ในระดับปานกลางถึงสูง แสดงให้เห็นว่า ลักษณะเหล่านี้ได้รับอิทธิพลจากพันธุกรรมในระดับที่สามารถตอบสนองต่อการคัดเลือกได้

การประเมินความสามารถในการรวมตัวของลักษณะทนแล้ง

การประเมินความสามารถในการรวมตัว มีประโยชน์ต่อการเพิ่มผลผลิต ปรับปรุงคุณภาพ และการคัดเลือกพันธุ์ ความสามารถในการรวมตัวจำแนกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ 1) ความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (general combining ability; GCA) ซึ่งหมายถึงค่าของลักษณะที่แสดงออก ที่วัดจากค่าเฉลี่ยของลูกผสมของสายพันธุ์นั้นกับสายพันธุ์อื่นหลาย ๆ สายพันธุ์ ซึ่งเกิดจากผลของยีนแบบบวก (additive gene effect) และ 2) ความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะ (specific combining ability; SCA) ซึ่งหมายถึง ค่าเบี่ยงเบนของลักษณะในลูกผสมของแต่ละคู่ผสมที่แตกต่างจากค่าเฉลี่ยของลูกผสมทั้งหมด ซึ่งเกิดจากผลของปฏิสัมพันธ์ของยีนที่อาจอยู่ภายในโลคัสเดียวกัน หรือต่างโลคัสกัน (non-additive gene effect) (Sprague and Tatum, 1942)

การประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (General Combining Ability; GCA) สามารถทำได้ โดยการคำนวณจากค่าความเบี่ยงเบนของค่าเฉลี่ยของลูกผสม (F1) ที่ได้จากสายพันธุ์แท้เดียวกัน เมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยของประชากรลูกผสมทั้งหมด ค่าความเบี่ยงเบนนี้สะท้อนให้เห็นถึงศักยภาพของสายพันธุ์นั้นในการถ่ายทอดลักษณะที่ดีไปยังรุ่นลูก ซึ่งความแตกต่างของค่า GCA

ระหว่างสายพันธุ์ต่าง ๆ มีสาเหตุมาจากผลของยีนที่มีอิทธิพลแบบบวกสะสม (additive gene effect) และอาจรวมถึงอิทธิพลจากการทำงานร่วมกันระหว่างยีนแบบบวกสะสมจากทั้งสองฝ่าย (additive x additive interaction) ทำให้มีลักษณะดีเด่นชัดยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้บางสายพันธุ์แสดงลักษณะดีได้อย่างสม่ำเสมอในรุ่นลูก ในขณะที่ความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะ (specific combining Ability; SCA) แสดงถึงการเบี่ยงเบนของผลลัพธ์ที่ได้จากลูกผสมแต่ละคู่ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่คาดว่าจะได้จากผลรวมของ GCA ของสายพันธุ์พ่อและสายพันธุ์แม่ของลูกผสมนั้น กล่าวคือ ค่า SCA บ่งชี้ถึงผลของการผสมเฉพาะคู่ที่ไม่สามารถอธิบายได้ด้วยค่า GCA เพียงอย่างเดียว การเบี่ยงเบนนี้ส่วนใหญ่เกิดจากยีนแบบไม่บวกสะสม เช่น dominance, overdominance หรือ epistasis ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของ non-additive gene effect การแสดงออกทางฟีโนไทป์ในลูกผสม ถูกอธิบายโดย Gardner and Eberhart (1966) ดังสมการนี้

$$Y_{ij} = \mu_c + G_i + G_j + S_{ij}$$

โดยค่า Y_{ij} คือ ค่าเฉลี่ยของลักษณะฟีโนไทป์ระหว่างคู่ผสมของสายพันธุ์พ่อ (i) และสายพันธุ์แม่ (j), μ_c คือ ค่าเฉลี่ยลักษณะฟีโนไทป์ของกลุ่มผสมทั้งหมด G_i และ G_j คือค่า GCA ของสายพันธุ์พ่อ (i) และสายพันธุ์แม่ (j) และในส่วนของ S_{ij} คือ ค่า SCA ของคู่ผสมที่ได้จากพ่อและแม่ในแต่ละคู่

การทดสอบความสามารถในการรวมตัวเป็นการนำคู่ผสม (cross) ที่ได้จากการผสมระหว่างสายพันธุ์มาปลูกทดสอบในแปลง จากนั้นบันทึกลักษณะฟีโนไทป์ของกลุ่มผสมและนำมาประเมินความสามารถในการรวมตัวทั่วไปของสายพันธุ์พ่อแม่ การทดสอบความสามารถในการผสม สามารถทดสอบโดยใช้แผนการผสม (mating design) ในแบบที่แตกต่างกันออกไป ได้แก่ Biparental progenies, Polycross Designs, Top-cross, North Carolina Mating Designs (I, III, III), Diallel (I, II, III, IV) และ Line X Tester Design เป็นต้น จากการศึกษาความสามารถในการรวมตัวของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อลักษณะผลผลิตและลักษณะทุติยภูมิ (secondary traits) ภายใต้สภาพแล้งของ Derera et al. (2008) ที่ได้ทำการทดสอบโดยใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 27 สายพันธุ์ โดยใช้แผนการผสมแบบ North Carolina design II จากการประเมินพบว่า มีเพียงผลของ GCA เท่านั้นที่มีนัยสำคัญทางสถิติต่อลักษณะผลผลิตเมื่ออยู่ภายใต้สภาพแล้ง ซึ่งชี้ให้เห็นถึงผลของยีนแบบบวก (additive gene effect) ขณะที่ในสภาพปกติพบว่า ผลของทั้ง GCA และ SCA มีนัยสำคัญทางสถิติต่อลักษณะผลผลิต ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของผลของยีนแบบบวก (additive gene effect) และผลของยีนแบบไม่บวก (non-additive gene effect) ตามลำดับ ผลจากการผสมระหว่าง GCA_{Male} และ GCA_{Female} พบว่าลูกผสมที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับลักษณะและสภาพแวดล้อม ภายใต้สภาพแล้งพบว่า ค่าของ GCA_{Female}

มีลักษณะผลผลิตและระยะห่างระหว่างวันออกดอกตัวผู้และตัวเมียที่ดีกว่า GCA_{Male} ขณะที่ภายใต้สภาพปกติ กลับพบว่า GCA_{Male} มีอิทธิพลต่อลักษณะระยะห่างระหว่างวันออกดอกตัวผู้และตัวเมีย และวันออกดอกตัวเมียมากกว่า GCA_{Female} ซึ่งชี้ให้เห็นว่า จีโนไทป์ของสายพันธุ์พ่อมีบทบาทในการกำหนดลักษณะเหล่านี้ในสภาพปกติ นอกจากนี้ ยังมีรายงานอีกว่า การประเมินความสามารถในการรวมตัวของลักษณะทนแล้งนั้น ค่า GCA มีความสำคัญมากกว่าค่า SCA (Dhliwayo et al. 2009; Adebayo et al. 2015)

แผนการผสมแบบ Line x Tester

แผนการผสมแบบ Line x Tester เป็นการดัดแปลงจากแผนการผสมแบบ North Carolina Design II โดยการออกแบบการผสมพันธุ์แบบ Line x Tester จะใช้สายพันธุ์แท้ (inbred lines) เป็นประชากร โดยทำการสุ่มเลือกสายพันธุ์แท้ และกำหนดใช้เป็นพันธุ์พ่อ (male) เรียกว่า lines และผสมพันธุ์กับสายพันธุ์แท้อีกหนึ่งกลุ่มที่ถูกสุ่มใช้เป็นพันธุ์แม่ (female) เรียกว่า tester เพื่อสร้างประชากรลูกผสม (F_1) แผนการผสมพันธุ์นี้เป็นการให้พันธุ์พ่อทุกตัวผสมพันธุ์กับพันธุ์แม่ทั้งหมด (Comstock and Robinson, 1952; Le clerg, 1966) การออกแบบแผนการผสมนี้ใช้เพื่อประเมินความสามารถในการรวมตัวและการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของคู่ผสมและสายพันธุ์พ่อแม่

การศึกษาของ Abrha et al. (2013) รายงานถึงการใช้แผนการผสมแบบ Line x Tester เพื่อประเมินความสามารถในการรวมตัวของคู่ผสมและสายพันธุ์พ่อแม่ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สำหรับผลผลิตและลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต รวม 7 ลักษณะ และชี้ให้เห็นถึงอิทธิพลของยีนแบบบวกสะสมและอิทธิพลของยีนแบบไม่บวกสะสมในการควบคุมลักษณะเหล่านั้น คล้ายกันกับรายงานของ Elmyhum (2013) ที่ได้ประเมินความสามารถในการรวมตัวของสายพันธุ์ข้าวโพดโปรตีนคุณภาพ (Quality Protein Maiz; QPM) ซึ่งเป็นข้าวโพดที่ได้รับการปรับปรุงพันธุกรรมให้มีกรดอะมิโนที่จำเป็น ได้แก่ ไลซีน และ ทรีปโตเฟน ที่สูงกว่าข้าวโพดทั่วไป มีการใช้แผนการผสมแบบ Line x Tester โดยใช้สายพันธุ์แท้ของข้าวโพด QPM จำนวน 6 สายพันธุ์มาผสมกับสายพันธุ์ทดสอบ (testers) อีก 2 สายพันธุ์ จากนั้นนำลูกผสมที่ผลิตได้ไปปลูกทดสอบในแปลงทดลองร่วมกับพันธุ์มาตรฐานจำนวน 2 สายพันธุ์ ผลการทดลอง พบพันธุ์ที่มีความสามารถในการรวมตัวที่ดีและสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโพดที่มีผลผลิตสูง คู่ผสมบางคู่มีความดีเด่นเหนือสายพันธุ์พ่อแม่ ให้ผลผลิตต่อไร่สูงกว่าสายพันธุ์มาตรฐาน ถึงประมาณ 85 – 89% และยังมีลักษณะออกดอกเร็ว เหมาะกับพื้นที่หรือฤดูเพาะปลูกที่มีระยะเวลาจำกัด ขณะเดียวกัน Turgut (2003) Amin et al. (2014)

Bekele and Rao (2013) Mahesh et al. (2014) รายงานผลการใช้แผนการผสมแบบ Line x Tester ในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโพดในลักษณะที่คล้ายกัน จากข้อมูลที่กล่าวมาจึงเห็นได้ว่า การใช้แผนผสมพันธุ์แบบ Line x Tester มีประโยชน์ในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ รวมถึงช่วยระบุลูกผสมที่มีแนวโน้มให้ผลผลิตสูงและคุณภาพดี ซึ่งสามารถนำไปต่อยอดในการพัฒนาพันธุ์ได้ในอนาคต

ค่าดัชนีความทนทานต่อสภาพเครียด

ค่าดัชนีความทนทานต่อสภาพเครียด (Stress Tolerance Index; STI) เป็นดัชนีที่ใช้ในการประเมินความสามารถของจีโนไทป์ในการรักษาผลผลิตหรือคุณภาพของลักษณะทางการเกษตรภายใต้สภาพแวดล้อมที่มีความเครียด เช่น ความแห้งแล้ง ความเค็ม หรืออุณหภูมิสูง ดัชนี STI สามารถเปรียบเทียบศักยภาพของสายพันธุ์ได้ทั้งในสภาวะปกติและภายใต้ความเครียด ส่งผลให้สามารถระบุสายพันธุ์ที่มีเสถียรภาพในการให้ผลผลิตได้อย่างแม่นยำ ในด้านการปรับปรุงพันธุ์ ดัชนี STI มีประโยชน์ในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถให้ผลผลิตอย่างสม่ำเสมอภายใต้สภาพแวดล้อมที่จำกัด สมการค่าดัชนีความทนทานต่อสภาพเครียด ถูกอธิบายโดย Fernandez (1992) โดยแสดงสมการด้านล่างนี้

$$STI = \frac{\text{ผลผลิตของจีโนไทป์นั้นภายใต้สภาพเครียด} \times \text{ผลผลิตของจีโนไทป์นั้นภายใต้สภาพปกติ}}{(\text{ค่าเฉลี่ยของผลผลิตจากทุกจีโนไทป์ที่อยู่ภายใต้สภาพปกติ})^2}$$

งานวิจัยจำนวนมากนำดัชนีเหล่านี้มาใช้ในการระบุสายพันธุ์ที่สามารถให้ผลผลิตได้ดีทั้งในสภาพแวดล้อมปกติและภายใต้ความเครียด ในปี ค.ศ.2016 Barutcular et al. ได้ประเมินความสามารถในการให้ผลผลิตของข้าวโพดลูกผสมภายใต้ความเครียดจากการขาดน้ำ โดยใช้ดัชนี STI ผลพบว่า ดัชนี STI สามารถแยกกลุ่มสายพันธุ์ข้าวโพดที่ทนแล้งและให้ผลผลิตสูงได้อย่างชัดเจน โดยสายพันธุ์ที่มีค่า STI สูงให้ลักษณะผลผลิตดีทั้งในสภาพแวดล้อมปกติและในสภาพเครียด เช่นเดียวกับ Khatibi et al. (2022) ที่ใช้ดัชนี STI ในการประเมินลูกผสมข้าวโพดภายใต้สภาพเครียดจากการขาดน้ำ และพบว่าค่า STI มีความสัมพันธ์สูงกับผลผลิต ในสภาพการได้รับน้ำปกติและสภาพเครียดจากการขาดน้ำ งานวิจัยชิ้นนี้ชี้ให้เห็นว่า ดัชนี STI เป็นดัชนีที่เหมาะสมต่อการคัดเลือกจีโนไทป์ที่มีเสถียรภาพในการให้ผลผลิตภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน ในขณะที่ Arisandy et al. (2017) ศึกษาการ

ตอบสนองของข้าวโพดลูกผสมต่อความเครียดจากการขาดน้ำ โดยใช้ดัชนี STI ร่วมกับการวิเคราะห์ค่าทางสถิติเพื่อจัดกลุ่มสายพันธุ์ พบว่า ดัชนี STI สามารถช่วยจำแนกสายพันธุ์ที่ทนแล้ง และให้ผลผลิตสูงทั้งสองสภาพแวดล้อมได้อย่างแม่นยำ และสามารถใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์เบื้องต้นก่อนนำไปปลูกทดสอบในสภาพแปลงปลูกได้อย่างมีประสิทธิภาพ



บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 การผลิต F1 progenies

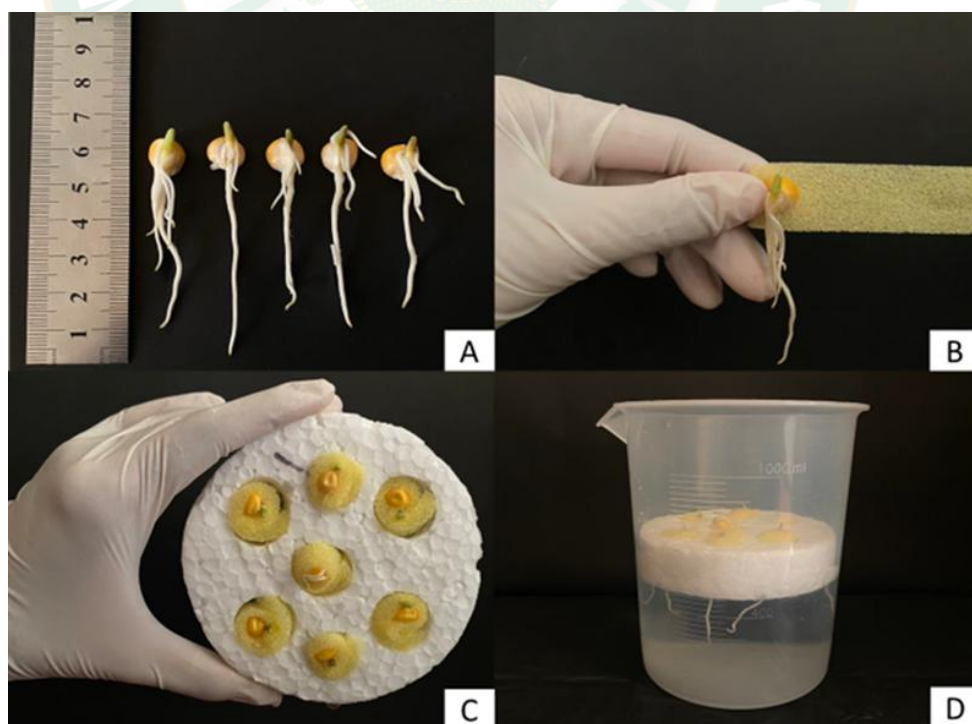
การทดลองที่ 1.1 การทดสอบหาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการตอบสนองต่อพืชภายใต้สภาพเครียดออสโมติก

นำเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ Kei1508 มาแช่น้ำสะอาดนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาเพาะใส่กระตวยเพาะ เมื่อรากงอกได้ประมาณ 4 - 6 เซนติเมตร จึงทำการย้ายปลูกเมล็ดข้าวโพดลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร โดยหุ้มเมล็ดด้วยฟองน้ำ และวางใส่ในแผ่นโฟมที่เจาะรูไว้ (ภาพที่ 2) เมื่อย้ายเมล็ดข้าวโพดลงในน้ำครบ 5 วัน (ภาพที่ 3) จึงนำให้สภาพเครียดออสโมติก โดยให้สารละลาย Polyethylene glycol-6000 (PEG-6000) (BASF Chemicals company; Germany) ที่ความเข้มข้น 250 กรัม/ลิตร แทนน้ำกลั่น กำหนดให้สารละลาย PEG-6000 ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง จากนั้นเก็บชิ้นส่วนของใบและรากของต้นกล้าข้าวโพด นำมาสกัดอาร์เอ็นเอ และทำการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีนด้วยวิธี RT-PCR ตามขั้นตอนที่อธิบายไว้ด้านล่าง เพื่อดูการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ภายใต้สภาพเครียดออสโมติกในแต่ละระยะเวลาที่กำหนด

การทดลองที่ 1.2 การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพด เพื่อนำมาใช้ในการผลิต F1 progenies

นำข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากประชากร Full-sib families จำนวน 45 สายพันธุ์ ที่ได้พัฒนาไว้ก่อนหน้านี้ และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ 17 สายพันธุ์ที่ถูกพิจารณาว่ามีความทนแล้งตามผลการจัดกลุ่มคลัสเตอร์ของ Hannok et al. (2023) มาทดสอบ โดยต้องการคัดเลือกจีโนไทป์ที่เหมาะสมมาเป็นพันธุ์พ่อและแม่ในการผลิต F1 progenies เริ่มจากปลูกทดสอบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้งหมดในระยะต้นกล้า ตามวิธีการของ Hannok et al. (2021) กล่าวคือ แช่เมล็ดข้าวโพดนาน 24 ชั่วโมง เมื่อรากงอกได้ประมาณ 4 - 6 เซนติเมตร ทำการหุ้มเมล็ดข้าวโพดด้วยฟองน้ำ และย้ายปลูกลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร เมื่อครบ 5 วัน ทำการชักนำให้เกิดสภาพเครียดออสโมติกด้วยสารละลาย Polyethylene glycol-6000 (PEG-6000) ที่ความเข้มข้น 250 กรัม/ลิตร เมื่อครบ 24 ชั่วโมง (ตามผลที่สรุปได้จากการทดลองที่ 1.1) จึงเก็บชิ้นส่วนใบและรากของต้นกล้า

ข้าวโพดหนัก 100 มิลลิกรัม เพื่อมาสกัดอาร์เอ็นเอ และทำการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีนด้วยวิธี RT-PCR ตามขั้นตอนที่อธิบายไว้ด้านล่าง เพื่อการแสดงผลของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ภายใต้เครือข่ายออสโมติกของแต่ละสายพันธุ์ เมื่อถ่ายภาพเจลด้วยเครื่อง Gel documentation (Syngene; United Kingdom) จึงนำภาพถ่ายมาวิเคราะห์ความเข้มของแถบดีเอ็นเอแบบสัมพัทธ์ (relative band intensity) จากทั้งส่วนใบและรากของต้นกล้าข้าวโพด ผ่านโปรแกรม ImageJ ที่ถูกพัฒนาโดยหน่วยงาน National Institutes of Health (NIH) ในประเทศสหรัฐอเมริกา (Abramoff *et al.*, 2004) จากนั้นคำนวณอัตราส่วนโดยนำค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอของส่วนรากหารด้วยค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอของส่วนใบ อัตราส่วนนี้ถูกใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกพ่อแม่สำหรับการผลิตลูกผสม โดยพิจารณาค่าอัตราส่วนความเข้มของแถบดีเอ็นเอระหว่างรากและใบของ Full-sib family ทั้งหมด 45 สายพันธุ์ จากนั้นเรียงลำดับค่าดังกล่าวจากสูงไปต่ำ คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีค่าสูงสุดในลำดับที่ 1 – 6 รวมถึงสายพันธุ์ที่มีค่าต่ำสุดในลำดับที่ 40 – 45 และสำหรับสายพันธุ์ที่ใช้หลักเกณฑ์เดียวกัน โดยเรียงลำดับค่าอัตราส่วนจากสูงไปต่ำ และคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีค่าสูงสุดในลำดับที่ 1 – 2 และสายพันธุ์ที่มีค่าต่ำสุดในลำดับที่ 16 – 17 ทั้งนี้กระบวนการคัดเลือกดังกล่าวมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้พ่อแม่พันธุ์สำหรับนำมาผลิตเมล็ดลูกผสมเพื่อใช้ทดสอบในขั้นตอนถัดไป



