บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

ในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมาก ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในกลุ่มประชากรตัวอย่าง โดยคัดเลือกข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้เพื่อสร้างประชากรตัวอย่าง คัดเลือกข้าวพันธุ์รับได้ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ซึ่งมีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 207 เมล็ด และคัดเลือกข้าวพันธุ์แปดริ้วที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 266 เมล็ด เป็นพันธุ์ให้ (donor parent) คัดเลือกได้ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นพันธุ์รับ ซึ่งมีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 133 เมล็ด คัดเลือกข้าวพันธุ์เมืองไทรที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงเฉลี่ย 338 เมล็ด เป็นพันธุ์ให้ สำหรับสร้างประชากรตัวอย่าง

การหาเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงในข้าว ได้ทำการคัดเลือกเครื่องหมาย SSR marker ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนดังกล่าวมาตรวจสอบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว รวมทั้งข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 และพันธุ์ให้เมืองไทร พบว่าเครื่องหมาย RM10318, RM10395, RM21335 และ RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ระยะ 84,355 10,202 76,610 และ 68,830 เบส ตามลำดับ แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 และพันธุ์ให้แปดริ้ว ขณะที่เครื่องหมาย RM10316, RM10402, RM21330 และ RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ระยะ 11,819 62,830 294,497 และ 97,813 เบส ตามลำดับ แสดงความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 และพันธุ์ให้เมืองไทร

ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง ใช้ประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้วที่ได้จากการผสมตัวเองของต้น F_1 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมาย Glu23 มีจีโนไทป์เป็นเฮทเทอโรไซกัส และประชากร BC_2F_2-1988-4181 ซึ่งมีประชากรเริ่มต้น คือ ต้น F_1 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมาย Glu23 มีจีโนไทป์เป็นแบบเฮทเทอโรไซกัส แล้วทำการผสมกลับไปหาพันธุ์รับ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC_1F_1 จากนั้นทำการคัดเลือกต้น BC_1F_1 ด้วยเครื่องหมาย RM10318 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* คัดเลือกได้ต้นที่มีจีโนไทป์แบบเฮทเทอโรไซกัส แล้วทำการผสมกลับไปหาพันธุ์รับ กข 6 เพื่อผลิตเมล็ด BC_2F_1 ต่อมาทำการคัดเลือกต้น BC_2F_1 ด้วยเครื่องหมาย RM10318, RM10395 และ RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือ

ยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ตามลำดับ คัดเลือกได้ต้น BC_2F_1-1988-4181 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮทเทอโรไซกัสทั้งสามเครื่องหมาย แล้วจึงทำการผสมตัวเองของต้น BC_2F_1-1988-4181 ได้เมล็ด BC_2F_2-1988-4181 จำนวน 484 เมล็ด สำหรับใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

สำหรับคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรทำการศึกษาในประชากร $F_{3:4}$ ซึ่งมีประชากรเริ่มต้น คือ ต้น F_1 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมาย Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R มีจีโนไทป์เป็นแบบเฮทเทอโรไซกัส แล้วทำการผสมตัวเองได้เมล็ด F_2 จากนั้นทำการผสมตัวเองของต้น F_2 ผลิตได้เมล็ด F_3 จำนวน 200 สายพันธุ์ สำหรับประชากร BC_1F_2-4100 ซึ่งมีประชากรเริ่มต้น คือ ต้น F_1 ที่คัดเลือกด้วยเครื่องหมาย Rd6Sd1VS3F+Sd1MW3F+Sd1MW3R มีจีโนไทป์เป็นแบบเฮทเทอโรไซกัส แล้วทำการผสมกลับไปหาพันธุ์รับชัยนาท 1 เพื่อผลิตเมล็ด BC_1F_1 จากนั้นทำการคัดเลือกต้น BC_1F_1 ด้วยเครื่องหมาย RM10316, RM10402 และ RM21330 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ตามลำดับ คัดเลือกได้ต้น BC_1F_1-4100 ที่มีจีโนไทป์แบบเฮทเทอโรไซกัสทั้งสามเครื่องหมาย แล้วจึงทำการผสมตัวเองของต้น BC_1F_1-4100 ได้เมล็ด BC_1F_2-4100 จำนวน 1,260 เมล็ด เพื่อใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง

การศึกษาหาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* แต่ละยีนที่คัดเลือกได้กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่าง กข 6 กับแปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552 ด้วยวิธี single regression พบว่าเครื่องหมาย SSR marker ทั้งสามเครื่องหมายนั้นมีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวง โดยเครื่องหมาย RM10395 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *SPP1* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) กับจำนวนเมล็ดต่อรวง มีค่า R-square เท่ากับ 0.0953 ในขณะที่เครื่องหมาย RM10318 และ RM21335 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* และ *Ghd7* นั้นมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) กับจำนวนเมล็ดต่อรวง มีค่า R-square เท่ากับ 0.0829 และ 0.0830 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* *SPP1* และ *Ghd7* กับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี multiple-locus regression พบว่าเครื่องหมาย RM10395 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *SPP1* เท่ากับ 10,202 เบส มีค่า partial R-square เท่ากับ 0.0949 และมีค่าระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.0018 เป็นเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงมากที่สุดในประชากร F_2 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว

สำหรับประชากร BC_2F_2-1988-4181 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 วิเคราะห์สมการถดถอยหลายตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงด้วยวิธี multiple-locus regression พบเครื่องหมาย RM23428 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *WFP* ที่ระยะ 97,813 เบส เป็นเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากรดังกล่าวมากที่สุด โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P=0.0356) และมีค่า partial R-square เท่ากับ 0.0363 ในขณะที่ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี single regression พบว่าเครื่องหมาย SSR marker ทั้งสี่เครื่องหมายนั้นไม่แสดงความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร BC_2F_2-1988-4181 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับข้าวพันธุ์ให้แปดริ้ว เนื่องจากปัญหาการหักล้มของต้นข้าวที่ส่งผลต่อการแสดงออกของยีนควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง ทำให้มีการแสดงออกได้ไม่เต็มที่ จึงทำให้ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนแต่ละยีนกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_2F_2-1988-4181 นี้ให้ผลการศึกษาไม่สอดคล้องกับประชากร F_2 ในฤดูนาปี พ.ศ. 2552

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1*, *Ghd7* และ *WFP* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร $F_{3:4}$ ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์รับชัยนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร ในฤดูนาปี พ.ศ. 2553 นั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 11,819 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0294 เครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *SPP1* ที่ระยะ 62,830 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0227 เครื่องหมาย RM21330 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Ghd7* ที่ระยะ 294,497 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0448 และเครื่องหมาย RM23433 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *WFP* ที่ระยะ 97,813 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0084 ตามลำดับ เนื่องจากอาจมียีนตำแหน่งอื่นที่มีผลต่อลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงซึ่งยังไม่สามารถตรวจพบ ประกอบกับการแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงได้รับอิทธิพลของความแปรปรวนจากการกระจายตัวของลักษณะความสูงของต้นข้าว และอายุออกดอกของต้นข้าวในประชากรนี้

เมื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2-4100 ซึ่งเป็นประชากรต้นเตี้ย มีอายุออกดอกในประชากรใกล้เคียงกัน ด้วยวิธี single regression พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 11,819 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0436 เครื่องหมาย RM10402 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *SPP1* ที่ระยะ 62,830 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0077 และ RM21330 ซึ่งอยู่ใกล้

หรือยึดติดกับยีน *Ghd7* ที่ระยะ 294,497 เบส มีค่า R-square เท่ากับ 0.0313 แต่เมื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ด้วยวิธี multiple-locus regression พบว่าเครื่องหมาย RM10316 ซึ่งอยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* ที่ระยะ 11,819 เบส เป็นเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2-4100 ของคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 กับข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรมากที่สุด โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P=0.0453) และมีค่า R-square เท่ากับ 0.0403

