ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสำหรับใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดที่มีการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ในระดับที่สูง

Morphological Traits for Selecting Maize Breeding Lines with High *Trehalose-6-phosphate Synthase* Relative Expression

ณัฏฐนันท์ ฉันทะมิตร[1,2] และปัทมา หาญนอก[1*]

Natthanun Chantamit[1,2] and Pattama Hannok[1*]

[1]สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

[1]Division of Agronomy, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290

[2]ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพฯ 10900

[2]Center of Excellence on Agricultural Biotechnology (AG-BIO/MHESI), Bangkok 10900

* Corresponding author: pattama_h@mju.ac.th

(Received: 22 November 2024; Revised: 19 March 2025; Accepted: 9 April 2025)

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, as well as to assess the genetic parameters of parent lines derived from the hybrids. 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 Grp2-1-2S1-3 and the paternal line Ki11 exhibited significantly higher general combining ability values than the parent average. Moreover, five hybrids which are Grp3-1-S1×Ki11, Grp2-3-1S1×DTMA202, Grp2-1-2S1-3×Kei1608, Grp3-13-1S1×DTMA202, and Grp6-3-2S1-5×Kei1608 demonstrated significantly high specific combining ability for the traits studied. These five hybrids are therefore recommended for further evaluation under field conditions in subsequent trials.

Keywords: Trehalose, image analysis, line x tester, combining abilities

บทคัดย่อ

การคัดเลือกลักษณะในระยะต้นกล้า เป็นหนึ่งในวิธีที่ลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ได้ นอกจากนี้ การใช้เทคนิคด้านโมเลกุลในการคัดเลือกสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชได้อีกทาง ในสภาพอากาศที่แปรปรวน ฝนทิ้งช่วงก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชปลูก พืชที่มีการสะสมน้ำตาลทรีฮาโลสในปริมาณที่สูงสามารถปรับตัวต่อสภาพเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิตได้ดีขึ้น ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงทำการตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส ด้วยเทคนิค RT-PCR เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่เพื่อนำมาผลิตเป็นเมล็ดคู่ผสม โดยใช้แผน Line x Tester งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการประเมินความสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* กับลักษณะฟีโนไทป์ในระยะต้นกล้า พร้อมประเมินค่าทางพันธุกรรมของสายพันธุ์พ่อแม่จากคู่ผสมที่ผลิตได้ ผลการทดสอบ พบว่า ระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าความเขียวใบ ความสูงของต้นกล้า น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และน้ำหนักแห้งรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการผสม พบว่า สายพันธุ์แม่ Grp2-1-2S1-3 และสายพันธุ์พ่อ Ki11 แสดงค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปสูงกว่าค่าเฉลี่ยทั้งหมดของสายพันธุ์พ่อแม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบอีกว่า คู่ผสม Grp3-1-S1×Ki11 Grp2-3-1S1×DTMA202 Grp2-1-2S1-3×Kei1608 Grp3-13-1S1×DTMA202 และ Grp6-3-2S1-5×Kei1608 ให้ค่าความสามารถในการรวมตัวแบบจำเพาะเจาะจงที่สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อลักษณะดังกล่าว ดังนั้น คู่ผสมทั้ง 5 คู่นี้จึงควรถูกคัดเลือกไปทดสอบในสภาพแปลงปลูกในลำดับถัดไป

คำสำคัญ: น้ำตาลทรีฮาโลส การวิเคราะห์ภาพถ่าย การผสมระหว่างสายพันธุ์และสายพันธุ์ทดสอบ ความสามารถในการรวมตัว

คำนำ

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ถูกใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตอาหารสัตว์ มีความต้องการใช้เพิ่มมากขึ้นทั้งในและต่างประเทศ จากการรายงานภาวะเศรษฐกิจการเกษตรไตรมาสที่ 3 ในปี พ.ศ. 2567 ของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร มีอัตราหดตัวลดลงร้อยละ 0.7 เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเดียวกันของปี พ.ศ. 2566 พบว่า ผลผลิตทางการเกษตรบางส่วนในไตรมาสนี้ได้รับผลกระทบจากปรากฏการณ์เอลนีโญในช่วงที่ผ่านมา จึงส่งผลให้มีปริมาณน้ำฝนน้อยกว่าปกติและมีสภาพอากาศแห้งแล้งจนถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2567 ซึ่งส่งผลกระทบให้ภาวะเศรษฐกิจทางการเกษตรมีการหดตัวต่อเนื่องจากไตรมาสที่ 2 (Office of Agricultural Economics, 2024) ปัญหาภัยแล้งถือเป็นหนึ่งปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจทางด้านการผลิตพืชของประเทศ การเลือกใช้พันธุ์ข้าวโพดอาหารสัตว์ที่มีความทนแล้งอาจช่วยแก้ไขปัญหาได้ ดังนั้น การพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดที่มีลักษณะส่งเสริมการทนแล้งจึงเป็นสิ่งสำคัญ อย่างไรก็ตาม การพัฒนาและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพื่อให้ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมใช้ระยะเวลานาน ดังนั้น การคัดเลือกลักษณะในระยะต้นกล้าช่วยลดระยะเวลาที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ให้เร็วขึ้นได้ เนื่องจากการคัดเลือกแบบดั้งเดิมใช้ระยะเวลานาน นักปรับปรุงพันธุ์พยายามที่จะหาวิธีต่าง ๆ เพื่อลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ นอกจากนี้การนำเทคนิคทางด้านโมเลกุลมาใช้ในการตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะทนแล้งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการคัดเลือกจีโนไทป์ได้

หนึ่งในกระบวนการปรับตัวของพืชเมื่อได้รับสภาพเครียด คือ การสร้างสาร compatible solutes ภายในเซลล์ เช่น โพรลีน ไกลซีน บีเทน และน้ำตาลทรีฮาโลส สารเหล่านี้ถูกสะสมไว้ภายในเซลล์เพื่อช่วย

