

ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับศักยภาพการให้ผลผลิตและการพัฒนาเครื่องหมาย
โมเลกุลบ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว

นายปริญญา ขจัดพาล



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2552

**CHARACTERS ASSOCIATED WITH YIELD POTENTIAL
AND DEVELOPMENT OF MOLECULAR MARKERS FOR
POWDERY MILDEW RESISTANCE IN MUNGBEAN**

Parinya Khajudparn



**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Doctor of Philosophy in Crop Production Technology**

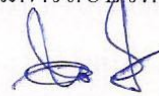
Suranaree University of Technology

Academic Year 2009

ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับศักยภาพการให้ผลผลิตและการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้
ลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว

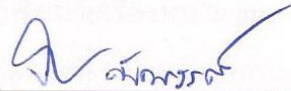
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นักศึกษานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาคุณวุฒิบัณฑิต

คณะกรรมการสอนนิพนธ์



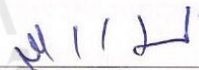
(อ. ดร.สุชชด วุ่นประเสริฐ)

ประธานกรรมการ



(รศ. ดร.ปิยะดา ตันตสวัสดิ์)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษานิพนธ์)



(อ. ดร.โสภณ วงศ์แก้ว)

กรรมการ



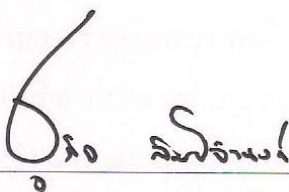
(อ. ดร.จิตติพร มะชิโกวา)

กรรมการ



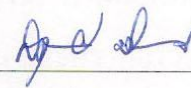
(รศ. ดร.สนั่น จอกกลอย)

กรรมการ



(ศ. ดร.ชูกิจ ลิ้มปิงานงค์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ



(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)

คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ปริญญา ขจัดพาล : ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับศักยภาพการให้ผลผลิตและการพัฒนา
เครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว (CHARACTERS
ASSOCIATED WITH YIELD POTENTIAL AND DEVELOPMENT OF MOLECULAR
MARKERS FOR POWDERY MILDEW RESISTANCE IN MUNGBEAN)
อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. ปิยะดา ดันตสวัสดิ์, 121 หน้า.

การเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตของถั่วเขียวสามารถทำได้โดยการปรับปรุงลักษณะทางพืช
ไร่ ลักษณะทางสรีรวิทยา รวมทั้งระดับความต้านทานโรค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ประเมิน
ลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีสหสัมพันธ์และอิทธิพลทางตรงต่อผลผลิต 2) ศึกษา
การแสดงออกของยีนและอัตราพันธุกรรมของลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับผลผลิต 3) ศึกษาการ
แสดงออกของยีนต้านทานโรคราแป้ง และ 4) เพื่อพัฒนาเครื่องหมาย inter-simple sequence repeat
(ISSR) บ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง การทดลองที่ 1 ประเมินลักษณะทางพืชไร่และลักษณะ
ทางสรีรวิทยา 15 ลักษณะ ในถั่วเขียว 58 พันธุ์/สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ต่างประเทศจำนวน
41 สายพันธุ์ พันธุ์ส่งเสริม 10 พันธุ์ สายพันธุ์ดีเด่น 3 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่พัฒนา ณ มหาวิทยาลัย
เทคโนโลยีสุรนารี 4 สายพันธุ์ ทำการทดลอง ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี วางแผนการ
ทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (randomized complete block design; RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ
โดยพบว่าจำนวนฝักต่อต้น จำนวนช่อต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวนเมล็ดต่อต้น จำนวนกิ่งต่อต้น
น้ำหนักแห้งมวลรวม (total dry matter; TDM) น้ำหนักสดชีวมวล (biomass) และ ดัชนีพื้นที่ใบ (leaf
area index; LAI) มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการวิเคราะห์
สัมประสิทธิ์เส้นทาง พบว่าจำนวนช่อต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก TDM และจำนวนฝักต่อต้น เป็น
ลักษณะที่มีอิทธิพลทางตรงต่อผลผลิตสูง ดังนั้นจึงเหมาะสมสำหรับใช้เป็นดัชนีในการคัดเลือกสาย
พันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิตโดยเฉพาะในประชากรที่ใช้ศึกษา การทดลองที่ 2 ศึกษาการแสดงออก
ของยีน และอัตราพันธุกรรมของลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับผลผลิต โดยวิธีวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย
ประชากร ทำการผสมระหว่างพันธุ์ที่ให้ลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาต่ำกับสายพันธุ์
คัดเลือกที่ให้ลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาสูง จำนวน 12 คู่ผสมใน 7 ลักษณะ ได้แก่
TDM จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อฝัก ความยาวฝัก และ
ความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. และผลิตประชากร F_2 , BC_1 , BC_2 ทุกคู่ผสมปลูกทดสอบ
โดยใช้ 6 ประชากร (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2) วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 3 ซ้ำ
พบว่า ลักษณะ TDM จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น และความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122
ลบ.ซม. มีการแสดงออกของยีนไม่เป็นไปตามกฎบวกข่ม และมีการแสดงออกของยีนแบบข้ามข้ามคู่
ในทุกรูปแบบ มีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแคบปานกลาง และถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อย 1-2 คู่

ยกเว้นลักษณะน้ำหนักรเมล็ดต่อต้นมีอัตราพันธุกรรมทั้ง 2 แบบต่ำ และถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อย 4 คู่ สำหรับลักษณะน้ำหนักร 100 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อฝัก และความยาวฝัก มีการแสดงออกของยีนเป็นไปตามกฎบวก-ข่ม โดยน้ำหนักร 100 เมล็ด และจำนวนเมล็ดต่อฝักมีการแสดงออกของยีนแบบบวกเท่านั้น ในขณะที่ความยาวฝักได้รับอิทธิพลของยีนแบบข่มมากกว่าแบบบวก ทุกคู่ผสมมีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแคบปานกลาง และถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อย 4 คู่ (น้ำหนักร 100 เมล็ด) 3 คู่ (จำนวนเมล็ดต่อฝัก) และ 2 คู่ (ความยาวฝัก) การทดลองที่ 3 ศึกษาการแสดงออกของยีนด้านทานโรคราแป้ง โดยใช้ 6 ประชากร (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2) ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์อ่อนแอและสายพันธุ์ต้านทาน ($KPS1 \times V4758$, $KPS1 \times V2106$ และ $KPS2 \times V2106$) ทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยประชากร พบว่าทั้ง 3 คู่ผสม มีการแสดงออกของยีนทั้งแบบบวกและแบบข่ม โดยอิทธิพลของยีนแบบบวกมีมากกว่าแบบข่ม และไม่พบการแสดงออกของยีนแบบข่มข้ามคู่ และจากการวิเคราะห์ลักษณะความต้านทานโรค พบว่าความต้านทานโรคราแป้งถูกควบคุมด้วยยีนเด่นหนึ่งคู่ การทดลองที่ 4 พัฒนาเครื่องหมาย ISSR บ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง โดยผลิตประชากร $F_{2.6}$ ที่มีการกระจายตัวของยีนด้านทาน (recombinant inbred line; RIL) จากการผสมระหว่างพันธุ์ CN 72 (พันธุ์อ่อนแอ) กับ V4718 (สายพันธุ์ต้านทาน) สกัดดีเอ็นเอของพันธุ์อ่อนแอ สายพันธุ์ต้านทาน ต้น $F_{2.6}$ ที่มีความต้านทานต่อโรคราแป้ง 10 ต้น (นำดีเอ็นเอจากทั้ง 10 ต้น มารวมกันเป็นประชากรรวมด้านทาน) และต้น $F_{2.6}$ ที่มีความอ่อนแอต่อโรคราแป้ง 10 ต้น (นำดีเอ็นเอจากทั้ง 10 ต้น มารวมกันเป็นประชากรรวมอ่อนแอ) ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR 46 ไพรเมอร์ พบว่าเมื่อใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ลดลงขั้นตอนละ 1 องศาเซลเซียส จาก 65 ถึง 50 องศาเซลเซียส มี 9 ไพรเมอร์ที่ให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมด้านทาน และระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ (unique bands; UB) ทำการยืนยันผลโดยการใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสในขั้นตอน annealing พบเฉพาะไพรเมอร์ ISSR 842 และ 885 ที่ให้ UB ชัดเจนไพรเมอร์ละ 1 แถบ (เครื่องหมาย 842_340 และ 885_420 ตามลำดับ) ทำการตรวจสอบประชากร RIL ($F_{2.6}$) เป็นรายต้น จำนวน 20 ต้น เพื่อประเมินระยะห่างระหว่างเครื่องหมาย ISSR และยีนด้านทานโรคราแป้งเบื้องต้น พบว่า ISSR 842_340 และ 885_420 อยู่ห่างจากยีนด้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวประมาณ 10 เซนติมอร์แกน (centiMorgan; cM)

PARINYA KHAJUDPARN : CHARACTERS ASSOCIATED WITH YIELD
POTENTIAL AND DEVELOPMENT OF MOLECULAR MARKERS FOR
POWDERY MILDEW RESISTANCE IN MUNGBEAN.

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PIYADA TANTASAWAT, Ph.D., 121 PP.

