บทที่ 4
วิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ส่วนหนึ่งเป็นงานวิจัยต่อเนื่องจากงานของ ทรงศักดิ์ สำราญสุข (2536) ซึ่งได้ศึกษาถึงผลของ demethylation ต่อการแสดงออกของยีนในข้าว โดยเลือกใช้ 5-azacytidine (5azaC) 25 μM แก่เมล็ดข้าวพันธุ์ กข.23 เหลืองประทิว123 และขาวดอกมะลิ105 ในสภาพ *in vitro* เป็นเวลา 20 วัน พบความผันแปรในลักษณะต่างๆ ซึ่งต่างจากชุดควบคุม (control) และได้คัดเลือกลักษณะบางลักษณะ เช่น การแตกกอมากกว่าปกติ ต้นเตี้ย และได้สิ้นสุดลงที่การศึกษาการแสดงออกของลักษณะต่างๆ ของข้าวพันธุ์ กข.23 เหลืองประทิว123 และขาวดอกมะลิ105 รุ่น M_0 และการถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากในข้าวพันธุ์ กข.23 รุ่น M_1 ซึ่งข้อมูลทางพันธุศาสตร์ยังไม่มากพอที่จะสรุปว่า 5azaC สามารถชักนำให้ลดการเกิดกระบวนการเติมหมู่เมทธิลในดีเอ็นเอของข้าวไทยพันธุ์ที่นำมาทดลองจนถึงรุ่นลูกได้ การศึกษานี้จึงมุ่งศึกษาการกระจายของลักษณะดังกล่าวในประชากรรุ่น M_1 M_2 และ M_3 ควบคู่ไปกับการศึกษาระดับของหมู่เมทธิลที่ดีเอ็นเอเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการคงอยู่ของลักษณะที่คัดเลือกไว้กับระดับของหมู่เมทธิลที่ดีเอ็นเอในขณะนั้น ในขณะเดียวกันก็ได้ศึกษาผลของ 5azaC ต่อการเพิ่มความสามารถในการทนเค็มในข้าวสายพันธุ์ทนเค็มซึ่งยังไม่มีข้อมูลในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และเหลืองประทิว123 สายพันธุ์ทนเค็ม

4.1 ผลของสภาวะในการทดลองต่อการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความสูงและการแตกกอในข้าวรุ่น M_1

จากการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความสูงและการแตกกอของข้าวรุ่น M_1 ที่ได้จากการผสมตัวเองของข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 รุ่น M_0 จำนวน 3 สายพันธุ์และขาวดอกมะลิ105 จำนวน 2 สายพันธุ์ภายใต้การทดลองในสามสภาวะคือ การทดลองที่หนึ่งปลูกต้นข้าวในกระถางดินเผาโดยใช้ต้นข้าวจำนวน 1 ต้นต่อกระถาง การทดลองที่สองปลูกต้นข้าวในกระถางดินเผาโดยใช้ต้นข้าวจำนวน 3 ต้นต่อกระถาง และการทดลองที่สามปลูกในแปลงทดลองของสถานีวิจัยข้าวปทุมธานีพบว่า สภาวะในการทดลองมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะความสูงและการแตกกอซึ่งเห็นได้จากผลของค่าเฉลี่ย ค่าสูงสุด และค่าต่ำสุดของลักษณะความสูงและจำนวนยอดของชุดควบคุมในแต่ละการทดลอง (ตารางที่ 1, 4, 7, 14 และ 17) ที่ทำให้การกระจายของลักษณะความสูงและการแตกกอ (พิจารณาจากจำนวนยอด) ของชุดควบคุมในแต่ละการทดลองมีค่าไม่เท่ากัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอิทธิพลของปัจจัยทางกายภาพเช่น สภาพ

แสง โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 และขาวดอกมะลิ105 เป็นข้าวพันธุ์ที่ไวต่อช่วงแสง สภาพแสงในต่างพื้นที่จึงน่าจะมีผลต่อความสูงของต้น ซึ่งจากผลของการทดลองพบว่าต้นข้าวในการทดลองที่หนึ่งและสองที่ปลูกในกระถางดินเผาภายใต้เรือนปลูกพืชทดลองมีความสูงเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่ในการทดลองที่สามที่เป็นข้าวที่ปลูกในแปลงทดลองของสถานีวิจัยข้าวปทุมธานีมีความสูงเฉลี่ยที่ต่ำกว่ามาก อีกปัจจัยหนึ่งที่น่าจะมีอิทธิพลต่อการเจริญของต้นข้าวโดยเฉพาะอย่างยิ่งการแตกกอของต้นข้าวก็คือ ข้อจำกัดของพื้นที่สำหรับการเจริญของต้นข้าว 1 ต้น โดยพบว่า ในการทดลองที่หนึ่งต้นข้าว 1 ต้นมีพื้นที่สำหรับการเจริญ 1 กระถาง การทดลองที่สามต้นข้าว 1 ต้นมีระยะห่างระหว่างต้นและแถว 40 x 40 เซนติเมตร ในขณะที่การทดลองที่สองพื้นที่ 1 กระถางมีต้นข้าวถึง 3 ต้นซึ่งข้อจำกัดนี้จึงอาจทำให้มีจำนวนยอดเฉลี่ยที่ต่ำกว่าในการทดลองที่หนึ่งและสาม จากผลการทดลองเห็นได้ว่าการทดลองโดยการปลูกข้าวในกระถางดินเผาโดยใช้จำนวนต้นข้าว 1 ต้นต่อกระถางเป็นการทดลองที่เหมาะสมที่สุดในการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความสูงและการแตกกอเนื่องจากสามารถลดปัญหาลงได้หลายปัญหาเช่น การดูแลให้ปุ๋ยและกำจัดศัตรูทางธรรมชาติสามารถทำได้ง่ายสะดวก การแสดงออกของลักษณะความสูงและการแตกกอของต้นข้าวสามารถทำได้เต็มที่โดยไม่ถูกจำกัดโดยพื้นที่ต่อการเจริญของข้าว 1 ต้นแต่อย่างไรก็ตามการศึกษาโดยการปลูกข้าวโดยใช้จำนวน 1 ต้นต่อกระถางก็มีข้อจำกัดในเรื่องขนาดของกลุ่มประชากรที่ทดลองซึ่งไม่สามารถทำการศึกษาได้คราวละมากๆ เนื่องจากต้องใช้พื้นที่รวมในการศึกษามากโดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 และขาวดอกมะลิ105 นี้สามารถปลูกได้ปีละครั้งและต้องปลูกในช่วงเวลาเดียวกันจึงมักประสบกับปัญหาในเรื่องของพื้นที่เสมอ ในขณะที่การทดลองโดยการปลูกข้าวโดยใช้จำนวนต้นข้าว 3 ต้นต่อกระถางจะทำให้เพิ่มขนาดของประชากรขึ้นได้โดยใช้พื้นที่เท่าเดิมซึ่งการเจริญของต้นข้าวที่ปลูกในสภาวะนี้อาจมีข้อจำกัดในเรื่องของพื้นที่ที่ใช้สำหรับการเจริญแต่จากการทดลองเราพบว่า ต้นข้าวมีลักษณะปกติไม่มีการแสดงออกของต้นข้าวที่ขาดธาตุอาหารและเมื่อเจริญเต็มที่ลักษณะความสูงที่เป็นต้นสูง ต้นปกติ และต้นเตี้ยยังสามารถเห็นได้ชัดเจนเช่นเดียวกับข้าวที่ปลูกในแปลงทดลองของสถานีวิจัยข้าวปทุมธานีซึ่งให้พื้นที่โดยรอบที่เอื้อต่อการแตกกอก็ยังคงพบต้นที่แตกกอมาก แตกกอปกติ และแตกกอน้อยได้ซึ่งจากผลการทดลองทั้งหมดที่ได้นี้น่าจะแสดงให้เห็นว่า ลักษณะที่คัดเลือกและปรากฏในประชากรรุ่นต่อไปเป็นลักษณะที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงระดับ DNA methylation ซึ่งส่งผลต่อยีนหลายยีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมลักษณะดังกล่าว ไม่ใช่เกิดจากการปรับตัวของข้าวในแต่ละสภาวะการทดลองที่แตกต่างกันเพียงแต่ว่าการจำกัดพื้นที่เพาะปลูก (3 ต้นต่อกระถาง) จะทำให้เกิดการแข่งขันในด้านความสูงรุนแรงกว่าในการทดลองอื่น ซึ่งจะส่งผลให้ความแตกต่างระหว่างต้นสูงและต้นเตี้ยชัดเจนยิ่งขึ้น และต้นข้าวแต่ละต้นที่นำไปปลูกนั้นถูกควบคุมโดยยีนซึ่งถูกกระตุ้นให้มีการแสดงออกโดย 5azaC ในระดับที่มีความจำเพาะในแต่ละต้น ดังนั้นไม่ว่าจะนำไปทดลองปลูกใน