ในการปรับแรงดันออสโมติกของเซลล์พืช และส่งผลต่อการรักษาโครงสร้างของเซลล์พืชในสภาพเครียด (Chen *et al*., 2007; Zhang *et al*., 1999; Aslam *et al*., 2015) น้ำตาลทรีฮาโลสสามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งมีชีวิต ได้แก่ พืช แบคทีเรีย สัตว์มีกระดูกสันหลัง และยีสต์ ทำหน้าที่เป็นแหล่งคาร์บอนและถูกสังเคราะห์ออกมามากเมื่อได้รับสภาพเครียดต่าง ๆ ทำหน้าที่เป็นสารปกป้องเซลล์เมื่ออยู่ในสภาพเครียด น้ำตาลทรีฮาโลสถูกสังเคราะห์จาก Glucose 2 โมเลกุล (α-D-glucopyranosyl-1,1-α-D-glucopyranoside) โดยมีเอนไซม์หลัก 2 ชนิด (Figure 1) ที่ทำหน้าที่ในกระบวนการสังเคราะห์ ได้แก่ Trehalose-6-phosphate synthase (TPS) และ Trehalose-6-phosphate phosphatase (TPP) (Iordachescu and Imai, 2008) ในกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส ประกอบไปด้วย 2 ขั้นตอนที่สำคัญ ในขั้นตอนแรก Trehalose-6-phosphate (T6P) จะถูกสังเคราะห์จาก Uridine Diphosphate (UDP)-glucose และ Glucose-6-phosphate จากการกระตุ้นปฏิกิริยาของเอนไซม์ Trehalose-6-phosphate synthase ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส และขั้นตอนที่ 2 เอนไซม์ TPP จะเร่งปฏิกิริยา Dephosphorylation ของ Trehalose-6-phosphate (T6P) และถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลทรีฮาโลส ดังแสดงใน Figure 1 Acosta-Pérez *et al*. (2020) ได้ทำการศึกษาการโคลนและการวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง Trehalose-6-phosphate synthase (TPS) และ Trehalose-6-phosphate phosphatase (TPP) ในต้นกล้าของข้าวโพดภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำ และพบว่า สายพันธุ์ข้าวโพดที่ทนทานมีแสดงออกของยีน *TPS-3* และ *TPP-1* เพิ่มขึ้นในช่วง 30 นาทีแรกหลังจากได้รับความเครียด ในขณะสายพันธุ์ข้าวโพดที่ไม่มีความทนทาน มีแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้นในช่วง 2 ชั่วโมงหลังจากได้รับความเครียด จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ที่มีความทนทานจะมีการตอบสนองและปรับตัวได้ดีกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ทนทาน การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการแสดงออกของยีน *TPS-3* และ *TPP-1* เพิ่มขึ้น ส่งผลให้พืชสะสมปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสเพิ่มขึ้น และมีบทบาทสำคัญในการช่วยให้พืชมีความทนทานต่อความเครียดจากการขาดน้ำได้ดี และยังพบรายงานจำนวนมากที่ชี้ให้เห็นว่า เซลล์ที่มีการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลสเพิ่มขึ้น จะช่วยให้พืชมีอัตรารอดชีวิต และช่วยให้ทนทานต่อสภาพเครียด (Avonce *et al*., 2004; Bae *et al*., 2005; Gechev *et al*., 2012; Kaplan *et al*., 2004; Kempa *et al*., 2008; Li *et al*., 2011 Suzuki *et al*., 2008) จากการรายงานข้างต้นชี้ให้เห็นว่า หากพืชมีการสะสมน้ำตาลทรีฮาโลสไว้ภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จะช่วยให้พืชมีความสามารถในการทนทานต่อสภาพเครียดได้ดียิ่งขึ้น ดังนั้น การประเมินการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลส จึงสามารถนำมาใช้ในการคัดเลือกจีโนไทป์ที่มีลักษณะที่ส่งเสริมความทนแล้งได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* กับลักษณะฟีโนไทป์ในระยะต้นกล้าของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ภายใต้สภาพเครียดออสโมติก และวิเคราะห์ค่าความสามารถในการรวมตัวทั้งแบบทั่วไป (General combining ability; GCA) และแบบเฉพาะ (Specific combining ability; SCA) ของข้าวโพดพันธุ์ทดสอบ

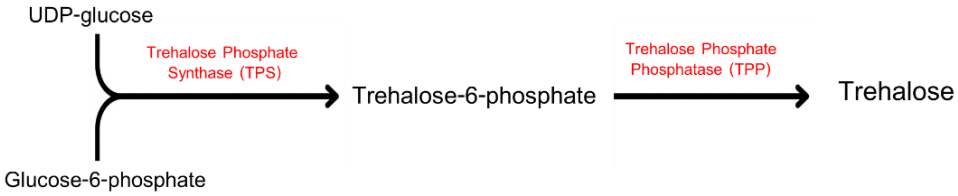


Figure 1 Trehalose biosynthesis in plants (Iordachescu and Imai, 2008)

อุปกรณ์และวิธีการ

การคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ เพื่อนำมาใช้ในการผลิตเมล็ดคู่ผสมสำหรับการทดสอบ

การทดสอบสายพันธุ์พ่อแม่ภายใต้สภาพเครียดออสโมติก

การทดสอบสายพันธุ์พ่อแม่ภายใต้สภาพเครียดออสโมติก ใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 62 สายพันธุ์ ประกอบไปด้วยข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากประชากร Full-sib families ที่ได้จากการผสมตัวเองของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 1 จำนวน 45 สายพันธุ์ และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ 17 สายพันธุ์ (Table 1) ที่มีลักษณะทนแล้งตามการรายงานของ Hannok *et al*. (2023) มาคัดเลือกโดยปลูกทดสอบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้งหมดในระยะต้นกล้า โดยดำเนินตามวิธีการของ Hannok *et al*. (2021) กล่าวคือ แช่เมล็ดข้าวโพดนาน 24 ชั่วโมง เมื่อรากงอกได้ประมาณ 4 - 6 เซนติเมตร หุ้มเมล็ดข้าวโพดด้วยฟองน้ำ และย้ายปลูกลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร เมื่อครบ 5 วัน ทำการชักนำให้เกิดสภาพเครียดออสโมติกด้วยสารละลาย Polyethylene glycol-6000 (PEG-6000) ที่ความเข้มข้น 250 กรัม/ลิตร เมื่อครบ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บชิ้นส่วนใบและรากของต้นกล้าข้าวโพด หนัก 100 มิลลิกรัม มาสกัด RNA ด้วยสารละลาย TRIzol™ reagent (Invitrogen, USA) ตามวิธีการของ Rio *et al*. (2010) เมื่อได้ตะกอน Total RNA จึงละลายตะกอนใน RNase-free water ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาใช้ในขั้นตอนถัดไป

