

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การคัดเลือกข้าวทนแล้งในงานวิจัยนี้ เลือกใช้ข้าวพันธุ์ กข.23 ซึ่งเป็นข้าวมีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นประมาณ 120-130 วัน และเป็นพันธุ์ข้าวไม่ไวแสงสามารถออกดอกได้ตลอดปี ซึ่งเหมาะต่อการปลูกในช่วงฤดูแล้ง สำหรับการคัดเลือกข้าวทนแล้งตลอดโครงการนี้ได้แบ่งการคัดเลือกเป็น 2 ขั้นตอน

ตอนที่ 1 เป็นการคัดเลือกในระดับเซลล์หรือแคลลัสในสภาพปลอดเชื้อ

ตอนที่ 2 เป็นการคัดเลือกในระดับต้นกล้าซึ่งใช้กล้าข้าวขนาด 1.0 ซม. อายุ 7 วัน ด้วยวิธีการปลอดเชื้อ

การคัดเลือกในระดับเซลล์ เริ่มจากการเลี้ยง embryo ข้าวให้ได้ embryogenic callus โดยคาดว่าในขณะที่เซลล์แบ่งตัวอย่างรวดเร็วเมื่อเจริญเป็นแคลลัสมีโอกาสเกิด somaclonal variation ซึ่งได้ผลมาแล้วในการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ทนเค็ม (Vajrabhaya et al., 1989 ; Vajrabhaya and Vajrabhaya, 1991) และในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวทนแล้งนี้ได้ใช้เทคนิคเดียวกับข้าวสายพันธุ์ทนเค็ม แต่ใช้ PEG 6000 เป็นสารคัดเลือก โดยนำ embryogenic callus ที่ได้จากการชักนำแคลลัสทั้งหมดจำนวน 3,000,000 แคลลัส มาเลี้ยงในอาหารชักนำแคลลัสที่เติม PEG 6000 ความเข้มข้น 125 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 14 วัน ซึ่งวิธีการนี้แคลลัสส่วนใหญ่จะตาย ส่วนแคลลัสที่รอดตายย้ายมาเลี้ยงในอาหารที่ชักนำให้ regenerate ไปเป็นต้นสมบูรณ์ นำต้นที่ได้ (ในรุ่น R0) มาปลูกในสภาพธรรมชาติเพื่อเก็บเมล็ดรุ่น R1 สำหรับคัดเลือกต่อไป ซึ่งได้สายพันธุ์ใหม่ จำนวน 295 สายพันธุ์ และขั้นตอนนี้เป็นส่วนของ รศ. มณฑกานติ วัชรากัย

วิธีการคัดเลือกข้าวทนแล้งด้วย PEG 6000

สำหรับข้าวสายพันธุ์ทนแล้งที่ได้ทำในงานวิจัยนี้ได้มาจาก โครงการ "การคัดเลือกข้าวทนแล้งจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อ" ของ รศ. มณฑกานติ วัชรากัย จำนวน 295 สายพันธุ์ มาคัดเลือกต่อในระยะกล้า อีก 3 รุ่น (R1 , R2 และ R3) ทั้งนี้เพื่อเปิดโอกาสให้ขึ้นเกิดการ segregation และ recombination อย่างอิสระในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เพื่อให้ได้สายพันธุ์บริสุทธิ์ โดยเฉพาะขึ้น

ทนแล้งควบคุมด้วยยีนมากกว่า 1 คู่ หรือเป็นแบบ quantitative gene interaction ยีนเหล่านี้จะมีโอกาสมาอยู่รวมกันและแสดงออกในรุ่นลูกมากขึ้นในทำนองเดียวกับยีนทนเค็ม (Vajrabhaya and Vajrabhaya, 1991)