MUNGBEAN/*Vigna radiata* (L.) Wilczek/CORRELATION ANALYSIS/PATH
COEFFICIENT ANALYSIS/AGRONOMIC AND PHYSIOLOGICAL
CHARACTERS/YIELD IMPROVEMENT/GENE ACTION/HERITABILITY/
POWDERY MILDEW/*Sphaerotheca phaseoli*/RESISTANCE GENE/
INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEAT/MARKER ASSISTED SELECTION

Mungbean yield potential could be increased by improving agronomic characters, physiological characters and disease resistance levels. The objectives of this research were to 1) determine the correlations and direct effects of agronomic characters and physiological characters on seed yield, 2) study the inheritance and heritability of agronomic characters and physiological characters correlated with seed yield, 3) study the inheritance of powdery mildew resistance, and 4) develop inter-simple sequence repeat (ISSR) molecular markers for powdery mildew resistance. The first experiment was carried out to evaluate fifteen agronomic characters and physiological characters in fifty eight varieties/lines including 41 plant introductions, 10 Thai recommended varieties, 3 promising breeding lines, and 4 SUT developed lines. All varieties/lines were planted at Suranaree University of Technology (SUT) Farm in randomized complete block design (RCBD) with four replications. It was found that seed yield was significantly positively correlated with the number of pods/plant, clusters/plant, seeds/pod, seeds/plant, and branches/plant, total dry matter (TDM), biomass, and leaf area

index (LAI). Path coefficient analysis indicated that the number of clusters/plant, seeds/pod, pods/plant, and TDM showed positively high direct effects on seed yield. Therefore, these characters should be used as selection criteria for mungbean yield improvement particularly in this population. The second experiment was conducted to study gene action and heritability of agronomic characters and physiological characters related to seed yield by using generation mean analysis. Twelve crosses between parents with low and high values of seven agronomic characters and physiological characters (TDM, the number of pods/plant, seeds weight/plant, 100 seed weight, the number of seeds/pod, pod length and root length/2,122 cm³ of soil volume) were made, and their F₂, BC₁ and BC₂ were produced. Six populations including P₁, P₂, F₁, F₂, BC₁ and BC₂ were evaluated. The experiment was conducted in RCBD with three replications. It was found that TDM, the number of pods/plant, seed weight/plant and root length/2,122 cm³ of soil volume did not follow the additive-dominant model in all crosses. All types of epistasis gene effects, moderate broad and narrow sense heritability, and at least 1-2 major gene pairs were found to control their expression, except seed weight/plant which showed low heritability and at least 4 major gene pairs. In all crosses, 100 seed weight, the number of seeds/pod and pod length did not show epistasis gene effects. One hundred seed weight and the number of seeds/pod possessed only additive gene effects, while pod length was controlled predominantly by dominant gene effects. Moderate broad and narrow sense heritability and at least 4 (100 seed weight) 3 (number of seeds/pod) and 2 (pod length) major gene pairs were found to control their expression. The third experiment was performed to study the inheritance of powdery mildew resistance in three crosses (KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 and KPS2 x V2106) between resistant and susceptible varieties/lines of mungbean. Six populations

including P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 and BC_2 , of each cross were subjected to generation mean analysis. The prevalence of additive over dominant gene effects was observed. Interaction of genes was not found in all three crosses. Powdery mildew resistant reaction of all three crosses was controlled by a single dominant gene. The fourth experiment was conducted to develop ISSR molecular markers for powdery mildew resistance. Recombinant inbred lines (RILs; $F_{2:6}$ population) were produced by crossing CN72 (susceptible parent) with V4718 (resistant parent). DNA was extracted from CN72, V4718, ten of $F_{2:6}$ resistant plants (DNA was pooled from all 10 plants to form resistant bulk DNA) and ten of $F_{2:6}$ susceptible plants (DNA was pooled from all 10 plants to form susceptible bulk DNA) for ISSR analysis with forty six ISSR primers. It was found that when touch down temperature from 65-50°C was used at the annealing step, nine primers gave similar DNA banding patterns between resistant parent and resistant bulk DNA, and between susceptible parent and susceptible bulk DNA (unique bands; UB). When the results were confirmed by using 50°C at the annealing step, it was found that each of the ISSR 842 and 885 primers gave a clear UB (ISSR 842_340 and ISSR 885_420, respectively). Twenty individual $F_{2:6}$ plants were evaluated for preliminary estimation of the distance between both ISSR markers and the powdery mildew resistance gene. Both ISSR 842_340 and ISSR 885_420 were detected at approximately ten centiMorgan (cM) away from the powdery mildew resistance gene in mungbean.

School of Crop Production Technology

Academic Year 2009

Student's Signature Pornpaga Khojudpan

Advisor's Signature Pornch Tulaporn

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เพราะได้รับความช่วยเหลือและคำแนะนำจากบุคคลต่าง ๆ หลายฝ่าย ทั้งในด้านวิชาการ และการดำเนินการวิจัยดังต่อไปนี้

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ปิยะดา ตันตสวัสดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา ความช่วยเหลือ และความเอาใจใส่ทั้งด้านการเรียน งานวิจัยอย่างยิ่ง ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้จนเสร็จสมบูรณ์ เป็นแบบอย่างอาจารย์และนักวิจัยที่ดีและมีคุณธรรมแก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. ไพศาล เหล่าสุวรรณ ผู้ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษาในการทดลองอย่างดีเสมอมา และช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ อาจารย์ ดร.โสภณ วงศ์แก้ว และอาจารย์ ดร.ฐิติพร มะณีโกว ผู้ให้คำแนะนำ คำปรึกษาในการทดลอง และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้จนเสร็จสมบูรณ์ อาจารย์ ดร. สุธชล วุ่นประเสริฐ หัวหน้าสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช และ รองศาสตราจารย์ ดร.สนั่น จอกลอย คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หัสไชย บุญสูง ผู้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการเก็บข้อมูลความยาวรากของถั่วเขียว

ขอขอบคุณคณะกรรมการวิจัยและพัฒนาแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่สนับสนุนทุนวิจัยเพื่อทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ และวิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่ง จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนานวัตกรรมการศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชผักเขต ร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ที่เอื้อเฟื้อเมล็ดพันธุ์ ถั่วเขียวที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำอาคารศูนย์เครื่องมือ ฯ 3 ทุกท่าน ผู้ช่วยอธิบายวิธีใช้เครื่องมือต่าง ๆ ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับอุปกรณ์สำหรับห้องปฏิบัติการ พนักงานฟาร์มมหาวิทยาลัยที่ได้ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในส่วนของการทดลอง รวมถึงเพื่อน พี่น้องนักศึกษาปริญญาโทและปริญญาเอกทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำงานวิจัยนี้จนแล้วเสร็จ

ท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ ที่อบรมเลี้ยงดู ให้คำปรึกษา สนับสนุน และให้กำลังใจในการศึกษาเล่าเรียนมาโดยตลอดจนประสบความสำเร็จ และขอบคุณพี่น้องทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

ปริญญา ขจัดพาล

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ(ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ท
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฒ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	3
1.3 สมมุติฐานการวิจัย.....	4
1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น.....	4
1.5 ขอบเขตการวิจัย.....	6
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	6
2. ทัศนวิสัยวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
2.1 ถั่วเขียว.....	7
2.1.1 ความสำคัญของถั่วเขียว.....	7
2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของถั่วเขียว.....	8
2.1.3 การจำแนกชนิดของถั่วเขียวในประเทศไทย.....	11
2.1.4 สภาพแวดล้อม การปลูก และการดูแลรักษา.....	11
2.1.5 โรคและแมลงศัตรูของถั่วเขียว.....	14
2.1.6 การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวในประเทศไทย.....	16
2.1.7 การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิตในประเทศไทย.....	17
2.1.8 การคัดเลือกลักษณะทางพืชไร่ที่มีสหสัมพันธ์กับผลผลิต.....	18

สารบัญ (ต่อ)

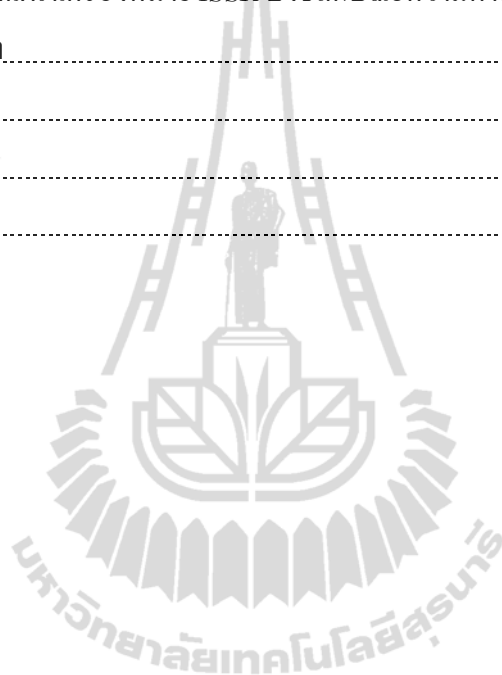
หน้า

2.1.9	การคัดเลือกลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีสหสัมพันธ์กับผลผลิตและ อัตราพันธุกรรม.....	19
2.1.10	การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทาง.....	20
2.1.11	การศึกษาการแสดงออกของยีนในลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต ในถั่วเขียว.....	21
2.1.12	การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานโรคราแป้ง.....	22
2.1.13	การศึกษาพันธุกรรมของการต้านทานโรคราแป้ง.....	25
2.1.14	การประยุกต์ใช้โมเลกุลเครื่องหมายโมเลกุลในการปรับปรุงพันธุ์ ให้ต้านทานโรค.....	25
2.1.15	การประยุกต์ใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการปรับปรุงพันธุ์ให้ ต้านทานโรคราแป้ง.....	26
3.	วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย.....	28
3.1	วัสดุอุปกรณ์.....	28
3.2	สถานที่ทำการทดลอง.....	29
3.3	ระยะเวลาการทดลอง.....	29
3.4	วิธีการทดลอง	
3.4.1	การศึกษาสหสัมพันธ์และการวิเคราะห์เส้นทางของลักษณะพืช ไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีต่อผลผลิตของถั่วเขียว.....	29
3.4.2	การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทาง สรีรวิทยา.....	34
3.4.3	การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะของยีนต้านทานโรคราแป้ง.....	38
3.4.4	การพัฒนาเครื่องหมาย ISSR บ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรค ราแป้ง.....	39
4.	ผลการทดลองและวิจารณ์.....	42
4.1	การศึกษาสหสัมพันธ์และการวิเคราะห์เส้นทางของลักษณะทางพืชไร่ ลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีต่อผลผลิตของถั่วเขียว.....	42
4.2	การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยา.....	54

