**รายงานฉบับสมบูรณ์**

# โครงการวิจัย
# การปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวให้ต้านทาน ต่อการทำลายของแมลงศัตรู (ระยะที่ 1)

**ภาควิชาพืชศาสตร์**
**คณะทรัพยากรธรรมชาติ**
**มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**
**วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา**
2550

# กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย ‘การปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวเพื่อให้ต้านทานการเข้าทำลายต่อแมลงศัตรู” เป็นโครงการที่ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินรวมระยะเวลา 6 ปี รายงานฉบับนี้เป็นการเสนอผลงานวิจัยในระยะที่ 1 เป็นเวลา 3 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน 2549 และต้องทำต่อเนื่องจนถึงเดือนกันยายน 2552 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำหรับการสนับสนุนการทำงานวิจัยชิ้นนี้ นอกจากผลงานวิจัยแล้ว งานวิจัยนี้ยังเชื่อมโยงและส่งเสริมกับการผลิตบัณฑิตระดับปริญญาโทและปริญญาเอก โดยมีจำนวนนักศึกษาระดับปริญญาเอกสาขาวิชาพืชศาสตร์ 2 คน คือ นายธีระวัฒน์ ศรุตโยภาส และ นายสรพงศ์ เบญจศรี ระดับปริญญาโทสาขาพืชศาสตร์ 1 คนคือนายสุรเชษฐ มาฆทาน ระดับปริญญาโทสาขากีฏวิทยา 1 คนคือ นางสาวกนกอร วุฒิวงศ์

ขอขอบคุณภาควิชาพืชศาสตร์ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช ศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์ภาคใต้ สำหรับการสนับสนุนในเรื่องของสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย ศูนย์วิจัยพืชผักเมืองร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สำหรับเมล็ดพันธุ์ในการทดสอบ และคุณสรเชษฐ มาฆทาน สำหรับการตรวจสอบและช่วยเหลือในการจัดทำรายงาน

คณะผู้วิจัย

พฤศจิกายน 2550

# สารบัญ

หน้า


กิตติกรรมประกาศ

สารบัญ (1)

รายการตาราง (3)

รายการรูป (6)

บทคัดย่อ (8)

Abstract (10)

บทนำ 1

ตรวจเอกสาร 2

1. แมลงศัตรูที่สำคัญและการควบคุม 2

2. การต้านทานแมลงของพืช 3

3. การปรับปรุงพันธุ์ถั่วพุ่มเพื่อให้ต้านทานเพลี้ยอ่อน 4

4. การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ 6

5. การศึกษาพันธุกรรมของพืชโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล 7

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 10

วิธีการดำเนินงานวิจัย 11

1. การทดสอบสายพันธุ์เบื้องต้น 11

ผลและวิจารณ์การทดลอง 11

2. การศึกษาพันธุกรรมของถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มโดยใช้เทคนิค RAPD 16

ผลและวิจารณ์การทดลอง 17

3. การทดสอบความต้านทานเพลี้ยอ่อนในถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 24

ผลการทดลอง 25

4. การผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. กับสายพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน 4 สายพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ 31

ผลการทดลอง 32

5. การชักนำการกลายพันธุ์ 35

การหาค่า LD 50 ของปริมาณรังสีแกมมา 35

ผลการทดลอง 37

วิจารณ์ 44

การชักนำการกลายพันธุ์ 45

## สารบัญ (ต่อ)


| | หน้า |
|---|---|
| ผลการทดลอง | 46 |
| วิจารณ์ | 73 |
| เอกสารอ้างอิง | 79 |
| ภาคผนวก | 86 |

## รายการตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | สายพันธุ์ถั่วฝักยาว ถั่วพุ่มที่ใช้ในการศึกษาและแหล่งที่มาของแต่ละสายพันธุ์ | 12 |
| 2 | การเจริญเติบโต ลักษณะสัณฐาน และคุณภาพในการบริโภคของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 37 สายพันธุ์ | 13 |
| 3 | ผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิตของถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มจำนวน 37 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับพันธุ์คัด – มอ. | 15 |
| 4 | จำนวนแถบดีเอ็นเอ แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน และขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้เทคนิค RAPD เมื่อทดสอบกับถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม 36 สายพันธุ์ | 19 |
| 5 | ระดับคะแนนการต้านทานเพลี้ยอ่อน ภายใต้สภาพแปลงปลูกของถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์ | 26 |
| 6 | ผลผลิตและลักษณะสำคัญบางประการของสายพันธุ์ถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม24 สายพันธุ์ | 27 |
| 7 | จำนวนดอกที่ผสม จำนวนดอกที่ผสมติด เปอร์เซ็นต์การติดฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝักจากการทดลองผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์คัดเลือกที่มีแนวโน้มต้านทานเพลี้ยอ่อน | 32 |
| 8 | จำนวนเพลี้ยอ่อนในแต่ละสัปดาห์หลังปล่อยบนต้นถั่ว 21 วันหลังปลูก เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พ่อพันธุ์แม่และลูกผสมระหว่างพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์ IT82E – 16 | 34 |
| 9 | จำนวนเพลี้ยอ่อนในแต่ละสัปดาห์หลังปล่อยบนต้นถั่ว 21 วันหลังปลูก เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พ่อพันธุ์แม่และลูกผสมระหว่างพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์ $SR_{00}$ – 863 | 34 |
| 10 | จำนวนเพลี้ยอ่อนในแต่ละสัปดาห์หลังปล่อยบนต้นถั่ว 21 วันหลังปลูก เปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พ่อพันธุ์แม่และลูกผสมระหว่างพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์เขาหินซ้อน | 34 |
| 11 | จำนวนเพลี้ยอ่อนในแต่ละสัปดาห์หลังปล่อยบนต้นถั่ว 21 วันหลังปลูก เปรียบเทียบกันระหว่างพันธุ์พ่อพันธุ์แม่และลูกผสมระหว่างพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์สุรนารี | 35 |

## รายการตาราง (ต่อ)


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 12 | ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันเมื่ออายุ 7 วันหลังปลูก และเปอร์เซ็นต์ต้นรอดชีวิตที่อายุ 7, 14 และ 21 วันหลังปลูก | 38 |
| 13 | ค่าเฉลี่ยความสูงถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่รอดชีวิตอายุ 7, 14 และ 21 วันหลังปลูก | 39 |
| 14 | ค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้นถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่รอดชีวิตอายุ 7, 14 และ 21 วันหลังปลูก | 40 |
| 15 | ค่าเฉลี่ยความยาวใบ และความกว้างใบของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่รอดชีวิตอายุ 7, 14 และ 21 วันหลังปลูก | 41 |
| 16 | ค่า Corrected % mortality ของถั่วฝักยาวเมื่อทำการฉายรังสีที่ระดับรังสีแตกต่างกัน | 41 |
| 17 | ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันเมื่ออายุ 7 วันหลังปลูก | 46 |
| 18 | จำนวนเมล็ดที่ปลูก จำนวนต้นที่รอดชีวิตที่อายุ 75 วันหลังปลูก จำนวนต้นที่ออกดอก และต้นที่สามารถเก็บเกี่ยวเมล็ดของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กัน | 47 |
| 19 | ค่าเฉลี่ยระยะเวลาในการออกดอกและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของต้นถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กัน | 48 |
| 20 | จำนวนต้นที่ผิดปกติของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กัน | 49 |
| 21 | จำนวนเมล็ดที่ปลูก จำนวนต้นที่งอก เปอร์เซ็นต์ความงอกเมื่ออายุ 7 วันหลังปลูก ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ ในชั่ว $M_2$ | 51 |
| 22 | จำนวนต้นที่ติดดอก ค่าเฉลี่ยระยะเวลาในการออกดอก และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันในชั่ว $M_2$ | 52 |
| 23 | จำนวนต้นที่เก็บเกี่ยว ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนฝักต่อต้นและความยาวฝักของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันในชั่ว $M_2$ | 54 |

## รายการตาราง (ต่อ)


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 24 | เปอร์เซ็นต์ต้นผิดปกติ ในลักษณะต้นแคระ ลักษณะเป็นหมันเนื่องจากไม่มีการสร้างดอก มีการสร้างดอกแต่ไม่ติดฝัก และติดฝักแต่ไม่มีเมล็ด ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กัน ในชั่ว $M_2$ | 56 |
| 25 | จำนวนเมล็ดที่ปลูก จำนวนต้นที่งอก และเปอร์เซ็นต์ความงอกเมื่ออายุ 7 วัน หลังปลูก ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ในชั่ว $M_3$ | 57 |
| 26 | ค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันในชั่ว $M_3$ | 58 |
| 27 | ค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของจำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝัก ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันในชั่ว $M_3$ | 59 |
| 28 | เปอร์เซ็นต์ต้นที่ผิดปกติ ในลักษณะต้นแคระ ลักษณะเป็นหมัน เนื่องจากไม่มีการสร้างดอก มีการสร้างดอกแต่ดอกไม่ติดฝัก ติดฝักแต่ไม่ติดเมล็ด และลักษณะฝักไม่ต้องการของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กัน ในชั่ว $M_3$ | 61 |
| 29 | ต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการคัดเลือก จากกลุ่มประชากรที่ผ่านการฉายรังสีโดยอาศัยลักษณะระยะเวลาในการออกดอก จำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝักเป็นเกณฑ์ | 63 |
| 30 | เปอร์เซ็นต์ความงอกของถั่วฝักยาว 39 สายต้น ในชั่ว $M_4$ | 65 |
| 31 | จำนวนต้นที่ดอกบาน และค่าเฉลี่ยระยะเวลาในการออกดอกของถั่วฝักยาว 39 สายต้น ในชั่ว $M_4$ และพันธุ์คัด – มอ. | 66 |
| 32 | ค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝักของถั่วฝักยาว 39 สายต้นในชั่ว $M_4$ และพันธุ์คัด – มอ. | 68 |
| 33 | ต้นที่ผิดปกติของถั่วฝักยาวในชั่ว $M_4$ | 71 |
| 34 | ระยะเวลาออกดอก ความยาวฝัก จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักฝัก และผลผลิตต่อต้นของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการคัดเลือกในชั่ว $M_4$ และพันธุ์คัด – มอ. | 73 |

# รายการรูป


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้เทคนิค RAPD ของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 36 สายพันธุ์จากไพรเมอร์ OPZ 03 | 20 |
| 2 | รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้เทคนิค RAPD ของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 36 สายพันธุ์จากไพรเมอร์ OPC 06 | 20 |
| 3 | รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้เทคนิค RAPD ของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 36 สายพันธุ์จากไพรเมอร์ OPZ 03 | 21 |
| 4 | รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้เทคนิค RAPD ของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 36 สายพันธุ์จากไพรเมอร์ OPZ 08 | 21 |
| 5 | รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้เทคนิค RAPD ของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 36 สายพันธุ์จากไพรเมอร์ OPR 12 | 22 |
| 6 | เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธุ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม 36 สายพันธุ์ วิเคราะห์จากแถบดีเอ็นเอของเทคนิค RAPD โดยใช้โปรแกรม UPGMA | 23 |
| 7 | จำนวนประชากรของเพลี้ยอ่อน (*Aphis craccivora* Koch) บนต้นถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์ | 28 |
| 8 | เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนบนต้นถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม | 29 |
| 9 | ลักษณะการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนบนต้นถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มพันธุ์ SR000-863 (ก) IT825E-16 (ข) มก. 20 (ค) และพันธุ์คัด – มอ. (ง) | 30 |
| 10 | ลักษณะการเพิ่มจำนวนประชากรเพลี้ยอ่อนบนต้นถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มบริเวณลำต้น และฝักหลังมีการปล่อยเพลี้ยเป็นเวลา 3 สัปดาห์ | 31 |
| 11 | ปรียบเทียบลักษณะต้นระหว่างพันธุ์คัด – มอ.(ก) ลูกผสม F1 (ข) และพันธุ์ IT82E16 (ค) | 32 |
| 12 | เปรียบเทียบลักษณะต้นระหว่างพันธุ์คัด – มอ.(ก) ลูกผสม F1 (ข) และพันธุ์เขาหินซ้อน (ค) | 33 |
| 13 | เปรียบเทียบลักษณะต้นระหว่างพันธุ์คัด – มอ.(ก) ลูกผสม F1 (ข) และพันธุ์ SR00-863 (ค) | 33 |
| 14 | เปรียบเทียบลักษณะต้นระหว่างพันธุ์คัด – มอ.(ก) ลูกผสม F1 (ข) และพันธุ์สุรนารี (ค) | 33 |

## รายการรูป (ต่อ)


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 15 | ลักษณะผิดปกติของเมล็ดและต้นกล้าถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา (ก) 1 ส่วนใบเลี้ยงไหม้ (ข) ต้นกล้าอายุ 14 วัน ที่ระดับรังสี 75 Krad ที่มีลักษณะแคระแกร็น และ (ค) ขอบใบไหม้ | 38 |
| 16 | กราฟความสัมพันธุ์ระหว่างระดับของรังสีกับ corrected % mortality เพื่อหา $LD_{50}$ โดยวิธี typical sigmoid mortality | 42 |
| 17 | กราฟความสัมพันธุ์ระหว่างระดับของรังสีกับเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดเพื่อหา $LD_{50}$ | 42 |
| 18 | ลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นในต้นถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ชั่ว $M_1$ | 50 |
| 19 | การกระจายตัวความแตกต่างของระยะเวลาการออกดอกของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_2$ เปรียบเทียบกับระยะเวลาการออกดอกของชุดควบคุม | 53 |
| 20 | การกระจายตัวความแตกต่างของจำนวนฝักต่อต้นของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_2$ เปรียบเทียบกับจำนวนฝักต่อต้นของชุดควบคุม | 54 |
| 21 | การกระจายตัวความแตกต่างของความยาวฝักของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_2$ เปรียบเทียบกับความยาวฝักของชุดควบคุม | 55 |
| 22 | ลักษณะต้นแคระในชั่วที่ 2 ($M_2$) ที่พบในต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 50 Krad | 56 |
| 23 | การกระจายตัวความแตกต่างของระยะเวลาการออกดอกของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_3$ เปรียบเทียบกับระยะเวลาการออกดอกของชุดควบคุม | 58 |
| 24 | การกระจายตัวความแตกต่างของจำนวนฝักต่อต้นของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_3$ เปรียบเทียบกับจำนวนฝักต่อต้นของชุดควบคุม | 60 |
| 25 | การกระจายตัวความแตกต่างของความยาวฝักของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_3$ เปรียบเทียบกับความยาวฝักของชุดควบคุม | 60 |
| 26 | ลักษณะต้นแคระแบบพุ่มในชั่วที่ 3 ($M_3$) ที่พบในต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 50 Krad | 62 |
| 27 | ลักษณะต้นแคระแบบกึ่งเลื้อยในชั่วที่ 3 ($M_3$) ที่พบในต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 50 Krad | 62 |
| 28 | ลักษณะฝักอวบในสายต้น PSU50 – 003 – 001 – 006 | 72 |

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวเพื่อให้ต้านทานต่อการทำลายของแมลงศัตรู


**บทคัดย่อ**

โครงการวิจัยการปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวเพื่อให้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลง เป็นโครงการระยะยาวซึ่งแบ่งเป็น 3 ระยะ รายงานฉบับนี้เป็นการรายงานผลการวิจัยระยะที่ 1 รวม 3 ปีตั้งแต่เดือนตุลาคม 2547 ถึงเดือนกันยายน 2549 โดยในระยะแรกแบ่งงานทดลองออกเป็น 3 ส่วนคือ การทดลองที่1 ทำการปลูกถั่วฝักยาว 24 สายพันธุ์และถั่วพุ่ม 13 สายพันธุ์เพื่อเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานและวิเคราะห์ความสัมพันธุ์ทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี โดยปลูกถั่วทั้ง 37 สายพันธุ์ในแปลงทดลอง และทำการสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อน และทดสอบดีเอ็นเอกับไพรเมอร์จำนวน 150 ไพรเมอร์ คัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ผลชัดเจนที่สุด 5 ไพรเมอร์ (OPC-06, OPR-12, OPZ-03, OPZ-08 และ OPZ-13) เพื่อศึกษารูปแบบของแถบดีเอ็นเอของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว นำผลของรูปแบบแถบดีเอ็นเอจากแต่ละสายพันธุ์รวม 38 แถบที่ได้ มาสร้างเดนโดแกรม เพื่อดูความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในกลุ่มพืชโดยวิธี UPGMAโปรแกรม SPSS พบว่าสามารถแยกกลุ่มระหว่างถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มได้ชัดเจน โดยดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในกลุ่มถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มมีค่าระหว่าง 0.515-1.000 และ 0.548-1.000 ตามลำดับ การทดลองที่ 2 เลือกถั่วฝักยาวจำนวน 18 สายพันธุ์และถั่วพุ่มจำนวน 6 สายพันธุ์ ทำการทดสอบการต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนทั้งในแปลงปลูกและโรงเรือนตาข่าย ในแปลงปลูกวางแผนการทดลองแบบ RCBD 3 ซ้ำแต่ละซ้ำใช้จำนวนต้น 20 ต้นต่อสายพันธุ์ การประเมินผลวัดจากผลผลิต และคะแนนการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน จากผลการทดลองพบว่ามี 4 สายพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทานต่อการเข้าทำลายคือ SR00-863 IT82E-16 สุรนารี1 และพันธุ์เขาหินซ้อน หลังจากทดสอบในแปลงแล้ว ทำการยืนยันผลอีกครั้งในเรือนตาข่าย โดยการปล่อยเพลี้ยอ่อนจำนวน 5 ตัวต่อต้นเมื่อต้นถั่วอายุ 19 วันหลังปลูก ตรวจสอบจำนวนเพลี้ยอ่อนที่เพิ่มขึ้น และให้คะแนนการเข้าทำลายในช่วง 3-7 สัปดาห์ พบว่าจำนวนเพลี้ยอ่อนมีมากที่สุดในพันธุ์บิกวัน ในขณะที่พันธุ์ SR00-863 มีจำนวนเพลี้ยอ่อนน้อยที่สุด ตามด้วย IT82E-16 สุรนารี1 และพันธุ์เขาหินซ้อนตามลำดับ ผลการทดสอบในทั้งสองสภาพแวดล้อมให้ผลตรงกันว่าทั้ง 4 สายพันธุ์มีแนวโน้มต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนจริง หลังจากนั้นจึงทำการผสมข้ามระหว่างพันธุ์คัด-มอ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ฝักมีคุณภาพดี แต่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน กับสายพันธุ์ทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 (F1) ทำการผสมตัวเองลูกผสมชั่วที่ 1 ในแต่ละคู่ได้ลูกชั่วที่ 2 (F2) จากชั่วที่ 2 จึงเริ่มทำการคัดเลือกแบบหนึ่งเมล็ดต่อต้น จนถึง F4

การทดลองที่3 เป็นการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวพันธุ์คัด-มอ. โดยใช้รังสีแกมมาเป็นสิ่งก่อกลายพันธุ์ เริ่มต้นด้วยการหาค่า $LD_{50}$ ของรังสีแกมมา โดยนำเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านฉายรังสีแกมมาในปริมาณต่าง ๆ กันคือ 25, 50, 75 และ 100 Krad ไปปลูกทดสอบ บันทึกจำนวนต้นที่รอดชีวิต พบว่าค่า $LD_{50}$ ที่ 21 วัน มีค่า 38.12-42.34 krad หลังจากนั้นนำเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด- มอ. มา

ฉายรังสีอีกครั้งที่ปริมาณ 25 35 45 และ 50 Krad นำเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสี (M1) มาปลูกในแปลง และบันทึกลักษณะต่างๆ เช่น เปอร์เซ็นต์การงอก จำนวนต้นที่รอดชีวิต ระยะเวลาในการออกดอก รวมทั้งบันทึกความผิดปกติที่เกิดขึ้นจากรังสี พบว่าเมล็ด$M_1$ มีเปอร์เซ็นต์ความงอก จำนวนต้นที่รอดชีวิต และระยะเวลาในการออกดอก ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยเฉพาะเปอร์เซ็นต์ความงอก และจำนวนต้นที่รอดชีวิต ได้รับผลกระทบจากการฉายรังสีมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าในประชากรของถั่วฝักยาวที่ฉายรังสีมีลักษณะผิดปกติต่าง ๆ เกิดขึ้น เช่น ต้นแคระ ลักษณะใบแฝด ใบด่างขาว ใบกลมเล็ก ใบเรียวแหลม จำนวนใบย่อย 4 ใบ ลักษณะลำต้นแบน และการเป็นหมัน เป็นต้น ทำการเก็บเกี่ยวเมล็ดทั้งหมดแยกต้น และนำไปปลูกในฤดูต่อไป ในต้นชั่วที่ 2 ($M_2$) พบความแปรปรวนสูงในลักษณะต่อไปนี้ เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด ระยะเวลาออกดอก จำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝัก ลักษณะผิดปกติที่พบในชั่วนี้คือ การเป็นหมัน และยังพบลักษณะต้นแคระที่สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ โดยมีอัตราการกลายพันธุ์ของลักษณะเป็นหมัน และต้นแคระเท่ากับ 93.94 และ 0.28 % ตามลำดับ ในชั่วที่ 3 ($M_3$) พบลักษณะต้นแคระ และความเป็นหมันเพิ่มขึ้น และยังพบลักษณะผิดปกติของฝักเพิ่มขึ้นอีกลักษณะ ในชั่วที่ 3 ทำการคัดเลือกต้นถั่วฝักยาวไว้ 39 ต้น หรือ 15 เปอร์เซ็นต์ของประชากร การคัดเลือกอาศัยลักษณะดังต่อไปนี้เป็นเกณฑ์ การต้านทานเพลี้ยอ่อน ระยะเวลาการออกดอกเร็วกว่า 46 วัน จำนวนฝักต่อต้นมากกว่า 30 ฝัก และความยาวฝักมากกว่า 30 เซนติเมตร ในชั่วที่ 4 ($M_4$) พบว่ายังมีลักษณะต้นแคระกระจายอยู่ในสายต้น PSU50 – 001 การคัดเลือกชั่วนี้จึงตัดสายต้น PSU50 – 001 ออก และคัดเลือกไว้ 15 ต้น จาก 4 สายต้นเพื่อการทดสอบในชั่วถัดไป

Improvement of Yardlong Bean for Insect Resistance

**Abstract**

Improvement of yardlong bean for insect resistance was investigated. Regarding to long process of breeding program, the research was divided into 3 phases and this paper was the summery results of phase I, research started from October 2004 to September 2007. In the first phase, 3 experiments were conducted. Experiment I: Twenty four yardlong bean and 13 cowpea accessions were plated in the field to characterize their morphology and genetic relatedness. Genetic variation and relationships among 37 accessions except were investigated based on RAPD technique. One hundred and twenty decamer oligonucleotide primers were screened and 5 primers (OPC-06, OPR-12, OPZ-03, OPZ-08, OPZ-13) were chosen for further evaluation. A dendrogram of genetic similarity was constructed based on 23 polymorphic bands obtained from 5 primers using UPGMA in SPSS program, which revealed separate groups between yardlong bean and cowpea. The similarity coefficient among yardlong bean and cowpea accessions ranged from 0.515 to 1.000 and 0.548 to 1.000, respectively. Experiment II : Eighteen yardlong bean and 6 cowpea accessions were screened for resistance to aphid (*Aphis craccivora* Koch) under field and screenhouse trials. The experimental design for field experiment was a Randomized Completed Block Design with 3 replications, 20 plants /plot for each accession. Evaluation for aphid resistance was based on yield and foliage damage scores. The results showed that the following 4 accessions tended to be resistant : SR00-863, IT82E-16, suranaree 1 and Khao-hinson. Resistance was further evaluated in the screenhouse by measuring differences in aphid populations and visual damage on the accessions. Five aphids were released on each plant 19 days after germination and the number of aphids subsequently monitored for 3-7 weeks. The high number of aphids was found on Big-one whereas SR00-863 had the lowest aphid number followed by IT82E-16, Suranaree1 and Kao-hinson, respectively. The results under both field and screenhouse experiments indicate aphid resistance in those four accession. Based on results, selected-PSU, one of cultivated variety which susceptible to aphid was crossed by those 4 varieties to produce F1 and F2. Seed of F2 from each cross were grown and single seed descent was used for selection until F4.

Experiment III: Induced mutation in yardlong bean cv. "Selected-PSU' by gamma ray was carried out. Seed of Selected-PSU were treated with gamma rays at 25, 50, 75 and 100 Krad and Lethal dose($LD_{50}$) was examined. Results indicate $LD_{50}$ of gamma ray in yardlong bean at 21 days

was about 38.12 -42.34 Krad. Seeds of Selected – PSU were treated again with gamma irradiation at 25, 35, 45 and 50 Krad. The treated seeds ($M_1$ seeds) were cultivated in the field at and the following characteristics of $M_1$ plants were recorded: percent of seed germination, survival rate, time of flowering and abnormal characters. Field observation indicated that treated plants could be recognized by flat stem, large – thick and deep green colour leave, twin leaves, small – circular leave, spotted colourless leave, fine leave, quadrifoliate leaves, sterility and dwarfs. Seeds of all $M_1$ plants were harvested and grown as $M_2$ plants. In the $M_2$ generation, high variation in percentage of germination, first flowering, number of pods per plant and pod length were found. Mutations of some characteristics were also observed. Dwarfs and sterility were observed indicated mutation induction with mutation rate 0.28 and 93.94 % respectively. In the $M_3$ generation, a higher number of dwarf plants and sterility were found in comparison to the $M_2$ generation. In addition, some plants produced abnormal pods in this generation. Only 39 lines were selected, based on aphid resistance (and tolerance), early first flowering less then 46 days, pods per plant > 30 pods and pods length > 30 cm. In this generation, dwarf plants were still found in all lines derived from PSU50 – 001. For this reason, lines derived from PSU50 – 001 were discarded. The best 15 plants from 4 lines were selected and further selection will be performed.

# บทนำ

ถั่วฝักยาวเป็นพืชผักที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีการบริโภคทั้งที่เป็นฝักสดและประกอบอาหาร เกษตรกรนิยมปลูกถั่วฝักยาวมากที่สุดในประเภทพืชผักตระกูลถั่ว เพราะปลูกง่าย เจริญเติบโตเร็ว อายุสั้น และความต้องการของตลาดมีค่อนข้างสูง อีกทั้งมีคุณค่าทางอาหารสูงโดยประกอบด้วยโปรตีน 27.4% ไขมัน 3.73% และคาร์โบไฮเดรท 14.45% ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกถั่วฝักยาวทั่วประเทศประมาณ 135,480 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544) ปริมาณผลผลิตประมาณ 173,964 ตัน โดยจังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมากที่สุดคือ จังหวัดราชบุรี สำหรับในภาคใต้นั้นมีพื้นที่ปลูกถั่วฝักยาวทั้งสิ้น 31,319 ไร่ จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมากที่สุดคือ จังหวัดนครศรีธรรมราช 7,556 ไร่ รองลงมาคือ จังหวัดสงขลา 4,480 ไร่ อย่างไรก็ตามการปลูกถั่วฝักยาวยังคงมีปัญหามากมาย เช่น ผลผลิตค่อนข้างต่ำ ปัญหาเรื่องโรคและแมลง ในภาคใต้แมลงที่พบมากในการปลูกถั่วฝักยาวคือเพลี้ยอ่อน และหนอนเจาะฝักถั่ว แมลงเหล่านี้มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นและผลผลิตถั่วฝักยาวเป็นอย่างมาก ทำให้เกษตรกรต้องใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดตลอดฤดูปลูก ส่งผลกระทบโดยตรงต่อผู้บริโภคเนื่องจากการตกค้างของสารเคมี ในปัจจุบันยังไม่สามารถหาพันธุ์ถั่วฝักยาว ที่ต้านทานต่อแมลงสำคัญเหล่านี้ได้ การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีมาตรฐานหรือการชักนำการกลายพันธุ์ เพื่อวัตถุประสงค์ดังกล่าวจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง จะเป็นแนวทางหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวได้ อย่างไรก็ตาม การคัดเลือกจึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมในขณะนี้ และเมื่อได้พันธุ์มาแล้วจะต้องมีการทดสอบทั้งการต้านทานแมลงและผลผลิต ในสภาพต่างๆ ของพื้นที่ เพื่อให้มีความมั่นใจในสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกก่อนจะเผยแพร่สายพันธุ์ใหม่

# ตรวจเอกสาร

ถั่วฝักยาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna unguiculata* var. sesquipedalis หรือ *Vigna sesquipedalis* (L.) Fruw เป็นพืชในวงศ์ Leguminosae มีแหล่งกำเนิดแถบอัฟริกาตะวันตก ปัจจุบันพบกระจายทั่วไปในประเทศเขตร้อน พืชในกลุ่ม *V. unguiculata* สามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด ด้วยกันคือ (Purseglove, 1977)

1. *Vigna unguiculata* var. sesquipedalis คือถั่วฝักยาว มีฝักยาวแขวนห้อยลง เมล็ดรูปไต

2. *Vigna unguiculata* var. sinensis คือถั่วพุ่ม หรือถั่วกระด้าง มีฝักยาวปานกลาง ฝักแขวนห้อยลง เมล็ดรูปไต

3.*Vigna unguiculata* var. cylindrica or catjang มีฝักสั้นและตั้งตรง เมล็ดรูปกลมรีมีขนาดเล็ก

ถั่วฝักยาวมีลำต้นเถาเลื้อยพันตามค้างที่ปักตรงขึ้นไป ความสูงประมาณ 2 - 4 เมตร ฝักยาวประมาณ 30 - 40 เซนติเมตร บางพันธุ์อาจยาวถึง 1 เมตร ส่วนถั่วพุ่มมีลักษณะคล้ายถั่วฝักยาวมาก แต่ลำต้นมักเป็นพุ่ม ฝักมีขนาดสั้นประมาณ 15 - 20 เซนติเมตร ถั่วฝักยาวเป็นพืชผสมตัวเอง แต่มีโอกาสผสมข้ามได้ประมาณ 6-10 เปอร์เซ็นต์ มีผู้ทดลองผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม และพบว่าลูกผสมที่ได้มักมีการเจริญเติบโตของลำต้นแบบเลื้อยคล้ายถั่วฝักยาว และลักษณะฝักจะมีความยาวกึ่งกลางระหว่างถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว (จุฑารัตน์, 2529; สุภาพร, 2535; Singh and Jindla, 1971; Frazler *et al,* 1958) สำหรับอัตราพันธุกรรมในถั่วฝักยาวนั้น รัตนา (2530) รายงานว่าลักษณะที่มีอัตราพันธุกรรมค่อนข้างสูงคือ น้ำหนักฝัก และความยาวฝัก ส่วนสุภาพร (2535) พบว่าลักษณะอายุออกดอกและความยาวฝักมีอัตราพันธุกรรมสูง ในขณะที่ปราโมทย์ (2537) ทำการผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม และรายงานว่า อัตราพันธุกรรมแนวแคบของลักษณะจำนวนฝักต่อต้น และน้ำหนักฝักต่อต้นมีค่าปานกลาง ในขณะที่ความแน่นเนื้อของฝักสด ความยาวฝักและอายุออกดอกมีอัตราพันธุกรรมค่อนข้างสูง

สำหรับผลผลิตนั้นพบว่าสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลอย่างมากต่อผลผลิตของถั่วฝักยาว โดยพบว่าดอกถั่วฝักยาวจะร่วงอย่างรุนแรงในสภาพที่มีฝนตกมากเกินไป แต่ถ้าขาดน้ำหรือสภาพอากาศร้อนเกินไป จะทำให้ดอกและฝักร่วงได้เช่นกัน (ขวัญจิตร และวัลลภ, 2537) ส่วนถั่วพุ่มนั้นพบว่า บางชนิดสามารถทนทานต่อสภาพความแห้งแล้ง และดินที่ไม่อุดมสมบูรณ์ได้เป็นอย่างดี

**1. แมลงศัตรูที่สำคัญและการควบคุม**

เพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch) เป็นแมลงปากดูดที่มีลำตัวขนาดเล็กและอ่อนนิ่ม มีการเจริญแบบ gradual metamorphosis หรือ paurometabolous ไม่มีระยะไข่ให้เห็นในประเทศแถบร้อน รวมทั้งประเทศไทย ซึ่งพบ *A. craccivora* เฉพาะเพศเมียเท่านั้น โดยพบทั้งพวกที่มีปีกและไม่มีปีก มีการ

สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ตัวเต็มวัยจะออกลูกเป็นตัวอ่อน (viviparity) โดยไข่พัฒนาในส่วนท้องของแม่ และสามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้เลยภายหลังออกมาจากท้องแม่ ตัวเมียไม่ต้องได้รับการผสมพันธุ์จากเพศผู้ ซึ่งจะมีลักษณธคล้ายตัวเต็มวัย แต่มีขนาดลำตัวเล็กกว่า *A. craccivora* มีการลอกคราบ 4 ครั้งจึงจะเจริญเป็นตัวเต็มวัย มีปากยาวเรียวพับอยู่ใต้ส่วนอกและเลยโคนขาหลังเล็กน้อย ใช้สำหรับเจาะลงไปในลำต้นของพืช ตัวอ่อน มีลักษณะคล้ายตัวเต็มวัยมากแต่ลำตัวมีขนาดเล็กกว่า สีเหลืองอ่อน หนวดและขามีสีเหลืองอ่อน แต่อวัยวะอื่นๆยังไม่เจริญเช่น ท่อเล็กๆ 2 ท่อที่ส่วนท้ายของลำตัวเรียกว่า cornicle และปล้องสุดท้ายของลำตัวเรียกว่า canda ยังไม่เจริญดี ระยะเวลาในการเป็นตัวอ่อน 5 - 7 วัน (Dixon, 1973) ตัวเต็มวัยมีขนาดโตเต็มที่ประมาณ 1 มิลลิเมตร รูปร่างของตัวเต็มวัยจะมีลักษณะคล้ายผลแพร์ ส่วน conocle ยื่นยาวออกมา ลำตัวส่วนใหญ่จะมีสีดำหรือสีน้ำตาลดำ (กรมวิชาการเกษตร, 2535) เพลี้ยอ่อนจะมีน้ำลายช่วยในการเข้าทำลายพืชที่มีผนังหนา ซึ่งน้ำลายจะประกอบด้วยส่วนที่เป็นของเหลว และส่วนที่มีลักษณะเหนียวซึ่งอยู่บริเวณ stylet สำหรับการแพร่กระจายของ *A. craccivora* นั้น ในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยที่ไม่มีปีก จะเดินจากใบพืชหนึ่งไปสู่ใบพืชหนึ่งในระดับชั้นเดียวกัน และยังสามารถข้ามไปยังต้นอื่นได้ โดยจะเดินตามใบที่ต่อเชื่อมกัน หรือทางพื้นดิน นอกจากนี้ มดยังเป็นตัวเคลื่อนย้าย *A. craccivora* ได้อีกทางหนึ่งด้วย (Parker *et al.,* 1995) ส่วน *A. craccivora* ที่มีปีกนั้นการแพร่กระจายส่วนใหญ่จะบินจากพืชอาศัยหนึ่งไปยังอีกพืชหนึ่งข้างเคียง ส่วนปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเคลื่อนย้ายของ *A. craccivora* เช่น สภาพอากาศ แหล่งอาหาร รวมทั้งสีของใบพืช ซึ่งพบว่า *A. craccivora* จะตอบสนองต่อพืชที่มีใบสีเหลืองหรือสีเขียวอ่อน (Dixon, 1985)

ความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วได้แก่ ลำต้น ใบ กิ่ง ยอด และฝัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณเนื้อเยื่อที่อ่อนนิ่ม ส่วนมากเพลี้ยอ่อนจะเกาะกันเป็นกลุ่มและดูดน้ำเลี้ยงจากเนื้อเยื่อพืช โดยจะใช้ปากเจาะดูด แทงเข้าไปในเนื้อเยื่อแล้วดูดกินน้ำเลี้ยงภายใน ทำให้ส่วนต่างๆที่ถูกเพลี้ยอ่อนเข้าทำลายหงิกงอ นอกจากนี้ยังทำให้ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และร่วงในที่สุด ใบอาจผิดรูปม้วนและทำให้ร่วงง่าย (Anonymous, 1998) พืชที่ถูกเพลี้ยอ่อนเข้าทำลายมาก จะชะงักการเจริญเติบโต หากส่วนฝักถูกเพลี้ยเข้าทำลายจะทำให้ฝักไม่สมบูรณ์หงิกงอ หากทำลายดอกจะทำให้ดอกร่วงไม่ติดฝัก (พิสิษฐ์ และคณะ, 2535) ช่วงที่เหมาะสมในการระบาดของเพลี้ยอ่อนคือสภาพอากาศแห้งแล้ง และร้อน

**2. การต้านทานแมลงของพืช**

พืชและแมลงศัตรูพืชมีปฏิสัมพันธุ์ร่วมกันในลักษณะการต้านทานแมลงของพืช ปฏิสัมพันธุ์ดังกล่าวนี้เกิดขึ้นเป็นเวลานาน โดยจะเห็นได้จากวิวัฒนาการ การเปลี่ยนแปลงของพืชเองและแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะในพืชมีการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการต่างๆ ทางสรีรวิทยาและทางชีวเคมี มีการสร้างสารบางชนิดมาต่อต้านการเข้าทำลายของแมลง พืชมีกลไกลการป้องกันอันตรายจาก

แมลงในสองลักษณะร่วมกันคือ ลักษณะทางกายภาพและลักษณะทางเคมีหรือกลไกทางกายภาพและกลไกทางเคมี (Gatehouse *et al.,* 1991)

การที่พืชมีคุณลักษณะในการต้านทานต่อโรคหรือแมลงศัตรูเป็นคุณลักษณะที่เป็นข้อดีของพืชชนิดนั้นๆ เนื่องจากการทำลายของโรคหรือแมลงก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิต Hilder และ Boulter (1999) รายงานว่าผลผลิตของข้าวสาลี ข้าว ข้าวโพด มันฝรั่ง ถั่วเหลืองและข้าวโพดลดลงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการทำลายของแมลงศัตรู พืชที่ต้านทานต่อแมลงมีคุณสมบัติในการหลีกเลี่ยง (avoid) ทนทาน (tolerance) หรือฟื้นคืน (recover) จากการทำลายของแมลงซึ่งทำให้เกิดความเสียหายน้อยกว่าสายพันธุ์อื่นในพืชชนิดเดียวกันภายใต้สภาพแวดล้อมที่คล้ายคลึงกัน ซึ่งคุณสมบัตินี้เกิดจากสารชีวเคมีหรือลักษณะทางสัณฐานของต้นพืชซึ่งจะมีผลกระทบต่อพฤติกรรมหรือเมทาบอลิซึมของแมลง (Painter, 1951) กลไกการต้านทานของพืชต่อแมลงแบ่งเป็น 2 ลักษณะใหญ่ๆ คือ การต้านทานที่ถูกควบคุมโดยปัจจัยสิ่งแวดล้อมหรือการต้านทานทางนิเวศ และการต้านทานที่ควบคุมโดยปัจจัยทางพันธุกรรม (Speight *et al*., 1999)

การต้านทานที่ถูกควบคุมโดยปัจจัยสิ่งแวดล้อมเช่น ในถั่วเหลือง พบว่าปริมาณความชื้นในดินมีผลต่อการพัฒนาการของตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงศัตรูของถั่วเหลืองที่ปลูกในแถบอเมริกาเหนือ (Jenkins *et al*., 1997 อ้างโดย Speight *et al*., 1999) ส่วนการต้านทานที่ควบคุมโดยปัจจัยทางพันธุกรรม Van Lenteren และคณะ (1995) อ้างโดย Speight และคณะ (1999) รายงานว่า พืชที่มีพันธุกรรมในการต้านทานต่อแมลงศัตรูสามารถลดหรือทนต่อการทำลายของแมลงศัตรูได้มากกว่าพืชชนิดอื่น ซึ่งเกิดจากพืชนั้นมียีนต้านทานหรือมีพันธุกรรมโดยธรรมชาติของพืชเอง หรือเกิดจากการตัดต่อยีนจากพืชที่ต้านทาน ใส่ให้กับพืชอีกชนิดเพื่อให้ต้านทานต่อแมลงศัตรู ตัวอย่างพืชที่นิยมตัดต่อยีนเพื่อให้ต้านทานต่อแมลงศัตรูได้แก่ ฝ้าย ข้าวโพด และมันฝรั่ง (Fischhoff, 1991)

กลไกของพืชในการต้านทานต่อแมลงในทางพันธุกรรมมี 3 แบบ คือ

1. Non-preference หรือ antixenosis เป็นความต้านทานที่เกิดจากการแสดงออกของกลุ่มพืชและการตอบสนองของแมลงซึ่งมีผลทำให้แมลงไม่ชอบหรือผละออกไปจากพืช (van Emden, 1987) เช่น ผีเสื้อจะไม่ชอบวางไข่หรือวางไข่น้อยบนพันธุ์ข้าวที่มีขนน้อย หรือเมื่อเอาขนออก (Pathak, 1977 อ้างโดย ปริญญา ชินโนรส, 2530) หรือข้าวสาลีพันธุ์ CI 8591 มีความต้านทานต่อ cereal beetle (*Oulema melanopus*) เนื่องจากใบข้าวสาลีมีขนยาว และขึ้นอยู่อย่างหนาแน่นทำให้หนอนของ *O. melanopus* ไม่ชอบ อีกทั้งขนมีผลยับยั้งการสืบพันธุ์ของแมลง (Schillinger, 1969) นอกจากนี้ลักษณะสัณฐานบางลักษณะมีผลต่อการเข้าทำลายของแมลงบางชนิด ไขหรือ wax บนผิวพืชก็เป็นอีกลักษณะหนึ่งที่พืชสร้างขึ้นเพื่อต้านทานหรือขัดขวางการเข้าทำลายของแมลง เช่น raspberry (*Rubus phoenicolasius*) มีการหลั่งไขออกมาปกคลุมผิวใบเป็นชั้นหนา เพื่อต่อต้านการเข้าทำลายของ raspberry beetle และ rubus aphid ในทางตรงกันข้าม ไขบนผิวใบถั่วปากอ้ากลับเป็นสิ่งดึงดูดเพลี้ยอ่อน

(*Acyrthosiphon pisum*) (บุญฤทธิ์, มมป.) นอกจากนี้รูปร่างและสีใบพืชยังเป็นอีกลักษณะที่มีผลต่อความชอบหรือไม่ชอบของแมลง โดยพบว่า ตัวเต็มวัยของ *Pieris rapae* และผีเสื้อบางชนิดไม่ชอบวางไข่บนกะหล่ำปลีที่มีใบสีแดง (red cabbage) เมื่อเทียบกับใบสีเขียว (Dickson and Eckenrode, 1975)

2. Antibiosis เป็นความต้านทานที่เกิดจากการที่พืชนั้นแสดงลักษณะที่เป็นผลเสียต่อวัฏจักรชีวิตของแมลงเมื่อแมลงใช้พืชนั้นเป็นอาหาร (Speight *et al*., 1999) เช่น ข้าวพันธุ์ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำให้แมลงมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดน้อยและใช้เวลานานในการเจริญเติบโตจากตัวอ่อนเป็นตัวเต็มวัย (Saxena and Pathak, 1979 อ้างโดย ปริญญา ชินโนรส, 2530) ข้าวพันธุ์ต้านทานแมลงศัตรู *Nilaparvata lugens* ทำให้แมลงกินอาหารได้น้อยลงและใช้เวลานานในการเจริญเติบโตจากตัวอ่อนเป็นตัวเต็มวัยยาวขึ้นกว่าเดิม (Senguttuvan *et al*., 1991 อ้างโดย Speight *et al*., 1999)

3. Tolerance เป็นความต้านทานที่เกิดจากความสามารถของพืชที่จะเจริญเติบโต ขยายพันธุ์และเพิ่มผลผลิต (Speight *et al*., 1999) หรือสามารถซ่อมแซมส่วนที่เสียหายได้แม้ว่าจะมีจำนวนแมลงมากพอที่จะทำความเสียหายให้กับพืชเช่น ข้าวที่ทนต่อหนอนกอสีครีม จะมีปฏิกิริยาชดเชยต่อการถูกทำลาย (Prakasa, 1972 อ้างโดย ปริญญา ชินโนรส, 2530)

การประเมินความต้านทานแมลงของพืชชนิดใดชนิดหนึ่ง สามารถดูได้จากส่วนของพืชที่ถูกทำลายและเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของผลผลิตของพืชชนิดนั้น (Smith *et al.,* 1994) โดยแบ่งระดับการตอบสนองของพืชต่อการทำลายของแมลงคือ อ่อนแอ ต้านทานน้อย และต้านทานมากต่อแมลงชนิดนั้นๆ ส่วนปฏิกิริยาของพืชในการตอบสนองต่อการทำลายของแมลงชนิดนั้น ใช้ประเมินความต้านทานของพืชดูจากจำนวนของแมลงที่เข้าทำลาย ความแข็งแรงของพืช อายุของพืชและอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม นั่นคือถ้าจำนวนประชากรของแมลงเข้าทำลายมาก และพืชนั้นมีระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงดังกล่าวต่ำคือ มีความเสียหายจากการถูกทำลายมาก แสดงว่าพืชอ่อนแอต่อแมลงศัตรูชนิดนั้น ขณะเดียวกันถ้าพืชมีความเสียหายจากการถูกทำลายน้อยแสดงว่าพืชชนิดนั้นมีระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงมากกว่า (Davis,1985 อ้างโดย Smith *et al.,* 1994) อย่างไรก็ตามแม้ว่าในสภาวะปกติพืชชนิดใดชนิดหนึ่งซึ่งมีความต้านทานต่อแมลง แต่พืชได้รับน้ำและปุ๋ยไม่เพียงพอก็อาจจะอ่อนแอในสภาวะนั้น ๆ ส่งผลให้ได้รับความเสียหายจากแมลงชนิดนั้นทั้งที่ปกติจะมีความต้านทาน ทั้งนี้เกิดจากอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมที่พืชเจริญเติบโตอยู่ในขณะนั้น

**3. การปรับปรุงพันธุ์ถั่วพุ่มเพื่อให้ต้านทานเพลี้ยอ่อน**

Atiri และ Thottappilly (1985) ทำการทดสอบจำนวนประชากรของเพลี้ยอ่อน ในต้นถั่วพุ่มเปรียบเทียบกันระหว่างพันธุ์อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน (aphid-susceptible) พันธุ์ ทนทาน (aphid-tolerant) และพันธุ์ต้านทาน (aphid-resistant) จำนวนเพลี้ยอ่อนบนต้นถั่วพุ่มพันธุ์อ่อนแอ และพันธุ์ทนทานจะมีจำนวนสูงกว่าพันธุ์ต้านทานมาก ขณะเดียวกันยังพบว่าจำนวนเพลี้ยอ่อนบนทั้งสอง

พันธุ์แรกมีความสหสัมพันธุ์ทางบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการกระจายของ CAMV ซึ่งมีรายงานว่าเพลี้ยอ่อนเป็นพาหะ นอกจากนี้มีการทดสอบการต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนในถั่วพุ่มพันธุ์ ICV11 และ ICV 12 โดยพันธุ์ทั้งสองได้มาจากการฉายรังสีกับเมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่ม ICV1 และทำการคัดเลือกจากประชากร M2 (ICIPE, 1986) การศึกษาพันธุกรรมของลักษณะการต้านทานเพลี้ยอ่อนในถั่วพุ่มพบว่ามียีนที่เกี่ยวข้อง 2 ตัวคือ *Rac1* และ *Rac2* (Pathak,1988) Githiri และคณะ (1996) ศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของการต้านทาน *A. craccivora* ในประชากรชั่วที่ 1, 2 และผสมกลับของคู่ผสมระหว่างพันธุ์ต้านทาน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ ICV10, ICV11, ICV12, IT82E-25 Tvu 310, IT87S-1394, IT87S-1459 และ IT84S-2246 กับพันธุ์อ่อนแอ (Tvu946) และสรุปว่ายีนที่ควบคุมการต้านทานเพลี้ยอ่อนในกลุ่มพันธุ์ที่ศึกษามีเพียง 1 คู่ และเป็นยีนเด่น เนื่องจากอัตราส่วนในชั่ว F2 และ ผสมกลับ (BC2) ระหว่างต้นที่ต้านทาน: อ่อนแอ มีค่า 3:1 และ 1:1 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าในอัฟริกาตะวันตก *A. craccivora* มีถึง 3 biotypes ด้วยกัน(IITA, 1981) ซึ่งอาจมีผลให้เกิดความแตกต่างในการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้อง

**4. การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์**

ในสภาพธรรมชาติ การกลายพันธุ์สามารถเกิดได้ตลอดเวลา เรียกว่าการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) เป็นการเกิดอย่างช้าๆ ซึ่งสามารถเกิดได้กับทุกเซลล์และทุกระยะการเจริญเติบโต เป็นผลมาจากความผิดปกติในการแบ่งเซลล์ หรือถูกกระตุ้นจากสภาพแวดล้อมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหน่วยพันธุกรรม ถ้าการกลายพันธุ์เกิดขึ้นจากการกระทำของมนุษย์เรียกว่า การชักนำให้กลายพันธุ์ (induced mutation) ซึ่งสามารถทำได้โดยการใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์ การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการกลายพันธุ์โดยวิธีการแทรก DNA การชักนำให้กลายพันธุ์โดยใช้สิ่งก่อกลายพันธุ์แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. สิ่งก่อกลายพันธุ์ทางเคมี (chemical mutagen) โดยใช้สารเคมีชนิดต่าง ๆ เช่น Ethyl methanesulphonate (EMS), Ethyleneimine (EI), Diethyl sulphate (DES) เป็นต้น

2. สิ่งก่อกลายพันธุ์ทางกายภาพ (physical mutagen) เป็นพวกรังสีต่างๆ ที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ รังสีเอกซ์ รังสีแกมมา อนุภาคนิวตรอน และรังสีอัลตราไวโอเลต เป็นต้น

ในการฉายรังสีให้พืชสามารถทำได้ทุกส่วนขยายพันธุ์ เช่น เมล็ดพันธุ์ หัว ราก ไหล กิ่ง กิ่งตอน กิ่งปักชำ พืชทั้งต้น หรือเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยง ซึ่งการนำส่วนใดมาใช้จะขึ้นกับชนิดของพืช วิธีการขยายพันธุ์และความสะดวกในการฉายรังสี

เมื่อเซลล์ได้รับรังสีต่าง ๆ เช่น รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา หรืออนุภาคนิวตรอน รังสีจะถ่ายทอดพลังงานให้กับโมเลกุลต่าง ๆ ของเซลล์ โมเลกุลที่ได้รับพลังงานจะแตกตัวให้ไอออน และอนุมูลอิสระทำให้มีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลใหม่ (สิรนุช, 2540) การฉายรังสีแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ การฉายรังสี

ในอัตราสูงและใช้เวลาสั้น นิยมใช้กับเมล็ดพืช อีกวิธีคือการฉายรังสีแบบเรื้อรัง เหมาะกับการใช้กับชิ้นส่วนของพืชหรือพืชทั้งต้น (IAEA, 1977)

อัตราความเข้มข้นของรังสีที่ใช้กับพืช แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีความไวต่อรังสี (radiosensitivity) แตกต่างกัน (ธีระ, 2525; สิรนุช, 2540) ในการฉายรังสีให้กับพืชจะยึดจากระดับรังสีที่เรียกว่า $LD_{50}$ (50% Lethal Dose หรือ Lethal Dose-50 หรือ Semi Lethal Dose) ของพืชที่นำมาฉายรังสี (IAEA, 1977) ในการศึกษา $LD_{50}$ จะมีการนำเมล็ดมาฉายรังสีในปริมาณต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ปริมาณต่ำ จนถึงระดับสูงที่ทำให้เกิดการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ในรังสีแต่ละระดับใช้เมล็ดจำนวน 100-300 เมล็ด แล้วนำมาเพาะในกระบะดิน หลังจากเมล็ดงอกแล้ว บันทึกความงอกและความสูงของพืชทำประมาณ 4 สัปดาห์ (สิรนุช, 2540; FAO/IAEA, 1979) ค่า $LD_{50}$ ในแต่ละพืชเป็นตัวกำหนดปริมาณรังสีที่ใช้ในการชักนำให้พืชกลายพันธุ์ ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช เช่น เมล็ดถั่วเขียวพันธุ์อู่ทอง 1 มีค่า $LD_{50}$ ของปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 69.34 – 72.00 Krad (ธีระ, 2525) พืชตระกูลถั่วที่มีการศึกษาปริมาณรังสีที่เหมาะสมดังแสดงในตารางที่ 2 (สิรนุช, 2540)

ในปัจจุบันมีพืชหลายชนิดที่ประสบความสำเร็จในการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสี เช่น ข้าวพันธุ์ กข 15 ได้จากการฉายรังสีแกมมา 15 Krad ให้ข้าวขาวดอกมะลิ 105 (กรมวิชาการเกษตร, 2543) ข้าวพันธุ์ กข 6 ซึ้งเป็นข้าวเหนียว ได้จากการฉายรังสีแกมมา 20 Krad ให้กับข้าวขาวดอกมะลิ 105 (ผลิใบ, 2545) กลุ่มไม้ดอกได้แก่ เบญจมาศ (สิรนุช, 2545) แพรเซี่ยงไฮ้ (Wongpiyasatid and Hormchan, 2000) สำหรับพืชตระกูลถั่วมีการใช้รังสีแกมมาในการปรับปรุงพันธุ์อย่างกว้างขวาง เช่น การฉายรังสีแกมมาปริมาณ 150 Gy (15 Krad) ให้กับถั่วเหลืองพันธุ์ สจ. 4 ทำให้ได้พันธุ์ดอยคำ ที่มีลักษณะต้านทานโรคราสนิม และการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 10 Krad ให้กับพันธุ์เชียงใหม่ 60 ทำให้ได้สายพันธุ์ CM60-10kr-71 ที่มีลักษณะต้านทานโรคราสนิมและให้ผลผลิตสูงกว่าเดิม (สมศักดิ์ และมณฑา, 2544) เป็นต้น Wongpiyasatid และคณะ (1998) ฉายรังสีให้กับเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์วากาชิมาที่มีดอกสีขาวพบว่าต้นถั่วเหลืองให้ดอกสีม่วง 7% ของต้นที่ปลูกทั้งหมด สิรนุชและคณะ (2526) ฉายรังสีปริมาณ 500 เกรย์ให้กับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวและปลูกจนถึงรุ่นที่ 5 พบว่าพันธุ์ที่ได้มีการติดดอกเร็วขึ้น มีบางสายพันธุ์ต้านทานต่อโรคราแป้ง และบางสายพันธุ์ต้านทานต่อโรคใบจุดจากเชื้อ *Cercospora*

**5. การศึกษาพันธุกรรมของพืชโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล**

ในอดีต การจำแนกหรือแยกความแตกต่างของพืช อาศัยลักษณะสัณฐานเป็นหลัก ส่วนการศึกษาการทำงานของยีนในการควบคุมลักษณะสำคัญก็เช่นเดียวกัน ต้องทำการผสมข้ามระหว่างพืชที่มีความแตกต่างในลักษณะที่สนใจ สร้างประชากรชั่วที่1 (F1) ประชากรชั่วที่ 2 (F2) และประชากรที่ได้จากการผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อแม่เดิม (BC1 และ BC2) หลังจากนั้นจึงนำประชากรทั้งหมดมาปลูกทดสอบร่วมกัน บันทึกผลในลักษณะที่ต้องการศึกษาจากประชากรต่างๆ และทำการวิเคราะห์ผล โดย

อาศัยหลักสถิติเป็นเครื่องมือ ซึ่งการศึกษาดังกล่าวมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ลักษณะที่ศึกษาคล้ายคลึงกันมาก ยากที่จะแยกความแตกต่างด้วยสายตา ระยะเวลาของการศึกษายาวนานโดยเฉพาะในพืชที่มีวงชีวิตยาวเช่นไม้ผล และพืชยืนต้น การประเมินผลของลักษณะบางอย่างต้องสร้างสภาวะที่มีความจำเพาะเจาะจง เช่น ลักษณะการต้านทานโรค การประเมินจะมีประสิทธิภาพสูงเมื่อสภาพแวดล้อมของการปลูกพืชต้องมีความเหมาะสมกับการเจริญของโรคดังกล่าวเท่านั้น เป็นต้น ดังนั้นการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาประเด็นเหล่านี้ จะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการคัดเลือกให้แม่นยำขึ้น อีกทั้งไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม และสามารถร่นระยะเวลาของการศึกษา เพราะสามารถประเมินผลได้แม้ต้นพืชอยู่ในระยะกล้าก็ตาม การศึกษาความหากหลายทางพันธุกรรมพืชโดยอาศัยเครื่องหมายโมเลกุล จะเป็นการศึกษาเบื้องต้นที่จะนำไปสู่การค้นหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธุ์ใกล้ชิดกับยีนที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการ และเป็นฐานข้อมูลทางพันธุกรรมเบื้องต้นในการใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ จากข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรม เช่น การเก็บรวบรวมพันธุกรรมเพื่อจัดทำแหล่งเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ การคัดเลือกประชากรในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ (Moretzsohn *et al*., 2002)

มีการใช้เทคนิค RAPD (Random amplified Polymorphic DNA) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตเป็นการตรวจสอบความแตกต่างของพันธุกรรมในระดับดีเอ็นเอ ที่สามารถแยกความแตกต่างที่เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยไม่ขึ้นกับระยะการเจริญเติบโต สภาพแวดล้อม (สุรินทร์, 2536) เครื่องหมาย RAPD มีข้อได้เปรียบกว่าการตรวจสอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอชนิดอื่นคือ เป็นเทคนิคที่สามารถทำได้ง่ายไม่ซับซ้อน ค่าใช้จ่ายไม่สูง ใช้ปริมาณดีเอ็นเอน้อย ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับเบสที่แน่นอนในการทำ PCR (polymerase chain reaction) ตรวจสอบผลการวิเคราะห์ได้ง่ายและรวดเร็ว โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีลำดับเบสแบบสุ่มขนาด 8 - 10 นิวคลีโอไทด์ เพิ่มปริมาณส่วนของดีเอ็นเอเป้าหมายโดยปฏิกิริยา PCR ซึ่งถ้าตำแหน่งของจีโนมที่ไพรเมอร์เข้าไปเกาะอยู่บริเวณที่ห่างกันในระยะหนึ่ง และมีทิศทางตรงข้ามกัน จะทำให้เกิดผลผลิตดีเอ็นเอขึ้นหลังจากทำ PCR โดยตรวจสอบความหลากหลาย (polymorphism) จากชิ้น ดีเอ็นเอที่สามารถเพิ่มปริมาณได้ ด้วยการแยกขนาดของชิ้นดีเอ็นเอโดยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส แล้วตรวจสอบผลภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตหลังย้อมดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (Williams *et al*., 1990) ความแตกต่างของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณ เป็นผลมาจากความแตกต่างของลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมายที่ไพรเมอร์เข้าไปเกาะ (Waugh and Powell, 1992 อ้างโดย วินิตชาญ, 2540) ซึ่งความแตกต่างที่เกิดขึ้นนี้สามารถนำมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อคาดคะเนหาค่าความสัมพันธุ์ทางพันธุกรรม ทำให้ทราบความสัมพันธุ์ทางพันธุกรรมระหว่างพืชที่อยู่ในชนิดเดียวกัน จากการรวบรวมพันธุ์ เทคนิค RAPD สามารถนำมาใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ ดังนี้

1. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืช มีการใช้เทคนิค RAPD เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในพืชอย่างแพร่หลาย เช่น Prakash และคณะ (2002) ศึกษาในพันธุ์ฝรั่งจำนวน 41 จีโนไทป์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับวางแผนงานในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ โดยใช้ไพร

เมอร์จำนวน 8 ไพรเมอร์ Song และคณะ (2000) ใช้เทคนิค RAPD ศึกษาความสัมพันธุ์ทางพันธุกรรมและแยกความแตกต่างของพืชสกุลลางสาด (*Lansium domesticum*) จำนวน 85 ตัวอย่าง จากการใช้ไพรเมอร์จำนวน 10 ไพรเมอร์ Anthony และคณะ (2001) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกาแฟ (*Coffea arabica* L.) จำนวน 119 พันธุ์ Belaj และคณะ (2003) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของมะกอก Albanian จำนวน 19 พันธุ์และพันธุ์ป่าจำนวน 2 พันธุ์ จากการใช้ไพรเมอร์จำนวน 16 ไพรเมอร์

สำหรับถั่วพุ่ม มีการศึกษาโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลหลายชนิดในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและความใกล้ชิดทางพันธุกรรม ไอโซไซม์ (Panella and Gepts, 1992) ดีเอ็นเอในคลอโรพลาสต์ (Vaillancourt and Weeden, 1992) RFLP (Fatokun *et al*., 1993) RAPD (Mingnouna *et al.,* 1998) AFLP (Fatokun et al., 1997) และ microsatellites (Li *et al*., 2001)

2. การจำแนกพันธุ์พืช นอกจากการใช้ประโยชน์จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจัดจำแนกกลุ่มแล้ว สามารถใช้แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มโดยเทคนิค RAPD ที่มีความจำเพาะกับพันธุ์หรือลักษณะใดลักษณะหนึ่งเป็นตัวตรวจสอบ ลักษณะนั้น ๆ ในประชากรพืช จากการศึกษาการจำแนกและตรวจหาเครื่องหมายทางพันธุกรรมของพันธุ์หญ้าแฝกในประเทศไทยด้วยเทคนิค RAPD โดย วินิตชาญ (2540) พบว่าแถบดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ด้วยไพรเมอร์ OPJ-4 และ OPS-16 ขนาด 0.6 และ 0.55 กับ 0.5 กิโลเบส สามารถใช้ตรวจสอบหญ้าแฝกหอมและหญ้าแฝกดอนได้ โดยมีการยืนยันผลด้วยการนำดีเอ็นเอจากแถบดีเอ็นเอดังกล่าวมาเป็นโพรบ (probe) ในการทำ southern blot hybridization กับดีเอ็นเอของหญ้าแฝกหอมและหญ้าแฝกดอนอีกครั้ง ธีระชัย และ นฤมล (2543) พบไพรเมอร์เพียงชนิดเดียวที่สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่มีลักษณะจำเพาะกับพริกแต่ละพันธุ์จำนวน 14 พันธุ์ ซึ่งสามารถนำไพรเมอร์ดังกล่าวไปใช้จำแนกพันธุกรรมของพริกจำนวน 14 พันธุ์นั้นได้

3. ใช้เป็นเครื่องหมายในการคัดเลือกลักษณะสำคัญ (marker – assisted selection) Moretzsohn และคณะ (2002) พบเครื่องหมาย RAPD ที่มีความสัมพันธุ์ใกล้ชิดกับลักษณะความหนาของกะลา โดยการใช้ไพรเมอร์ OPR – 11 และ OPT – 19 คือ OPR – 11 ขนาด 1,282 คู่เบส และ OPT - 19 นาด 1,046 คู่เบส ซึ่งสามารถแยกพันธุกรรมของปาล์มน้ำมันพันธุ์เทเนอราออกจากพันธุ์พิสิเฟอราได้ Jun และคณะ (2002) จำแนกพันธุ์ท้อโดยใช้แถบดีเอ็นเอขนาด 1,300, 1,050 และ 1,400 คู่เบส จากการใช้ไพรเมอร์ OPB-05, OPI-07 และ UBC439 ตามลำดับ ซึ่งมีความใกล้ชิดกับยีนที่ควบคุมความหนาของเนื้อ และสามารถใช้ประโยชน์สำหรับการช่วยคัดเลือกในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ Morales และคณะ (2002) พบเครื่องหมาย RAPD ที่มีความสัมพันธุ์ใกล้ชิดกับยีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานต่อไวรัส MNSV ในพืชตระกูลแตง McClendon และคณะ (2002) พบเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถจำแนกยีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานต่อโรคเหี่ยวในถั่ว (pea)

## วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวให้สามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งเพลี้ยอ่อน และให้ผลผลิตในระดับที่น่าพอใจ ลดการใช้สารกำจัดแมลง
2. เพื่อชักนำการกลายพันธุ์ในถั่วฝักยาว สำหรับการคัดเลือกพันธุ์ที่ต้านทานต่อการทำลายของแมลงศัตรู รวมทั้งเป็นแหล่งความแปรปรวนทางพันธุกรรมสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวในอนาคต

# วิธีการดำเนินงานวิจัย

**1. การทดสอบสายพันธุ์เบื้องต้น**

ทำการรวบรวมสายพันธุ์ถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มจำนวน 37 สายพันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชผักเมืองร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี โครงการหลวง และเมล็ดพันธุ์จากร้านค้าในเขตอำเภอ หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา (ตารางที่1) นำมาปลูกทดสอบลักษณะสำคัญทางเกษตร โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 2 ซ้ำ ทำการบันทึกลักษณะสัณฐาน การเจริญเติบโต ผลผลิต รวมทั้งคุณภาพในการบริโภค โดยให้เป็นคะแนนความชอบจากการทดสอบกับผู้ชิมจำนวน 3 ราย ระดับคะแนนจาก 1 - 5 โดย 1 คือคะแนนต่ำสุด และ 5 คือ คะแนนความชอบสูงสุด

**ผลและวิจารณ์การทดลอง**

จากจำนวนถั่วฝักยาว 24 สายพันธุ์ พบว่ามีจำนวน 22 สายพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตแบบเลื้อย (indeterminate) อีก 2 สายพันธุ์คือ VU189 และ NR001 มีการเจริญแบบพุ่ม (determinate) ส่วนในถั่วพุ่มพบว่ามีการเจริญเติบโตแบบเป็นพุ่ม จำนวน 10 สายพันธุ์ ที่เหลืออีก 3 สายพันธุ์ได้แก่ SR00 - 863 VU174 และ SR00 - 1139 มีการเจริญเติบโตแบบกึ่งเลื้อย ถั่วฝักยาวเกือบทุกสายพันธุ์มีฝักสีเขียวถึงเขียวเข้มโดยมีคุณภาพในการบริโภคด้วยคะแนนเฉลี่ย 3.96 มีเพียง 2 สายพันธุ์ ที่มีฝักสีเขียว - น้ำเงินคือสายพันธุ์ VU144 และ SR00 - 0402 สำหรับพันธุ์ KU - 20 ให้ฝักสีม่วงแดง โดยพันธุ์เหล่านี้มีคะแนนของคุณภาพการบริโภคอยู่ในช่วง 1 - 2 คะแนน ส่วนถั่วพุ่มส่วนใหญ่ให้ฝักสีเขียวอ่อน ถึงเขียวเข้ม ยกเว้นสายพันธุ์ SR00 - 1139 ที่มีฝักสีเขียวเทา เมื่อเทียบคุณภาพในการบริโภคเฉลี่ยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม พบว่าถั่วฝักยาวมีคุณภาพสูงกว่าถั่วพุ่มมาก โดยมีค่าเฉลี่ย 3.65 คะแนน เทียบกับค่าเฉลี่ย 1.65 ในกลุ่มถั่วพุ่ม (ตารางที่ 2)

ความยาวฝัก จำนวนฝักต่อต้น และผลผลิตของถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มทั้ง 37 สายพันธุ์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบว่าถั่วฝักยาว 3 สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือ SR99 - 334 VU163 และ VU171 ให้ผลผลิตฝักสด 360.6 346.5 และ 306.9 กรัม/ต้น ตามลำดับ ผลผลิตเฉลี่ยของถั่วฝักยาวทั้ง 24 สายพันธุ์มีค่า 212.1 กรัม/ต้น ในขณะที่ถั่วพุ่ม 13 สายพันธุ์ให้ผลผลิตเฉลี่ย 117.4 กรัม/ต้น คิดเป็น 45.4 % ของผลผลิตถั่วฝักยาว ความยาวฝักของถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มทั้ง 37 สายพันธุ์มีค่าอยู่ระหว่าง 14.9 ถึง 58.3 ซม. โดยกลุ่มถั่วฝักยาวมีค่าเฉลี่ยของความยาวฝัก 48. 7 ซม. ในขณะที่ถั่วพุ่มมีความยาวฝักเฉลี่ย 21.3 ซม. (ตารางที่ 3)

สายพันธุ์ VU189 และ NR001 ซึ่งถูกจัดอยู่ในกลุ่มถั่วฝักยาวมีลักษณะสัณฐานต่างจากถั่วฝักยาวสายพันธุ์อื่นๆ โดยสองสายพันธุ์นี้มีการเจริญเติบโตแบบพุ่มและมีความยาวฝักอยู่ในช่วง 34.0

- 34.9 ซม. พันธุ์ VU189 และ NR001 อาจจะเป็นพันธุ์ถั่วฝักยาวที่มีการพัฒนาพันธุ์มาจากการผสมข้ามระหว่างถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว และตามด้วยการคัดเลือกพันธุ์ในชั่วถัดมา

**ตารางที่ 1**.สายพันธุ์ถั่วฝักยาว ถั่วพุ่มที่ใช้ในการศึกษาและแหล่งที่มาของแต่ละสายพันธุ์

| Accessions | Source | Original source | |
|---|---|---|---|
| 1. VU 012* | TVRC[1] | Mukdahan | Thailand |
| 2. VU 041-A* | TVRC | Narathiwat | Thailand |
| 3. VU 051* | TVRC | Sing Buri | Thailand |
| 4. VU 054* | TVRC | Chai Nat | Thailand |
| 5. VU 063* | TVRC | - | |
| 6. VU 136* | TVRC | Nonthaburi | Thailand |
| 7. VU 144* | TVRC | | Thailand |
| 8. VU 163* | TVRC | UP | Philippines |
| 9. VU 124* | TVRC | - | Thailand |
| 10. VU 135* (Rw#24) | TVRC | - | Thailand |
| 11. VU 146* (Ratchaburi) | TVRC | Ratchaburi | Thailand |
| 12. VU 162* | TVRC | Songkhla | Thailand |
| 13. VU 171* (Green arrow) | TVRC | Chiangmai | Thailand |
| 14. NR 001* (khao-hinson) | Royal project | Chachoengsao | Thailand |
| 15. NR 002* (Panomsarakam) | Royal project | Chachoengsao | Thailand |
| 16. NR 003* (Evergreen) | Local market | Songkhla | Thailand |
| 17. KU-20* | KU | Nakhon Pathom | Thailand |
| 18. NR 005* (Saipin) | Local market | Songkhla | Thailand |
| 19. NR 006* (Big-one) | Local market | Songkhla | Thailand |
| 20. NR 007* | Farmer | Chaiyaphum | Thailand |
| 21. SR00-0274* | TVRC | | |
| 22. Selected - PSU* | PSU | Songkhla | Thailand |
| 23. VU 189* | TVRC | - | China |
| 24. VU 174 | TVRC | - | Bangladesh |
| 25. VU 176 | TVRC | - | Bangladesh |
| 26. VU 173 | TVRC | - | Bangladesh |

**ตารางที่ 1. (ต่อ)**

| Accessions | Source | Original source | |
|---|---|---|---|
| 27. VU 178 | TVRC | - | Bangladesh |
| 28. VU 179 | TVRC | - | Bangladesh |
| 29. SR 00-379 | TVRC | - | Sri Lanka |
| 30. SR 00-379A | TVRC | - | Sri Lanka |
| 31. SR 00-863 | TVRC | - | Sri Lanka |
| 32. SR 00-1139 | TVRC | - | Sri Lanka |
| 33. SR 00-0402 | TVRC | - | Sri Lanka |
| 34. SR 99-334* | TVRC | - | Sri Lanka |
| 35. IT 82E-9 | Field Crops Research center, Ubon | - | Thailand |
| 36. IT 82E-16 | Field Crops Research center, Ubon | - | Thailand |
| 37. IT 84D-666 | Field Crops, Research center, Ubon | - | Thailand |