วิธีการคัดเลือกข้าวทนแล้งด้วย PEG ในระยะกล้าที่นิยมทำกันมาก่อนนั้น นับว่าเป็นวิธีที่สะดวก เพราะควบคุมสภาพแวดล้อมได้ดีกว่าในสภาพไร่ (Handas, 1977) แต่ใช้กล้าข้าวที่มีขนาดโต ซึ่งมีความสูงประมาณ 30 ซม. ทำให้สิ้นเปลือง PEG และพื้นที่การทดลองมาก

รศ. มณฑานติ วัชรภักย์ ได้ทดลองคัดเลือกข้าวทนแล้งโดยใช้กล้าข้าวขนาด 4-5 ใบ และ PEG 6000 พบว่า เป็นวิธีที่ดีมากวิธีหนึ่ง และพบว่าระยะนี้มีการตอบสนองต่อ PEG ดีมาก ไม่ต้องใช้พื้นที่มากนักในการคัดเลือก แต่ยังคงใช้ PEG ปริมาณมาก ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมุ่งหาวิธีการเพื่อคัดเลือกข้าวทนแล้งในหลอดแก้ว (*In vitro* selection) แทน ทั้งนี้เพื่อวัตถุประสงค์ในการประหยัดพื้นที่ และ PEG ซึ่งผลการทดลอง พบว่า วิธีการเลือกพันธุ์ข้าวทนแล้งด้วย PEG ในหลอดแก้ว กล้าข้าวที่ไวต่อ PEG คือกล้าข้าวที่มีอายุ 7 วัน ซึ่งมีขนาด 1.0 ซม. และความเข้มข้น PEG 6000 ที่เหมาะสมคือ 150 กรัมต่อลิตร โดยกำหนดให้กล้าข้าวแช่อยู่ในสารละลาย PEG 6000 เป็นเวลา 1 เดือน และให้กล้าข้าวปกติควรมีโอกาสรอดตาย 2-3% ซึ่งวิธีการนี้สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ทนแล้งในระยะกล้าได้เร็วขึ้น ในพื้นที่ 900 ตารางเซนติเมตร (1 ตารางฟุต) สามารถคัดเลือกต้นกล้าได้ถึง 720 ต้น และใช้ PEG 6000 เพียง 54 กรัมเท่านั้น

PEG 6000 จัดเป็น osmoticum ที่นิยมใช้ทดลองเกี่ยวกับการศึกษาพืชทนแล้ง เนื่องจากไม่สามารถซึมเข้า membrane ของพืชได้ และ PEG 6000 ชักน้ำให้เกิดสภาพการขาดน้ำได้ดีกว่า PEG ที่มีโมเลกุลเล็กกว่า (Michel, 1970 ; Kaufmann and Eckard, 1971) นอกจากนี้ยังเชื่อว่า PEG 6000 ยังสามารถเปลี่ยนความสัมพันธ์ระหว่าง water potential ของน้ำในพืช และ water potential ของน้ำจากภายนอกเช่นเดียวกับพืชที่อยู่ในสภาพที่ดินขาดน้ำหรือแห้งแล้ง

(Kaufmann and Eckard, 1971 ; Heyser and Nabors, 1981)

ผลการทดลองเพื่อหาวิธีการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวทนแล้งในหลอดแก้วโดยใช้ PEG 6000 (ตารางที่ 2) โดยกำหนดให้กล้าข้าวอยู่ในสารละลาย PEG 6000 ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า กล้าข้าวที่เหมาะสมจะนำไปคัดเลือกคือ กล้าข้าวอายุ 7 วัน ซึ่งมียอดสูงประมาณ 1 ซม. เมื่อใช้ PEG 6000 ความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร ซึ่งผลการทดลองนี้ได้ผลสอดคล้องกับ Singh และ Singh (1983) ซึ่งได้ทดลองกับข้าวพันธุ์ IR-28, Jaya, T-23 และ IR-8 โดยรายงานว่าการการงอกและการดูดน้ำของเมล็ดจะลดลงเมื่อลด water potential ของน้ำภายนอก และสอดคล้องกับการรายงานของ Blum , Sinmena และ ZIV (1980) ซึ่งทดลองในข้าวสาธิต และเสนอแนะว่าการเจริญของข้าวสาธิตในสารละลาย PEG นอกจากขึ้นกับความเข้มข้น PEG แล้วยังขึ้นกับพันธุ์