สภาวะใดก็ตามลักษณะนั้นก็สามารถแสดงออกมาได้ตามคำสั่งของยีนที่ควบคุมและทำให้เห็นความแตกต่างของลักษณะความสูงและการแตกกอได้

แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าสภาวะของการทดลองจะมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะความสูงและการแตกกอ แต่การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความสูงและการแตกกอของข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 และขาวดอกมะลิ105 รุ่น M_1 ก็สามารถทำได้โดยการศึกษาเปรียบเทียบกับชุดควบคุมของแต่ละการทดลอง

4.2 การถ่ายทอดของลักษณะความสูงและการแตกกอของข้าวรุ่นลูก

4.2.1 พันธุ์เหลืองประทิว123

4.2.1.1 การถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและต้นเตี้ยในรุ่น M_1

จากการศึกษาของทรงศักดิ์ สำราญสุข (2536) พบว่าการให้สาร 5azaC ความเข้มข้น 25 μM กับข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 ในสภาพ *in vitro* เป็นเวลานาน 20 วันสามารถชักนำให้เกิดความผันแปรของลักษณะความสูงและการแตกกอของข้าวได้ และเมื่อเจริญเต็มที่พบต้นสูง 6.7% ต้นปกติ 50% ต้นกึ่งเตี้ย 36.7% และต้นเตี้ย 6.7% โดยคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีลักษณะพิเศษได้ 6 สายพันธุ์คือ LPT123 A04B LPT123 A07B LPT123 A10DB LPT123 A13D LPT123 A15DB และ LPT123 A26D ซึ่งจากการศึกษานี้สามารถบ่งชี้ได้ว่า 5azaC เป็นสารที่กระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของลักษณะต้นเตี้ยได้ (ทรงศักดิ์ สำราญสุข, 2536) เพื่อพิสูจน์ว่าลักษณะดังกล่าวสามารถถ่ายทอดในรุ่นลูกได้จึงได้คัดเลือกข้าวที่มีลักษณะพิเศษบางสายพันธุ์มาทำการศึกษาต่อ ซึ่งจากการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความสูงและการแตกกอของข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 รุ่น M_1 ที่ได้จากการผสมตัวเองของข้าวรุ่น M_0 จำนวน 3 สายพันธุ์คือ LPT123 A10DB LPT123 A15DB ที่มีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมาก และ LPT123 A13D ที่มีลักษณะต้นเตี้ยพบว่า ในทุกการทดลองของทั้งสามสายพันธุ์ยังคงมีการ กระจายของลักษณะความสูงและการแตกกอ ซึ่งเห็นได้จากผลของค่าเฉลี่ย ค่าสูงสุด และค่าต่ำสุดของลักษณะความสูงและจำนวนยอดของข้าวรุ่น M_1 ในทั้งสามสายพันธุ์นั้นมีแนวโน้มเกิดความแตกต่างกันมากในประชากรเพิ่มขึ้นกว่าในชุดควบคุม (ตารางที่ 1, 4 และ 7) แสดงให้เห็นว่า ในรุ่น M_1 ของข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 ในสายพันธุ์ที่นำมาศึกษานี้ยังไม่มีความคงที่ของการแสดงออกของลักษณะความสูงและการแตกกอที่คัดเลือกมา ผลการทดลองนี้ตรงกับการทดลองของทรงศักดิ์ สำราญสุขที่พบว่า ข้าวพันธุ์กข.23 รุ่น M_1 ที่ได้จากการผสมตัวเองของข้าวพันธุ์กข.23 ที่มีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากที่ชักนำด้วย 5azaC ยังคงมีการกระจายของลักษณะความสูงและการแตกกอ (ทรงศักดิ์ สำราญสุข, 2536) นอกจากนี้ Sano et al ได้พบว่า ข้าวในกลุ่ม *japonica* พันธุ์ Ginbozu ที่มีต้นเตี้ยที่ถูกชักนำด้วย 5azaC ในรุ่น M_1 ยังคงมีการกระจายของลักษณะความสูงเช่นกัน (Sano et al., 1990)

ลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากในรุ่น M_0 ของสายพันธุ์ LPT123 A10DB และ LPT123 A15DB สามารถถ่ายทอดต่อมาได้ในรุ่น M_1 (ตารางที่ 2 และ 5) เช่นเดียวกับลักษณะต้นเตี้ยในสายพันธุ์ LPT123 A13D รุ่น M_0 ที่พบว่าสามารถถ่ายทอดมาได้ในรุ่น M_1 เช่นกัน (ตารางที่ 8) ซึ่งการถ่ายทอดของลักษณะดังกล่าวจากรุ่น M_0 มายังรุ่น M_1 นั้นพบสัดส่วนการถ่ายทอดที่แตกต่างกันในระหว่างสายพันธุ์และการทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสายพันธุ์ LPT123 A15DB รุ่น M_0 สามารถถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากมายังรุ่น M_1 ได้ถึง 30% 17.3% และ 11.1% ในการทดลองที่หนึ่ง สอง และสามตามลำดับ (ตารางที่ 5) ซึ่งจากการศึกษาสามารถคัดเลือกต้นที่คงลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากได้ 6 สายพันธุ์ในการทดลองที่หนึ่ง 9 สายพันธุ์ในการทดลองที่สองและ 3 สายพันธุ์ในการทดลองที่สาม (ตารางที่ 6) โดยพบสายพันธุ์ที่คงลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากชัดเจนคือ LPT123 A15DB $M_1$1/04DB ที่มีความสูงเพียง 63 เซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าความสูงเฉลี่ยของชุดควบคุมถึง 25% และมีจำนวนยอด 25 ยอดต่อกอ ที่มากกว่าจำนวนยอดต่อกอเฉลี่ยของชุดควบคุมถึง 40% ซึ่งถ้านำเอาไปศึกษาในรุ่นถัดไปน่าจะมีโอกาสได้สายพันธุ์ที่มีลักษณะที่คงที่ได้มาก ในขณะที่ลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากในรุ่น M_0 ของสายพันธุ์ LPT123 A10DB สามารถถ่ายทอดมายังรุ่น M_1 ได้เพียง 5% 5.54% และ 6.45% ในการทดลองที่หนึ่ง สอง และสามตามลำดับ (ตารางที่ 2)

นอกจากพบการถ่ายทอดลักษณะความสูงและการแตกกอที่คัดเลือกมาของข้าวรุ่น M_1 ทั้งสามสายพันธุ์แล้วยังพบว่ามีการแสดงออกของลักษณะอื่นด้วย (ตารางที่ 2, 5 และ8) และเมื่อพิจารณาการกระจายของลักษณะความสูงในทั้งสามสายพันธุ์พบว่า มีการกระจายเป็นต้นสูง ต้นปกติ และต้นเตี้ยในสัดส่วนที่แตกต่างกันไปเช่นเดียวกับการกระจายของลักษณะการแตกกอที่พบว่ามีการกระจายเป็นต้นที่แตกกอมาก ต้นที่แตกกอปกติ และต้นที่แตกกอน้อยในสัดส่วนที่แตกต่างกัน ซึ่งถ้ามีการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการและนำไปศึกษาในรุ่นต่อๆไปการกระจายของลักษณะความสูงและการแตกกอน่าจะน้อยลงและอาจคัดเลือกได้สายพันธุ์ที่มีความคงที่ของลักษณะที่ต้องการได้ จากการทดลองนี้เป็นการพิสูจน์ให้เห็นว่า 5azaC มีผลต่อการแสดงออกของยีนในข้าวที่สามารถถ่ายทอดต่อมาได้ในรุ่น M_1 มิได้เป็นเพียงการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหรือการปรับตัวที่เกิดจากผลของ 5azaC ซึ่งตรงกับการทดลองของทรงศักดิ์ สำราญสุขที่พบว่า ข้าวรุ่น M_1 ที่ได้จากการผสมตัวเองของพันธุ์กข.23 ที่มีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากที่ชักนำด้วย 5azaC สามารถถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากอยู่ถึง 10% และยังคงพบการแสดงออกของลักษณะอื่นด้วย (ทรงศักดิ์ สำราญสุข, 2536) และจากการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยของข้าวในกลุ่ม *japonica* พันธุ์ Ginbozu ที่ถูกชักนำด้วย 5azaC ของ Sano et al พบว่ามีการคงลักษณะต้นเตี้ยในรุ่น M_1 อยู่ 35% และพบการกระจายของลักษณะต้นสูงร่วมด้วย 65% (Sano et al., 1990) และจากการศึกษาของ Brettel and Dennis ในข้าวโพดพบว่า กระบวนการเติมหมู่อนุมูลเมทธิลที่ไซโตซีนที่ลดลงในบริเวณ 5' end ของ transposal

element ทำให้ silent Ac แสดงออกได้มากขึ้น และสามารถถ่ายทอดต่อไปสู่รุ่นลูกได้ (Brettel et al., 1991)

ลักษณะความยาวและความกว้างของแผ่นใบธงนั้นพบว่าใบมักสั้นและกว้างในยอดที่มีความสูงมาก และพบใบธงที่ยาวขึ้นและแคบลงในยอดที่มีความสูงลดลงมาในข้าวที่ปลูกในกระถางดินเผา ส่วนข้าวที่ปลูกในแปลงทดลองของสถานีวิจัยข้าวปทุมธานีนั้นพบว่าส่วนใหญ่มีใบธงที่แคบและยาวใกล้เคียงกับชุดควบคุมซึ่งจากผลการศึกษานี้พบว่าลักษณะความกว้างและความยาวของแผ่นใบธงที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ยังไม่ชัดเจน ลักษณะรวงสั้นมักพบร่วมกับต้นเตี้ยส่วนในต้นปกติและต้นสูงลักษณะความยาวรวงมักใกล้เคียงกับชุดควบคุม และในต้นที่แตกกอมากจะให้จำนวนรวงที่มากกว่าต้นที่แตกกอปกติหรือต้นที่แตกกอน้อยและให้น้ำหนักเมล็ดรวมมากกว่าในชุดควบคุม (ไม่ได้แสดงไว้ในผลการทดลอง) ส่วนน้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ดของข้าวในรุ่น M_1 ของข้าวเหลืองประทิว123 ในทั้งสามสายพันธุ์นี้พบทั้งที่มีน้ำหนักมากกว่าและน้อยกว่าชุดควบคุมซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับทรงศักดิ์ สำราญสุขที่ได้รายงานในข้าวพันธุ์กข.23 เหลืองประทิว123 และขาวดอกมะลิ105 รุ่น M_0

4.2.1.2 การถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและต้นสูงแตกกอมากในรุ่น M_2