* yardlong bean accession, 1-Tropical Vegetable research center, Kasetsart university

**ตารางที่ 2.** การเจริญเติบโต ลักษณะสัณฐาน และคุณภาพในการบริโภคของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 37 สายพันธุ์

| accessions | growth habit | Day to 50% flowering | pod color | Consumed quality[2/] |
|---|---|---|---|---|
| 1 SR99-334* | Indeterminate | 41 | green- dark green | 4.0 |
| 2 VU 163* | Indeterminate | 40 | green | 4.5 |
| 3 VU 171* | Indeterminate | 37 | green-dark green | 4.5 |
| 4 VU 012* | Indeterminate | 37 | green | 3.0 |
| 5 VU 162* | Indeterminate | 40 | green | 4.0 |
| 6 VU 124* | Indeterminate | 42 | green | 3.0 |
| 7 VU 041-A* | Indeterminate | 40 | green | 4.0 |
| 8 Selected - PSU * | Indeterminate | 39 | green | 4.0 |
| 9 VU 146* | Indeterminate | 40 | green | 4.0 |
| 10 VU 135* | Indeterminate | 42 | green | 5.0 |
| 11 VU 144* | Indeterminate | 39 | blue-green | 1.0 |
| 12 NR 003* | Indeterminate | 38 | green | 4.5 |

**ตารางที่ 2. (ต่อ)**

| accessions | growth habit | Day to 50 % flowering | pod color | Consumed quality[2/] |
|---|---|---|---|---|
| 13 VU 136* | Indeterminate | 39 | green | 1.5 |
| 14 VU 051* | Indeterminate | 38 | dark green | 3.0 |
| 15 VU 054* | Indeterminate | 40 | green | 4.0 |
| 16 NR 005* | Indeterminate | 40 | green | 4.5 |
| 17 NR 006* | Indeterminate | 40 | dark green | 4.5 |
| 18 SR00-0402 | Determinate | 42 | blue-green | 1.5 |
| 19 SR00-863 | Semi-indeterminate | 38 | green | 2.0 |
| 20 VU 063* | Indeterminate | 39 | green | 2.0 |
| 21 KU 20* | Indeterminate | 40 | purple-red | 2.0 |
| 22 NR 002* | Indeterminate | 41 | green | 4.5 |
| 23 VU 176 | Determinate | 39 | light green | 2.0 |
| 24 VU 174 | Semi-indeterminate | 40 | light green | 1.0 |
| 25 VU 189* | Determinate | 35 | light green | 4.0 |
| 26 SR00-379A | Determinate | 39 | dark green | 2.0 |
| 27 NR 007* | Indeterminate | 41 | green | 4.5 |
| 28 VU 173 | Determinate | 39 | light green | 1.0 |
| 29 VU 178 | Determinate | 37 | light green | 1.5 |
| 30 IT 82E-9 | Determinate | 36 | dark green | 2.0 |
| 31 VU 179 | Determinate | 39 | light green | 1.5 |
| 32 IT 82E-16 | Determinate | 37 | dark green | 2.0 |
| 33 NR001* | Determinate | 39 | green | 4.0 |
| 34 SR00-1139 | Semi-indeterminate | 44 | grey-green | 1.5 |
| 35 IT 84D-666 | Determinate | 37 | dark green | 2.0 |
| 36 SR00-0274* | Indeterminate | 40 | green | 3.5 |
| 37 SR00-379 | Determinate | 39 | green | 1.5 |

Remark * yardlong bean accession

[2/] 1.0-5.0 score ; 5.0 = best, 1.0 = very poor

**ตารางที่ 3.** ผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิตของถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มจำนวน 37 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับพันธุ์คัด – มอ.

| Accessions | Pod length (cm.) | No. of pod per plant | Pod yield (g./plant) | Relative yield (%) |
|---|---|---|---|---|
| 1 SR99-334* | 53.6 | 24.1 | 360.6 | 155.0 |
| 2 VU 163* | 55.3 | 19.3 | 346.5 | 148.9 |
| 3 VU 171* | 48.7 | 17.1 | 306.9 | 131.9 |
| 4 VU 012* | 52.9 | 16.7 | 278.3 | 119.6 |
| 5 VU 162* | 58.3 | 14.7 | 260.5 | 112.0 |
| 6 VU 124* | 55.1 | 18.7 | 254.5 | 109.4 |
| 7 VU 041-A* | 44.1 | 15.0 | 238.2 | 102.4 |
| 8 Selected - PSU * | 57.1 | 15.0 | 232.6 | 100.0 |
| 9 VU 146* | 52.2 | 15.6 | 225.3 | 96.9 |
| 10 VU 135* | 50.4 | 12.6 | 223.7 | 96.2 |
| 11 VU 144* | 45.7 | 15.6 | 221.3 | 95.1 |
| 12 NR 003* | 56.7 | 13.5 | 218.9 | 94.1 |
| 13 VU 136* | 54.0 | 14.0 | 211.1 | 90.7 |
| 14 VU 051* | 44.4 | 11.2 | 207.2 | 89.1 |
| 15 VU 054* | 47.6 | 14.6 | 199.8 | 85.9 |
| 16 NR 005* | 50.1 | 14.4 | 199.4 | 85.7 |
| 17 NR 006* | 42.7 | 11.2 | 196.0 | 84.2 |
| 18 SR00-0402 | 39.8 | 14.8 | 195.3 | 83.9 |
| 19 SR00-863 | 23.6 | 24.5 | 176.9 | 76.0 |
| 20 VU 063* | 46.3 | 12.0 | 164.2 | 70.6 |
| 21 KU 20* | 44.1 | 12.2 | 154.8 | 66.5 |
| 22 NR 002* | 50.3 | 10.7 | 152.5 | 65.5 |
| 23 VU 176 | 18.5 | 38.3 | 152.4 | 65.5 |
| 24 VU 174 | 20.8 | 33.1 | 150.8 | 64.8 |
| 25 VU 189* | 34.9 | 13.6 | 145.8 | 62.7 |
| 26 SR00-379A | 17.8 | 25.3 | 139.5 | 60.0 |
| 27 NR 007* | 44.5 | 7.7 | 136.3 | 58.6 |

**ตารางที่ 3. (ต่อ)**

| Accessions | Pod length (cm.) | No. of pod per plant | Pod yield (g./plant) | Relative yield (%) |
|---|---|---|---|---|
| 28 VU 173 | 19.4 | 26.9 | 123.6 | 53.1 |
| 29 VU 178 | 17.2 | 31.2 | 112.4 | 48.3 |
| 30 IT 82E-9 | 15.5 | 21.1 | 104.0 | 44.7 |
| 31 VU 179 | 19.0 | 25.5 | 101.2 | 43.5 |
| 32 IT 82E-16 | 15.9 | 19.7 | 98.5 | 42.3 |
| 33 NR001* | 34.0 | 8.3 | 94.5 | 40.6 |
| 34 SR00-1139 | 37.7 | 6.3 | 76.5 | 32.9 |
| 35 IT 84D-666 | 16.3 | 13.5 | 66.3 | 28.5 |
| 36 SR00-0274* | 45.2 | 5.5 | 60.3 | 25.9 |
| 37 SR00-379 | 14.9 | 6.1 | 29.3 | 12.6 |
| F-test | ** | ** | ** | |
| $LSD_{.01}$ | 3.26 | 3.67 | 50.98 | |
| C.V. (%) | 3.16 | 8.27 | 10.77 | |

Remark * yardlong bean accession ** significant at 0.01 level

**2. การศึกษาพันธุกรรมของถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มโดยใช้เทคนิค RAPD**

ทำการเก็บตัวอย่างใบถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มจำนวน 36 สายพันธุ์ (ตัดออกหนึ่งสายพันธุ์เนื่องจากมีเมล็ดไม่เพียงพอ) นำมาสกัดดีเอ็นเอ โดยประยุกต์จากวิธีของ Doyle และ Doyle (1990) ใช้ใบสดจากแต่ละต้นจำนวนประมาณ 200 มิลลิกรัม บดใบพืชให้ละเอียดใน CTAB buffer (PVP-40, NaCl, EDTA 0.5 M pH 8.0, CTAB 2%) ร่วมกับ β-mercaptoethanol เข้มข้น 2% ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ในโกร่งให้ละเอียด จากนั้นใส่ในหลอดแอฟเพนดอร์ฟ เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมาทุก 10 นาที เติมคลอโรฟอร์ม 800 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเบาๆ ปั่นเหวี่ยงใช้ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอดแอฟเพนดอร์ฟใหม่ เติมไอโซโพรพานอล 750 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอธานอล ความเข้มข้น 70% ที่ผ่านการแช่เย็น จำนวน 3 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer 70 ไมโครลิตร [Tris-HCl (pH 7.5) 10 มิลลิโมลาร์ และ $Na_2EDTA$ (pH 7.0) 1 มิลลิโมลาร์] ที่อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม โดยเทคนิค PCR

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาใช้ในการคัดเลือกไพรเมอร์ในเบื้องต้น จำนวน 100 ไพรเมอร์ เพื่อหาความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ สภาพที่เหมาะสมในการทำพีซีอาร์จากปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ใช้ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ ดังนี้ ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 60 นาโนกรัม ไพรเมอร์เข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ เอ็นไซม์ *Taq* polymerase เข้มข้น 1.5 ยูนิต 10X *Taq* บัฟเฟอร์ 2 ไมโครลิตร $MgCl_2$ 2.5 มิลลิโมลาร์ dNTP เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตั้งอุณหภูมิเป็น 3 ระดับ คือ อุณหภูมิที่ใช้เริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ตามด้วยอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที 37 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวนทั้งสิ้น 41 รอบ และรอบสุดท้ายตามด้วย 72 องศาเซลเซียส อีก 5 นาที หลังทำพีซีอาร์ นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE อะกาโรส ที่มีความเข้มข้น 1.5% ละลายใน TBE บัฟเฟอร์ (Tris Base, Boric acid, $Na_2EDTA$ 0.5 M; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 60 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างน้ำ 10 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตร้าไวโอเลต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel documentation คัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณและให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างตัวแทนประชากรแต่ละกลุ่ม และแต่ละชนิด

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลจากแถบดีเอ็นเอที่ได้จากแต่ละตัวอย่าง แปลงข้อมูลแถบดีเอ็นเอเป็นข้อมูลแบบ binary โดยให้ตำแหน่งที่มีแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอให้ค่าเท่ากับ 0 คำนวณความสัมพันธุ์ของแถบดีเอ็นเอออกมาในรูป Similarity Index และสร้างเดนโดรแกรมจากการวิเคราะห์แบบ Cluster Analysis โดยวิธี UPGMA (Sneath and Sokal, 1973) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for Windows Version 11.0 ตามวิธีการของ Jaccard (1908) เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธุ์ระหว่างกลุ่มและภายในกลุ่มประชากร

**ผลการและวิจารณ์การทดลอง**

จากการทดสอบไพรเมอร์เบื้องต้นจำนวน 100 ไพรเมอร์ พบว่ามีไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนและให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างถั่วพุมและถั่วฝักยาวจำนวน 17 ไพรเมอร์คือ OPA-09, OPB-04, OPB-07, OPB-08, OPB-17, OPC-06, OPC-07, OPC-10, OPC-14, OPR-02, OPR-08, OPR-12, OPZ-03, OPZ-07, OPZ-08, OPZ-12 และ OPZ-13 หลังจากนั้นจึงทำการคัดเลือกอีกครั้งโดยเพิ่มจำนวนตัวอย่างพืชมากขึ้น สามารถเลือกไพรเมอร์ที่จะใช้ในการทดสอบครั้งนี้จำนวน 5 ไพรเมอร์ คือ OPC-06 OPR-12 OPZ-03 OPZ-08 และ OPZ-13 (ตารางที่ 4) ผลของจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่ได้จากการทดสอบถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม 36 สายพันธุ์จากการทดสอบกับ 5 ไพรเมอร์แสดงในตารางที่ 4 พบว่าให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมดจำนวน 38 แถบ เฉลี่ย 7.6 แถบ/ไพรเมอร์ เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (polymorphism) จำนวน 23 แถบเฉลี่ย 4.6 แถบ/ไพรเมอร์ ไพรเมอร์ OPZ-03 ให้จำนวน

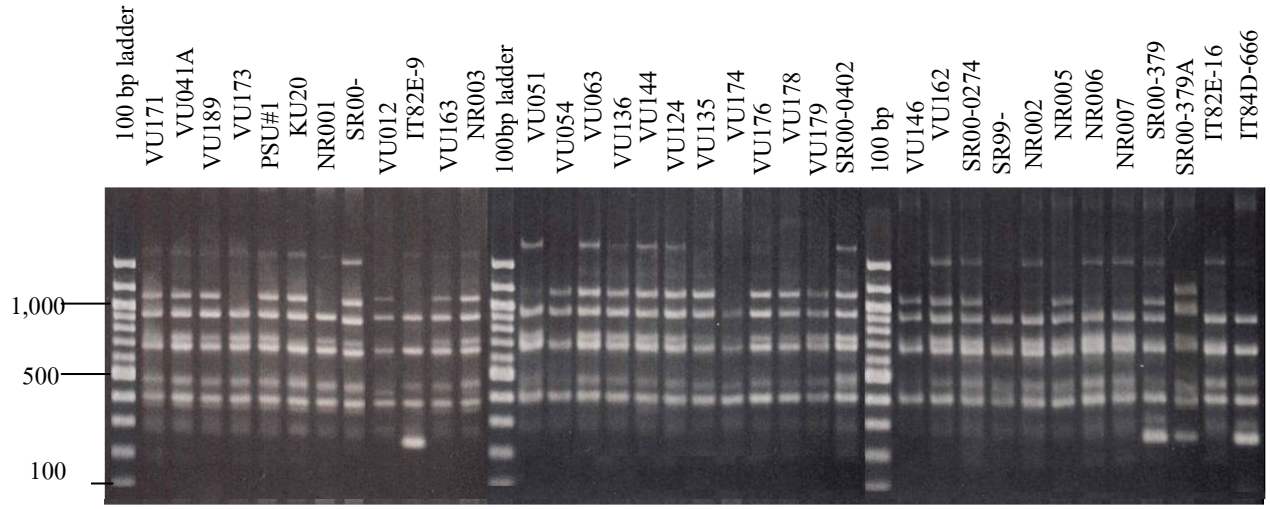
แถบดีเอ็นเอมากที่สุด (11 แถบ) ในจำนวนนี้ 7 แถบเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน (รูปที่ 2) ขนาดของแถบดีเอ็นเออยู่ระหว่าง 225 - 1650 bp (ตารางที่ 4 และรูปที่ 2 – 6) จากการศึกษาของ Pooprompun และคณะ (1996) ที่ศึกษาพันธุ์ถั่วฝักยาวโดยใช้เทคนิค RAPD พบว่าแถบดีเอ็นเอที่ได้มีขนาด 500 - 2200 bp ในขณะที่ Phansak และคณะ (2001) ใช้วิธีเดียวกันในการทดสอบพันธุกรรมของถั่วฝักยาว 5 สายพันธุ์กับไพรเมอร์จำนวน 8 ชนิด ให้ขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเออยู่ในช่วงประมาณ 940 - 1100 bp ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนของไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษารวมไปถึงจำนวนพันธุ์พืชที่ทำการทดสอบด้วย อย่างไรก็ตามรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ค่อนข้างใกล้เคียงกัน แสดงว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของกลุ่มพืชค่อนข้างน้อย

เมื่อพิจารณาความใกล้ชิดทางพันธุกรรม (genetic relatedness) ของกลุ่มถั่วพุ่มและถั่วฝักยาวที่ทำการทดสอบ โดยพิจารณารูปแบบของเดนโดรแกรมที่ได้เมื่อเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันจำนวน 23 แถบ สามารถแยกกลุ่มถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มออกจากกันเมื่อใช้ไพรเมอร์จำนวน 5 ไพรเมอร์ (รูปที่ 7 ) อย่างไรก็ตามหากอาศัยลักษณะฝักเป็นเกณฑ์เพียงอย่างเดียว พันธุ์ VU 189 และ NR 001 น่าจะอยู่ในกลุ่มถั่วฝักยาว แต่ลักษณะการเจริญเติบโตจะค่อนไปทางถั่วพุ่ม คือไม่ต้องขึ้นค้าง ซึ่งผลจากเดนโดรแกรมพบว่าทั้งสองสายพันธุ์อยู่ในกลุ่มถั่วพุ่ม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสองพันธุ์ดังกล่าว เป็นพันธุ์ที่ถูกพัฒนามาจากการผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มนั่นเอง แสดงให้เห็นว่าลักษณะการเจริญเติบโต (เป็นพุ่มหรือขึ้นค้าง) มีความสัมพันธุ์โดยตรงกับความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในกลุ่ม *V. unguiculata* แต่การศึกษาครั้งนี้ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะเจาะจงกับกลุ่มถั่วฝักยาวหรือถั่วพุ่ม Nkongolo และคณะ (2003) ศึกษาความสัมพันธุ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างถั่วพุ่ม (Malawian cowpea) 38 สายพันธุ์ และรายงานผลในทำนองเดียวกันว่า ลักษณะการเจริญของลำต้นมีผลต่อการจำแนกกลุ่มความสัมพันธุ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมในพืชชนิดนี้ เช่นเดียวกับรายงานการทดลองในถั่วพุ่ม 7 สายพันธุ์ในประเทศ Senegal (Laity *et al*., 2003) นอกจากนี้ยังพบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมในกลุ่มถั่วฝักยาวมีมากกว่าในถั่วพุ่มเล็กน้อย โดยพบว่าค่า Similarity coefficient ในกลุ่มถั่วฝักยาวมีค่า 0.515 ถึง 1.000 ส่วนในกลุ่มถั่วพุ่มมีค่า 0.548 ถึง 1.000 โดยพบว่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมไม่ได้ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของสภาพภูมิประเทศที่เป็นแหล่งที่มาของสายพันธุ์ ยกเว้นสายพันธุ์จากประเทศบังคลาเทศ (VU173, 174, 176, 178 และ 179) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้มาจากคู่ผสมเดียวกัน ทั้ง 5 สายพันธุ์ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันโดยมีค่า similarity coefficient มากกว่า 0.7 Phansak และคณะ (2005) ศึกษาความสัมพันธุ์ระหว่างถั่วฝักยาว 15 สายพันธุ์จากประเทศไทย บังคลาเทศ สาธารณรัฐประชาชนจีน ลาว ฟิลิปปินส์ และไต้หวันโดยใช้ STMS (sequence tagged microsatellite site) และรายงานค่า similarity coefficient อยู่ระหว่าง 0.50 - 1.00 ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มระหว่างสายพันธุ์เหล่านี้ได้เป็น 3 กลุ่ม และรายงานว่าความใกล้ชิดทางพันธุกรรมไม่มีความสัมพันธุ์กับแหล่งที่มาของตัวอย่างพืชที่นำมศึกษาเช่นกัน

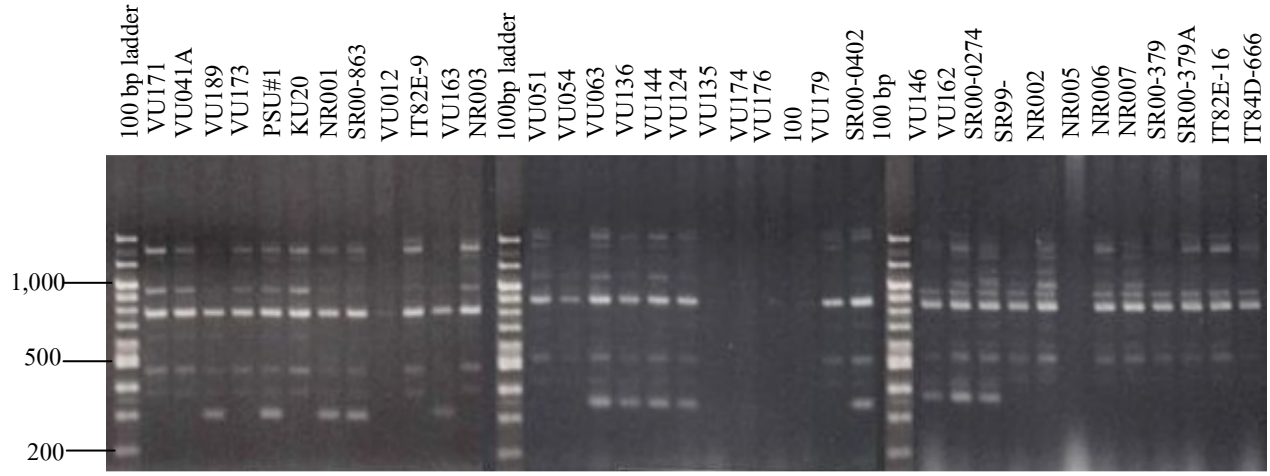
ระหว่างถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มจำนวน 36 สายพันธุ์ที่ทำการศึกษา พบว่าสายพันธุ์ VU176 (ถั่วพุ่ม) และ SR99-334 (ถั่วฝักยาว) มีความห่างไกลทางพันธุกรรมมากที่สุดคือมีค่า similarity coefficient เท่ากับ 0.484 ในขณะที่ IT82E-9 กับIT82E-16, NR002 กับ NR007 และ VU063 กับ VU136 มีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอเหมือนกัน แสดงว่าทั้งสามคู่พันธุ์มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูงมาก อาจเป็นไปได้แต่ละคู่เป็นพันธุ์เดียวกัน แต่เรียกชื่อต่างกันเช่น คู่ NR002 กับ NR007 ที่เมล็ดได้จากการซื้อในตลาดท้องถิ่นที่ไม่มีการระบุพันธุ์ ส่วนอีก 2 คู่พันธุ์ ตามประวัติ ได้มาจากคู่ผสมเดียวกันจึงมีความใกล้ชิดกันมาก อย่างไรก็ตามจำนวนไพรเมอร์เพียง 5 ไพรเมอร์อาจน้อยเกินไปที่จะสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากๆ จากผลการทดลองของ Phansak และคณะ (2005) ที่ใช้เทคนิค STMS ในการศึกษาพันธุกรรมถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มพบว่า พันธุ์ VU173 และ VU 174 ให้แถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันทั้งหมดทุกไพรเมอร์ แต่จากผลการทดลองที่ใช้ RAPD ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสามารถแยกความแตกต่างของพันธุ์ทั้งสองได้ โดยมีค่า similarity coefficient เท่ากับ 0.79.

**ตารางที่ 4.** จำนวนแถบดีเอ็นเอ แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน และขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้เทคนิค RAPD เมื่อทดสอบกับถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม 36 สายพันธุ์

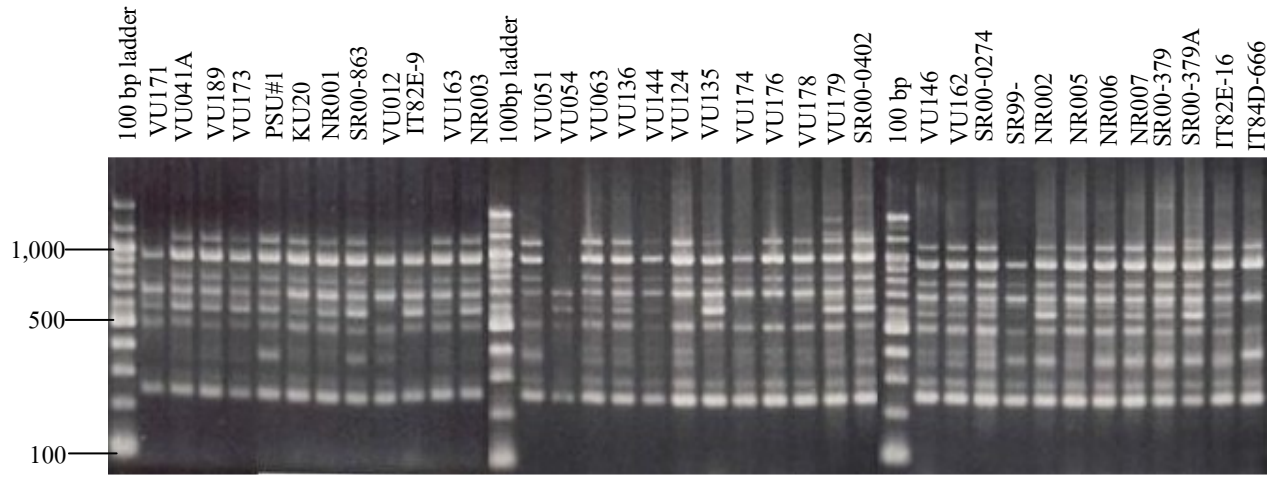
| Primer ID | Primer sequence | Total fragment | Polymorphic fragment | Range of fragment size (bp) |
|---|---|---|---|---|
| OPC-06 | GAACGGACTC | 8 | 4 | 275-1,350 |
| OPR-12 | ACAGGTGCGT | 5 | 3 | 675-1,200 |
| OPZ-03 | CAGCACCGCA | 11 | 7 | 225-1,175 |
| OPZ-08 | GGGTGGGTAA | 7 | 5 | 350-1,500 |
| OPZ-13 | GACTAAGCCC | 7 | 4 | 250-1,650 |
| Total | - | 38 | 23 | 225-1,650 |



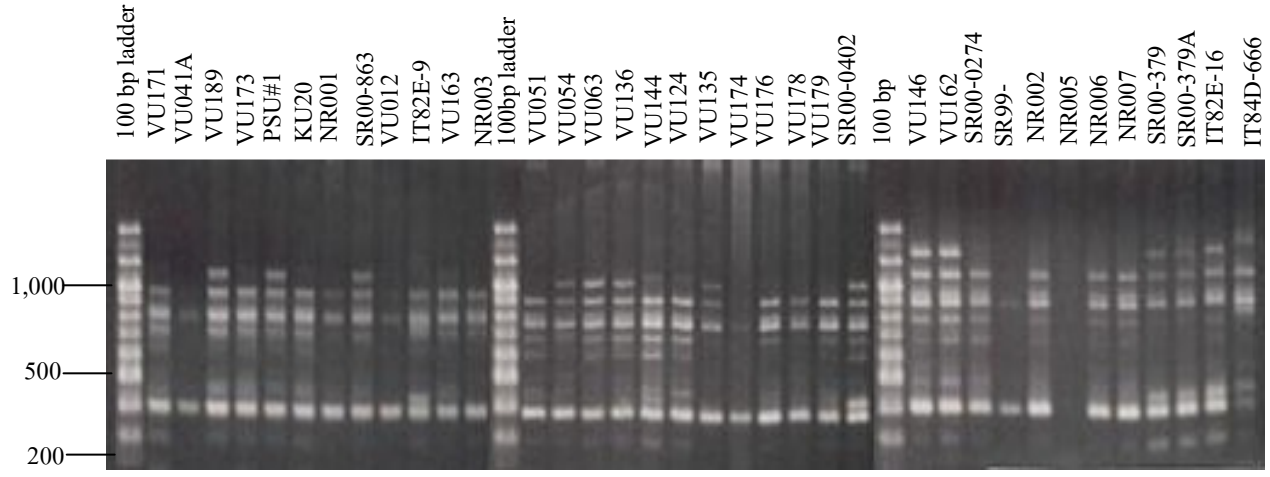

**รูปที่ 1.** รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้เทคนิค RAPD ของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 36 สายพันธุ์ จากไพรเมอร์ OPZ 03



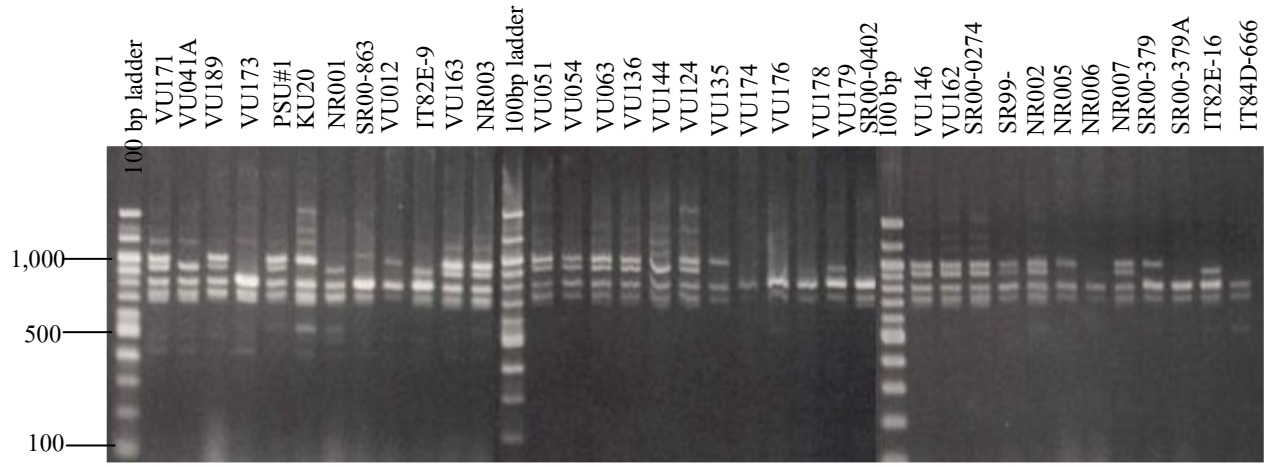

**รูปที่ 2**. รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้เทคนิค RAPD ของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 36 สายพันธุ์ จากไพรเมอร์ OPC 06



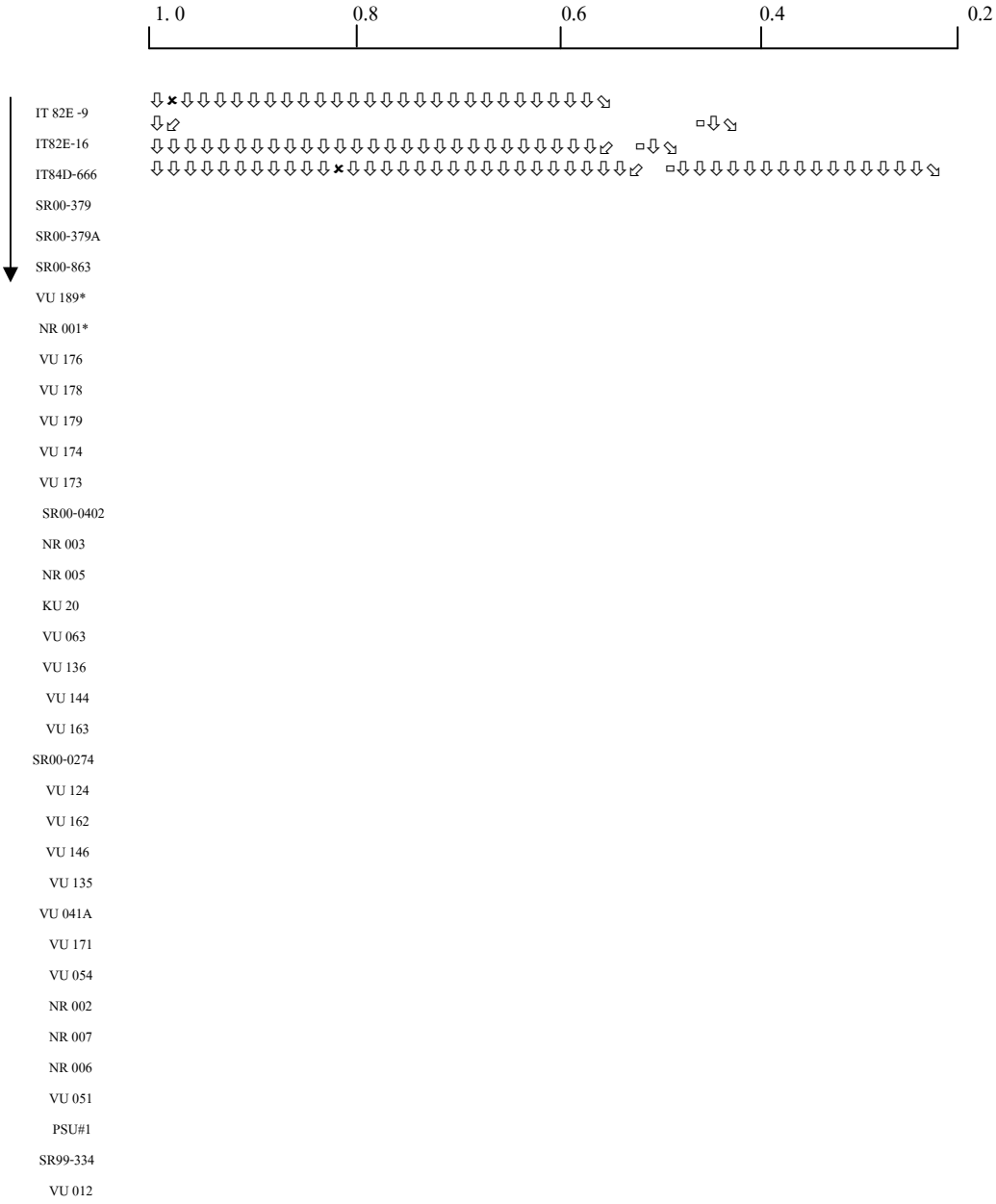

**รูปที่ 3.** รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้เทคนิค RAPD ของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 36 สายพันธุ์ จากไพรเมอร์ OPZ 03

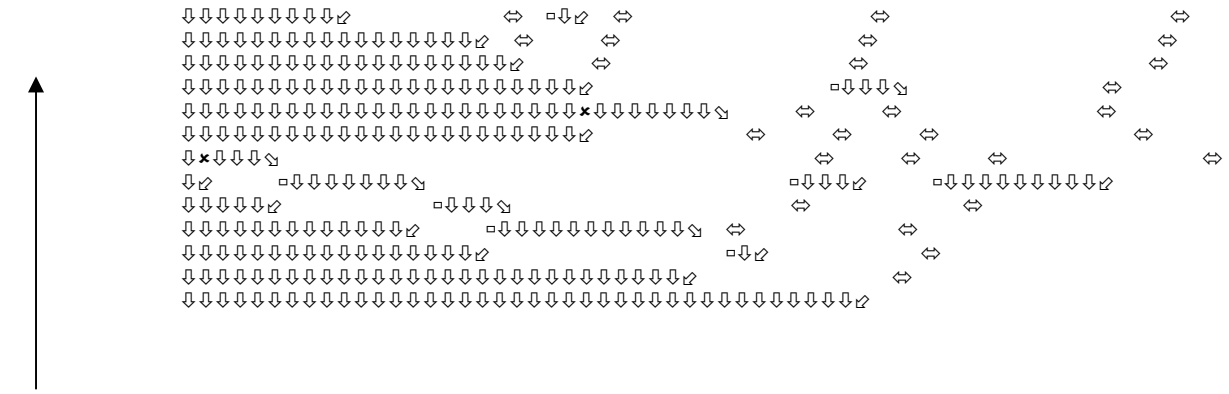



**รูปที่ 4**. รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้เทคนิค RAPD ของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 36 สายพันธุ์ จากไพรเมอร์ OPZ 08




**รูปที่ 5**. รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการใช้เทคนิค RAPD ของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว 36 สายพันธุ์ จากไพรเมอร์ OPR 12


1. 0
0.8
0.6
0.4
0.2
IT 82E -9
IT82E-16
IT84D-666
SR00-379
SR00-379A
SR00-863
VU 189*
NR 001*
VU 176
VU 178
VU 179
VU 174
VU 173
SR00-0402
NR 003
NR 005
KU 20
VU 063
VU 136
VU 144
VU 163
SR00-0274
VU 124
VU 162
VU 146
VU 135
VU 041A
VU 171
VU 054
NR 002
NR 007
NR 006
VU 051
PSU#1
SR99-334
VU 012
Cowpea
Yardlong bean



**รูปที่ 6.** เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธุ์ใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม 36 สายพันธุ์ วิเคราะห์จากแถบดีเอ็นเอของเทคนิค RAPD โดยใช้ โปรแกรม UPGMA