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3	การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะของอินด้านทานโรคราแป้ง.....	83
4.4	การพัฒนาเครื่องหมาย ISSR บ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง.....	92
5.	สรุปผลการทดลอง.....	101
	รายการอ้างอิง.....	102
	ภาคผนวก.....	114
	ประวัติผู้เขียน.....	121



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	10
2	50
3	51
4	52
5	53
6	58
7	60
8	61
9	62
10	63
11	64
12	65

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
13 การกระจายตัวของลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ดของประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ในกลุ่มผสม SUT2 x V4758.....	66
14 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝักของประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ในกลุ่มผสม SUT1 x V4785.....	67
15 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝักของประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ในกลุ่มผสม SUT3 x V4451.....	68
16 การกระจายตัวของลักษณะความยาวฝักของประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ในกลุ่มผสม CN60 x V1414AG.....	69
17 การกระจายตัวของลักษณะความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. ของประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ในกลุ่มผสม CN60 x V1414AG.....	70
18 การกระจายตัวของลักษณะความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. ของประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ในกลุ่มผสม KPS1 x V1415AG.....	71
19 ค่า A, B และ C และค่า “c” จากการวิเคราะห์ scaling test ของ 7 ลักษณะใน 12 กลุ่มผสม.....	75
20 ค่าไคสแควร์ (χ^2) ของการทดสอบ additive-dominance model โดยวิธี joint scaling test ของ 7 ลักษณะใน 12 กลุ่มผสม.....	76
21 ค่า additive, dominance, additive x additive, additive x dominance และ dominance x dominance gene effects (และ SE) ของลักษณะทางพืชไร่ และลักษณะทางสรีรวิทยา จากการทดสอบโดยวิธี joint scaling test ในโดยใช้ประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2	77
22 อัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแบบแคบของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต 7 ลักษณะ.....	81
23 จำนวนคู่ของยีนที่น้อยที่สุดที่ควบคุมลักษณะ 7 ลักษณะใน 12 กลุ่มผสม.....	82
24 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของคะแนนการเกิดโรคของ 6 ประชากร (P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2) จากกลุ่มผสม KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106 ที่เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์อ่อนแอ x สายพันธุ์ต้านทาน.....	83

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
25	ค่า A, B และ C สำหรับทดสอบ scaling test ในลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง ในกลุ่มผสม KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106.....84
26	ค่าอิทธิพลของยีนแบบบวกและข่ม(และ SE) จากการวิเคราะห์ลักษณะความ ต้านทานโรคราแป้ง โดยวิธี joint scaling test โดยใช้ 6 ประชากร (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2) ของกลุ่มผสมระหว่างพันธุ์อ่อนแอและสายพันธุ์ต้านทาน (KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106).....85
27	การประเมินจำนวนยีนที่น้อยที่สุด (k) และ อัตราพันธุกรรม (h_b^2) ของลักษณะความ ต้านทานโรคราแป้ง.....86
28	การกระจายตัวของต้นที่เป็นโรคราแป้งในระดับคะแนนการเกิดโรคต่าง ๆ ใน ประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ของกลุ่มผสม KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106.....88
29	อัตราส่วนการกระจายตัวของประชากร F_2 และ BC_1 ที่ได้มาจากการผสมระหว่าง สายพันธุ์อ่อนแอ x ต้านทาน จำนวน 3 กลุ่ม.....91
30	แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่าง ระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และแม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือน กันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและ ประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR ต่าง ๆ และใช้อุณหภูมิ ในขั้นตอน annealing ลดลง ขั้นตอนละ 1 องศาเซลเซียส จาก 65 ถึง 50 องศาเซลเซียส.....93
31	แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่าง ระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และแม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความ เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์ อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR ต่าง ๆ และใช้อุณหภูมิใน ขั้นตอน annealing ที่ 50 องศาเซลเซียส.....97
32	แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่าง ระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และแม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกัน ระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอ

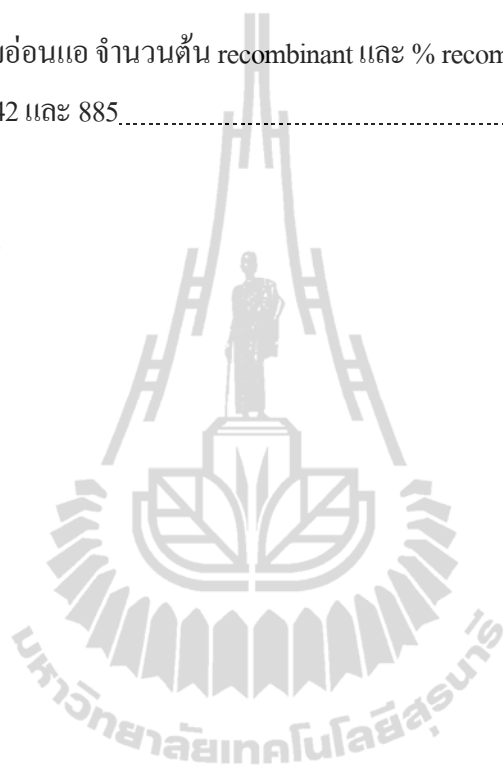
สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่

หน้า

และประชากรรวมอ่อนแอ จำนวนต้น recombinant และ % recombination เมื่อใช้

ไพรเมอร์ ISSR 842 และ 885.....98

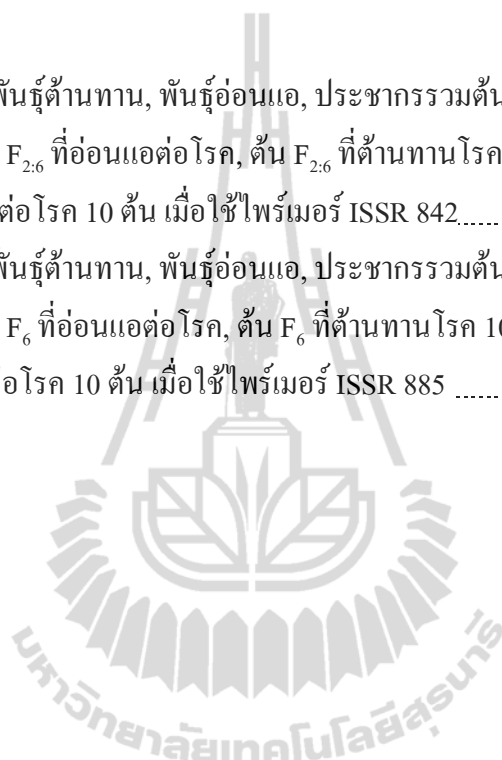


สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

- 1 แถบสีเอ็นเอของพันธุ์ต้านทาน, พันธุ์อ่อนแอ, ประชากรรวมต้น $F_{2:6}$ ที่ต้านทาน, ประชากรรวมต้น $F_{2:6}$ ที่อ่อนแอต่อโรค, ต้น $F_{2:6}$ ที่ต้านทานโรค 10 ต้น และ ต้น $F_{2:6}$ ที่อ่อนแอต่อโรค 10 ต้น เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR 842.....99
- 2 แถบสีเอ็นเอของพันธุ์ต้านทาน, พันธุ์อ่อนแอ, ประชากรรวมต้น $F_{2:6}$ ที่ต้านทาน, ประชากรรวมต้น F_6 ที่อ่อนแอต่อโรค, ต้น F_6 ที่ต้านทานโรค 10 ต้น และ ต้น F_6 ที่อ่อนแอต่อโรค 10 ต้น เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR 885100



คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AFLP	=	amplified fragment length polymorphism
BSA	=	bulk segregant analysis
ECV	=	environmental coefficient of variation
GCV	=	genotypic coefficient of variation
h_n^2	=	heritability in narrow sense
h_b^2	=	heritability in broad sense
HI	=	harvest index
ISSR	=	inter-simple sequence repeat
k	=	minimum number of genes
LAI	=	leaf area index
NB	=	number of scorable bands
NUB	=	number of unique bands
PB	=	male-female parent polymorphic bands
PCR	=	polymerase chain reaction
PCV	=	phenotypic coefficient of variation
RIL	=	recombinant inbred line
TDM	=	total dry matter
UB	=	unique bands

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

ถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) เป็นพืชตระกูลถั่วที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย สำหรับประเทศไทยมีการปลูกกันอย่างแพร่หลาย รวมถึงหลายประเทศในทวีปเอเชีย ถั่วเขียว จัดเป็นพืชอาหารและพืชบำรุงดิน สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายประเภท เช่น ใช้ บริโภคโดยตรง ผลิตถั่วงอก แป้ง วุ้นเส้น อาหารสัตว์ เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์แปรรูปอื่น ๆ เมล็ดถั่วเขียวประกอบด้วยแร่ธาตุหลายชนิด เช่น แคลเซียม (Ca) เหล็ก (Fe) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) โซเดียม (Na) และ แมกนีเซียม (Mg) และยังมีวิตามินอีกหลายชนิด เช่น วิตามิน บี1 บี2 เอ ซี และไนอาซิน นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารอาหารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต 64.12% โปรตีน 25.98% ไขมัน 20-30% (พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2542) และยังจัดเป็นอาหารสุขภาพ เพราะ มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำสุดเมื่อเทียบกับอาหารจากธัญพืชชนิดอื่น ๆ จากการสำรวจในปี พ.ศ. 2551/52 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกถั่วเขียว 899,573 ไร่ มีปริมาณผลผลิต 102,799 ตัน ส่งออก 33,000 ตัน สามารถทำรายได้จากการส่งออก 880 ล้านบาท ซึ่งพบว่าผลผลิตที่ได้มีแนวโน้มลดลงจากปีก่อนๆ แต่ปริมาณความต้องการใช้ถั่วเขียวภายในประเทศ และความต้องการของตลาดต่างประเทศยังมีสูง สาเหตุที่ทำให้การผลิตลดลงเนื่องมาจากต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าแรงงาน ราคา ถั่วเขียวที่ลดลง และผลผลิตต่อไร่ต่ำ (114 กิโลกรัมต่อไร่ ในปี พ.ศ. 2551/2552) (สำนักงาน เศรษฐกิจการเกษตร, 2553) การเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตของถั่วเขียวอาจสามารถทำได้โดย การปรับปรุงลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยา รวมไปถึงการเพิ่มระดับความต้านทาน โรค