ด้วย และขนาดของกล้าข้าวสาลีที่เหมาะสมในการคัดเลือกควรมีใบแรกก่อน หรือ จากการรายงาน ของ Ounruen และคณะ (1981) ซึ่งรายงานว่ารระดับความแห้งแล้งหรือความเข้มข้น PEG ที่ใช้คัดเลือกพืชด้านทานแล้งขึ้นกับชนิดของพืชด้วย

สำหรับการทดลองนี้พบว่าเมื่อใช้ PEG ความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร คัดเลือกกล้าข้าวขนาดโตกว่านี้คือ ขนาด 6.0 ซม. อายุ 11 วัน พบว่าอัตราการรอดตายสูงตาม

ข้อได้เปรียบของการคัดเลือกกล้าข้าวทนแล้งในระยะกล้าด้วย PEG 6000 ในหลอดทดลอง

- 1) ปริมาณการใช้ PEG 6000 ถ้าคัดเลือกในขณะกล้าข้าวระยะ 4-5 ใบ (ตามวิธีการของ รศ. มณฑกานติ วัชรภักย์) ใช้ PEG 6000 ความเข้มข้น 200 กรัมต่อลิตร (1 ลิตร คัดเลือกได้ ประมาณ 25 ต้น) ต้องใช้ PEG ถึง 800.0 กรัมต่อกล้าข้าว 100 ต้น ในขณะที่คัดเลือกในขวด และกล้าข้าวขนาด 1.0 ซม. ใช้ PEG 6000 เพียง 7.5 กรัมต่อกล้าข้าว 100 ต้น
- 2) ระยะเวลาที่ใช้คัดเลือก ทั้งสองวิธีให้กล้าข้าวอยู่ในสารละลาย PEG เป็นเวลา 1 เดือนเท่ากัน แต่วิธีเดิมต้องใช้กล้าข้าวอายุประมาณ 30 วัน จึงได้กล้าข้าวขนาด 4-5 ใบ แต่วิธีใหม่ใช้กล้าข้าวอายุ 7 วัน ก็สามารถนำไปคัดเลือกได้ ซึ่งทำให้สามารถคัดเลือกเร็วขึ้นถึง 23 วัน
- 3) พื้นที่ใช้ในการคัดเลือก เห็นได้ว่าหากใช้กล้าข้าวที่มีขนาด 4-5 ใบ ต้องใช้พื้นที่ในการคัดเลือกมากกว่า โดยใช้พื้นที่ 900 ตารางเซนติเมตร คัดเลือกได้เพียง 25 ต้น ในขณะที่วิธีใหม่พื้นที่ขนาดเท่ากันคัดเลือกได้ถึง 720 ต้น

ผลการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ทนแล้งในรุ่น R1, R2 และ R3 ด้วย PEG 6000

ผลการคัดเลือกในรุ่น R1 จำนวน 295 สายพันธุ์ โดยคัดเลือกในขณะที่ยังกล้าข้าวมีขนาด 1.0 ซม. อายุ 7 วัน และแช่ในสารละลาย PEG 6000 ความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าได้ข้าวสายพันธุ์ทนแล้งที่มีอัตราการรอดตายสูงกว่า 20% ขึ้นไป จำนวน 28 สายพันธุ์ โดยมีสายพันธุ์ TC RD23 2797 ซึ่งมีอัตราการรอดตายสูงสุดคือ 66.0% (ตารางที่ 3)

