

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การจำแนกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมจากพันธุ์พ่อแม่ โดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส

1.1 การจำแนกโดยใช้เอนไซม์ esterase (EST)

ผลการย้อมเอนไซม์ EST แสดงตามภาพถ่ายของแถบสีเอนไซม์ในรูป 3 พบการปรากฏแถบสีม่วงแดงซึ่งแสดงถึงการแสดงออกของเอนไซม์ที่มี α -naphthyl acetate และ β -naphthyl acetate เป็น substrate และตำแหน่งที่ปรากฏแถบสีจะปรากฏบริเวณด้านบน กลาง และด้านล่างของเจล มีแถบสีจำนวนมาก จำนวนแถบสีและค่าการเคลื่อนที่สัมพันธ์ดังตาราง 1 และเมื่อนำไปทำแผนภาพไซโมแกรม (รูป 4) พบว่ามี 3 รูปแบบ การปรากฏแถบสีของเอนไซม์ EST ในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมแสดงลักษณะของพันธุ์พ่อและแม่ร่วมกัน บริเวณตำแหน่งแถบสีที่ 1, 6, 7, 8, 9 และ 11 ได้จากพันธุ์พ่อ แม่ ตำแหน่งแถบสีที่ 3 จากพันธุ์แม่ ตำแหน่งแถบสีที่ 10 จากพันธุ์พ่อ ไม่มีตำแหน่งแถบสีที่ 2 จากพันธุ์พ่อ และปรากฏแถบของลูกผสม (hybrid band) 1 แถบ ในตำแหน่งแถบสีที่ 4 จึงสามารถเปรียบเทียบการปรากฏของรูปแบบไอโซไซม์ด้วยเอนไซม์ EST ได้

การวิเคราะห์ค่าการปรากฏของแถบสีและไม่ปรากฏแถบสีของเอนไซม์ EST พบความแตกต่างระหว่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมกับพันธุ์พ่อแม่ ในตำแหน่งแถบสีที่ 4 ไม่พบการปรากฏของแถบสีในพันธุ์พ่อแม่ แต่พบการปรากฏแถบสีในพันธุ์ลูกผสม หมายความว่า สามารถใช้เอนไซม์ EST จำแนกความแตกต่างระหว่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมจากพันธุ์พ่อแม่ได้