ปัจจุบันการเพิ่มผลผลิตถั่วเขียวให้สูงขึ้นทำได้ยาก เนื่องจากมีข้อจำกัดทางพันธุกรรม จึงมี การใช้วิธีการต่าง ๆ เพื่อเพิ่มความแปรปรวนทางพันธุกรรม เช่น การฉายรังสี เพื่อเพิ่มความ แปรปรวนของลักษณะต่าง ๆ ซึ่งเป็นลักษณะทางพืชไร่ได้แก่ จำนวนฝักต่อต้น กิ่งต่อต้น ช่อต่อต้น เมล็ดต่อฝัก ความยาวฝัก น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดต่อต้น ตลอดจนลักษณะทางสรีรวิทยาที่มี ความสัมพันธ์กับผลผลิตได้แก่ ดัชนีพื้นที่ใบ (leaf area index; LAI) น้ำหนักสด (biomass) น้ำหนักแห้ง มวลรวม (total dry matter; TDM) รวมถึงความยาวและจำนวนรากของต้นกล้า หรืออาจเพิ่มความ แปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะดังกล่าวโดยการนำเข้าพันธุ์/สายพันธุ์จากต่างประเทศ (plant introduction) ซึ่งการใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาเป็นดัชนีในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตถั่วเขียวนั้น

ยังมีการศึกษาไม่มากนัก แต่เป็นลักษณะสำคัญ เนื่องจากเกี่ยวข้องกับกระบวนการและปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นภายในต้นพืช เช่นกระบวนการสังเคราะห์แสง การหายใจ รวมไปถึงการลำเลียงสารอาหารไปยังส่วนต่างๆ ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของพืช ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางพีชไร์ และลักษณะทางสรีรวิทยากับแหล่งพันธุกรรม (germplasm) ใหม่ของถั่วเขียวที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ และมีความแตกต่างทางพันธุกรรมสูง ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนในประเทศไทย อาจช่วยเพิ่มความแปรปรวนในลักษณะเหล่านี้ให้สูงขึ้น จึงอาจเพิ่มโอกาสได้ถั่วเขียวสายพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง

ลักษณะผลผลิตเป็นลักษณะปริมาณ ควบคุมโดยยีนหลายคู่ แปรปรวนไปตามสภาพแวดล้อม และมีอัตราพันธุกรรมต่ำ การให้ผลผลิตของพืชเกิดจากผลรวมของลักษณะทุก ๆ ลักษณะรวมกัน เช่น การเจริญเติบโตดี ด้านทานต่อโรคและแมลง จำนวนฝักมาก ขนาดเมล็ดใหญ่ เป็นต้น (Allard, 1960) ดังนั้นการคัดเลือกลักษณะผลผลิตโดยตรงจึงทำได้ยาก Grafius (1956) รายงานว่าผลผลิตเกิดจากการแสดงออกร่วมกันของลักษณะทางพีชไร์ ซึ่งการคัดเลือกจากลักษณะทางพีชไร์และลักษณะทางสรีรวิทยา อาจช่วยเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้นได้ จึงมีการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างผลผลิตกับลักษณะทางพีชไร์และลักษณะทางสรีรวิทยา รวมไปถึงการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทาง (path coefficient analysis) ซึ่งสามารถแยกสหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและลักษณะต่าง ๆ ออกเป็นอิทธิพลทางตรง และอิทธิพลทางอ้อม ในการหาดัชนีสำหรับคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีเพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ และนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตของถั่วเขียวต่อไป นอกจากนี้ ข้อมูลการแสดงออกของยีน และอัตราพันธุกรรมมีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์พืช ซึ่งอาจนำไปใช้เลือกวิธีการปรับปรุงพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับถ่ายทอดลักษณะและก่อให้เกิดการสะสมของยีนที่ดีในรุ่นลูก เพื่อเพิ่มผลผลิตต่อไปในอนาคต

สาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตถั่วเขียวลดลงประการหนึ่งคือ การระบาดของโรคราแป้ง (powdery mildew) ที่เกิดจากเชื้อรา *Sphaerotheca phaseoli* (ชื่อเดิม *Erysiphe polygoni* DC) ซึ่งมักจะระบาดในฤดูแล้งและมีอุณหภูมิต่ำ ทำให้ผลผลิตลดลง 20 ถึง 40% โดยเฉพาะเมื่อมีการระบาดของโรคในช่วงระยะออกดอกและติดฝัก (Soria and Quebral, 1973) ซึ่งในประเทศไทยมักพบเชื้อรา *Sphaerotheca phaseoli* อยู่ในช่วงที่สืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นการเพิ่มความต้านทานโรคราแป้งจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถลดระดับความรุนแรงของการระบาดและอาจสามารถเพิ่มผลผลิตถั่วเขียวให้สูงขึ้นได้

ปัจจุบันความรู้ เทคนิค และวิธีการทางด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลได้มีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว จึงได้มีการนำเทคนิคเหล่านี้มาช่วยในโครงการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงและรวดเร็วขึ้น เช่นการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ (marker-assisted selection; MAS) โดยเฉพาะในด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานต่อโรค เครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมใช้ใน

การคัดเลือกพันธุ์พืชเพื่อให้ต้านทานโรคมีหลายชนิด ได้แก่ restriction fragment length polymorphism (RFLP), random amplified polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP), inter-simple sequence repeats (ISSR), sequence characterized regions (SCAR), sequence tag site (STSs), cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS), microsatellites หรือ simple sequence repeats (SSRs) (Semagn et al., 2006)

เครื่องหมาย ISSR เป็นเครื่องหมายที่วิเคราะห์โดยใช้ไพรเมอร์ที่เป็นคู่สมกับลำดับเบสของ simple sequence repeat (SSR) ซึ่งไม่มีแรงกดดันจากการคัดเลือก (selection pressure) ทำให้บริเวณนี้มีความแตกต่างกันมาก (highly polymorphic) โดยไพรเมอร์จะทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่าง SSR พร้อมกันหลายตำแหน่งบนจีโนม (multilocus) ทำให้ได้จำนวนและขนาดแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน (Kantety et al., 1995) มีการนำเครื่องหมาย ISSR ไปใช้ศึกษาในพืชอย่างแพร่หลาย เช่น ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม การยืนยันความเป็นลูกผสมชั่วที่หนึ่ง (F_1) การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม เช่น Ajibade et al. (2000) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ถั่วสปีชีส์ต่าง ๆ โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR 19 ไพรเมอร์ พบว่า *Vigna unguiculata* มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมอย่างมากกับ *Vigna triphylla* และ *Vigna reticulata* ต่อมา Carvolho et al. (2005) สามารถใช้เครื่องหมาย ISSR เพื่อยืนยันความเป็นลูกผสมชั่วที่หนึ่งในการผสมข้ามสปีชีส์ของพืชวงศ์ *Triticeae* ได้สำเร็จ และปริญญา ขจัดพาล และคณะ (2549) ประเมินความสำเร็จในการใช้เครื่องหมาย ISSR ยืนยันความเป็นลูกผสม F_1 ในถั่วเขียวจำนวน 6 คู่ผสม ที่มีลักษณะคล้ายพันธุ์แม่มาก และไม่สามารถจำแนกได้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรค เช่น โรคราสนิมในข้าวสาลี (Gold et al., 1999) โรคเหี่ยวในพริกหวาน (Ratnaparkhe et al., 1998) เป็นต้น แต่ยังไม่พบรายงานการนำเครื่องหมาย ISSR มาใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวต้านทานโรคราแป้ง ซึ่งการพบเครื่องหมายโมเลกุลที่มีลิงก์เกกกับยีนต้านทานโรค จะมีประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรคราแป้งอย่างมาก เช่น สามารถบ่งชี้ต้นต้านทานโรคในเวลาอันรวดเร็ว โดยไม่ต้องรอให้มีการระบาดของโรค คัดเลือกได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าก่อนการผสมพันธุ์ และใช้ในการรวมยีนต้านทานโรคหลายยีนเข้าไว้ในพันธุ์/สายพันธุ์เดียวกัน (gene pyramiding) ได้ ซึ่งอาจช่วยให้ถั่วเขียวมีความต้านทานเชื้อราได้หลายสายพันธุ์ (race) มากขึ้น ดังนั้นเครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้อาจเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานต่อโรคราแป้งได้

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อสำรวจลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีความสัมพันธ์และอิทธิพลทางตรงกับผลผลิต เพื่อนำไปใช้เป็นดัชนีในการคัดเลือกพันธุ์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิต

- 1.2.2 เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิต
- 1.2.3 ศึกษาการแสดงออกของยีนและอัตราพันธุกรรมในลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับผลผลิต
- 1.2.4 ศึกษาการแสดงออกของยีนและอัตราพันธุกรรมของลักษณะความต้านทานโรคราแป้งของถั่วเขียว
- 1.2.5 เพื่อพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล ISSR ที่บ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว ซึ่งอาจนำไปสู่การโคลนยีนต้านทานต่อโรคราแป้งในถั่วเขียว และใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการคัดเลือกพันธุ์ในอนาคต