**3. การทดสอบความต้านทานเพลี้ยอ่อนในถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว**

จากจำนวน 36 สายพันธุ์ในเบื้องต้น หลายสายพันธุ์มีข้อจำกัด จึงเลือกมาเพียง 24 สายพันธุ์ เพื่อศึกษาการต้านทานแมลง (พันธุ์ที่ใช้บางพันธุ์ตัดออก และมีการเพิ่มบางสายพันธุ์เข้ามาใหม่) ประกอบด้วยถั่วฝักยาว 20 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ VU012 VU041-A VU063 VU124 VU144 RW#24 SR00 - 863 SR01 -0 402 พนมสารคาม มก.20 เทพสถิตย์ ราชบุรี ถั่วฝักยาวพุ่มเขาหินซ้อน ถั่วเนื้อบิกวัน สายทอง สุรนารี1 สายธาร สายพิน เอเวอร์กรีน และ คัด - มอ.(พันธุ์เปรียบเทียบ) เมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่ม 4 สายพันธุ์คือ พันธุ์ IT84D-666 IT82E-9 IT82E-16 VU176

การทดสอบในแปลงปลูกทดสอบถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มทั้ง 24 สายพันธุ์ในแปลงทดลอง ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยใช้ระยะปลูก 50 X 75 เซนติเมตร ปลูกเป็นแถวคู่ แปลงทดลองขนาด 1 X 5 เมตร วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) จำนวน 3 ซ้ำ หลังจากเมล็ดงอก ประมาณ 10วัน ถอนแยกต้นที่ไม่ต้องการทิ้งให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ปักค้างเมื่ออายุ 14 วัน สำหรับการดูแลรักษาใส่ปุ๋ยสูตร 15 – 15 - 15 และกำจัดวัชพืชทุกๆ 3 สัปดาห์ ศึกษาและเก็บข้อมูลต่างๆ เช่น วันออกดอก ความยาวฝัก จำนวนฝักต่อต้น และการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน โดยให้คะแนนการเข้าทำลาย 5 ระดับ (Ortman and Peter, 1980) คือ

ระดับ 0 หมายถึง บริเวณใบและยอดถูกเพลี้ยอ่อนทำลาย <10 %

ระดับ 1 หมายถึง บริเวณใบและยอดถูกเพลี้ยอ่อนทำลาย 10 – 25 %

ระดับ 2 หมายถึง บริเวณใบและยอดถูกเพลี้ยอ่อนทำลาย 26 – 50 %

ระดับ 3 หมายถึง บริเวณใบและยอดถูกเพลี้ยอ่อนทำลาย 51 – 75 %

ระดับ 4 หมายถึง บริเวณใบและยอดถูกเพลี้ยอ่อนทำลาย > 75 %

บันทึกจำนวนต้นถั่วที่ถูกเพลี้ยอ่อนเข้าทำลาย เพื่อนำข้อมูลมาคำนวณหาระดับความรุนแรงเฉลี่ย และศึกษาลักษณะการต้านทานเพลี้ยอ่อนของสายพันธุ์ต่างๆเพื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์คัดมอ.ที่เป็นพันธุ์ควบคุม โดยคำนวณระดับความรุนแรงจากสูตร

$$\text{ระดับความรุนแรง} = \frac{\text{ระดับคะแนนเฉลี่ยที่ประเมินจากสายตา X จำนวนต้นที่เพลี้ยอ่อนทำลาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}}$$

หลังจากนั้นประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนจากระดับคะแนนความรุนแรง ดังนี้

ระดับความรุนแรง 0 = ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน

ระดับความรุนแรง <1 = ทนทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน

ระดับความรุนแรง 1-1.9 = ค่อนข้างทนทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน

ระดับความรุนแรง 2-2.9 = ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน

ระดับความรุนแรง >2.9-4 = อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน

การทดสอบในโรงเรือนตาข่าย ทดสอบการต้านทานเพลี้ยอ่อนในเรือนตาข่ายเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองกับการประเมินในแปลงปลูกตามสภาพธรรมชาติ โดยการนำพันธุ์ถั่วพุ่มและถั่วฝักยาวทั้ง 24 สายพันธุ์ที่ปลูกทดสอบในแปลงมาปลูกในกระถางภายในเรือนตาข่าย โดยปลูกในกระถางๆ ละ 3 ต้น จำนวน 3 ซ้ำ เมื่อต้นกล้าอายุ 1 สัปดาห์ ถอนต้นที่ไม่ต้องการทิ้งให้เหลือกระถางละ 1 ต้น ใส่ปุ๋ยสูตร 15 – 15 – 15 ทุกๆ 2 สัปดาห์ ทำการปล่อยเพลี้ยอ่อนที่เลี้ยงไว้และมีขนาดโตเต็มที่จำนวน 5 ตัวต่อต้นบริเวณใบประกอบคู่ที่ 2 นับจากยอด (Annan *et al*, 1995) โดยปล่อยเพลี้ยอ่อนเมื่อต้นถั่วมีอายุ 21 วัน หลังจากนั้นบันทึกปริมาณเพลี้ยอ่อนที่เพิ่มทุกๆ 5 วัน และเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายทุก ๆ สัปดาห์ การนับจำนวนเพลี้ยอ่อนนั้นทำได้โดยการนับจำนวนเพลี้ยอ่อนทุกตัว บริเวณใบ ลำต้น และยอด ส่วนเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายนั้น ให้คะแนนเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายตั้งแต่ 0 – 4 ตามวิธีของ Ortman and Peter (1980) ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

**ผลและวิจารณ์การทดลอง**

จากการปลูกทดสอบเพื่อประเมินการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนในแปลง พบว่าแต่ละพันธุ์จะถูกเพลี้ยอ่อนเข้าทำลายแตกต่างกันโดย พันธุ์ SR00 - 863 จะมีระดับความรุนแรงของเพลี้ยอ่อนเฉลี่ยน้อยที่สุดเพียง 0.33 ตามด้วยพันธุ์ IT82E - 16 สุรนารี 1 และถั่วฝักยาวพุ่มเขาหินซ้อน มีระดับการทำลาย 0.40, 0.54 และ 0.61 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) สำหรับพันธุ์ที่มีความรุนแรงของการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนมากที่สุดคือ พันธุ์ มก.20รองลงมาคือพันธุ์คัดมอ. ซึ่งมีคะแนนการเข้าทำลาย 2.97 และ 2.95

ตามลำดับ ส่วนพันธุ์อื่นๆ มีการเข้าทำลายแตกต่างกันออกไป เช่น พันธุ์ VU176 IT82E - 9 พนมสารคาม และราชบุรี มีระดับความรุนแรงอยู่ระหว่าง 1 - 1.9 ขณะที่ถั่วพุ่มและถั่วฝักยาวอีก 14 สายพันธุ์มีระดับความรุนแรงอยู่ระหว่าง 2 - 2.9 ส่วนลักษณะผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิตพบว่าพันธุ์ $SR_{00}$ - 863 ให้ผลผลิตสูงสุด 282 กรัมต่อต้น ให้จำนวนฝักต่อต้น 33 ฝักต่อต้น แต่ความยาวฝักค่อนข้างสั้นซึ่งเป็นลักษณะประจำพันธุ์ (ตารางที่ 6)

**ตารางที่ 5**. ระดับคะแนนการต้านทานเพลี้ยอ่อน ภายใต้สภาพแปลงปลูกของถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์

| **Cultivars** | **Score of field evaluation** | **No. of total plants.** | **No. plants infected aphid.** | **Score of resistance on aphid.** |
|---|---|---|---|---|
| IT84D - 666 | 3.00 | 50 | 32 | 1.92 |
| IT82E - 16 | 1.67 | 59 | 14 | 0.40 |
| Suranaree 1 | 2.33 | 60 | 14 | 0.54 |
| VU176 | 2.33 | 57 | 38 | 1.56 |
| IT82E - 9 | 3.00 | 57 | 30 | 1.58 |
| RW#24 | 3.00 | 55 | 36 | 1.96 |
| SR00-863 | 1.33 | 60 | 15 | 0.33 |
| Saipin | 3.67 | 54 | 37 | 2.51 |
| Saithan | 3.33 | 57 | 35 | 2.05 |
| Evergreen | 3.00 | 50 | 34 | 2.04 |
| VU012 | 3.33 | 52 | 32 | 2.05 |
| Panomsarakam | 3.00 | 56 | 32 | 1.71 |
| Saithong | 3.33 | 54 | 34 | 2.10 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| VU041 - A | 3.00 | 48 | 35 | 2.19 |
| VU124 | 3.33 | 51 | 32 | 2.09 |
| Thepsatid | 3.00 | 52 | 35 | 2.02 |
| VU144 | 3.33 | 54 | 38 | 2.35 |
| KU.20 | 3.67 | 58 | 47 | 2.97 |
| Rajchaburee | 3.00 | 58 | 34 | 1.76 |
| Khao - hinson | 2.00 | 59 | 18 | 0.61 |
| Selected - PSU | 3.67 | 56 | 45 | 2.95 |
| VU063 | 3.33 | 55 | 35 | 2.12 |
| Big - one | 3.33 | 52 | 33 | 2.12 |
| SR01 - 0402 | 3.00 | 48 | 37 | 2.31 |

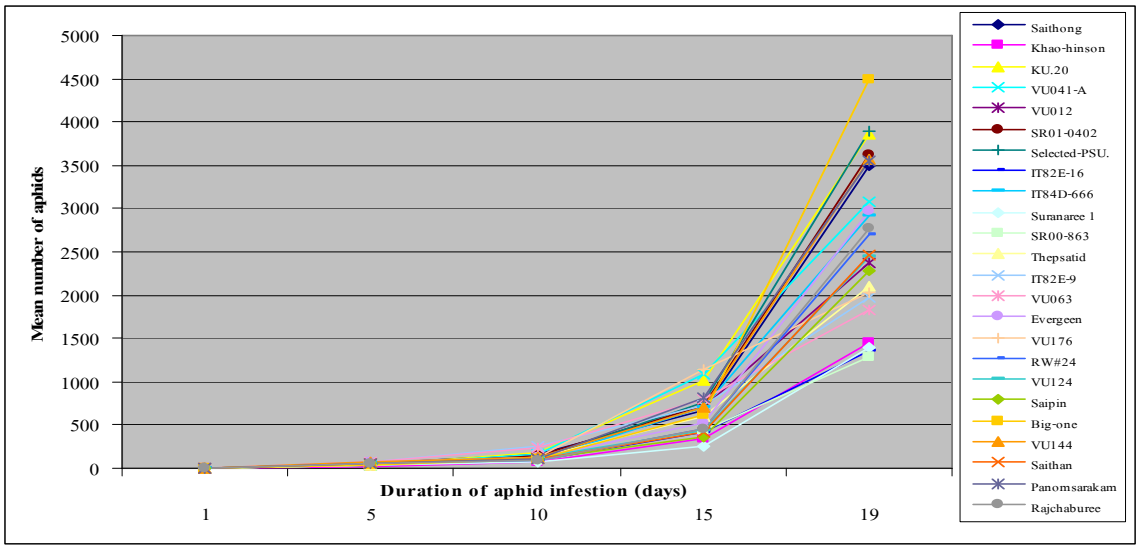
**ตารางที่ 6.** ผลผลิตและลักษณะสำคัญบางประการของสายพันธุ์ถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม24 สายพันธุ์.

| **Cultivars** | **Characters** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Yield / plant (gram)** | **Days to flower (DAP)** | **Pod length (cm)** | **Pod number / plant** |
| IT84D - 666 | 143.83bcdef[1/] | 31.7h | 14.213l | 19.79c |
| IT82E - 16 | 146.21bcdef | 42.34abcd | 14.953l | 27.71b |
| Suranaree 1 | 52.79i | 36.87f | 27.857jk | 6.67efgh |
| VU176 | 67.08hi | 38.86ef | 16.153l | 17.04c |
| IT82E - 9 | 127.58cdefgh | 34.02g | 14.113l | 24.04b |
| RW#24 | 116.04defgh | 43.31abc | 51.167b | 7.08efgh |
| $SR_{00}$ - 863 | 282.17a | 41.88abcd | 24.983k | 33.09a |
| Saipin | 141.75bcdefg | 43.09abcd | 45.780cd | 8.42defgh |
| Saithan | 170.88bcd | 41.08cd | 43.357cdef | 9.08defg |
| Evergreen | 102.88fghi | 41.01cd | 48.22bc | 6.08fgh |
| VU012 | 97.33fghi | 43.46ab | 47.84bc | 6.42efgh |
| Panomsarakam | 167.50bcd | 43.53ab | 44.837cde | 10.21def |
| Saithong | 80.17ghi | 42.36abcd | 41.593def | 4.00h |

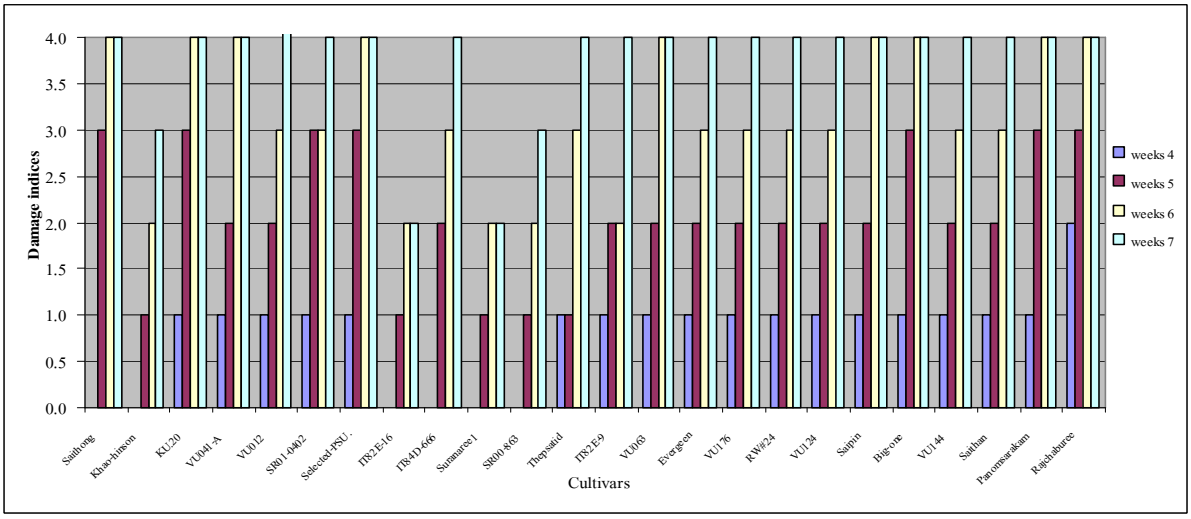
| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| VU041 - A | 186.63bc | 42.19abcd | 36.18ghi | 10.71def |
| VU124 | 105.54efghi | 44.04a | 44.58cde | 8.38defgh |
| Thepsatid | 117.13defgh | 42.77abcd | 40.307efg | 5.00gh |
| VU144 | 175.42bcd | 41.54bcd | 39.527fg | 11.33de |
| KU.20 | 197.71b | 40.82de | 33.87hi | 12.67d |
| Rajchaburee | 166.50bcde | 40.90de | 51.083b | 10.83def |
| Khao - hinson | 78.83hi | 34.18g | 33.257hi | 6.17fgh |
| Selected - PSU | 123.83defgh | 43.09abcd | 56.29a | 8.21defgh |
| VU063 | 76.50hi | 41.49bcd | 33.443hi | 6.63efgh |
| Big - one | 87.75fghi | 42.30abcd | 36.467gh | 5.13gh |
| SR01 - 0402 | 48.42i | 43.29abc | 31.27ij | 4.96gh |
| C.V .(%) | 25.05 | 2.96 | 7.63 | 22.84 |

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยวิธี DMRT

จากการทดลองในโรงเรือนตาข่าย พบว่าหลังจากมีการปล่อยเพลี้ยอ่อนจำนวน 5 ตัวต่อต้น ปริมาณเพลี้ยอ่อนจะเพิ่มขึ้นในทุกสายพันธุ์แต่จำนวนมากน้อยแตกต่างกัน โดยจำนวนเพลี้ยอ่อนที่เพิ่มขึ้นในช่วงแรก 1 - 10 วันหลังจากปล่อยเพลี้ยอ่อนนั้นจะไม่มีความแตกต่างกันมากนัก แต่เมื่อผ่านไป 19 วัน จะเริ่มพบความแตกต่างมากขึ้น (รูปที่ 7) โดยพบว่าหลังปล่อยเพลี้ยอ่อน 19 วัน พันธุ์ $SR_{00}$ - 863 มีจำนวนเพลี้ยอ่อนบนต้นน้อยที่สุด 1,283 ตัวต่อต้น รองลงมาคือ พันธุ์ IT82E - 16 พันธุ์สุรนารี 1 และพันธุ์ถั่วฝักยาวพุ่มเขาหินซ้อน มีจำนวนเพลี้ยอ่อน 1,350 1,400 และ1,450 ตัวต่อต้นตามลำดับ ขณะที่พันธุ์คัด-มอ. มีจำนวนเพลี้ยอ่อนมากถึง 3,900 ตัวต่อต้น และพันธุ์ Big - one เป็นพันธุ์ที่พบเพลี้ยอ่อนจำนวนมากที่สุดคือ 4,500 ตัวต่อต้น ส่วนพันธุ์อื่นๆ มีปริมาณเพลี้ยอ่อนแตกต่างกันระหว่าง 2000-4000 ตัวต่อต้น และเมื่อศึกษาคะแนนของเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนทุกๆสัปดาห์ พบว่าข้อมูลจะมีความสัมพันธุ์กับจำนวนเพลี้ยอ่อน คือคะแนนการทำลายของเพลี้ยอ่อน เพิ่มขึ้นจาก 0 คะแนน (0 % ก่อนปล่อยเพลี้ยอ่อน) จนมีคะแนนสูงสุดที่ 4 คะแนน (เข้าใกล้ 100 %) ในสัปดาห์ที่ 7 ของการปลูก ไม่ว่าจะเป็น พันธุ์สายทอง พันธุ์คัด - มอ. หรืออีก 16 สายพันธุ์ ส่วนสายพันธุ์ที่มีลักษณะทนทานต่อการทำลายของเพลี้ยอ่อนจะมีคะแนนการเข้าทำลายน้อยกว่า เช่นพันธุ์ IT82E16 และ สุรนารี 1 เมื่อผ่านไป 7 สัปดาห์หลังจากปลูกจะมีคะแนนการทำลายเพียง 2 คะแนน รองลงมาคือพันธุ์ $SR_{00}$ - 863 และ เขาหินซ้อน ตามลำดับ (รูปที่ 8) ลักษณะการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนของต้นถั่วพุ่มและถั่วฝักยาวภายใต้สภาพโรงเรือนตาข่ายดังแสดงในรูปที่ 9




**รูปที่ 7**. จำนวนประชากรของเพลี้ยอ่อน (*Aphis craccivora* Koch) บนต้นถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์




**รูปที่ 8**. เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนบนต้นถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม

จากการทดลองประเมินการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนในถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มในแปลงทดลอง สามารถแบ่งกลุ่มถั่วออกเป็น 4 กลุ่มด้วยกัน คือ กลุ่มที่ 1 ทนทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนประกอบด้วยพันธุ์ $SR_{00}$ - 863 IT82E - 16 สุรนารี 1 และ ถั่วฝักยาวพุ่มเขาหินซ้อน กลุ่มที่ 2 มี 4 สายพันธุ์ที่ค่อนข้างทนทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนประกอบด้วยพันธุ์ VU176 IT82E - 9 พนม

สารคาม และราชบุรี กลุ่มที่ 3 มี 14 สายพันธุ์ที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน ประกอบด้วย พันธุ์ VU012 VU041 - A VU063 VU124 VU144 RW#24 SR01 - 0402 เทพสถิตย์ IT84D - 666 ถั่วเนื้อ Big - one สายทอง สายธาร สายพิน และเอเวอร์กรีน กลุ่มที่ 4 อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนประกอบได้ด้วยสายพันธุ์ มก.20 และ คัด - มอ. พันธุ์ IT84D - 666 ซึ่งเป็นพันธุ์พุ่มใช้เวลาในการออกดอกเร็วที่สุดเพียง 32 วัน และถั่วฝักยาวพันธุ์ VU124 ออกดอกช้าที่สุดคือ 44 วัน อย่างไรก็ตาม การประเมินการต้านทานครั้งนี้เป็นการทดลองในสภาพธรรมชาติ โดยไม่มีการปล่อยเพลี้ยอ่อนเข้าทำลาย ดังนั้นถ้าเป็นฤดูปลูกที่ไม่อยู่ในช่วงการระบาดของแมลงอาจทำให้ผลการประเมินคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริงได้ (Oghiakhe and Odulaja, 1993) Salifu และคณะ(1988a) รายงานเพิ่มเติมว่าการปลูกพืชเพื่อคัดเลือกให้ต้านทานต่อเพลี้ยไฟหรือแมลงอื่นต้องมีการปลูกในช่วงที่มีการระบาดหรือทดสอบในสภาวะจำเพาะ ไม่เช่นนั้นอาจจะได้พันธุ์พืชที่ไม่มีความต้านทานแท้จริง สุนทรีย์และคณะ(2547) ยังกล่าวเสริมว่าการประเมินการทดลองที่เกี่ยวกับแมลงหรือโรคนั้นจะต้องขึ้นอยู่กับมาตรฐานและความชำนาญของผู้ประเมินด้วย ดังนั้นจำเป็นต้องมีการยืนยันผลอีกครั้ง โดยนำเมล็ดมาปลูกในเรือนตาข่าย พบว่าถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มที่ปลูกนั้นสามารถ แบ่งออกเป็นสองกลุ่ม ซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองในแปลงปลูก คือกลุ่มที่มีลักษณะทนทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนได้แก่ $SR_{00}$ - 863 IT82E -16 สุรนารี 1 และ ถั่วฝักยาวพุ่มเขาหินซ้อน และกลุ่มที่อ่อนแอได้แก่ VU176 IT82E - 9 VU012 VU041 - A VU063 VU124 VU144 RW#24 SR01 - 0402 IT84D - 666 พนมสารคาม ราชบุรี เทพสถิตย์ ถั่วเนื้อ Big - one สายทอง สายธาร สายพิน เอเวอร์กรีน มก.20 และ คัด - มอ. โดยพบว่าการทดลองครั้งนี้ไม่มีถั่วฝักยาวหรือถั่วพุ่มสายพันธุ์ใดต้านทานต่อเพลี้ยอ่อนได้ทั้งหมด (100%) ซึ่งผลการทดลองนี้ให้ผลในทำนองเดียวกับการทดลองของ Salifu และคณะ (1988b) ที่เปรียบเทียบระยะเวลาในการพัฒนาของเพลี้ยไฟที่เข้าทำลายในถั่วพุ่มสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่ต้านทาน และกลุ่มที่อ่อนแอ พบว่าถั่วพุ่มสายพันธุ์ต้านทาน เพลี้ยไฟจะใช้ระยะเวลาในการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์ที่อ่อนแอ แต่ก็ไม่มีถั่วพุ่มสายพันธุ์ใดที่ต้านทานอย่างสมบูรณ์เช่นกัน

(ก) (ข)

(ค) (ง)

**รูปที่ 9.** ลักษณะการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนบนต้นถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มพันธุ์ SR000-863 (ก) IT825E-16 (ข) มก. 20 (ค) และพันธุ์คัด – มอ. (ง)

**รูปที่ 10** ลักษณะการเพิ่มจำนวนประชากรเพลี้ยอ่อนบนต้นถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มบริเวณลำต้น และฝักหลังมีการปล่อยเพลี้ยเป็นเวลา 3 สัปดาห์

**4. การผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. กับสายพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน 4 สายพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์**

จากการทดสอบการต้านทานแมลงทำการคัดเลือกพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทานแมลง 4 สายพันธุ์คือ $SR_{00}$ - 863 IT82E - 16 สุรนารี 1 และ ถั่วฝักยาวพุ่มเขาหินซ้อน ผสมข้ามกับพันธุ์คัด – มอ. ที่เป็นพันธุ์ทีมีคุณภาพการบริโภคสูง แต่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน สร้างลูกผสมชั่วที่1 จากแต่ละคู่ผสม ทำการทดสอบการเพิ่มประชากรของเพลี้ยอ่อน โดยปลูกต้น F1 พันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ภายใต้สภาพมุ้งตาข่าย เมื่อปลูกถั่วไปได้ประมาณ 3 สัปดาห์ ตรวจสอบจำนวนการเพิ่มของประชากรเพลี้ยอ่อนที่ระยะเวลาต่างๆ กัน คือ 1 2 3 และ 4 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน หลังจากนั้นทำการผสมตัวเองลูกชั่วที่ 1 เพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 2 และทำการคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะดี ผลผลิตสูง และต้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน วิธีคัดเลือกในเบื้องต้นทำโดยวิธี หนึ่งเมล็ดต่อต้น เพื่อให้ประชากรที่คัดเลือกเข้าสู่ความเป็นโฮโมไซกัสก่อน แล้วจึงคัดเลือกต่อแบบบันทึกประวัติต่อไป

**ผลการทดลอง**

การผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ประสบความสำเร็จ ได้เมล็ดพันธุ์ F1 พอสมควรเมื่อใช้พันธุ์คัด – มอ. เป็นต้นแม่ ซึ่งให้ผลคล้ายคลึงกันในทุกคู่ผสม ความสำเร็จในการผสมข้ามอยู่ในช่วง 18.2 - 26.4% โดยการผสมข้ามระหว่างพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์สุรนารีให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำที่สุด ในขณะที่คู่ผสมอื่นๆให้ผลใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 7) ลักษณะต้น F1 มีลักษณะกึ่งกลางระหว่างพันธุ์พ่อแม่ดังแสดงในรูปที่ 11 – 14

**ตารางที่ 7** จำนวนดอกที่ผสม จำนวนดอกที่ผสมติด เปอร์เซ็นต์การติดฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝักจากการทดลองผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์คัดเลือกที่มีแนวโน้มต้านทานเพลี้ยอ่อน

| คู่ผสม | จำนวนดอกที่ผสม | จำนวนดอกที่ผสมติด | % ผสมติด | ความยาวฝัก | เมล็ดต่อฝัก |
|---|---|---|---|---|---|
| คัด – มอ. X IT82E-16 | 135 | 34 | 25.2 | 43.3 | 8.8 |
| คัด – มอ. X $SR_{00}$-863 | 140 | 37 | 26.4 | 43 | 6.7 |
| คัด – มอ. X เขาหินซ้อน | 95 | 23 | 24.2 | 41 | 9.2 |
| คัด – มอ. X สุรนารี | 137 | 25 | 18.2 | 32.9 | 4.3 |

(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 11**. เปรียบเทียบลักษณะต้นระหว่างพันธุ์คัด – มอ.(ก) ลูกผสม F1 (ข) และพันธุ์ IT82E16 (ค)

(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 12**. เปรียบเทียบลักษณะต้นระหว่างพันธุ์คัด – มอ.(ก) ลูกผสม F1 (ข) และพันธุ์เขาหินซ้อน (ค)

(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 13**. เปรียบเทียบลักษณะต้นระหว่างพันธุ์คัด – มอ.(ก) ลูกผสม F1 (ข) และพันธุ์ SR00-863 (ค)

(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 14**. เปรียบเทียบลักษณะต้นระหว่างพันธุ์คัด – มอ.(ก) ลูกผสม F1 (ข) และพันธุ์สุรนารี (ค)

เมื่อทำการทดสอบความต้านทานเพลี้ยอ่อนในคู่ผสมทั้ง 4 คู่ โดยเปรียบเทียบจำนวนเพลี้ยอ่อนบนต้นถั่วที่มีการปล่อยให้เพิ่มจำนวนประชากร ภายใต้สภาพเรือนตาข่าย ในลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ พบว่าลูกผสมชั่วที่ 1 ของคู่ผสม มีจำนวนเพลี้ยน้อยกว่าในพันธุ์คัด มอ. ค่อนข้างมาก และจำนวนประชากรเพลี้ยอ่อนบนต้นลูกผสมมีความใกล้เคียงจำนวนเพลี้ยอ่อนบนต้นพันธุ์พ่อ ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทาน (ตารางที่ 8-11 )

**ตารางที่ 8.** จำนวนเพลี้ยอ่อนในแต่ละสัปดาห์หลังปล่อยบนต้นถั่ว 21 วันหลังปลูกเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พ่อพันธุ์แม่และลูกผสมระหว่างพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์ IT82E – 16

| คู่ผสม | พันธุ์ | สัปดาห์ 1 | สัปดาห์ 2 | สัปดาห์ 3 | สัปดาห์ 4 |
|---|---|---|---|---|---|
| คัด – มอ. x IT82E – 16 | P1 (มอ) | 126.04 | 1448.57 | 4031.19 | 6205.45 |
| | P2 (IT) | 76.63 | 538.26 | 1413.04 | 1558.70 |
| | F1 | 61.10 | 539.90 | 1685.79 | 1766.11 |

**ตารางที่ 9.** จำนวนเพลี้ยอ่อนในแต่ละสัปดาห์หลังปล่อยบนต้นถั่ว 21 วันหลังปลูกเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พ่อพันธุ์แม่และลูกผสมระหว่างพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์ $SR_{00}$ – 863

| คู่ผสม | พันธุ์ | สัปดาห์ 1 | สัปดาห์ 2 | สัปดาห์ 3 | สัปดาห์ 4 |
|---|---|---|---|---|---|
| คัด – มอ. x $SR_{00}$ – 863 | P1 (มอ) | 282.18 | 1996.88 | 4678.50 | 7587.50 |
| | P2 (SR) | 145.54 | 732.54 | 2958.29 | 2228.75 |
| | F1 | 67.39 | 679.00 | 3131.57 | 2258.04 |

**ตารางที่ 10.** จำนวนเพลี้ยอ่อนในแต่ละสัปดาห์หลังปล่อยบนต้นถั่ว 21 วันหลังปลูกเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พ่อพันธุ์แม่และลูกผสมระหว่างพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์เขาหินซ้อน

| คู่ผสม | พันธุ์ | สัปดาห์ 1 | สัปดาห์ 2 | สัปดาห์ 3 | สัปดาห์ 4 |
|---|---|---|---|---|---|
| คัด – มอ. x เขาหินซ้อน | P1 (มอ) | 244.55 | 1727.00 | 5147.00 | 6066.67 |
| | P2(เขา) | 273.39 | 765.87 | 2972.27 | 2478.57 |
| | F1 | 109.28 | 1390.76 | 2972.96 | 2672.80 |

**ตารางที่ 11.** จำนวนเพลี้ยอ่อนในแต่ละสัปดาห์หลังปล่อยบนต้นถั่ว 21 วันหลังปลูกเปรียบเทียบกันระหว่างพันธุ์พ่อพันธุ์แม่และลูกผสมระหว่างพันธุ์คัด – มอ. และพันธุ์สุรนารี

| คู่ผสม | พันธุ์ | สัปดาห์ 1 | สัปดาห์ 2 | สัปดาห์ 3 | สัปดาห์ 4 |
|---|---|---|---|---|---|
| คัด – มอ. x สุรนารี | P1 (มอ) | 159.17 | 1078.17 | 4574.27 | 6605.00 |
| | P2 (sura) | 134.56 | 615.33 | 3455.33 | 1819.33 |
| | F1 | 150.96 | 894.52 | 2256.09 | 2501.52 |

จากเมล็ดลูก F1 ในแต่ละคู่ผสมทั้ง 4 คู่ ถูกนำไปปลูกยังแปลงทดลอง เป็นต้น F2 และทำการคัดเลือกแบบหนึ่งเมล็ดต่อต้น ทำการเก็บเมล็ดจากทุกต้นโดยไม่ทำการคัดเลือก เพื่อให้ต้นพืชเข้าสู่ความเป็นพันธุ์แท้มากขึ้นจนถึงประมาณ F5-F6 แล้วจึงเริ่มคัดเลือก งานในส่วนโครงการวิจัย phase 1 ปลูกได้ถึง F4 เท่านั้น (งานล่าช้ากว่าแผนเดิมที่วางไว้ เนื่องจากปัญหาเมล็ด F1 ไม่เพียงพอจึงต้องทำซ้ำ ทำให้ต้องขยายเวลาการทดลองออกไป) งานส่วนที่เหลือจึงต้องทำต่อเนื่องใน phase 2

**5. การชักนำการกลายพันธุ์**

**การหาค่า LD 50 ของปริมาณรังสีแกมมา**

อัตราความเข้มข้นของรังสีที่ใช้กับพืช แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีความไวต่อรังสี (radiosensitivity) แตกต่างกัน ฉะนั้นก่อนทำการฉายรังสีเมล็ดพืชเพื่อปลูกในแปลงทดลอง จำเป็นต้องมีการศึกษา $LD_{50}$ (50% Lethal Dose หรือ Lethal Dose-50 หรือ semi Lethal Dose) ของเมล็ดพืชที่นำมาฉาย (IAEA, 1977; ธีระ, 2525) ในการศึกษา $LD_{50}$ จะมีการนำเมล็ดพืชมาฉายรังสีในปริมาณต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ปริมาณต่ำ (low dose) จนถึงระดับสูงที่ทำให้เกิดการตาย 100 เปอร์เซ็นต์

**วิธีการศึกษา**

1. นำเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. โดยใช้อัตรารังสี control (0 Krad), 25, 50, 75 และ 100 krad

2.นำเมล็ดที่ฉายรังสีแล้วเพาะในกระถางขนาด 8 นิ้ว กระถางละ 10 เมล็ด ซ้ำละ 10 กระถาง จำนวน 3 ซ้ำ ใช้แผนการทดลองแบบ CRD

3.การบันทึกข้อมูล

- ความงอก เมื่อถั่วฝักยาวอายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน ในแต่ละ treatment จะนับจำนวนต้นที่งอกทุกต้น
- ความสูง เมื่อถั่วฝักยาวอายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน วัดความสูงตั้งแต่ส่วนโคนต้นถึงปลายยอดในแต่ละ treatment จะสุ่มวัดความสูง 30 ต้น

- จำนวนใบ เมื่อถั่วฝักยาวอายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน นับจำนวนใบทั้งหมดในต้นแต่ละ treatment จะสุ่มนับ 30 ต้น
- ขนาดใบ เมื่อถั่วฝักยาวอายุ 7, 14, 21 และ 28 วัน สุ่มวัดขนาดใบ 30 ต้นในแต่ละ treatment โดยวัดใบแก่คู่ที่อยู่บนสุด

4. วิธีการหา $LD_{50}$

4.1. วิธี typical sigmoid mortality โดยการคำนวณค่า corrected % mortality (Capella *et al*., 1967 อ้างโดย ธีระ, 2525)

$$\text{Corrected \% mortality} = \frac{x - y}{x} x100$$

x = % survival of control

y = % survival of irradiated plant

นำค่า corrected % mortality มาเขียนความสัมพันธุ์ระหว่าง raddiation dose เป็น corrected % mortality แล้วลากเส้นจากแกน corrected % mortality จากจุด 50% มาตัดเส้นกราฟ แล้วลากลงมาตัดแกนของ radiation dose $M_1$ จุดตัดนั้นเป็น $LD_{50}$

4.2. วิธีการเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดกับระดับของรังสี (วนิภา, 2525)

นำค่าเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดมาเขียนความสัมพันธุ์กับ radiation dose แล้วลากเส้นจากแกนเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดที่จุด 50% มาตัดกราฟแล้วลากมาตัดแกน radiation dose $M_1$ จุดนั้นเป็น $LD_{50}$

4.3.วิธีคำนวณหา $LD_{50}$ จากสูตร Regression (Constantinetal, 1967; ธีระ2525)

$$y = \bar{y} + b(x_{50} - \bar{x})$$

y = เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด

x = อัตรารังสี (krad)

y = 50 (เมื่อต้องการหา $LD_{50}$

$x_{50}$ = อัตรารังสีที่ $LD_{50}$ (unknown)

n = จำนวน treatment

$$\bar{y} = \sum \frac{y}{n}$$

$$b = [n\sum xy - \sum x \sum y] / [n\sum x^2 - (\sum x)^2]$$

$$n\sum xy - \sum x \sum y = \sum xy - [(\sum x)(\sum y)]/n$$

$$n\sum x^2 - (\sum x)^2 = \sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}$$

**ผลการทดลอง**

**เปอร์เซ็นต์ความงอก**

พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ได้รับการฉายรังสี 25, 50, 75 และ 100 Krad มีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงตามระดับปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น (84.33, 66.67, 62.33 และ 54.67 ตามลำดับ) และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ไม่ได้รับการฉายรังสีแกมมา (0 Krad:ชุดควบคุม) ยกเว้นที่ระดับรังสี 25 Krad ที่เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วฝักยาวที่ได้รับการฉายรังสีไม่มีความแตกต่างจากเปอร์เซ็นต์ความงอกของชุดควบคุม (84.00) (ตารางที่ 12)

เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ต้นรอดชีวิต พบว่าที่อายุ 7 วันหลังปลูก เปอร์เซ็นต์ต้นรอดชีวิตสามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ซึ่งทั้ง 3 กลุ่มมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แบ่งออกเป็น 1. กลุ่มของชุดควบคุม และเมล็ดถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 25 Krad (84.00 และ 84.33 % ตามลำดับ) 2. กลุ่มของเมล็ดถั่วฝักยาวที่ได้รับการฉายรังสี 50 Krad (30.33 %) และ 3. กลุ่มเมล็ดที่ได้รับการฉายรังสี 75 และ 100 Krad (1.00 และ 0.67 % ตามลำดับ) (ตารางที่ 12)

ที่อายุ 14 วันหลังปลูก พบว่าชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดชีวิตเพิ่มสูงขึ้น และสูงที่สุด (87.00) เนื่องจากมีการงอกของเมล็ดเกิดหลัง 7 วันหลังปลูก และเปอร์เซ็นต์ต้นรอดชีวิตในกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสีปรับลดลงในทุกระดับรังสี ส่งผลในเปอร์เซ็นต์ต้นรอดชีวิตในระดับรังสี 50, 75 และ 100 Krad (3.67, 1.00 และ 0.67 ตามลำดับ) มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งจากชุดควบคุม ยกเว้นที่ระดับรังสี 25 Krad (82.33) ที่เปอร์เซ็นต์ต้นรอดชีวิตไม่แตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม และที่อายุ 21 วันหลังปลูก เปอร์เซ็นต์ต้นรอดชีวิตปรับลดลงในทุกระดับของการฉายรังสีแกมมา และในชุดควบคุม (ตารางที่ 12) และถั่วฝักยาวที่ได้รับรังสีที่ระดับ 25, 50, 75 และ 100 Krad ลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นกับต้นกล้าหลังการฉายรังสีดังรูปที่ 15

**ตารางที่ 12** ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันเมื่ออายุ 7 วันหลังปลูก และเปอร์เซ็นต์ต้นรอดชีวิตที่อายุ 7, 14 และ 21 วันหลังปลูก

| ระดับรังสี | ความงอก | ต้นรอดชีวิต (%) | | |
|---|---|---|---|---|
| (Krad) | 7 วันหลังปลูก (%) | 7 วันหลังปลูก | 14 วันหลังปลูก | 21 วันหลังปลูก |
| 0 (ชุดควบคุม) | 84.00 a [1/] | 84.00 a | 87.00 a | 74.33 a |
| 25 | 84.33 a | 84.33 a | 82.33 a | 74.00 a |
| 50 | 66.67 b | 30.33 b | 3.67 b | 2.00 b |
| 75 | 62.33 b | 1.00 c | 1.00 b | 0.67 b |
| 100 | 54.67 b | 0.67 c | 0.67 b | 0.33 b |
| F - test | ** | ** | ** | ** |

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยวิธี DMRT

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (p = 0.01)

(ก)

(ข)

(ค)

**รูปที่ 15** ลักษณะผิดปกติของเมล็ดและต้นกล้าถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา (ก) ส่วนใบเลี้ยงไหม้ (ข) ต้นกล้าอายุ 14 วัน ที่ระดับรังสี 75 Krad ที่มีลักษณะแคระแกร็น และ (ค) ขอบใบไหม้

**ความสูง**

ความสูงของต้นถั่วฝักยาวที่รอดชีวิตหลังปลูก 7 วัน พบว่า ต้นถั่วฝักยาวในชุดควบคุมมีความสูงมากที่สุด (8.05 ซม.) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 25 Krad (6.98 ซม.) และแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 50 และ 100 Krad (4.45 และ 4.65 ซม.) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 75 Krad (5.50 ซม.)