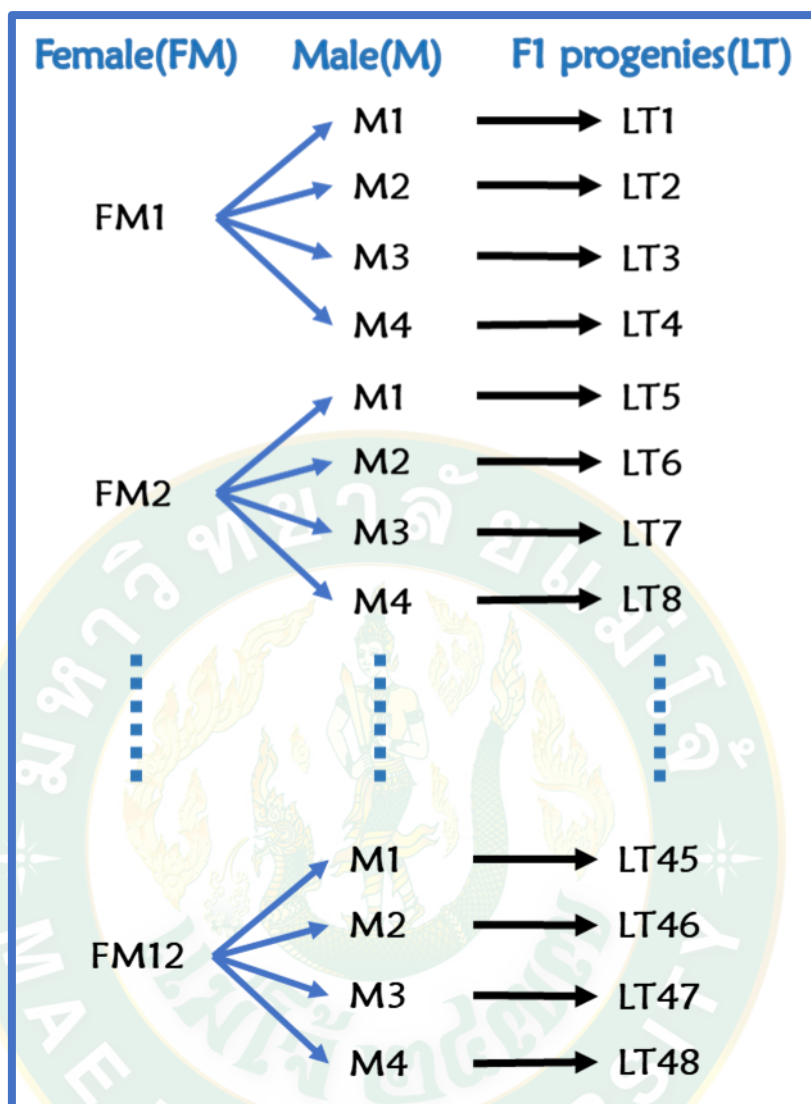
ภาพที่ 2 การเตรียมเมล็ดข้าวโพดสำหรับย้ายปลูกลงในปิกเกอร์



ภาพที่ 3 การปลูกทดสอบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในระยะต้นกล้า

การทดลองที่ 1.3 การผลิต F1 progenies เพื่อนำมาใช้ในการทดสอบ

นำข้าวโพดที่ผ่านการคัดเลือกจากการทดสอบในการทดลองที่ 1.2 มาผสมตามแผนการผสม Line $\times$ Tester (Kempthorne, 1957) ดังแสดงในภาพที่ 4 โดยใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จาก Full-sib family และข้าวโพดสายพันธุ์แท้ มาใช้เป็น Line และ Tester ตามลำดับ เมื่อผสมเข้ากันทั้งหมด จากนั้นจึงนำเมล็ดพันธุ์ของคู่ผสมไปปลูกทดสอบภายใต้สภาพเครือข่ายสถานีทดลองในระดับต้นกล้าต่อไป



ภาพที่ 4 แผนการผสมแบบ Line x Tester ที่ใช้ในการศึกษานี้

การทดลองที่ 2 การทดสอบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม F1 progenies ภายใต้สภาพ เครียดออสโมติก

วางแผนการทดลองแบบ Factorial ใน CRD จำนวน 2 ซ้ำ (1 หน่วยทดลองมี 5 ต้น) ปัจจัยที่ 1 คือ คู่ผสม จำนวน 48 คู่ผสม และปัจจัยที่ 2 คือ สภาพการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพด ได้แก่ 1) สภาพการเจริญเติบโตแบบปกติ หรือไม่ได้รับสภาพเครียดออสโมติก (WW) และ 2) สภาพการเจริญเติบโตแบบได้รับสภาพเครียดออสโมติก (OS) สำหรับวิธีการปลูกทดสอบต้นกล้าข้าวโพด และเหนี่ยวนำสภาพเครียดออสโมติก ใช้วิธีเดียวกันกับที่บรรยายไว้ก่อนหน้านี้ หลังจากชักนำให้เกิดความเครียดครบ 24 ชั่วโมง จึงทำการเก็บรากของต้นกล้าข้าวโพดเพื่อนำไปตรวจสอบการแสดงออก

ของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* และวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อบันทึกข้อมูลความเข้มของแถบดีเอ็นเอ และเมื่อให้ความเครียดครบ 48 ชั่วโมง ทำการเก็บลักษณะฟีโนไทป์ในระยะต้นกล้า ได้แก่ ความสูงของต้นกล้า (PH) ความยาวของราก (TRL) ความยาวของใบ (LL) ความกว้างของใบ (WL) ความยาวของ primary root (PRL) โดยบันทึกหน่วยเป็น เซนติเมตร (cm) บันทึกลักษณะน้ำหนักสดของส่วนเหนือราก (FWshoot) น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (DWshoot) น้ำหนักสดของราก (FWroot) น้ำหนักแห้งของราก (DWroot) น้ำหนักสดรวม (FWtotal) น้ำหนักแห้งรวม (DWtotal) บันทึกหน่วยเป็น กรัม (g) สำหรับในส่วนของพื้นที่ส่วนเหนือราก (ShA) พื้นที่ราก (TRA) บันทึกหน่วยเป็น ตารางเซนติเมตร (cm²) และความเขียวของใบ (SPAD) บันทึกหน่วยเป็น SPAD unit รวมทั้งหมด 14 ลักษณะ

สำหรับวิธีการเก็บข้อมูลลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 14 ลักษณะ กระทำโดยเริ่มจากเก็บข้อมูลความเขียวใบ โดยใช้เครื่องตรวจวัดความเข้มของสีใบ หรือเครื่อง SPAD-502 (Konica Minolta; Japan) โดยวัดค่าบนใบที่ทางสมบูรณ์จำนวน 3 จุดต่อต้น แล้วจึงทำการเก็บข้อมูลความสูงของต้นกล้า โดยวัดจากโคนต้นที่ติดเมล็ดจนถึงปลายใบ จากนั้นทำการความยาวของใบ วัดจากโคนใบจนถึงปลายใบ ขั้วโหนด และความกว้างของใบ วัดบริเวณกลางใบ โดยใช้ไม้บรรทัด วัดหน่วยเป็นเซนติเมตร เมื่อเก็บลักษณะดังกล่าวแล้วทำการถ่ายภาพส่วนเหนือรากและส่วนรากเพื่อนำมาหาลักษณะพื้นที่ส่วนเหนือราก พื้นที่ราก ความยาวของราก และ ความยาวของ primary root โดยใช้โปรแกรม ImageJ (Abramoff et al., 2004) เมื่อทำการเก็บข้อมูลลักษณะอื่น เรียบร้อยแล้ว จึงแยกส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้า แล้วนำมาชั่งน้ำหนักสดของส่วนเหนือราก น้ำหนักสดของราก และน้ำหนักสดรวม หลังจากนั้นนำตัวอย่างส่วนต่าง ๆ ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบลมร้อนนาน 48 ชั่วโมง (Badr et al. 2020) จนกระทั่งแห้งสม่ำเสมอ จึงนำมาชั่งน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก น้ำหนักแห้งของราก และน้ำหนักแห้งรวม เมื่อเก็บข้อมูลของลักษณะต่าง ๆ ครบแล้วจึงนำข้อมูลไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

นำข้อมูลทั้ง 14 ลักษณะที่ได้จากการทดสอบคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพเครียดออกซิเดติก มาวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* (ผ่านความเข้มของแถบดีเอ็นเอแบบสแน็ปช็อต) และลักษณะฟีโนไทป์ทั้งหมด 14 ลักษณะ ด้วยวิธี Pearson correlation analysis พร้อมทดสอบนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับแอลฟา

0.05 โดยใช้ Package ‘agricolae’ (Felipe de Mendiburu, 2023) ในโปรแกรม R version. 4.4.1 (R Core Team, 2024) เพื่อหาลักษณะที่น่าสนใจสำหรับนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในขั้นตอนถัดไป

เมื่อได้ลักษณะที่น่าสนใจแล้ว นำข้อมูลของลักษณะฟีโนไทป์ดังกล่าวมาคำนวณในสูตรดัชนีความทนทานต่อความเครียด (Stress tolerance index; STI) แล้วจึงนำมาวิเคราะห์สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics) ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel เพื่อดูการกระจายตัวของชุดข้อมูล จากนั้นจึงวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัวของดัชนีความทนทานต่อความเครียด พร้อมประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) และแบบเฉพาะเจาะจง (SCA) ของลักษณะฟีโนไทป์ที่สนใจ โดยใช้ Package ‘gpbStat’ (Nandan and Lakshmi, 2024) ในโปรแกรม R version. 4.4.1 (R Core Team, 2024)

เช่นเดียวกับการประเมินความสามารถการเจริญเติบโตของกลุ่มสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ นำข้อมูลของลักษณะฟีโนไทป์ดังกล่าวมาวิเคราะห์สถิติพรรณนา (Descriptive statistics) ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel จากนั้นวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัวด้านการเจริญเติบโตของกลุ่มสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ พร้อมประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) และแบบเฉพาะเจาะจง (SCA) ของลักษณะฟีโนไทป์ที่สนใจ โดยใช้ Package Package ‘gpbStat’ (Nandan and Lakshmi, 2024) ในโปรแกรม R version. 4.4.1 (R Core Team, 2024)

การสกัดอาร์เอ็นเอจากใบและรากของต้นกล้าข้าวโพด

ทำการเก็บใบของข้าวโพดน้ำหนัก 100 กรัม นำไปบดรวมกับการเติม TRIzol™ Reagent (Invitrogen, USA) ปริมาตร 1 มิลลิตร จากนั้นดูดสารละลายส่วนใส (Lysate) ที่ได้ปริมาตร 1 มิลลิตร ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้บนน้ำแข็งนาน 5 นาที จากนั้นเติมคลอโรฟอร์ม (Chloroform) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงไปในหลอดดังกล่าว แล้วจึงทำการพลิกหลอดเพื่อผสมสารละลายให้เข้ากัน และบ่มในน้ำแข็งต่ออีก 2-3 นาที จึงนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000xg ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เพื่อทำการกำจัดตะกอนโปรตีน จากนั้นทำการดูดสารละลายส่วนใส (aqueous phase) ไปยังหลอดใหม่ และเติมไอโซโพรพานอล (Isopropanol) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อตกตะกอนอาร์เอ็นเอ แล้วนำไปบ่มในน้ำแข็งนาน 10 นาที จึงปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000xg อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทำการเก็บตะกอนของ total

RNA โดยการเทส่วนใส่ออก และล้างตะกอนด้วย 75% Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7,500xg อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากนั้นเทสารละลายส่วนใส (supernatant) ที่ทิ้ง และทำการระเหยสารออกด้วยการตากตะกอนนาน 5 - 10 นาที จึงเติม RNase-free water ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลอด และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาใช้ในขั้นตอนถัดไป

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีนที่สนใจด้วยวิธี Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

สร้างสาย complementary DNA (cDNA) จาก Total RNA ด้วยชุด Revert Aid First-Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, USA) โดย ใช้ Reverse primers 5'GCCTTTTCACTGCTGGAAGC3' ตามรายงานของ Lowantha and Hannok (2022) จากนั้นเตรียมปฏิกิริยา Reverse transcription (RT) ที่ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ที่ประกอบด้วยองค์ประกอบดังต่อไปนี้ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบสารสำหรับเตรียมปฏิกิริยา Reverse transcription (RT)

ชนิดของสาร	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
RNA Template	2
10 pmol Reverse primers (5'GCCTTTTCACTGCTGGAAGC3')	1
10 mM dNTPs	2
5X Reaction buffer	4
RNase inhibitor (20 U/μl)	1
Reverse transcriptase (200 U/μl)	1
DNase-RNase free water	9

เริ่มปฏิกิริยา RT ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที และหยุดปฏิกิริยาด้วยอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการ RT จะได้สาย cDNA สำหรับเป็น

ต้นแบบในการทำปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ใช้ไพรเมอร์ที่มีความเฉพาะเจาะจง (PH_ZmTPS1-1) ทั้งสองสาย ได้แก่

Forward primer: 5'TACCAGGACGGGGATGTGAT3' และ

Reverse primer: 5'GCCTTTTCACTGCTGGAAGC3'

ซึ่งให้ชิ้น PCR product ขนาด 370 bp ทำการเตรียมปฏิกิริยา PCR ที่ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ภายในหลอดประกอบด้วยสาร ดังต่อไปนี้ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบสารสำหรับเตรียมปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

ชนิดของสาร	ปริมาตร (ไมโครลิตร)
10X PCR buffer	2.5
25mM MgCl ₂	1.5
10mM dNTPs	0.5
10pmol Forward Primer (5'TACCAGGACGGGGATGTGAT3')	0.5
10pmol Reverse Primer (5'GCCTTTTCACTGCTGGAAGC3')	0.5
cDNA Template	2
Tag DNA polymerase (5 U/μl)	0.5
DNase-RNase free water	17

จากนั้นทำปฏิกิริยาในเครื่อง Thermal cyclers รุ่น Biometra Tone 96 G (Analytik Jena , Germany) เพื่อเริ่มปฏิกิริยาดังต่อไปนี้ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 แสดงขั้นตอนในการทำปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR)

ขั้นตอน	อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลา	จำนวนรอบ
Pre-denature	94	5 นาที	1
Denature	94	40 วินาที	30
Annealing	58	1 นาที	
Extension	72	2 นาที	
Final-extension	72	5 นาที	1

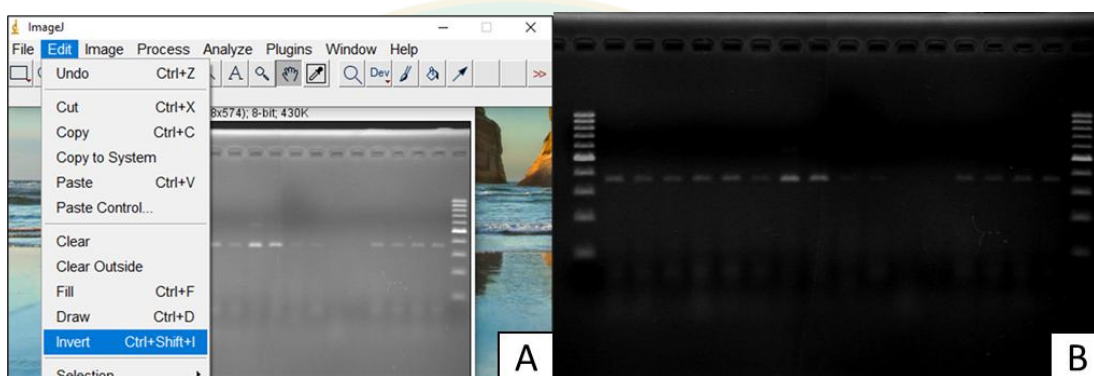
เมื่อเสร็จสิ้นการทำปฏิกิริยา PCR ทำการตรวจสอบชิ้น PCR product ด้วยเทคนิค Gel electrophoresis โดยใช้ Agarose gel ที่ความเข้มข้น 2% ในสารละลาย 1X TBE buffer ใช้กระแสไฟฟ้าที่ 100 โวลต์ นาน 50 นาที เมื่อครบเวลานำเจลไปย้อมในสารละลาย Ethidium bromide 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นาน 15 นาที จากนั้นนำเจลไปล้างในน้ำสะอาดทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที และนำได้ตรวจสอบขนาด PCR product ผ่านเครื่อง Gel Documentation

การวัดค่าความเข้มแถบดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม Imagej

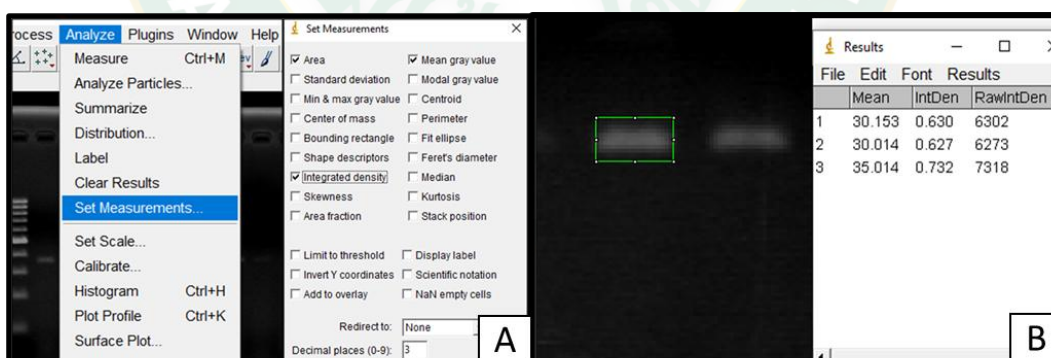
1. นำภาพเข้าไปยังโปรแกรม ImageJ ทำการปรับแต่งภาพสีเทาเป็นภาพสีดำ (8-bit) โดยการกลับค่าสีที่ตรงกันข้ามด้วยวิธี Invert (จากสีขาวเป็นสีดำ และจากสีดำเป็นสีขาวหรือเทา) โดยเลือกเมนู Edit และเลือก Invert (ภาพที่ 5A) จะได้ภาพ 8-bit ออกมา (ภาพที่ 5B) การ Invert ดังกล่าวจะช่วยให้ค่า pixel ของพื้นหลังใกล้เคียงค่า 0 มากที่สุด ซึ่งจะช่วยให้การคำนวณค่า Integrated density (IntDen) ถูกต้องมากขึ้น และลดการรบกวนของ background เนื่องจากการวัด Intensity ดังกล่าวต้องการค่าเฉลี่ยเฉพาะบริเวณที่มีสีเทาเท่านั้น ค่า IntDen ดังกล่าวถูกคำนวณมาจากสมการของ Rasband (2008) ดังแสดงด้านล่างนี้

$$\text{Integrated density (IntDen)} = \frac{\text{RawInden} \times \text{Area i scaled units}}{\text{Area in pixels}}$$

2. ตั้งค่าการวิเคราะห์ภาพ โดยไปที่เมนู Analyze เลือก Set measurements และเลือกปุ่ม Integrated density แล้วกดปุ่ม OK (ภาพที่ 6A) จากนั้นเลือกเครื่องมือ Oval selection ลากคลุมบริเวณจุดที่ต้องการวิเคราะห์ และกดปุ่ม M บนแป้นพิมพ์เพื่อทำการวิเคราะห์ (Measure) (ภาพที่ 6B) จากนั้นทำการย้ายจุดไปจนครบทุกจุดเพื่อให้แต่ละพื้นที่มีขนาดที่เท่ากัน แล้วจึงทำการบันทึกค่าข้อมูลดังกล่าวในโปรแกรม Excel จากนั้นนำค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอของ DNA Ladder ที่ 500bp นำมาเทียบบัญชีไตรยางค์เพื่อหาค่าความเข้มข้นหน่วยเป็น ng/ μ l. แล้วจึงนำค่าดังกล่าวมาใช้วิเคราะห์ค่าทางสถิติในขั้นตอนถัดไป



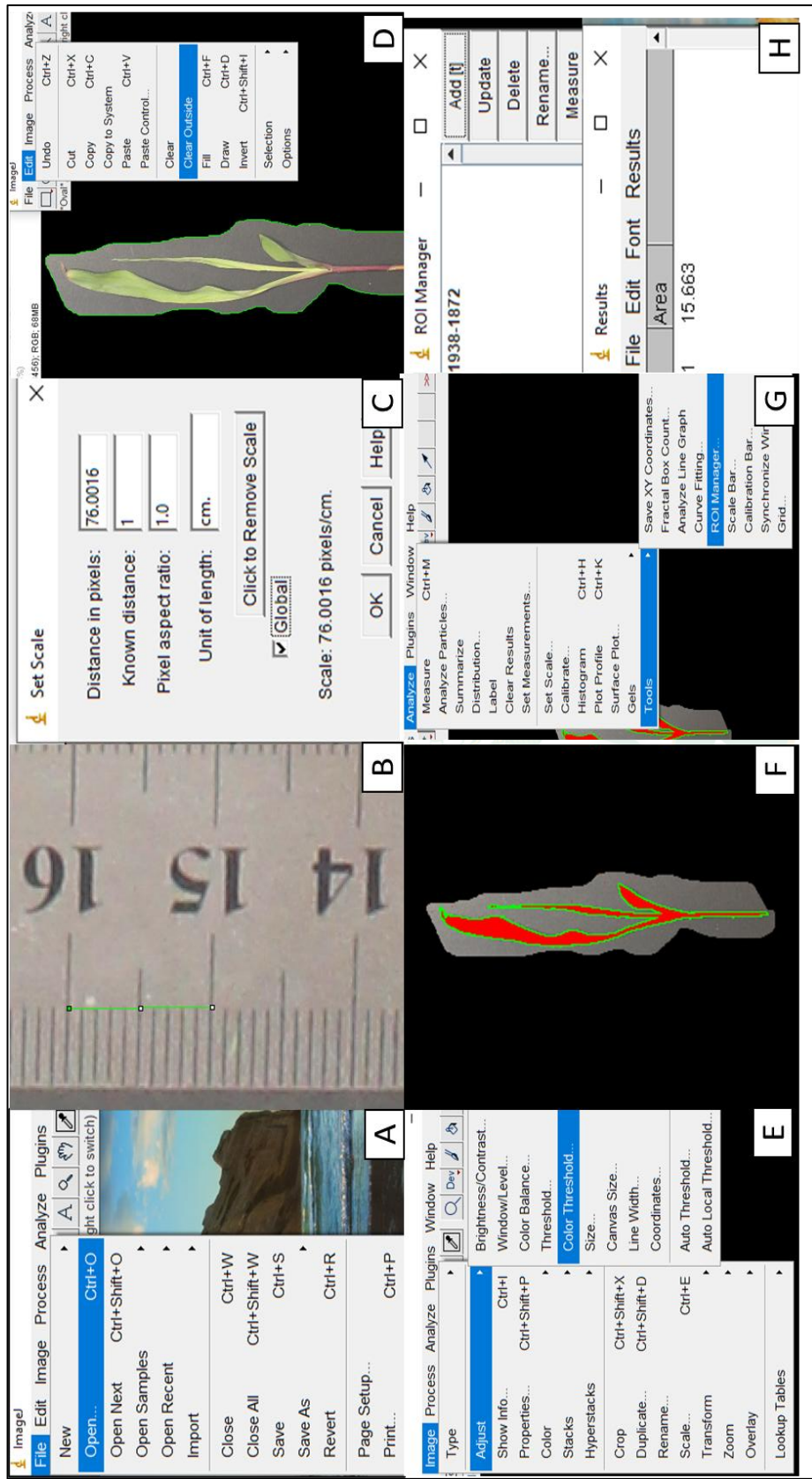
ภาพที่ 5 ขั้นตอนการวัดค่าความเข้มแถบดีเอ็นเอ (A) การปรับแต่งภาพสีเทาเป็นสีดำ (B) ภาพที่ได้จากการปรับ



ภาพที่ 6 ขั้นตอนการวัดค่าความเข้มแถบดีเอ็นเอ (A) ตั้งค่าการวิเคราะห์ภาพ (B) การกำหนดจุดสำหรับวิเคราะห์