เมื่อนำสายพันธุ์ที่มีอัตราการรอดตายสูง 20% ขึ้นไป จำนวน 28 สายพันธุ์ มาคัดเลือกด้วยวิธีเดียวกันในรุ่น R1 พบว่าในรุ่นนี้มีสายพันธุ์ที่มีอัตราการรอดตายสูงกว่า 10% ขึ้นไป จำนวน 11 สายพันธุ์ โดยมีสายพันธุ์ TC RD 23 2762 R2 พบว่ามีอัตราการรอดตายสูงสุด 20% และที่มีอัตราการรอดตายใกล้เคียงกันคือ TC RD 23 2781 R2 และ TC RD 23 2785 R2 ซึ่งมีอัตราการรอดตาย 19.5% และ 18.5 % ตามลำดับ (ตารางที่3) และทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีอัตราการรอดตายสูง 10% ขึ้นไป จำนวน 11 สายพันธุ์ ในรุ่น R3 ต่อไป

การคัดเลือกในรุ่นอายุ R3 โดยเลือกสายพันธุ์ที่มีอัตราการรอดตายสูง 10% ขึ้นไป จำนวน 11 สายพันธุ์ จากรุ่น R2 มาคัดเลือกด้วยวิธีเดียวกับ รุ่น R1 ซึ่งการคัดเลือกในรุ่นนี้ พบว่าทุกสายพันธุ์มีอัตราการรอดตายสูงกว่า 20% ขึ้นไป (ตารางที่ 4) โดยในรุ่นนี้ได้สายพันธุ์ที่มีอัตราการรอดตายสูงสุดคือ 46.0% จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ TC RD 23 2730 R3 และ TC RD 23 2734 R3 รองลงมาคือ TC RD 23 2797 R3 , TC RD 23 2762 R3, TC RD 23 2784 R3, TC RD 23 2781 R3, และ TC RD 23 2777 R3 ซึ่งมีอัตราการรอดตาย 40%, 38%, 38.0%, 37% และ 36% ตามลำดับ

ผลการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ทนแล้งที่คัดเลือกจาก somaclonal variation ทั้งหมด 295 สายพันธุ์ จนถึงรุ่น R3 ซึ่งเหลือรอดเพียง 11 สายพันธุ์ เห็นได้ชัดว่าอัตราการรอดตายของแต่ละสายพันธุ์ยังไม่เสถียรควรทำการคัดเลือกต่อไป ซึ่งได้ผลสอดคล้องกับ Vajrabhaya และ Vajrabhaya (1991) ที่พบว่าการคัดเลือกสายพันธุ์ทนแล้งจาก somaclonal variation ควรจะนำมาปลูกใหม่เพื่อให้เกิด gene recombination จากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และทำการคัดเลือกรุ่นลูกหลานอย่างน้อย 2-3 รุ่น จนกว่าจะได้สายพันธุ์ที่เสถียร

การคัดเลือกข้าวทนแล้งจาก somaclonal variation ได้มีรายงาน โดย Kavi Kishor และ Reddy (1986) จากการเลี้ยงแคลลัสข้าวที่เจริญมาจากเอ็มบริโอ และสามารถพัฒนาให้เจริญเป็นต้นสมบูรณ์ได้ใน PEG 5% แต่มีได้รายงานต่อว่าต้นข้าวที่ได้นั้นสามารถถ่ายทอดยีนทนแล้งไปสู่รุ่นลูกหลานได้ และจากรายงานของ Handa และคณะ (1983) ที่คัดเลือกสายพันธุ์ทนแล้งในมะเขือเทศด้วย PEG 6000 รายงานว่า เซลล์ที่ผ่านการคัดเลือกด้วย PEG นั้น สามารถคงลักษณะการทนแล้งได้อีกหลายชั่วอายุการแบ่งเซลล์ โดยไม่จำเป็นต้องคัดเลือกด้วย PEG อีก ซึ่งผลงานนี้ไม่ได้รายงานต่อไปอีกว่าต้นที่ได้ในรุ่นลูกจะมีลักษณะอย่างไร

ผลการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ทนแล้งโดยการทำให้ demethylation ก่อนแล้วคัดเลือกต่อด้วย