Table 1 The table shows the lines used for selection

	Full-sib families					
for Line	Grp0-2-2S1-1	Grp0-2-2S1-2	Grp0-2-2S1-3	Grp0-2-2S1-5	Grp0-6-2S1-1	Grp0-6-2S1-2
	Grp0-6-2S1-3	Grp0-11-2S1-2	Grp0-11-2S1-3	Grp0-11-2S1-4	Grp2-1-2S1-1	Grp2-1-2S1-2
	Grp2-1-2S1-3	Grp2-3-2S1-1	Grp2-3-2S1-2	Grp3-5-S1-2	Grp4-1-2S1-1	Grp4-1-2S1-3
	Grp4-4-2S1-1	Grp4-4-2S1-2	Grp4-4-2S1-3	Grp4-7-S1-1	Grp4-7-S1-2	Grp5-3-1S1
	Grp5-2-S1-2	Grp6-2-2S1-1	Grp6-2-2S1-2	Grp6-3-2S1-5	Grp3-3-2S1-1	Grp3-3-2S1-2
	Grp2-6-2S1-1	Grp0-7-S1	Grp0-9-S1	Grp2-1-1S1	Grp2-2-S1	Grp2-3-1S1
	Grp2-6-1S1	Grp3-1-S1	Grp3-11-S1	Grp3-13-1S1	Grp4-1-1S1	Grp4-3-S1
	Grp4-4-1S1	Grp4-5-S1	Grp5-1-S1			
	Inbred lines					
for Tester	Ki11	Ki47	Ki48	Ki58	Kei1420	Kei1508
	Kei1608	Kei1715	Nei452004	Nei452015	Nei452026	Nei462013
	Nei492006	Nei492024	Nei582046	Nei9202	DTMA202	

การประเมินการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* และการวิเคราะห์ภาพถ่าย

นำ Total RNA ที่ได้มาทำปฏิกิริยา Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) เพื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-Phosphate Synthase* (*TPS*) โดยใช้ไพรเมอร์ PH_*Zm*TPS1-1 ตามรายงานของ Lowantha and Hannok (2022) ซึ่งมีลำดับเบสของ Forward และ Reverse primers ดังนี้ 5'TACCAGGACGGGGATGTGAT3' และ 5'GCCTTTTCACTGCTGGAAGC3' ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา RT-PCR จึงแยกขนาดของ DNA products โดยใช้เทคนิค Gel electrophoresis พร้อมถ่ายภาพ และวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยโปรแกรม ImageJ (Abramoff *et al*., 2004) เพื่อบันทึกข้อมูลความเข้มของแถบดีเอ็นเอแบบสัมพัทธ์ (relative band intensity) ของทั้งส่วนใบและรากของต้นกล้าข้าวโพดตามวิธีของ Rasband (2008)

จากนั้นคำนวณอัตราส่วน โดยนำค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอของรากหารด้วยค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอของใบ อัตราส่วนดังกล่าวถูกใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกพ่อแม่สำหรับการผลิตลูกผสม โดยพิจารณาค่าอัตราส่วนความเข้มของแถบดีเอ็นเอระหว่างรากและใบของ Full-sib family ทั้งหมด 45 สายพันธุ์ จากนั้นเรียงลำดับค่าดังกล่าวจากสูงไปต่ำ คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีค่าสูงสุด 6 ลำดับแรก รวมถึงสายพันธุ์ที่มีค่าต่ำสุด 6 ลำดับสุดท้าย สำหรับสายพันธุ์แท้ใช้หลักเกณฑ์เดียวกัน โดยเรียงลำดับค่าอัตราส่วนจากสูงไปต่ำ และคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีค่าสูงสุดใน 2 ลำดับแรก และสายพันธุ์ที่มีค่าต่ำสุดใน 2 ลำดับท้าย ทั้งนี้กระบวนการคัดเลือกดังกล่าวมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้พ่อแม่พันธุ์เพื่อนำมาผลิตเมล็ดลูกผสมสำหรับใช้ทดสอบในขั้นตอนถัดไป

การผลิตเมล็ดคู่ผสม

นำเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผ่านการคัดเลือกจากค่าอัตราส่วนความเข้มแถบดีเอ็นเอของรากและใบทั้งค่าสูงและค่าต่ำทั้ง 16 สายพันธุ์ มาผสมตามแผนการผสม Line x Tester (Kempthorne, 1957) โดยกำหนดให้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จาก Full-sib family 12 สายพันธุ์ ถูกใช้เป็น Line และข้าวโพดสายพันธุ์แท้ 4 สายพันธุ์ ถูกใช้เป็น Tester (Table 2) ซึ่งผลิตได้ทั้งหมด 48 คู่ผสม จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ที่ผลิตได้จากทั้ง 48 คู่ผสมไปทดสอบภายใต้สภาพเครียดออสโมติกในระยะต้นกล้าต่อไป

การทดสอบต้นกล้าของคู่ผสมภายใต้สภาพเครียดออสโมติก

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 ไม่ได้รับสภาพเครียด (WW) และ 2) สภาพการเจริญเติบโตแบบได้รับสภาพเครียดออสโมติก (OS) สำหรับวิธีการปลูกทดสอบต้นกล้าข้าวโพดและเหนี่ยวนำสภาพเครียดออสโมติกโดยใช้วิธีเดียวกันกับที่บรรยายไว้ก่อนหน้านี้ หลังจากชักนำให้เกิดความเครียดครบ 24 ชั่วโมง ทำการเก็บรากข้าวโพดเพื่อนำไปตรวจสอบการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* และวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อบันทึกข้อมูลความเข้มของแถบดีเอ็นเอ และเมื่อให้ความเครียดครบ 48 ชั่วโมง ทำการเก็บลักษณะฟีโนไทป์ในระยะต้นกล้า ได้แก่ ความสูงของต้นกล้า (PH) ความยาวของราก (TRL) ความยาวของใบ (LL) ความกว้างของใบ (WL) ความยาวของ Primary Root (PRL) โดยบันทึกหน่วยเป็นเซนติเมตร (cm) และลักษณะน้ำหนักสดของส่วนเหนือราก (FWshoot) น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (DWshoot) น้ำหนักสดของราก (FWroot) น้ำหนักแห้งของราก (DWroot) น้ำหนักสดรวม (FWtotal) น้ำหนักแห้งรวม (DWtotal) บันทึกหน่วยเป็นกรัม (g) ในส่วนของพื้นที่ส่วนเหนือราก (ShA) พื้นที่ราก (TRA) บันทึกหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร และความเขียวของใบ (SPAD) บันทึกหน่วยเป็นหน่วยของค่า SPAD