การวิเคราะห์พื้นที่ส่วนเนื้อรากับด้วยโปรแกรม ImageJ

1. ทำการเปิดโปรแกรมและนำรูปภาพที่ต้องการวิเคราะห์เข้าไปในโปรแกรม โดยไปที่เมนู File เลือก Open (ภาพที่ 7A)
2. จากนั้นกำหนดหน่วยวัดจากไม้บรรทัด หรือ scale ที่อยู่ภายในภาพ โดยเลือกเครื่องมือ Straight line เพื่อลากเส้นในไม้บรรทัดให้มีความยาว 1 เซนติเมตร (ภาพที่ 7B) จากนั้นไปที่เมนู Analyze เลือก Set scale จึงตั้งค่า Known distance เท่ากับ 1 Unit of length คือ cm และเลือกช่อง Global จากนั้นกดปุ่ม OK (ภาพที่ 7C)
3. เริ่มทำการวิเคราะห์พื้นที่ส่วนเนื้อรากด้วยการเลือกเครื่องมือ Freehand selection แล้วลากตรงบริเวณที่จะวิเคราะห์ แล้วไปที่เมนู Edit เลือก Clear outside เพื่อลบพื้นที่ที่ไม่ต้องวิเคราะห์ออก (ภาพที่ 7D)
4. เมื่อได้บริเวณดังกล่าวแล้วทำการปรับสีของพื้นที่ที่ต้องการจะวิเคราะห์ โดยเลือกเมนู Image และเลือก Adjust ไปที่ Color Threshold จึงทำการปรับ Brightness ให้ส่วนของพื้นที่ใบและลำต้นเป็นสีแดง (ภาพที่ 7E)
5. จากนั้นเลือกเครื่องมือ Wand tool แล้วคลิกบริเวณพื้นที่สีแดง จากนั้นไปที่เมนู Analyze เลือก Tools และเลือก ROI Manager จะปรากฏหน้าต่างขึ้นมา กดปุ่ม Add (t) หรือกดปุ่ม T บนแป้นคีย์บอร์ด จะขึ้นชื่อของตัวอย่าง (ภาพที่ 7F)
6. ทำการกดปุ่ม Measure จะปรากฏหน้าต่าง Result ซึ่งเป็นค่าที่ได้จากการวิเคราะห์พื้นที่ใบ (ภาพที่ 7G) จากนั้นทำการวิเคราะห์พื้นที่ใบต้นถัดไปจนครบทุกต้น (ภาพที่ 7H)



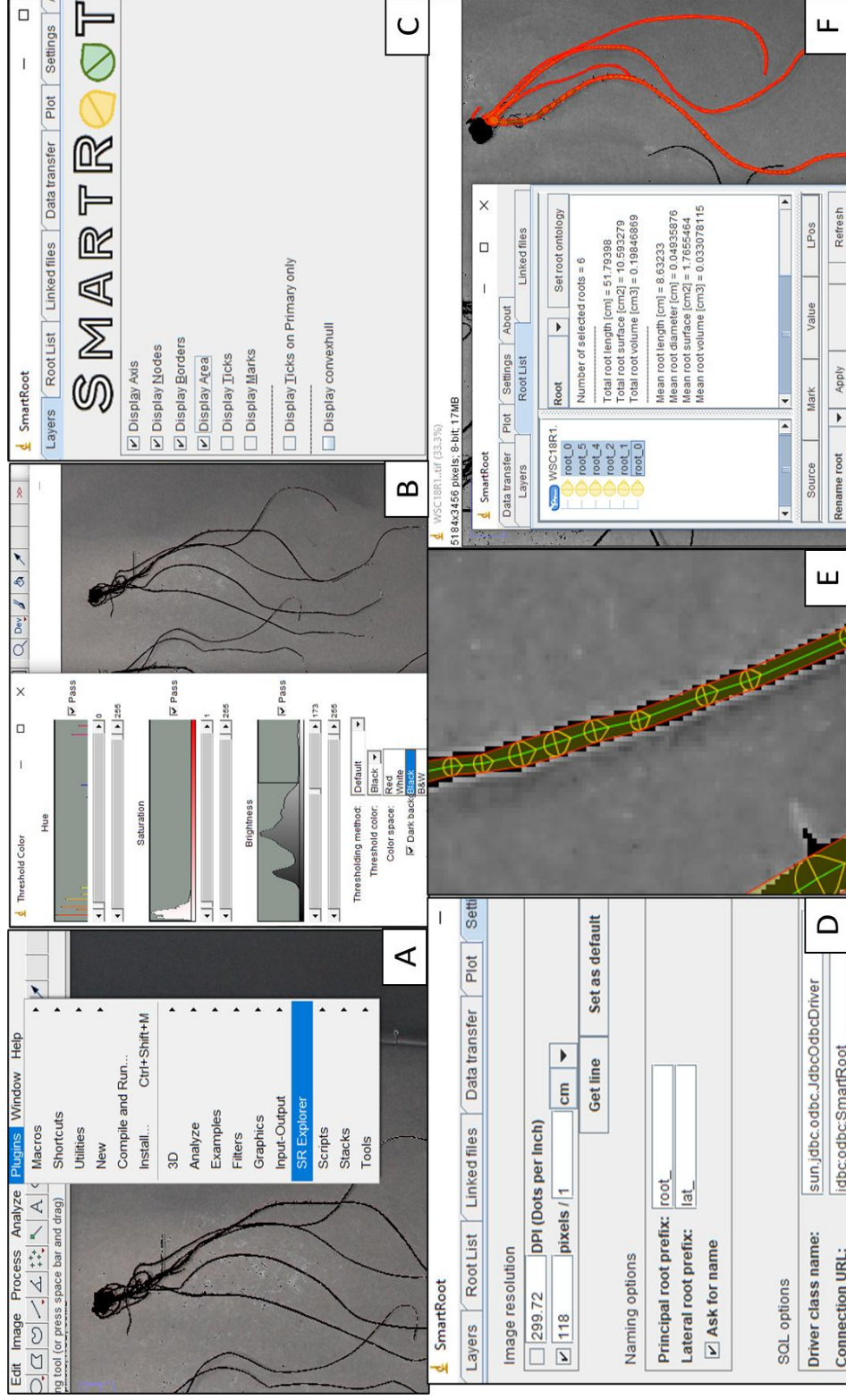
ภาพที่ 7 ขั้นตอนการวิเคราะห์พื้นที่ด้วยโปรแกรม Image J (A) การนำภาพถ่ายเข้า (B-C) การตั้งค่าสเกลมาตรฐาน (D) เลือกพื้นที่ที่ต้องการวิเคราะห์ (E-F) ปรับสีภาพและการใช้ Wand tools และ (G-H) การใช้เครื่องมือ ROI manager ในการวิเคราะห์ภาพและผลจากการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ภาพถ่ายส่วนของรากด้วยโปรแกรม Smart root ร่วมกับโปรแกรม ImageJ

1. ทำการ Download Plugins ที่ชื่อ SmartRoot จากเว็บไซต์ <https://www.plant-image-analysis.org/software/smartroot>
2. จากนั้นเปิดโปรแกรม ImageJ และเลือก Plugins >> Install โปรแกรมจะขึ้นรายการ Plugins มาให้เลือก จึงเลือก Smart_Root.jar จากนั้นจึงกด Open
3. จากนั้นทำการ activate Smart Root Plugins โดยไปที่ Plugins>>SR Explorer หลังจากนั้นให้สังเกตว่าบน shortcut menu ของ ImageJ จะแสดงแถบเมนูของ Smart Root (ภาพที่ 8A)
4. เริ่มการวิเคราะห์พื้นที่ราก โดยการเปิดภาพรากที่ต้องการวิเคราะห์ โดยไปที่ File >> Open >> browse ภาพรากที่ต้องการวิเคราะห์ ซึ่งจะสังเกตได้ว่าพื้นที่ของรากจะเป็นสีขาว จึงทำการปรับค่าสี Hue, Saturation และ Brightness ของภาพ โดยเลือก Image >> Adjust >> Color Threshold ซึ่งจะได้ Box สำหรับการปรับค่า Hue, Saturation และ Brightness แสดงออกมา ทำการปรับพารามิเตอร์ Threshold Color ให้เป็น Black เพื่อกำหนดรากให้เป็นพื้นที่สีดำ (ภาพที่ 8B) จากนั้นทำการบันทึกภาพนี้ โดยสร้าง Folder เพื่อรวบรวมภาพรากที่ต้องการวิเคราะห์ไว้ที่ Drive ใดก็ได้
5. เมื่อต้องการเปิดไฟล์ภาพรากที่ต้องการวิเคราะห์ให้เลือก Plugins >> SR Explorer >> smart root Explorer หลังจากนั้น โปรแกรมจะแสดงรายการ Folder (ลูกศรชี้) ให้ Browse เลือก Folder ที่ทำการบันทึกภาพไว้ จากนั้นใน Box ของ Plugins Smart Root ให้เลือก Tab “Layers” และเลือก Display Axis, Display Nodes, Display Borders, Display Area ดังแสดงในภาพที่ 8C
6. จากนั้นทำการตั้งค่าพารามิเตอร์เพิ่มเติม โดยเลือก Tab “Setting” ภายใน Plugins Smart Root และกดปุ่ม Apply (ภาพที่ 8D)
7. ทำการคลิก Trace root ที่อยู่บนแถบเมนูของโปรแกรม จากนั้นจึงคลิกเลือกบริเวณรากที่ต้องการวิเคราะห์ และกดปุ่ม Alternate หรือ Alt เพื่อให้โปรแกรมเลือกพื้นที่แบบอัตโนมัติ สังเกตว่าโปรแกรมจะแสดงชื่อของรากที่ทำการตรวจสอบมาให้ ซึ่งขั้นตอนนี้โปรแกรมจะวิเคราะห์รากให้ทีละส่วนเท่านั้น หากรากที่ทำการวิเคราะห์อยู่มีแขนงจะต้องทำการคลิกปุ่ม Trace root แล้วจึงกด Alt พร้อมคลิกพื้นที่ราก Trace root เพื่อสั่งให้โปรแกรมหาพื้นที่ Lateral root ที่อยู่ติดกับ Trace root นั้นออกมา (ภาพที่ 8E) และทำซ้ำในทุกพื้นที่รากที่ต้องการวิเคราะห์

8. เมื่อทำครบทุก trace root และ lateral root แล้วให้ไปที่ Tab Root List ใน Plugins Smart root และเลือกชื่อไฟล์ของภาพที่ทำการวิเคราะห์ แล้วจึงกดปุ่ม Refresh หนึ่งครั้งเพื่อให้โปรแกรมแสดงรายการพื้นที่รากในแต่ละส่วนออกมาให้ หากต้องการให้โปรแกรมคำนวณพื้นที่รากทั้งหมดของภาพถ่าย ให้ไปที่ชื่อไฟล์รากอันแรกสุด และกดปุ่ม Shift เพื่อเลือกทุกราก โปรแกรมจะแสดงพื้นที่รากทั้งหมดออกมา (ภาพที่ 8F)





ภาพที่ 8 ขั้นตอนการวิเคราะห์ภาพถ่ายส่วนของราก (A) การเลือก SR explorer เพื่อเปิด Smart root (B) การปรับสีของภาพ (C) การเลือกค่าที่ต้องการวิเคราะห์ (D) การตั้งค่า Scale (E) การใช้ Trace root เลือกพื้นที่ราก และ (F) ผลการวิเคราะห์

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

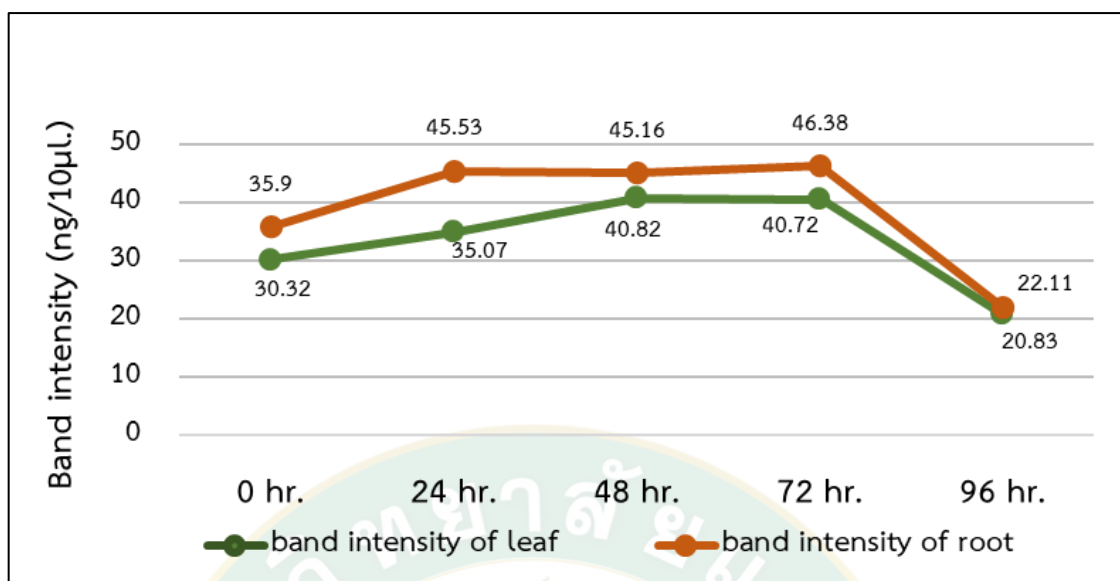
การทดลองที่ 1 การผลิต F1 progenies

ผลการทดลองที่ 1.1 การทดสอบหาช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการตอบสนองต่อพืช ภายใต้สภาพเครียดออสโมติก

จากผลการทดสอบระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการตอบสนองต่อพืชภายใต้สภาพเครียดออสโมติก สำหรับนำมาใช้ตรวจสอบการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* พบว่าการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ในส่วนของรากมีการแสดงออกที่สูงกว่าส่วนของใบ โดยสังเกตจากภาพที่ 9 จะเห็นได้ว่าความเข้มของแถบตีเอ็นเอในรากมีแนวโน้มสูงกว่าในใบตลอดช่วงการทดลอง โดยเฉพาะช่วงระยะเวลาที่ 24 – 72 ชั่วโมง

เมื่อพิจารณาข้าวโพดก่อนได้รับความเครียดที่ 0 ชั่วโมง เห็นได้ว่า ค่าความเข้มของแถบตีเอ็นเอในส่วนของราก (35.9 ng/10 μ L) มีค่าสูงกว่าค่าความเข้มของแถบตีเอ็นเอในใบ (30.32 ng/10 μ L) และหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดสภาพเครียดออสโมติก 24 ชั่วโมง พบว่า ความเข้มของแถบตีเอ็นเอในรากและใบเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ค่าความเข้มของแถบตีเอ็นเอในรากและใบอยู่ที่ 45.53 และ 35.07 ng/10 μ L ตามลำดับ และเมื่อข้าวโพดได้รับความเครียดออสโมติก 48 ชั่วโมง ส่งผลให้ความเข้มของแถบตีเอ็นเอในรากลดลง (45.16 ng/10 μ L) และความเข้มของแถบตีเอ็นเอในใบเพิ่มขึ้น (40.82 ng/10 μ L) เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวโพดได้รับความเครียดออสโมติกที่ 24 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นต่อเนื่องถึงช่วงเวลา 72 ชั่วโมง หลังได้รับความเครียดออสโมติก เห็นได้ว่า ความเข้มของแถบตีเอ็นเอในรากมีค่าเพิ่มขึ้นถึง 46.38 ng/10 μ L และความเข้มของแถบตีเอ็นเอในใบอยู่ที่ 40.72 ng/10 μ L อย่างไรก็ตามในช่วง 96 ชั่วโมงหลังจากได้รับความเครียดออสโมติก พบว่า ค่าความเข้มของแถบตีเอ็นเอทั้งสองส่วนลดลงอย่างเห็นได้ชัด โดยค่าความเข้มของแถบตีเอ็นเอในรากลดลงเหลือ 22.11 ng/10 μ L ขณะที่ค่าความเข้มของแถบตีเอ็นเอในใบลดลงเหลือ 20.83 ng/10 μ L

ผลจากการทดสอบ เห็นได้ว่า หลังจากต้นกล้าข้าวโพดได้รับสภาพเครียดออสโมติกที่ 24 ชั่วโมง เป็นช่วงเวลาที่มีการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* เพิ่มขึ้นเร็วที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ Control (0 ชั่วโมง) ดังนั้น เพื่อเป็นการลดระยะเวลาในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ การทดสอบในขั้นถัดไปจึงกำหนดให้ระยะเวลาในการให้ความเครียดออสโมติกอยู่ที่ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 9 การแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ของแต่ละชั่วโมงหลังได้รับความเครียดจากการขาดน้ำ

ผลการทดลองที่ 1.2 การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพด เพื่อนำมาใช้ในการผลิต F1 progenies

หลังการถ่ายภาพ Gel electrophoresis ของสายพันธุ์แท้ทั้ง 17 สายพันธุ์ (ภาพที่ 10) และ Full-sib families ทั้ง 45 สายพันธุ์ (ภาพที่ 11) นำมาวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยโปรแกรม ImageJ (Abramoff *et al.*, 2004) เพื่อบันทึกข้อมูลความเข้มของแถบดีเอ็นเอแบบสัมพัทธ์ (Relative band intensity) ของทั้งส่วนใบและรากของต้นกล้าข้าวโพดตามวิธีของ Rasband (2008) จากการพิจารณาค่าอัตราส่วนความเข้มแถบดีเอ็นเอของรากและใบ (RL ratio) ของสายพันธุ์แท้ทั้ง 17 สายพันธุ์ (ตารางที่ 5) พบว่า ค่าอัตราส่วนทั้งหมดที่ได้มีค่าอยู่ในระหว่าง 0.920 – 1.420 เมื่อนำค่าอัตราส่วนความเข้มแถบดีเอ็นเอของรากและใบมาเรียงลำดับจากสูงไปต่ำ แล้วจึงพิจารณาคัดเลือกสายพันธุ์ที่ 10% ของกลุ่มประชากร โดยคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีค่าสูงสุดในลำดับที่ 1 – 2 และสายพันธุ์ที่มีค่าต่ำสุดในลำดับที่ 16 – 17 พบว่า กลุ่มของสายพันธุ์ที่ให้ค่าอัตราส่วนที่สูงของกลุ่มประชากรสายพันธุ์แท้ในลำดับที่ 1 และ 2 คือ สายพันธุ์ Kei1608 และ Ki11 ให้ค่าอัตราส่วนที่ 1.420 และ 1.335 ตามลำดับ และ กลุ่มของสายพันธุ์ที่ให้ค่าอัตราส่วนที่ต่ำของกลุ่มประชากรสายพันธุ์แท้ในลำดับที่ 16 และ 17 คือ สายพันธุ์ Ki48 และ DTMA202 ให้ค่าอัตราส่วนที่ 1.020 และ 0.920 ตามลำดับ จากนั้นจึงนำทั้ง 4 สายพันธุ์ นำมาใช้เป็น Tester

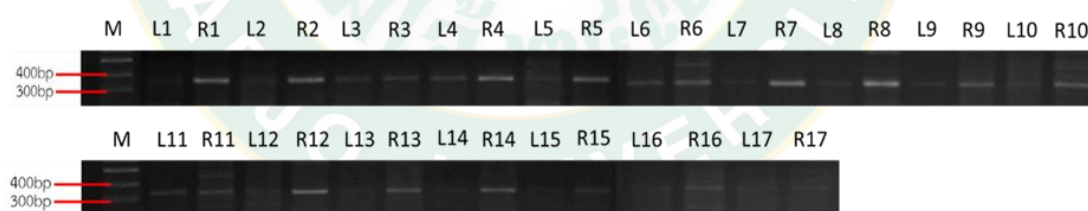
สำหรับในส่วนของ Full-sib families ทั้ง 45 สายพันธุ์ มีค่าอัตราส่วนอยู่ระหว่าง 0.720 – 7.795 ถูกใช้วิธีคัดเลือกเช่นเดียวกับ Tester โดยนำค่าอัตราส่วนความเข้มแถบดีเอ็นเอของรากและใบ มาเรียงลำดับจากสูงไปต่ำ แล้วจึงพิจารณาคัดเลือกสายพันธุ์ที่ 10% ของกลุ่มประชากร โดยคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีค่าสูงสุดในลำดับที่ 1–6 รวมถึงสายพันธุ์ที่มีค่าต่ำสุดในลำดับที่ 40 – 45 พบว่า 10% ของ family ที่ให้ค่าอัตราส่วนที่สูงของกลุ่มประชากร Full-sib families ในลำดับที่ 1 - 6 ได้แก่ Grp2-1-2S1-3 (7.795) Grp2-6-1S1 (4.605) Grp3-1-S1 (2.218) Grp2-1-2S1-1 (1.993) Grp5-3-1S1 (1.905) และ Grp3-13-1S1 (1.848) และ 10% family ที่ให้ค่าอัตราส่วนที่ต่ำของกลุ่มประชากร Full-sib families ในลำดับที่ 40 - 45 ได้แก่ Grp2-1-1S1 (1.078) Grp6-3-2S1-5 (1.058) Grp4-7-S1-1 (1.058) Grp4-4-2S1-1 (0.848) Grp2-3-1S1 (0.813) และ Grp2-1-2S1-2 (0.720) ซึ่งทั้ง 12 สายพันธุ์ ที่คัดเลือกมานี้ถูกนำมาใช้เป็น Line สำหรับนำไปผลิตเมล็ด F1 progenies โดยใช้แผนการผสม Line × Tester (Kempthorne, 1957) ในลำดับถัดไป

ผลการทดลองที่ 1.3 การผลิต F1 progenies เพื่อนำมาใช้ในการทดสอบ

จากผลการทดลองที่ 1.2 พบว่า มีข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผ่านการคัดเลือกทั้งหมด 16 สายพันธุ์ โดยข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 12 สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกได้มาจาก Full-sib family ได้แก่ สายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 Grp2-6-1S1 Grp3-1-S1 Grp2-1-2S1-1 Grp5-3-1S1 Grp3-13-1S1 Grp2-1-1S1 Grp6-3-2S1-5 Grp4-7-S1-1 Grp4-4-2S1-1 Grp2-3-1S1 และ Grp2-1-2S1-2 สายพันธุ์เหล่านี้ถูกกำหนดเป็น Line นอกจากนี้ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อีก 4 สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกได้มาจากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ ได้แก่ สายพันธุ์ Kei1608 Ki11 Ki48 และ DTMA202 สายพันธุ์เหล่านี้ถูกกำหนดเป็น Tester จากนั้นนำทั้ง 16 สายพันธุ์ มาผสมตามแผนการผสม Line × Tester (Kempthorne, 1957) โดยแผนการผสมพันธุ์นี้เป็นการนำ Tester ทุกตัวนำมาผสมกับ Line ทั้งหมด (Comstock and Robinson, 1952; Le clerg, 1966) เมื่อนำสายพันธุ์ดังกล่าวมาผสมเข้ากันทั้งหมด จึงได้ 48 คู่ผสม ดังแสดงในภาพที่ 12 จากนั้นจึงนำเมล็ดพันธุ์ของทั้ง 48 คู่ผสมไปปลูกทดสอบภายใต้สภาพเครือข่ายอสมติคในระดับต้นกล้าต่อไป