1.3 สมมุติฐานการวิจัย

- 1.3.1 การศึกษาลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่ให้ค่าสหสัมพันธ์และอิทธิพลทางตรงกับผลผลิตสูงในแหล่งพันธุกรรมถั่วเขียวที่รวบรวมไว้ ทำให้ได้ดัชนีที่สามารถใช้คัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวให้มีระดับผลผลิตสูง
- 1.3.2 การศึกษาการแสดงออกของยีนและอัตราพันธุกรรมของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีความสัมพันธ์กับผลผลิต สามารถนำไปใช้เลือกวิธีการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิตที่เหมาะสมมากขึ้น
- 1.3.3 การใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจหาความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างถั่วเขียวที่ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคราแป้ง ทำให้สามารถพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวที่ต้านทานโรคราแป้งได้

1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น

ถั่วเขียวเป็นพืชผสมตัวเองที่สามารถปรับปรุงพันธุ์ได้ 5 วิธีการ คือ การคัดเลือกพันธุ์ การผสมพันธุ์ การกลายพันธุ์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และพันธุวิศวกรรม การผสมพันธุ์เป็นวิธีการที่นิยมใช้กันมาก เนื่องจากมีการสำรวจลักษณะที่ดีของสายพันธุ์ใหม่ๆ ที่สามารถนำมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ รวมไปถึงการปรับปรุงวิธีการผสมพันธุ์เพื่อให้ได้อัตราการติดเมล็ดสูงความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีนี้ขึ้นอยู่กับ การเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่มีส่วนผสมของยีนที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการในรุ่นลูก ซึ่งการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์นั้นขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการปรับปรุงพันธุ์ การปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตนั้นมักเกี่ยวข้องกับ การรวบรวมส่วนผสมของยีนที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง และการถ่ายยีนทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเข้าไปยังยีนโนไทป์ที่ให้ผลผลิตสูง (Poehlman, 1991)

การปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตสามารถทำได้ 3 วิธีการได้แก่ (1) empirical approach (2) biometric approach (3) physiological approach ซึ่งวิธีที่ 1 อาศัยการเปรียบเทียบสายพันธุ์ปรับปรุงจำนวนมากในการทดสอบผลผลิตหลายซ้ำและหลายท้องที่เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง เนื่องจากผลผลิตเป็นลักษณะปริมาณที่การแสดงออกของฟีโนไทป์ขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมสูง วิธีที่ 2 อาศัยการประเมินความสัมพันธ์และผลอันเกิดจากองค์ประกอบผลผลิตแต่ละชนิดต่อผลผลิตรวม และการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมโดยใช้วิธีการทางสถิติ จากการศึกษาโดยนักวิจัยหลายท่านพบว่า ลักษณะที่มีความสัมพันธ์ต่อผลผลิตสูงสุดคือ จำนวนฝักต่อต้น ($r = 0.747$) รองลงมาคือ จำนวนช่อต่อต้น ($r = 0.534$) จำนวนเมล็ดต่อฝัก ($r = 0.349$) วันดอกแรกบาน ($r = 0.323$) ความสูง ($r = 0.260$) ความยาวฝัก ($r = 0.258$) และน้ำหนักเมล็ด ($r = 0.222$) ไพศาล เหล่าสุวรรณ และคณะ (2543) ได้ทดลองเพิ่มความแปรปรวนของลักษณะทางพืชไร่ เช่น จำนวนฝักต่อต้น จำนวนช่อต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น ฯลฯ โดยวิธีการกลายพันธุ์ แล้วนำมาคัดเลือกพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตโดยวิธีคัดเลือกแบบเก็บรวมและแบบแยกสายพันธุ์ พบว่าได้สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ดั้งเดิม การนำลักษณะทางพืชไร่เหล่านี้มาใช้คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์เพื่อเพิ่มความแปรปรวนทางพันธุกรรมและเพื่อให้ได้ส่วนผสมของยีนที่ให้ผลผลิตสูงโดยวิธีผสมพันธุ์จึงน่าจะมีศักยภาพสูงในการเพิ่มผลผลิต วิธีที่ 3 เกี่ยวข้องกับผลผลิตจากการสังเคราะห์แสง และการแบ่งสรรผลผลิตสำหรับการผลิตราก ลำต้น ใบ และเมล็ด จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่าลักษณะทางสรีรวิทยาบางอย่างเช่น ดัชนีพื้นที่ใบ น้ำหนักแห้งรวม ความยาวและจำนวนรากของต้นกล้ามีความสัมพันธ์กับผลผลิต และอาจนำมาใช้ในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตได้ (Pochlman, 1991) การศึกษาลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่ให้ค่าสหสัมพันธ์และอิทธิพลทางตรงกับผลผลิตที่สูง ทำให้สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อปรับปรุงพันธุ์รับรองและพันธุ์ดีเด่นให้มีระดับผลผลิตสูงขึ้นได้ นอกจากนี้พบว่าถั่วเขียวที่มี TDM สูง จะมีลำต้น กิ่ง ก้าน ใบ ที่มาก ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารและเก็บสะสมในส่วนต่าง ๆ ของลำต้น ส่งผลให้ได้ผลผลิตที่สูง (Kuo et al., 1978)

นอกจากนี้การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิต อาจทำได้โดยการเพิ่มความต้านทานโรคราแป้ง และการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานสามารถทำให้คัดเลือกดั้งต้นต้านทานได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว ไม่ต้องรอให้มีการระบาดของโรคคัดเลือกได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าก่อนการผสมพันธุ์ และใช้ในการรวมยีนต้านทานโรคหลายยีนเข้าไว้ในพันธุ์/สายพันธุ์เดียวกัน (gene pyramiding) ได้ ซึ่งอาจช่วยให้ถั่วเขียวมีความต้านทานเชื้อราได้หลายสายพันธุ์ (race) มากขึ้น เครื่องหมาย ISSR ที่อยู่ใกล้หรือเป็นส่วนหนึ่งของยีนต้านทานนี้ ยังมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะนำมาใช้สร้างแผนที่พันธุศาสตร์ หรือหาตำแหน่งยีนต้านทานโรคเพื่อนำมาใช้โคลนยีนต้านทานโรค (map-based cloning) ได้ ดังนั้นเครื่องหมาย ISSR อาจสามารถใช้เพิ่ม

ประสิทธิภาพในการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียว เพื่อให้ต้านทานต่อโรคราแป้งได้นานาคต

1.5 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับศักยภาพของถั่วเขียวในการให้ผลผลิต โดยทำการทดลองในแปลงปลูก ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน คือ 1.) ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยา 2.) การแสดงออกของยีนและอัตราพันธุกรรมของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีความสัมพันธ์กับผลผลิต 3.) ความต้านทานโรคราแป้ง โดยศึกษาลักษณะทางพืชไร่ 12 ลักษณะและลักษณะทางสรีรวิทยา 3 ลักษณะ ที่มีผลต่อผลผลิตถั่วเขียวจำนวน 58 สายพันธุ์ คัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสม เพื่อสร้างตัวแทนประชากรสำหรับศึกษาการแสดงออกของยีนรวมไปถึงอัตราพันธุกรรมของลักษณะที่มีสหสัมพันธ์กับผลผลิตสูง และลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์และคัดเลือกลักษณะที่เหมาะสมสำหรับใช้ปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้มีผลผลิตสูงต่อไป นอกจากนี้ใช้เครื่องหมาย ISSR เพื่อพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับคัดเลือกสายพันธุ์ ถั่วเขียวที่ต้านทานโรคราแป้งในประชากร recombinant inbred line (RIL) 1 ประชากร

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.6.1 ได้ดัชนีในการคัดเลือกพันธุ์ สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิตและได้สายพันธุ์ถั่วเขียวที่ให้ผลผลิตสูง
- 1.6.2 ได้ข้อมูลการแสดงออกของยีน อัตราพันธุกรรม และจำนวนคู่ของยีนที่ควบคุมลักษณะทางพืชไร่และสรีรวิทยา รวมถึงความต้านทานโรคราแป้งในประชากรถั่วเขียวที่ทำการศึกษา ซึ่งอาจนำมาใช้ในการตัดสินใจคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวสำหรับปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตต่อไป
- 1.6.3 ได้เครื่องหมาย ISSR ที่มีศักยภาพในการนำมาใช้พัฒนาเครื่องหมายสำหรับใช้คัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวต้านทานโรคราแป้งในอนาคต

บทที่ 2

ปรัทัศนัวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ถั่วเขียว

ถั่วเขียว (mungbean) จัดเป็นพืชไร่ที่สำคัญพืชหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna radiata* (L.) Wilczek มีถิ่นกำเนิดทางตอนเหนือของประเทศอินเดีย เป็นพืชอายุสั้น มีอายุเก็บเกี่ยวไม่เกิน 85 วัน ทนแล้ง สามารถขึ้นได้ดีในเขตร้อน และเขตอบอุ่น แหล่งปลูกที่สำคัญของโลก ได้แก่ อินเดีย ไทย พม่า อินโดนีเซีย (พระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2542)