PEG 6000

การคัดเลือกในรุ่นนี้ ด้วยสมมติฐานที่เชื่อว่ายีนที่ควบคุมการทนแล้งนั้นอาจจะมียูอยู่แล้ว แต่ถูก methylate ไว้ด้วยหมู่ methyl ในตำแหน่งที่ 5 ของ cytosine ใน DNA (Adams and Burdon, 1985 ; Adam, 1990) จึงทำให้ยีนไม่สามารถแสดงออกมาได้ การทดลองนี้เลือกใช้ 5-azacytidine ในการลดการเติมหมู่ methyl (demethylation) เพื่อให้โอกาสยีนนั้นแสดงออกมา และการทำให้ demethylation เลือกใช้วิธีการของ ทรงศักดิ์ สาราณสุข (2536) โดยให้ 5-azacytidine ความเข้มข้น 300 ไมโครโมลาร์ แก่ต้นอ่อนข้าวอายุ 3 วัน เป็นเวลา 3 วัน และทดลองกับกล้าข้าวสายพันธุ์ทนแล้งในรุ่น R2 ที่มีอัตราการรอดตายสูง 20% ขึ้นไปในรุ่น R1 จำนวน 21 สายพันธุ์ (ตารางที่ 3)

ซึ่งเมื่อคัดเลือกความทนแล้งด้วย PEG 6000 ความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าในจำนวน 21 สายพันธุ์ ปรากฏว่ามี 4 สายพันธุ์ที่รอดตายได้ และมีเพียง 2 สายพันธุ์เท่านั้นที่อยู่รอดถึงขั้นผลิตเมล็ดได้ ทั้งนี้การที่กล้าข้าวสายพันธุ์ทนแล้งส่วนใหญ่ (17 สายพันธุ์) ไม่สามารถรอดตายได้ อาจเป็นไปได้ว่า กล้าข้าวเมื่อผ่าน demethylation มาแล้วกล้าข้าวอยู่ในสภาพที่อ่อนแอ ซึ่งเป็นผลมาจากพิษของ 5-azacytidine และเมื่อคัดเลือกความทนแล้งด้วย PEG จึงเป็นผลทำให้กล้าข้าวตายมาก ดังนั้นในกรณีของวิธีการ demethylation จากการใช้ 5-azacytidine หรือสารลดการเติม หมู่ methyl (demethylating agent) อื่นๆ ไม่ควรที่จะทำการ stress ให้เกิดการขาดน้ำ ต่อในเวลาใกล้เคียงกัน ควรจะยืดเวลาให้กล้าข้าวมีขนาดโตกว่า 1.0 ซม. หรือควรจะกลับไปทำการคัดเลือกในขณะที่กล้าข้าวโต ระยะ 4-5 ใบ ตามวิธีการของ รศ. มณฑานติ วัชรภักย์ หรือ ทรงศักดิ์ สำราญสุข (2536) ในการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ทนเค็มจะดีกว่าวิธีการนี้ ซึ่งอาจทำให้มีโอกาสได้สายพันธุ์ที่รอดตายมากขึ้นสำหรับคัดเลือกในรุ่น R3

ข้าวสายพันธุ์ทนแล้งที่ผ่าน demethylation มาแล้วจะให้สัญลักษณ์ A ต่อท้ายในหมายเลขสายพันธุ์ คือ TC RD 23 2730 A R2 และ TC RD 23 2734 A R2 เมื่อนำมาคัดเลือกใหม่ในรุ่น R3 พบว่ามีอัตราการรอดตายเพิ่มขึ้น แต่อย่างน้อยกว่ากลุ่มที่คัดเลือกปกติที่ไม่ผ่าน demethylation