4.2.1.2.1 การถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากในรุ่น M_2

จากการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากในรุ่น M_2 ที่ได้จากการผสมตัวเองของข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 สายพันธุ์ LPT123 A10DB รุ่น M_0 ที่มีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและยังคงลักษณะดังกล่าวในรุ่น M_1 จำนวน 1 สายพันธุ์คือ LPT123 A10DB $M_1$52DB จากที่คัดเลือกไว้ 6 สายพันธุ์พบว่า ไม่สามารถถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวมาได้ในรุ่น M_2 และพบว่ามีการกระจายของลักษณะความสูงและการแตกกอเป็นต้นสูงแตกกอน้อย 15% ต้นสูงปกติแตกกอน้อย 20% และต้นเตี้ยแตกกอน้อย 65% จากผลการศึกษาเห็นได้ว่าลักษณะต้นเตี้ยยังเป็นลักษณะที่สามารถถ่ายทอดมาได้มากเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์LPT123 A10DB รุ่น M_1 ที่พบการแสดงออกของลักษณะต้นเตี้ยเพียง 10% (ตารางที่ 2) ดังนั้นเมื่อมีการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยในรุ่นต่อๆไปโอกาสที่จะได้สายพันธุ์ที่เป็นต้นเตี้ยน่าจะมีได้มากถึงแม้ว่าจะไม่พบการคงลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากในสายพันธุ์ LPT123 A10DB $M_1$52DB แต่จากผลการทดลองนี้ไม่ได้เป็นการชี้ว่าลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากไม่สามารถถ่ายทอดต่อมาในรุ่น M_2 เพราะผลการทดลองที่ได้นี้เป็นแต่เพียงการศึกษาในบางส่วนเท่านั้นเพราะยังขาดการศึกษาในอีก 5 สายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ที่มีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมาก นอกจากนี้จากผลการศึกษาในสายพันธุ์ LPT123 A15DB รุ่น M_0 ที่พบว่ามีสายพันธุ์ที่คงลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากในรุ่น M_1 อยู่หลายสายพันธุ์ก็ยังไม่ได้ทำการศึกษาเนื่องจากในการศึกษานี้ต้องใช้เวลา

และต้องมีพื้นที่ที่มากพอ ในงานวิจัยที่มีเวลาจำกัดจึงไม่สามารถทำได้ เพื่อหาข้อสรุปนี้จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาในสายพันธุ์อื่นๆอีกต่อไป

4.2.1.2.2 **การถ่ายทอดลักษณะต้นสูงแตกกอมากในรุ่น M_2**

จากการศึกษาในรุ่น M_2 ที่ได้จากการผสมตัวเองของสายพันธุ์ LPT123 A10DB รุ่น M_0 ที่มีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและแสดงลักษณะต้นสูงแตกกอมากในรุ่น M_1 จำนวน 1 สายพันธุ์คือ LPT123 A10DB $M_1$14HB ที่คัดเลือกมาจาก 14 สายพันธุ์ที่มีลักษณะต้นสูงแตกกอมากพบว่า สามารถถ่ายทอดลักษณะต้นสูงแตกกอมากในรุ่น M_2 ได้ 7.7% (ตารางที่ 13) และพบว่ามีการกระจายของลักษณะอื่นด้วย ส่วนในการทดลองของ Sano et al พบว่า ในรุ่น M_2 ของข้าวในกลุ่ม *japonica* ซึ่งมีพื้นฐานทางพันธุกรรมต่างจากข้าว *indica* มีความคงที่ของการแสดงออกของลักษณะความสูง โดยในข้าวรุ่น M_2 ที่ได้จากการผสมตัวเองของต้นเตี้ย M_1 มีลักษณะเตี้ยทั้งหมดและ M_2 ที่ได้จากการผสมตัวเองของต้นสูง M_1 มีลักษณะต้นสูงทั้งหมด (Sano et al., 1990) ซึ่งเป็นการชี้ให้เห็นว่า ข้าวที่อยู่ในกลุ่มที่ต่างกันมีการแสดงออกที่ต่างกันและการคัดเลือกเพียงลักษณะเดียว เมื่อมีการผสมตัวเองและคัดเลือกลักษณะที่ต้องการต่อไปเรื่อยๆ โอกาสที่จะได้ลักษณะที่คงที่ก็มีได้มากกว่าการคัดเลือกทีละหลายลักษณะในเวลาเดียวกัน

เมื่อพิจารณาการกระจายของลักษณะความสูงของข้าวสายพันธุ์ LPT123 A10DB M_1 14HB รุ่น M_2 พบการกระจายเป็นต้นสูง ต้นปกติ และต้นเตี้ย แต่พบว่าต้นเตี้ยเป็นลักษณะที่พบมากที่สุดถึง 69.3% (ตารางที่ 13) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากข้าวสายพันธุ์ LPT123 A10DB $M_1$14HB ที่มีลักษณะต้นสูงแตกกอมากนั้นมีลักษณะเดิมในรุ่น M_0 คือลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากโอกาสที่จะกลับไปแสดงลักษณะต้นเตี้ยก็มีได้มาก และเมื่อพิจารณาเฉพาะการกระจายของลักษณะการแตกกอพบมีการกระจายเป็นต้นที่แตกกอมาก ต้นที่แตกกอปกติ และต้นที่แตกกอน้อย โดยพบสัดส่วนของต้นที่แตกกอมากมากที่สุด 46% (ตารางที่ 13) แสดงว่าลักษณะการแตกกอมากยังคงสามารถถ่ายทอดมาได้มากในรุ่น M_2

จากผลการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้นสูงแตกกอมากของข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 รุ่น M_1 จำนวน 1 สายพันธุ์จาก 14 สายพันธุ์ที่มีลักษณะต้นสูงแตกกอมากมีโอกาสที่จะถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวมายังรุ่น M_2 ได้ 7.1% เพื่อหาข้อสรุปเพิ่มเติมจำเป็นต้องศึกษาในสายพันธุ์อื่นๆ ต่อไป

4.2.2 **พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105**

4.2.2.1 การถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยในรุ่น M_1

จากการศึกษาของทรงศักดิ์ สำราญสุข (2536) พบว่าการให้สาร 5azaC ความเข้มข้น 25 μM กับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในสภาพ *in vitro* เป็นเวลานาน 20 วันสามารถชักนำให้เกิดความผันแปรของลักษณะความสูงและการแตกกอของข้าวได้ และเมื่อเจริญเต็มที่พบต้นสูง 3% ต้นปกติ 0% ต้นกึ่งเตี้ย 66.7% และต้นเตี้ย 30.3% โดยคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีลักษณะพิเศษได้ 8 สายพันธุ์คือ KDML105 A07B KDML105 A17D KDML105 A20D KDML105 A21D KDML105 A28D KDML105 A29D KDML105 A30D และ KDML105 A30D ซึ่งจากการศึกษานี้สามารถบ่งชี้ได้ว่า 5azaC เป็นสารที่กระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของต้นเตี้ยได้ (ทรงศักดิ์ สำราญสุข, 2536) เพื่อพิสูจน์ว่า ลักษณะดังกล่าวสามารถถ่ายทอดในรุ่นลูกได้จึงได้คัดเลือกข้าวที่มีลักษณะพิเศษบางสายพันธุ์มาทำการศึกษาต่อ ซึ่งจากการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยในรุ่น M_1 ที่ได้จากการผสมตัวเองของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 รุ่น M_0 จำนวน 2 สายพันธุ์คือ KDML105 A17D และ KDML105 A29D พบว่า ในทั้งสองสายพันธุ์และในทุกการทดลองยังคงมีการกระจายของลักษณะความสูงและการแตกกอมากกว่าชุดควบคุม ซึ่งเห็นได้จากค่าเฉลี่ย ค่าสูงสุด และค่าต่ำสุดของลักษณะความสูงและจำนวนยอดของข้าวรุ่น M_1 ทั้งสองสายพันธุ์กับชุดควบคุม (ตารางที่ 14 และ 17) ซึ่งได้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะในข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 รุ่น M_1