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลทั้ง 14 ลักษณะที่ได้จากการทดสอบคู่ผสมในระยะต้นกล้าทั้งภายใต้สภาพปกติและสภาพเครียดออสโมติก มาวิเคราะห์สถิติพรรณนา (descriptive statistic) ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* (ผ่านความเข้มของแถบดีเอ็นเอแบบสัมพัทธ์) และลักษณะฟีโนไทป์ทั้งหมด 14 ลักษณะที่อยู่ภายใต้สภาพเครียดออสโมติก ด้วยวิธี Pearson correlation analysis พร้อมทดสอบนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับแอลฟ่า 0.05 จากนั้นวิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) และแบบเฉพาะเจาะจง (SCA) ของลักษณะฟีโนไทป์ที่สนใจ โดยใช้ Package 'agricolae' (Mendiburu, 2023) ในโปรแกรม R version 4.4.1 (R Core Team, 2024)

ผลการวิจัยและวิจารณ์

สายพันธุ์พ่อแม่ที่นำมาใช้ในการผลิตเมล็ดคู่ผสมสำหรับการทดสอบ

ผลการวิเคราะห์ภาพถ่ายจากเทคนิค Gel electrophoresis ของสายพันธุ์แท้ทั้ง 17 สายพันธุ์ (Figure 2) และ Full-sib families ทั้ง 45 สายพันธุ์ (Figure 3) ด้วยโปรแกรม ImageJ (Abramoff *et al*., 2004) พบว่า ค่าอัตราส่วนความเข้มของแถบดีเอ็นเอของรากและใบ (Table 2) ของสายพันธุ์แท้ มีค่าอยู่ระหว่าง 0.920 - 1.420 เมื่อนำค่าอัตราส่วนความเข้มแถบดีเอ็นเอของรากและใบมาเรียงลำดับจากสูง-ต่ำ แล้วจึงพิจารณาคัดเลือกสายพันธุ์ พบว่า กลุ่มของสายพันธุ์ที่ให้ค่าอัตราส่วนที่สูงของกลุ่มประชากรสายพันธุ์แท้ คือ สายพันธุ์ Kei1608 และ Ki11 ให้ค่า

อัตราส่วนที่ 1.420 และ 1.335 ตามลำดับ และกลุ่มของสายพันธุ์ที่ให้ค่าอัตราส่วนที่ต่ำของกลุ่มประชากรสายพันธุ์แท้ คือ สายพันธุ์ Ki48 และ DTMA202 ซึ่งให้ค่าอัตราส่วนที่ 1.020 และ 0.920 ตามลำดับ จากนั้นนำทั้ง 4 สายพันธุ์นี้ มาใช้เป็น Tester

ในส่วนของ Full-sib families ทั้ง 45 สายพันธุ์ พบค่าอัตราส่วนอยู่ระหว่าง 0.720 - 7.795 ถูกใช้วิธีคัดเลือกเช่นเดียวกับ Tester พบว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ของ family ที่ให้ค่าอัตราส่วนที่สูงของกลุ่มประชากร Full-sib families 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 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 ที่คัดเลือกมานี้ ใช้เป็น Line เพื่อนำไปผลิตเมล็ด F_1 progenies

Table 2 Relative TPS ratio of root and shoot

Lines/Tester	Relative TPS ratio of root and shoot							
	High value				Low value			
12 Lines	Grp2-1-2S1-3	7.795	Grp2-1-2S1-1	1.993	Grp2-1-1S1	1.078	Grp4-4-2S1-1	0.848
	Grp2-6-1S1	4.605	Grp5-3-1S1	1.905	Grp6-3-2S1-5	1.058	Grp2-3-1S1	0.813
	Grp3-1-S1	2.218	Grp3-13-1S1	1.898	Grp4-7-S1-1	1.058	Grp2-1-2S1-2	0.720
4 Testers	Kei1608	1.420	Ki11	1.335	Ki48	1.020	DTMA202	0.920

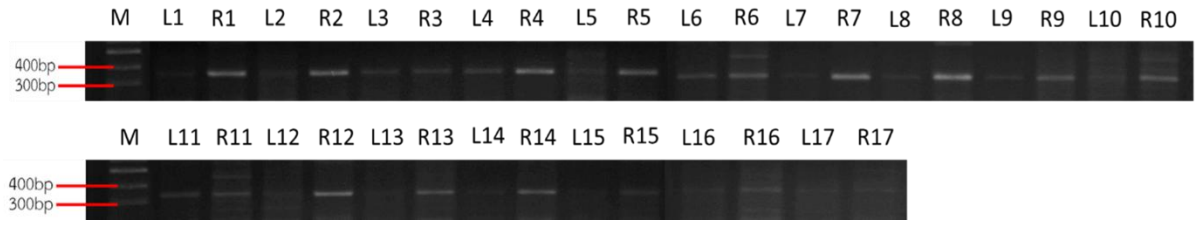


Figure 2 The TPS1 expression in 17 inbred lines for testers (L = shoot sample and R = root sample)