ผลการทดลองนี้ไม่อาจบอกได้ว่ากระบวนการ demethylation จะเพิ่มโอกาสของยีนทนแล้งได้แสดงออกเพิ่มขึ้นได้ อย่างไรก็ตามการที่จะใช้ demethylation ให้ได้ผลนั้น จำเป็นต้องมียีนอยู่แล้วในเซลล์ แต่ถูก methylate ไว้ เมื่อผ่าน demethylation ยีนจึงมีโอกาสแสดงออก และในกรณีนี้เป็นไปได้ว่าการชักนำให้เกิด demethylation และคัดเลือกด้วย PEG ต่อเนื่องกัน ซึ่งต้นกล้าอาจอ่อนแอเกินไป แม้ว่าจะมียีนทนแล้งอยู่ก็ไม่สามารถรอดได้ ผลการทดลองนี้เสนอแนะว่าเมื่อนำกล้าอายุ 3 วัน มาชักนำให้เกิด demethylation แล้ว ควรปล่อยให้เจริญปกติต่อไปจนกล้าข้าวแข็งแรงขึ้น โดยอาจนำมาคัดเลือกด้วย PEG ในขณะที่กล้ามีขนาด 4-5 ใบ ตามวิธีการของ รศ. มณฑานติ วัชรภักย์ น่าจะได้ผลมากกว่า

ผลการศึกษาลักษณะความสูง การแตกกอ และอายุการออกดอกของข้าวสายพันธุ์ทนแล้งที่คัดเลือกในรุ่น R3

ข้าวสายพันธุ์ทนแล้งในรุ่น R3 จำนวน 13 สายพันธุ์ คัดเลือกความทนแล้งโดยนำรุ่น R2 ที่มีอัตราการรอดตายสูงกว่า 20% มาคัดเลือกด้วย PEG ปลูกต้นที่รอดตายเพื่อศึกษาลักษณะความสูง การแตกกอ และอายุการออกดอก โดยปลูกสายพันธุ์ละ 5-15 ต้น (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 7 สรุปผลการคัดเลือกกล้าข้าวสายพันธุ์ทนแล้งจาก R1 - R3 จำนวน 13 สายพันธุ์ ดังนี้

TCRD 23 Cell lin	R1		R2		R3		หมายเหตุ	
	N	อัตราการรอด (%)	N	อัตราการรอด (%)	N	อัตราการรอด (%)		
2730	80	21.3	300	16.0	100	46.0	จากสายพันธุ์ทั้งหมดในตาราง ได้ปลูกต้น R3 โดยเลือกต้นแข็งแรง เพื่อปกติ สายพันธุ์ละ 5-15 ต้น	
2734	124	20.3	140	10.0	100	46.0		
2762	140	20.7	200	20.0	100	38.0		
2784	80	27.5	200	15.0	100	38.0		
2797	90	66.0	134	11.9	100	40.0		
2781	100	22.0	200	19.5	120	37.0		
2777	120	21.6	205	11.7	100	36.0		
2768	140	20.0	100	13.0	100	30.0		
2790	90	47.7	300	10.0	100	27.0		
2712	145	22.1	200	10.5	100	28.0		
2785 ¹	50	36.0	260	18.5	105	20.0		1 พบลักษณะ albino
2730 A			240	1.6	100	24.0		ประมาณ 0.94% ใน
2734 A			100	4.0	100	30.0		ขณะคัดเลือก และตาย
RD23 A	-	-	300	2.7	100	0.0	ในเวลาต่อมา	
Control	680	1.5	300	3.3	100	6.0		

A = ต้นที่ผ่าน demethylation

RD 23 = ข้าวสายพันธุ์ที่นำมาทำ demethylation ก่อนแล้วคัดเลือกด้วย PEG พร้อมกับรุ่น R2

N = จำนวนต้นที่คัดเลือก

ลักษณะความสูง พบว่าข้าวสายพันธุ์ทนแล้งส่วนใหญ่ (39 ต้น จากทั้งหมด 85 ต้น) มีความสูง 60 ซม. ต้นที่สูงกว่า 65 ซม. มีจำนวน 16 ต้น (ตารางที่ 6) และมีต้นที่สูงที่สุด 70 ซม. มีจำนวน 1 ต้น ส่วนต้นเตี้ยมีจำนวน 2 ต้น ซึ่งมีลักษณะน่าสนใจคือ TC RD23 2768 - 13 R3 และ TC RD23 2784 - 07 R3 โดยมีความสูง 48 และ 50 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 5) แต่เมื่อพิจารณาลักษณะอื่น พบว่าไม่น่าสนใจมากนัก