ที่อายุ 14 วันหลังปลูก ความสูงของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 25 Krad ไม่แตกต่างทางสถิติจากความสูงของต้นถั่วฝักยาวของชุดควบคุม (12.22 และ 12.26 ซม. ตามลำดับ) แต่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับความสูงของต้นถั่วฝักยาวที่ได้รับการฉายรังสี 50, 75 และ 100 Krad (6.34, 6.20 และ 5.80 ซม. ตามลำดับ) แต่ที่อายุ 21 วันหลังปลูกความสูงของต้นถั่วฝักยาวที่รอดชีวิตในทุกระดับการฉายรังสี และชุดควบคุมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 13)

**ตารางที่ 13** ค่าเฉลี่ยความสูงถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่รอดชีวิตอายุ 7, 14 และ 21 วันหลังปลูก

| ระดับรังสี | ความสูงของต้นรอดชีวิตอายุ (ซม.) | | |
|---|---|---|---|
| (Krad) | 7 วันหลังปลูก | 14 วันหลังปลูก | 21 วันหลังปลูก |
| 0 | 8.05 a[1/] | 12.26 a | 12.37 |
| 25 | 6.98 a | 12.22 a | 12.29 |
| 50 | 4.45 c | 6.34 b | 7.92 |
| 75 | 5.50 ab | 6.20 b | 7.75 |
| 100 | 4.65 bc | 5.80 b | 6.80 |
| F - test | ** | ** | ns |

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยวิธี DMRT

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (p = 0.01)

ns. ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

**จำนวนใบต่อต้น**

จำนวนใบต่อต้นของต้นถั่วฝักยาวที่รอดชีวิต ในทุกระดับรังสีและชุดควบคุมที่อายุ 7 วันหลังปลูก พบว่า ค่าเฉลี่ยจำนวนใบไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนใบอยู่ที่ 2.00 ใบ ในทุกๆ ระดับการฉายรังสี ยกเว้นระดับรังสี 75 Krad ที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้นอยู่ที่ 1.67 ใบ และที่อายุ 14 และ 21 วันหลังปลูก จำนวนใบต่อต้นเพิ่มขึ้นในทุกระดับการฉายรังสี และจำนวนใบต่อต้นในทุกระดับการฉายรังสีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 14)

**ตารางที่ 14** ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่รอดชีวิตอายุ 7, 14 และ 21 วันหลังปลูก

| ระดับรังสี | ความสูงของต้นรอดชีวิตอายุ (ซม.) | | |
|---|---|---|---|
| (Krad) | 7 วันหลังปลูก | 14 วันหลังปลูก | 21 วันหลังปลูก |
| 0 | 2.00 | 5.07 | 6.43 |
| 25 | 2.00 | 5.73 | 6.63 |
| 50 | 2.00 | 4.57 | 6.50 |
| 75 | 1.67 | 5.00 | 4.50 |
| 100 | 2.00 | 6.00 | 6.00 |
| F - test | ns | ns | ns |

ns. ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

**ขนาดใบ**

ขนาดใบของต้นที่รอดชีวิตที่อายุ 7 วันหลังปลูก พบว่าความยาวใบของชุดควบคุมมีความยาวใบมากที่สุด 5.31 ซม. และแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งจากความยาวใบของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 50, 75 และ 100 Krad (1.68, 1.52 และ 2.58 ซม.) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับความยาวใบของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 25 Krad (4.16 ซม.) และที่ระดับการฉายรังสี 25 และ 100 Krad มีค่าเฉลี่ยความยาวใบไม่แตกต่างทางสถิติ ส่วนความกว้างใบของต้นที่รอดชีวิตสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1. กลุ่มของชุดควบคุมและต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 25 Krad (3.54 และ 2.77 ซม.) และ 2. กลุ่มของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 50, 75 และ 100 Krad (0.96, 0.76 และ 1.43 ซม.) ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ที่อายุ 14 วันหลังปลูก พบว่า ความยาวใบและความกว้างใบของต้นถั่วฝักยาวที่รอดชีวิตสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1. กลุ่มของชุดควบคุมและต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 25 Krad และ 2. กลุ่มของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 50, 75 และ 100 Krad ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ที่อายุ 21 วันหลังปลูก ความยาวใบและความกว้างใบของต้นที่รอดชีวิตในทุก ๆ ระดับการฉายรังสีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 15)

**ตารางที่ 15** ค่าเฉลี่ยความยาวใบ และความกว้างใบของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่รอดชีวิตอายุ 7, 14 และ 21 วันหลังปลูก

| ระดับรังสี (Krad) | ขนาดใบของต้นรอดชีวิตอายุ (ซม.) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 7 วันหลังปลูก | | 14 วันหลังปลูก | | 21 วันหลังปลูก | |
| | ความยาว | ความกว้าง | ความยาว | ความกว้าง | ความยาว | ความกว้าง |
| 0 | 5.31 a[1/] | 3.54 a | 12.26 a | 12.26 a | 7.00 | 3.15 |
| 25 | 4.16 ab | 2.77 a | 12.22 a | 12.22 a | 6.84 | 3.21 |
| 50 | 1.68 c | 0.96 b | 6.34 b | 6.34 b | 5.28 | 2.38 |
| 75 | 1.52 c | 0.76 b | 6.20 b | 6.20 b | 4.37 | 1.90 |
| 100 | 2.58 bc | 1.43 b | 5.80 b | 5.80 b | 3.65 | 1.35 |
| F - test | ** | ** | ** | ** | ns | ns |

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยวิธี DMRT

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (p = 0.01)

ns. ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

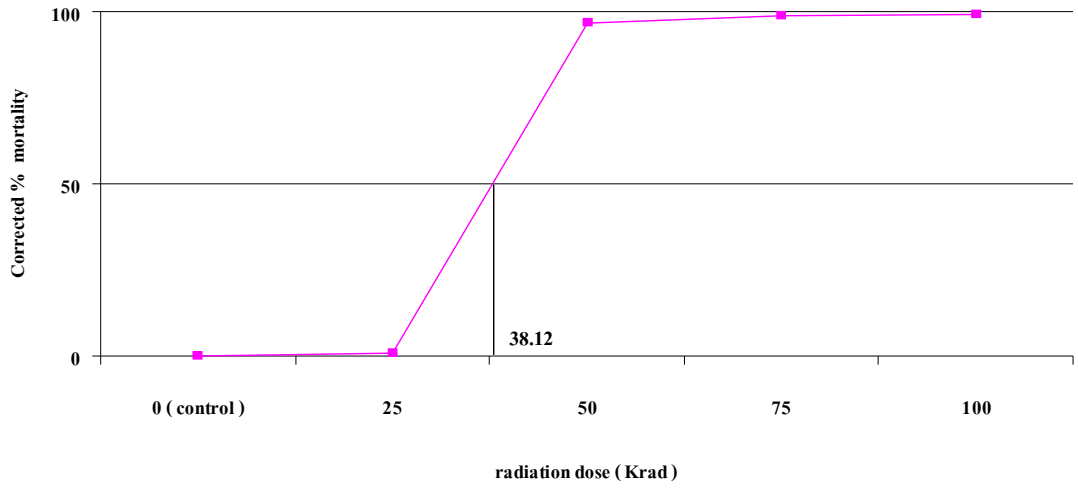
**การหา $LD_{50}$ (semi lethal dose)**

**1. วิธี typical sigmoid mortality**

จากเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของถั่วฝักยาวเมื่ออายุ 21 วัน (ตารางที่ 13) สามารถนำมาคำนวณหา corrected % mortality ของถั่วฝักยาวได้ ดังแสดงในตารางที่ 16 และอาศัยความสัมพันธุ์ระหว่างระดับของรังสีกับ corrected % mortality มาเขียนกราฟเพื่อหา $LD_{50}$ ดังแสดงในรูปที่ 15 พบว่าระดับของรังสีที่ทำให้ถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. รอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์เมื่ออายุ 21 วัน ($LD_{50}^{21}$) คือรังสีระดับ 38.12 Krad

**ตารางที่ 16.** ค่า Corrected % mortality ของถั่วฝักยาวเมื่อทำการฉายรังสีที่ระดับรังสีแตกต่างกัน

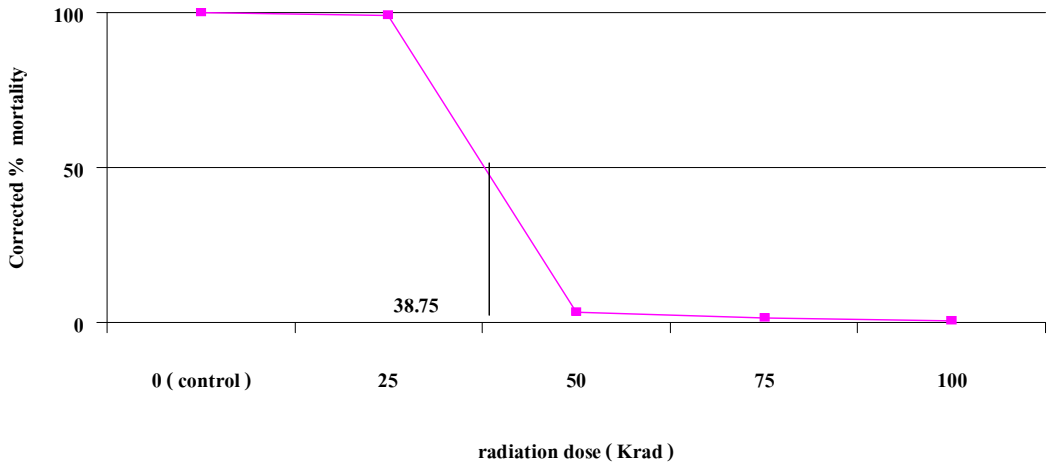
| ระดับรังสี ( Krad ) | เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด (%) | เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด (%) เทียบกับ control | Corrected % mortality |
|---|---|---|---|
| 0 ( control ) | 88.49 | 100.00 | 0.00 |
| 25 | 87.75 | 99.16 | 0.84 |
| 50 | 3.00 | 3.39 | 96.61 |
| 75 | 1.07 | 1.21 | 98.79 |
| 100 | 0.60 | 0.68 | 99.32 |




**รูปที่ 16.** กราฟความสัมพันธุ์ระหว่างระดับของรังสีกับ corrected % mortality เพื่อหา $LD_{50}$ โดยวิธี typical sigmoid mortality

**2. วิธีการเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดกับระดับของรังสี**

จากเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของถั่วฝักยาวเมื่ออายุ 21 วัน ของถั่วฝักยาว ดังแสดงในตารางที่ 13 และอาศัยความสัมพันธุ์ระหว่างระดับของรังสีกับ เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดมาเขียนกราฟเพื่อหา $LD_{50}$ ดังแสดงในรูปที่ 16 พบว่าระดับของรังสีที่ทำให้ถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. รอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์เมื่ออายุ 21 วัน ($LD_{50}^{21}$) คือรังสีระดับ 38.75 Krad




**รูปที่ 17.** กราฟความสัมพันธุ์ระหว่างระดับของรังสีกับเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดเพื่อหา $LD_{50}$

**3.วิธีคำนวณหา $LD_{50}$ จากสูตร Regression**

$y = \bar{y} + b(x_{50} - \bar{x})$

$y = 50$

$x_{50}$ = อัตรารังสีที่ $LD_{50}$

$n = 5$ (treatment)

| ระดับรังสี ( Krad ) | เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด (%) เทียบกับ control | xy |
|---|---|---|
| 0 ( control ) | 100.00 | 0 |
| 25 | 99.16 | 2479.00 |
| 50 | 3.39 | 169.5 |
| 75 | 1.21 | 90.75 |
| 100 | 0.68 | 68.00 |

$\sum x = 250$ $\quad \sum y = 204.44$

$\bar{x} = 50$ $\quad \bar{y} = 40.89$

$\sum x^2 = 18750$ $\quad \sum xy = 2807.25$

$\frac{\sum x^2}{n} = 12500$ $\quad [(\sum x)(\sum y)]/n = 10222$

$\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n} = 6250$ $\quad \sum xy - [(\sum x)(\sum y)]/n = -7414.75$

$b = -1.19$

$y = \bar{y} + b(x_{50} - \bar{x})$

$50 = 40.89 - 1.19\, x_{50} + 59.5$

$x_{50} = 42.34$

จากการคำนวณหา $LD_{50}$[21] โดยสูตร Regression พบว่าอัตรารังสีที่ทำให้ถั่วฝักยาวรอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออายุ 21 วัน คือ 42.34 Krad

**หมายเหตุ** การคำนวณหา $LD_{50}$[21] ทั้งหมดใช้ข้อมูลจากการทดลองในเวลา 21 วัน เท่านั้นเพราะ ในช่วงเวลาหลัง 21 วัน ไปแล้วมีการตายของสิ่งทดลองในจำนวนมาก ทำให้ไม่สามารถเก็บข้อมูลที่เป็นตัวแทนของหน่วยทดลองได้

**วิจารณ์**

การฉายรังสีให้กับส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็นเมล็ด หรือส่วนเนื้อเยื่ออื่นๆ ของพืชก็ตาม รังสีจะมีผลต่อโมเลกุลภายในเซลล์ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง และหน้าที่ของโมเลกุลเหล่านั้น หากโมเลกุลดังกล่าวมีส่วนสำคัญต่อกระบวนการสำคัญในพืชจะทำให้พืชตายได้ อย่างไรก็ตามอันตรายจะมากน้อยแค่ไหนขึ้นกับความเข้มข้น หรือปริมาณรังสีที่พืชได้รับด้วยเช่นกัน ซึ่งพืชแต่จะชนิดจะทนทานต่อปริมาณรังสีที่ได้รับแตกต่างกัน นอกจากชนิดของพืชแล้ว ชิ้นส่วนของพืชที่นำมาฉายรังสียังมีความทนทานต่อปริมาณแตกต่างกันด้วย เช่น เมล็ดจะมีความทนทานต่อปริมาณรังสีมากกว่าส่วนอื่น ๆ เช่น หัว ราก ไหล กิ่งตอน หรือแคลลัส เป็นต้น (สิรินุช2540) ในการทดลองครั้งนี้ใช้ส่วนของเมล็ดในการฉายรังสีพบว่า การเพิ่มขึ้นของรังสีแกมมาตั้งแต่ 25 – 100 Krad มีผลให้เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอด ความสูงของต้น จำนวนใบ และขนาดใบลดลงเป็นปฏิภาคกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณรังสี แสดงว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณรังสีแกมมาแต่ระดับมีผลต่อการเจริญเติบโตของถั่วฝักยาว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ อดิศร และธัชชัย (2536); ประภา (2532) ที่พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับของรังสีแกมมามีผลให้การเจริญเติบโตของต้นกล้าลำไยและพริกแดงลดต่ำลง การใช้รังสี 25 Krad กับเมล็ดถั่วฝักยาวครั้งนี้มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วฝักยาวค่อนข้างน้อย ไม่ว่าจะเป็นเปอร์เซ็นต์ความงอก ความสูง จำนวนใบ ความกว้าง และความยาวใบเมื่อเทียบกับรังสีระดับอื่นๆ นอกจากนี้แล้วรังสียังมีผลให้เกิดลักษณะผิดปกติที่พบในต้น $M_1$ plant พบได้ในทุกระดับของรังสี เช่น ลักษณะใบบิดเบี้ยว ต้นแคระแกร็น ลักษณะข้อสั้น และใบแฝด เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mandal และคณะ (2000) ศิริลักษณ์ และพงศ์เทพ (2536) ที่รายงานว่าพบลักษณะผิดปกติของเบญจมาศ และสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวในทุกระดับของรังสีแกมมา ซึ่งอาการผิดปกติเป็นผลมาจากการที่รังสีกระตุ้นให้มีการเรียงตัวของโมเลกุลใหม่ (Donini and Sonnino, 1998; สิรินุช, 2540)

ระดับของรังสีแกมมาที่ทำให้ถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. รอดตาย 50 เปอร์เซ็นต์ที่อายุ 21 วัน ($LD_{50}^{21}$) โดยวิธีการ typical sigmoid mortality, กราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดกับระดับของรังสี และ Regression พบว่าค่า $LD_{50}^{21}$ ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. มีค่า 38.12, 38.75 และ 42.34 Krad ตามลำดับ ซึ่งทั้งสามวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน จากการทดลองนี้พออนุมานได้ว่าค่า $LD_{50}^{21}$ ของการฉายรังสีแกมมากับเมล็ดถั่วฝักยาวประมาณ 40 Krad ดั้งนั้นการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยวิธีนี้ ควรฉายรังสีให้กับเมล็ดที่ระดับต่ำกว่า 40 Krad นอกจากนี้ IAEA (1977) รายงานว่าระดับของรังสีที่เหมาะสำหรับการชักนำการกลายพันธุ์ใน *Vigna unguiculata* ซึ่งคือถั่วพุ่ม ซึ่งเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีลักษณะใกล้เคียงกับถั่วฝักยาวมาก คือ 15 – 25 Krad

**การชักนำการกลายพันธุ์**

**วิธีการศึกษา**

ฉายรังสีแกมมาให้กับเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. โดยเครื่องฉายรังสีแกมมาที่มี Co-60 เป็นแหล่งกำเนิดรังสี รุ่น Theratron Phoenix [ Co – 60 ] โดยใช้อัตราการปลดปล่อยรังสี 648.5 rad/นาที ณ ภาควิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปริมาณรังสีที่ใช้คือ 25 35 45 50 และ 0 Krad (ชุดควบคุม) โดยฉายรังสีระดับละ 1,000 เมล็ด

**1. การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดที่ได้รับการฉายรังสี**

นำเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ระดับต่าง ๆ และเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ไม่ได้รับการฉายรังสี มาเพาะในถุงเพาะ ทำการเพาะเมล็ด 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด (ระดับรังสีละ 200 เมล็ด) หลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วัน ทำการตรวจนับเมล็ดงอก แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

**2. การปลูกต้นถั่วฝักยาวชั่ว $M_1$**

นำเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ระดับต่าง ๆ ไปปลูกในถุงเพาะขนาดกว้าง 13 นิ้ว สูง 25 นิ้ว โดยปลูกถุงละ 2 เมล็ด เมื่อต้นกล้ามีอายุ 2 สัปดาห์ให้ปุ๋ยสูตร 15 – 15 – 15 และให้ซ้ำทุก ๆ 2 สัปดาห์ เปอร์เซ็นต์ความงอก บันทึกระยะเวลาที่ใช้ในการออกดอก (ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มเพาะเมล็ดจนถึงวันดอกแรกบาน) และลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (0 Krad) เก็บฝักถั่วฝักยาวที่สุกแก่เต็มที่ทุกฝัก จากทุกต้น

**3. การปลูกต้นถั่วฝักยาวชั่ว $M_2$-$M_4$**

นำเมล็ดที่เก็บเกี่ยวได้จากชั่ว $M_1$ ทุกต้น ไปปลูกในแปลงทดลอง โดยปลูกแบบต้นต่อแถว ใช้การปลูกแบบแถวคู่ระยะระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระยะระหว่างแถว 50 เซนติเมตร บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอก ระยะเวลาที่ใช้ในการออกดอก (เวลาตั้งแต่เริ่มเพาะเมล็ดจนถึงวันดอกแรกบาน) ความยาวฝัก จำนวนฝักต่อต้น และลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบลักษณะต่าง ๆ กับชุดควบคุม

**ผลการทดลอง**

**1. การปลูกทดสอบต้นถั่วฝักยาวชั่ว $M_1$**

จากการฉายรังสีแกมมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ด้วยปริมาณรังสี 0 (ชุดควบคุม) 25 35 45 และ 50 Krad นำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการฉายรังสีไปปลูกทดสอบ ณ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา โดยเก็บเกี่ยวเมล็ดจากต้นที่มีฝักทุกต้น เมล็ดที่เก็บเกี่ยวได้จากแต่ละต้นถูกจัดเก็บแยกจากกัน

จากการศึกษาในชั่วที่ 1 ($M_1$) ทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอก ระยะเวลาที่ใช้ในการออกดอก (ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มเพาะเมล็ดจนถึงดอกแรกบาน) และลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้น ผลการทดลองดังนี้

**1.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดที่ได้รับการฉายรังสี**

พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดที่ไม่ได้รับการฉายรังสี 0 Krad (ชุดควบคุม) มีค่าสูงที่สุด คือ 99.00 ส่วนความงอกของเมล็ดที่ได้รับรังสีในปริมาณสูงขึ้นค่อย ๆ ลดลง และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดที่ไม่ได้รับการฉายรังสี (ชุดควบคุม) คือที่ปริมาณรังสี 25 และ 35 Krad เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 77.50 และ 50.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 17 ในขณะที่เมล็ดที่รับการฉายรังสี 45 และ 50 Krad มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเพียง 7.50 เท่านั้น

**ตารางที่ 17** ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันเมื่ออายุ 7 วันหลังปลูก

| ระดับรังสี ( Krad ) | จำนวนเมล็ดที่ปลูก | จำนวนเมล็ดที่งอก | ความงอก (%) |
|---|---|---|---|
| 0 (ชุดควบคุม) | 200 | 198 | 99.00 a [1/] |
| 25 | 200 | 155 | 77.50 b |
| 35 | 200 | 100 | 50.00 c |
| 45 | 200 | 15 | 7.50 d |
| 50 | 200 | 15 | 7.50 d |
| F – test | | | ** |
| C.V. (%) | | | 14.89 |

[1/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยวิธี DMRT

** มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (p = 0.01)

**1.2 จำนวนต้นที่รอดชีวิตและระยะเวลาที่ใช้ในการออกดอก**

จากการปลูกเมล็ดถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 25 35 45 และ 50 Krad ระดับละ 417 484 710 และ 771 เมล็ด ตามลำดับ พบว่าจำนวนต้นที่รอดชีวิตที่อายุ 75 วันหลังปลูก ของระดับรังสี 25 35 45 และ 50 Krad มีจำนวน 132 88 20 และ 26 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 18) และจำนวนต้นที่สามารถออกดอกได้มีเพียง 99 ต้น โดยแบ่งเป็น 43 ต้นจากเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสี 25 Krad และจากเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสี 35 45 และ 50 Krad จำนวน 22 11 และ 23 ต้น ตามลำดับ ในจำนวนนี้จากการสังเกต พบต้นที่ติดดอกและมีการบานของดอกแต่ไม่สามารถติดฝักได้ ต้นที่ติดฝักแต่ฝักไม่ติดเมล็ดหรือเมล็ดลีบ และต้นที่ฝักมีเมล็ดสมบูรณ์เพียงบางส่วน โดยต้นที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีระดับ 25 Krad สามารถเก็บเกี่ยวเมล็ดได้มากที่สุดจำนวน 30 ต้น และระดับรังสี 35 45 และ 50 Krad สามารถเก็บเกี่ยวเมล็ดได้ 9, 7 และ 13 ต้น ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมปลูก 45 เมล็ด และจำนวนต้นที่รอดชีวิตที่ 75 วันหลังปลูกมีจำนวน 44 ต้น ซึ่งทั้ง 44 ต้น สามารถติดดอกและเก็บเกี่ยวฝักได้ (ตารางที่ 18)

ระยะเวลาที่ใช้ในการออกดอกของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี พบว่า จากการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสองค่า (T – test) ทุกระดับรังสีมีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาที่ใช้ในการออกดอกแตกต่างจากค่าเฉลี่ยของระยะเวลาที่ใช้ในการออกดอกของต้นที่ไม่ผ่านการฉายรังสีหรือต้นในชุดควบคุม ซึ่งมีค่า 45.86 วัน (42 – 55 วัน) ยกเว้นต้นที่ผ่านการฉายรังสี 50 Krad ที่มีช่วงระยะเวลาในการออกดอกค่อนข้างกว้าง คือ 31 – 77 วัน โดยมีค่าเฉลี่ย 47.22 วัน สำหรับต้นที่ผ่านการฉายรังสี 25, 35 และ 45 Krad มีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาในการออกดอก 50.82 (42 – 75), 58.27 (42 – 76) และ 48.64 (39 - 56) วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 19)

**ตารางที่ 18** จำนวนเมล็ดที่ปลูก จำนวนต้นที่รอดชีวิตที่อายุ 75 วันหลังปลูก จำนวนต้นที่ออกดอก และต้นที่สามารถเก็บเกี่ยวเมล็ดของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กัน

| ระดับรังสี | จำนวนเมล็ด | ต้นรอดชีวิต | | ต้นที่ออกดอก | | ต้นที่เก็บเกี่ยวเมล็ด | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ( Krad ) | ที่ปลูก | จำนวน | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน | เปอร์เซ็นต์ |
| 0 (ชุดควบคุม) | 45 | 44 | 97.78 | 44 | 97.78 | 44 | 97.78 |
| 25 | 417 | 132 | 31.65 | 43 | 10.31 | 30 | 7.19 |
| 35 | 484 | 88 | 18.18 | 22 | 4.55 | 9 | 1.86 |
| 45 | 710 | 20 | 2.82 | 11 | 1.55 | 7 | 0.99 |
| 50 | 771 | 26 | 3.37 | 23 | 2.98 | 13 | 1.69 |

**ตารางที่ 19** ค่าเฉลี่ยระยะเวลาในการออกดอก และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของต้นถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กัน

| ระดับรังสี ( Krad ) | ระยะเวลาในการออกดอก ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วัน) |
|---|---|
| 0 ( ชุดควบคุม ) | 45.86 ± 2.82 (42 – 55) [1/] |
| 25 | 50.82 ± 8.22(42 – 75) |
| 35 | 58.27 ± 11.26(42 – 76) |
| 45 | 48.64 ± 5.66(39 – 56) |
| 50 | 47.22 ± 9.06 (31 – 77) |

[1/] ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด

**1.3 ลักษณะผิดปกติของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี**

จากการสังเกตด้วยสายตา พบว่าต้นถั่วฝักยาวที่ได้รับรังสีในชั่ว $M_1$ มีบางลักษณะที่แตกต่างจากชุดควบคุม อย่างเห็นได้ชัด โดยพบว่าถั่วฝักยาวบางต้นมีใบที่ผิดปกติ เช่น ใบกลมแฝด (ก) จำนวนใบประกอบผิดปกติ (ข) ใบกลม (ค) ใบเรียวแหลม – สีเขียวเข้มหนา (ฆ) ใบแฉก (ง) และใบด่าง (จ) เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบต้นที่มีลำต้นผิดปกติอย่างลำต้นแบน (ช) ต้นแคระ (ซ) (รูปที่ 18) และต้นที่เป็นหมัน ลักษณะเป็นหมันที่พบ สามารถแบ่งออกเป็น 1. การเป็นหมันเนื่องจากช่อดอกไม่มีการพัฒนา 2. ดอกมีลักษณะสมบูรณ์และติดฝัก แต่ฝักที่ได้มีเมล็ดลีบและเมล็ดเล็กไม่สามารถงอกได้ 3. ดอกมีลักษณะสมบูรณ์และมีการผสมพันธุ์เกิดขึ้น มีการติดฝักที่มีเมล็ดสมบูรณ์บางส่วน ซึ่งการเป็นหมันในลักษณะที่ 3 พบในทุกต้นที่สามารถเก็บเกี่ยวเมล็ดได้

ต้นที่เจริญจากเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 35, 45 และ 50 Krad พบว่าบางต้นมีลักษณะเป็นพุ่ม และแคระ (รูปที่18 ช ) โดยที่รังสีระดับ 35 Krad ให้จำนวนต้นผิดปกติแบบนี้มากที่สุดจำนวน 15 ต้น รองลงมาคือ รังสีระดับ 25, 45 และ 50 Krad ให้ต้นที่ผิดปกติ 6, 4 และ 4 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 20) ทำการเก็บเกี่ยวเมล็ดทุกเมล็ด และนำไปศึกษาในชั่วต่อไป

**ตารางที่ 20.** จำนวนต้นที่ผิดปกติของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กัน

| ลักษณะผิดปกติ | จำนวนต้นมีลักษณะผิดปกติ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ระดับรังสี ( Krad ) | | | | |
| | ชุดควบคุม | 25 | 35 | 45 | 50 |
| 1. ต้นแคระ | 0 | 6 | 15 | 4 | 4 |
| 2. ลักษณะใบผิดปกติ | | | | | |
| - ใบแฉก | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 |
| - ใบลักษณะกลม | 0 | 4 | 5 | 5 | 3 |
| - ใบด่าง | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 |
| - ใบเรียวยาว | 0 | 3 | 15 | 4 | 6 |
| - ใบมีขนาดใหญ่หรือเล็กกว่าปกติ | 0 | 20 | 9 | 5 | 6 |
| 3. การเป็นหมัน | | | | | |
| - ไม่มีดอก | 0 | 89 | 66 | 9 | 3 |
| - มีดอกแต่ไม่ติดฝัก และมีฝักแต่ฝักไม่มีเมล็ด | 0 | 13 | 13 | 4 | 10 |
| - ติดฝักแต่มีเมล็ดสมบูรณ์บางส่วน | 0 | 30 | 9 | 7 | 13 |

ก ข ค

ฆ ง จ

ฉ ช ซ

**รูปที่ 18** ลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นในต้นถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ชั่ว $M_1$

(ก) ใบกลมแฝด (ข) จำนวนใบประกอบผิดปกติ (ค) ใบกลม (ฆ) ใบเรียวแหลม – สีเขียวเข้มหนา (ง) ใบแฉก (จ) ใบด่าง (ฉ) ใบปกติ (ช) ลำต้นแบน และ (ซ) ลำต้นแคระ

**2. การปลูกทดสอบต้นถั่วฝักยาวชั่ว $M_2$**

เมล็ดที่เก็บเกี่ยวได้จากต้น $M_1$ มีจำนวนค่อนข้างน้อย เพราะต้นส่วนหนึ่งเป็นหมันทำให้ติดเมล็ดน้อยโดยต้น $M_1$ จากต้นที่รอดชีวิตทั้งหมด 266 ต้น สามารถเก็บเกี่ยวเมล็ดได้ 59 ต้น (สายต้น) ไม่รวมชุดควบคุม จำนวนเมล็ดทั้งสิ้น 1,115 เมล็ด ซึ่งประกอบด้วยระดับรังสี 25 35 45 และ 50 Krad จำนวน 256 172 184 และ 491 เมล็ด ตามลำดับ ทำการปลูกทดสอบ ณ แปลงทดลองคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา เมื่อวันที่ 25 มกราคม 2548 และสิ้นสุดการปลูกทดสอบในวันที่ 30 เมษายน 2548 พบว่าเมล็ดที่เก็บเกี่ยวได้จากบางต้นมีเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างต่ำ บางเมล็ดไม่สามารถงอกได้ ทำให้จำนวนสายต้นเริ่มต้นในชั่ว $M_2$ มีทั้งสิ้น 54 สายต้น ประกอบด้วยจำนวน 726 ต้น (ตารางที่ 21)

จากการปลูกทดสอบในชั่วที่ 2 ($M_2$) บันทึกลักษณะต่าง ๆ เช่นเดียวกับชั่ว $M_1$ ทำการบันทึกเพิ่มเติมในลักษณะอื่น ๆ เช่น จำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝัก ผลการทดลองดังนี้

**2.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวชั่ว $M_2$**

เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วฝักยาวชั่ว $M_2$ พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของชุดควบคุมมีค่าสูงที่สุด 77.50 ส่วนเมล็ดที่ได้จากต้น $M_1$ ที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับรังสี 25 35 45 และ 50 Krad มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 59.38 47.09 72.83 และ 72.30 ตามลำดับ (ตารางที่ 21)