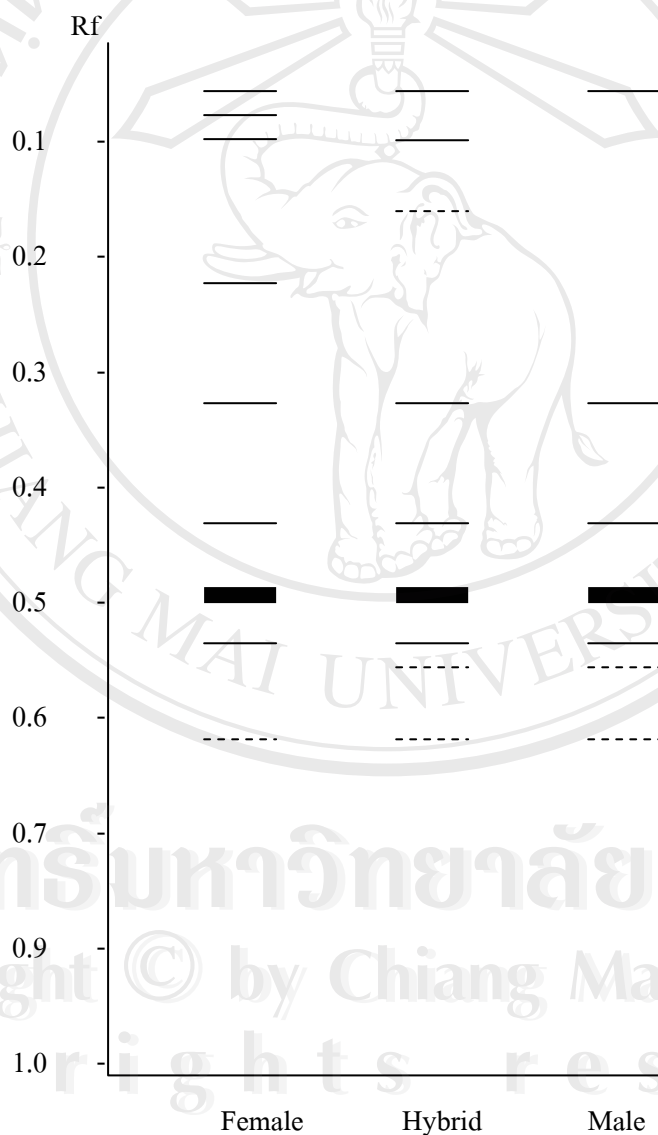
1 2 3 1 2 3 1 2 3 1

รูป 3 การแสดงออกของไอโซไซม์ EST ในข้าวโพดลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่

(1= Female 2 = Hybrid 3 = Male)

ตาราง 1 จำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์ EST

พันธุ์	จำนวนแถบ	ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf)
Female	9	0.06, 0.08, 0.1, 0.22, 0.32, 0.42, 0.5, 0.54, 0.62
Hybrid	9	0.06, 0.1, 0.15, 0.32, 0.42, 0.5, 0.54, 0.57, 0.62
Male	7	0.06, 0.32, 0.42, 0.5, 0.54, 0.57, 0.62



รูป 4 แสดงไซโมแกรมของเอนไซม์ EST ในข้าวโพดลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่

1.2 การจำแนกโดยใช้เอนไซม์ peroxidase (PER)

ผลการย้อมด้วยเอนไซม์ PER แสดงตามภาพถ่ายของแถบสีเอนไซม์ในรูปแบบ 5 พบการปรากฏของแถบสีน้ำตาล และตำแหน่งที่ปรากฏจะปรากฏบริเวณด้านบนของเจล แถบสีไม่คมชัด จำนวนแถบสีและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์แสดงดังตาราง 2 เมื่อนำไปทำแผนภาพไซโมแกรม (รูป 6) พบว่ามีรูปแบบเดียวกัน แถบสีที่พบไม่มีความแตกต่างกันในค่า Rf และจำนวนแถบทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบการปรากฏของรูปแบบไอโซไซม์ด้วยเอนไซม์ PER ได้

การวิเคราะห์ค่าการปรากฏของแถบสีและไม่ปรากฏแถบสีของเอนไซม์ PER จึงไม่พบความแตกต่างของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมกับพันธุ์พ่อแม่ หมายความว่าไม่สามารถใช้เอนไซม์ PER จำแนกความแตกต่างระหว่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมจากพันธุ์พ่อแม่ได้