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

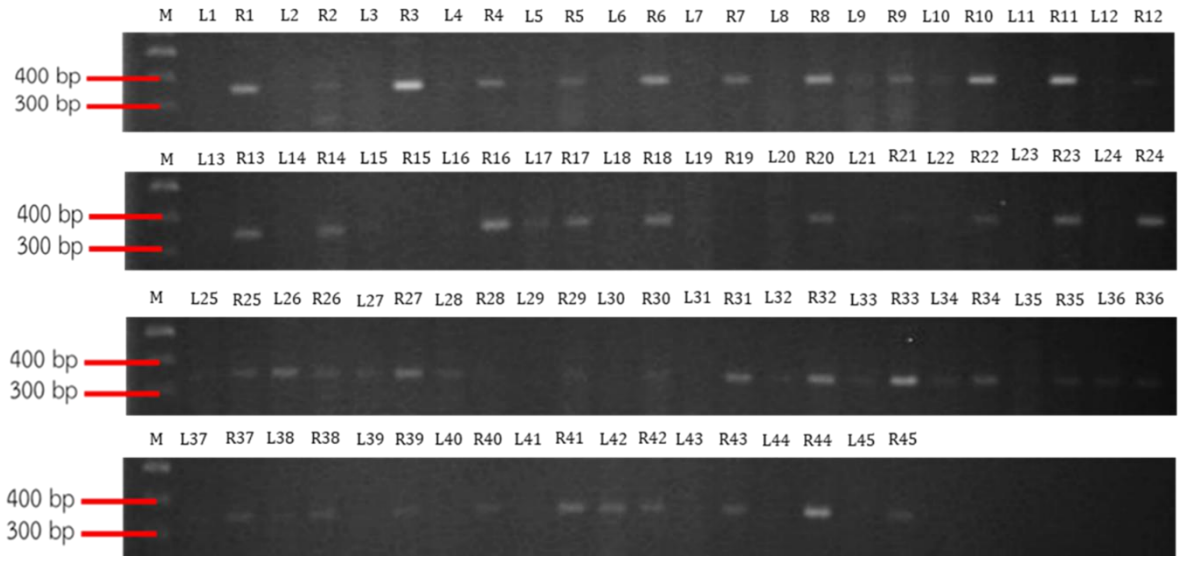


Figure 3 The TPS1 expression in 45 inbred lines for lines (L = shoot sample and R = root sample)

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

ความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* และลักษณะฟีโนไทป์

เมื่อนำค่าลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 14 ลักษณะที่อยู่ภายใต้สภาพเครียดออสโมติก มาหาความสัมพันธ์กับระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* พบว่า มีเพียง 4 ลักษณะที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ลักษณะค่าความเขียวใบ ความสูงของต้นกล้า น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และน้ำหนักแห้งรวม โดยมีค่า r อยู่ที่ 0.47 ($p \leq 0.001$) 0.39 ($p \leq 0.01$) 0.34 ($p \leq 0.05$) และ 0.29 ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ (Figure 4) หากพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* และลักษณะค่าความเขียวใบ พบว่า ค่าความเขียวใบจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* สังเกตจากค่าสัมประสิทธิ์ระหว่างสองลักษณะมีค่าเท่ากับ 0.47 ($p \leq 0.001$) ความสัมพันธ์ของลักษณะดังกล่าวอยู่ในระดับปานกลาง ซึ่งชี้ให้เห็นว่า เมื่อต้นกล้าข้าวโพดได้รับความเครียด สามารถชักนำให้มีการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* เพิ่มขึ้น เพื่อเร่งการ

สังเคราะห์น้ำตาลทรีฮาโลสภายในเซลล์ และปกป้องเซลล์ให้เสียหายน้อยที่สุดเมื่ออยู่ในสภาพเครียด แสดงให้เห็นถึงบทบาทที่สำคัญในการตอบสนองต่อความเครียดดังกล่าว (Iordachescu and Imai, 2008) นอกจากนี้ ยังเห็นได้ว่าลักษณะความสูงของต้นกล้า น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และน้ำหนักแห้งรวมมีค่าเพิ่มขึ้นตามการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* เช่นเดียวกับลักษณะค่าความเขียวใบ เนื่องจากค่าความเขียวใบมักถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้ระดับคลอโรฟิลล์ในใบของพืช ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์แสง เมื่อพืชมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้สามารถผลิตอาหารที่ใช้สำหรับการเจริญเติบโตได้มากยิ่งขึ้น ดังนั้น จึงนำทั้ง 4 ลักษณะที่น่าสนใจมาวิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) และแบบเฉพาะ (SCA) ในลำดับถัดไป

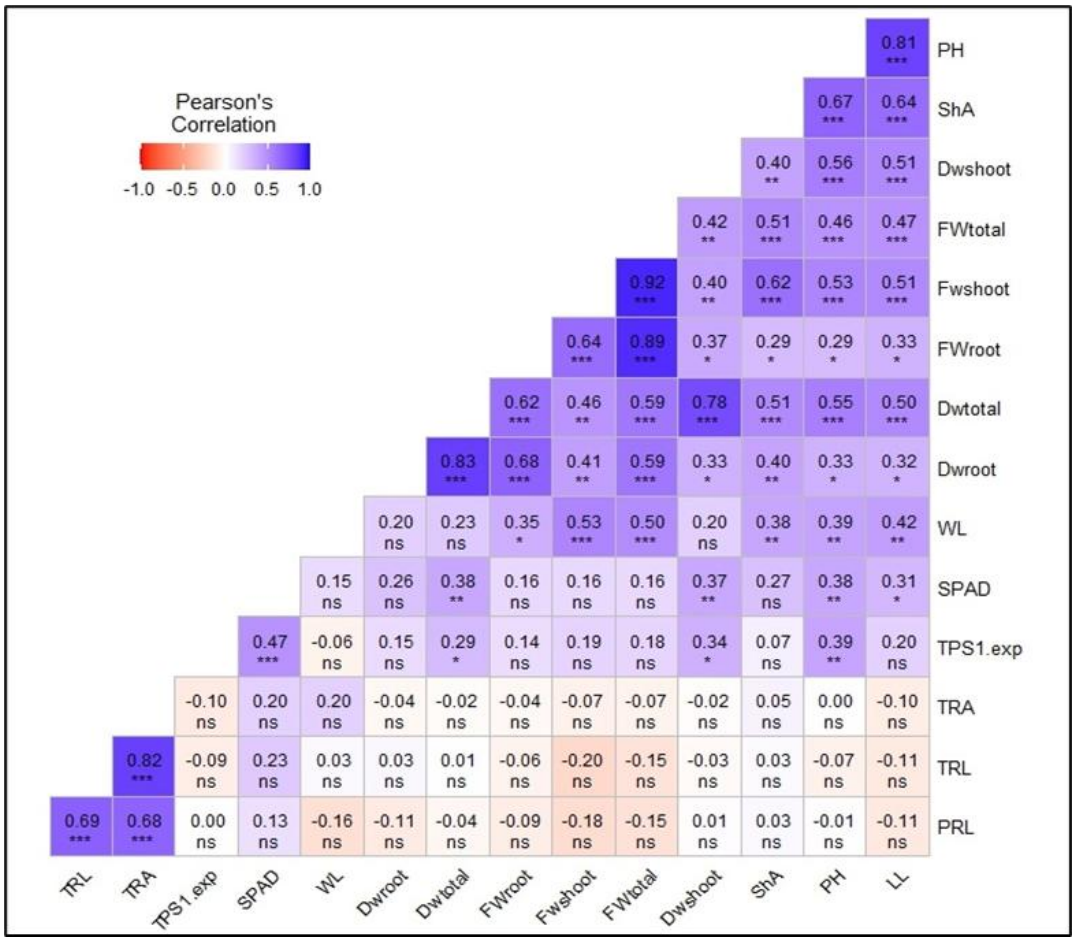


Figure 4 Correlation coefficients with significance levels between *Trehalose-6-phosphate* gene expression and 14 traits under osmotic stress condition