**ตารางที่ 21** จำนวนเมล็ดที่ปลูก จำนวนต้นที่งอก เปอร์เซ็นต์ความงอกเมื่ออายุ 7 วันหลังปลูก ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ ในชั่ว $M_2$

| ระดับรังสี( Krad ) | จำนวนเมล็ดที่ปลูก | จำนวนต้นที่งอก | เปอร์เซ็นต์ความงอก |
|---|---|---|---|
| 0 (ชุดควบคุม) | 40 | 32 | 77.50 |
| 25 | 256 | 152 | 59.38 |
| 35 | 172 | 81 | 47.09 |
| 45 | 184 | 134 | 72.83 |
| 50 | 491 | 355 | 72.30 |

**2.2 ระยะเวลาในการออกดอก**

จากถั่วฝักยาวชั่ว $M_2$ ที่ปลูกทั้งสิ้น 722 ต้น พบว่ามีบางต้นไม่สามารถออกดอกได้ เนื่องจากต้นแคระและเป็นโรคใบและยอดหงิก สาเหตุน่าจะเกิดจากไวรัสที่มีแมลงเป็นพาหะ จำนวนต้นของชุดควบคุมที่สามารถออกดอกมีเพียงจำนวน 5 ต้น จากการปลูก 40 ต้น ส่วนต้นที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับรังสี 25 35 45 และ 50 Krad มีจำนวนต้นที่สามารถออกดอกได้ 12 28 22 และ 128 ต้น ตามลำดับ

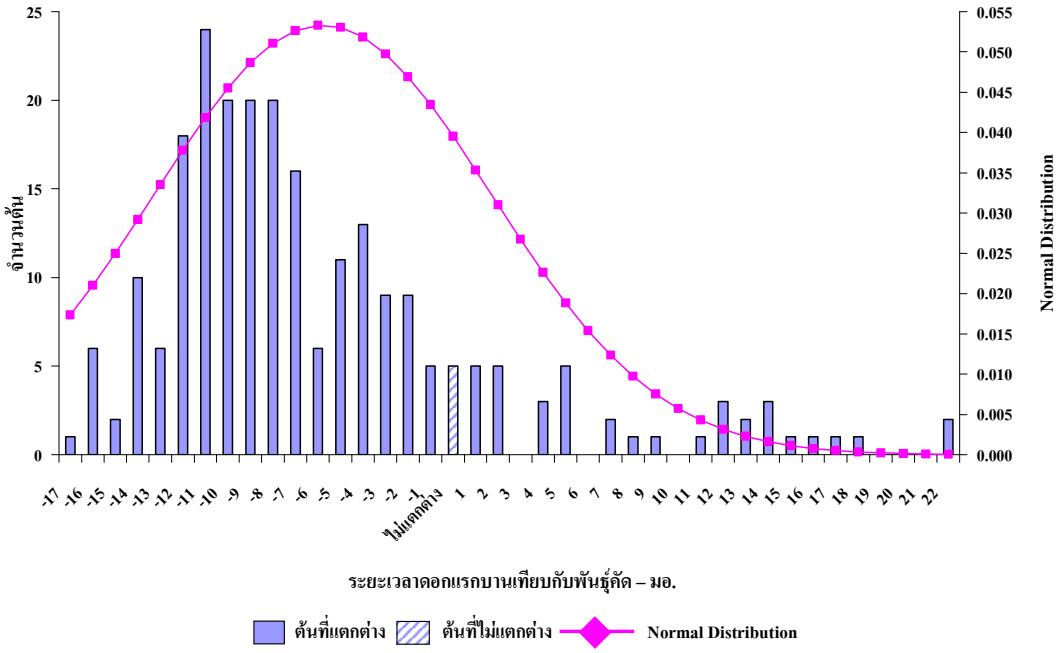
(ตารางที่ 22) ส่วนต้นที่ไม่สามารถออกดอกได้ในชั่ว $M_2$ มีจำนวนทั้งสิ้น 532 ต้น คิดเป็น 73.68 % ของจำนวนต้นทั้งหมดในชั่วลูก $M_2$ (ตารางที่ 22)

ค่าเฉลี่ยระยะเวลาในการออกดอกของถั่วฝักยาวชั่ว $M_2$ ของชุดควบคุม และต้นที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 25 35 45 และ 50 Krad มีค่า 63 64 61 61 และ 54 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 22) โดยพบว่าต้นที่ออกดอกเร็วที่สุดคือต้นในกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสี 50 Krad คือระยะเวลาออกดอกเพียง 47 วันเท่านั้น เมื่อพิจารณาความแตกต่างของระยะเวลาในการออกดอกที่แตกต่างกันในกลุ่มต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_2$ เปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของระยะเวลาในการออกดอกของถั่วฝักยาวชุดควบคุม พบว่าความแตกต่างของระยะเวลาในการออกดอกมีการกระจายตัวไม่ปกติ ส่วนใหญ่มีระยะเวลาการออกดอกน้อยกว่าค่าเฉลี่ยของต้นชุดควบคุม (รูปที่ 19)

**ตารางที่ 22** จำนวนต้นที่ติดดอก ค่าเฉลี่ยระยะเวลาในการออกดอก และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันในชั่ว $M_2$

| ระดับรังสี ( Krad ) | จำนวนต้นที่ติดดอก | | ระยะเวลาในการออกดอก ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วัน) |
|---|---|---|---|
| | จำนวนต้น | เปอร์เซ็นต์ | |
| 0 (ชุดควบคุม) | 5 | 15.63 | 63 ± 6 (54 – 69) [1/] |
| 25 | 12 | 7.89 | 64 ± 7 (52 – 74) |
| 35 | 28 | 34.57 | 61 ± 7 (49 – 70) |
| 45 | 22 | 16.42 | 61 ± 7 (48 – 71) |
| 50 | 128 | 36.06 | 54 ± 5 (47 – 75) |

[1/] ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด




**รูปที่ 19** การกระจายตัวความแตกต่างของระยะเวลาการออกดอกของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_2$ เปรียบเทียบกับระยะเวลาการออกดอกของชุดควบคุม

**2.3 จำนวนฝักต่อต้นและความยาวฝัก**

ในการปลูกถั่วฝักยาวชั่ว $M_2$ พบว่าจำนวนต้นจากชุดควบคุมที่สามารถเก็บเกี่ยวฝักได้มีเพียง 5 ต้น ส่วนต้นที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 25 35 45 และ 50 Krad มีจำนวนต้นที่สามารถเก็บเกี่ยวฝักได้ 1 5 1 และ 65 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 23)

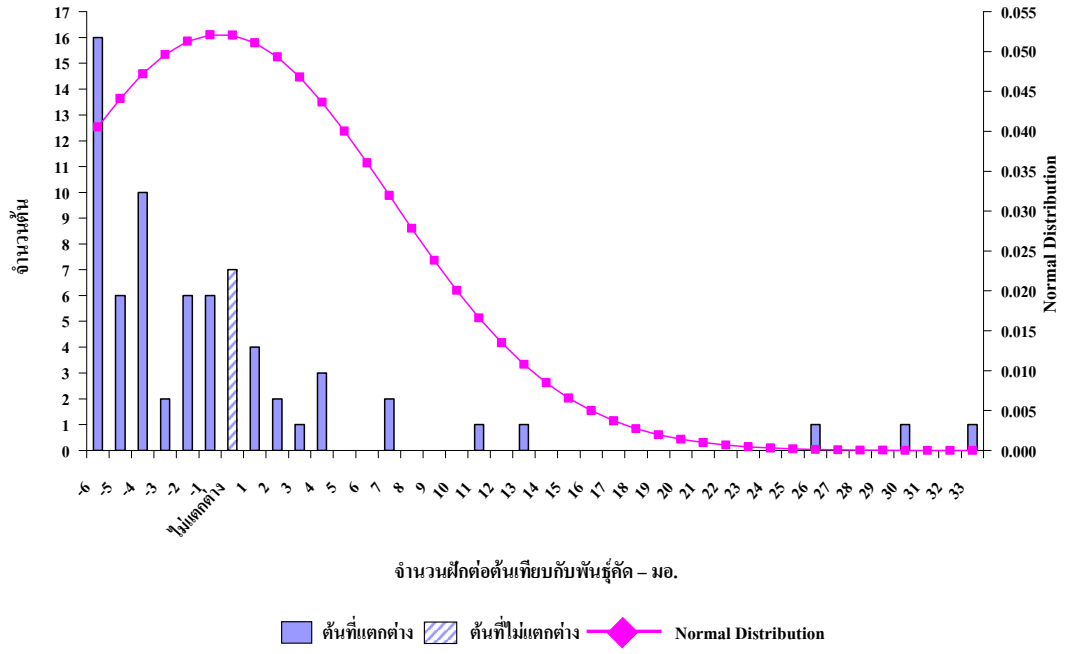
ค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้นของถั่วฝักยาวชั่ว $M_2$ ของชุดควบคุม และต้นที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 25 35 45 และ 50 Krad มีค่า 7 1 1 1 และ 5 ฝักต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 23) โดยพบว่าต้นที่มีจำนวนฝักต่อต้นมากที่สุดคือต้นในกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสี 50 Krad มีจำนวนฝัก 40 ฝักต่อต้น เมื่อนำจำนวนต้นที่มีจำนวนฝักต่อต้นในกลุ่มต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีระดับต่าง ๆ ในชั่ว $M_2$ มาเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้นของชุดควบคุม พบว่าความแตกต่างของจำนวนฝักต่อต้นของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีกับชุดควบคุม มีการกระจายตัวไม่ปกติ (รูปที่ 20)

ค่าเฉลี่ยความยาวฝักของถั่วฝักยาวชั่ว $M_2$ ของชุดควบคุม และต้นที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 25 35 45 และ 50 Krad มีค่า 40.3 48.0 46.0 52.3 และ 40.7 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 23) โดยพบว่าต้นที่มีค่าเฉลี่ยความยาวฝักต่อต้นมากที่สุดคือต้นในกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสี 50 Krad มีค่าเฉลี่ยความยาวฝัก 69.6 เซนติเมตร เมื่อนำจำนวนต้นในกลุ่มต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีระดับต่าง ๆ ในชั่ว $M_2$ มาเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยความยาวฝักของชุดควบคุม พบว่าความยาวฝักของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีมีการกระจายตัวไม่ปกติ ดังแสดงในรูปที่ 21

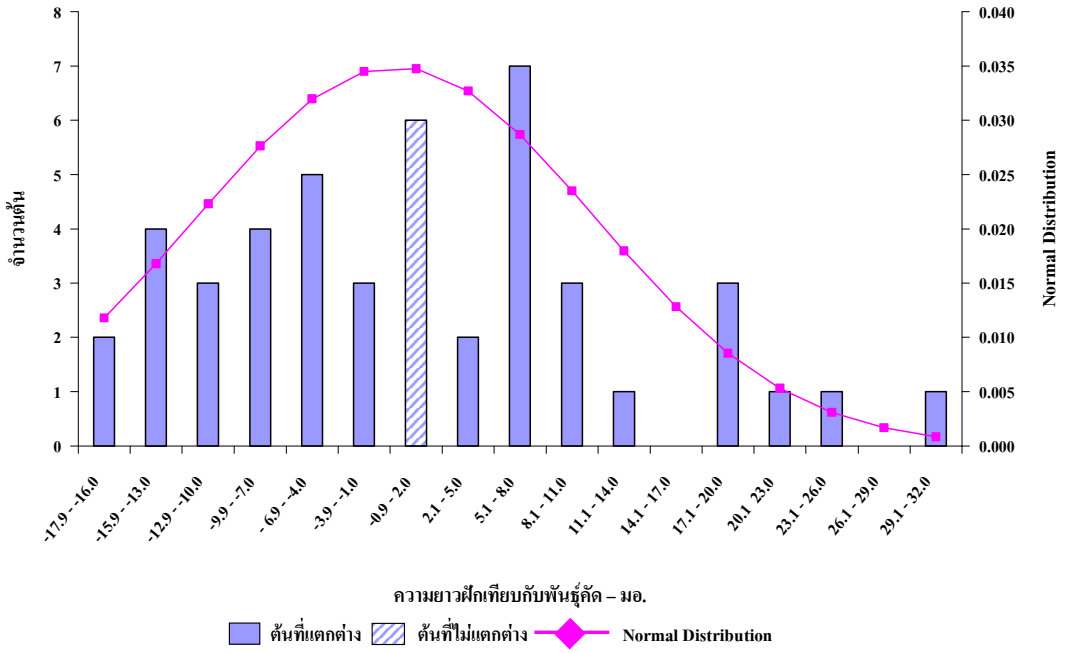
**ตารางที่ 23** จำนวนต้นที่เก็บเกี่ยว ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝักของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันในชั่ว $M_2$

| ระดับรังสี | ต้นที่สามารถเก็บเกี่ยว | | ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน | |
|---|---|---|---|---|
| (Krad) | จำนวนต้น | เปอร์เซ็นต์ | จำนวนฝักต่อต้น | ความยาวฝัก (ซม.) |
| 0 ( ชุดควบคุม ) | 5 | 15.63 | 7 ± 2 | 40.3 ± 1.2 |
| | | | (3 – 9) [1/] | (38.7 – 41.9) [1/] |
| 25 | 1 | 0.66 | 1 | 48.0 |
| 35 | 5 | 6.17 | 1 ± 1 | 46.0 ± 14.7 |
| | | | (1 – 3) | (25.3 – 60.1) |
| 45 | 1 | 0.75 | 1 | 52.3 |
| 50 | 65 | 18.31 | 5 ± 4 | 40.7 ± 11.2 |
| | | | (1 – 40) | (22.8 – 69.6) |

[1/] ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด




**รูปที่ 20** การกระจายตัวความแตกต่างของจำนวนฝักต่อต้นของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_2$ เปรียบเทียบกับจำนวนฝักต่อต้นของชุดควบคุม




**รูปที่ 21** การกระจายตัวความแตกต่างของความยาวฝักของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_2$ เปรียบเทียบกับความยาวฝักของชุดควบคุม

**2.4 อัตราการกลายพันธุ์ และลักษณะผิดปกติ**

จากการสังเกตด้วยสายตา พบต้นที่มีลักษณะเป็นต้นแคระจำนวน 2 ต้น (รูปที่ 22)จากกลุ่มต้นที่ผ่านการฉายรังสี 50 Krad ในชั่ว $M_1$ (ใช้สัญลักษณ์ PSU50 – 001) จากจำนวนต้นในชั่ว $M_2$ จำนวน 722 ต้น อัตราการกลายพันธุ์ของลักษณะต้นแคระเท่ากับ 0.28 % (ตารางที่ 10) เมื่อเทียบกับต้นในชั่วลูก $M_2$ ทั้งหมด ซึ่งต้นดังกล่าวนี้ไม่สามารถออกดอกได้ อย่างไรก็ตามต้น PSU50 – 001 ในชั่ว $M_1$ มีลักษณะใบใหญ่ ผลผลิตดก ฝักมีขนาดยาว และออกดอกเร็ว (42 วันหลังปลูก)

ต้นที่สามารถติดดอกแต่ไม่ติดฝักมีจำนวน 118 ต้น คิดเป็น 16.34 % และต้นที่ติดฝักแต่ไม่ติดเมล็ดมีจำนวน 25 ต้น เมื่อคำนวณอัตราการกลายพันธุ์ของลักษณะการมีฝักแต่ไม่ติดเมล็ดเท่ากับ 3.46 % เมื่อคิดเทียบกับต้นในชั่ว $M_2$ ทั้งหมด (ตารางที่ 24)

**ตารางที่ 24** เปอร์เซ็นต์ต้นผิดปกติ ในลักษณะต้นแคระ ลักษณะเป็นหมันเนื่องจากไม่มีการสร้างดอก มีการสร้างดอกแต่ไม่ติดฝัก และติดฝักแต่ไม่มีเมล็ด ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กัน ในชั่ว $M_2$

| ชนิดของการผิดปกติ | จำนวนต้น | ต้นแคระ | ต้นเป็นหมัน | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | ไม่มีการสร้างดอก | มีดอกแต่ไม่ติดฝัก | ติดฝักแต่ฝักไม่ติดเมล็ด |
| จำนวนต้น | 722 | 2 | 532 | 118 | 25 |
| 25 Krad | 152 | 0 | 140 | 11 | 0 |
| 35 Krad | 81 | 0 | 53 | 23 | 1 |
| 45 Krad | 134 | 0 | 112 | 21 | 1 |
| 50 Krad | 355 | 2 | 227 | 63 | 23 |
| เปอร์เซ็นต์ต้นผิดปกติ (ทั้งหมด) | | 0.28 | 73.68 | 16.34 | 3.46 |

**รูปที่ 22** ลักษณะต้นแคระในชั่วที่ 2 ($M_2$) ที่พบในต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 50 Krad

**3. การปลูกทดสอบต้นถั่วฝักยาวชั่ว $M_3$**

เมล็ดที่เก็บเกี่ยวได้จากต้น $M_2$ มีจำนวน 47 ต้น (สายต้น) จากทั้งหมด 722 ต้น เนื่องจากต้นส่วนใหญ่ไม่สามารถออกดอก สามารถเก็บเกี่ยวเมล็ดได้ 1,666 เมล็ด ประกอบด้วยระดับรังสี 25, 35 และ 50 Krad จำนวน 6, 43 และ 1,617 เมล็ด ตามลำดับ ส่วนต้นที่ผ่านการฉายรังสี 45 Krad ไม่สามารถเก็บเกี่ยวเมล็ดได้ นำเมล็ดทั้งหมดมาปลูกทดสอบ ณ แปลงทดลอง สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา โดยปลูกแบบ

ต้นต่อแถว ใช้ระยะระหว่างต้น 50 เซนติเมตร พบว่าเมล็ดมีอัตราการงอกค่อนข้างต่ำ บางเมล็ดไม่สามารถงอกได้ ทำให้จำนวนสายต้นเริ่มต้นในชั่ว $M_3$ มีทั้งสิ้น 35 สายต้น ประกอบด้วยจำนวนต้นทั้งหมด 269 ต้น (ตารางที่ 25)

จากการปลูกทดสอบในชั่วที่ 3 ($M_3$) บันทึกลักษณะต่าง ๆ เช่นเดียวกับชั่ว $M_2$ ซึ่งปรากฏผลการทดลองดังนี้

**3.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวชั่ว $M_3$**

เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวชั่ว $M_3$ พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของชุดควบคุม มีค่าสูงที่สุด 100.00 ส่วนเมล็ดที่ได้จากต้น $M_2$ ในสายต้นที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 25, 35 และ 50 Krad มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 0, 32.56 และ 15.77 ตามลำดับ (ตารางที่ 25)

**ตารางที่ 25** จำนวนเมล็ดที่ปลูก จำนวนต้นที่งอก และเปอร์เซ็นต์ความงอกเมื่ออายุ 7 วันหลังปลูก ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ในชั่ว $M_3$

| ระดับรังสี ( Krad ) | จำนวนเมล็ดที่ปลูก | จำนวนต้นที่งอก | ความงอก (%) |
|---|---|---|---|
| 0 (ชุดควบคุม) | 44 | 44 | 100.00 |
| 25 | 6 | 0 | 0.00 |
| 35 | 43 | 14 | 32.56 |
| 45 | - | - | - |
| 50 | 1617 | 255 | 15.77 |

**3.2 ระยะเวลาในการออกดอก**

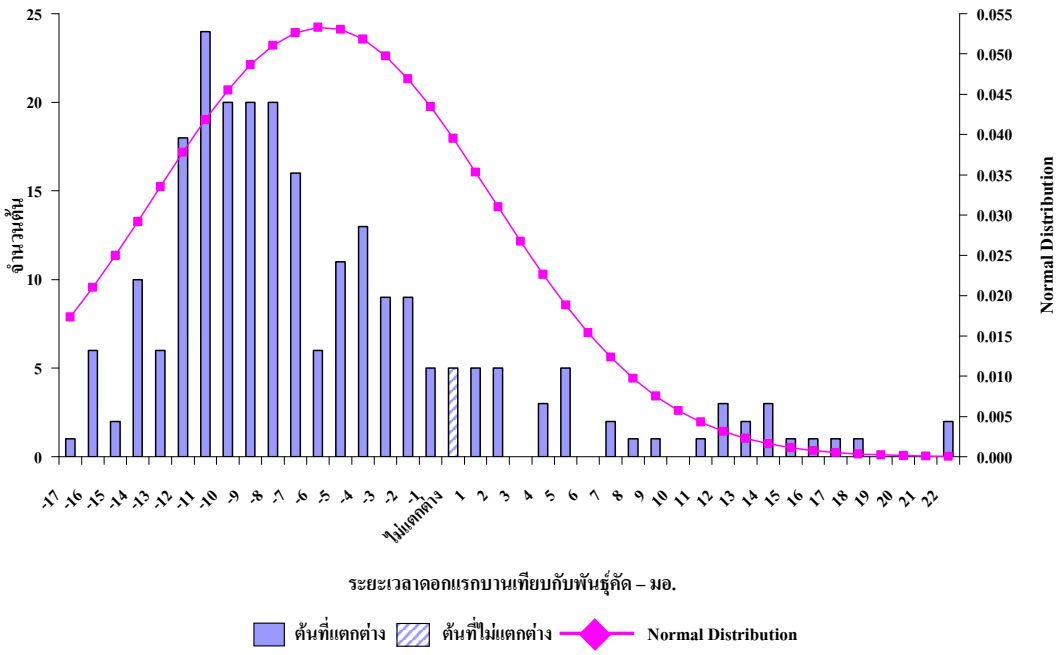
จากถั่วฝักยาวชั่ว $M_3$ ที่ปลูกทั้งสิ้น 269 ต้น พบว่า ต้นชุดควบคุมสามารถออกดอกได้ทั้งหมด (44 ต้น) ส่วนต้นที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 35 และ 50 Krad มีจำนวนต้นที่สามารถออกดอกได้ 17 และ 221 ต้นตามลำดับ ต้นในชุดควบคุมใช้เวลาเฉลี่ย 46 วัน (42 – 55) สำหรับดอกแรกบาน ส่วนต้นที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 35 และ 50 Krad มีค่าเฉลี่ยระยะเวลาในการออกดอก 45 วัน (33 – 68) และ 40 วัน (26 – 64) ตามลำดับ (ตารางที่ 26) ในกลุ่มต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 50 Krad มีต้นที่ไม่สามารถออกดอกได้จำนวน 31 ต้น คิดเป็น 11.52 % ของต้นในชั่ว $M_3$ ทั้งหมด (ตารางที่ 26)

เมื่อนำจำนวนต้นที่มีระยะเวลาในการออกดอกแตกต่างกันในกลุ่มต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_3$ มาเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของระยะเวลาในการออกดอกของชุดควบคุม พบว่าความแตกต่างของระยะเวลาการออกดอกของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีกับชุดควบคุม (รูปที่ 23)

**ตารางที่ 26** ค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันในชั่ว $M_3$

| ระดับรังสี ( Krad ) | จำนวนต้นที่ติดดอก | ระยะเวลาในการออกดอก ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วัน) |
|---|---|---|
| 0 (ชุดควบคุม) | 44 | 46 ± 3 (42 – 55) [1/] |
| 25 | 0 | - |
| 35 | 17 | 45 ± 12(33 – 68) |
| 45 | - | - |
| 50 | 221 | 40 ± 7 (26 – 64) |

[1/] ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด




**รูปที่ 23** การกระจายตัวความแตกต่างของระยะเวลาการออกดอกของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_3$ เปรียบเทียบกับระยะเวลาการออกดอกของชุดควบคุม

**3.3 จำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝัก**

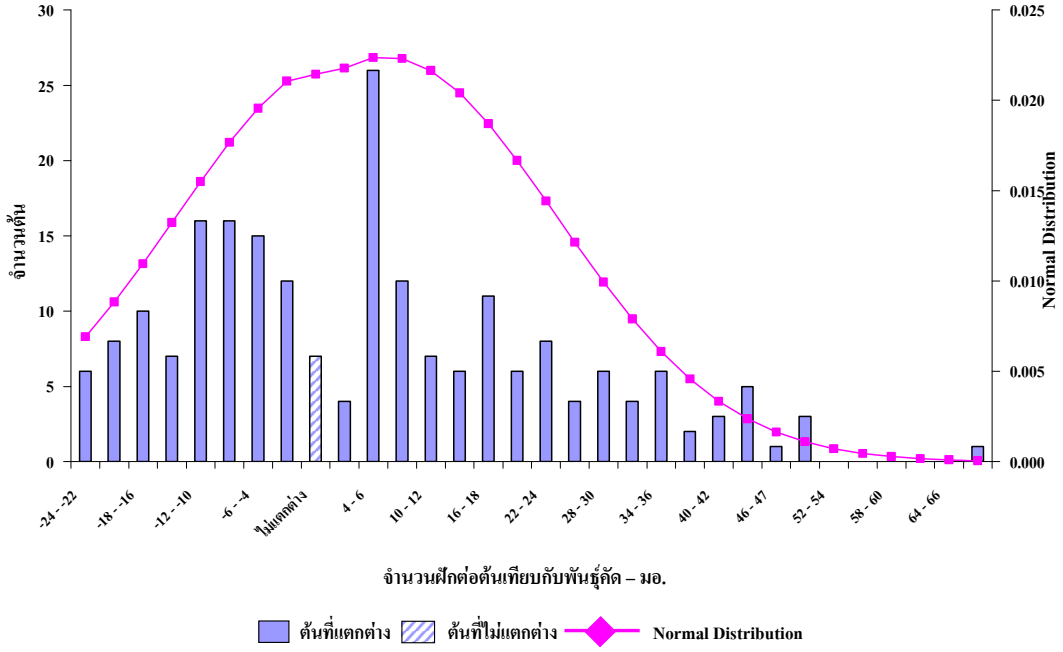
ในการปลูกถั่วฝักยาวชั่ว $M_3$ พบว่าต้นที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 35 และ 50 Krad มีจำนวนต้นที่สามารถเก็บเกี่ยวฝักได้ 13 และ 199 ต้น ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมทุกต้นสามารถเก็บเกี่ยวฝักได้ ค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้นของชุดควบคุมเท่ากับ 25 ฝัก (19 – 32) ส่วนต้นที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 35 และ 50 Krad มีค่า 20 ฝัก (1 – 39) และ 30 ฝัก (1 – 91) ตามลำดับ (ตารางที่ 27) โดยพบว่าต้นที่มีจำนวนฝักต่อต้นมากที่สุดคือต้นในกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสี 50 Krad มีจำนวนฝัก 91 ฝักต่อต้น เมื่อนำจำนวนต้นที่มีจำนวนฝักต่อต้นในกลุ่มต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีระดับต่าง ๆ ในชั่ว $M_3$ มาเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้นของชุดควบคุม พบว่าความแตกต่างของจำนวนฝักต่อต้นของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีกับชุดควบคุม มีการกระจายตัวปกติ (รูปที่ 24)

ค่าเฉลี่ยความยาวฝักของถั่วฝักยาวของชุดควบคุม และต้นที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 35 และ 50 Krad มีค่า 41.3 เซนติเมตร (38.7 – 42.9), 52.2 เซนติเมตร (39.4 – 58.8) และ 60.6 เซนติเมตร (32.3 – 88.6) ตามลำดับ (ตารางที่ 27) โดยพบว่าต้นที่มีค่าเฉลี่ยความยาวฝักต่อต้นมากที่สุดคือต้นในกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสี 50 Krad เช่นกัน เมื่อนำจำนวนต้นที่มีความยาวฝักในกลุ่มที่ผ่านการฉายรังสีระดับต่าง ๆ ในชั่ว $M_3$ มาเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยความยาวฝักของชุดควบคุม พบว่าความแตกต่างของความยาวฝักของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 35 และ 50 Krad กับชุดควบคุม ในชั่ว $M_3$ มีการกระจายตัวไม่ปกติ (รูปที่ 25)

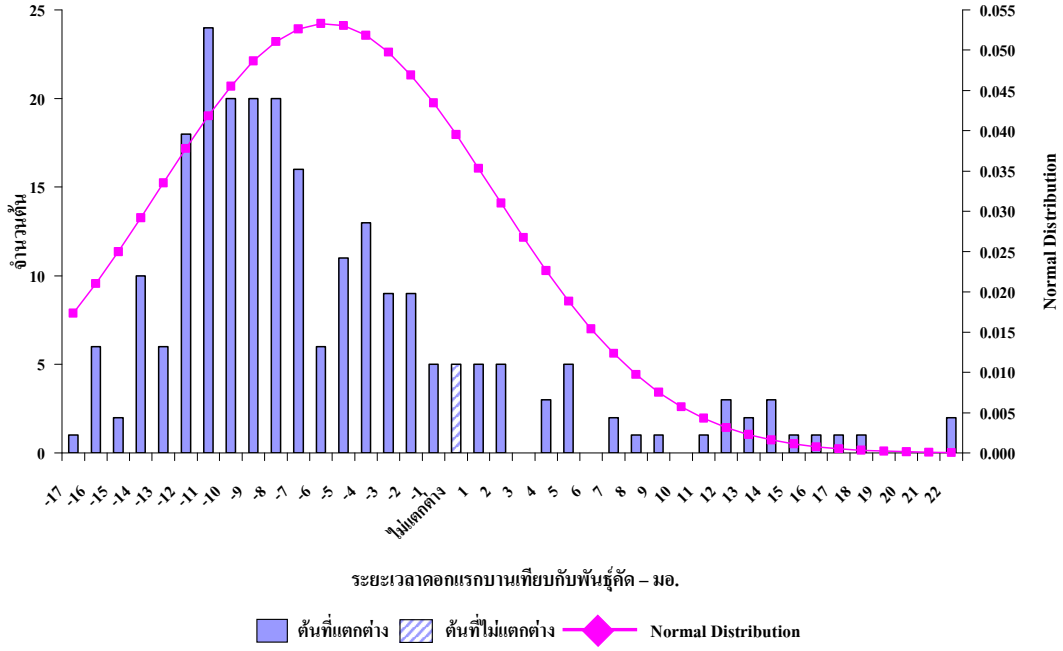
**ตารางที่ 27** ค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของจำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝัก ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กันในชั่ว $M_3$

| ระดับรังสี (Krad) | จำนวนต้นที่เก็บเกี่ยว | ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน | |
|---|---|---|---|
| | | จำนวนฝักต่อต้น | ความยาวฝัก (ซม.) |
| 0 (ชุดควบคุม) | 44 | 25 ± 4 (19 – 32) [1/] | 41.3 ± 1.4 (38.7 – 42.9) |
| 25 | - | - | - |
| 35 | 13 | 20 ± 12 (1 – 39) | 52.2 ± 6.4 (39.4 – 58.8) |
| 45 | - | - | - |
| 50 | 199 | 30 ± 18 (1 – 91) | 60.6 ± 7.7 (32.3 – 88.6) |

[1/] ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด




**รูปที่ 24** การกระจายตัวความแตกต่างของจำนวนฝักต่อต้นของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_3$ เปรียบเทียบกับจำนวนฝักต่อต้นของชุดควบคุม




**รูปที่ 25** การกระจายตัวความแตกต่างของความยาวฝักของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีในชั่ว $M_3$ เปรียบเทียบกับความยาวฝักของชุดควบคุม

**3.4 ลักษณะผิดปกติ**

จากต้นที่เก็บเกี่ยวฝักได้ 212 ต้น (ไม่รวมต้นในชุดควบคุม) พบต้นที่ฝักไม่ติดเมล็ดจำนวน 15 ต้น เป็นต้นที่มาจากถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 35 และ 50 Krad จำนวน 4 และ 11 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 28)

จากการสังเกตด้วยสายตา พบต้นที่มีลักษณะแคระจำนวน 22 ต้น ลักษณะต้นแคระที่พบสามารถแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะคือ 1. ลักษณะต้นแคระเป็นพุ่ม (รูปที่ 26) และ 2. ลักษณะต้นแคระกึ่งเลื้อย (รูปที่ 27) และยังพบต้นที่มีใบแฝดจำนวน 2 ต้น ในสายต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 50 Krad นอกจากนี้ยังพบต้นที่ให้ฝักลักษณะหางหนูทั้งต้นจำนวน 51 ต้น ซึ่งลักษณะที่ไม่ต้องการเป็นลักษณะไม่ดีของถั่วฝักยาว กระจายอยู่ในถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีระดับ 35 และ 50 Krad โดยแบ่งเป็น 35 Krad จำนวน 3 ต้น และ 50 Krad จำนวน 48 ต้น (ตารางที่ 28)

**ตารางที่ 28** เปอร์เซ็นต์ต้นที่ผิดปกติ ในลักษณะต้นแคระ ลักษณะเป็นหมัน เนื่องจากไม่มีการสร้างดอก มีการสร้างดอกแต่ดอกไม่ติดฝัก ติดฝักแต่ไม่ติดเมล็ด และลักษณะฝักไม่ต้องการของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีปริมาณต่าง ๆ กัน ในชั่ว $M_3$

| ชนิดของการผิดปกติ | จำนวนต้น | ต้นแคระ | ต้นเป็นหมัน | | | ลักษณะฝักไม่ต้องการ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ไม่สร้างดอก | สร้างดอกแต่ไม่มีฝัก | ฝักไม่ติดเมล็ด | |
| จำนวนต้น | 269 | 22 | 31 | 26 | 15 | 51 |
| 25 Krad | - | - | - | - | - | - |
| 35 Krad | 14 | 0 | 0 | 4 | 4 | 3 |
| 45 Krad | - | - | - | - | - | - |
| 50 Krad | 255 | 22 | 31 | 22 | 11 | 48 |
| เปอร์เซ็นต์ต้นผิดปกติ (ทั้งหมด) | 100 | 8.18 | 11.52 | 9.67 | 5.58 | 18.96 |

**3.5 การคัดเลือก**

จากการบันทึกข้อมูลเป็นรายต้นในถั่วฝักยาวชั่ว $M_3$ ที่ปลูกทั้งสิ้น 269 ต้น ทำการคัดเลือกทิ้งต้นที่มีลักษณะแคระ และต้นที่เป็นหมัน ซึ่งเป็นลักษณะที่ส่งผลต่อผลผลิต รวมทั้งต้นที่ให้ฝักแบบหางหนูทั้งต้นออกจากประชากร ดังนั้นประชากรที่เริ่มต้นในการคัดเลือกมีจำนวน 197 ต้น จากนั้นทำการคัดเลือกต้นที่มีระยะเวลาในการออกดอกเร็วกว่าชุดควบคุม จำนวนฝักต่อต้นมากกว่าชุดควบคุม

อย่างน้อย 20 % ค่าเฉลี่ยความยาวฝักมากกว่า 50 เซนติเมตร ดังนั้นต้นที่ผ่านการคัดเลือกจะต้องมีลักษณะดังนี้ มีระยะเวลาการออกดอกเร็วกว่า 46 วัน มีจำนวนฝักต่อต้นมากกว่า 30 ฝักต่อต้น และความยาวฝักมีค่า 50 เซนติเมตรขึ้นไป โดยคัดเลือกไว้ประมาณ 20 % ของประชากร

จากลักษณะที่ตั้งไว้ในเบื้องต้นปรากฏว่ามีจำนวนต้นที่ผ่านการคัดเลือก 48 ต้น ซึ่งมีจำนวนมากกว่าต้นที่ต้องการ ดังนั้นจึงกลับไปคัดเลือกในระยะเวลาการออกดอก โดยคัดเลือกต้นที่มีระยะเวลาการออกดอกเร็วที่สุดไว้ 39 ต้น มีต้นที่ผ่านการคัดเลือกดังแสดงในตารางที่ 29

**รูปที่ 26** ลักษณะต้นแคระแบบพุ่มในชั่วที่ 3 ($M_3$) ที่พบในต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 50 Krad

**รูปที่ 27** ลักษณะต้นแคระแบบกึ่งเลื้อยในชั่วที่ 3 ($M_3$) ที่พบในต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีที่ระดับ 50 Krad