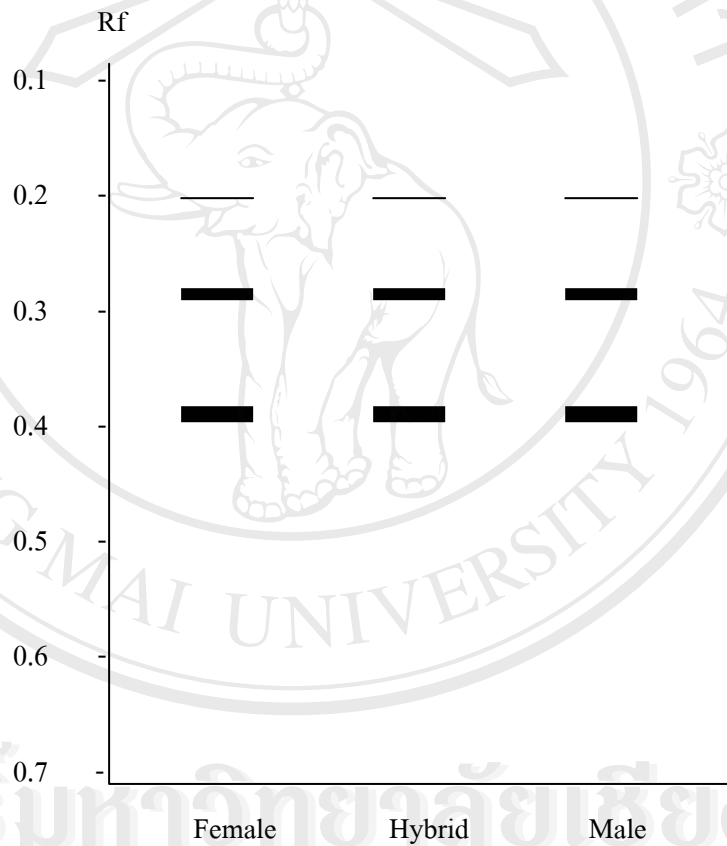


รูป 5 การแสดงออกของไอโซไซม์ PER ในข้าวโพดลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่

(1= Female 2 = Hybrid 3 = Male)

ตาราง 2 จำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์ PER

พันธุ์	จำนวนแถบ	ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf)
Female	3	0.2, 0.3, 0.4,
Hybrid	3	0.2, 0.3, 0.4
Male	3	0.2, 0.3, 0.4

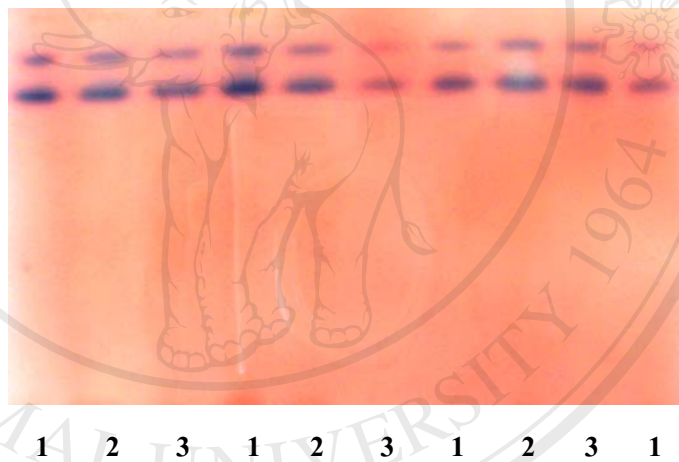


รูป 6 แสดงไซโมแกรมของเอนไซม์ PER ในข้าวโพดลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่

1.3 การจำแนกโดยใช้เอนไซม์ glutamate oxaloacetate transaminase (GOT)

ผลของการย้อมเอนไซม์ GOT แสดงตามภาพถ่ายของแถบสีเอนไซม์ในรูปแบบ 7 พบการปรากฏแถบสีน้ำเงินชัดเจน และตำแหน่งที่ปรากฏแถบสีจะปรากฏด้านบนของเจล จำนวนแถบสีและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์แสดงดังตาราง 3 เมื่อนำไปทำแผนภาพไซโมแกรม (รูป 8) พบว่ามีรูปแบบเดียวกัน แถบสีที่พบไม่มีความแตกต่างกันในค่า Rf และจำนวนแถบ ทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบการปรากฏของรูปแบบไอโซไซม์ด้วยเอนไซม์ GOT ได้

การวิเคราะห์ค่าการปรากฏของแถบสีและไม่ปรากฏแถบสีของเอนไซม์ GOT จึงไม่พบความแตกต่างของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมกับพันธุ์พ่อแม่ หมายความว่าไม่สามารถใช้เอนไซม์ GOT จำแนกความแตกต่างระหว่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมจากพันธุ์พ่อแม่ได้