ลักษณะต้นเตี้ยของสายพันธุ์ KDML105 A17D และ KDML105 A29D ในรุ่น M_0 สามารถถ่ายทอดต่อมาได้ในรุ่น M_1 (ตารางที่ 15 และ 18) ซึ่งพบว่ามีสัดส่วนของการถ่ายทอดลักษณะแตกต่างกันในระหว่างสายพันธุ์และในระหว่างการทดลองที่ต่างกันเช่นเดียวกับในพันธุ์เหลืองประทิว123 รุ่น M_1 โดยพบการคงลักษณะต้นเตี้ยในสายพันธุ์ KDML105 A17D รุ่น M_1 50% 60% และ 6.25% ในการทดลองที่หนึ่ง สอง และสามตามลำดับ (ตารางที่ 15) ซึ่งสามารถคัดเลือกได้สายพันธุ์ที่คงลักษณะต้นเตี้ย 5 สายพันธุ์ในการทดลองที่หนึ่ง 33 สายพันธุ์ในการทดลองที่สองและ 1 สายพันธุ์ในการทดลองที่สาม (ตารางที่ 16) นอกจากนี้ยังพบการกระจายของลักษณะอื่นด้วยในทั้งสองสายพันธุ์ (ตารางที่ 15 และ 18) โดยสัดส่วนของต้นเตี้ยในรุ่น M_1 ของสายพันธุ์ KDML105 A17D และ KDML105 A29D เป็นสัดส่วนที่พบมากที่สุดในทุกการทดลอง ผลจากการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ในรุ่น M_1 ใน 2 สายพันธุ์ที่มีลักษณะต้นเตี้ยชี้ให้เห็นว่า ลักษณะต้นเตี้ยในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่ถูกชักนำด้วย 5azaC สามารถถ่ายทอดมาได้ในรุ่น M_1 เช่นเดียวกับผลการศึกษาในข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 ที่ถูกชักนำด้วย 5azaC

ลักษณะความยาวและความกว้างของแผ่นใบธงนั้นพบว่าใบมักสั้นและกว้างในยอดที่มีความสูงมาก และพบใบธงที่ยาวขึ้นและแคบลงในยอดที่มีความสูงลดลงมาในข้าวที่ปลูก

ในกระถางดินเผา ส่วนข้าวที่ปลูกในแปลงทดลองของสถานีวิจัยข้าวปทุมธานีนั้นพบว่าส่วนใหญ่มีใบธงที่แคบและยาวใกล้เคียงกับชุดควบคุมซึ่งจากผลการศึกษานี้พบว่าลักษณะความกว้างและความยาวของแผ่นใบธงที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ยังไม่ชัดเจน ลักษณะรวงสั้นมักพบร่วมกับต้นเตี้ยส่วนในต้นปกติและต้นสูงลักษณะความยาวรวงมักใกล้เคียงกับชุดควบคุม และในต้นที่แตกกอมากจะให้จำนวนรวงที่มากกว่าต้นที่แตกกอปกติหรือต้นที่แตกกอน้อยและให้น้ำหนักเมล็ดรวมมากกว่าในชุดควบคุม (ไม่ได้แสดงไว้ในผลการทดลอง) ส่วนน้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ดของข้าวในรุ่น M_1 ของข้าวขาวดอกมะลิ105 ในทั้งสองสายพันธุ์นี้พบทั้งที่มีน้ำหนักมากกว่าและน้อยกว่าชุดควบคุมซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับทรงศักดิ์ สำราญสุขที่ได้รายงานในข้าวพันธุ์กข.23 เหลืองประทิว123 และขาวดอกมะลิ105 รุ่น M_0

4.2.2.2 การถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยในรุ่น M_2

จากการศึกษาข้าวรุ่น M_2 ที่ได้จากการผสมตัวเองของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สายพันธุ์ KDML105 A17D รุ่น M_0 ที่มีลักษณะต้นเตี้ยและคงลักษณะดังกล่าวในรุ่น M_1 จำนวน 2 สายพันธุ์คือ KDML105 A17D $M_1$12D และ KDML105 A17D $M_1$19D จากสายพันธุ์ที่คงลักษณะต้นเตี้ยทั้งหมด 39 สายพันธุ์พบว่า ในการศึกษานี้มีเพียงสายพันธุ์ KDML105 A17D $M_1$12D ที่สามารถถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยมาได้ในรุ่น M_2 ซึ่งพบ 10.7% (ตารางที่ 21) และยังคงมีการกระจายของลักษณะความสูงและการแตกกอโดยพบการแสดงออกของลักษณะอื่นด้วย จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ลักษณะต้นเตี้ยในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่ชักนำด้วย 5azaC มีโอกาสที่จะถ่ายทอดมายังรุ่น M_2 ได้

4.2.3 พันธุ์กข.23

4.2.3.1 การถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยในรุ่น M_2

จากการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยในรุ่น M_2 ที่ได้จากการผสมตัวเองของข้าวพันธุ์กข.23 สายพันธุ์ RD23 A94DB รุ่น M_0 ที่มีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและแสดงลักษณะต้นเตี้ยในรุ่น M_1 จำนวน 2 สายพันธุ์คือ RD23 A94DB $M_1$22D และ RD23 A94DB $M_1$43D จาก 8 สายพันธุ์ที่มีลักษณะต้นเตี้ยที่คัดเลือกโดยทรงศักดิ์ สำราญสุข (2536) พบว่า มีเพียงสายพันธุ์ RD23 A94DB $M_1$43D ที่สามารถถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยมาได้ในรุ่น M_2 ซึ่งพบการคงลักษณะดังกล่าว 3.9% (ตารางที่ 27) และมีการแสดงออกของลักษณะอื่นด้วย เมื่อพิจารณาการกระจายของลักษณะความสูงในทั้งสองสายพันธุ์พบว่า มีการกระจายเป็นต้นสูงต้นปกติ และต้นเตี้ยในขณะที่การกระจายของลักษณะการแตกกอเป็นไปในทางเดียวกันคือ มีการกระจายของลักษณะการแตกกอเป็นต้นที่แตกกอมาก และต้นที่แตกกอปกติ โดยพบการกลับไปแสดงออกของต้นที่แตกกอมากเหมือนกับลักษณะเดิมในสายพันธุ์ RD23 A94DB ในรุ่น

M_0 ซึ่งพบว่าเป็นสัดส่วนของลักษณะการแตกกอที่พบมากที่สุด (ตารางที่ 25 และ 27) แต่อย่างไรก็ตามลักษณะต้นเตี้ยก็มีโอกาสถ่ายทอดมายังรุ่น M_2 ได้