ซึ่งจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อรวงระหว่างประชากร BC_1F_2-4100 กับทั้งข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 และพันธุ์ให้เมืองไทร แสดงให้เห็นว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของประชากร BC_1F_2-4100 ซึ่งเท่ากับ 141 เมล็ด มากกว่าค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 คือ 119 เมล็ด ขณะที่ค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อรวงของ BC_1F_2-4100 นี้ยังน้อยกว่าข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรถึง 90 เมล็ด เนื่องจากประชากร BC_1F_2-4100 ที่ใช้ในการศึกษาได้จากการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง เพราะตรวจพบความสัมพันธ์กับเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* เพียงเครื่องหมายเดียว แสดงให้เห็นว่ายีนดังกล่าวมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงน้อย จึงอาจมียีนตำแหน่งอื่นๆ ของข้าวพันธุ์ให้เมืองไทรที่มีผลต่อจำนวนเมล็ดต่อรวง ซึ่งยังไม่ได้คัดเลือก และทำการศึกษาในครั้งนี้

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวง พบว่าคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับชัยนาท 1 กับพันธุ์ให้เมืองไทร พบเครื่องหมาย RM10316 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a* มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_1F_2-4100 สำหรับคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์รับ กข 6 กับพันธุ์ให้แปดริ้ว พบเครื่องหมาย RM10318, RM10395 และ RM21335 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *Gn1a*, *SPP1* และ *Ghd7* ตามลำดับ มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร F_2 และเครื่องหมาย RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *WFP* มีความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากร BC_2F_2-1988-4181 ซึ่งเครื่องหมายที่แสดงความสัมพันธ์กับจำนวนเมล็ดต่อรวงในประชากรตัวอย่างของทั้งสองคู่ผสม โดยเฉพาะเครื่องหมาย RM10395, RM10316 และ RM23428 ที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีน *SPP1*, *Gn1a* และ *WFP* เป็นเครื่องหมายที่มีแนวโน้มที่สามารถนำไปใช้คัดเลือกในการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากได้ต่อไป นอกจากนี้ควรค้นหายีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงอื่นๆ และทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลที่จำเพาะสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากได้ต่อไป

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงเป็นลักษณะเชิงปริมาณ จึงมียีนที่ควบคุมการแสดงออกของลักษณะหลายตำแหน่ง การค้นหายีนตำแหน่งอื่นๆ เพิ่มเติม รวมถึงการค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนนั้นๆ เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้หรือยึดติดกับยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวงกับจำนวนเมล็ดต่อรวงในกลุ่มประชากรตัวอย่าง จะช่วยให้การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมีเมล็ดต่อรวงมากประสบผลสำเร็จได้ รวมถึงการคัดเลือกข้าวพันธุ์รับ และพันธุ์ให้ในการสร้างประชากรเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ดังกล่าว จำเป็นต้องพิจารณาลักษณะที่ศึกษาให้มีความแตกต่างกันมากที่สุด แต่ลักษณะอื่นๆ ควรมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ซึ่งจากการคัดเลือกข้าวพันธุ์รับและพันธุ์ให้ระหว่างคู่ผสมของข้าวพันธุ์ กข 6 กับแปดริ้วนั้น มีลักษณะความสูง และอายุออกดอกใกล้เคียงกัน ในขณะที่คู่ผสมของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 กับเมืองไทรนั้นมีความแตกต่างกันมากทำให้มีการกระจายตัวของลักษณะความสูงของต้นข้าว และอายุออกดอก ซึ่งความแปรปรวนที่เกิดจากการกระจายตัวของลักษณะความสูง และอายุออกดอกมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง รวมถึงจำนวนตัวอย่างของประชากรที่ทำการศึกษาต้องมีจำนวนมาก (150-200 ตัวอย่าง) เพื่อให้มีการกระจายตัวของลักษณะที่ศึกษาได้ดี การศึกษาในข้าวต้นสูงที่เกิดปัญหาต้นข้าวหักล้มเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อการพัฒนาดอก และรวง ดังนั้นควรทำการศึกษาในข้าวที่มีความสูงปานกลาง หรือต้นเตี้ยเพื่อลดปัจจัยที่จะส่งผลต่อศักยภาพ และการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อรวง นอกจากนี้ต้องควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อสภาพแวดล้อมให้มีความสม่ำเสมอ