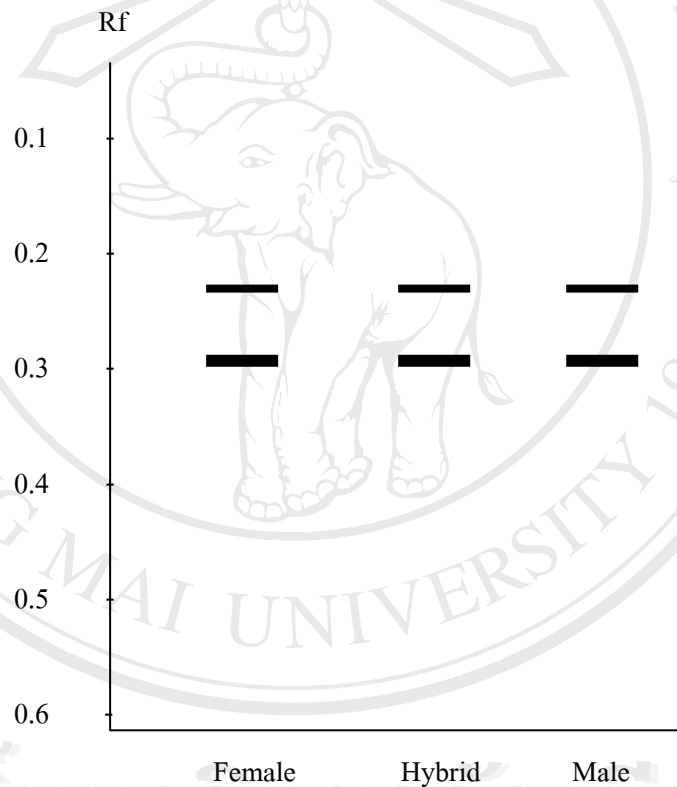


รูป 7 การแสดงออกของไอโซไซม์ GOT ในข้าวโพดลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่

(1= Female 2 = Hybrid 3 = Male)

ตาราง 3 จำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์ GOT

พันธุ์	จำนวนแถบ	ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf)
Female	2	0.24, 0.3
Hybrid	2	0.24, 0.3
Male	2	0.24, 0.3



รูป 8 แสดงไซโมแกรมของเอนไซม์ GOT ในข้าวโพดลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่

ตาราง 4 ค่าการปรากฏแถบสีและไม่ปรากฏแถบสีของเอนไซม์ esterase ในข้าวโพด
ลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ (0 = ไม่ปรากฏแถบสี 1 = ปรากฏแถบสี)

พันธุ์ / ตำแหน่ง	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Female	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1
Hybrid	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
Male	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1

ตาราง 5 ค่าการปรากฏแถบสีและไม่ปรากฏแถบสีของเอนไซม์ peroxidase ในข้าวโพด
ลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ (0 = ไม่ปรากฏแถบสี 1 = ปรากฏแถบสี)

พันธุ์ / ตำแหน่ง	1	2	3
Female	1	1	1
Hybrid	1	1	1
Male	1	1	1

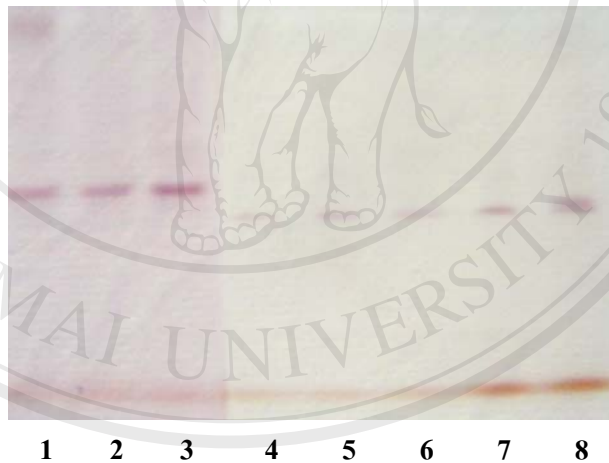
ตาราง 6 ค่าการปรากฏแถบสีและไม่ปรากฏแถบสีของเอนไซม์ glutamate oxaloacetate
transaminase ในข้าวโพดลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ (0 = ไม่ปรากฏแถบสี
1 = ปรากฏแถบสี)