4.2.3.2 การถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและต้นสูงแตกกอมากในรุ่น M_3

การถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากในรุ่น M_3

จากการศึกษารุ่น M_3 ที่ได้จากการผสมตัวเองของข้าวพันธุ์กข.23 สายพันธุ์ RD23 A94DB รุ่น M_0 ที่มีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและแสดงลักษณะต้นเตี้ยในรุ่น M_1 และกลับไปแสดงลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากในรุ่น M_2 จำนวน 1 สายพันธุ์คือ RD23 A94DB $M_1$43D $M_2$14DB พบว่า สามารถถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากมาได้ 41.7% (ตารางที่ 29) นอกจากนี้ยังมีการกระจายของลักษณะอื่นด้วย เมื่อพิจารณาการกระจายของลักษณะความสูงพบการกระจายเป็นต้นปกติ และต้นเตี้ย โดยพบต้นเตี้ยมากที่สุดถึง 54.2% (ตารางที่ 29) ซึ่งมีสัดส่วนการแสดงออกที่สูงขึ้นจาก RD23 A94DB $M_1$43D ที่พบต้นเตี้ย 19.2% (ตารางที่ 27) และมากกว่าสัดส่วนของต้นเตี้ยที่พบใน RD23 A94DB รุ่น M_0 ซึ่งพบ 41% (ทรงศักดิ์ สำราญสุข, 2536) สำหรับการกระจายของลักษณะการแตกกอพบมีการกระจายเป็นต้นที่แตกกอมาก และต้นที่แตกกอปกติ โดยลักษณะต้นที่แตกกอมากเป็นสัดส่วนที่พบมากที่สุดถึง 75% (ตารางที่ 29) ในขณะที่ในรุ่น M_1 ของสายพันธุ์ RD23 A94DB $M_1$43D พบสัดส่วนของต้นที่แตกกอมาก 69.2% (ตารางที่ 27) และในรุ่น M_0ของสายพันธุ์ RD23 A94DB พบต้นที่แตกกอมาก 36% (ทรงศักดิ์ สำราญสุข, 2536) ในข้าวพันธุ์กข.23 สายพันธุ์ RD23 A94DB $M_1$43D $M_2$14DB รุ่น M_3 มีการกระจายของลักษณะความสูงและการแตกกอน้อยลงพบการกระจายเพียง 4 ลักษณะเท่านั้นคือ ต้นที่แตกกอมาก ต้นปกติ ต้นเตี้ยแตกกอมาก และต้นเตี้ย (ตารางที่ 29) แสดงให้เห็นว่า ลักษณะ ต้นเตี้ยแตกกอมากในข้าวพันธุ์กข.23 ที่ชักนำด้วย 5 azaC สามารถถ่ายทอดมาได้ในรุ่น M_3 และคาดว่าเมื่อมีการผสมตัวเองต่อไปอีกประมาณ 3 รุ่นน่าจะมีโอกาสได้สายพันธุ์ที่คงที่ต่อไป

การถ่ายทอดลักษณะต้นสูงแตกกอมากในรุ่น M_3

จากการศึกษารุ่น M_3 ที่ได้จากการผสมตัวเองของข้าวพันธุ์กข.23 สายพันธุ์ RD23 A94DB รุ่น M_0 ที่มีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและแสดงลักษณะต้นเตี้ยในรุ่น M_1 และแสดงลักษณะต้นสูงแตกกอมากในรุ่น M_2 จำนวน 1 สายพันธุ์คือ RD23 A94DB $M_1$43D $M_2$16HB พบว่า สามารถถ่ายทอดลักษณะต้นสูงแตกกอมากมาได้ 44.4% (ตารางที่ 32) นอกจากนี้ยังมีการกระจายของลักษณะอื่นด้วย เมื่อพิจารณาการกระจายของลักษณะความสูงพบการกระจายเป็นต้นสูง และต้นปกติ โดยพบต้นสูงมากที่สุดถึง 72.2% (ตารางที่ 32) ซึ่งมีสัดส่วนการ

แสดงออกที่มากกว่า RD23 A94DB $M_1$43D ที่พบต้นสูง 69.2% (ตารางที่ 27) สำหรับการกระจายของลักษณะการแตกกอพบมีการกระจายเป็นต้นที่แตกกอมาก และต้นที่แตกกอปกติ โดยลักษณะต้นที่แตกกอมากเป็นสัดส่วนที่พบมากที่สุดถึง 61.1% (ตารางที่ 32) ในขณะที่ในรุ่น M_1 ของสายพันธุ์ RD23 A94DB $M_1$43D พบสัดส่วนของต้นที่แตกกอมาก 69.2% (ตารางที่ 27) และในรุ่น M_0 ของสายพันธุ์ RD23 A94DB พบต้นที่แตกกอมาก 36% (ทรงศักดิ์ สำราญสุข, 2536) ในข้าวพันธุ์กข.23 สายพันธุ์ RD23 A94DB $M_1$43D $M_2$16 HB รุ่น M_3 มีการกระจายของลักษณะความสูงและการแตกกอน้อยลงโดยพบการกระจายเพียง 4 ลักษณะเท่านั้นคือ ต้นสูงแตกกอมาก ต้นสูง ต้นที่แตกกอมาก ต้นปกติ (ตารางที่ 32) แสดงให้เห็นว่า ลักษณะต้นสูงแตกกอมากในข้าวพันธุ์กข.23 ที่ชักนำด้วย 5azaC สามารถถ่ายทอดมาได้ในรุ่น M_3 และคาดว่าเมื่อมีการผสมตัวเองต่อไปอีกประมาณ 3 รุ่นน่าจะมีโอกาสได้สายพันธุ์ที่คงที่ต่อไป

4.3. ระดับการเติมหมู่เมทธิลที่ดีเอ็นเอของข้าวรุ่นลูกที่ผ่านการชักนำด้วย 5azC

ในการทดลองใช้ 5azaC ซึ่งเป็นสารที่มีผลลดระดับ 5mC กับข้าวไทยจำนวน 3 พันธุ์ คือกข.23 เหลืองประทิว123 และขาวดอกมะลิ105 พบว่า สามารถลดระดับ 5mC ได้อย่างมีนัยสำคัญในตัวอย่าง DNA ของข้าวต้นเตี้ยทั้ง 3 พันธุ์ ซึ่งลักษณะดังกล่าวไม่มีเกิดขึ้นเลยในกลุ่มต้นข้าวที่ใช้เป็นชุดควบคุม แสดงว่าการลดปริมาณ 5mC ภายหลังการได้รับ 5azaC น่าจะมีความเกี่ยวข้องกับลักษณะต้นเตี้ยที่เกิดขึ้น และพบว่า รุ่นลูกของข้าวพันธุ์กข.23 ที่ยังคงลักษณะต้นเตี้ยมีปริมาณ 5mC ต่ำกว่าในรุ่นลูกของชุดควบคุม (ทรงศักดิ์ สำราญสุข, 2536) เพื่อเป็นการยืนยันว่า ลักษณะต้นเตี้ยและการมีระดับของหมู่เมทธิลที่ C ต่ำกว่าปกติ (ปริมาณ 5mC ต่ำ) น่าจะมีความสัมพันธ์กันและถ่ายทอดร่วมกันได้จึงต้องมีการศึกษาในพันธุ์อื่นและรุ่นต่อไป