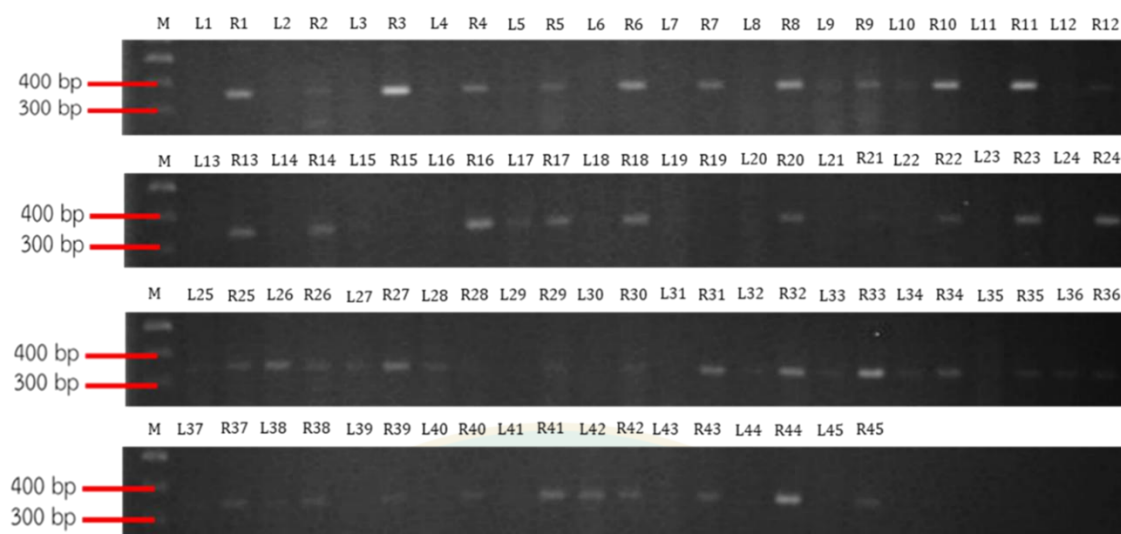
ตารางที่ 5 อัตราส่วนความเข้มของแถบดีเอ็นเอของรากและใบของสายพันธุ์ที่ใช้สำหรับคัดเลือกอพพ่อแม่

For Line						For Tester	
Families	RL_ratio	Families	RL_ratio	Families	RL_ratio	Inbred line	RL_ratio
Grp0-2-2S1-1	1.473	Grp4-1-2S1-3	1.208	Grp2-2-S1	1.223	Ki11	1.335
Grp0-2-2S1-2	1.298	Grp4-4-2S1-1	0.848	Grp2-3-1S1	0.813	Ki47	1.315
Grp0-2-2S1-3	1.323	Grp4-4-2S1-2	1.183	Grp2-6-1S1	4.605	Ki48	1.020
Grp0-2-2S1-5	1.155	Grp4-4-2S1-3	1.155	Grp3-1-S1	2.218	Ki58	1.135
Grp0-6-2S1-1	1.363	Grp4-7-S1-1	1.058	Grp3-11-S1	1.388	Kei1420	1.060
Grp0-6-2S1-2	1.398	Grp4-7-S1-2	1.295	Grp3-13-1S1	1.848	Kei1508	1.210
Grp0-6-2S1-3	1.180	Grp5-3-1S1	1.905	Grp4-1-1S1	1.483	Kei1608	1.420
Grp0-11-2S1-2	1.283	Grp5-2-S1-2	1.525	Grp4-3-S1	1.243	Kei1715	1.330
Grp0-11-2S1-3	1.100	Grp6-2-2S1-1	1.203	Grp4-4-1S1	1.463	Nei452004	1.165
Grp0-11-2S1-4	1.260	Grp6-2-2S1-2	1.233	Grp4-5-S1	1.433	Nei452015	1.090
Grp2-1-2S1-1	1.993	Grp6-3-2S1-5	1.058	Grp5-1-S1	1.213	Nei452026	1.130
Grp2-1-2S1-2	0.720	Grp3-3-2S1-1	1.220			Nei462013	1.195
Grp2-1-2S1-3	7.795	Grp3-3-2S1-2	1.158			Nei492006	1.105
Grp2-3-2S1-1	1.515	Grp2-6-2S1-1	1.385			Nei492024	1.195
Grp2-3-2S1-2	1.098	Grp0-7-S1	1.350			Nei582046	1.045
Grp3-5-S1-2	1.265	Grp0-9-S1	1.180			Nei9202	1.075
Grp4-1-2S1-1	1.223	Grp2-1-1S1	1.078			DTMA202	0.920



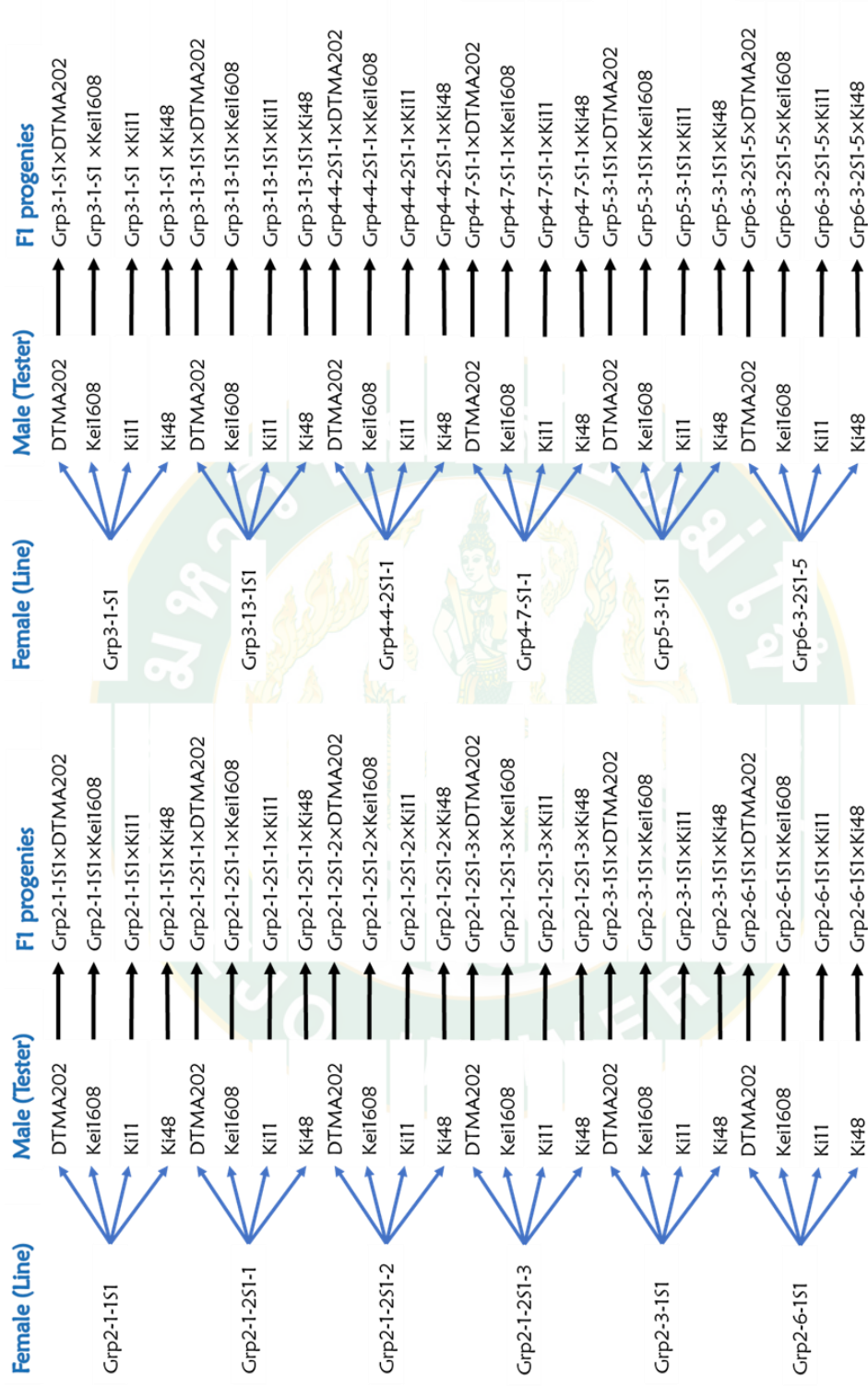
ภาพที่ 10 การแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ของ 17 สายพันธุ์แท้
สำหรับใช้เป็น Testers

Abbreviations : M = ladder 100bp, 1 =Ki11, 2 =Ki47, 3 =Ki48, 4 =Ki58, 5 =Kei1420, 6 =Kei1508, 7 =Kei1608, 8 =Kei1715, 9 =Nei452004, 10 =Nei452015, 11 =Nei452026, 12 = Nei462013, 13 = Nei492006, 14 = Nei492024, 15 = Nei582046, 16 = Nei9202 and 17 =DTMA202



ภาพที่ 11 การแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ของ 45 สายพันธุ์ สำหรับใช้เป็น Lines

Abbreviations : M = ladder 100bp, 1 = Grp0-2-2S1-1, 2 = Grp0-2-2S1-2, 3 = Grp0-2-2S1-3, 4 = Grp3-3-2S1-2, 5 = Grp0-6-2S1-1, 6 = Grp0-6-2S1-2, 7 = Grp0-6-2S1-3, 8 = Grp0-11-2S1-2, 9 = Grp0-11-2S1-3, 10 = Grp0-11-2S1-4, 11 = Grp2-1-2S1-1, 12 = Grp2-1-2S1-2, 13 = Grp2-1-2S1-3, 14 = Grp2-3-2S1-1, 15 = Grp2-3-2S1-2, 16 = Grp3-5-S1-2, 17 = Grp2-2-S1, 18 = Grp4-1-2S1-3, 19 = Grp4-4-2S1-1, 20 = Grp4-4-2S1-2, 21 = Grp0-2-2S1-5, 22 = Grp4-7-S1-1, 23 = Grp4-7-S1-2, 24 = Grp5-3-1S1, 25 = Grp5-2-S1-2, 26 = Grp6-2-2S1-1, 27 = Grp6-2-2S1-2, 28 = Grp6-3-2S1-5, 29 = Grp3-3-2S1-1, 30 = Grp4-4-2S1-3, 31 = Grp2-6-2S1-1, 32 = Grp0-7-S1, 33 = Grp0-9-S1, 34 = Grp2-1-1S1, 35 = Grp4-1-2S1-1, 36 = Grp2-3-1S1, 37 = Grp2-6-1S1, 38 = Grp3-1-S1, 39 = Grp3-11-S1, 40 = Grp3-13-1S1, 41 = Grp4-1-1S1, 42 = Grp4-3-S1, 43 = Grp4-4-1S1, 44 = Grp4-5-S1 and 45 = Grp5-1-S1



ภาพที่ 12 แผนการผสมเพื่อผลิต F1 progenies สำหรับนำมาใช้ในการทดสอบ

ผลการทดลองที่ 2 การทดสอบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม F1 progenies ภายใต้สภาพเครียด ออสโมติก

ผลการทดลองที่ 2.1 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* และลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 14 ลักษณะ

เมื่อนำค่าของลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 14 ลักษณะมาหาความสัมพันธ์กับระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* พบว่า มีเพียง 4 ลักษณะเท่านั้นที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ลักษณะค่าความเขียวใบ (SPAD) ความสูงของต้นกล้า (PH) น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (DWshoot) และน้ำหนักแห้งรวม (DWtotal) โดยมีค่า r เท่ากับ 0.44 ($P \leq 0.001$) 0.32 ($P \leq 0.01$) 0.31 ($P \leq 0.05$) และ 0.29 ($P \leq 0.05$) ตามลำดับ (ภาพที่ 13)

หากพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* และลักษณะค่าความเขียวใบ พบว่า ค่าความเขียวใบมีค่าเพิ่มขึ้นตามการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* สังเกตได้จากค่าสัมประสิทธิ์ระหว่างสองลักษณะมีค่าเท่ากับ 0.44 ($P \leq 0.001$) ความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าวอยู่ในระดับปานกลาง เช่นเดียวกับลักษณะความสูงของต้นกล้า พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์เท่ากับ 0.32 ($P \leq 0.01$) ในส่วนของลักษณะน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และลักษณะน้ำหนักแห้งรวม มีค่าสัมประสิทธิ์อยู่ที่ 0.31 ($P \leq 0.05$) และ 0.29 ($P \leq 0.05$) ตามลำดับ

ลักษณะค่าความเขียวใบมักถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้ระดับคลอโรฟิลล์ในใบของพืช ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์แสง เมื่อพืชมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้มีการสะสมพลังงานสำหรับใช้ในการเจริญเติบโตได้มากยิ่งขึ้น จากกล่าวนี้นี้ ช่างต้นชี้ให้เห็นว่า การเพิ่มขึ้นของค่าความเขียวใบ (SPAD) ช่วยให้พืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นตามรายงานของ Schepers et al. (1992), Smeal and Zhang (1994) และ Costa et al. (2001) นอกจากนี้ ความสูงของต้นกล้า มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น การที่ต้นกล้าข้าวโพดมีความสูงเพิ่มขึ้นจะช่วยให้มีปริมาณพื้นที่ใบเพิ่มขึ้นตาม ส่งผลให้มีแหล่งพลังงานเพิ่มขึ้นสำหรับการใช้ในการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sabiel et al. (2014) ที่รายงานว่า ลักษณะความสูงของต้นและเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น เป็นลักษณะที่สำคัญในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด ลักษณะเหล่านี้สามารถเพิ่มศักยภาพในการเพิ่มผลผลิตของพืชได้ในเวลาเดียวกัน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Abdel-Ghani et al. (2013) ที่ได้กล่าวว่า ความสูงของต้นข้าวโพดมี

ความสัมพันธ์เชิงบวกแบบมีนัยสำคัญทางสถิติกับลักษณะน้ำหนักผลผลิต มีค่าสัมประสิทธิ์เท่ากับ 0.51 ($P \leq 0.01$) อีกทั้ง

ลักษณะน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และลักษณะน้ำหนักแห้งรวม ถูกใช้เป็นตัวชี้วัดที่มีความสำคัญในการประเมินประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพด เนื่องจากสะท้อนถึงปริมาณชีวมวลที่พืชสามารถสังเคราะห์และสะสมได้ภายใต้สภาพแวดล้อมที่กำหนดอย่างเห็นได้ชัดเจน ผลการทดลองในครั้งนี้พบว่า ต้นกล้าข้าวโพดที่อยู่ภายใต้สภาพเครียดออสโมติกมีระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีการสะสมน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และน้ำหนักแห้งรวมเพิ่มขึ้นตาม แสดงถึงกลไกการตอบสนองความสามารถในการเจริญเติบโตของพืชภายใต้สภาพเครียดออสโมติก ในขณะที่ Singandhupe et al. (2003) ได้รายงานว่า การให้น้ำในปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต เป็นสาเหตุให้พืชได้รับความเครียดจากการขาดน้ำ ซึ่งส่งผลกระทบต่อกระบวนการต่าง ๆ ทางด้านสรีรวิทยา ทำให้น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือรากและน้ำหนักแห้งของรากลดลง เป็นไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาของ Ismail et al. (2007) รายงานว่า พืชที่ได้รับความเครียดจากการขาดน้ำ มีการเจริญเติบโตลดลงส่งผลให้น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือรากลดลงตาม เนื่องจากน้ำมีความสำคัญในการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีความสามารถในการทนทานต่อสภาพเครียดออสโมติก มีการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* สูงขึ้น สามารถตีความได้ว่า เมื่อต้นกล้าข้าวโพดได้รับความเครียด สามารถชักนำให้มีการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* เพิ่มขึ้น เพื่อเร่งการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลสภายในเซลล์ และปกป้องเซลล์ให้เสียหายน้อยที่สุดเมื่ออยู่ในสภาพเครียด แสดงให้เห็นถึงบทบาทที่สำคัญในการตอบสนองต่อความเครียดดังกล่าว (Iordachescu and Imai, 2008) ดังนั้น จึงนำทั้ง 4 ลักษณะที่นำเสนอมาแทนสูตรดัชนีความทนทานต่อความเครียด แล้วนำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและวิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) และแบบเฉพาะ (SCA) ในลำดับถัดไป

ผลการทดลองที่ 2.2 ผลการวิเคราะห์ของดัชนีความทนทานต่อความเครียด

ผลการทดลองที่ 2.2.1 ผลการวิเคราะห์สถิติพรรณนาของดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ

จากการวิเคราะห์สถิติพรรณนาของดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะฟีโนไทป์ 4 ลักษณะที่กำหนดไว้ก่อนหน้านี้ ได้แก่ ลักษณะค่าความเขียวใบ (STISPAD) ความสูงของต้นกล้า (STIPH) น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (STIDWshoot) และน้ำหนักแห้งรวม (STIDWtotal) มีค่าเฉลี่ยของดัชนีความทนทานต่อความเครียดของแต่ละลักษณะอยู่ที่ 1.20 0.89 1.16 และ 1.32 ตามลำดับ ซึ่งค่าดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะค่าความเขียวใบ และค่าดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก มีค่าการกระจายตัว (range) ค่อนข้างกว้างเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะอื่น ๆ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า F1 progenies ที่ได้มีลักษณะแปรปรวนแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อตรวจสอบการกระจายตัวของชุดข้อมูลผ่านค่าความเบ้ (skewness) พบว่า ทั้ง 4 ลักษณะมีการกระจายตัวปกติ มีค่าการกระจายตัว (Skewness) อยู่ที่ 0.64 0.37 0.84 และ -0.22 (ตารางที่ 6) ดังนั้น จึงนำชุดข้อมูลตัวแปรตามทั้ง 4 ลักษณะมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนในลำดับถัดไป

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ค่าสถิติพรรณนาของดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ : ค่าความเขียวใบ (STISPAD) ความสูงของต้นกล้า (STIPH) น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (STIDWshoot) และน้ำหนักแห้งรวม (STIDWtotal)

	STISPAD	STIPH	STIDWshoot	STIDWtotal
Mean	1.20	0.89	1.16	1.32
Standard Error	0.05	0.02	0.04	0.03
Skewness	0.64	0.37	0.84	-0.22
Range	2.19	0.88	2.19	1.29
Minimum	0.46	0.47	0.39	0.60
Maximum	2.65	1.35	2.58	1.89
Count	96	96	96	96

ผลการทดลองที่ 2.2.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัวของดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัวของดัชนีความทนทานต่อความเครียดทั้ง 4 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของค่าความเขียวใบ (STISPAD) ลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของความสูงของต้นกล้า (STIPH) ลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (STIDWshoot) และลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของน้ำหนักแห้งรวม (STIDWtotal) ผลปรากฏว่า อิทธิพลของคู่ผสม (Crosses) สายพันธุ์ (Line) พันธุ์ทดสอบ (Tester) และปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับพันธุ์ทดสอบ (Line×Tester) มีผลทางสถิติต่อทุกลักษณะ เมื่อพิจารณาจากค่า Mean Square ดังแสดงในตารางที่ 7 พบว่า สายพันธุ์ และพันธุ์ทดสอบ เป็นปัจจัยที่มีผลต่อความแปรปรวนของลักษณะทางพันธุกรรมมากที่สุด โดยมีค่า Mean Square สูง และมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.001$ ทั้ง 4 ลักษณะที่ศึกษา ซึ่งหมายความว่า ลักษณะทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ และ พันธุ์ทดสอบ มีบทบาทสำคัญต่อลักษณะที่ดีของลูกผสม นอกจากนี้ ยังพบอีกว่า คู่ผสมมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อความแปรปรวนของลักษณะทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า การคัดเลือกพ่อแม่ที่เหมาะสมมีผลต่อลักษณะที่ดีของลูกผสม สำหรับปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับพันธุ์ทดสอบ พบว่า มีผลต่อความแปรปรวนของทั้ง 4 ลักษณะ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ผลดังกล่าวมีค่า Mean Square น้อยกว่าปัจจัยหลักแต่ละปัจจัย กล่าวคือ การจับคู่ระหว่างสายพันธุ์กับพันธุ์ทดสอบมีอิทธิพลต่อลักษณะที่ดีของลูกผสม แต่ผลกระทบจากสายพันธุ์หรือพันธุ์ทดสอบมีความสำคัญมากกว่าในการกำหนดความแปรปรวนของลักษณะทางพันธุกรรม นอกจากนี้ ค่าความคลาดเคลื่อน (Error) ที่อยู่ในระดับต่ำสำหรับทุกตัวแปรในการทดลองแสดงให้เห็นถึงความน่าเชื่อถือของข้อมูลที่ได้ อีกทั้งยังสะท้อนว่า ความแปรปรวนที่ตรวจพบมีแนวโน้มที่จะเกิดจากปัจจัยทางพันธุกรรมเป็นหลักมากกว่าความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากกระบวนการทดลอง สรุปได้ว่า การเลือกสายพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์ทดสอบอย่างเหมาะสมมีบทบาทสำคัญต่อความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์พืช และสามารถนำผลจากการศึกษานี้ไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาสายพันธุ์ที่มีลักษณะพึงประสงค์ได้อย่างมีประสิทธิภาพในอนาคต

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัวของดัชนีทนทานต่อความเครียดของลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ

SOV	df	Mean Square			
		STISPAD	STIPH	STIDWshoot	STIDWtotal
Replication	1	0.0018	0.0074	0.0056	0.0000
Crosses	47	0.4389***	0.0512***	0.3014***	0.1520***
Lines	11	0.6961***	0.1081***	0.3182***	0.2837***
Testers	3	0.7719***	0.2100***	0.6856***	0.4098***
Lines X Testers	33	0.3229***	0.0178***	0.2609***	0.0847***
Error	47	0.0022	0.0031	0.0238	0.0045

หมายเหตุ : *** : มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.001$

ผลการทดลองที่ 2.2.3 ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (General combining ability) ของดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ

การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (General Combining Ability: GCA) ของสายพันธุ์ (Line) ทั้ง 12 สายพันธุ์ พบว่า แต่ละสายพันธุ์ให้ค่า GCA ที่เป็นบวก และมีนัยสำคัญทางสถิติในหลายลักษณะ ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงอิทธิพลทางพันธุกรรมแบบบวกสะสม (additive gene action) มีบทบาทสำคัญในการควบคุมลักษณะดังกล่าว จากผลการวิเคราะห์พบว่า ลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของค่าความเขียวใบ (STISPAD) สายพันธุ์ Grp5-3-1S1 มีค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปสูงที่สุดอยู่ที่ 0.562 ($P \leq 0.01$) รองลงมาคือ สายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 และ Grp2-1-1S1 แสดงค่า GCA อยู่ที่ 0.300 ($P \leq 0.01$) และ 0.175 ($P \leq 0.01$) ซึ่งค่าดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้ง 3 สายพันธุ์มีศักยภาพในการถ่ายทอดลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของค่าความเขียวใบได้ดีเมื่อเทียบกับทั้ง 12 สายพันธุ์ แต่ในทางกลับกันสายพันธุ์ Grp2-6-1S1 และ Grp2-3-1S1 ให้ค่า GCA ติดลบสูงสุดอยู่ที่ -0.420 ($P \leq 0.01$) และ -0.411 ($P \leq 0.01$) ซึ่งสะท้อนถึงแนวโน้มการถ่ายทอดลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของค่าความเขียวใบในทิศทางที่ลดลง ในขณะที่ลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของค่าความสูงของต้นกล้า (STIPH) พบว่า สายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 แสดงค่า GCA สูงสุดที่ 0.227 ($P \leq 0.01$) รองลงมาคือ สายพันธุ์ Grp6-3-2S1-5 มีค่า GCA เท่ากับ 0.145 ($P \leq 0.01$) ในตรงกันข้ามสายพันธุ์ Grp2-6-1S1 มีค่า GCA ติดลบมากที่สุด (-0.165) แสดงถึงแนวโน้มการถ่ายทอดลักษณะความสูงของต้นกล้าภายใต้

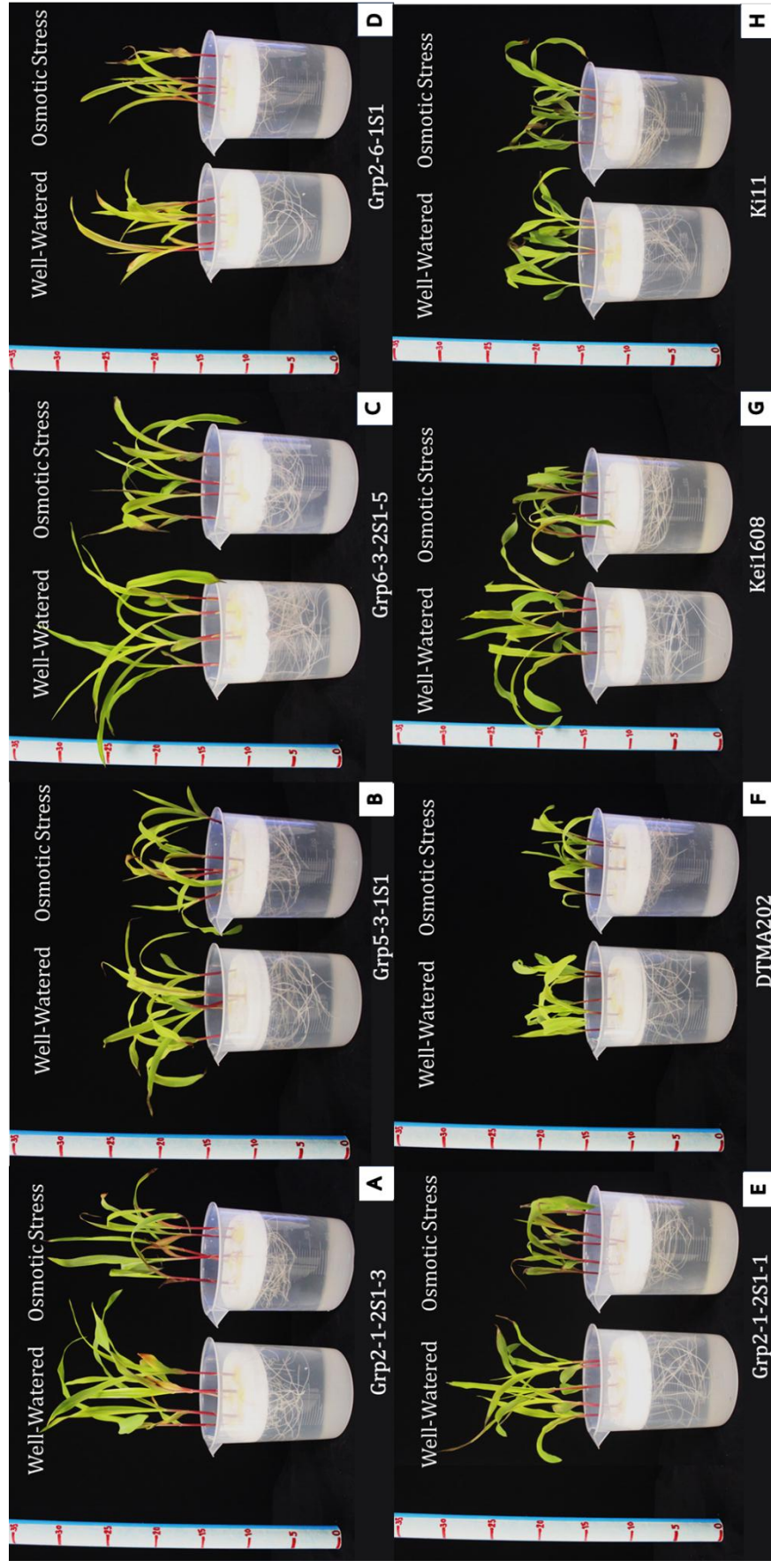
สภาพเครียดออสโมติกลดลง สำหรับลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (STIDWshoot) และลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของน้ำหนักแห้งรวม (STIDWtotal) พบว่าสายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 และ สายพันธุ์ Grp6-3-2S1-5 มีค่า GCA สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งสองลักษณะ โดยเฉพาะสายพันธุ์ Grp6-3-2S1-5 ซึ่งมีค่า GCA สูงสุดในลักษณะ STIDWtotal (0.244) ขณะที่สายพันธุ์ Grp2-6-1S1 แสดงค่า GCA ติดลบอย่างชัดเจนในทั้งสองลักษณะแสดงค่า GCA ที่ -0.489 ($P \leq 0.01$) และ -0.463 ($P \leq 0.01$) ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความดีเด่นของสายพันธุ์ที่เป็นผู้รวมตัวที่ดีของทั้ง 4 ลักษณะ ดังแสดงในตารางที่ 8 จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 (ภาพที่ 14A), สายพันธุ์ Grp5-3-1S1 (ภาพที่ 14B) และ สายพันธุ์ Grp6-3-2S1-5 (ภาพที่ 14C) ให้ค่า GCA ของทั้ง 4 ลักษณะมีค่าเป็นบวกและมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ซึ่งเป็นลักษณะทางสัณฐานที่สะท้อนถึงการเจริญเติบโตที่ดีของต้นกล้า ในขณะที่สายพันธุ์ Grp2-6-1S1 (ภาพที่ 14D) และ สายพันธุ์ Grp2-1-2S1-1 (ภาพที่ 14E) ให้ค่า GCA ของทั้ง 4 ลักษณะมีค่าเป็นลบและมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ถูกจัดเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อสภาพเครียดออสโมติก อาจพิจารณานำมาใช้เป็นพันธุ์อ่อนแอในการศึกษาได้ในอนาคต

ในขณะที่ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) ของพันธุ์ทดสอบ (Tester) ทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่า DTMA202 (ภาพที่ 14F) มีค่า GCA ติดลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ในลักษณะ STISPAD (-0.251) และ STIDWShoot (-0.218) รวมถึง STIDWtotal (-0.187) และ STIPH (-0.129) ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงแนวโน้มการถ่ายทอดลักษณะเชิงลบ โดยเฉพาะลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการสร้างชีวมวลของต้นและการคงสภาพของคลอโรฟิลล์ในทางตรงกันข้าม สายพันธุ์ Kei1608 (ภาพที่ 14G) ให้ค่า GCA เป็นบวกและมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ในลักษณะ STIPH (0.088) STIDWShoot (0.153) และ STIDWtotal (0.103) แสดงถึงศักยภาพในการถ่ายทอดลักษณะด้านการเจริญเติบโตและการสร้างชีวมวลภายใต้สภาพเครียดออสโมติกเช่นเดียวกับสายพันธุ์ Ki11 (ภาพที่ 14H) แสดงค่า GCA เป็นบวกและมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ในลักษณะ STISPAD (0.080) STIPH (0.044) และ STIDWShoot (0.113) บ่งชี้ถึงศักยภาพในการถ่ายทอดที่ดีของลักษณะการรักษาความเขียวของใบ ด้านการพัฒนาของต้นกล้า และการสะสมชีวมวลในระยะเริ่มต้นของการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในขณะที่สายพันธุ์ Ki48 แสดงค่า GCA สูงที่สุดในลักษณะ STISPAD อยู่ที่ 0.164 ($P \leq 0.01$) แสดงให้เห็นว่า สายพันธุ์ดังกล่าวมีศักยภาพในการเป็นผู้รวมตัวทั่วไปที่ดี (good general combiner) ในการถ่ายทอดลักษณะความเขียวใบให้รุ่นลูก F1 อย่างไรก็ตาม สายพันธุ์ดังกล่าวมีความดีเด่นเฉพาะลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการรักษาความเขียวของใบ จากการพิจารณาความสามารถในการรวมตัวของทั้ง 4 ลักษณะร่วมกัน ชี้ให้เห็นว่าสายพันธุ์ Kei1608 และ Ki11 มีค่า GCA สูงหลายลักษณะสามารถสะท้อนให้เห็นถึงบทบาทของยีนแบบบวก (additive

gene effect) ในการควบคุมลักษณะดังกล่าว และเมื่อพิจารณาค่าอัตราส่วนของความเข้มข้นของรากและใบ (ตารางที่ 5) จะพบว่า สายพันธุ์ Kei1608 และ สายพันธุ์ Ki11 อยู่ในกลุ่มที่ให้ค่าดังกล่าวสูง มีค่าสูงถึง 1.420 และ 1.335 ตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพเครียดออสโมติกที่ดี การใช้พันธุ์ทดสอบที่มีความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปสูง จะส่งผลให้ลูกผสมส่วนใหญ่มีลักษณะที่ดี (Castellanos et al., 1998)

จากผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป สรุปได้ว่า สายพันธุ์ Grp5-3-1S1, Grp2-1-2S1-3, Grp6-3-2S1-5, Kei1608 และ Ki11 มีความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปสูง แสดงศักยภาพการถ่ายทอดลักษณะที่สำคัญเกี่ยวข้องกับความความสามารถในการทนแล้ง ควรนำสายพันธุ์เหล่านี้ไปทดสอบในระดับแปลงปลูก และควรได้รับการพัฒนาสายพันธุ์สำหรับใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดทนแล้งต่อไป





ภาพที่ 14 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดภายใต้สภาวะปกติและภายใต้ความเครียดของสเต็มติของแต่ละสายพันธุ์

ตารางที่ 8 การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) ของดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ

Lines/Tester		GCA estimates for			
		STISPAD	STIPH	STIDWshoot	STIDWtotal
Lines	Grp2-1-1S1 (L1)	0.175**	-0.065**	0.150*	0.032
	Grp2-1-2S1-1 (L2)	-0.130**	-0.110**	-0.189**	-0.132**
	Grp2-1-2S1-2 (L3)	-0.007	-0.085**	0.043	0.071**
	Grp2-1-2S1-3 (L4)	0.300**	0.227**	0.231**	0.153**
	Grp2-3-1S1 (L5)	-0.411**	-0.012	-0.036	0.058*
	Grp2-6-1S1 (L6)	-0.420**	-0.165**	-0.489**	-0.463**
	Grp3-1-S1 (L7)	-0.107**	-0.057*	-0.159*	-0.059*
	Grp3-13-1S1 (L8)	0.150**	-0.073**	0.017	0.164**
	Grp4-4-2S1-1 (L9)	-0.321**	0.031	0.076	-0.050*
	Grp4-7-S1-1 (L10)	0.111**	0.053*	0.055	-0.138**
	Grp5-3-1S1 (L11)	0.562**	0.112**	0.192**	0.120**
	Grp6-3-2S1-5 (L12)	0.098**	0.145**	0.111*	0.244**
Testers	DTMA202 (T1)	-0.251**	-0.129**	-0.218**	-0.187**
	Kei1608 (T2)	0.008	0.088**	0.153**	0.103**
	Ki11 (T3)	0.080**	0.044**	0.113**	0.011
	Ki48 (T4)	0.164**	-0.003	-0.048	0.074**

หมายเหตุ : *, ** แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$ และ $P \leq 0.01$ ตามลำดับ

**ผลการทดลองที่ 2.2.4 ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะ
(Specific combining ability) ของดัชนีทนทานต่อ
ความเครียดของลักษณะฟีนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ**

ผลการวิเคราะห์ค่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะเจาะจง (Specific Combining Ability; SCA) แสดงในตารางที่ 9 ในการศึกษาเน้นที่การวิเคราะห์ความสามารถของลูกผสมข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 48 คู่ โดยประเมินจากดัชนีความทนทานต่อความเครียดของลักษณะฟีนไทป์ 4 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของค่าความเขียวใบ (STISPAD) ลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของความสูงของต้นกล้า (STIPH) ลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (STIDWshoot) และลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของน้ำหนักแห้งรวม (STIDWtotal) จากผลการวิเคราะห์ค่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งที่ระดับ $P \leq 0.05$ และ $P \leq 0.01$ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนที่มีนัยสำคัญทางสถิติในหลายคู่ผสม ซึ่งสะท้อนถึงบทบาทของยีนแบบไม่บวกสะสม (non-additive gene action) ที่ส่งผลต่อความแปรปรวนของลักษณะภายใต้สภาพเครียดออสโมติก

จากผลการวิเคราะห์พบว่า คู่ผสมที่แสดงค่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะในระดับสูง และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของค่าความเขียวใบ (STISPAD) ได้แก่ คู่ผสม Grp5-3-1S1×Ki48 (0.691) Grp3-1-S1×Ki11 (0.648) Grp2-3-1S1×DTMA202 (0.623) Grp4-4-2S1-1×DTMA202 (0.605) Grp2-1-2S1-3×Ki11 (0.483) ให้ค่า SCA สูงที่สุด 5 อันดับแรก และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$ ซึ่งบ่งชี้ว่า ลูกผสมเหล่านี้มีความสามารถในการคงความเขียวใบภายใต้สภาวะเครียดได้ดี โดยค่าความเขียวใบเป็นตัวแปรสำคัญที่สัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงและการสะสมพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต ในขณะที่ลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของความสูงของต้นกล้า (STIPH) พบว่า คู่ผสมที่ให้ค่า SCA สูงที่สุด ได้แก่ คู่ผสม Grp2-3-1S1×DTMA202 (0.182**) และคู่ผสม Grp5-3-1S1×Ki11 (0.131**) ให้ค่า SCA ที่สูงรองลงมาสำหรับค่าความสูงของต้นกล้าที่เพิ่มขึ้นเป็นตัวบ่งชี้ถึงความสามารถของพืชในการฟื้นตัวและพัฒนาในระยะต้นกล้า ซึ่งถือเป็นระยะวิกฤติต่อการรอดชีวิตของข้าวโพดในช่วงเริ่มปลูก โดยเฉพาะในสภาพเครียดจากการขาดน้ำ การที่คู่ผสมเหล่านี้แสดงค่า SCA สูงจึงสะท้อนถึงศักยภาพของพันธุกรรมในการควบคุมลักษณะดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในทางตรงกันข้าม บางคู่ผสมกลับให้ค่า SCA ติดลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่น Grp5-3-1S1×DTMA202 ให้ค่า STISPAD เท่ากับ -0.770 โดยค่าดังกล่าวเป็นค่าที่ต่ำที่สุดในลักษณะนี้ ซึ่งสะท้อนถึงความไม่เหมาะสมของการผสมระหว่างสายพันธุ์ทั้ง

สองภายใต้สภาพแวดล้อมที่มีความเครียดสูง ผลลัพธ์นี้อาจเกิดจากการแสดงออกของยีนบางกลุ่มที่ไปลดความสามารถของพืชในการรักษาความเขียวของใบ หรืออาจมีการปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนที่ส่งผลในทางลบ (negative epistasis) ทำให้ลักษณะที่ควรได้รับการส่งเสริมกลับลดลงในรุ่นลูกผสม สอดคล้องกับแนวคิดของ Falconer (1996) ที่ระบุว่า ยีนแบบไม่บวกสะสมและปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในการควบคุมลักษณะภายใต้สภาพแวดล้อมที่มีข้อจำกัด สำหรับลักษณะน้ำหนักแห้งส่วนเหนือราก (STIDWshoot) ซึ่งสะท้อนว่า พืชสามารถรักษาการสร้างชีวมวลในส่วนที่เป็นใบ ลำต้น ได้แม้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่จำกัด พบว่า คู่ผสม Grp2-1-1S1×Ki11 ซึ่งให้ค่า SCA สูงถึง 0.837 ($P \leq 0.01$) และเป็นค่าที่สูงที่สุดในลักษณะนี้ทั้งหมด แสดงให้เห็นว่า Ki11 เมื่อผสมกับ Grp2-1-1S1 มีแนวโน้มที่จะเกิดปฏิสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างยีนที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตส่วนเหนือราก ภายใต้สภาพแวดล้อมที่จำกัด และ อีกคู่ผสมที่โดดเด่นมาก คือ คู่ผสม Grp3-13-1S1×DTMA202 มีค่า SCA สูงรองลงมาเท่ากับ 0.665 ($P \leq 0.01$) แสดงให้เห็นถึงการทำงานร่วมของยีนในรูปแบบ overdominance หรือ epistasis ที่ส่งผลให้ลูกผสมเจริญเติบโตได้ดีแม้ในสภาวะเครียด ซึ่งลักษณะดัชนีความทนทานต่อความเครียดของน้ำหนักแห้งรวม (STIDWtotal) ซึ่งรวมถึงรากและส่วนเหนือราก พบว่า คู่ผสม Grp2-1-1S1×Ki11 ยังคงแสดงค่า SCA สูงที่สุดเท่ากับ 0.335 ($P \leq 0.01$) ซึ่งบ่งบอกว่าคู่ผสมนี้ไม่เพียงแค่สะสมชีวมวลในส่วนเหนือดินได้ดีเท่านั้น แต่ยังมีประสิทธิภาพในการพัฒนารากด้วยเช่นกัน ความสามารถในการพัฒนาโครงสร้างรากที่แข็งแรงมีบทบาทสำคัญต่อการดูดซึมธาตุอาหาร และน้ำภายใต้ความเครียด อีกทั้ง Grp4-4-2S1-1×Ki48 ที่มีค่า SCA รองลงมาเท่ากับ 0.316 ($P \leq 0.01$) นับเป็นอีกคู่ผสมที่มีศักยภาพสูงต่อการพัฒนาเป็นลูกผสม

จากการวิเคราะห์ภาพรวม พบว่า คู่ผสม Grp2-1-2S1-3×Kei1608 (ภาพที่ 15A) ให้ค่า SCA เป็นบวกและสูงทั้ง 4 ลักษณะ ดังแสดงในตารางที่ 9 ความดีเด่นของคู่ผสมนี้เกิดจากการผสมระหว่างสายพันธุ์และพันธุ์ทดสอบที่มีความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปสูง คู่ผสมที่ดีส่วนใหญ่มีมาจากสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการรวมตัวสูง และสายพันธุ์ที่นำมาผสมควรมาจากแหล่งพันธุกรรมที่แตกต่างกัน จะช่วยให้ลูกผสมที่ได้มีความดีเด่นแตกต่างกันออกไป (Phumichai et al., 2008) นอกจากนี้ ยังมีคู่ผสมบางคู่มีค่า SCA สูงในหลายลักษณะพร้อมกัน เช่น คู่ผสม Grp6-3-2S1-5×Ki48 (ภาพที่ 15B) และ Grp4-4-2S1-1×Ki48 (ภาพที่ 15C) แสดงให้เห็นถึง heterotic effect ที่เด่นชัด ซึ่งมีศักยภาพในการนำไปใช้ต่อยอดเป็นสายพันธุ์ลูกผสมเชิงพาณิชย์ที่เหมาะสมกับการผลิต ภายใต้สภาพแวดล้อมที่จำกัด และยังพบอีก 3 คู่ผสมที่น่าสนใจ คือ คู่ผสม Grp5-3-1S1×Ki11 (ภาพที่ 15D) Grp2-6-1S1×Ki48 (ภาพที่ 15E) และ Grp2-1-2S1-1×Kei1608 (ภาพที่ 15F) มีค่า SCA เป็นบวกและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งให้เห็นว่า คู่ผสมดังกล่าวมีความสามารถในการสร้างลูกผสมที่มีลักษณะดีในหลายลักษณะ



ภาพที่ 15 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดภายใต้สภาวะปกติและภายใต้ความเครียดออสโมติกของแต่ละคู่ผสม

ตารางที่ 9 การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะเจาะจง (SCA) ของดัชนีทนทานต่อ
ความเครียดของลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ

Number	Crosses	SCA estimates for			
		STISPAD	STIPH	STIDWshoot	STIDWtotal
1	Grp2-1-1S1×DTMA202	0.178**	0.061	-0.309*	-0.148**
2	Grp2-1-2S1-1×DTMA202	-0.025	-0.163**	-0.320*	-0.216**
3	Grp2-1-2S1-2×DTMA202	-0.112**	0.033	-0.166	-0.045
4	Grp2-1-2S1-3×DTMA202	-0.616**	-0.128**	-0.185	0.035
5	Grp2-3-1S1×DTMA202	0.623**	0.182**	0.184	0.079
6	Grp2-6-1S1×DTMA202	0.324**	0.048	0.067	0.132*
7	Grp3-1-S1×DTMA202	-0.217**	0.027	0.041	0.137*
8	Grp3-13-1S1×DTMA202	0.271**	0.095*	0.665**	-0.02
9	Grp4-4-2S1-1×DTMA202	0.605**	-0.074	0.174	0.126*
10	Grp4-7-S1-1×DTMA202	0.188**	0.049	0.065	-0.004
11	Grp5-3-1S1×DTMA202	-0.770**	0.017	0.031	0.167**
12	Grp6-3-2S1-5×DTMA202	-0.449**	-0.146**	-0.249*	-0.245**
13	Grp2-1-1S1×Kei1608	0.072*	0.018	-0.226*	-0.106*
14	Grp2-1-2S1-1×Kei1608	-0.205**	0.084*	0.245*	0.241**
15	Grp2-1-2S1-2×Kei1608	0.241**	-0.039	0.011	-0.150**
16	Grp2-1-2S1-3×Kei1608	0.337**	0.116*	0.617**	0.190**
17	Grp2-3-1S1×Kei1608	-0.031	-0.047	0.194	0.153**
18	Grp2-6-1S1×Kei1608	-0.027	-0.011	-0.239*	-0.086
19	Grp3-1-S1×Kei1608	-0.504**	-0.01	-0.104	-0.292**
20	Grp3-13-1S1×Kei1608	0.06	-0.077	-0.02	0.114*
21	Grp4-4-2S1-1×Kei1608	-0.391**	0.016	-0.358**	-0.235**
22	Grp4-7-S1-1×Kei1608	0.018	0.009	0.018	0.211**
23	Grp5-3-1S1×Kei1608	0.457**	-0.113*	-0.448**	-0.176**
24	Grp6-3-2S1-5×Kei1608	-0.026	0.053	0.309*	0.137*