พันธุ์ / ตำแหน่ง	1	2
Female	1	1
Hybrid	1	1
Male	1	1

1.4 รูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ esterase (EST) ในข้าวโพดลูกผสมพันธุ์ต่าง ๆ

จากการทดลองที่ 1 พบว่าเอนไซม์ esterase (EST) สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมจากพันธุ์พ่อแม่ได้ จึงนำมาตรวจสอบรูปแบบไอโซไซม์ของข้าวโพดลูกผสมพันธุ์ต่าง ๆ อีกจำนวน 5 พันธุ์ ผลการย้อมเอนไซม์ EST แสดงตามภาพถ่ายของแถบสีเอนไซม์ในรูป 9 พบการปรากฏแถบสีม่วงแดงซึ่งแสดงถึงการแสดงออกของเอนไซม์ที่มี α -naphthyl acetate และ β -naphthyl acetate เป็น substrate และตำแหน่งที่ปรากฏแถบสีจะปรากฏบริเวณด้านบน กลาง และด้านล่างของเจล มีแถบสีจำนวน 2-9 แถบสี จำนวนแถบสีและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ดังตาราง 7 และเมื่อนำไปทำแผนภาพไซโมแกรม (รูป 10) พบว่ามี 8 รูปแบบ แต่ละพันธุ์มีรูปแบบไอโซไซม์ EST แตกต่างกัน

การวิเคราะห์ค่าการปรากฏของแถบสีและไม่ปรากฏแถบสีของเอนไซม์ EST พบความแตกต่างกันในทุกพันธุ์ หมายความว่าเอนไซม์ EST สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมพันธุ์ต่าง ๆ ได้



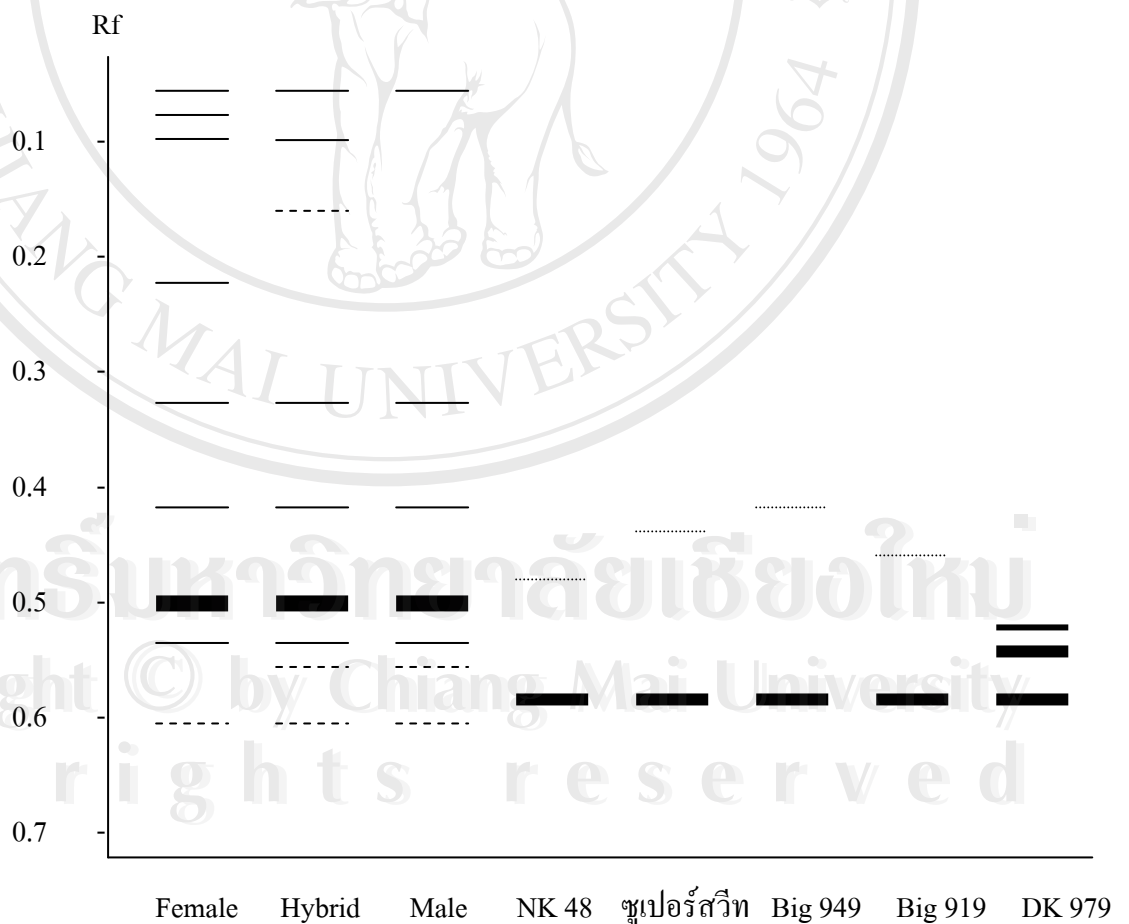
รูป 9 การแสดงออกของไอโซไซม์ EST ในข้าวโพดลูกผสมพันธุ์ต่าง ๆ