2.1.1 ความสำคัญของถั่วเขียว

ถั่วเขียวมีการปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย และหลายประเทศในทวีปเอเชีย จัดเป็นพืชอาหารและพืชบำรุงดินเพราะมีชีวมวลสูง สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายประเภท ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้ภายในประเทศเพื่อการบริโภคโดยตรง และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ โดยนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเพาะถั่วงอก อุตสาหกรรมขนมหวาน การผลิตแป้งถั่วเขียว วุ้นเส้น อาหารสัตว์ และเครื่องสำอาง เมื่อเทียบระหว่างปริมาณการผลิตและความต้องการถั่วเขียว จะเห็นได้ว่าปริมาณการผลิตถั่วเขียวของไทยไม่เพียงพอต่อความต้องการในประเทศ ทำให้ไทยต้องนำเข้า ถั่วเขียว เมื่อพิจารณาการส่งออกถั่วเขียวและผลิตภัณฑ์จากถั่วเขียว พบว่าการส่งออกมีแนวโน้มเติบโตอย่างต่อเนื่อง ทำให้ถั่วเขียวและผลิตภัณฑ์จากถั่วเขียวมีโอกาสขยายตลาดทั้งในประเทศและส่งออกมากขึ้นในอนาคต ถั่วเขียวยังจัดเป็นพืช 1 ใน 27 ชนิดที่ต้องมีการผลิตปลอดภัยจากสารพิษตามนโยบาย Food Safety Year ในปี พ.ศ. 2547 เพื่อที่จะให้ประเทศไทยเป็นครัวของโลก ตามที่รัฐบาลกำหนดวิสัยทัศน์ไว้ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2548)

เมล็ดถั่วเขียวประกอบด้วยแร่ธาตุหลายชนิด เช่น แคลเซียม (Ca) เหล็ก (Fe) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) โซเดียม (Na) และแมกนีเซียม (Mg) โดยโพแทสเซียมช่วยเสริมสร้างกล้ามเนื้อให้แข็งแรง ฟอสฟอรัสช่วยบำรุงประสาทและสมอง แคลเซียมช่วยบำรุงกระดูก และยังมีวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินบี1 บี2 เอ ซี และไนอาซิน ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อร่างกายในการดำรงชีวิตประจำวัน นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารอาหารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต 64.12% โปรตีน 25.98% ไขมัน 20-30% เป็นต้น (พระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2542) และยังจัดเป็นอาหารสุขภาพ เพราะมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำสุดเมื่อเทียบกับอาหารจากธัญพืชชนิดอื่น ๆ จากการสำรวจในปี พ.ศ. 2551/52 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกถั่วเขียวทั้งสิ้น 899,573 ไร่ สามารถผลิตได้ทั้งสิ้น 102,799 ตัน ส่งออก 33,000 ตัน และทำ

รายได้จากการส่งออก 880 ล้านบาท โดยจังหวัดที่มีการปลูกถั่วเขียวมาก ได้แก่ เพชรบูรณ์ นครสวรรค์ สุโขทัย ตาก และพิจิตร ซึ่งพบว่าผลผลิตที่ได้มีแนวโน้มลดลงจากปีก่อน ๆ แต่ปริมาณความต้องการใช้ถั่วเขียวภายในประเทศ และความต้องการของตลาดต่างประเทศยังมีสูง โดยประเทศคู่ค้าที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย และศรีลังกา สาเหตุที่ทำให้การผลิตลดลงเนื่องมาจากต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าแรงงาน ราคาถั่วเขียวที่ลดลง และผลผลิตต่อไร่ต่ำ (114 กก. ต่อไร่ ในปี พ.ศ. 2551/2552) (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของถั่วเขียว

ราก (root) ถั่วเขียวเป็นพืชที่มีระบบรากเป็นแบบรากแก้ว (tap root system) เช่นเดียวกับถั่วเหลือง คือมีรากแก้ว (tap root) มาจาก radicle และมีรากด้านข้างหรือรากแขนง (lateral root) เจริญออกมาจากรากแก้ว รากของถั่วเขียวมักจะเจริญลงไปในดินได้ค่อนข้างลึก และมีการแตกแขนงของรากดี ซึ่งลักษณะดังกล่าวทำให้ถั่วเขียวเจริญได้ในสภาพของดินที่มีความชื้นจำกัด บริเวณรากของถั่วเขียวมักจะพบปมซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรียพวก *Rhizobium* spp. ซึ่งช่วยในการตรึงไนโตรเจน ซึ่งการอยู่ร่วมกันของถั่วเขียวกับเชื้อดังกล่าวเป็นการอยู่ร่วมกันแบบ symbiosis (รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ และคณะ, 2541)

ลำต้น (stem) ถั่วเขียวเป็นพืชล้มลุกมีลำต้นตั้งตรงเป็นพุ่ม มีการแตกกิ่งก้านเป็นกลุ่ม ความสูงของทรงพุ่มมีตั้งแต่ 30-150 เซนติเมตร (ขึ้นอยู่กับพันธุ์) ส่วนของลำต้นที่อยู่สูงกว่าใบเลี้ยงขึ้นมา มักจะมีลักษณะเป็นเหลี่ยมมีขนอ่อนปกคลุมอยู่ทั่วไป อย่างไรก็ตามอาจจะมีถั่วเขียวบางพันธุ์ที่มีลักษณะของลำต้นเลื้อย

ลำต้นในระยะต้นอ่อน ประกอบด้วยส่วนที่อยู่เหนือใบเลี้ยง (epicotyl) ใบเลี้ยง (cotyledon) และส่วนที่อยู่ใต้ใบเลี้ยง (hypocotyl) ลำต้นส่วนใต้ใบนี้มีสีม่วงแดง หรือสีเขียว ขึ้นกับสายพันธุ์ เมื่อถั่วเขียวเจริญเติบโต ส่วนของลำต้นที่อยู่เหนือใบเลี้ยงจะมีลักษณะค่อนข้างเป็นเหลี่ยม และมีขน (pubescence หรือ trichome หรือ hair) ปกคลุมอยู่ทั่วไป (รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ และคณะ, 2541)

ใบ (leaf) ใบของถั่วเขียวจำแนกได้เป็น 4 พวก คือในระยะต้นอ่อนมีใบเลี้ยง (cotyledon หรือ seed leaf) จำนวน 2 ใบ เกิดเป็นคู่ตรงกันข้ามกันบริเวณข้อของใบเลี้ยง (cotyledon node) ใบที่เกิดจากใบเลี้ยงคือ ใบจริงคู่แรก (unifoliate leaves) 2 ใบ เมื่อถั่วเขียวอายุมากขึ้น ใบที่เกิดต่อมาจะเป็นใบประกอบสามใบ (trifoliate leaves) เกิดสลับไปบนส่วนของลำต้น ประกอบด้วยใบย่อย 3 ใบ คือ ใบย่อยด้านปลาย (terminal leaflet) 1 ใบ และใบย่อยด้านข้าง (lateral leaflet) 2 ใบ ที่โคนของก้านใบประกอบ (petiole) มีหูใบ (stipule) 2 อัน ก้านใบย่อยของถั่วเขียวมีลักษณะสั้น ใบย่อยใบกลางมีหูใบย่อย 2 อัน ส่วนใบย่อย 2 ใบล่างมีหูใบย่อยข้างละอัน ใบมีขนปกคลุมทั่วไปเช่นเดียวกับลำต้น (รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ และคณะ, 2541)

ช่อดอกและดอก (inflorescence)

ดอกถั่วเขียวมีลักษณะเป็นช่อ (inflorescence) เป็นแบบ condense raceme ดอกถั่วเขียวจะเกิดขึ้นบริเวณมุมใบที่อยู่ตอนบนของลำต้น และที่ปลายยอดของลำต้นและกิ่งก้าน ช่อดอกถั่วเขียวมีก้านดอก (peduncle) ยาวตั้งแต่ 2-13 เซนติเมตร มีดอกเกิดเป็นกลุ่มที่ปลาย ช่อดอกหนึ่ง ๆ จะมีจำนวนดอกประมาณ 10-15 ดอก สีของดอกของถั่วเขียวมีหลายสี เช่น สีเหลือง สีม่วง และสีขาว ดอกมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร แต่ละดอกประกอบด้วยวงกลีบเลี้ยง (calyx) เล็กน้อย

ส่วนของวงกลีบดอก (corolla) ประกอบด้วยกลีบดอก (petal) 5 กลีบ ได้แก่ กลีบขนาดใหญ่ (banner หรือ standard) ที่หุ้มกลีบดอกทั้งหมดไว้ 1 กลีบ กลีบขนาดกลางที่อยู่ด้านนอกของดอก (wing) 2 กลีบ และกลีบขนาดเล็ก (keel) 2 กลีบ ดอกถั่วเขียวมีเกสรตัวผู้ (stamen) 10 อัน เป็นแบบ diadelphous คือมี 9 อันเชื่อมติดกัน (united stamen หรือ fused stamen) และอีก 1 stamen แยกอยู่เป็นอิสระ (free stamen) ส่วนของเกสรตัวเมีย (pistil) ประกอบด้วยยอดเกสรตัวเมีย (stigma) ที่มีขนาดยาว และก้านชูเกสรตัวเมีย (style) ที่มีรูปร่างเรียวยาวคล้ายเส้นด้าย มีรังไข่ (ovary) 1 อัน รูปร่างยาวรีเป็นแบบ unicarpellate ซึ่งภายในมี 10-15 โอวูล (รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ และคณะ, 2541)

ฝักและเมล็ด (pod and seed)

ฝักของถั่วเขียวมีเป็นแบบ legume เกิดเป็นกลุ่ม ฝักของถั่วเขียวฝักหนึ่งมีรูปร่างกลมยาว มีขนปกคลุมเพียงเล็กน้อย ส่วนปลายของฝักจะโค้งงอเล็กน้อย และมีรอยยอดของฝัก ฝักที่กำลังพัฒนามีสีเขียว และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน น้ำตาลเข้ม หรือสีดำ หรือขาวนวล ขึ้นอยู่กับพันธุ์ แต่ละฝักมีเมล็ดอยู่ประมาณ 10-15 เมล็ด ถั่วเขียวบางพันธุ์ฝักแก่จะแตก (shattering) ตามรอยประกับของเปลือกฝัก (suture) ทำให้เมล็ดร่วง แต่พันธุ์ที่เป็นการค้าฝักจะไม่แตก (non-shattering)