4.3.1 ข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123

4.3.1.1 ระดับการเติมหมู่เมทธิลที่ดีเอ็นเอของข้าวรุ่น M_1 และ M_2

จากผลการศึกษาปริมาณเบสของ Genomic DNA ด้วย Reversed-Phase HPLC ในข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 รุ่น M_1 จำนวน 2 สายพันธุ์คือ LPT123 A15DB ที่ยังคงลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและ LPT123 A13D ที่ยังคงลักษณะต้นเตี้ยและที่มีต้นเตี้ยแตกกอมาก (ตารางที่ 34 และ 35) พบว่า มีปริมาณ 5mC ต่ำกว่ารุ่นลูกของชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ซึ่งตรงกับการทดลองของทรงศักดิ์ สำราญสุขที่พบว่า รุ่น M_1 ของข้าวพันธุ์กข.23 ที่ยังคงลักษณะต้นเตี้ย มีปริมาณ 5mC ต่ำกว่ารุ่นลูกของชุดควบคุม (ทรงศักดิ์ สำราญสุข, 2536) และพบว่า รุ่น M_2 ของสายพันธุ์ LPT123 A10DB $M_1$52DB ที่มีลักษณะต้นเตี้ยก็

ยังคงมีปริมาณของ 5mC ต่ำกว่าในรุ่น C_2 ของชุดควบคุม (ตารางที่ 36) แสดงว่าการถ่ายทอดลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและต้นเตี้ยและระดับของ 5mC น่าจะมีความสัมพันธ์กัน ดังเช่นการทดลองของ Sano et al ที่พบว่า 5azaC สามารถชักนำให้เกิดลักษณะต้นเตี้ยและภาวะ DNA demethylation ในข้าวโพด (Sano et al., 1989) และภาวะที่เป็น undermethylation ของ Genomic DNA และลักษณะต้นเตี้ยในข้าวกลุ่ม *japonica* พันธุ์ Ginbozu จากการชักนำด้วย 5azaC สามารถถ่ายทอดได้ ซึ่งเห็นได้ว่า 5azaC สามารถชักนำให้เกิดกระบวนการ demethylation ที่ Genomic DNA ได้และเป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกของยีนและมีผลต่อระดับความสูงของพืช (Sano et al., 1990) แต่ถึงแม้ว่าระดับของ 5mC ในข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 รุ่น M_1 และ M_2 ที่ยังคงลักษณะต้นเตี้ยมีปริมาณของ 5mC ต่ำกว่าในรุ่นลูกของชุดควบคุม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของ 5mC ในข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 ลักษณะต้นเตี้ยที่ชักนำด้วย 5mC ที่ทดลองโดยทรงศักดิ์ สำราญสุข (2536) พบว่ามีปริมาณสูงขึ้นตามลำดับ แต่ยังต่ำกว่าปริมาณของ 5mC ในรุ่นลูกของชุดควบคุม ซึ่งจากผลการทดลองของ Klass et al พบว่า 5azaC สามารถชักนำให้ *ipt* gene ที่อยู่ในภาวะ hypermethylation ในเซลล์ของยาสูบมีการแสดงออกได้มากขึ้น แต่ภายหลังจากที่มีการย้ายเซลล์ยาสูบไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี 5azaC พบว่ามีการ remethylation เกิดขึ้นในจีโนมของยาสูบโดยขบวนการที่เรียกว่า de novo methylation (Klass et al., 1989)

4.3.2 พันธุ์ขาวดอกมะลิ105

4.3.2.1 ระดับการเติมหมู่เมทธิลที่ดีเอ็นเอของข้าวรุ่น M_1 และ M_2

จากผลการศึกษาปริมาณเบสของ Genomic DNA ด้วย Reversed-Phase HPLC ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 รุ่น M_1 จำนวน 2 สายพันธุ์คือ KDML105 A17D และ KDML105 A29D ที่คงลักษณะต้นเตี้ยและรุ่น M_2 ของสายพันธุ์ KDML105 A17D $M_1$12D ที่ยังคงลักษณะต้นเตี้ยและมีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากพบว่ายังคงมีปริมาณ 5mC ต่ำกว่ารุ่นลูกของชุดควบคุมแต่ยังคงมีระดับของ 5mc เพิ่มขึ้นตามลำดับ (ตารางที่ 37 38 และ 39) เช่นเดียวกับที่พบในข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 ที่ยังคงลักษณะต้นเตี้ยซึ่งอาจส่งผลให้มีการกลับมาแสดงลักษณะปกติได้ อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าลักษณะต้นเตี้ยในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ที่ชักนำด้วย 5azaC และภาวะ hypomethylation สามารถถ่ายทอดมายังรุ่น M_1 และ M_2 ได้

4.3.3 พันธุ์กข.23

4.3.3.1 ระดับการเติมหมู่เมทธิลที่ดีเอ็นเอของข้าวรุ่น M_2 และ M_3

จากผลการศึกษาปริมาณเบสของ Genomic DNA ด้วย Reversed-Phase HPLC ในข้าวพันธุ์กข.23 รุ่น M_2 สายพันธุ์ RD23 A94DB $M_1$43D ที่มีลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและรุ่น M_3 ของสายพันธุ์ RD23 A94DB $M_1$43D $M_2$14DB ที่ยังคงลักษณะต้นเตี้ยแตกกอมากและ RD23 A94DB $M_1$43D $M_2$16HB ที่ยังคงลักษณะต้นสูงแตกกอมากพบว่ายังคงมีปริมาณ 5mC ต่ำกว่ารุ่น C_3 ของชุดควบคุมแต่ยังคงมีระดับของ 5mc เพิ่มขึ้นตามลำดับ (ตารางที่ 40 41 และ 42) และเพื่อตรวจสอบว่าการกลับมาแสดงลักษณะปกตินั้นมีความสัมพันธ์กับระดับของ 5mC อย่างไรก็พบว่า ในรุ่น M_3 ของสายพันธุ์ RD23 A94DB $M_1$43D $M_2$14DB และ RD23 A94DB $M_1$43D $M_2$16HB ที่มี reversion กลับมาแสดงลักษณะปกตินั้นมีระดับของ 5mC ไม่แตกต่างจากรุ่น C_3 ของชุดควบคุม แสดงว่าลักษณะความสูงที่แปรผันมีความสัมพันธ์กับระดับการเติมหมู่เมทธิลที C