**ตารางที่ 29** ต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการคัดเลือก จากกลุ่มประชากรที่ผ่านการฉายรังสีโดยอาศัยลักษณะระยะเวลาในการออกดอก จำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝักเป็นเกณฑ์

| ลำดับ | หมายเลขสายต้น | ระยะเวลาในการออกดอก (วัน) | จำนวนฝักต่อต้น | ความยาวฝัก (ซม.) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | PSU50 – 003 – 001 – 006 | 30 | 64 | 58.4 |
| 2 | PSU50 – 005 – 004 – 002 | 30 | 32 | 60.4 |
| 3 | PSU50 – 003 – 009 – 004 | 31 | 38 | 63.1 |
| 4 | PSU50 – 001 – 009 – 079 | 32 | 43 | 65.0 |
| 5 | PSU50 – 001 – 009 – 081 | 32 | 36 | 72.2 |
| 6 | PSU50 – 003 – 036 – 021 | 32 | 30 | 57.4 |
| 7 | PSU50 – 005 – 018 – 006 | 32 | 40 | 54.4 |
| 8 | PSU35 – 032 – 008 – 001 | 33 | 46 | 57.9 |
| 9 | PSU50 – 001 – 009 – 055 | 34 | 44 | 63.3 |
| 10 | PSU50 – 002 – 012 – 002 | 34 | 33 | 64.9 |
| 11 | PSU50 – 003 – 002 – 004 | 34 | 59 | 55.9 |
| 12 | PSU50 – 003 – 036 – 023 | 34 | 33 | 60.8 |
| 13 | PSU50 – 001 – 009 – 013 | 35 | 30 | 55.6 |
| 14 | PSU50 – 001 – 009 – 035 | 35 | 56 | 63.0 |
| 15 | PSU50 – 003-012 – 001 | 35 | 53 | 58.1 |
| 16 | PSU50 – 003 – 012 – 011 | 35 | 73 | 64.0 |
| 17 | PSU50 – 003 – 036 – 001 | 35 | 33 | 63.1 |
| 18 | PSU50 – 003 – 036 – 003 | 35 | 57 | 58.8 |
| 19 | PSU50 – 003 – 036 – 017 | 35 | 50 | 68.9 |
| 20 | PSU50 – 001 – 009 – 015 | 36 | 55 | 67.0 |
| 21 | PSU50 – 001 – 009 – 059 | 36 | 63 | 60.0 |
| 22 | PSU50 – 001 – 009 – 088 | 36 | 39 | 63.6 |
| 23 | PSU50 – 002 – 012 – 005 | 36 | 49 | 70.3 |
| 24 | PSU50 – 001 – 009 – 033 | 37 | 40 | 61.3 |
| 25 | PSU50 – 001 – 009 – 078 | 37 | 38 | 62.3 |
| 26 | PSU50 – 002 – 012 – 003 | 37 | 62 | 63.3 |
| 27 | PSU50 – 003 – 036 – 027 | 37 | 74 | 60.5 |

**ตารางที่ 29** (ต่อ)

| ลำดับ | หมายเลขสายต้น | ระยะเวลาในการออกดอก (วัน) | จำนวนฝักต่อต้น | ความยาวฝัก (ซม.) |
|---|---|---|---|---|
| 28 | PSU50 – 005 – 004 – 001 | 37 | 46 | 64.1 |
| 29 | PSU50 – 005 – 004 – 005 | 37 | 59 | 62.3 |
| 30 | PSU50 – 001 – 009 – 002 | 38 | 31 | 68.3 |
| 31 | PSU50 – 001 – 009 – 036 | 38 | 42 | 64.9 |
| 32 | PSU50 – 001 – 009 – 077 | 38 | 40 | 60.9 |
| 33 | PSU50 – 001 – 009 – 087 | 38 | 30 | 69.7 |
| 34 | PSU50 – 003 – 036 – 002 | 38 | 37 | 62.1 |
| 35 | PSU50 – 003 – 036 – 014 | 38 | 30 | 62.9 |
| 36 | PSU50 – 001 – 006 – 002 | 39 | 40 | 67.6 |
| 37 | PSU50 – 001 – 009 – 009 | 39 | 45 | 68.5 |
| 38 | PSU50 – 001 – 009 – 029 | 39 | 44 | 72.2 |
| 39 | PSU50 – 001 – 009 – 050 | 39 | 54 | 69.1 |
| 40 | พันธุ์คัด – มอ. | 46 | 25 | 41.3 |

ต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการคัดเลือก ประกอบด้วยต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสี 35 และ 50 Krad จำนวน 1 และ 38 ต้น ตามลำดับ

**4. การปลูกทดสอบต้นถั่วฝักยาวชั่ว $M_4$**

เมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวได้จากชั่ว $M_3$ จากต้นที่ผ่านการคัดเลือก 39 ต้น (สายต้น) และปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์คัด – มอ. (ชุดควบคุม) โดยปลูกทดสอบ ณ แปลงทดลองคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ใช้ระยะปลูกต่อต้น 50 เซนติเมตร และระยะระหว่างแถว 50 เซนติเมตร พบว่าเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกค่อนข้างต่ำ เนื่องจากในช่วงที่เก็บเกี่ยวเมล็ดมีฝนตก

จากผลการทดสอบในชั่วที่ 4 ($M_4$) บันทึกลักษณะต่าง ๆ เช่นเดียวกับชั่ว $M_3$ ทำการบันทึกเพิ่มเติมในลักษณะผลผลิตต่อต้น และผลผลิตต่อสายต้น ปรากฏผลการทดลองดังนี้

**4.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวชั่ว $M_4$**

เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวชั่ว $M_4$ พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของชุดควบคุมมีค่า 65.00 ส่วนเมล็ดที่ได้จากต้น $M_3$ ในสายต้นที่ผ่านการคัดเลือกมีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำที่สุด 37.50 (PSU50-001-006-002) และสูงที่สุด 92.50 (PSU50-003-036-003) (ตารางที่ 30)

**ตารางที่ 30** เปอร์เซ็นต์ความงอกของถั่วฝักยาว 39 สายต้น ในชั่ว $M_4$

| หมายเลขสายต้น | เปอร์เซ็นต์ความงอก |
|---|---|
| PSU50-001-006-002 | 37.50 |
| PSU50-001-009-009 | 40.00 |
| PSU50-003-012-001 | 47.50 |
| PSU50-001-009-035 | 57.50 |
| PSU50-005-004-002 | 57.50 |
| PSU50-003-036-002 | 60.00 |
| PSU50-001-009-036 | 62.50 |
| PSU50-001-009-079 | 62.50 |
| PSU50-001-009-088 | 62.50 |
| PSU50-001-009-078 | 67.50 |
| PSU50-001-009-081 | 67.50 |
| PSU50-003-036-017 | 67.50 |
| PSU50-003-036-023 | 67.50 |
| PSU50-001-009-015 | 70.00 |
| PSU50-001-009-059 | 70.00 |
| PSU50-005-018-006 | 70.00 |
| PSU35-032-008-001 | 72.50 |
| PSU50-003-036-001 | 72.50 |
| PSU50-001-009-013 | 75.00 |
| PSU50-002-012-005 | 75.00 |
| PSU50-003-009-004 | 75.00 |
| PSU50-003-012-011 | 75.00 |
| PSU50-001-009-050 | 77.50 |
| PSU50-002-012-002 | 80.00 |

**ตารางที่ 30** (ต่อ)

| หมายเลขสายต้น | เปอร์เซ็นต์ความงอก |
|---|---|
| PSU50-002-012-003 | 80.00 |
| PSU50-003-036-027 | 80.00 |
| PSU50-001-009-029 | 82.50 |
| PSU50-003-001-006 | 82.50 |
| PSU50-003-002-004 | 82.50 |

**4.2 ระยะเวลาในการออกดอก**

ในการปลูกทดสอบถั่วฝักยาวชั่ว $M_4$ ประกอบด้วยสายต้นที่ผ่านการคัดเลือกจากชั่วที่ 3 จำนวน 39 สายต้น จำนวน 1560 เมล็ด และพันธุ์คัด – มอ. (ชุดควบคุม) พบว่าค่าเฉลี่ยระยะเวลาในการออกดอกเร็วที่สุด 46 วัน (PSU50-003-036-002) และช้าที่สุด 54 วัน (PSU50-001-009-077) เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาในการออกดอกของแต่ละต้นพบว่า ระยะเวลาในการออกดอกที่เร็วที่สุด 24 วัน (สายต้น 50-003-036-002) และที่ช้าที่สุด 64 วัน (สายต้น 50-003-001-006) (ตารางที่ 31)

**ตารางที่ 31** จำนวนต้นที่ดอกบาน และค่าเฉลี่ยระยะเวลาในการออกดอกของถั่วฝักยาว 39 สายต้น ในชั่ว $M_4$ และพันธุ์คัด – มอ.

| หมายเลขสายต้น | จำนวนต้นที่ดอกบาน | ระยะเวลาในการออกดอก ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วัน) |
|---|---|---|
| PSU50-003-036-002 | 22 | 46 ± 7.31 (24 – 57) [1/] |
| PSU50-005-004-001 | 33 | 47 ± 3.56 (40 – 56) |
| PSU35-032-008-001 | 20 | 47 ± 5.73 (54 – 33) |
| PSU50-001-006-002 | 15 | 47 ± 5.98 (29 – 55) |
| PSU50-003-012-001 | 24 | 48 ± 3.39 (41 – 58) |
| PSU50-005-004-005 | 31 | 48 ± 3.98 (40 – 56) |
| PSU50-001-009-087 | 15 | 48 ± 4.83 (39 – 56) |
| PSU50-003-036-027 | 28 | 49 ± 3.65 (44 – 57) |
| PSU50-003-036-003 | 27 | 49 ± 4.54 (36 – 59) |
| PSU50-003-036-014 | 16 | 49 ± 5.73 (42 – 62) |
| PSU50-001-009-033 | 19 | 50 ± 3.20 (42 – 57) |
| PSU50-003-012-011 | 25 | 50 ± 3.50 (40 – 55) |

**ตารางที่ 31** (ต่อ)

| หมายเลขสายต้น | จำนวนต้นที่ดอกบาน | ระยะเวลาในการออกดอก ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (วัน) |
|---|---|---|
| PSU50-001-009-029 | 13 | 50 ± 4.53 (42 – 58) |
| PSU50-003-036-021 | 35 | 50 ± 4.70 (40 – 61) |
| PSU50-003-036-001 | 16 | 50 ± 4.98 (41 – 57) |
| PSU50-001-009-055 | 31 | 50 ± 4.99 (36 – 59) |
| PSU50-002-012-005 | 24 | 52 ± 5.06 (43 – 61) |
| PSU50-001-009-035 | 17 | 52 ± 5.19 (40 – 59) |
| PSU50-001-009-036 | 17 | 52 ± 5.40 (41 – 61) |
| PSU50-001-009-079 | 9 | 53 ± 4.27 (46 – 59) |
| PSU50-001-009-078 | 16 | 53 ± 3.49 (44 – 60) |
| PSU50-002-012-002 | 26 | 53 ± 4.49 (45 – 61) |
| PSU50-001-009-013 | 19 | 53 ± 4.62 (43 – 60) |
| PSU50-003-036-017 | 17 | 53 ± 5.01 (44 – 63) |
| PSU50-003-001-006 | 26 | 53 ± 5.80 (41 – 64) |
| PSU50-001-009-081 | 14 | 53 ± 7.66 (33 – 62) |
| PSU50-001-009-077 | 28 | 54 ± 4.11 (42 – 62) |
| Selected-PSU | 19 | 53 ± 5.94 (40 – 62) |

[1/] ค่าต่ำสุด – ค่าสูงสุด

**4.3 จำนวนฝักต่อต้น ความยาวฝัก น้ำหนักฝักและผลผลิตต่อต้น**

ในการปลูกถั่วฝักยาวชั่ว $M_4$ พบว่าต้นที่ผ่านการฉายรังสีมีค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้น 2 – 9 ฝัก ในขณะที่ชุดควบคุมทุกต้นสามารถเก็บเกี่ยวฝักได้ 5 ฝัก ตามลำดับ (ตารางที่ 18) โดยพบว่าต้นที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้นมากที่สุดคือสายต้น PSU50-005-004-002 มีจำนวนฝัก 6 ฝักต่อต้น และสายต้นที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้นน้อยที่สุดคือ PSU50-001-009-081 PSU50-003-002-004 และ PSU50-003-036-001 มีจำนวน 2 ฝักต่อต้น

ค่าเฉลี่ยความยาวฝักของถั่วฝักยาวของชุดควบคุม มีค่า 37.9 เซนติเมตร และต้นที่ผ่านการฉายรังสีมีค่าเฉลี่ยความยาวฝักต่อต้นมากที่สุดคือสายต้น PSU50-001-009-013 (72.5 เซนติเมตร) และสายต้นที่มีค่าเฉลี่ยความยาวฝักต่อต้นน้อยที่สุดคือ PSU50-003-001-006 (51.0 เซนติเมตร) (ตารางที่ 32)

ค่าเฉลี่ยน้ำหนักฝักต่อต้นของถั่วฝักยาวของชุดควบคุม มีค่า 23.1543 กรัม และต้นที่ผ่านการฉายรังสีมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักฝักต่อต้นมากที่สุดคือสายต้น PSU50-001-009-081 (40.3483 กรัม) และสายต้นที่มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักฝักต่อต้นน้อยที่สุดคือ PSU50-001-009-029 (20.1465 กรัม) (ตารางที่ 32)

ค่าเฉลี่ยน้ำหนักผลผลิตต่อต้นของถั่วฝักยาวของชุดควบคุมมีค่า 115.7715 กรัม ต้นที่ผ่านการฉายรังสี พบว่าต้นที่มีน้ำหนักผลผลิตต่อต้นมากที่สุดคือสายต้น PSU50-003-036-021 (267.6373 กรัม) และสายต้นที่มีน้ำหนักผลผลิตต่อต้นน้อยที่สุดคือ PSU50-003-002-004 (35.1962 กรัม) (ตารางที่ 32)

**ตารางที่ 32** ค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝักของถั่วฝักยาว 39 สายต้นในชั่ว $M_4$ และพันธุ์คัด – มอ.

| หมายเลขสายต้น | จำนวนฝักต่อต้น | ความยาวฝัก (ซม.) | น้ำหนักฝัก | น้ำหนักผลผลิตต่อต้น |
|---|---|---|---|---|
| | ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | (กรัม) | (กรัม) |
| PSU35 – 032 – 008 – 001 | 3 ± 2 | 59.3 ± 11.5 | 29.1654 | 87.4962 |
| | (1 – 5) [1/] | (46.3 – 72.3) [1/] | | |
| PSU50 – 001 – 006 – 002 | 5 ± 2 | 54.5 ± 14.7 | 25.4431 | 116.3113 |
| | (3 – 7) | (25.4 – 78.8) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 002 | 5 ± 3 | 56.8 ± 9.3 | 23.6487 | 118.2435 |
| | (1 – 7) | (45.8 – 65.4) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 009 | 3 ± 0 | 60.0 ± 9.1 | 30.1355 | 90.4065 |
| | (3 – 3) | (45.1– 61.4) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 013 | 3 ± 0 | 72.5 ± 7.2 | 33.5467 | 100.6401 |
| | (3 – 3) | (64.3 – 77.8) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 015 | 4 ± 5 | 63.0 ± 6.5 | 30.1035 | 120.4140 |
| | (1 – 6) | (54.6 – 72.4) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 029 | 4 ± 4 | 51.5 ± 7.6 | 20.1465 | 80.5860 |
| | (2 – 10) | (39.5 – 62.3) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 036 | 3 ± 4 | 56.3 ± 6.6 | 27.3468 | 82.0404 |
| | (2 – 8) | (45.3 – 63.2) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 059 | 4 ± 3 | 60.5 ± 7.9 | 27.4351 | 109.7404 |
| | (3 – 9) | (50.3 – 69.5) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 077 | 6 ± 3 | 64.6 ± 10.9 | 36.1437 | 202.4047 |
| | (3 – 10) | (36.9 – 78.4) | | |

**ตารางที่ 32** (ต่อ)

| หมายเลขสายต้น | จำนวนฝักต่อต้น | ความยาวฝัก (ซม.) | น้ำหนักฝัก | น้ำหนักผลผลิตต่อต้น |
|---|---|---|---|---|
| | ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | (กรัม) | (กรัม) |
| PSU50 – 001 – 009 – 078 | 6 ± 6 | 63.3 ± 14.3 | 30.1485 | 173.3539 |
| | (2 – 15) | (28.7 – 84.3) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 079 | 3 ± 2 | 64.1 ± 12.3 | 28.4154 | 85.2462 |
| | (1 – 8) | (30.5 – 79.5) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 081 | 2 ± 0 | 73.4 ± 6.0 | 40.3483 | 80.6966 |
| | (2 – 2) | (69.1 – 77.6) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 087 | 4 ± 0 | 59.3 ± 4.8 | 24.1573 | 96.6292 |
| | (4 – 4) | (54.3 – 64.3) | | |
| PSU50 – 001 – 009 – 088 | 3 ± 2 | 57.6 ± 5.5 | 25.4781 | 76.4343 |
| | (1 – 5) | (51.0 – 64.1) | | |
| PSU50 – 002 – 012 – 002 | 3 ± 2 | 65.9 ± 8.0 | 29.4685 | 98.2283 |
| | (1 – 5) | (50.4 – 77.6) | | |
| PSU50 – 002 – 012 – 003 | 4 ± 2 | 61.2 ± 6.5 | 27.3445 | 109.3780 |
| | (2 – 7) | (52.3 – 70.3) | | |
| PSU50 – 002 – 012 – 005 | 6 ± 6 | 61.5 ± 10.4 | 27.4554 | 175.0282 |
| | (2 – 20) | (31.1 – 86.1) | | |
| PSU50 – 003 – 001 – 006 | 3 ± 2 | 51.0 ± 15.4 | 28.1541 | 88.4843 |
| | (1 – 6) | (17.0 – 69.5) | | |
| PSU50 – 003 – 002 – 004 | 2 ± 1 | 56.7 ± 16 | 23.4641 | 35.1962 |
| | (1 – 2) | (37.4 – 75.1) | | |
| PSU50 – 003 – 009 – 004 | 3 ± 2 | 64.9 ± 1.9 | 31.5451 | 94.6353 |
| | (1 – 6) | (63.2 – 68.3) | | |
| PSU50 – 003 – 012 – 001 | 5 ± 3 | 57.4 ± 12.9 | 29.1454 | 134.7975 |
| | (1 – 10) | (22.6 – 77.5) | | |
| PSU50 – 003 – 012 – 011 | 7 ± 2 | 59.6 ± 10.7 | 30.1554 | 211.0878 |
| | (1 – 10) | (39.3 – 79.2) | | |
| PSU50 – 003 – 036 – 001 | 2 ± 3 | 63.6 ± 3.6 | 27.1645 | 54.3290 |
| | (1 – 7) | (58.9 – 69.8) | | |
| PSU50 – 003 – 036 – 003 | 4 ± 3 | 66.0 ± 7.4 | 29.4154 | 102.9539 |
| | (1 – 7) | (77.7 – 52.1) | | |

**ตารางที่ 18 (ต่อ)**

| หมายเลขสายต้น | จำนวนฝักต่อต้น | ความยาวฝัก (ซม.) | น้ำหนักฝัก | น้ำหนักผลผลิตต่อต้น |
|---|---|---|---|---|
| | ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | (กรัม) | (กรัม) |
| PSU50 – 003 – 036 – 014 | 3 ± 4 | 58.3 ± 9.5 | 28.1654 | 84.4962 |
| | (2 – 9) | (45.8 – 70.2) | | |
| PSU50 – 003 – 036 – 017 | 4 ± 4 | 60.9 ± 15.1 | 28.1554 | 118.2527 |
| | (1 – 10) | (18.0 – 70.5) | | |
| PSU50 – 003 – 036 – 021 | 9 ± 8 | 52.8 ± 11.9 | 30.0154 | 267.6373 |
| | (1 – 27) | (19.6 – 77.1) | | |
| PSU50 – 003 – 036 – 023 | 3 ± 1 | 61.3 ± 17.8 | 30.6544 | 76.6360 |
| | (2 – 3) | (37.3 – 78.7) | | |
| PSU50 – 003 – 036 – 027 | 8 ± 5 | 59.1 ± 13.0 | 30.1451 | 237.3927 |
| | (1 – 16) | (18.1 – 82.1) | | |
| PSU50 – 005 – 004 – 001 | 6 ± 5 | 57.6 ± 14.0 | 30.1546 | 192.9894 |
| | (2 – 17) | (13.7 – 83.2) | | |
| PSU50 – 005 – 004 – 002 | 6 ± 6 | 55.2 ± 10.0 | 30.5545 | 195.5488 |
| | (2 – 17) | (31.7 – 72.3) | | |
| PSU50 – 005 – 004 – 005 | 3 ± 0 | 59.0 ± 3.8 | 29.1266 | 87.3798 |
| | (3 – 3) | (55.6 – 63.1) | | |
| PSU50 – 005 – 018 – 006 | 4 ± 4 | 60.2 ± 7.1 | 30.1546 | 120.6184 |
| | (1 – 9) | (46.1 – 68.1) | | |
| พันธุ์คัด – มอ. | 5 ± 4 | 37.9 ± 15.3 | 23.1543 | 115.7715 |
| | (2 – 10) | (18.5 – 61.2) | | |

[1/] ต่ำที่สุด – สูงที่สุด

**4.4 ลักษณะผิดปกติ**

จากการสังเกตด้วยสายตา พบต้นที่มีลักษณะเป็นต้นแคระจำนวน 12 สายต้น ดังตารางที่ 19 ลักษณะต้นแคระที่พบ สามารถแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะคือ 1. ลักษณะต้นแคระเป็นพุ่ม และ 2. ลักษณะต้นแคระกึ่งเลื้อย นอกจากนี้ยังพบลักษณะต้นไม่มีดอก ดังนั้นในการคัดเลือก จึงคัดต้นที่มีลักษณะต้นไม่มีดอกออกจากประชากร และพบต้นฝักมีลักษณะอวบจำนวน 1 ต้น ในสายต้น PSU50 – 003 – 001 – 006 (รูปที่ 28)

**ตารางที่ 33** ต้นที่ผิดปกติของถั่วฝักยาวในชั่ว $M_4$

| ลักษณะผิดปกติ | จำนวนต้น | เปอร์เซ็นต์ |
|---|---|---|
| 1. ต้นแคระ | | |
| PSU50 – 001 – 006 – 002 | 3 | 20.00 |
| PSU50 – 001 – 009 – 009 | 7 | 43.75 |
| PSU50 – 001 – 009 – 029 | 3 | 9.09 |
| PSU50 – 001 – 009 – 033 | 2 | 5.71 |
| PSU50 – 001 – 009 – 035 | 5 | 21.74 |
| PSU50 – 001 – 009 – 036 | 1 | 4.00 |
| PSU50 – 001 – 009 – 050 | 5 | 16.67 |
| PSU50 – 001 – 009 – 059 | 5 | 31.25 |
| PSU50 – 001 – 009 – 079 | 3 | 12.00 |
| PSU50 – 001 – 009 – 081 | 7 | 25.93 |
| PSU50 – 001 – 009 – 087 | 3 | 11.11 |
| PSU50 – 001 – 009 – 088 | 3 | 12.00 |
| 2. ฝักอวบ | | |
| PSU50 – 003 – 001 – 006 | 1 | 3.03 |

**รูปที่ 28** ลักษณะฝักอวบในสายต้น PSU50 – 003 – 001 – 006

**4.5 การคัดเลือก**

ในการคัดเลือกจะพิจารณาเลือกสายต้นที่ไม่มีลักษณะต้นแคระปรากฏอยู่ ทำให้สายต้นที่ผ่านการคัดเลือก 27 สายต้น จากนั้นคัดเลือกสายต้นที่มีลักษณะอายุการออกดอกเร็วกว่า 52 วัน ซึ่งมีจำนวน 13 สายต้น เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยความยาวฝัก พบว่าสายต้นที่ผ่านการคัดเลือก 13 สายต้น มีค่าเฉลี่ยความยาวฝักมากกว่าค่าเฉลี่ยความยาวฝักของพันธุ์คัด – มอ. ดังนั้นจึงคัดเลือกสายต้นที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้นสูงที่สุดไว้ 4 สายต้น (10 % ของกลุ่มประชากร) จากนั้นคัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีในสายต้นที่ผ่านการคัดเลือกไว้ 15 ต้น ดังตารางที่ 34

**ตารางที่ 34** ระยะเวลาออกดอก ความยาวฝัก จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักฝัก และผลผลิตต่อต้นของต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการคัดเลือกในชั่ว $M_4$ และพันธุ์คัด – มอ.

| หมายเลขต้น | อายุดอกแรกบาน (วัน) | ความยาวฝัก (ซม.) | จำนวนฝักต่อต้น | น้ำหนักฝัก (กรัม) | ผลผลิตต่อต้น (กรัม) |
|---|---|---|---|---|---|
| PSU50 – 003 – 012 – 011 – 002 | 48 | 60.3 | 10 | 24.4554 | 244.5540 |
| PSU50 – 003 – 036 – 021 – 007 | 52 | 61.0 | 15 | 20.6465 | 309.6975 |
| PSU50 – 003 – 036 – 021 – 008 | 42 | 54.3 | 10 | 25.6487 | 256.4870 |
| PSU50 – 003 – 036 – 021 – 009 | 47 | 52.3 | 27 | 28.1545 | 760.1715 |
| PSU50 – 003 – 036 – 027 – 005 | 47 | 58.4 | 7 | 35.1575 | 246.1025 |
| PSU50 – 003 – 036 – 027 – 006 | 47 | 59.4 | 6 | 30.2458 | 181.4748 |
| PSU50 – 003 – 036 – 027 – 007 | 47 | 54.6 | 7 | 30.6458 | 214.5206 |
| PSU50 – 003 – 036 – 027 – 008 | 47 | 57.2 | 14 | 29.4571 | 412.3994 |
| PSU50 – 003 – 036 – 027 – 016 | 46 | 54.7 | 16 | 29.1154 | 465.8464 |
| PSU50 – 003 – 036 – 027 – 017 | 47 | 52.3 | 9 | 30.5456 | 274.9104 |
| PSU50 – 005 – 004 – 002 – 005 | 47 | 54.2 | 7 | 28.4687 | 199.2809 |
| PSU50 – 005 – 004 – 002 – 006 | 46 | 51.3 | 17 | 33.1454 | 563.4718 |
| PSU50 – 005 – 004 – 002 – 016 | 47 | 57.0 | 12 | 28.1574 | 337.8888 |
| PSU50 – 005 – 004 – 002 – 017 | 47 | 50.3 | 16 | 30.5454 | 488.7264 |
| PSU50 – 005 – 004 – 002 – 020 | 48 | 54.1 | 10 | 30.5487 | 305.4870 |
| พันธุ์คัด – มอ. | 53 | 37.9 | 5 | 23.1543 | 115.7715 |

**วิจารณ์**

การฉายรังสีแกมมาให้กับเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. เป็นวิธีการหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์ อย่างไรก็ตามการชักนำการกลายพันธุ์โดยการฉายรังสี เป็นวิธีการที่ไม่สามารถควบคุมให้ได้ลักษณะตามที่ต้องการ เนื่องจากเป็นการกลายพันธุ์แบบสุ่ม การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหลังจากการฉายรังสี เช่น การผิดปกติของใบ การเป็นหมัน การเจริญเติบโตที่ช้ากว่าปกติ ต้นแคระ เป็นต้น (Brunner, 1995) อาจเป็นผลโดยตรงจากรังสีต่อเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะในกรณีที่ใช้รังสีในปริมาณสูง หรือเกิดขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ควบคุมลักษณะนั้น ๆ ดังนั้นจึงต้องทำการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการโดยเริ่มทำการคัดเลือกในชั่ว $M_1$ เป็นต้นไป

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะต่าง ๆ ของถั่วฝักยาวภายหลังการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่าง ๆ กันในชั่วที่ 1 พบว่ารังสีสามารถก่อให้เกิดผลกระทบโดยตรงต่อลักษณะต่างๆ ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความงอก จำนวนต้นที่รอดชีวิต ระยะเวลาในการออกดอก ลักษณะผิดปกติต่าง ๆ ที่ปรากฏ ได้แก่ ลักษณะลำต้นแบน ลักษณะการเป็นหมัน และความผิดปกติของรูปร่างใบ และสีใบ เปอร์เซ็นต์ความงอกและจำนวนต้นที่รอดชีวิตลดลงอย่างมากตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเปอร์เซ็นต์ความงอก จะเห็นได้ว่าถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ได้รับรังสี 25 35 45 และ 50 Krad มีความงอก 77.50 50.00 7.50 และ 7.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ ชุดควบคุม มีความงอกถึง 99.00 เปอร์เซ็นต์ การที่เปอร์เซ็นต์ความงอกของถั่วฝักยาวที่ได้รับรังสี 45 และ 50 Krad ลดลงอย่างมาก อาจเนื่องจากว่าปริมาณรังสีที่ใช้สูงเกินไป มีผลไปทำลายเนื้อเยื่อเจริญ หรือส่วนต้นอ่อนภายในเมล็ดโดยตรง เมล็ดบางส่วนจึงสูญเสียความมีชีวิต เมื่อพิจารณาถึงจำนวนต้นที่รอดชีวิตพบว่า ต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาในทุกระดับรอดชีวิตในปริมาณน้อย ทั้งนี้เป็นผลสืบเนื่องมาจากการฉายรังสีทำให้ต้นกล้าอ่อนแอ โดยปกติการใช้ปริมาณรังสีต้องพิจารณาจากค่า $LD_{50}$ เป็นเบื้องต้น ค่าดังกล่าวบอกถึงระดับของรังสีที่ทำให้มีจำนวนต้นรอดชีวิต 50 % ในกรณีของถั่วฝักยาว สุรเชษฐ และคณะ (2548) รายงานว่าค่า $LD_{50}$ มีค่าอยู่ในช่วง 38 – 42 Krad ดังนั้นปริมาณรังสีที่สูงเกินกว่าค่า $LD_{50}$ จึงทำให้เกิดอันตรายต่อต้นอ่อนภายในเมล็ด รวมถึงต้นกล้าที่แม้จะเจริญเติบโตได้แต่จะไม่แข็งแรง อย่างไรก็ตามหากต้นพืชสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ และเจริญเติบโตได้ตามปกติ โอกาสที่จะมีการกลายพันธุ์เป็นไปได้สูง ส่วนระยะเวลาในการออกดอกของต้นถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ในทุกระดับอยู่ในช่วง 31 – 77 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลาออกดอกที่เร็ว และช้ากว่าต้นควบคุมที่มีระยะเวลาการบานของดอกใกล้เคียงกัน (42 – 55 วัน) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า การฉายรังสีแกมมากับถั่วฝักยาวมีแนวโน้มที่จะทำให้ต้นถั่วฝักยาวในชั่วที่ 1 มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะไปในทางที่ดีขึ้น และลดลงควบคู่กันไป เพราะการฉายรังสีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างสุ่มที่ไม่สามารถควบคุมได้ รวมไปถึงความแตกต่างที่เกิดจากปริมาณรังสีที่ได้รับ แม้ให้ปริมาณเท่ากันแต่ผลของรังสีที่เกิดขึ้นอาจแตกต่างกัน ดังนั้นต้นที่ได้รับรังสีจึงแสดงผลที่แตกต่างกันไป ทำให้การคัดเลือกจึงต้องคัดเลือกรายต้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Shaikh และคณะ (1981) ที่ศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์ถั่วโดยเทคนิคทางปรมาณู

จากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงของลักษณะต่าง ๆ ซึ่งปรากฏในถั่วฝักยาวที่ได้รับรังสีทุกต้น แต่ไม่ปรากฏในชุดควบคุม ได้แก่ลักษณะการเป็นหมัน ลักษณะต้นแคระ ลักษณะใบด่างขาว ลักษณะใบแฉก และลักษณะลำต้นแบน ซึ่งลักษณะการเป็นหมัน พบว่าเป็นผลกระทบต่อผลผลิตของถั่วฝักยาวโดยตรง เพราะจะทำให้ไม่มีการติดฝักในกรณีที่เกิดการเป็นหมันอย่างสมบูรณ์ หรือติดฝักน้อยมากในกรณีที่เกิดการเป็นหมันไม่สมบูรณ์ สำหรับการเป็นหมันที่เกิดขึ้น ในการทดลองครั้งนี้มีหลายแบบ เช่น เป็นหมันเพราะไม่สามารถสร้างดอกได้ หรือเป็นหมันเนื่องจากการทำงานของละอองเกสรผิดปกติ แม้จะสามารถติดฝักได้ แต่เมล็ดที่ได้ไม่สามารถนำไปปลูกต่อได้เพราะเมล็ดลีบ และไม่มีชีวิต

ซึ่งต้นที่ได้รับรังสีที่มีลักษณะเป็นหมัน ทำให้เป็นอุปสรรคในการปรับปรุงพันธุ์อย่างแน่นอน โดยเฉพาะถั่วฝักยาวซึ่งเป็นพืชที่โดยปกติจะขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดเท่านั้น อย่างไรก็ตามในพืชบางชนิด ลักษณะการเป็นหมันเป็นลักษณะที่ต้องการ ตัวอย่างเช่น มีการใช้รังสีแกมมาชักนำการเป็นหมันใน Niger (*Guizotia abyssinica* Cass) โดยใช้ปริมาณรังสี 200 – 1000 Gy (20 – 100 Krad) (Sujatha, 2001) นอกจากนี้ยังพบลักษณะผิดปกติ เช่น ต้นแคระ ใบด่างขาว ใบแฉก และลักษณะลำต้นแบน เป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาอันเป็นผลโดยตรงจากรังสี ลักษณะดังกล่าวนี้อาจเป็นความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับยีนหรือไม่ ต้องดูว่าพบลักษณะเหล่านี้ในลูกชั่วต่อไปหรือไม่ มีรายงานการพบลักษณะผิดปกติคล้ายต้นที่พบในการศึกษาครั้งนี้ในการฉายรังสีให้กับพืชหลายชนิด เช่น เบญจมาศ (Mandal *et al.*, 2000) และสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (ศิริลักษณ์ และพงเทพศ์, 2536) เป็นต้น

สำหรับการเปลี่ยนแปลงของจำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝักในชั่ว $M_1$ ของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาเกือบทุกต้น มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะไปในทางที่ลดลงมากกว่าในทางที่เพิ่มขึ้น เพราะจำนวนฝักต่อต้นของทุกต้นมีน้อยกว่าชุดควบคุม แต่ในลักษณะความยาวฝักมีบางต้นที่มีความยาวฝักมากกว่าชุดควบคุม ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการใช้รังสีกับถั่วฝักยาวมีแนวโน้มที่จะทำให้ต้นถั่วฝักยาวในชั่ว $M_1$ มีการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต ทั้งในทางบวกและทางลบ ซึ่งสอดคล้องกับการใช้รังสีในถั่วเหลือง และถั่วเขียวที่ทำให้ต้นถั่วเหลือง และถั่วเขียวมีผลผลิตลดต่ำลง (ณรงค์, 2520; ธีระ, 2525 และ Williams and Hanway, 1961)

ในชั่ว $M_2$ พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดในชั่วที่ 2 แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่เปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างจาก ชุดควบคุม (45 และ 50 Krad) กับกลุ่มที่เปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำกว่าชุดควบคุม (25 และ 35 Krad) แสดงว่ารังสีมีผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดในชั่วที่ 2 ด้วยเช่นกัน แม้ว่าเมล็ด $M_2$ จะไม่ได้รับการฉายรังสีโดยตรง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ทิวา และณัฐา (2547) ที่พบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดงาที่ชักนำการกลายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมา มีความแปรปรวนสูง และการศึกษาของ Odeigah และคณะ (2004) ที่ศึกษาการชักนำการกลายพันธุ์ในถั่วพุ่ม และรายงานว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดชั่วที่ $M_2$ มีทั้งที่งอกได้ดีกว่าเมล็ดปกติ ในขณะที่บางส่วนมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่น้อยกว่าเช่นกัน อย่างไรก็ตามอีกปัจจัยหนึ่งที่อาจมีผลต่อการงอกของเมล็ด $M_2$ ด้วยเช่นกัน คือความสม่ำเสมอของแปลง เนื่องจากในชั่ว $M_1$ ทำการปลูกทดสอบในถุงเพาะขนาดใหญ่ ที่มีความสม่ำเสมอสูง แต่ในชั่ว $M_2$ ทำการปลูกทดสอบในแปลงปลูก อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกไม่สม่ำเสมอได้