หมายเหตุ : *, ** : มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$ และ $P \leq 0.01$ ตามลำดับ

ตารางที่ 9 การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะเจาะจง (SCA) ของดัชนีทนทานต่อ
ความเครียดของลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ (ต่อ)

Number	Crosses	SCA estimates for			
		STISPAD	STIPH	STIDWshoot	STIDWtotal
25	Grp2-1-1S1×Ki11	-0.084*	-0.054	0.837**	0.335**
26	Grp2-1-2S1-1×Ki11	0.364**	0.069	0.096	0.100*
27	Grp2-1-2S1-2×Ki11	0.163**	-0.064	0.139	0.202**
28	Grp2-1-2S1-3×Ki11	0.483**	-0.026	0.093	0.044
29	Grp2-3-1S1×Ki11	-0.401**	-0.052	-0.379**	-0.309**
30	Grp2-6-1S1×Ki11	-0.185**	-0.128**	-0.246*	-0.239**
31	Grp3-1-S1×Ki11	0.648**	0.072	0.019	0.135*
32	Grp3-13-1S1×Ki11	-0.148**	-0.034	-0.405**	-0.106*
33	Grp4-4-2S1-1×Ki11	-0.341**	0.037	-0.208	-0.208**
34	Grp4-7-S1-1×Ki11	-0.263**	0.072	0.101	-0.034
35	Grp5-3-1S1×Ki11	-0.378**	0.131**	0.391**	0.178**
36	Grp6-3-2S1-5×Ki11	0.141**	-0.022	-0.440**	-0.100*
37	Grp2-1-1S1×Ki48	-0.166**	-0.025	-0.302*	-0.081
38	Grp2-1-2S1-1×Ki48	-0.134**	0.01	-0.022	-0.125*
39	Grp2-1-2S1-2×Ki48	-0.293**	0.069	0.015	-0.007
40	Grp2-1-2S1-3×Ki48	-0.204**	0.038	-0.526**	-0.269**
41	Grp2-3-1S1×Ki48	-0.190**	-0.083*	0.001	0.076
42	Grp2-6-1S1×Ki48	-0.112**	0.091*	0.418**	0.194**
43	Grp3-1-S1×Ki48	0.074*	-0.088*	0.043	0.02
44	Grp3-13-1S1×Ki48	-0.183**	0.016	-0.240*	0.011
45	Grp4-4-2S1-1×Ki48	0.127**	0.022	0.391**	0.316**
46	Grp4-7-S1-1×Ki48	0.057	-0.131**	-0.184	-0.173**
47	Grp5-3-1S1×Ki48	0.691**	-0.036	0.026	-0.169**
48	Grp6-3-2S1-5×Ki48	0.334**	0.115*	0.380**	0.208**

หมายเหตุ : *, ** : มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$ และ $P \leq 0.01$ ตามลำดับ

ผลการทดลองที่ 2.3 ผลการวิเคราะห์ความสามารถการเจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ

ผลการทดลองที่ 2.3.1 ผลการวิเคราะห์สถิติพรรณนาของความสามารถการเจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ

จากการวิเคราะห์สถิติพรรณนาของความสามารถการเจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติทั้ง 4 ลักษณะที่กำหนดไว้ก่อนหน้านี้ ได้แก่ ลักษณะค่าความเขียวใบ (SPAD) ความสูงของต้นกล้า (PH) น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (DWshoot) และน้ำหนักแห้งรวม (DWtotal) มีค่าเฉลี่ยของแต่ละลักษณะอยู่ที่ 19.35 SPAD unit 22.75 เซนติเมตร 0.07 กรัม และ 0.19 กรัม ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าพิสัย (range) พบว่า ลักษณะค่าความเขียวใบ และลักษณะความสูงของต้นกล้า มีการกระจายตัวค่อนข้างกว้างเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะอื่น ๆ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า F1 progenies ที่ได้มีลักษณะแปรปรวนแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อตรวจสอบการกระจายตัวของชุดข้อมูลผ่านค่าความเบ้ (skewness) พบว่า ทั้ง 4 ลักษณะมีการกระจายตัวปกติ มีค่าการกระจายตัว (Skewness) อยู่ที่ 0.19 0.45 -0.13 และ -0.58 ตามลำดับ (ตารางที่ 10) ดังนั้น จึงนำชุดข้อมูลตัวแปรตามทั้ง 4 ลักษณะมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนในลำดับถัดไป

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ค่าสถิติพรรณนาของความสามารถการเจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ

	SPAD	PH (เซนติเมตร)	DWshoot (กรัม)	DWtotal (กรัม)
Mean	19.35	22.75	0.07	0.19
Standard Error	0.43	0.23	0.00	0.00
Skewness	0.19	0.45	-0.13	-0.58
Range	16.40	11.10	0.06	0.11
Minimum	12.40	17.34	0.04	0.12
Maximum	28.80	28.44	0.10	0.23
Count	96	96	96	96

ผลการทดลองที่ 2.3.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถการ

เจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัวของคู่ผสมในการเจริญเติบโตของต้นกล้าในสภาพปกติ (ตารางที่ 11) แสดงให้เห็นว่า อิทธิพลของคู่ผสม (Crosses) สายพันธุ์ (Line) พันธุ์ทดสอบ (Tester) และปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับพันธุ์ทดสอบ (Line×Tester) มีค่า Mean Square ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.001$) ทั้ง 4 ลักษณะ ได้แก่ ค่าความเขียวของใบ (SPAD), ความสูงของต้นกล้า (PH), น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (DWshoot) และน้ำหนักแห้งรวม (DWtotal) ซึ่งชี้ให้เห็นถึงการรวมตัวของคู่ผสมที่ส่งผลอย่างชัดเจนต่อการแสดงออกของลักษณะฟีโนไทป์ในระยะต้นกล้า

ทั้งนี้ จากการพิจารณาค่าความแปรปรวนเฉลี่ย (Mean Square) แล้วพบว่า สายพันธุ์ (Line) และพันธุ์ทดสอบ (Tester) ทั้งสองปัจจัยนี้มีค่า Mean Square ที่สูงและมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.001$ ทั้ง 4 ลักษณะที่ศึกษาเป็นปัจจัยที่มีผลต่อความแปรปรวนของลักษณะทางพันธุกรรมมากที่สุด สะท้อนถึงความสำคัญของการคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ที่มีค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (General combining ability) GCA สูงอาจถ่ายทอดลักษณะที่ดีไปยังลูกผสมได้ดีกว่า เช่นเดียวกับคู่ผสม (Crosses) มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อความแปรปรวนของลักษณะทั้งหมด อีกทั้งปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับพันธุ์ทดสอบ (Line×Tester) พบว่ามีผลต่อความแปรปรวนของทั้ง 4 ลักษณะ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงถึงความสำคัญความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะ (Specific Combining Ability: SCA) ซึ่งชี้ให้เห็นว่า การคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่บางคู่ผสมมีผลส่งเสริมต่อกันอย่างเฉพาะเจาะจงในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยรวมแล้วผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าทั้งค่า GCA และ SCA มีบทบาทสำคัญต่อลักษณะการเจริญเติบโตของต้นกล้า ในขณะที่ค่าความคลาดเคลื่อน (Error) อยู่ในระดับต่ำที่สุดสำหรับทุกตัวแปรในการทดลอง แสดงให้เห็นถึงความน่าเชื่อถือและความแม่นยำของข้อมูลที่ได้ อีกทั้งยังสะท้อนให้เห็นว่าความแปรปรวนที่ตรวจพบเกิดจากความแตกต่างของสายพันธุ์ได้อย่างชัดเจน ขณะเดียวกันการทำซ้ำของการทดลอง (Replication) ยังชี้ให้เห็นว่า ปัจจัยด้านการทำซ้ำไม่มีอิทธิพลต่อค่าการเจริญเติบโตของต้นกล้า กล่าวคือ ผลการทดลองมีความคงที่แม้จะทำซ้ำหลายครั้ง ผลการวิเคราะห์นี้สรุปได้ว่า การเลือกสายพันธุ์พ่อแม่มีบทบาทสำคัญต่อความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์พืช ส่งผลให้เกิดความหลากหลายในการเจริญเติบโตของต้นกล้า ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะเป็นพื้นฐานสำคัญในการพัฒนาสายพันธุ์ให้มีประสิทธิภาพในอนาคต

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัวของการเจริญเติบโตของ
คู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ

SOV	df	Mean Square			
		SPAD	PH	DWshoot	DWtotal
Replication	1	1.0838	0.948	0.00000	0.00000
Crosses	47	35.6459***	9.8059***	0.00034***	0.00090***
Lines	11	54.8762***	20.7871***	0.00059***	0.00185***
Testers	3	75.6119***	28.2464***	0.00069***	0.00250***
Lines X Testers	33	25.6026***	4.4691***	0.00022***	0.00043***
Error	47	0.3199	0.7456	0.00003	0.00004

หมายเหตุ : *** : มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.001$

ผลการทดลองที่ 2.3.3 ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (General combining ability) ของความสามารถ เจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ

จากการศึกษาความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (General Combining Ability: GCA) ภายใต้สภาพปกติ (ตารางที่ 12) พบว่า กลุ่มของสายพันธุ์ (Line) และ พันธุ์ทดสอบ (Tester) มีระดับความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะทางฟีโนไทป์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพิจารณาจากลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ ได้แก่ ค่าความเขียวของใบ (SPAD), ความสูงของต้นกล้า (PH), น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (DWshoot) และน้ำหนักแห้งรวม (DWtotal)

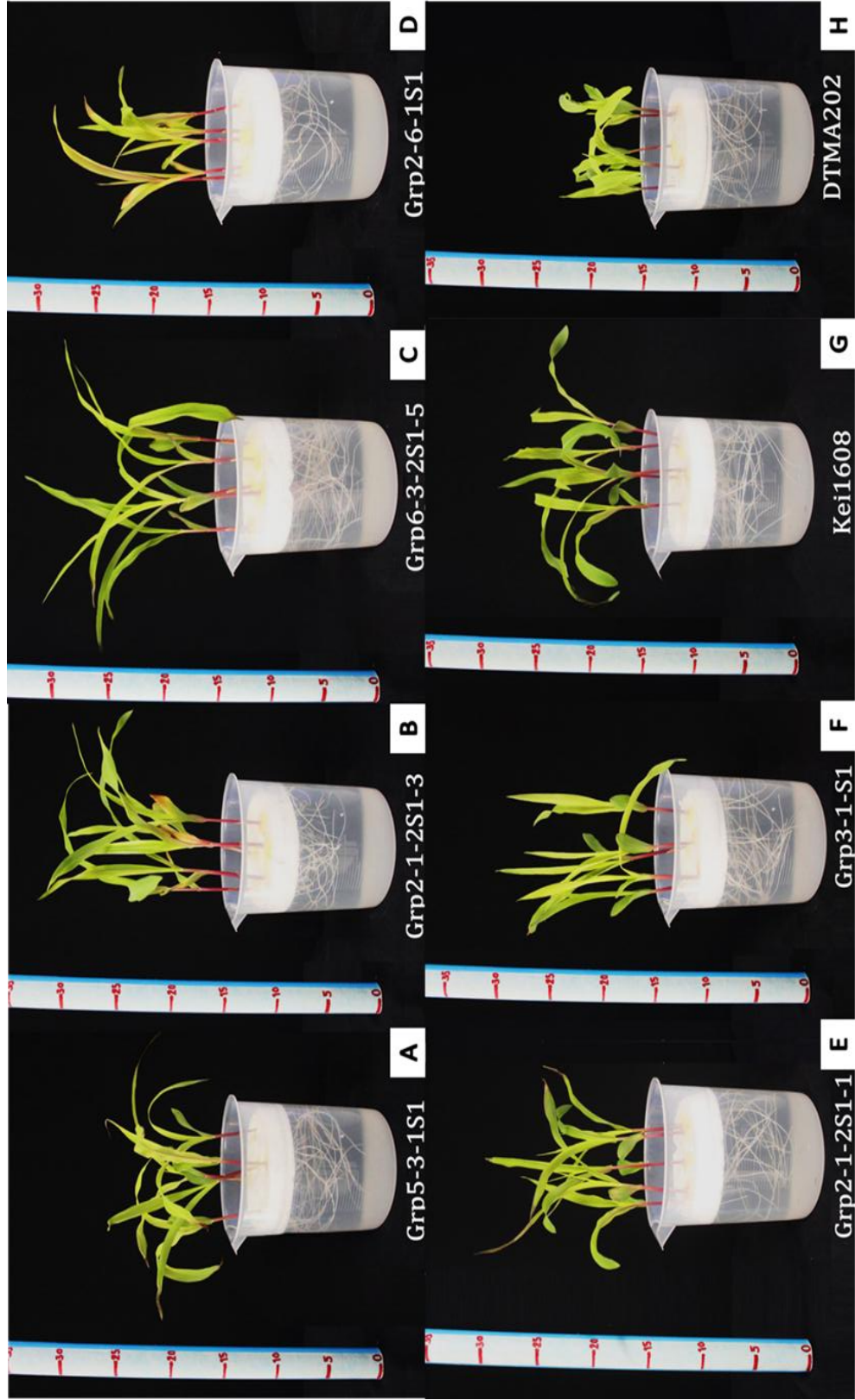
เมื่อทำการประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปของสายพันธุ์ (Line) ทั้ง 12 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ที่แสดงค่า GCA เป็นบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหลายลักษณะนั้น ชี้ให้เห็นถึงการถ่ายทอดทางพันธุกรรมในลักษณะบวกสะสม (additive gene action) ซึ่งมีผลอย่างชัดเจนต่อการควบคุมลักษณะดังกล่าวในรุ่นลูก สำหรับลักษณะค่าความเขียวของใบ (SPAD) สายพันธุ์ที่มีค่า GCA เป็นบวกสูงอย่างมีนัยสำคัญ ได้แก่ สายพันธุ์ Grp5-3-1S1 (4.129**) และ สายพันธุ์ Grp3-13-1S1 (2.804**) ซึ่งแสดงถึงศักยภาพในการถ่ายทอดลักษณะการคงความเขียวของใบในช่วงต้นได้ดี เป็นลักษณะที่สัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง ขณะที่สายพันธุ์ที่มีค่า GCA ติดลบสูงอย่างมีนัยสำคัญ เช่น สายพันธุ์ Grp2-3-1S1 (-3.871**) และ สายพันธุ์ Grp2-6-1S1 (-3.283**) บ่งชี้ถึงแนวโน้มในการถ่ายทอดลักษณะเชิงลบด้านการคงความเขียวของใบในระยะต้น

กล้า ในส่วนของลักษณะความสูงของต้นกล้า (PH) พบว่า สายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 (3.319**) และ สายพันธุ์ Grp6-3-2S1-5 (1.741**) มีค่า GCA เป็นบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการถ่ายทอดความสูงต้นได้ดี ซึ่งอาจสัมพันธ์กับความแข็งแรงของต้นกล้าในช่วงแรกของการเจริญเติบโตทางลำต้น ในขณะที่สายพันธุ์ Grp2-6-1S1 และ สายพันธุ์ Grp2-1-2S1-1 มีค่า GCA ติดลบมากที่สุด (-2.216** และ -1.449** ตามลำดับ) แสดงถึงแนวโน้มในการถ่ายทอดลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความเตี้ยของต้น ซึ่งอาจมีข้อดีหรือข้อเสียขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการปรับปรุงพันธุ์สำหรับลักษณะน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (DWshoot) และ ส่วนลักษณะน้ำหนักแห้งรวม (Dwtotal) เป็นลักษณะที่แสดงถึงปริมาณชีวมวลที่พืชสะสมได้ในช่วงต้นของการเจริญเติบโต ซึ่งเกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์แสงในการผลิตสารชีวมวลจากพลังงานแสงสะท้อนถึงความสามารถในการเปลี่ยนเป็นสารอาหารอย่างมีประสิทธิภาพ พบว่า สายพันธุ์ Grp5-3-1S1 มีค่า GCA สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งสองลักษณะ ซึ่งมีค่า GCA สูงสุดในลักษณะน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (0.011**) และ ส่วนลักษณะน้ำหนักแห้งรวม (0.019**) บ่งชี้ถึงความเหมาะสมในการใช้เป็นสายพันธุ์พ่อแม่ ในการส่งเสริมลักษณะด้านการสร้างชีวมวล ขณะที่สายพันธุ์ Grp2-6-1S1 แสดงค่า GCA ติดลบอย่างชัดเจนในทั้งสองลักษณะแสดงค่า GCA ที่ -0.021 ($P \leq 0.01$) และ -0.040 ($P \leq 0.01$) ตามลำดับ แสดงให้เห็นแนวโน้มในการถ่ายทอดลักษณะเชิงลบในด้านการเจริญเติบโตโดยรวม เมื่อพิจารณาความดีเด่นของสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการถ่ายทอดลักษณะที่ดีทั้ง 4 ลักษณะ ดังแสดงในตารางที่ 8 จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ Grp5-3-1S1 (ภาพที่ 16A), สายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 (ภาพที่ 16B) และ สายพันธุ์ Grp6-3-2S1-5 (ภาพที่ 16C) ให้ค่า GCA ของทั้ง 4 ลักษณะมีค่าเป็นบวกและมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นลักษณะที่สะท้อนถึงการเจริญเติบโตที่ดีของต้นกล้า ในขณะที่สายพันธุ์ Grp2-6-1S1 (ภาพที่ 16D), สายพันธุ์ Grp2-1-2S1-1 (ภาพที่ 16E) และ สายพันธุ์ Grp3-1-1S1 (ภาพที่ 16F) ให้ค่า GCA ของทั้ง 4 ลักษณะมีค่าเป็นลบและมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจมีข้อจำกัดในการนำไปใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์สำหรับเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตในระยะต้นกล้า

ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) ของพันธุ์ทดสอบ (Tester) ทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ DTMA202, Kei1608, Ki11 และ Ki48 แสดงให้เห็นความแตกต่างในศักยภาพการถ่ายทอดลักษณะการเจริญเติบโตในระยะต้นอย่างชัดเจน เมื่อลงรายละเอียดในแต่ละลักษณะ พบว่าในลักษณะค่าความเขียวของใบ (SPAD) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงของพืชนั้น สายพันธุ์ Ki48 ให้ค่า GCA สูงที่สุด (1.800) และมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) รองลงมาคือ สายพันธุ์ Kei1608 ที่ให้ค่า GCA เป็นบวกและมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ขณะที่สายพันธุ์ DTMA202 ให้ค่า GCA เป็นลบมากที่สุด (-2.446**) ซึ่งบ่งชี้ถึงแนวโน้มสะท้อนถึงศักยภาพที่ต่ำในการส่งเสริมลักษณะนี้ ในส่วนของลักษณะความสูงของต้นกล้า (PH) สะท้อนการเจริญเติบโตทางกายภาพ พบว่า สายพันธุ์ Ki11 และ สายพันธุ์ Kei1608 มีค่า GCA เป็นบวกและมี

นัยสำคัญทางสถิติ แสดงถึงแนวโน้มการถ่ายทอดลักษณะความสูงที่ดี ขณะที่ DTMA202 มีค่า GCA ติดลบสูงสุด (-1.456**) แสดงถึงศักยภาพที่ต่ำในการส่งเสริมลักษณะความสูงในรุ่นลูก สำหรับ ลักษณะน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (DWshoot) และ ลักษณะน้ำหนักแห้งรวม (Dwtotal) ซึ่งสะท้อนการเจริญเติบโตและการสะสมชีวมวลโดยรวมของต้นกล้า พบว่า สายพันธุ์ Kei1608 ให้ค่า GCA เป็นบวกสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ทั้ง 2 ลักษณะ มีค่า GCA อยู่ที่ 0.007 และ 0.011 ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามพบว่า สายพันธุ์ DTMA202 มีค่า GCA ติดลบสูงที่สุดและมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) ทั้ง 2 ลักษณะ ให้ค่า GCA อยู่ที่ -0.005 และ -0.013 ตามลำดับ แสดงถึงข้อจำกัดในการถ่ายทอดลักษณะดังกล่าว จากผลการประเมินโดยรวม พบว่า สายพันธุ์ Kei1608 (ภาพที่ 16G) เป็นสายพันธุ์ที่แสดงค่า GCA เป็นบวกในหลายลักษณะ และมีนัยสำคัญทางสถิติในลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความเขียวของใบ ชีวมวล และความสูงของต้นกล้า จึงจัดเป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพดีในการใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดภายใต้สภาพแวดล้อมปกติ ในขณะที่ สายพันธุ์ DTMA202 (ภาพที่ 16H) แสดงค่า GCA ติดลบและมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกลักษณะ ซึ่งสะท้อนถึงข้อจำกัดในด้านศักยภาพทางพันธุกรรมที่ควรพิจารณาในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์

จากผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปสรุปได้ว่า สายพันธุ์ Grp5-3-1S1, Grp2-1-2S1-3, Grp6-3-2S1-5 และ Kei1608 สายพันธุ์ที่แสดงค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) ในระดับสูง สะท้อนให้เห็นถึงศักยภาพในการถ่ายทอดลักษณะสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการทนแล้ง จึงควรได้รับการคัดเลือกเพื่อนำไปประเมินผลเพิ่มเติมในระดับแปลงทดลอง และควรได้รับการพัฒนาให้เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดต่อไป



ภาพที่ 16 แสดงการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดภายใต้สภาวะปกติของแต่ละสายพันธุ์

ตารางที่ 12 การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) ของความสามารถ
เจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ

	Lines/Tester	GCA estimates for			
		SPAD	PH	Dwshoot	Dwttotal
Lines	Grp2-1-1S1 (L1)	2.529**	-1.409**	-0.005*	-0.002
	Grp2-1-2S1-1 (L2)	-1.696**	-1.449**	-0.009**	-0.008**
	Grp2-1-2S1-2 (L3)	0.417*	-1.126**	0.002	0.006*
	Grp2-1-2S1-3 (L4)	1.779**	3.319**	0.005*	0.007**
	Grp2-3-1S1 (L5)	-3.871**	0.529	0.000	0.002
	Grp2-6-1S1 (L6)	-3.283**	-2.216**	-0.021**	-0.040**
	Grp3-1-S1 (L7)	-1.633**	-0.744*	-0.004*	-0.005*
	Grp3-13-1S1 (L8)	2.804**	-0.894*	0.002	0.015**
	Grp4-4-2S1-1 (L9)	-2.846**	0.191	0.006**	-0.002
	Grp4-7-S1-1 (L10)	0.792**	0.539	0.009**	-0.005*
	Grp5-3-1S1 (L11)	4.129**	1.521**	0.011**	0.019**
	Grp6-3-2S1-5 (L12)	0.879**	1.741**	0.004*	0.014**
Tester	DTMA202 (T1)	-2.446**	-1.456**	-0.005**	-0.013**
	Kei1608 (T2)	0.425**	0.657**	0.007**	0.011**
	Ki11 (T3)	0.221	0.974**	0.001	-0.002
	Ki48 (T4)	1.8**	-0.174	-0.003*	0.005**