5. การใช้ 5azaC ในการชักนำเพื่อเพิ่มความสามารถในการทนเค็มของข้าวสายพันธุ์ทนเค็ม

ข้าวพันธุกข.23 เหลืองประทิว123 และขาวดอกมะลิ105 สายพันธุ์ทนเค็มรุ่นที่ 6 ที่นำมาทดลองนี้เป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการทนเค็มอยู่ระดับหนึ่งแล้ว เนื่องจากได้ผ่านการคัดเลือกจาก somaclonal variation โดยการนำเอา embryonic callus ที่ชักนำมาจากเอมบริโอมาเลี้ยงต่อในสภาพที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 1-2% ซึ่งคาดว่ายีนที่ควบคุมลักษณะทนเค็มในข้าวมีโอกาสเป็น multiple allele ได้ และลักษณะทนเค็มเป็นลักษณะทางปริมาณ (quantitative) จึงมีโอกาสเกิดจากยีนควบคุมที่เป็น polygene ได้ด้วย ซึ่งการคัดเลือกในแต่ละรุ่นอาจมีการรวมตัวของยีนเพิ่มขึ้น (ทิพยวรรณ ธนไพศาล, 2534 ; Vajrabhaya, Thanapaisal and Vajrabhaya, 1989) 5azaC เป็นสารที่มีสมบัติในการกระตุ้นการแสดงออกของยีนในยูคาริโอตและยับยั้งเอนไซม์ methyltransferase ในกระบวนการเติมหมู่เมทธิลที่ไซโตซีนและสามารถเปลี่ยนแปลง differentiate state ของเซลล์ได้ (Jones, 1985) ดังนั้นจึงหวังว่า 5azaC จะสามารถเปิดการทำงานของยีนที่มีอยู่แล้วในระดับหนึ่งให้มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้น โดยทรงศักดิ์ สำราญสุขได้ทดลองใช้ 5azaC กับต้นอ่อนของข้าวพันธุ์กข.23 สายพันธุ์ทนเค็มที่คัดเลือกจาก somaclonal variation สามารถชักนำให้ได้ต้นที่มีความสามารถในการทนเค็มมากขึ้น (ทรงศักดิ์ สำราญสุข, 2536) จึงได้สนใจนำเอาวิธีการนี้ไปใช้กับข้าวสายพันธุ์ทนเค็มพันธุ์อื่น ซึ่งจากการใช้ 5azaC กับต้นอ่อนของข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 และขาวดอกมะลิ105 สายพันธุ์ทนเค็มที่คัดเลือกจาก somaclonal variation พบว่า สามารถชักนำให้ได้ต้นที่มีความสามารถในการทนเค็มมากขึ้นเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 43) จากการทดลองนี้เป็นแนวทาง

ให้เห็นว่าสามารถใช้ 5azaC ในการเพิ่มความสามารถในการทนเค็มได้และอาจได้สายพันธุ์ทนเค็มที่มีลักษณะที่ดีและคงที่ได้เมื่อมีการคัดเลือกและศึกษาต่อไปอีก แต่ถ้าความสามารถที่เพิ่มขึ้นนั้นเกิดขึ้นแบบ epigenetic ซึ่งมีผลทำให้การทำงานของยีนเปลี่ยนแปลงไปโดยไปปิดหรือเปิดการทำงานของยีนอย่างชั่วคราวโอกาสที่จะกลับมาแสดงลักษณะเดิมก็มีได้มาก แต่ถ้าเป็นการเปลี่ยนแปลงการทำงานของยีนอย่างถาวรโอกาสที่จะได้ลักษณะที่คงที่ในรุ่นต่อๆไปก็มีได้สูง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงแบบ epigenetic นี้ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ (Holliday, 1987)

6. ผลจากการศึกษานี้สามารถบอกได้ว่า ลักษณะความสูงและการแตกกอที่แปรผันไปเนื่องจากสาร 5azaC และภาว ะ hypomethylation ในข้าวพันธุ์เหลืองประทิว123 พันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และพันธุ์กข.23 สามารถถ่ายทอดมายังรุ่น M_1 M_2 และ M_3 ได้ แต่จากผลการทดลองพบว่ามีการเติมหมู่เมทธิลที่ C ได้อีกซึ่งทราบได้จากระดับของ 5mC ที่เพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับในรุ่น M_1 M_2 และ M_3 และหลังจากที่ได้มีการตรวจวัดระดับของ 5mC ในต้น revertant พบว่ามีการถูกเติมหมู่เมทธิลกลับเข้าไปที่ C ได้ใหม่จนมีระดับเท่ากับชุดควบคุม ดังนั้นการให้สาร 5azaC เพียงครั้งเดียวเพื่อชักนำให้เกิดความแปรผันของลักษณะซึ่งเชื่อว่าสามารถถ่ายทอดและได้สายพันธุ์ที่คงที่ต่อไปนั้นยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมอีกในรุ่นต่อไป เพื่อที่จะดูทิศทางในการแสดงออกว่าในรุ่นต่อไปมีการกลับมาแสดงลักษณะปกติและมีการถูกเติมหมู่เมทธิลกลับเข้าไปที่ C ได้ใหม่จนมีระดับเท่ากับชุดควบคุมทั้งหมดหรือไม่ ซึ่งถ้าเป็นเช่นนี้วิธีการนี้อาจจะไม่ได้ผลดังที่คาดการณ์กันไว้การนำไปใช้จึงจำเป็นต้องพิจารณาเพื่อหาความเหมาะสมต่อไป แต่อย่างไรก็ตามในรุ่นต่อๆไปลักษณะที่แปรผันไปอาจมีการแสดงออกที่คงที่และระดับของการเติมหมู่เมทธิลอาจจะคงที่แล้วและไม่มีการเติมหมู่เมทธิลเข้าไปได้ใหม่ซึ่งทำให้สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความคงที่ทางพันธุกรรมได้และสามารถเป็นแนวทางในการศึกษาทางด้านอื่นๆที่เกี่ยวข้องเช่น การศึกษายีนที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อสืบหาโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมลักษณะความสูงและการแตกกอ อีกทั้งการศึกษาเพิ่มเติมทางด้านพันธุศาสตร์ว่ายีนที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวนี้เป็นยีนที่อยู่ในสภาพที่เป็น heterozygous หรือ homozygous ซึ่งสามารถทำได้โดยการนำสายพันธุ์ที่มีความคงที่ในการแสดงลักษณะที่แปรผันไปทำการผสมข้ามกับต้น pure line ซึ่งถ้าผสมแล้วได้ลูกที่มีการกระจายของลักษณะความสูงก็แสดงว่า ยีนที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวนั้นเป็น heterozygous แต่ถ้าได้ลูกที่ไม่มีการกระจายของลักษณะความสูงยีนที่ควบคุมนั้นก็จะอยู่ในสภาพที่เป็น homozygous