เมล็ดประกอบด้วยส่วนที่สำคัญคือเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat หรือ testa) มีสีต่าง ๆ กันเช่น เขียว เหลือง น้ำตาล ดำ ทางด้านหนึ่งจะพบรอยแผลหรือเปลือกตา (hilum หรือ seed scar) ที่เกิดจากส่วนที่เมล็ดเดิมติดอยู่กับฝัก มีสีแตกต่างกัน เช่น เขียว น้ำตาล ดำ อาจมีผิวเรียบมันหรือผิวด้าน และมีรูปร่างกลมรี บริเวณรอยแผลที่ปลายด้านเดียวกับบริเวณต้นอ่อนในเมล็ดมีรู (micropyle) เกิดจากเนื้อเยื่อ integument ของรังไข่ที่ถูกเคลือบด้วยสารคิวติน ที่ปลายด้านหนึ่งของรอยแผลมีร่อง เล็ก ๆ (raphe) ที่เกิดจากการเกาะของ integument กับผนังรังไข่

ภายในเมล็ดไม่มีส่วนของเอนโดสเปิร์ม (endosperm) แต่จะมีใบเลี้ยง (cotyledon หรือ lateral divergence) 2 ใบ ที่อยู่ถัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดเข้าไป ทำหน้าที่เก็บสะสมอาหารเพื่อการงอกและเจริญเติบโตของต้นอ่อนโดยเชื่อมติดกันกับส่วนของแกนต้นอ่อน (primary axis หรือ embryogenic axis) ซึ่งประกอบด้วยส่วนของยอดอ่อน (plumule) และแกนของ hypocotyl-radicle axis (รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ และคณะ, 2541)

ถั่วเขียวเป็นพืชผสมตัวเอง (self-pollinated) ละอองเกสรจะโปรยเวลา 21.00-03.00 น. และดอกที่ผสมแล้วจะบานในวันรุ่งขึ้น กลีบดอกจะเหี่ยวลงในตอนเย็นของวันเดียวกัน ในระยะออกดอกถ้ามีฝนอัตราการผสมติดจะมีเมล็ดจะต่ำมาก (ทรงเชาว์ อินสมพันธ์, 2545)

ระยะการเจริญเติบโตของถั่วเขียว

ระยะการเจริญเติบโตของถั่วเขียวแบ่งออกเป็น 2 ระยะใหญ่ ๆ คือ ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative stage) และระยะเจริญพันธุ์ (reproductive stage) (พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2542) ดังนี้

ตารางที่ 1 ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น และระยะเจริญพันธุ์ของถั่วเขียว

ระยะ	คำอธิบาย
ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น	
VE	ใบเลี้ยงโผล่พ้นดิน
VC	ใบเลี้ยงกางออกจากกัน และใบเลี้ยงคู่แรกมีขอบใบคลี่แยกจากกัน
V1	ใบประกอบใบแรกมีขอบใบคลี่แยกจากกัน ใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง
V2	มี 2 ข้อ บนลำต้น ประกอบด้วยใบจริงคู่แรกและใบประกอบใบแรก
V3	มี 3 ข้อบนลำต้น ประกอบด้วยใบจริงคู่แรก และใบประกอบ 2 ใบที่เจริญเต็มที่แล้ว ใบบนข้อถัดไปมีขอบคลี่แยกจากกัน
Vn	มี n ข้อบนลำต้น ใบประกอบชุดที่ n-1 แผ่กว้าง ขณะที่ใบบนข้อที่ n+1 (ใบประกอบชุดที่ n) เริ่มคลี่กาง
ระยะออกดอกและติดฝัก	
R1	ดอกบานที่ข้อใดข้อหนึ่งของลำต้นหลัก
R2	ฝักใดฝักหนึ่งมีขนาดยาวถึง 1 เซนติเมตร
R3	ฝักใดฝักหนึ่งมีขนาดยาวถึง 5 เซนติเมตร
R4	ฝักใดฝักหนึ่งมีลักษณะคอด เมล็ดภายในฝักนูนขึ้นเห็นได้ชัด
R5	ฝักใดฝักหนึ่งเริ่มสุกแก่ โดยเปลี่ยนเป็นสีเทา น้ำตาลหรือดำ
R6	ฝักสุกแก่ร้อยละ 80 (เก็บเกี่ยวครั้งที่ 1)
R7	ฝักสุกแก่มากกว่าร้อยละ 80 (เก็บเกี่ยวครั้งที่ 2)

2.1.3 การจำแนกชนิดของถั่วเขียวในประเทศไทย

ในประเทศไทยมีการจำแนกประเภทของถั่วเขียวโดยใช้เปลือกของเมล็ดเป็นหลักในการพิจารณา ซึ่งสามารถแบ่งถั่วเขียวออกเป็น 4 ประเภทคือ

2.1.3.1 ถั่วเขียวผิวมันเมล็ดเรียบ ลักษณะถั่วเขียวประเภทนี้มีเมล็ดเป็นมันสีเขียว ขนาดเมล็ดมีทั้งเล็กและใหญ่ ลักษณะสีฝักเมื่อแก่แบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ ฝักสีดำ เรียกว่าถั่วเขียวเมล็ดมันฝักดำ และชนิดฝักสีขาวนวล เรียกว่าถั่วเขียวเมล็ดมันฝักขาว ซึ่งได้แก่ พันธุ์พื้นเมืองฝักขาว Bhacti

2.1.3.2 ถั่วเขียวธรรมชาติหรือถั่วเขียวเมล็ดด้าน เป็นถั่วเขียวที่เปลือกเมล็ดมีสีเขียว ด้าน ลำต้นเป็นพุ่มใหญ่ มีการแตกกิ่งมาก ถั่วเขียวประเภทนี้เหมาะสำหรับปรุงหรือประกอบอาหารหลายอย่าง เช่น ใช้เพาะเป็นถั่วงอก ทำวุ้นเส้น ส่งขายต่างประเทศ ให้ผลผลิตต่อไร่สูง

2.1.3.3 ถั่วทองหรือถั่วเขียวสีทอง ลักษณะต่าง ๆ คล้ายกับถั่วเขียว 2 ชนิดแรก แต่สีของเมล็ดเป็นสีเขียวอมเหลือง หรือสีเหลืองทอง มีทั้งเมล็ดด้านและเมล็ดมัน นิยมใช้ทำขนม เพราะสีเหลืองทำให้เกิดสีน่ายรับประทาน

2.1.3.4 ถั่วเขียวผิวดำ เป็นพืชตระกูลถั่วที่มีลักษณะใกล้เคียงกับถั่วเขียวธรรมชาติ แต่ตำราบางเล่มจัดอยู่ในชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna mungo* (L.) Wilczek มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Black gram ลักษณะของถั่วเขียวชนิดนี้ที่แตกต่างไปจากถั่วเขียวธรรมชาติคือ ลำต้นเป็นพุ่มใหญ่ แตกกิ่งก้านสาขามากกว่า บางพันธุ์ถ้าปลูกในฤดูฝนจะมีลักษณะทอดยอดเลื้อยพันกัน ใบหนา มีขนปกคลุมลำต้น ก้านใบและฝักหนากว่า ดอกมีสีเขียวอมเหลือง ฝักมีลักษณะป้อมสั้นกว่า เมล็ดมีสีดำ มีขนาดปานกลาง น้ำหนัก 100 เมล็ดประมาณ 5 กรัม ตาของเมล็ดมีขนาดใหญ่สีขาว อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 80-90 วัน ถั่วเขียวประเภทนี้ปลูกเพื่อส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศ ใช้ทำถั่วงอก วุ้นเส้น ขนม และอื่น ๆ (ทรงขาว อินสมพันธ์, 2545)

2.1.4 สภาพแวดล้อม การปลูก และการดูแลรักษา

2.1.4.1 สภาพภูมิอากาศที่เหมาะสม

ถั่วเขียวเป็นพืชที่ขึ้นได้ดีทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ในประเทศอินเดียมีการปลูกที่ความสูงจากระดับน้ำทะเลจนถึงที่สูง 6,000 ฟุต ส่วนมากมักปลูกก่อนหรือตามหลังการปลูกพืชหลัก เช่น ข้าว และข้าวโพด เป็นต้น ขึ้นได้ดีในดินร่วนหรือดินเหนียว ทนแล้งได้ดีสามารถขึ้นได้ในแถบที่มีน้ำฝนกระจายเพียงประมาณ 800 มม.ต่อปี ในฤดูปลูกมีน้ำฝน 300-500 มม. ก็เพียงพอ แต่เป็นพืชที่ไม่ชอบน้ำขัง อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปเป็นพืชวันสั้นแต่ในอินเดียมีการพบพันธุ์วันยาวด้วยเช่นกัน (สมจินตนา พุ่มแสน และอิสระ พุทธสิมมา, 2551)