หมายเหตุ : *, ** : มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$ และ $P \leq 0.01$ ตามลำดับ

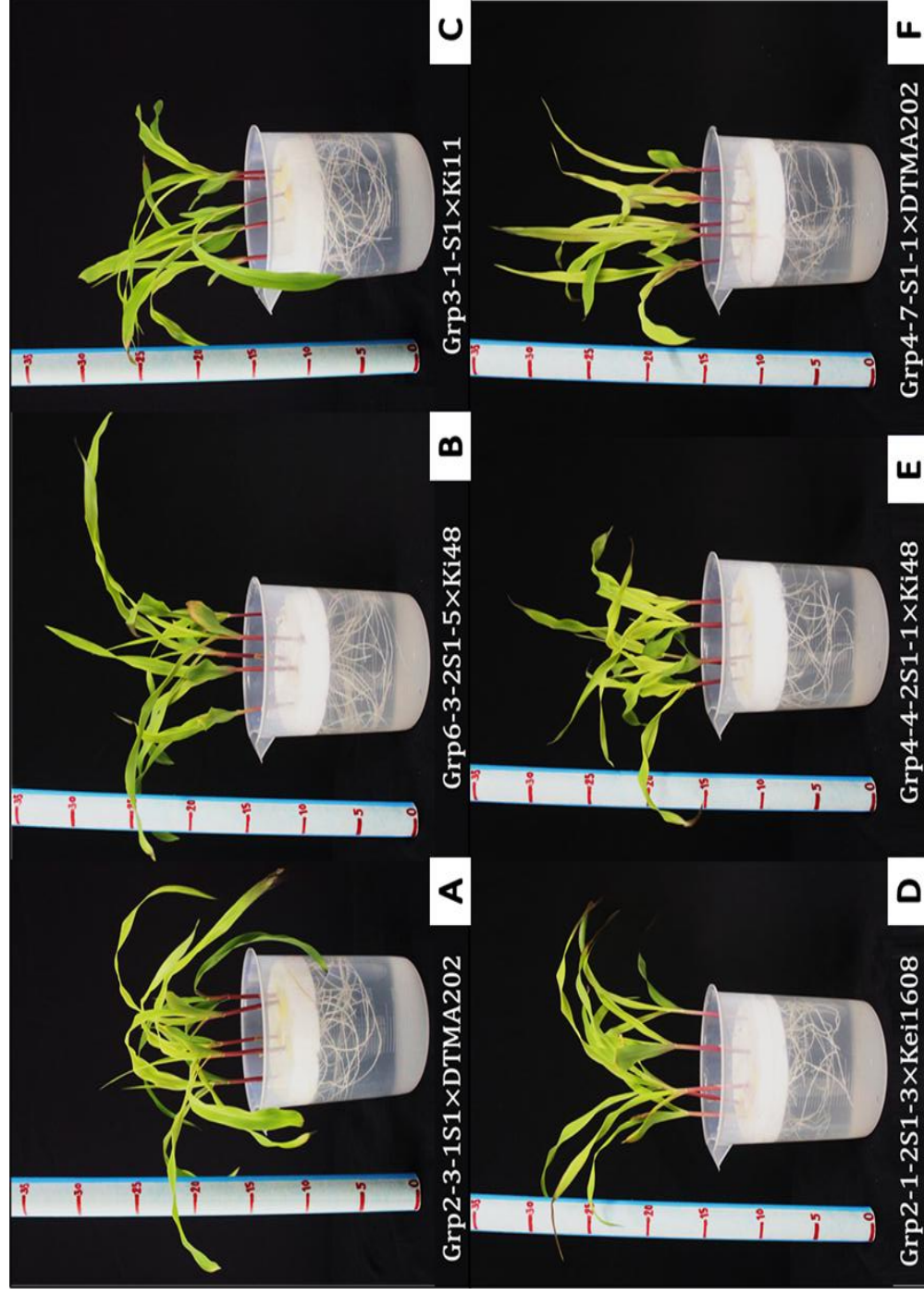
**ผลการทดลองที่ 2.3.4 ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะ
(Specific combining ability) ของความสามารถการ
เจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ**

ผลการประเมินค่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะ (Specific Combining Ability: SCA) ภายใต้สภาพปกติของต้นกล้าข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 48 คู่ โดยประเมินจากลักษณะฟีโนไทป์ 4 ลักษณะ ได้แก่ ค่าความเขียวของใบ (SPAD) ความสูงของต้นกล้า (PH) น้ำหนักแห้งส่วนเหนือราก (DWshoot) และ น้ำหนักแห้งรวม (DWtotal) ผลการวิเคราะห์พบว่า มีคู่ผสมหลายคู่แสดงค่า SCA ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$ และ $P \leq 0.01$ ทั้งในเชิงบวกและเชิงลบ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่ามีความแปรปรวนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในค่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะของหลายคู่ผสม ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงบทบาทของอิทธิพลทางพันธุกรรมแบบไม่บวกสะสม (non-additive gene action) เช่น อิทธิพลของยีนเด่น (dominance effect) และ การทำงานร่วมกันของยีนหลายตำแหน่ง (epistatic interaction) ซึ่งมีส่วนสำคัญในการควบคุมลักษณะการเจริญเติบโตในระยะต้นกล้า

จากผลการวิเคราะห์ในลักษณะค่าความเขียวของใบ (SPAD) คู่ผสมที่แสดงค่า SCA สูงอย่างมีนัยสำคัญมากที่สุด 3 ลำดับแรก ได้แก่ คู่ผสม Grp2-3-1S1×DTMA202 (5.871**) Grp4-4-2S1-1×DTMA202 (5.046**) และ Grp5-3-1S1×Kei1608 (4.850**) ผลดังกล่าวสะท้อนว่าคู่ผสมเหล่านี้มีแนวโน้มในการคงความเขียวของใบได้ดีในระยะต้นกล้า โดยอาจเกิดจากปฏิสัมพันธ์ของยีนที่ส่งเสริมการดูดซึมไนโตรเจนหรือการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับคลอโรฟิลล์ ซึ่งเป็นปัจจัยพื้นฐานที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงและอัตราการเติบโตในระยะเริ่มต้น ในทางกลับกัน คู่ผสมที่ให้ค่า SCA ต่ำและมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่น คู่ผสม Grp5-3-1S1×DTMA202 (-6.829**) และ Grp2-1-2S1-3×DTMA202 (-4.429**) บ่งชี้ถึงความไม่เหมาะสมของการรวมตัวของคู่ผสมนี้ เมื่อพิจารณาถึงลักษณะความสูงต้นกล้า (PH) พบว่า คู่ผสมที่แสดงค่า SCA สูงและมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ คู่ผสม Grp2-3-1S1×DTMA202 (2.129**) Grp5-3-1S1×Ki11 (2.136**) และ Grp2-1-2S1-3×Ki48 (2.266**) ผลลัพธ์เหล่านี้แสดงถึงศักยภาพของคู่ผสมที่มีการเจริญเติบโตเร็วในระยะต้นกล้า ซึ่งอาจมาจากการรวมตัวของยีนที่ส่งผลต่อการขยายตัวของเซลล์หรือการหลั่งฮอร์โมนพืช เช่น gibberellin ที่เกี่ยวข้องกับการยืดลำต้น อย่างไรก็ตามยังพบว่ามีหลายคู่ผสมที่แสดงค่า SCA ต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่น คู่ผสม Grp2-1-2S1-1×DTMA202 (-2.304**) และ Grp2-1-2S1-3×DTMA202 (-2.511**) สะท้อนถึงการถ่ายทอดพันธุกรรมที่ไม่เหมาะสมในลักษณะนี้ ในส่วนของลักษณะน้ำหนักแห้งส่วนเหนือราก (DWshoot) พบว่าคู่ผสมที่ให้ค่า SCA สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ คู่ผสม Grp6-3-2S1-5×Ki48 (0.020**) Grp2-1-2S1-3×Kei1608 (0.016**) Grp3-13-

1S1×DTMA202 (0.015**) และ Grp2-1-2S1-3×Ki11 (0.013**) การที่คู่ผสมเหล่านี้ให้ค่า SCA สูงในลักษณะ DWshoot แสดงถึงความสามารถของพันธุกรรมในการส่งเสริมการพัฒนาส่วนลำต้นและใบ ในทางตรงกันข้าม พบว่า คู่ผสม Grp2-1-2S1-3×Ki48 (−0.027**) และ Grp3-13-1S1×Ki11 (−0.015**) ให้ค่า SCA ตีดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ บ่งบอกถึงการขัดขวางของยีนบางตัวในการเจริญเติบโตของโครงสร้างพืชส่วนเหนือรากในระยะต้นกล้า ซึ่งในการวิเคราะห์ของลักษณะน้ำหนักแห้งรวม (DWtotal) เป็นดัชนีที่ครอบคลุมการเจริญเติบโตของข้าวโพดทั้งต้น รวมถึงส่วนราก ซึ่งมีความสำคัญต่อศักยภาพการดูดซึมน้ำและธาตุอาหาร พบว่า คู่ผสม Grp4-4-2S1-1×Ki48 (0.022**) Grp2-1-2S1-1×Ki11 (0.022**) Grp6-3-2S1-5×Ki48 (0.018**) Grp3-13-1S1×Kei1608 (0.017**) และ Grp5-3-1S1×Ki11 (0.015**) ให้ค่า SCA สูงที่สุด 5 อันดับแรก และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลดังกล่าวชี้ว่าคู่ผสมเหล่านี้มีความสามารถทางพันธุกรรมที่ดีในการสะสมชีวมวลโดยรวม ทั้งนี้ควรได้รับการคัดเลือกไปทดสอบในระดับแปลงปลูก ในทางตรงกันข้าม คู่ผสม Grp2-1-2S1-3 × Ki48 (−0.030**) ซึ่งแสดงค่า SCA ตีดลงในระดับสูงสุด ผลลัพธ์ดังกล่าวอาจเกิดจากการทำงานร่วมกันของยีนบางกลุ่มที่ส่งผลในทางลบต่อการพัฒนาของพืช ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนที่ขัดขวางกันเอง หรือที่เรียกว่า negative epistasis ซึ่งเป็นภาวะที่ยีนบางตัวไปยับยั้งการทำงานของยีนอื่น ส่งผลให้ลักษณะที่ควรจะแสดงออกได้ดีกลับด้อยลงในรุ่นลูกผสม (Sang et al., 2022; Chen et al., 2025)

เมื่อพิจารณาผลการประเมินในภาพรวมของทุกลักษณะ พบว่า คู่ผสม Grp2-3-1S1×DTMA202 (ภาพที่ 17A) และ Grp6-3-2S1-5×Ki48 (ภาพที่ 17B) ให้ค่า SCA เป็นบวกและสูงทั้ง 4 ลักษณะ ดังแสดงในตารางที่ 13 ซึ่งสะท้อนถึงศักยภาพทางพันธุกรรมที่ดี และความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะได้อย่างมีประสิทธิภาพในระยะต้นกล้า นอกจากนี้ยังพบอีก 4 คู่ผสมที่น่าสนใจ ได้แก่ คู่ผสม Grp3-1-S1×Ki11 (ภาพที่ 17C) Grp2-1-2S1-3×Kei1608 (ภาพที่ 17D) Grp4-4-2S1-1×Ki48 (ภาพที่ 17E) และ Grp4-7-S1-1×DTMA202 (ภาพที่ 17F) มีค่า SCA เป็นบวกและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ชี้ให้เห็นว่าคู่ผสมดังกล่าวมีความสามารถในการสร้างลูกผสมที่มีลักษณะดีได้ในหลายลักษณะ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าคู่ผสมดังกล่าวมีศักยภาพทางพันธุกรรมในการถ่ายทอดลักษณะไปยังรุ่นลูกผสมได้อย่างมีประสิทธิภาพในหลายลักษณะพร้อมกัน ซึ่งแสดงถึงแนวโน้มของการเกิดความสามารถในการรวมตัวที่ดีเฉพาะคู่ (specific combining ability) แบบต่อเนื่อง ทั้งนี้สะท้อนให้เห็นถึงการทำงานร่วมกันของยีนที่ส่งเสริมกันระหว่างสายพันธุ์พ่อแม่ อันอาจนำไปสู่การเกิดลักษณะดีเด่น (heterosis) ในลักษณะทางสรีรวิทยาและการเจริญเติบโตที่สำคัญในระยะต้นกล้า (Begna, 2021)



ภาพที่ 17 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดภายใต้สภาพปกติของแต่ละคู่ผสม

ตารางที่ 13 การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะเจาะจง (SCA) ของความสามารถ
การเจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ

Number	Crosses	SCA estimates for			
		SPAD	PH	Dwshoot	Dwtotal
1	Grp2-1-1S1×DTMA202	1.421**	0.606	-0.006	-0.009*
2	Grp2-1-2S1-1×DTMA202	0.046	-2.304**	-0.012**	-0.015**
3	Grp2-1-2S1-2×DTMA202	-0.917*	0.804	-0.001	-0.007
4	Grp2-1-2S1-3×DTMA202	-4.429**	-2.511**	-0.002	0.006
5	Grp2-3-1S1×DTMA202	5.871**	2.129**	0.007*	0.011*
6	Grp2-6-1S1×DTMA202	2.133**	0.684	-0.002	0.001
7	Grp3-1-S1×DTMA202	-2.167**	-0.359	-0.002	-0.002
8	Grp3-13-1S1×DTMA202	1.696**	0.651	0.015**	-0.009*
9	Grp4-4-2S1-1×DTMA202	5.046**	0.246	0.006	0.010*
10	Grp4-7-S1-1×DTMA202	2.008**	0.779	0.007*	0.013*
11	Grp5-3-1S1×DTMA202	-6.829**	1.226*	-0.001	0.014**
12	Grp6-3-2S1-5×DTMA202	-3.879**	-1.954**	-0.009*	-0.012*
13	Grp2-1-1S1×Kei1608	-1.000*	0.833	-0.003	-0.007
14	Grp2-1-2S1-1×Kei1608	-3.175**	1.063	0.003	0.002
15	Grp2-1-2S1-2×Kei1608	4.263**	-0.159	-0.003	0.002
16	Grp2-1-2S1-3×Kei1608	2.550**	0.466	0.016**	0.010*
17	Grp2-3-1S1×Kei1608	-0.65	-1.494**	0.005	0.008
18	Grp2-6-1S1×Kei1608	-1.337**	1.681**	0.002	0.009*
19	Grp3-1-S1×Kei1608	-4.187**	-0.082	-0.003	-0.015**
20	Grp3-13-1S1×Kei1608	3.725**	-1.132	0.009*	0.017**
21	Grp4-4-2S1-1×Kei1608	-4.125**	-0.347	-0.011**	-0.013*
22	Grp4-7-S1-1×Kei1608	0.288	0.366	-0.002	0.003
23	Grp5-3-1S1×Kei1608	4.850**	-1.797*	-0.013**	-0.013*
24	Grp6-3-2S1-5×Kei1608	-1.200**	0.603	-0.001	-0.003

หมายเหตุ : *, ** : มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$ และ $P \leq 0.01$ ตามลำดับ

ตารางที่ 13 การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะเจาะจง (SCA) ของความสามารถ
การเจริญเติบโตของคู่ผสมในระยะต้นกล้าภายใต้สภาพปกติ (ต่อ)

Number	Crosses	SCA estimates for			
		SPAD	PH	Dwshoot	Dwtotal
25	Grp2-1-1S1×Ki11	-1.596**	-1.854**	0.008*	0.007
26	Grp2-1-2S1-1×Ki11	4.579**	0.976	0.005	0.022**
27	Grp2-1-2S1-2×Ki11	0.917*	-1.166	0.001	0.004
28	Grp2-1-2S1-3×Ki11	2.054**	-0.221	0.013**	0.014**
29	Grp2-3-1S1×Ki11	-3.096**	0.239	-0.004	-0.022**
30	Grp2-6-1S1×Ki11	-0.833*	-1.676*	-0.006	-0.020**
31	Grp3-1-S1×Ki11	4.767**	1.811*	0.002	0.010*
32	Grp3-13-1S1×Ki11	-2.221**	-0.769	-0.015**	-0.008
33	Grp4-4-2S1-1×Ki11	-3.121**	-0.314	-0.006	-0.019**
34	Grp4-7-S1-1×Ki11	-2.358**	0.919	0.003	0
35	Grp5-3-1S1×Ki11	-1.246**	2.136**	0.011**	0.015**
36	Grp6-3-2S1-5×Ki11	2.154**	-0.084	-0.010*	-0.003
37	Grp2-1-1S1×Ki48	1.175*	0.414	0.001	0.008
38	Grp2-1-2S1-1×Ki48	-1.450**	0.264	0.004	-0.009*
39	Grp2-1-2S1-2×Ki48	-4.262**	0.521	0.003	0.002
40	Grp2-1-2S1-3×Ki48	-0.175	2.266**	-0.027**	-0.030**
41	Grp2-3-1S1×Ki48	-2.125**	-0.874	-0.008*	0.003
42	Grp2-6-1S1×Ki48	0.038	-0.689	0.006	0.010*
43	Grp3-1-S1×Ki48	1.588**	-1.371*	0.003	0.008
44	Grp3-13-1S1×Ki48	-3.200**	1.249*	-0.008*	0.001
45	Grp4-4-2S1-1×Ki48	2.200**	0.414	0.011**	0.022**
46	Grp4-7-S1-1×Ki48	0.062	-2.064**	-0.007*	-0.015**
47	Grp5-3-1S1×Ki48	3.225**	-1.566*	0.003	-0.015**
48	Grp6-3-2S1-5×Ki48	2.925**	1.434*	0.020**	0.018**

หมายเหตุ : *, ** : มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$ และ $P \leq 0.01$ ตามลำดับ

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะฟีโนไทป์ในระยะต้นกล้าของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จำนวน 14 ลักษณะ กับระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* พบว่า มีลักษณะฟีโนไทป์จำนวน 4 ลักษณะ ได้แก่ ค่าความเขียวของใบ ความสูงต้น น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และน้ำหนักแห้งรวม แสดงความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ซึ่งผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า ลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ สามารถใช้เป็นลักษณะในการประเมินระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ในทางอ้อมได้

นอกจากนี้เมื่อประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปของดัชนีความทนทานต่อความเครียด และ ความสามารถในการเจริญเติบโตภายใต้สภาพปกติ พบว่า สายพันธุ์แม่ Grp5-3-1S1 Grp2-1-2S1-3 และ Grp6-3-2S1-5 และสายพันธุ์พ่อ Kei1608 แสดงค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (General Combining Ability; GCA) สูงกว่ากลุ่มประชากรพ่อแม่พันธุ์ ให้ค่าเป็นบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้ง 4 ลักษณะ ได้แก่ ค่าความเขียวของใบ ความสูงต้น น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และน้ำหนักแห้งรวม สายพันธุ์เหล่านี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพทางพันธุกรรมที่ดีในการถ่ายทอดลักษณะเด่นไปยังรุ่นลูกผสม โดยลักษณะเด่นดังกล่าวมักเกิดจากยีนที่มีอิทธิพลรวม (additive gene effects) ซึ่งสามารถถ่ายทอดจากรุ่นสู่รุ่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ ด้วยเหตุนี้ สายพันธุ์ที่มีค่า GCA สูงจึงเหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ เพราะสามารถถ่ายทอดลักษณะดีเด่นไปยังรุ่นลูกได้ดี และควรนำสายพันธุ์เหล่านี้ไปทดสอบในสภาพแปลงปลูก ก่อนที่จะนำไปใช้จริงในระดับเกษตรกร

นอกจากนี้ยังพบอีกว่า คู่ผสม Grp2-1-2S1-3×Kei1608 Grp6-3-2S1-5×Ki48 และ Grp4-4-2S1-1×Ki48 ให้ค่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะเจาะจงสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อลักษณะฟีโนไทป์ที่มีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ซึ่งบ่งชี้ว่า ลูกผสมจากสายพันธุ์เหล่านี้มีแนวโน้มให้ลักษณะดีเด่นในด้านที่เกี่ยวข้องกับยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ดังนั้น ควรนำทั้ง 3 คู่ผสมไปทดสอบในระดับแปลงปลูกเพื่อพิจารณาศักยภาพของคู่ผสมในลำดับถัดไป

บรรณานุกรม

- กรมอุตุนิยมวิทยา. 2567. สภาพอากาศของประเทศไทย. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.tmd.go.th/programs/uploads/yearlySummary/yearly_2567_th.pdf. (1 ธันวาคม 2567)
- ตุลาพร แก้วแก่น และ วัฒนา พัฒนากุล. 2549. ผลของสภาวะขาดน้ำจากความแล้งและความเครียดเกลือ ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการและเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในข้าวระยะต้นกล้า. วารสารวิจัย มข. 11 (4).
- นวรรตน์ อุดมประเสริฐ และราเชนทร์ ธีรพร. 2537. ความสัมพันธ์ของการสะสมโปรตีนเนื่องจากสภาวะขาดน้ำและผลผลิตของข้าวโพด. วารสารเกษตรศาสตร์(วิทย.). (28): 340-347.
- ราเชนทร์ ธีรพร, พิพัฒน์ วีรถาวร, สุรพล เข้าม้อง, สุพจน์ เฟื่องฟูพงศ์, พร รุ่งแจ้ง, กิ่งกมล กองจันทิก และนิจพร คุณกลาง. 2536. อัตราปลูกของข้าวโพดและสรีระของข้าวโพดทนต่อสภาพแห้งแล้งและสภาพความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำเอกสารรายงานผลการทดลองโครงการวิจัย ศ.3.1 ในการประชุมวิชาการข้าวโพดข้าว พางแห่งชาติครั้งที่ 24 ประจำปี 2535. หน้า.35
- สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร. 2567. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร: ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา<http://www.oae.go.th>. (1 ธันวาคม 2567)
- อินทิรา ชูดแก้ว. 2560. ความเครียดของพืช (plant stress). [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://biology.ipst.ac.th/?p=3361> (28 พฤศจิกายน 2567)
- Abdel-Ghani, A.H., Kumar, B., Reyes-Matamoros, J., Gonzalez-Portilla, P.J., Jansen, C., Martin, J.P.S., Lee, M. & Lübberstedt, T. 2013. Genotypic variation and relationships between seedling and adult plant traits in maize (*Zea mays* L.) inbred lines grown under contrasting nitrogen levels. *Euphytica*, 189, pp.123-133.
- Abendroth, L. Elmore, R., Boyer, M. & Marlay, S., 2010. **Understanding corn**

development: A key for successful crop management.