การเปลี่ยนแปลงของลักษณะอื่น ๆ ก็เช่นเดียวกัน พบว่าในแต่ละระดับรังสีมีความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยค่อนข้างสูง ลักษณะที่เกิดการแปรปรวนได้แก่ ระยะเวลาการออกดอก จำนวนฝักต่อต้น ความยาวฝัก ให้ผลในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Odeigah และคณะ (2004) ที่ศึกษาการชักนำการกลายพันธุ์ในถั่วพุ่ม พบว่า ค่าเฉลี่ยของลักษณะฝักต่อต้น และระยะดอกบาน 50 % มีการ

เปลี่ยนแปลงในทางที่ดีขึ้น และลดลง จากการทดลองครั้งนี้ลักษณะที่น่าสนใจคือ วันออกดอก โดยต้น $M_2$ ของระดับรังสี 45 และ 50 Krad มีต้นที่มีระยะเวลาในการออกดอกเร็วกว่า ชุดควบคุม ส่วนจำนวนฝักต่อต้นกลับพบว่าในทุก ๆ ระดับรังสีมีค่าเฉลี่ยของจำนวนฝักต่อต้นน้อยกว่าชุดควบคุม แต่ค่าเฉลี่ยความยาวฝักในทุก ๆ ระดับรังสีกลับมีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยของชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนต้นในชั่ว $M_2$ มีลักษณะเป็นหมันมากกว่าในชั่ว $M_1$ คือไม่มีการพัฒนาของช่อดอกมีจำนวน 539 ต้น คิดเป็น 73.68 % การเป็นหมันเนื่องจากมีการออกดอกแต่ไม่ติดฝักมีจำนวน 118 ต้น คิดเป็น 16.34 % และการเป็นหมันเนื่องจากฝักไม่ติดเมล็ดมีจำนวน 25 ต้น คิดเป็น 3.46 % การเป็นหมันที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของยีนหรือโครโมโซมที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการพัฒนาของ gamete (Gaul, 1964) ทำให้ละอองเกสรไม่มีชีวิต หรือเกิดการตายก่อน (abortion) ซึ่งลักษณะดังกล่าวสามารถถ่ายทอดจากชั่ว $M_1$ มายังชั่ว $M_2$ เพราะเมล็ดที่นำมาปลูกในชั่ว $M_2$ ได้จากต้น $M_1$ ที่ปกติ แต่ไม่มีการแสดงออกในชั่ว $M_1$ เพราะอาจเป็นยีนด้อยจึงถูกข่มไว้ เมื่อปล่อยให้ต้น $M_1$ ผสมตัวเองได้เป็นเมล็ด $M_2$ จึงเกิดการแสดงออกของยีนเหล่านั้น นอกจากนี้ยังคงพบลักษณะต้นแคระ ซึ่งต่างจากที่พบในชั่ว $M_1$ ที่มีลักษณะต้นคล้ายต้นปกติ เพียงแต่มีขนาดเล็กกว่าเท่านั้น แต่ต้นแคระในชั่ว $M_2$ มีลักษณะข้อสั้น ใบหนาแข็ง ใบค่อนข้างกลม และเจริญเติบโตช้ามาก (รูปที่ 13) และต้นเหล่านี้ไม่มีการสร้างดอก คือเป็นหมันอย่างสมบูรณ์ เมื่อพิจารณาอัตราการกลายพันธุ์ของถั่วฝักยาวในชั่ว $M_2$ ในลักษณะต้นแคระพบว่า จะปรากฏเฉพาะในถั่วฝักยาวที่ได้รับรังสี 50 Krad เท่านั้นโดยมีอัตราการกลายพันธุ์ 0.28 % ไม่พบความผิดปกติของลักษณะอื่น ๆ ในชั่ว $M_2$ ดังนั้นลักษณะผิดปกติที่พบในชั่ว $M_1$ ได้แก่ ใบแฉก ใบลักษณะกลม ใบด่าง ใบเรียวยาว และขนาดใบผิดปกติ เป็นความเสียหายทางสรีรวิทยา ที่เกิดจากผลกระทบโดยตรงจากปริมาณรังสี ไม่ได้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ควบคุมลักษณะเหล่านั้น จึงไม่สามารถถ่ายทอดไปสู่ชั่วถัดไปได้

การเปลี่ยนแปลงของต้นถั่วฝักยาวในชั่วที่ 3 ($M_3$) จากการศึกษาระยะเวลาการออกดอกของต้นถั่วฝักยาวชั่วที่ 3 พบว่ามีเฉพาะต้นถั่วฝักยาวที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีระดับ 35 และ 50 Krad เท่านั้นที่มีการติดดอก ซึ่งค่าเฉลี่ยระยะเวลาของการออกดอกเร็วกว่าชุดควบคุม โดยต้นที่ติดดอกเร็วที่สุดใช้เวลา 26 วัน ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ย 46 วัน จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยของระยะเวลาการออกดอกของทั้ง 2 กลุ่มเร็วขึ้นกว่าชั่ว $M_2$ และถ้าพิจารณาระยะเวลาของการออกดอกของแต่ละต้นพบว่ามีความแปรปรวนสูง (26 – 68 วัน) วันออกดอกเป็นลักษณะหนึ่งที่นับว่าสำคัญเพราะเป็นตัวบ่งบอกวันเก็บเกี่ยว ถ้าวันออกดอกเร็วก็สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เร็วขึ้น อย่างไรก็ตามลักษณะนี้ค่อนข้างจะตอบสนองต่อสภาพแวดล้อม เช่น สภาพอากาศ อุณหภูมิ แสง และความชื้นสัมพัทธ์ ดังจะเห็นได้จากถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ซึ่งเป็นชุดควบคุม ในชั่ว $M_2$ ใช้เวลาออกดอกเฉลี่ย 63 วัน (ปลูกในช่วงเดือนมกราคม 2548 ถึงเดือนเมษายน 2548) แต่ในชั่ว $M_3$ ใช้เวลาออกดอก 46 วัน (ปลูกในช่วงเดือนกันยายน 2548 ถึงเดือนธันวาคม 2548) ซึ่งห่างกันถึง 17 วัน ทั้ง ๆ ที่เป็นพันธุ์เดียวกันเพียงแต่ปลูกคนละช่วงเวลา นอกจากนี้แม้

จะปลูกในช่วงเวลาเดียวกัน และสถานที่เดียวกัน ระยะเวลาออกดอกก็แตกต่างกันในแต่ละต้น มีรายงานความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นลงอย่างเช่น การศึกษาของ Ravikesavan และคณะ (2001) ในถั่วมะแฮะ (*Cajanus cajan* L. Huth) โดยใช้รังสีแกมมาในปริมาณต่าง ๆ กัน พบว่าที่ปริมาณรังสี 100 Gy (10 Krad) สามารถคัดเลือกพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวได้เร็วโดยมีอายุออกดอก 47.2 วัน เทียบกับต้นแม่เดิม 58.6 วัน ส่วนจำนวนฝักต่อต้นในชั่ว $M_3$ มีความแปรปรวนสูงเช่นกัน โดยจำนวนฝักต่อต้นมีค่าอยู่ในช่วง 1 – 91 ฝักต่อต้น ขณะที่ชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้นเท่ากับ 25 ฝัก ความยาวของฝักเป็นอีกลักษณะที่มีความแปรปรวนสูง โดยความยาวฝักที่ระดับรังสี 35 Krad มีค่า 52.2 เซนติเมตร ส่วนระดับรังสี 50 Krad มีค่า 60.6 เซนติเมตร และมีผลไปในลักษณะเดียวกับระยะเวลาการออกดอก และจำนวนฝักต่อต้น

ลักษณะผิดปกติของถั่วฝักยาวชั่ว $M_3$ พบว่ามีลักษณะต้นแคระจำนวน 22 ต้น ซึ่งมาจากชั่ว $M_2$ จำนวน 3 สายต้น แต่ทั้ง 3 สายต้นในชั่ว $M_2$ มาจากชั่ว $M_1$ ต้นเดียวกัน ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าสายต้นของ PSU50 – 001 มียีนที่ทำให้เกิดลักษณะต้นแคระที่เกิดจากการกลายพันธุ์โดยรังสีแกมมา 50 Krad ลักษณะนี้สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ ส่วนลักษณะการเป็นหมันยังคงพบในลักษณะคล้ายกับที่พบในชั่ว $M_2$ นอกจากนี้ ยังพบต้นที่มีลักษณะผิดปกติของฝัก คือลักษณะฝักเรียวเล็ก ที่เรียกว่าหางหนู ซึ่งลักษณะหางหนูอาจเกิดขึ้นจากความไม่สมบูรณ์ของต้น การผสมเกสร การเข้าทำลายของแมลง หรืออาจเกิดขึ้นจากการผิดปกติของยีนภายในต้น ถ้าเป็นลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นจากยีนจะมีการถ่ายทอดไปยังชั่วต่อไปได้ การคัดเลือกในชั่วที่ 3 ($M_3$) สามารถคัดเลือกต้นที่มีระยะเวลาในการบานของดอกเร็วกว่า ชุดควบคุม 7 – 17 วัน และมีผลผลิตต่อต้นสูงกว่าชุดควบคุมด้วย เมื่อพิจารณาถึงลักษณะจำนวนฝักต่อต้น ความยาวฝัก และลักษณะผิดปกติ จากการทดสอบในชั่ว$M_3$ สามารถเก็บเกี่ยวต้นที่ผ่านการคัดเลือกได้ 49 ต้น แต่ในชั่วที่ 3 ตั้งเป้าในการคัดเลือกไว้ 15 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงคัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีที่สุดจากกลุ่มที่ผ่านการคัดเลือกมา 39 ต้น โดยแต่ละต้นแยกเก็บเกี่ยวรายต้น ซึ่งต้นที่ผ่านการคัดเลือกเป็นสายต้นจากชั่วที่ 2 จำนวน 11 สายต้น ซึ่งมาจากชั่วที่ 1 จำนวน 5 สายต้น ประกอบด้วย PSU50 – 001, PSU50 – 002, PSU50 – 003, PSU50 – 005 และ PSU35 – 032 ทั้งหมดนี้มีการปลูกในชั่วถัดไป ($M_4$) เพื่อเปรียบเทียบในแต่ละกลุ่มที่ผ่านการคัดเลือก เพื่อสร้างสายต้นใหม่ต่อไป

การเปลี่ยนแปลงของต้นถั่วฝักยาวในชั่วที่ 4 ($M_4$) จากการศึกษาระยะเวลาการออกดอกของต้นถั่วฝักยาวชั่วที่ 4 พบว่ามีการกระจายตัวของระยะเวลาดอกแรกบาน มีทั้งต้นที่ออกดอกเร็วกว่า และช้ากว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์คัด – มอ. ระยะเวลาของต้นที่ผ่านการคัดเลือกอยู่ในช่วง 47 – 52 วันหลังปลูก ส่วนค่าเฉลี่ยความยาวฝักในทุกสายต้นที่ผ่านการคัดเลือกจากถั่วฝักยาวชั่วที่ 3 มีค่าเฉลี่ยความยาวฝักมากกว่าพันธุ์คัด – มอ. ยกเว้นสายต้น PSU50 – 001 – 009 – 029 ที่มีค่าเฉลี่ยของความยาวฝักน้อยกว่าพันธุ์คัด – มอ. เมื่อพิจารณาในต้นที่ผ่านการคัดเลือกค่าเฉลี่ยความยาวฝักมีค่าอยู่ในช่วง 50.3 – 61.0 เซนติเมตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ยความยาวฝักของพันธุ์คัด – มอ. และในลักษณะจำนวนฝักต่อต้นมี

ความแปรปรวนสูง คือมีจำนวนฝักต่อต้นอยู่ในช่วง 2 – 9 ฝักต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนฝักต่อต้นในชั่วที่ 3 พบว่าจำนวนฝักต่อต้นมีการปรับลดลง ซึ่งการปรับลดลงในชั่วที่ 4 นี้เกิดขึ้นจากการปลูกทดสอบต่างของสภาพแวดล้อม และการเข้าทำลายของแมลง เนื่องจากชั่วที่ 3 ปลูกทดสอบในฤดูฝน และมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในระหว่างการปลูกทดสอบ ส่วนในชั่วที่ 4 ทำการปลูกทดสอบในฤดูร้อน และมีการปล่อยให้มีการเข้าทำลายของแมลงอย่างอิสระ ทำให้มีการลดลงของผลผลิตในทุก ๆ สายต้นที่ทำการปลูกทดสอบ และในการคัดเลือกทำการคัดเลือกสายต้นที่มีจำนวนฝักมากกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์คัด – มอ. แล้วคัดเลือกต้นที่จำนวนฝักต่อต้นมากกว่าพันธุ์คัด – มอ. ที่อยู่ในสายต้นอีกครั้งหนึ่ง ต้นที่ผ่านการคัดเลือกมีจำนวนฝักต่อต้นอยู่ระหว่าง 6 – 27 ฝัก

นอกจากนี้ลักษณะต้นแคระซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ยังคงปรากฏในถั่วฝักยาวชั่วที่ 4 แต่พบใน 12 สายต้น ที่เป็นสายต้นที่มาจาก PSU50 – 001 เท่านั้น ถือว่าเป็นลักษณะการกลายพันธุ์ เพราะลักษณะต้นแคระในชั่ว $M_2$ มีเพียง 0.28 % และเพิ่มขึ้นในชั่ว $M_3$ (8.18 %) และชั่ว $M_4$ (17.77 %) ต้นแคระที่พบสามารถแบ่งได้เป็น 2 ลักษณะคือต้นแคระแบบฟุ่ม และต้นแคระแบบกึ่งเลื้อย ซึ่งลักษณะนี้น่าจะเป็นการกลายพันธุ์จากยีนเด่นเป็นยีนด้อย และจำนวนยีนที่เกี่ยวข้องน่าจะมากกว่า 1 คู่ โดยเป็นผลจากการฉายรังสี 50 Krad กับเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. เพราะไม่พบในชั่ว $M_1$ แต่เริ่มแสดงออกในชั่ว $M_2$ เป็นต้นมา เนื่องจากมีการผสมตัวเอง และต้นแคระทุกต้นไม่สามารถสร้างดอกได้ จึงเป็นลักษณะที่ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ต่อไปได้ นอกจากลักษณะต้นแคระแล้ว ในชั่ว $M_4$ ยังพบต้นที่ให้ฝักอวบ ซึ่งเป็นลักษณะใหม่ที่ไม่พบในชั่วอื่น ๆ ส่วนการเป็นหมันซึ่งเป็นลักษณะการกลายพันธุ์ที่ไม่พึงประสงค์อีกลักษณะหนึ่ง ยังคงปรากฏในชั่ว $M_4$ แต่ในสัดส่วนที่น้อยกว่าชั่วอื่น ๆ โดยการเป็นหมันที่พบในชั่ว $M_4$ พบในลักษณะที่ต้นไม่มีการสร้างดอกเพียงลักษณะเดียว ดังนั้นในการคัดเลือกจึงไม่คัดเลือกสายต้นที่มาจาก PSU50 – 001 แม้ว่าในสายต้นที่มาจาก PSU50 – 001 เป็นสายต้นที่มีระยะเวลาดอกแรกบานเร็ว ลักษณะผลผลิตดี แต่ในสายต้นนี้มีลักษณะต้นแคระ ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่สามารถให้ผลผลิตได้แฝงอยู่ภายในสายต้น เมื่อการคัดเลือกสิ้นสุดแล้วพบว่าต้นที่ผ่านการคัดเลือกทั้ง 15 ต้น เป็นสายต้นที่มาจากต้นในชั่วที่ 2 จำนวน 3 ต้น คือ PSU50 – 003 – 012, PSU50 – 003 - 036 และ PSU50 – 005 – 004 แต่มาจากชั่วที่ 1 เพียง 2 ต้น คือ PSU50 – 003 และ PSU50 – 005

จากต้นที่ผ่านการคัดเลือกเหล่านี้ จะต้องมีการคัดเลือกเป็นรายต้น โดยการปลูกแบบต้นต่อแถวในชั่วถัดไป คัดเลือกลักษณะต่าง ๆ ตามเกณฑ์ที่วางไว้ จนแน่ใจว่าพันธุ์มีความสม่ำเสมอ หลังจากนั้นต้องมีการทดสอบผลผลิตในหลายสถานที่ หลายฤดู เพื่อให้มีความมั่นใจว่าเป็นสายพันธุ์ใหม่ที่ดีกว่าสายพันธุ์เดิม

## เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2543. เอกสารทางวิชาการ พันธุ์พืชขึ้นทะเบียนและพืชรับรองตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518. กรุงเทพฯ : ฝ่ายพันธุ์พืช กองควบคุมพันธุ์พืชและวัสดุทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2544. สถิติการปลูกพืชผักทั่วประเทศ ปีเพาะปลูก 2542/2543. ฝ่ายวิเคราะห์ข้อมูลส่งเสริมการเกษตร กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร.

ขวัญจิตร สันติประชา และวัลลภ สันติประชา. 2535. การทดสอบพันธุ์ถั่วฝักยาวในฤดูฝนในจังหวัดสงขลา. ว. สงขลานครินทร์ 14 : 373 – 378.

ขวัญจิตร สันติประชา และวัลลภ สันติประชา. 2539. ผลของช่วงการเก็บเกี่ยวและขนาดของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวพันธุ์การค้า. ว. สงขลานครินทร์ 18 : 169 – 176.

ขวัญจิตร สันติประชา และวัลลภ สันติประชา. 2540. ผลของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่มีอายุการสุกแก่ต่างกันต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ และผลผลิตของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. รายงานการประชุมวิชาการทางพืชผักแห่งชาติ ครั้งที่ 15 ณ โรงแรมรามาการ์เดนส์ กรุงเทพฯ 11 – 14 สิงหาคม 2540 หน้า 195 - 204.

ขวัญจิตร สันติประชา และวัลลภ สันติประชา. 2541. ผลของเมล็ดพันธุ์พืชที่มีอายุการเก็บรักษาต่างกันต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ และผลผลิตฝักสดของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. รายงานการวิจัย เรื่อง การวิจัยเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวในภาคใต้. หน้า 3.1 – 3.10. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ขวัญจิตร สันติประชา และวัลลภ สันติประชา. 2537. การทดสอบพันธุ์ถั่วฝักยาวในฤดูแล้ง และฤดูฝนแรกในจังหวัดสงขลา. ว.สงขลานครินทร์ 16: 17-23.

จุฑารัตน์ ธนาไชยสกุล. 2539. ผลของระยะเวลาปลูกต่อผลผลิตและคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณรงค์ สิงห์บุระอุดม. 2520. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะต่าง ๆ ของถั่วเหลืองหลังจากอาบรังสีแกมมา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทิวา ปาตีคำ และณัฐา ควรประเสริฐ. 2547. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในงาเพื่อใช้เป็นไม้ประดับ. วารสารเกษตร 20 : 19 – 31.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ และวัชรินทร์ ซุ้นสุวรรณ. 2542. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์. 2525. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ของถั่วเขียวโดยใช้รังสีแกมมา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธีระชัย ธนานันต์ และ นฤมล ธนานันต์. 2543. เทคนิคอาร์เอพีดีกับการจำแนกพันธุ์พริก. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 1 : 6 - 10.

บุญฤทธิ์ สายัมพล. มปป. แมลงนำโรคสู่พืช. เอกสารประกอบการสอน. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม.

ปราโมทย์ พรสุริยา. 2537. การเปรียบเทียบและการถ่ายทอดลักษณะคุณภาพฝักในการผสมระหว่างถั่วฝักยาวกับถั่วพุ่ม. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปริญญา ชินโนรส. 2530. พืชต้านทานแมลง. ว. กีฏและสัตววิทยา 9 : 51-57.

ผลิใบ. 2545. พันธุ์พืชขึ้นทะเบียนและพันธุ์พืชรับรอง. จดหมายข่าวผลิใบ 5 : 7.

พิศิษฐ์ เสพสวัสดิ์ ศรีสมร พิทักษ์ วิเชียร บำรุงศรี เตือนจิตร สัตยาวิรุทธิ์ และ สารทร สิริสิงห์. 2535. แมลงศัตรูพืชไร่ตระกูลถั่วและการป้องกันกำจัด. แมลงและสัตว์ศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและการบริหาร. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

รัตนา สันทัดพานิช. 2530. การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของลักษณะในถั่วฝักยาว กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วินิตชาญ รื่นใจชน. 2540. การใช้เทคนิคอาร์เอพีดีในการจัดจำแนกและตรวจหาเครื่องหมายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์หญ้าแฝกในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศิริลักษณ์ เอี่ยมธรรม และพงเทพศ์ อันตะริการนนท์. 2536. การศึกษาการกลายพันธุ์ของสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวโดยใช้รังสีแกมมา. ว. วิทยาศาสตร์ ม.ก. 11 : 130 – 142.

สมศักดิ์ ศรีสมบุญ และมณฑา นันทพันธุ์. 2544. การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองโดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์. ว. วิชาการเกษตร 19 : 185 – 196.

สิรนุช ลามศรีจันทร์. 2540. การกลายพันธุ์ของพืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิรนุช ลามศรีจันทร์. 2545. เอกสารประกอบการขอขึ้นทะเบียนพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิรนุช ลามศรีจันทร์, สุมินทร์ สมุกคุปต์ และอรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. 2526. ถั่วเขียวพันธุ์กลายจากการใช้รังสีแกมมา. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร 16: 416-454

สุนทรีย์ สุรศร สุวิทย์ เลาหศิริวงศ์ ปรีชา ประเทพา และโสภณ วงศ์แก้ว. 2547. การใช้เครื่องหมายดี เอ็น เอตรวจสอบถั่วลิสงลูกผสมในงานปรับปรุงพันธุ์ต้านทานต่อโรคราสนิม. ว.สงขลานครินทร์ 26 : 139-152.

สุภาพร รัตนพิทักษ์. 2535. การแปรปรวนทางพันธุกรรมของการเจริญเติบโตและลักษณะฝักในการผสมระหว่างถั่วฝักยาวกับถั่วพุ่ม. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุรเชษฐ มาฆทาน, จรัสศรี นวลศรี และขวัญจิตร สันติประชา. 2548. ค่า $LD_{50}$ และผลของรังสีแกมมาต่อการกลายพันธุ์ชั่วที่ 1 ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัด มอ. ว. วิทย.กษ. 36 (พิเศษ) : 896-899

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2536. พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Annan, I. B., G.A. Schaefers and W. M. Tingey. 1995. Infuence of duration of infestation by cowpea aphid (Aphididae) on grow and yield of resistant and susceptible cowpeas. Crop Protection 17 : 533-538.

Anonymous. 1998. Sucking Insects. [online] available : http://insects.tamu.edu/extension/answers/identify/suck/cowpea_aphid.html

Atiri, G.I., and G. Thottappilly. 1985. *Aphis craccivora* setting behaviour and acquisition of cowpea aphid-borne mosaic virus in aphid-resistane cowpea. Entomologia Experimentalis et Applicata 39:241-245.

Belaj, A., Z. Satovic, H. Ismaili, D. Panajoti and L. Rallo. 2003. RAPD genetic diversity of Albanian olive germplas and its relationships with other Mediterranean countries. Euphytica 130: 387-395.

Brunner, H. 1995. Radiation induced mutations for plant selection. Appl.Radiat.Isot. 46 : 589 – 594.

Constantin, M.J. and J.E. Love. 1967. Seedling response of *Vigna sinensis* (L.) Savi to gamma and neutron seed irradiation. Radiation Botany 7 : 497 – 506.

Dickson, M.K. and C.J. Eckenrode. 1975. Variation in Brassica oleracea resistance to cabbage looper and imported cabbage worm in the greenhouse and field. J. Econ. Entomol. 68:757.

Dixon, A.F.G. 1973. Biology of Aphids. The Institute of Biology's Studies in Biology No. 44. London: Edward Arnold.

Dixon, A.F.G. 1985. Aphid Ecology. New york: Chapman&Hall.

Donini, P. and A. Sonnino. 1998. Induced mutation in plant breeding: current status and future outlook. *In* Somaclonal Variation and Induced Mutations in Crop Improvement (eds. S.M. Jain, D.S. Brar and B.S. Ahloowalia). pp. 255 – 292. London : Kluwer Academic Publishers.

Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12 : 13 - 15.

FAO/IAEA. 1979. Mutation breeding methodology. FAO/IAEA Programmed in the Use of Induced Mutation for the Improvement of Grain Legumes Production in South East Asia, 28 May – 1 June, 1979. Kuala Lumpur , Malaysia.

Fatokun, C.A.,D. Danesh, M.R. Knox and T,H.N. Ellis. 1997. AFLP variation among cowpea varieties. *In* Agronomy Abstract. ASA, Madison.

Fatukun, C.A., D. Danesh and N.D. Young. 1993. Molecular taxonomic relationships in the genus Vigna based on RFLP analysis. Theor. Appl. Genet. 86:97-104.

Fischhoff, D. A. 1991. Insect - resistance crop plants. *In* Biotechnology and Integrated Pest Mangement : Biotechnology in Agriculture No.15 (ed. G. J. Persley), pp : 214-227. London : the University Press.

Frazler, W.A., J.R. Baggett and W.A. Sistruck. 1958. Transfer "Blue lake" pole bean characters to bush beans. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 71: 416-421.

Gatehouse, J. A. , V. A. Hilder and A. M. R. Gatehouse. 1991. Genetic engineering of plants for insect resistance. *In* Plant Genetic Engineering : Plant Biotechnology Vol.1 (ed. Don Grierson), pp : 105-135. Suffolk : St Edmundsbury Press.

Gaul, H. 1964. Mutations in plant breeding. Radiation Botany 4 : 155 – 232.

Githiri, S.M., K. Ampong-Nyarko, E.O. Osir and P.M. Kimani. 1996. Genetics of resistance to *Aphis craccivora* in cowpea. Euphytica 89:371-376.

Hilder, V. A. and D. Boulter. 1999. Genetic engineering of crop plants for insect resistance. Crop Protection 18 : 177-191.

IAEA. 1977. Manual on Mutation Breeding. Technical Reports Series No.119. Second Edition. Vienna : IAEA.

ICPE. 1986. Annual Report of International Centre of Insect Physiology and Ecology. Nairobi, Kenya.

IITA. 1981. Annual Report of International Institute of tropical Agriculture. Ibadan, Nigeria.

Jaccard, P. 1908. Nouvellers recherches sur la distribution florale. Bull.Soc.Vaud.Sci. Nat. 44:223-270.

Jun, J.H., K.H. Chung , S.B. Jeong, and H.J. Lee. 2002. Identification of RAPD and SCAR markers linked to flesh adhesion gene *F* in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. Journal of Horticultural Science & Biotechnology 77 : 598 - 603.

Klug, W.S. and M.R. Cummings. 2005. Essentials of Genetics. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall.

Laity, F., D. Diaga, A.F.N. Mame, A.B. Francois and G. Mamadua. 2003. Genetic diversity in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] varieteis determined by ARA and RAPD techniques. Afri. J. of Biotechnol. 2 : 48-50.

Li, C., A. Christian, C. A. Fatokun**,** B. Ubi, B.B. singh and G.J. Scoles. 2001. Determining genetic similarities and relationships among cowpea breeding lines and cultivars by microsatellite markers. Crop Sci. 41:189-197.

Mandal, A.K.A., D. Chakrabaty and S.K. Datta. 2000. Application of *in vitro* techniques in mutation breeding of chrysanthemum. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 60 : 33 – 38.

McClendon, T.M., Inglish, A.D., McPhee, E.K. and Coyne, J.C. 2002. DNA marker link to Fusarium Wilt Race 1 resistance in Pea. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 127 : 602 - 607.

Mignouna, H.D., N.Q. Ng, J. Ikca and G. Thottapilly. 1998. Genetic diversity in cowpea as revealed by random amplified polymorphic DNA. J. Genet. Breed. 52:151-159.

Morales, M., M. Luis-Arteaga, J.M. Alvarez, R. Dolcet-Sanjuan, P. Arus and G. Mas. 2002. Marker saturation of the region flanking the gene *NSV* conferring resistance to melon necrotic spot *Carmovirus* (MNSV) in melon. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 127 : 540 - 544.

Moretzsohn, M.C., M.A Ferreira, Z.P.S Amaral, P.J.A. Coelho, D. Grattapaglis and M. E Ferreira. 2002. Genetic diversity of Brazilian oil palm (*Elaeis oleifera* H.B.K.) germplasm collected in the Amazon Forest. Euphytica 124 : 35 - 45.

Nkongolo, K.K. 2003. Genetic characterization of Malawian cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] landraces : diversity and gene flow among accessions. Euphytica 129 : 219-228.

Odeigah, P.G.C., A.G. Osanyinpeju and G.O. Myers. 2004. Induced mutations in cowpea, *Vigna unguiculata* (Leguminosae). [online]. Available: www.ots.duke.edu/tropibiojnl/claris/46-3/ODEIGAH (access on 22 September 2004)

Oghiakhe, S. and A. Odulaja. 1993. A multivariate analysis of growth and development of the legume pod borer, *Maruca testulalis* on variably resistance cowpea cultivars. Entonol. Exp. Appl. 66 : 275-282.

Ortman, E.E. and D. C. Peter . 1980. Introduction. *In* Breeding Plant Resistance to Insects (eds.

Painter, R. H. 1951. Insect Resistance in Crop Plants. New York : Macmillan.

Panella, L. and P. Gepts. 1992. Genetic relationships within *Vigna unguiculata* (L) Walp. Based on isozyme analysis. Genet. Res. Crop Evol. 39: 71-78.

Parker, B.L., N.S. Talekar and Skinner, M. 1995. Mungbean Insect Pests, Black Legume aphid (*Aphiscraccivora*)[Online] available http://www.avrdc.org/LC/mungbean/blegaphid.html

Pathak, R.S. 1988. Genetics of resistance to aphid in cowpea. Crop Sci. 28: 474-476.

Phansak, P., P.W.J. Taylor and O. Mongkolporn. 2005. Genetic diversity in yardlong bean (*Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedalis*) and related *Vigna* species using sequence tagged microsatellite site analysis. Scienctia Horticulturae 106:137-146.

Phansak, P., P.W.J. Taylor, P. Srinives and O. Mongkolporn. 2001. Level of polymorphisms in five accessions of yardlong bean revealed by RAPDs and microsatellites. Agricultural Sci. J. 32 (Suppl) : 185 – 189.

Pooprompan, P., P. Tamiesak and K. Hosaki. 1996. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) for identification of yardlong bean cultivars. *In* the 22nd Congress on Science and Technology of Thailand.16-18 October 1996. Bangkok, Thailand

Prakash, D.P., P. Narayanaswamy and N.S Sondur. 2002. Analysis of molecular diversity in guava using RAPD markers. Journal of Horticultural Science & Biotechnology 77 : 287 - 293.

Purseglove, J.W. 1977. Tropical Crops: Dicotyledons. London: Longman Group Limited.

Ravikesavan, R., T. Kalaimagal and R. Rathnaswamy. 2001. An extra early mutant of pigeon pea. Mutation Breeding Newsletter 45 : 19 – 20.

Salifu, A.B., C. J. Hodgson and S. R. Singh. 1988a. Mechanism of resistance in cowpea (*Vigna unguiculata* {L.} Walp.) genotype,TVx3236, to the beanflower thrips *Megalurothrips sjostedti* (Trybom) (Thysanoptera : Thripidae) 1. Ovipositional nonpreference. Tropical Pest Management 34 : 180-184.

Salifu, A.B., S.R. Singh and C.J. Hodgson. 1988b. Mechanism of resistance in cowpea (*Vigna unguiculata* {L.} Walp.) genotype, TVx3236 to the beanflower thrips . *Megalurothrips sjostedti* (Trybom) (Thysanoptera : Thripidae) 2. Non preference and antibiosis. Tropical Pest Management 34 : 185-188.

Schillinger, J.A. 1969. Three laboratory techniques for screening small grains for resistance to the cereal leaf beetle. J. Econ.Entomol. 62:360.

Shaikh, M.A.Q., M.A. Majid, Z.U. Ahmed and K.M. Shamsuzzaman. 1981. Induced mutations for new plant types and disease resistance in mungbean and black gram. Second FAO/IAEA

Research Coordination Meeting on the Use of Induced Mutations for Improvement of Grain Legume Production in South East Asia, Chiang Mai, Thailand, 27 April – 1 May, 1981.

Singh, K.B and L.N. Jindla. 1971. Inheritance of bud and pod color, pod attachment and growth habit in cowpea. Crop. Sci. 11:928-929.

Smith, C. M., Z. R. khan and M. D. Pathak. 1994. Technique for Evaluating Insect Resistance in Crop Plants. New York : CRC Press.

Song, K.B., M.M Clyde, R. Wickneswari and N.M. Normah. 2000. Genetic relatedness among *Lansium domesticum* accessions using RAPD markers. Annal of Botany 86 : 299 - 307.

Speight, M. R., M. D. Hunter and A. D. Watt. 1999. Insect pest management. *In* Ecology of Insects (eds M. R. Speight, M. D. Hunter and A. D. Watt.), pp : 247-294. London : Blackwell Science.

Sujatha, M. 2001. Induced mutation for male sterilily in niger. Mutation Breeding Newsletter 45 : 41 – 42.

Vaillancourt, R.E. and N.F. Weeden. 1992. Chloroplast DNA polymorphism suggests a Nigerian center of domestication for the cowpea *Vigna unguiculata* (Leguminosae). Am.J. Bot. 79:1194-1199.

van Emden, H. F. 1987. The nature of plant resistance. *In* Integrated Pest Management (eds A. J. Burn, T. H. Coaker and P. C. Jepson), pp : 38-61. London : Academic Press.

Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafaski and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18:6231-6235.

Williams, J.H. and D.G. Hanway. 1961. Genetic variation in oil and protein content of soybeans induced by seed irradiation. Crop Sci. 1 : 34 – 36.

Wongpiyasatid, A. and P. Hormchan. 2000. New mutants of perennial *Portulaca grandiflora* through gamma radiation. Kasetsart J. 34 : 408 – 416.

Wongpiyasatid, A., S. Chotechuen, P. Hormchan, S. Ngampongsai, S. Lamseejan and S. Pichitporn. 1998. Mutant mungbean lines from radiation and chemical induction Kasetsart Journal 32: 203-212

# ภาคผนวก

# ผลงานตีพิมพ์จากโครงการวิจัย


1. สรพงศ์ เบญจศรี **จรัสศรี นวลศรี** ขวัญจิตร สันติประชา และอรัญ งามผ่องใส. 2548. การประเมินลักษณะการต้านทานเพลี้ยอ่อนและผลผลิตในถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว. . ว. วิทย. กษ. 36 5-6 (พิเศษ): 207-210
2. สุรเชษฐ มาฆทาน **จรัสศรี นวลศรี** และขวัญจิตร สันติประชา. 2548. ค่า LD 50 และผลของรังสีแกมมาต่อการกลายพันธุ์ในชั่วที่ 1 ของถั่วฝักยาวพันธุ์คัดมอ . ว. วิทย. กษ. 36 5-6 (พิเศษ): 896-899.
3. Benchasri., S. **Nualsri, C.,** Santipracha, Q. and Ngampongsai, A. 2007. Evaluation of aphid (*Aphis craccivora* Koch) resistance in 24 accessions of yardlong bean and cowpea. *In* The First Joint PSU-UNS International Conference on Bioscience: Food, Agriculture and the Environment, held at J.B Hotel, Hat Yai, Songkhla, 17-19 August, 2006. pp. 215-222.
4. Sarutayophat, T., **Nualsri, C**., Santipracha, Q. and Saereeprasert, V. 2007. Characterization and genetic relatedness among of 37 yardlong bean and cowpea Accessions based on morphological Characters and RAPD analysis. Songklanakarin J. Sci. Technol. 29:591-600**.**