Remarks: *, ** and *** indicate significance at the 0.05, 0.01 and 0.001 probability levels, respectively

ผลของค่าความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปและแบบเฉพาะเจาะจง

ผลสถิติพรรณนา

จากการวิเคราะห์สถิติพรรณนาของลักษณะฟีโนไทป์ทั้ง 4 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะค่าความเขียวใบ ความสูงของต้นกล้า น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และน้ำหนักแห้งรวม มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 20.935 หน่วยของ SPAD 20.898 เซนติเมตร 0.073 กรัม และ 0.209 กรัม ตามลำดับ ซึ่งลักษณะค่าความเขียวใบ และความสูงของต้นกล้า มีค่าการกระจายตัว (range) ค่อนข้างกว้าง เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะอื่น ๆ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า F_1 progenies ที่ได้มีลักษณะที่แปรปรวนแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อตรวจสอบการกระจายตัวของชุดข้อมูลผ่านค่าความเบ้ (skewness) พบว่า ทั้ง 4 ลักษณะ มีการกระจายตัวปกติ ดังนั้น จึงนำข้อมูลตัวแปรตามทั้ง 4 ลักษณะนี้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนในลำดับถัดไป (Table 3)

Table 3 Descriptive statistics for seedling traits

	SPAD (SPAD unit)	PH (cm)	DWshoot (g)	DWtotal (g)
Mean	20.94	20.90	0.07	0.21
Standard Error	0.33	0.20	0.00	0.00
Skewness	0.29	0.28	0.88	0.20
Range	22.70	15.04	0.11	0.18
Minimum	12.40	13.40	0.04	0.12
Maximum	35.10	28.44	0.15	0.30
N	192	192	192	192

ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัว

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน ผลปรากฏว่าสภาพการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพด มีผลทางสถิติต่อทั้ง 4 ลักษณะ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า การเหนี่ยวนำสภาพเครียดด้วยสารละลาย PEG ที่ความเข้มข้น 250 กรัม/ลิตร นาน 48 ชั่วโมง สามารถเหนี่ยวนำสภาพเครียดให้แก่ต้นกล้าข้าวโพดได้จริง ในขณะที่อิทธิพลของคู่ผสม (cross) สายพันธุ์ (line) พันธุ์ทดสอบ (tester) และปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับพันธุ์ทดสอบ (Line x Tester) พบว่า มีผลทางสถิติต่อทั้ง 4 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะค่าความเขียวใบ ความสูงของต้นกล้า น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และ น้ำหนักแห้งรวม ชี้ให้เห็นว่าสายพันธุ์กับพันธุ์ทดสอบที่ใช้ในการทดสอบมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม และลูกผสมที่ได้มีความแปรปรวนของจีโนไทป์ในระดับที่แตกต่างกัน (Table 4)

Table 4 Analysis of variance for combining ability across two growth conditions

SOV	df	Mean Square			
		SPAD	PH	DWshoot	DWtotal
Growth conditions	1	485.5***	657.3***	0.00037***	0.09979***
Crosses	47	40.6555***	6.979***	0.00050***	0.00162***
Lines	11	57.2019***	10.668***	0.00039***	0.00245***
Testers	3	51.2307***	35.527***	0.00106***	0.00314***
Lines X Testers	33	34.1786***	3.154***	0.00049***	0.00120***
Error	95	0.5662	0.741	0.00003	0.0001

Remarks: *** indicates statistical significance at alpha 0.001

ความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA)

จากการประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไป (GCA) ของ Line ทั้ง 12 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 ให้ค่า GCA ของทั้ง 4 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะค่าความเขียวใบ (3.149) ความสูงของต้นกล้า (1.862) น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก (0.009) และน้ำหนักแห้งรวม (0.019) เป็นค่าบวกและมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลนี้ชี้ให้เห็นว่า สามารถถ่ายทอดทั้ง 4 ลักษณะ ซึ่งเป็นลักษณะทางสัณฐานที่สะท้อนถึงการเจริญเติบโตที่ดีของต้นกล้า และยังมีความเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ที่ส่งเสริมความทนทานต่อการเจริญเติบโตในสภาพเครียดออสโมติกได้ดีอีกด้วย และเมื่อพิจารณาค่าอัตราส่วนของความเข้มแถบดีเอ็นเอของรากและใบ (Table 2) จะพบว่า สายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 อยู่ในกลุ่มที่ให้ค่าดังกล่าวสูงถึง 7.795 ในขณะที่สายพันธุ์ Grp2-6-1S1 ให้ค่า GCA ของทั้ง 4 ลักษณะเป็นค่าลบ ($p \leq 0.05$) ซึ่งอธิบายได้ถึงผลที่ตรงข้ามกับสายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 ดังนั้น สายพันธุ์ Grp2-6-1S1 อาจพิจารณาในการนำมาใช้เป็นพันธุ์อ่อนแอต่อสภาพเครียดออสโมติกในการศึกษาในอนาคตได้ ในขณะที่ผลประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปของพันธุ์ทดสอบ (tester) พบว่า สายพันธุ์ Ki11 ให้ค่า GCA ของลักษณะ SPAD (1.157) DWshoot (0.006) และ DWtotal (0.004) ที่สูงและมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงใน Table 5 ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงบทบาทของยีนแบบบวก (additive gene effect) ในการควบคุมลักษณะดังกล่าว และเมื่อพิจารณาค่าอัตราส่วนของความเข้มแถบดีเอ็นเอของรากและใบ (Table 2) จะพบว่า สายพันธุ์ Ki11 อยู่ในกลุ่มที่ให้ค่าดังกล่าวสูง และมีค่าสูงถึง 1.335 ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพเครียดออสโมติกที่ดี การใช้พันธุ์ทดสอบที่มีความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปสูง จะส่งผลให้ลูกผสมส่วนใหญ่มีลักษณะที่ดี (Castellanos *et al*., 1998) จากการประเมินชี้ให้เห็นว่า ควรนำสายพันธุ์ Grp2-1-2S1-3 และสายพันธุ์ Ki11 ไปทดสอบในระดับแปลงปลูก และพัฒนาสายพันธุ์สำหรับใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดทนแล้งต่อไป (Table 5)

ความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะเจาะจง (SCA)

การประเมินความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะของคู่ผสมทั้ง 48 คู่ผสม (Table 6) จากผลการวิเคราะห์ พบว่า หากเรียงลำดับความดีเด่นของค่า SCA ของข้อมูล SPAD และพิจารณาคู่ผสมที่ให้ค่าดังกล่าวสูง

และต่ำที่สุด 10 เปอร์เซ็นต์ หรือคิดเป็นอย่างละ 5 คู่ผสม จะพบว่า คู่ผสม Grp3-1-S1×Ki11 (7.043) Grp2-3-1S1×DTMA202 (6.239) Grp2-1-2S1-3×Kei1608 (3.518) Grp3-13-1S1xDTMA202 (2.851) และ Grp6-3-2S1-5xKei1608 (1.855) ให้ค่า SCA ของ SPAD สูงที่สุด 5 อันดับแรก โดยมีค่าเป็นบวกและมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ 5 อันดับสุดท้ายที่ให้ค่า SCA ของ SPAD ต่ำที่สุด และมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ Grp2-6-1S1xKi11 (-3.02) Grp2-1-1S1xKi48 (-4.161) Grp4-4-2S1-1xKei1608 (-4.332) Grp6-3-2S1-5xDTMA202 (-5.261) และ Grp2-3-1S1xKi11 (-5.895) เมื่อพิจารณาคู่ผสมที่ดีเด่นและแย่ที่สุด 5 อันดับแรกและ 5 อันดับสุดท้าย จะพบว่า คู่ผสม Grp6-3-2S1-5×Kei1608 Grp3-1-S1×Ki11 Grp2-3-1S1×DTMA202 และ Grp3-13-1S1×DTMA202 ให้ความดีเด่นของค่า SCA ในบางลักษณะ ขณะที่คู่ผสมระหว่าง Grp2-1-2S1-3×Kei1608 ให้ค่า SCA ของอีก 3 ลักษณะ (1.559 0.016 และ 0.016) ดีเด่นเช่นเดียวกัน ค่าของ SCA ของ SPAD คือมีค่าเป็นบวกและมีนัยสำคัญทางสถิติ คู่ผสม Grp2-1-2S1-3×Kei1608 นี้เกิดจากการผสมระหว่างสายพันธุ์และพันธุ์ทดสอบที่มีความสามารถในการรวมตัวแบบทั่วไปสูง ลูกผสมที่ดีมักมาจากสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการรวมตัวสูง และสายพันธุ์ที่นำมาผสมควรมาจากแหล่งพันธุกรรมที่แตกต่างกัน จะช่วยให้ลูกผสมที่ได้มีความดีเด่นแตกต่างกันออกไป (Phumichai *et al*., 2008) จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นได้ว่า คู่ผสมทั้ง 5 นี้มีลักษณะที่ดี โดยเฉพาะคู่ผสม Grp2-1-2S1-3×Kei1608 ที่ควรนำไปทดสอบในระดับแปลงปลูก เพื่อพิจารณาศักยภาพในด้านความทนทานต่อสภาพแล้งในลำดับถัดไป (Table 6)

Table 5 Estimates of general combining ability (GCA) for seedling traits under water deficit condition

	Lines/Testers	GCA estimates for			
		SPAD	PH	DWshoot	DWtotal
Lines	Grp2-1-1S1 (L1)	1.224**	-0.111	0.014**	0.009**
	Grp2-1-2S1-1 (L2)	-0.064	-1.348**	-0.005*	-0.014**
	Grp2-1-2S1-2 (L3)	-0.014	-0.825*	0.002	0.007*
	Grp2-1-2S1-3 (L4)	3.149**	1.862**	0.009**	0.019**
	Grp2-3-1S1 (L5)	-3.839**	-0.551	-0.002	0.009**
	Grp2-6-1S1 (L6)	-4.264**	-1.746**	-0.013**	-0.04**
	Grp3-1-S1 (L7)	-0.576*	-0.546	-0.006**	-0.002
	Grp3-13-1S1 (L8)	0.549*	-0.713*	0.000	0.011**
	Grp4-4-2S1-1 (L9)	-3.201**	0.557	0.000	-0.005
	Grp4-7-S1-1(L10)	1.874**	0.724*	-0.004*	-0.017**
	Grp5-3-1S1 (L11)	4.399**	1.177**	0.001	0.000
	Grp6-3-2S1-5 (L12)	0.761*	1.522**	0.003	0.024**
Testers	DTMA202 (T1)	-1.876**	-1.614**	-0.009**	-0.017**
	Ki48 (T2)	1.161**	0.139	0.001	0.008**
	Ki11 (T3)	1.157**	0.134	0.006**	0.004*
	Kei1608 (T4)	-0.443*	1.341**	0.002*	0.005**

Remarks: * and ** indicate significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

Table 6 Estimates of specific combining ability (SCA) of F1 progenies under water deficit condition

	Number	Crosses	SCA estimates for			
			SPAD	PH	DWshoot	DWtotal
10% Highest	1	Grp3-1-S1×Ki11	7.043**	0.113	0.001	0.012*
	2	Grp2-3-1S1×DTMA202	6.239**	2.167**	0.006	0.002
	3	Grp2-1-2S1-3×Ki1608	3.518**	1.559*	0.016**	0.016*
	4	Grp3-13-1S1×DTMA202	2.851**	1.519*	0.027**	0.010
	5	Grp6-3-2S1-5×Ki1608	1.855**	0.469	0.019**	0.026**
	:	:	:	:	:	:
10% lowest	44	Grp2-6-1S1×Ki11	-3.02**	-1.587*	-0.012**	-0.029**
	45	Grp2-1-1S1×Ki48	-4.161**	-0.957	-0.021**	-0.024**
	46	Grp4-4-2S1-1×Ki1608	-4.332**	0.654	-0.011*	-0.024**
	47	Grp6-3-2S1-5×DTMA202	-5.261**	-1.276*	-0.006	-0.025**
	48	Grp2-3-1S1×Ki11	-5.895**	-1.222*	-0.021**	-0.027**

Remarks: * and ** indicate significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