- Abramoff, M.D. Magalhaes, P.J. & Ram, S.J. 2004. Image processing with Image J. **Biophotonics International**. 11(7): 36-42.
- Abrha, S.W., Zeleke, H.Z. & Gissa, D.W. 2013. Line x tester analysis of maize inbred lines for grain yield and yield related traits. **Asian Journal of Plant Science and Research**, 3(5), pp.12-19.
- Adebayo, M. A., Menkir, A., Malaku, G., Blay, E., Gracen, V., Danquah, E. & Ladejobi, O. 2015. Diversity assessment of drought-tolerant exotic and adapted maize inbred lines with microsatellite markers. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, 18(3), 147–154.
- Ahmed, H. G. M.-D., Sajjad, M., Li, M., Azmat, M. A., Rizwan, M., Maqsood, R. H., & Khan, S. H. 2019. Selection criteria for drought-tolerant bread wheat genotypes at seedling stage. **Sustainability**, 11(9), 2584.
- Altaf, A., Gull, S., Zhu, X., Zhu, M., Rasool, G., Ibrahim, M. E. H., Aleem, M., Uddin, S., Saeed, A. & Shah, A. Z. 2021. Study of the effect of peg-6000 imposed drought stress on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars using relative water content (RWC) and proline content analysis. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, 58(1).
- Amin, M. N., Amirurzaman, A. Ahmed, & M.R. Ali. 2014. Evaluation of inbred lines of maize (*Zea mays* L.) through line x tester method. **Bangladesh Journal of Agricultural Research**, 39(4), 675-683.
- Arisandy, P., Bayuardi Suwarno, W. & Azrai, M. 2017. Evaluation of drought tolerance in maize hybrids using stress tolerance indices. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research (IJAAR)*, 11(4), 46–54.
- Ashraf, M. & Foolad, M. R. 2007. Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant

- Abiotic Stress Resistance. **Environmental and Experimental Botany**, 59, 206-216.
- Aslam, M., Maqbool, M.A., Cengiz, R., Aslam, M., Maqbool, M.A. & Cengiz, R., 2015. Effects of drought on maize. Drought stress in maize (*Zea mays* L.). **Springer Briefs in Agriculture**. 74 p.
- Avonce, N., Leyman, B., Mascorro-Gallardo, J. O., Van Dijck, P., Thevelein, J. M. & Iturriaga, G. 2004. The Arabidopsis Trehalose-6-P Synthase *AtTPS1* Gene Is a Regulator of Glucose, Absciscic Acid, and Stress Signaling. **Plant Physiology**, 136(3), 3649-3659.
- Badr, A., El-Shazly, H. H., Tarawneh, R. A., & Börner, A. 2020. Screening for drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) germplasm using germination and seedling traits under simulated drought conditions. **Plants**, 9(5), 565.
- Bae, H., Herman, E. & Sicher, R. 2005. Exogenous trehalose promotes non-structural carbohydrate accumulation and induces chemical detoxification stress response proteins in Arabidopsis thaliana grown in liquid media. **Plant Science**, 168, 1293–1301.
- Barutcular, C., Sabagh, A.E., Konuskan, O., Saneoka, H. & Yoldash, K.M. 2016. Evaluation of maize hybrids to terminal drought stress tolerance by defining drought indices. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, 4(6), pp.610-616.
- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A. & Pereira, A. 2016. Plant adaptation to drought stress. **F1000Research**, 5, pp.F1000-Faculty.
- Bayoumi, T.Y., Eid, M.H. & Metwali, E.M. 2008. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. **African Journal of Biotechnology**. 7(14): 2341-2352.

- Begna, T. 2021. Combining ability and heterosis in plant improvement. **Open Journal of Plant Science**, 6(1), pp.108-117.
- Bekele, A., & T.N. Rao. 2013. Heterosis study for grain yield, protein and oil improvement in selected genotypes of maize (*Zea mays* L.). **Journal of Plant Science**, 1(4), 57-63.
- Bhargava, S. & Paranjpe, S. 2004. Genotypic variation in the photosynthetic competence of *Sorghum bicolor* seedlings subjected to polyethylene glycol-mediated drought stress. **Journal of Plant Physiology**, 161(1), 125-129.
- Bibi, A., Sadaqat, H.A, Tahir, M.H.N. & Akram, H.M. 2012. Screening of sorghum (*Sorghum bicolor* var Moench) for drought tolerance at seedling stage in polyethylene glycol. **The Journal of Animal and Plant Sciences**. 22(3): 671-678.
- Blazquez, M. A., Santos, E., Floras, C. L., Martinez-Zapater, J. M., Salinas, J. & Gancedo, C. 1998. Isolation and molecular characterization of the Arabidopsis *TPS1* gene, encoding *trehalose-6-phosphate synthase*. **The Plant Journal**, 13, 685-689.
- Bruce, W. B., Edmeades, G. O. & Barker, T. C. 2002. Molecular and physiological approaches to field maize improvement for drought tolerance. **Journal of Experimental Botany**, 53(336), 13-25.
- Campos, H., Cooper, M., Habben, J. E., Edmeades, G. O. & Schussler, J. R. 2004. Improving drought tolerance in maize: A view from industry. **Field Crop Research**, 90, 19-34.
- Castellanos, J.S., Hallauer, A.R. & Cordova, H.S. 1998. Relative performance of testers to identify elite line of corn (*Zea mays* L.). **Maydica**. 43(3): 217-226.
- Chandrasekhar, T. R., Marattukalam, J. G., Mercykutty, V. C. & Priyadarshan, P. M. 2007.

- Age of yield stabilization and its implications for optimizing selection and shortening breeding cycle in rubber (*Hevea brasiliensis*). **Euphytica**, 156, 67–75.
- Chauhan, R. P. S., Chauhan, C. P. S. & Kumar, D. 1980. Free proline accumulation in cereals in relation to salt tolerance. **Plant and Soil**, 57, 167–175.
- Chen, M., Hong, Y., Fan, J., Cao, D., Yin, C., Yu, A., Qiu, J., Huang, X. & Wei, X. 2025. Genetic interaction network of quantitative trait genes for heading date in rice. **Journal of Genetics and Genomics**. 52(1), 1–15.
- Collard, B.C. & Mackill, D.J. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, 363(1491), pp.557-572.
- Comstock, R. E. & Robinson, H. F. 1952. **Estimation of average dominance of genes**. Iowa State College Press, p., 494-516.
- Costa, C., Dwyer, L.M., Dutilleul, P., Stewart, D.W., Ma, B.L. & Smith, D.L. 2001. Inter-relationships of applied nitrogen, SPAD, and yield of leafy and non-leafy maize genotypes. **Journal of Plant Nutrition**, 24(8), pp.1173-1194.
- Crowe, J. H., Carpenter, J. F. & Crowe, L. M. 1998. The role of vitrification in anhydrobiosis. **Annual Review of Physiology**, 60, 73–103.
- Denmead, O. T. & Shaw, R. H. 1960. The effect of soil moisture stress at different stages of growth on the development and yield of corn. **Agronomy Journal**, 52, 272-274.
- Derera, J., Tongoona, P., Vivek, B. S. & Laing, M. D. 2008. Gene action controlling grain yield and secondary traits in southern African maize hybrids under drought and non-drought environments. **Euphytica**, 162(3), 411–422.
- Dhliwayo, T., Pixley, K., Menkir, A. & Warburton, M. 2009. Combining ability, genetic

- distances, and heterosis among elite CIMMYT and IITA tropical maize inbred lines. **Crop Science**, 49, 1201–1210.
- Dwyer, L. M., Stewart, D. W. & Tollenaar, M. 1992. Analysis of maize leaf photosynthesis under drought stress. **Canadian Journal of Plant Science**, 72, 477–481.
- Elmyhum, M. 2013. Estimation of combining ability and heterosis of quality protein maize inbred lines. **African Journal of Agricultural Research**, 8(48), 6309-6317
- Falconer, D.S. 1996. **Introduction to quantitative genetics**. Pearson Education India.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N.S.M.A., Fujita, D.B.S.M.A. & Basra, S.M. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In *Sustainable Agriculture*, (pp. 153-188). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Felipe de Mendiburu. 2023. Statistical Procedures for Agricultural Research. [On-line] Available: <https://cran.r-project.org/web/packages/agricolae/agricolae.pdf>. (October 22, 2024)
- Fernandez, G. C. J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In **Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress**, (pp. 257–270). Taiwan: AVRDC.
- Gardner, C.O., & S. A. Eberhart. 1966. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics**. 22: 439–452.
- Garg, A. K., Kim, J. K., Owens, T. G., Ranwala, A. P., Choi, Y. D., Kochian, L. V. & Wu, R. J. 2002. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 99(25), 15898-15903.
- Gechev, T. S., Dinakar, C., Benina, M., Toneva, V. & Bartels, D. 2012. Molecular

- mechanisms of desiccation tolerance in resurrection plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, 69(19), 3175–3186.
- Goddijn, OJM. & van, Dunn, K. 1999. Trehalose metabolism in plants. **Trends in Plant Science**, 4, 315–319.
- Grant, R. F., Jackson, B. S., Kiniry, J. R. & Arkin, G. F. 1989. Water deficit timing effects on yield components in maize. **Agronomy Journal**, J.81, 61-65.
- Hannok, P., Kaewunta, P., Khunyota, W., Kaewnut, A., Pachimkanthong, P. & Tangthavonkarn, C. 2023. Exploration of phenotypic dissimilarity for drought tolerance in maize inbred line collection. **Current Applied Science and Technology**. 10-55003.
- Hannok, P., Ruangjam, K., Chantamit, N., Donlaman, N., Boonmawat, K. & Lowantha, P. 2021. Determination of The Optimum Concentration of Polyethylene Glycol 6000 for In-house Maize Seedling Screening System Against Osmotic Stress. **Maejo Journal of Agricultural Production**. 3(2): 69-84.
- Hanway, J.J. 1963. Growth stages of corn (*Zea mays*, L.). **Agronomy Journal**, 55(5), pp.487-492.
- Hounsa, C. G., Brandt, E. V., Thevelein, J., Hohmann, S. & Prior, B. A. 1998. Role of trehalose in survival of *Saccharomyces cerevisiae* under osmotic stress. **Microbiology**, 144, 671-680.
- Huang, S., Liu, Z., Gao, C., Zhou, X., Yang, Q., Wang, X., & Xu, J. 2013. Study on selection and application of new matrixes for floating tobacco seedlings. **Agricultural Science and Technology**, 14(9), 1271.
- IBSNAT. 1988. Experimental Design and Data Collection Procedures for IBSNAT: The minimum data set for systems analysis and crop simulation. **International Benchmark Sites Network for Agrotechnology Transfer**.

Honolulu, USA.

Iordachescu, M. & Imai, R. 2008. Trehalose biosynthesis in response to abiotic stresses.

Plant Biology, 50(10), 1223-1229.

Iordachescu, M. & Imai, R. 2011. Trehalose and abiotic stress in biological systems.

Abiotic stress in plants: mechanisms and adaptations. In **Tech Croatia**, pp 215–234.

Ismail, S.M., Ozawa, K. & Khondaker, N.A. 2007. March. Effect of irrigation frequency and

timing on tomato yield, soil water dynamics and water use efficiency under drip irrigation. **Eleventh International Water Technology Conference**, IWTC11 (pp. 69-84).

John, R., Raja, V., Ahmad, M., Jan, N., Majeed, U., Ahmad, S., Yaqoob, U. & Kaul, T. 2017.

Trehalose: metabolism and role in stress signaling in plants. **Stress Signaling Plants Genom Proteom Perspect**, 2, 261–275.

Kaplan, F., Kopka, J., Haskell, D. W., Zhao, W., Schiller, K. C., Gatzke, N., Sung, D. Y. &

Guy, C. L. 2004. Exploring the temperature stress metabolome of Arabidopsis. **Plant Physiology**, 136(4), 4159–4168.

Kempa, S., Krasensky, J., Dal, Santo, S., Kopka, J. & Jonak, C. A. 2008. Central role of

abscisic acid in stress-regulated carbohydrate metabolism. **PLOS ONE**, 3, e3935.

Kempthorne, O. 1957. **An introduction to genetic statistics**. John Wiley and Sons, Inc:

New York.

Khatibi, A., Omrani, S., Omrani, A., Shojaei, S.H., Mousavi, S.M.N., Illés, Á., Bojtor, C. &

Nagy, J. 2022. Response of maize hybrids in drought-stress using drought tolerance indices. **Water**, 14(7), p.1012.

Khayatnezhad, M., Gholamin, R., Jamaati-e-Somarin, S. & Zabihi-e-Mahmoodabad, R.

2010. Effects of PEG stress on corn cultivars (*Zea mays* L.) at germination stage. **World Applied Science Journal**. 11(5): 504-506.
- Kimbeng, C. A., & Cox, M. C. 2003. Early generation selection of sugarcane families and clones in Australia: a review. **Journal American Society of Sugarcane Technologists**, 23.
- Le Clerg, E.L., 1966. Significance of experimental design in plant breeding. **Plant breeding**. A symposium held at Iowa state University., 1966, 243-313 pp.
- Lee, C. 2011. Corn growth stages and growing degree days: A quick reference guide. Cooperative Extension Service. **University of Kentucky College of Agriculture**, Lexington, KY, 40546.
- Li, H. W., Zang, B. S., Deng, X. W. & Wang, X. P. 2011. Overexpression of the *trehalose-6-phosphate synthase* gene *OsTPS1* enhances abiotic stress tolerance in rice. **Planta**, 234, 1007–1018.
- Lowantha, P. & Hannok, P. 2022. Dot Blot Assay for Assessing *Trehalose-6-phosphate Synthase* Gene Expression in a Maize Breeding Population under Water Stress. **Current Applied Science and Technology**. 10-55003.
- Mahesh, N., Wali, M. C., Gowda, M. V. C., Motagi, B. N., & UPPINAL, N. F. 2014. Genetic analysis of grain yield, starch, protein and oil content in single cross hybrids of maize. Karnataka **Journal of Agricultural Sciences**, 26(2).
- Michel, B.E. and Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant physiology*, 51(5), pp.914-916.
- Mustamu, N., Tampubolon, K., Alridiwersah, A. & Basyui, M. 2023. Preliminary Identification of Local Maize Under Drought Stress By PEG-6000. **EDP Sciences**.
- Nandan Patil & Lakshmi Gangavati. 2024. Comprehensive Statistical Analysis of Plant

- Breeding Experiments. [On-line] Available: <https://cran.r-project.org/web/packages/gpbStat/gpbStat.pdf>. (October 28, 2024)
- Nesmith, D. S. & Ritchie, J. T. 1992. Short and long-term responses of corn to a pre-anthesis soil water deficit. **Agronomy Journal**, 84, 107-113.
- Nielsen, R.B. 2013. Root development in young corn. Corny News Network, Purdue Extension. [On-line] Available <https://www.agry.purdue.edu/ext/corn/news/timeless/roots.html>.
- Olasanmi, B. & Kyallo, N. M. 2021. Yao Marker-assisted selection complements phenotypic screening at seedling stage to identify cassava mosaic disease-resistant genotypes in African cassava populations. **Scientific Reports.**, 11, p. 2850
- Otegui, M. E., Andrade, F. H., & Suero, E. E. 1995. Growth, Water-Use, and Kernel Abortion of Maize Subjected to Drought at Silking. **Field Crops Research**, 40, 87-94.
- Paul, M. J., Primavesi, L. F., Jhurrea, D. & Zhang, Y. 2008. Trehalose metabolism and signaling. **Annual Review of Plant Biology**, 59, 417–441.
- Phumichai, C., Doungchan, W., Puddhanon, P., Jampatong, S., Grudloyma, P., Kirdsri, C., Chunwongse, J. & Pulam. T., 2008. SSR-based and grain yield-based diversity of hybrid maize in Thailand. **Field Crops Research**. 108(2): 157-162.
- Polle A & Rennenberg H. 1993. Significance of antioxidants in plant adaptation to environmental stress. In: Mansfield T, Fowden L, Stoddard F, eds. **Plant adaptation to environmental stress**. London: Chapman and Hall, 263–273.
- R Core Team 2024. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R

Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [On-line] Available: <https://www.R-project.org>. (October 22, 2024)

Raj, R. N., Gokulakrishnan, J. & Prakash, M. 2020. Assessing drought tolerance using PEG-6000 and molecular screening by SSR markers in maize (*Zea mays* L.) hybrids. **Maydica**, 64(2), 1-7.

Rasband W. 2008. Dot blot analysis, imagej documentation, tutorial and examples. [Online]. Available <http://image.bio.methods.free.fr/dotblot.html>. (October 12, 2024)

Sabiel, S.A., Abdelmula, A.A., Bashir, E.M., Khan, S., Yingying, S., Yang, Y., Baloch, S.U. & Bashir, W. 2014. Genetic variation of plant height and stem diameter traits in maize (*Zea mays* L.) under drought stress at different growth stages. **Journal of Natural Sciences Research**, 4(23), pp.116-122.

Sabir, P. A. K. E. E. Z. A., & Ashraf, M. 2007. Screening of local accessions of *Panicum miliaceum* L., for salt tolerance at the seedling stage using biomass production and ion accumulation as selection criteria. **Pakistan Journal of Botany**, 39(5), 1655-1661.

Saini, H. S. & Westgate, M. E. 2000. Reproductive development in grain crops during drought. **Advances in Agronomy**, 68, 59-96.

Saneoka, H., Nagasaka, C., Hahn, D. T., Yang, W. J., Premachandra, G. S., Joly, R. J. & Rhodes, D. 1995. Salt Tolerance of Glycine betaine Deficient and Containing Maize Lines. **Plant Physiology**. 107, 631-638.

Sang, Z., Wang, H., Yang, Y., Zhang, Z., Liu, X., Li, Z. & Xu, Y. 2022. Epistasis activation contributes substantially to heterosis in temperate by tropical maize hybrids. **Frontiers in Plant Science**, 13, p.921608.

Schepers, J.S., Francis, D.D., Vigil, M. & Below, F.E. 1992. Comparison of corn leaf

- nitrogen concentration and chlorophyll meter readings. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 23(17-20), pp.2173-2187.
- Shaw, R. H. 1977. Water use and requirements of maize a review, in *Agrometeorology of the Maize (corn) Crop*. **Publication 480**, (Geneva,Switzerland: World Meteorological Organization), 119–134.
- Singandhupe, R.B., Rao, G.G.S.N., Patil, N.G. & Brahmanand, P.S. 2003. Fertigation studies and irrigation scheduling in drip irrigation system in tomato crop (*Lycopersicon esculentum* L.). **European Journal of Agronomy**, 19(2), pp.327-340.
- Smeal, D. & Zhang, H. 1994. Chlorophyll meter evaluation for nitrogen management in corn. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 25(9-10), pp.1495-1503.
- Sprague, G. F., & Tatum, L. A. 1942. General vs. specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of the American Society of Agronomy**. 923-32.
- Suzuki, N., Bajad, S., Shuman, J., Shulaev, V. & Mittler, R. 2008. The transcriptional co-activator MBF1c is a key regulator of thermo tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Biological Chemistry**, 283, 9269–9275.
- Touchette, B. W., Iannaccone, L. R., Turner, G. E. & Frank, A. R. 2007. **Drought tolerance versus drought avoidance**: A comparison of plant-water relations in herbaceous wetland plants subjected to water withdrawal and repletion. *Wetlands*, 27(3), 656-667.
- Tsago, Y., Andargie, M. & Takele, A. 2014. In vitro selection of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Moench) for polyethylene glycol (PEG) induced drought stress.

Plant Science Today, 1(2), 62-68.

- Turgut, I. 2003. Determination of combining ability effects and heterosis by line x tester analysis method in maize (*Zea mays*.). **Journal of Faculty of Agriculture**, Uludag University (Turkey).
- Verslues, P.E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J. & Zhu, J.K. 2006. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, 45(4), pp.523-539.
- Vogel, G., Aeschbacher, R. A., Müller, J., Boller, T. & Wiemken, A. 1998. Trehalose-6-phosphate phosphatases from *Arabidopsis thaliana*: identification by functional complementation of the yeast tps2 mutant. **The Plant Journal**, 13(5), 673–683.
- Wiemken, A., 1990. Trehalose in yeast, stress protectant rather than reserve carbohydrate. **Antonie van Leeuwenhoek**, 58, 209–217.
- Wu, Y. & Cosgrove, D.J. 2000. Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall extensibility and cell wall proteins. **Journal of Experimental Botany**, 51(350), pp.1543-1553.
- Xie, T., Gu, W., Meng, Y., Li, J., Li, L., Wang, Y., Qu, D. & Wei, S. 2017. Exogenous DCPTA ameliorates simulated drought conditions by improving the growth and photosynthetic capacity of maize seedlings. **Scientific Reports**, 7 (12684).
- Ye, J., Wang, S., Zhang, F., Xie, D., Yao, Y. & Zhang, G. 2013. Proteomic analysis of leaves of different wheat genotypes subjected to PEG 6000 stress and rewatering. **Plant Omics**, 6(4), 286-294.
- Zentella, R., Mascorro-Gallardo, J. O., Van, Dijck, P., Folch-Mallol, J., Bonini, B., Van,

- Vaeck, C., Gaxiola, R., Covarrubias, A. A., NietoSotelo, J., Thevelein, J. M. & Iturriaga, G. 1999. A *Selaginella lepidophylla* *trehalose-6-phosphate synthase* complements growth and stress-tolerance defects in a yeast *tps1* mutant. **Plant Physiology**, 119(4), 1473–1482.
- Zhang, X., Lei, L., Lai, J., Zhao, H. & Song, W. 2018. Effects of drought stress and water recovery on physiological responses and gene expression in field maize seedlings. **BMC Plant Biology**, 18(1), 68.
- Zhou, M.L., Zhang, Q., Sun, Z.M., Chen, L.H., Liu, B.X., Zhang, K.X., Zhu, X.M., Shao, J.R., Tang, Y.X. & Wu, Y.M., 2014. Trehalose metabolism-related genes in maize. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33, pp.256-271.
- Zinselmeier, C., Jeong, B. R. & Boyer, J. S. 1999. Starch and the control of kernel number in maize at low water potentials. **Plant Physiology**, 121, 25–35.
- Zulfiqar, F., Akram, N. A. & Ashraf, M. 2019. Osmoprotection in plants under abiotic stresses: new insights into a classical phenomenon. **Planta**, 251(1), 3.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล ญัณฐนันท์ ฉันทะมิตร
เกิดเมื่อ 10 มิถุนายน 2540
ประวัติการศึกษา พ.ศ.2557 ประกาศนียบัตรวิชาชีพ สาขาพืชศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีสุโขทัย
พ.ศ.2559 ประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง สาขาพืชศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีสุโขทัย
พ.ศ.2561 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