ลักษณะการแตกกอ โดยพิจารณาจากจำนวนหน่อต่อกอ พบว่าข้าวสายพันธุ์ทนแล้งส่วนใหญ่ (34 ต้น จากทั้งหมด 85 ต้น) มีจำนวนหน่อระหว่าง 25-30 หน่อต่อกอ (ตารางที่ 6) สำหรับต้นที่มีจำนวนหน่อมากที่สุดคือ 40-47 หน่อต่อกอ ซึ่งมีจำนวน 10 ต้น โดยมีสายพันธุ์ TC RD23 2784 -10 R3 มีจำนวนหน่อมากที่สุดคือ 47 หน่อต่อกอ รองลงมาได้แก่ TC RD23 2784 - 07 R3 , TC RD23 2785 -05 R3 มีจำนวนหน่อ 45 หน่อต่อกอ และ TC RD23 2797 -07 R3 มีจำนวนหน่อ 43 หน่อต่อกอ (ตารางที่ 5) ซึ่งในกลุ่มที่มีการแตกกอนับว่าเป็นลักษณะที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นลักษณะที่มีโอกาสจะได้ผลผลิตสูง

ข้าวทนแล้งสายพันธุ์ TC RD23 2784 -07 R3 นอกจากจะมีการแตกกอมาก พบว่าอายุการออกดอกไม่นานคือ 142 วัน โดยมีความสูงปกติ ส่วน TC RD23 2797 -07 R3 พบว่านอกจากจะแตกกอดีแล้ว อายุออกดอกค่อนข้างเร็วคือ 138 วัน และมีความสูงปกติ (60 ซม.)

ลักษณะอายุการออกดอก พบว่ามีการกระจายตั้งแต่ 120 - 168 วัน (ตารางที่ 5) โดยนับเวลาตั้งแต่เพาะเมล็ด รวมคัดเลือกด้วย PEG เป็นเวลา 1 เดือน จะเห็นได้ชัดเจนว่าต้นที่ออกดอกเร็วเพียง 120 วันเท่านั้นจึงนับเป็นต้นที่น่าสนใจมาก ในการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ทนแล้งนี้ได้ต้นที่มีลักษณะออกดอกเร็ว 3 ต้น คือ TC RD23 2777 -01 R3 , TC RD23 2784 -11 R3 และ TC RD23 2784 -08 R3 โดยมีอายุการออกดอก 120 , 125 และ 130 วันตามลำดับ (ตารางที่ 5)

สำหรับข้าวสายพันธุ์ทนแล้งที่มีอายุออกดอกเร็วไม่น่าสนใจมาก เนื่องจากทำให้ต้นข้าวอยู่ในสภาพแล้งในระยะเวลาสั้นลง และถ้าได้ต้นข้าวที่มีจำนวนหน่อมาก ต้นไม่สูงมากนักก็น่าสนใจเป็นพิเศษ โดยเฉพาะสายพันธุ์ TC RD23 2777 -01 R3 ซึ่งเป็นต้นที่ออกดอกเร็วที่สุด จำนวนหน่อต่อกอมากที่สุดคือ 39 หน่อ ส่วนความสูงใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยคือ 63 ซม. จึงเป็นต้นที่ให้ความสนใจเป็นพิเศษ รองลงมาคือ TC RD23 2784 -11 R3 มีอายุออกดอกเร็ว 125 วัน การแตกกอมาก 41 หน่อต่อกอ ความสูง 65 ซม. และ TC RD23 2784 -08 R3 ซึ่งมีอายุการออกดอก 130 วัน ความสูง 60 ซม. และจำนวนหน่อต่อกอ 35 หน่อ ก็นับเป็นต้นที่ให้ความสนใจเป็นพิเศษเช่นกัน