(1= Female 2 = Hybrid 3 = Male 4 = NK 48 5 = ชูเปอร์สวีท

6 = Big 949 7 = Big 919 8 = DK 979)

ตาราง 7 จำนวนแถบและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของไอโซไซม์ EST

พันธุ์	จำนวนแถบ	ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf)
Female	9	0.06, 0.08, 0.1, 0.23, 0.31, 0.42, 0.51, 0.54, 0.6
Hybrid	9	0.06, 0.1, 0.16, 0.31, 0.42, 0.51, 0.54, 0.57, 0.6
Male	7	0.06, 0.31, 0.42, 0.51, 0.54, 0.57, 0.6
NK 48	2	0.48, 0.58
ซูเปอร์สวีท	2	0.46, 0.58
Big 949	2	0.42, 0.58
Big 919	2	0.47, 0.58
DK 979	3	0.53, 0.55, 0.58



รูป 10 แสดงไซโมแกรมของเอนไซม์ EST ในข้าวโพดลูกผสมพันธุ์ต่าง ๆ

ตาราง 8 ค่าการปรากฏแถบสีและไม่ปรากฏแถบสีของเอนไซม์ esterase ในข้าวโพด ลูกผสมพันธุ์ต่าง ๆ (0 = ไม่ปรากฏแถบสี 1 = ปรากฏแถบสี)

พันธุ์ / ตำแหน่ง	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Female	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
Hybrid	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1
Male	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1
NK 48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
ซูเปอร์สวีท	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Big 949	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Big 919	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
DK 979	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0

2. การตรวจสอบความตรงตามพันธุ์ของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสม

2.1 การตรวจสอบโดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส

จากการทดลองที่ 1 พบว่าเอนไซม์ esterase (EST) สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมจากพันธุ์พ่อแม่ได้ จึงนำไปทดสอบกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมที่เก็บมาจากเกษตรกรจำนวน 10 ราย ผลการย้อมเอนไซม์ EST แสดงตามภาพถ่ายของแถบสีเอนไซม์ในรูปแบบ 11 พบการปรากฏแถบสีม่วงแดงซึ่งแสดงถึงการแสดงออกของเอนไซม์ที่มี α -naphthyl acetate และ β -naphthyl acetate เป็น substrate และตำแหน่งที่ปรากฏแถบสีจะปรากฏบริเวณด้านบน กลาง และด้านล่างของเจล มีแถบสีจำนวนมาก จำนวนแถบสีและค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ดังตาราง 9 และเมื่อนำไปทำแผนภาพไซโมแกรม (รูป 12) พบว่ามีรูปแบบเดียวกัน แถบสีที่พบไม่มีความแตกต่างกันในค่า Rf และจำนวนแถบ และเมื่อทำการตรวจสอบเพื่อยืนยันผลจำนวน 3 ซ้ำ ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน

การวิเคราะห์ค่าการปรากฏของแถบสีและไม่ปรากฏแถบสีของเอนไซม์ EST จึงไม่พบความแตกต่างระหว่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมที่เก็บจากเกษตรกรและเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมพันธุ์ต้นแบบ



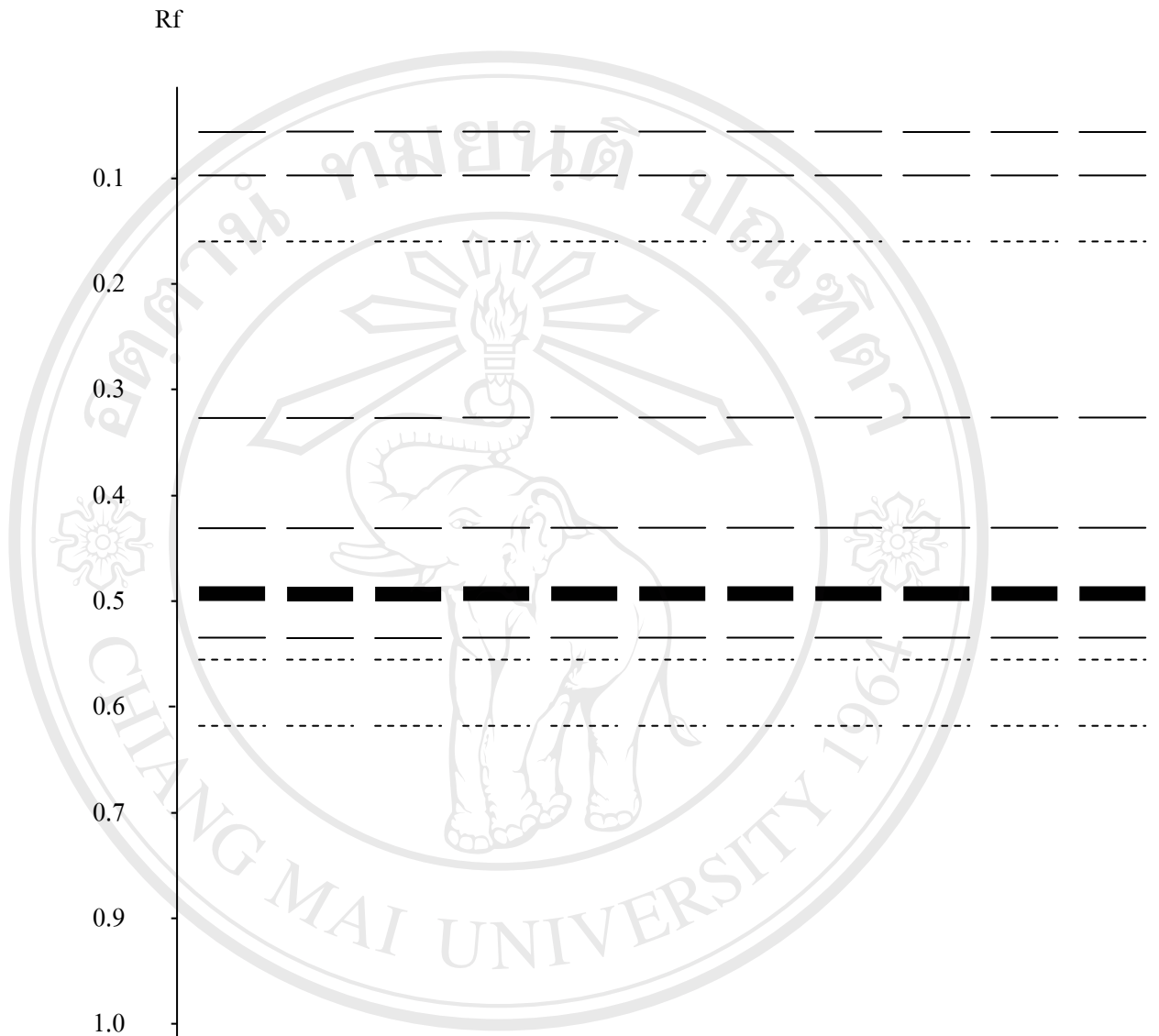
Hy A B C D E F G H I



Hy J I H G F E D C B

รูป 11 การแสดงออกของไอโซไซม์ EST ในข้าวโพดพันธุ์ต้นแบบเปรียบเทียบกับ

ข้าวโพดจากเกษตรกร (Hy = พันธุ์ต้นแบบ A-J = พันธุ์จากเกษตรกร)



รูป 12 แสดงไซโมแกรมของเอนไซม์ EST ในข้าวโพดพันธุ์ต้นแบบเปรียบเทียบกับข้าว

โพดจากเกษตรกร (Hybrid = พันธุ์ต้นแบบ A-J = พันธุ์จากเกษตรกร)

2.2 การตรวจสอบโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ผลการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าข้าวโพดลูกผสมพันธุ์ต้นแบบเปรียบเทียบกับข้าวโพดจากเกษตรกร พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมจากเกษตรกรมีลักษณะเหมือนพันธุ์ต้นแบบ โดยที่เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมีสีเหลืองส้ม สีโคนเมล็ดสีขาว และสีของต้นกล้าเป็นสีม่วง น้ำหนักเฉลี่ย 100 เมล็ด