

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะที่ต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในสภาพไร่ โดยการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานในประชากรชั่วที่ 2 จำนวน 356 ต้น ที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ GC2796 และพันธุ์เชิงขีงใหม่ 60 พบว่า ลักษณะที่ต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพไร่ในประชากรชั่วที่ 2 มีความผันแปรมาก กล่าวคือเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานเฉลี่ยระหว่าง 58-100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งที่เมล็ดเจริญและพัฒนาภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน และผ่านการทำให้เสื่อมคุณภาพเหมือนกัน ความผันแปรที่แตกต่างกันนี้น่าจะเป็นผลมาจากลักษณะทางพันธุกรรมที่ถ่ายทอดจากสายพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ที่ต่างกัน ทำให้ประชากรชั่วที่ 2 มีลักษณะความต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพไร่แตกต่างกันไป ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของวันชัย จันทรประเสริฐ (2533) และ Dassou and Kueneman (1984) การที่ความงอกมีความผันแปรกว้างมาก อาจเป็นเพราะแต่ละสายพันธุ์มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แปรปรวนในระหว่างการพัฒนาและการสุกแก่ไม่เท่ากัน (Nangju. 1977 ; Paschal and Ellis. 1987 ; Horlings *et al.* 1994)

การที่ลักษณะความต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพไร่ มีความแปรปรวนสูงเช่นนี้ แสดงให้เห็นว่าลักษณะนี้เป็นลักษณะเชิงปริมาณ พันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะมีความซับซ้อน มียีนหลายตำแหน่งสัมพันธ์กับการแสดงลักษณะ นอกจากนี้ยังมีสภาพแวดล้อมและปฏิกริยาระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องและน่าจะมีอิทธิพลสูงต่อลักษณะนี้ ลักษณะการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพไร่น่าจะมีอัตราพันธุกรรม (heritability) ต่ำ (กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2527 ; เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์. 2527 ; สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. 2528 ; ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2543) อย่างไรก็ตามลักษณะต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในสภาพไร่ ยังไม่มีรายงานการศึกษาพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะนี้มาก่อน ดังนั้นการหาเครื่องหมาย DNA ที่ควบคุมลักษณะที่ซับซ้อนที่สนใจ หรือไม่มีข้อมูลทางพันธุกรรมมาก่อนด้วยการประยุกต์ใช้เทคนิค RAPD และ AFLP ร่วมกับการวิเคราะห์แบบ bulk segregant น่าจะเป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและ ช่วยให้ได้ข้อมูลทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้อง (Michelmores *et al.* 1991 ; Poulsen *et al.* 1995 ; Mackay and Caligari. 2000)

จากการศึกษาครั้งนี้ได้แถบ DNA ทั้งหมด 3,138 แถบ โดยแบ่งเป็น RAPD primer จำนวน 866 แถบ และ AFLP primer จำนวน 2,272 แถบ อย่างไรก็ตามจากจำนวนแถบ DNA ทั้ง 3,138 แถบ ที่ได้นี้ไม่พบว่า มีแถบ DNA ใดที่ใช้เป็นเครื่องหมาย DNA สำหรับบ่งชี้ลักษณะที่ต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพไร่ ซึ่ง DNA ทั้ง 2 กลุ่มนี้มีแถบ DNA เหมือนกันทุกตำแหน่ง

ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเหตุผลหลัก 2 ประการ คือ 1) ลักษณะความต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพไร่ เป็นลักษณะเชิงปริมาณและผลของแต่ละยีนต่อการแสดงออกของลักษณะได้น้อย (minor gene effect) และ 2) ประชากรที่ใช้ศึกษาอาจไม่เหมาะสม เนื่องจากยีนตำแหน่งต่างๆ ในประชากรชั่วที่ 2 ที่ได้มีการกระจายตัวของยีนสูงสุดและมีเปอร์เซ็นต์ heterozygous สูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นเรื่องยากที่จะตรวจพบ DNA marker ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่ม DNA Michelmore *et al.* (1991) รายงานว่าประชากรที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาพันธุกรรมด้วย DNA marker ร่วมกับการวิเคราะห์แบบ bulk segregant คือ ประชากร RIL (recombinant inbred line) หรือ DH (double haploid) ที่เกิดจากการผสมตัวเอง หรือการผสมแบบสายเลือดชิดอย่างต่อเนื่องในประชากรชั่วที่ 2 จนได้ประชากรแต่ละต้นที่มีพันธุกรรมเข้าสู่สภาพ homozygous การสร้างประชากร RIL ต้องผ่านกระบวนการ meiosis ที่เกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมที่เป็นคู่กันหลายๆ ครั้ง ทำให้เกิดการกระจายตัวแบบสุ่มในแต่ละสายพันธุ์ (Burr and Burr, 1991) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wang and Paterson (1994) การสร้างกลุ่ม DNA จากข้อมูลฟีโนไทป์ โดยศึกษาในมะเขือเทศ ที่มีการกระจายตัว 4 แบบ ได้แก่ ประชากรผสมกลับ (backcross) ประชากรชั่วที่ 2 ประชากร RIL และ ประชากร DH พบว่า ประชากร RIL หรือ DH เหมาะสมที่จะใช้สร้างกลุ่ม DNA มากที่สุด เนื่องจากประชากรอยู่ในสภาพ homozygous โอกาสที่แต่ละกลุ่ม DNA จะปนเปื้อนเนื่องจากพันธุกรรมแบบ heterozygous มีต่ำกว่าประชากรชั่วที่ 2 และประชากรผสมกลับ ซึ่งประชากรทั้ง 2 นี้มีจีโนไทป์อยู่ในสภาพ heterozygous ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ และประชากรผสมกลับมีความเหมาะสมในการสร้างกลุ่ม DNA มากกว่าประชากรชั่วที่ 2

ด้วยสาเหตุนี้อาจมีผลต่อการศึกษาด้วยเทคนิค RAPD และ AFLP ซึ่งจัดเป็น dominant marker ซึ่งจะขัดต่อการเกิดแถบ DNA จึงไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่าง homozygous dominant และ heterozygous dominant ได้ เนื่องจากการศึกษาในประชากรชั่วที่ 2 มีสัดส่วนการกระจายตัวของยีนเป็น 1:2:1 (AA:Aa:aa) ข้อมูลที่ได้ในประชากรชั่วที่ 2 แต่ละต้นน้อยกว่าการใช้เครื่องหมายชนิด codominant marker และการวิเคราะห์ผลจากเครื่องหมายชนิด dominant marker ทำได้ยากกว่า codominant marker ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถสร้างประชากร RIL ได้เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการพัฒนานาน และมีข้อจำกัดในเรื่องของเครื่องหมาย DNA ที่ใช้ ดังนั้นหากต้องการศึกษาเครื่องหมาย DNA ที่วางตัวอยู่ชิดกับยีนที่ควบคุมลักษณะที่ต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพไร่ต่อไป ควรสร้างกลุ่ม DNA ตัวอย่างที่มีความเหมาะสมกับเครื่องหมาย DNA ที่เลือกใช้และเพิ่มจำนวนไพรเมอร์ที่ใช้ศึกษาขึ้นอีก นอกจากนี้จะต้องหาข้อมูลพื้นฐานอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องหรือมีความสัมพันธ์ต่อลักษณะที่ต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพไร่มาร่วมพิจารณาเพื่อเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์พ่อและแม่ เพื่อสร้างกลุ่ม DNA ที่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านรายงานถึงลักษณะที่ต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพไร่ ว่าอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับลักษณะทางกายภาพบางประการของ

เมล็ดพันธุ์ เช่น น้ำหนักเมล็ด ขนาดเมล็ด เปอร์เซ็นต์เชื้อหุ้มเมล็ดและสัดส่วนของเชื้อหุ้มเมล็ด เชื่อ กันว่าเมล็ดขนาดเล็กที่มีสัดส่วนหรือเปอร์เซ็นต์เชื้อหุ้มเมล็ดสูง สามารถที่จะชะลอการดูดน้ำและ ความชื้น จึงทำให้เมล็ดพันธุ์ที่มีลักษณะดังกล่าวมีความงอกและความแข็งแรงสูง (วันชัย จันทร ประเสริฐ. 2539 ; Anonymous. 1980 ; Kuo. 1989 ; Bhatia *et al.* 1993) อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ ได้ให้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับลักษณะที่ต้านทานต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในสภาพไร้ออกซิเจน ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองให้มีคุณภาพที่ดีต่อไป