จากผลการทดลองทั้งหมดในงานวิจัยนี้ สามารถสรุปเป็นข้อ ๆ ดังนี้

1. การคัดเลือกสายพันธุ์ทนแล้งในข้าว สามารถใช้ PEG เป็นสารชักนำให้เกิดสภาวะการขาดน้ำ คือ PEG 6000 ความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร โดยใช้กล้าข้าวที่มีอายุ 7 วัน ซึ่งมีขนาด 1.0 ซม.
2. ในการคัดเลือกข้าวทนแล้งพันธุ์ กข.23 ที่คัดเลือกมาจาก somaclonal variation ด้วย PEG ในระดับเซลล์ จำนวน 295 สายพันธุ์ นำมาปลูกและเก็บเมล็ด เพื่อคัดเลือกในรุ่น R1 ต่อไป
ในรุ่น R1 คัดเลือกทั้งหมด 295 สายพันธุ์ จำนวน 14,106 ต้น และเหลือรอดจำนวน 124 สายพันธุ์ ซึ่งมีอัตราการรอดตายอยู่ระหว่าง 0.6 - 66.0% นำต้นที่เหลือรอดปลูกเพื่อเก็บเมล็ด และทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีอัตราการรอดตาย 20% ขึ้นไป ในรุ่น R2

การคัดเลือกในรุ่น R2 จำนวนทั้งหมด 28 สายพันธุ์ และอีกจำนวน 21 สายพันธุ์ให้ผ่านกระบวนการ demethylation แล้วคัดเลือกต่อด้วย PEG พบว่าข้าวสายพันธุ์ในรุ่น R2 นี้ มีอัตราการรอดตายระหว่าง 4-20% และเลือกเฉพาะสายพันธุ์ที่มีอัตราการรอดตาย 10% ขึ้นไปในรุ่น R2 ของกลุ่มที่ไม่ผ่านการชักนำให้เกิด demethylation ซึ่งมี 11 สายพันธุ์ และอีก 2 สายพันธุ์ที่ผ่านการชักนำให้เกิด demethylation (TC RD 23 2730 R3 , TC RD 23 273 R3 แต่มีอัตราการรอดตายต่ำ 1.6 และ 4%) มาทำการคัดเลือกต่อไปในรุ่น R3

การคัดเลือกในรุ่น R3 พบว่าทุกสายพันธุ์มีอัตราการรอดตายสูงกว่า 20% โดยมีสายพันธุ์ TC RD 23 2730 R3 และ TC RD 23 2734 R3 มีอัตราการรอดตายสูงสุดคือ 46%

3. การทดลองใช้วิธีการชักนำให้เกิด demethylation ก่อนแล้วจึงคัดเลือกด้วย PEG ในการทดลองนี้ พบว่าส่วนใหญ่ไม่ได้ผล อาจเนื่องจากการชักนำให้เกิด demethylation และคัดเลือกด้วย PEG ในเวลาใกล้กันเกินไป กล้าข้าวได้รับพิษจาก 5-azacytidine ยังไม่แข็งแรง ทำให้ผลไม่เป็นไปตามที่คาดไว้

4. การคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ทนแล้งด้วย PEG 6000 เพียง 3 รุ่น ยังไม่เพียงพอ จำเป็นต้องทำการคัดเลือกต่อไปจนกว่าจะได้สายพันธุ์ที่เสถียร

5. การศึกษาลักษณะต่าง ๆ ในข้าวสายพันธุ์ทนแล้งรุ่น R3 จำนวน 13 สายพันธุ์ ซึ่งปลูกจำนวน 97 ต้น พบว่าได้ต้นที่แตกกอมาก และอายุการออกดอกเร็ว 3 ต้นคือ TC RD23 2777 -01 R3 , TC RD23 2784 -11 R3 และ TC RD23 2784 -08 R3 ซึ่งมีอายุการออกดอก 120 , 125 และ 130 วัน