พันธุ์ต้นแบบมีน้ำหนักมากที่สุดเฉลี่ย 22.250 กรัม รองลงมาคือเมล็ดพันธุ์จากเกษตรกรตัวอย่างที่ J มีน้ำหนักเฉลี่ย 22.233 กรัม ส่วนตัวอย่างที่ E และ B มีน้ำหนัก 100 เมล็ดเฉลี่ยน้อยที่สุด 22.177 กรัม ความสูงต้นกล้าอายุ 15 วัน พันธุ์ต้นแบบมีความสูงเฉลี่ยมากที่สุด 9.911 เซนติเมตร รองลงมาคือ ตัวอย่างที่ J มีความสูงเฉลี่ย 9.824 เซนติเมตร ส่วนตัวอย่างที่ A มีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด 9.753 เซนติเมตร และมีลักษณะของใบตั้งตรง

ตาราง 11 แสดงลักษณะของเมล็ดพันธุ์ และต้นกล้าข้าวโพดพันธุ์ต้นแบบเปรียบเทียบกับ เมล็ดพันธุ์จากเกษตรกร

พันธุ์	น.น. 100 เมล็ด (กรัม)	ความสูงต้นกล้า (ซ.ม.)	สีเมล็ด	สีโคนเมล็ด	สีของต้นกล้า	ลักษณะของใบ
Hybrid	22.250	9.911	YO	W	P	E
A	22.190	9.753	YO	W	P	E
B	22.177	9.775	YO	W	P	E
C	22.207	9.793	YO	W	P	E
D	22.193	9.799	YO	W	P	E
E	22.177	9.799	YO	W	P	E
F	22.197	9.762	YO	W	P	E
G	22.187	9.809	YO	W	P	E
H	22.190	9.804	YO	W	P	E
I	22.187	9.812	YO	W	P	E
J	22.223	9.824	YO	W	P	E
LSD _(0.05)	0.083	0.171				
CV	0.221	6.266				

(YO = Yellow orang W = White P = Purple E = Erect)