สรุปผลการวิจัย

จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะฟีโนไทป์ในระยะต้นกล้าของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้ง 14 ลักษณะ กับระดับการแสดงออกของยีน *Trehalose-6-phosphate synthase* ผลการศึกษาสรุปได้ว่า มี 4 ลักษณะที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ลักษณะค่าความเขียวใบ ความสูงต้น น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก และน้ำหนักแห้งรวม จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า ทั้ง 4 ลักษณะในระยะต้นกล้าอาจนำมาใช้ในการคัดเลือกลักษณะทนแล้งได้ นอกจากนี้ ยังพบอีกว่า สายพันธุ์แม่ Grp2-1-2S1-3 และสายพันธุ์พ่อ Ki11 ให้ค่าความสามารถในการผสมแบบทั่วไปสูงกว่าค่าเฉลี่ยทั้งหมดของสายพันธุ์พ่อแม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนคู่ผสม Grp3-1-S1×Ki11 Grp2-3-1S1×DTMA202 Grp2-1-2S1-3×Kei1608 Grp3-13-1S1×DTMA202 และ Grp6-3-2S1-5×Kei1608 ให้ค่าความสามารถในการผสมแบบจำเพาะเจาะจงที่สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อลักษณะดังกล่าว ดังนั้น คู่ผสมทั้ง 5 คู่นี้เหมาะสมที่จะถูกนำไปทดสอบในลำดับถัดไปในสภาพแปลงปลูก

กิตติกรรมประกาศ

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

เอกสารอ้างอิง

Abramoff, M. D., P. J. Magalhaes and S. J. Ram. 2004. Image processing with image J. Biophotonics International 11(7): 36-42.

Acosta-Pérez, P., B. D. Camacho-Zamora, E. A. Espinoza-Sánchez, G. Gutiérrez-Soto, F. Zavala-García, M. J. Abraham-Juárez and S. R. Sinagawa-García. 2020. Characterization of *trehalose-6-phosphate synthase* and *trehalose-6-phosphate phosphatase* genes and analysis of its differential expression in maize (*Zea mays*) seedlings under drought stress. Plants. 9(3). p.315.

Aslam, M., M. A. Maqbool and R. Cengiz. 2015. Drought stress in field maize (*Zea mays* L.): effects, resistance mechanisms, global achievements and biological strategies for improvement. Springer Briefs in Agriculture. Available: https://www.link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-25442-5 (October 10, 2024)

Avonce, N., B. Leyman, J. O. Mascorro-Gallardo, P. Van Dijck, J. M. Thevelein and G. Iturriaga. 2004. The Arabidopsis Trehalose-6-P Synthase *AtTPS1* gene is a regulator of Glucose, Abscisic acid, and stress signaling. Plant Physiology 136(3). 3649-3659.

Bae, H., E. Herman and R. Sicher. 2005. Exogenous trehalose promotes non-structural carbohydrate accumulation and induces chemical detoxification stress response proteins in *Arabidopsis thaliana* grown in liquid culture. Plant Science 168(5): 1293-1301.

Castellanos, J. S., A. R. Hallauer and H. S. Cordova. 1998. Relative performance of testers to identify elite line of corn (*Zea mays* L.). Maydica 43(3): 217-226.

Chen, Z., T. A. Cuin, M. Zhou, A. Twomey, B. P. Naidu and S. Shabala. 2007. Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance. Journal of Experimental Botany 58(15-16): 4245-4255.

Gechev, T. S., C. Dinakar, M. Benina, V. Toneva and D. Bartels. 2012. Molecular mechanisms of desiccation tolerance in resurrection plants. Cellular and Molecular Life Sciences 69(19): 3175-3186.

Hannok, P., K. Ruangjam, N. Chantamit, N. Donlaman, K. Boonmawat and P. Lowantha. 2021. Determination of the optimum concentration of Polyethylene Glycol 6000 for in-house Maize seedling screening system against Osmotic stress. Journal of Agricultural Production 3(2): 69-84.

Hannok, P., P. Kaewunta, W. Khunyota, A. Kaewnut, P. Pachimkanthong and C. Tangthavonkarn. 2023. Exploration of phenotypic dissimilarity for drought tolerance in maize inbred line collection. Current Applied Science and Technology 23(1): 1-9.

Iordachescu, M. and R. Imai. 2008. Trehalose biosynthesis in response to abiotic stresses. Journal of Integrative Plant Biology 50(10): 1223-1229.

Kaplan, F., J. Kopka, D. W. Haskell, W. Zhao, K. C. Schiller, N. Gatzke, D. Y. Sung and C. L. Guy. 2004. Exploring the temperature-stress metabolome of Arabidopsis. Plant Physiology 136(4): 4159-4168.

Kempa, S., J. Krasensky, S. D. Santo, J. Kopka and C. A. Jonak. 2008. A central role of abscisic acid in stress-regulated carbohydrate metabolism. Plos One 3(12): e3935.

Kempthorne, O. 1957. An introduction to genetic statistics. John Wiley and Sons Inc., New York.

Li, H. W., B. S. Zang, X. W. Deng and X. P. Wang. 2011. Overexpression of the trehalose-6-phosphate synthase gene *OsTPS1* enhances abiotic stress tolerance in rice. Planta 234(5): 1007-1018.

Lowantha, P. and P. Hannok. 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 22(6): 1-15.

Mendiburu, F. D. 2023. Statistical procedures for agricultural research. Available: https://cran.r-project.org/web/packages/agricolae/agricolae.pdf (October 22, 2024)

Office of Agricultural Economics. 2024. Agricultural product production information: Maize. Available: https://oae.go.th/home/article/502 (December 1, 2024)

Phumichai, C., W. Doungchan, P. Puddhanon, S. Jampatong, P. Grudloyma, C. Kirdsri, J. Chunwongse and T. Pulam. 2008. SSR-based and grain yield-based diversity of hybrid maize in Thailand. Field Crops Research 108(2): 157-162.

R Core Team. 2024. R: A Language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available: https://www.R-project.org (October 22, 2024)

Rasband, W. 2008. Dot blot analyzer for ImageJ documentation, tutorial and examples. Available: http://image.bio.methods.free.fr/dotblot.html (February 10, 2025)

Rio, D. C., M. Ares, G. J. Hannon and T. W. Nilsen. 2010. Purification of RNA using TRIzol (TRI reagent). Cold Spring Harbor Protocols 2010(6): pdb-prot5439.

Suzuki, N., S. Bajad, J. Shuman, V. Shulaev and R. Mittler. 2008. The transcriptional co-activator MBF1c is a key regulator of thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Biological Chemistry 283(14): 9269-9275.

Zhang, J., H. T. Nguyen and A. Blum. 1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. Journal of Experimental Botany 50(332): 291-302.