2.1.4.2 สภาพดินที่เหมาะสมและการเตรียมดิน

ดินที่เหมาะสมสำหรับการปลูกถั่วเขียวควรเป็นดินเหนียว ดินร่วนเหนียวเกาะตัวกัน เป็นโครงสร้างที่โปร่ง ถ่ายเทอากาศดี ระบายน้ำดี มีหน้าดินลึก มีอินทรีย์วัตถุสูง เก็บความชื้นได้ดี มีปฏิกิริยาของดิน (pH) เป็นกลาง หรือเป็นกรดอ่อน โดยมี pH ระหว่าง 6.5-7.0 มีธาตุอาหารต่าง ๆ ในดินเพียงพอ อยู่ในปริมาณที่สมดุลกันและมีความชื้นเพียงพอ ปราศจากสารหรือสิ่งเป็นพิษสะสมอยู่ในดิน หรือละลายออกมาจากดินจนเป็นอันตรายแก่พืชและจุลินทรีย์ดิน โดยเฉพาะเชื้อไรโซเบียม ส่วนมากมีการเตรียมดินในระดับต่ำ โถเพียงครั้งเดียว เมื่อหว่านแล้วก็หว่านเมล็ดไถกลบลงไป ในนาข้าวอาจเผดอซังก่อน หว่านเมล็ดถั่วเขียวแล้วไถกลบ การปลูกเช่นนี้ทำให้ผลผลิตต่ำ ดินในประเทศไทยมักมีความเป็นกรดมากกว่าเป็นด่าง (pH ต่ำกว่า 7) ควรใส่ปูนขาวเพื่อปรับสภาพดิน ประมาณ 50-100 กก.ต่อไร่ทุกครั้งก่อนปลูก 15 วัน การใส่ปุ๋ยอาจหว่านไปบนดินแล้วไถกลบ ขณะเตรียมแปลงก็ได้ นอกจากใส่ปูนขาวแล้วควรมีการใส่ปุ๋ย ปุ๋ยที่เหมาะสมคือสูตร (N, P₂O₅, K₂O) 3-12-6 หรือ 3-12-12 แต่เกษตรกรมักไม่ใช้ปูนขาว และใช้ปุ๋ยตกค้างจากพืชอื่นที่ปลูกนำถ้าใส่บ้างก็ใช้ปุ๋ยสูตร 16-20-0 หรือปุ๋ยสูตรอื่น เช่น 15-15-15 ในอัตรา 10-20 กก.ต่อไร่ (สมจินตนา ทุมแสน และอิสระ พุทธิสัณมา, 2551)

2.1.4.3 วิธีการปลูกและระยะปลูก

วิธีการปลูก นิยมปลูกกัน 3 วิธี

2.1.4.3.1 ปลูกโดยวิธีหว่าน วิธีนี้เกษตรกรบางท้องที่นิยมปฏิบัติกัน เพราะสะดวก และรวดเร็วในการปลูก หว่านเมล็ดให้กระจายพอดี ถ้าหว่านเกินไปจะให้ผลผลิตน้อย ถ้าถี่เกินไปทำให้ได้ต้นเล็ก นอกจากนี้ยังทำให้เกิดความไม่สม่ำเสมอของต้นถั่วเขียวที่งอกขึ้นมา เมล็ดอาจเสียหายง่าย ในการหว่านนี้ใช้เมล็ดพันธุ์ 8-10 กก./ไร่ การดูแลรักษาและปราบวัชพืชทำได้ยากเพราะถั่วเขียวขึ้นกระจัดกระจายไม่มีระเบียบ เก็บเกี่ยวยาก และผลผลิตต่ำ

2.1.4.3.2 ปลูกโดยวิธีหยอดหลุม วิธีนี้คือการปลูกเป็นแถว เป็นวิธีที่ดี และสะดวก ในการดูแลรักษา และการจัดการต่าง ๆ เช่นการกำจัดวัชพืช การพ่นสารเคมี และการเก็บเกี่ยวเป็นต้น การปลูกแบบนี้ควรใช้ระยะปลูกระหว่างแถว 50 เซนติเมตร และระยะระหว่างหลุม 20 เซนติเมตร หยอดหลุมละ 4-5 เมล็ด เมื่อถั่วเขียวงอกแล้วประมาณ 10 วัน ถอนแยกให้เหลือ 2-3 ต้นต่อหลุม จะได้ประชากรต่อไร่ประมาณ 32,000-48,000 ต้น และใช้เมล็ดพันธุ์ประมาณ 3-5 กก./ไร่ วิธีนี้มักใช้ในการทดลองเท่านั้น

2.1.4.3.3 ปลูกโดยวิธีโรยเป็นแถว วิธีการปลูกแบบนี้เป็นวิธีหนึ่งที่ค่อนข้างได้ผลดี การปลูกโดยทำการเปิดร่องก่อน ระยะระหว่างร่อง 50 เซนติเมตร กว้างแถว 5-7 นิ้ว โรยเมล็ดลงในร่อง 10-15 เมล็ดต่อระยะร่องยาว 1 เมตร การปลูกวิธีนี้จะได้จำนวนประชากรของถั่วเขียวต่อไร่เท่ากับ

วิธีการปลูกแบบเป็นหลุม และใช้เมล็ดพันธุ์ประมาณ 5 กก./ไร่ วิธีนี้เหมาะที่จะแนะนำให้เกษตรกรใช้อย่างยิ่ง เพราะใช้เมล็ดน้อย ดูแลแปลง และกำจัดวัชพืชได้สะดวก (ทรงเชาว์ อินสมพันธ์, 2545)

2.1.4.4 วิธีการดูแลรักษา

การฉีดสารเคมีป้องกันการงอกวัชพืชในวันปลูก เช่น อะลาคลอร์ หรือการฉีดยาเพื่อป้องกันหรือปราบวัชพืช เมื่อถั่วเขียวอายุได้ประมาณ 12-15 วัน ทำการพรวนดินปราบวัชพืชครั้งแรก หลังจากนั้น 2 สัปดาห์ ปราบวัชพืชครั้งที่ 2 เป็นครั้งสุดท้าย เพราะถั่วเขียวจะมีกิ่งใบแผ่คลุมแปลง ป้องกันวัชพืชไปในตัว โดยทั่วไปแล้วเกษตรกรไม่กำจัดวัชพืช ถ้าถั่วเขียวเริ่มออกดอกไม่ควรทำการเกษตรกรรมใด ๆ ทั้งสิ้น เราอาจสรุปการเจริญเติบโตของถั่วเขียวได้ดังนี้

1. ปลูกแล้วจะงอกภายใน 5 วัน
2. เริ่มออกดอกเมื่อมีอายุประมาณ 31-34 วัน
3. เริ่มมีฝักอ่อนเมื่อมีอายุ 35 วัน
4. ฝักเริ่มแก่เมื่อมีอายุ 55 วัน
5. ฝักแก่เริ่มเก็บเกี่ยวได้เมื่อมีอายุ 70 วัน พันธุ์ปัจจุบันนี้เก็บเกี่ยว 2 ครั้ง ครั้งสุดท้าย เมื่ออายุ 75-80 วัน (ทรงเชาว์ อินสมพันธ์, 2545)

2.1.4.5 ฤดูปลูก (cropping season)

ถั่วเขียวเป็นพืชต้องการน้ำน้อย มีอายุเก็บเกี่ยวสั้น ดังนั้นแต่ละปีอาจปลูกได้ถึง 2-3 ครั้งดังนี้

2.1.4.5.1 ดันฤดูฝน เกษตรกรปลูกถั่วเขียวทันทีเมื่อเริ่มมีฝน คือในช่วงเดือนเมษายน-กรกฎาคม ในภาคใต้เริ่มปลูกในเดือนเมษายน ปลูกเสร็จประมาณกลางเดือนเมษายน ส่วนภาคอื่น ๆ จะปลูกช้าเป็นลำดับขึ้นไป ข้อเสียของการปลูกในช่วงนี้คือ ต้องเก็บเกี่ยวเมื่อมีฝนชุก ยากแก่การตากเมล็ด เมล็ดอาจเน่าเสียขึ้นรา และมีคุณภาพต่ำ ดังนั้นในการปลูกในต้นฝนนี้มักมีความชื้นสูง จึงอาจมีโรคระบาดได้มาก

2.1.4.5.2 ปลายฤดูฝน ปลูกในประมาณเดือนสิงหาคม-ตุลาคม แล้วแต่ภาค ถั่วชุดนี้เติบโตในฤดูฝน ให้ต้นสูง มีกิ่งก้านสาขามาก ฝักมีคุณภาพดี เมล็ดเต็ม โรคแมลงไม่ทำลายรุนแรงเหมือนฤดูอื่น ถั่วเขียวรุ่นนี้เก็บเกี่ยวเมื่อหมดฤดูฝนพอดี ตากเมล็ดได้สะดวก ได้เมล็ดที่มีคุณภาพดี ไม่มีโรคติดเมล็ดเพราะเมล็ดมีความชื้นต่ำ

2.1.4.5.3 ฤดูแล้ง ปลูกในที่ ๆ มีความชื้นเพียงพอ มีการชลประทาน ปลูกในพื้นที่ว่างหลังเก็บเกี่ยวข้าว โดยมากปลูกในประมาณเดือนธันวาคม-กุมภาพันธ์ (สมจินตนา ทุมแสน และอิสระ พุทธิสิมมา, 2551)

2.1.5 โรคและแมลงศัตรูของถั่วเขียว

2.1.5.1 โรคของถั่วเขียว

2.1.5.1.1 โรคใบจุด (cercospora leaf spot) โรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Cercospora canescens* ซึ่งระบาดโดยสปอร์ที่ปลิวมาในอากาศ พบในถั่วเขียวที่ปลูกทุกแห่งในประเทศไทยและเอเชีย ระบาดมากในการปลูกช่วงฤดูฝน การระบาดเริ่มเมื่อถั่วเขียวมีอายุได้ประมาณ 1 เดือน และเริ่มรุนแรงขึ้น ลักษณะอาการของโรคจะเป็นจุดที่ใบ จุดมีสีน้ำตาล ถ้าเป็นรุนแรงจะทำให้ใบร่วง ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 กำแพงแสน 2 และ มอ 1 มีความต้านทานต่อโรคนี้ การป้องกันโรคนี้ทำได้โดยการฉีดด้วยสารเคมีป้องกันเชื้อรา เนื่องจากโรคนี้อาจติดมากับเมล็ดได้ ดังนั้นควรระวังไม่ใช้เมล็ดจากแปลงที่เป็นโรค

2.1.5.1.2 โรคราแป้ง (powdery mildew) เกิดจากเชื้อรา *Sphaerotheca phaseoli* (ชื่อเดิม *Erysiphe polygoni* DC) มักระบาดในหน้าแล้ง ระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ พบการระบาดทั่วไปในประเทศไทย ได้หวัน และฟิลิปปินส์ โรคเกิดตั้งแต่เริ่มงอก และรุนแรงเมื่อถั่วเขียวเริ่มออกดอก และทำลายไปจนถึงระยะฝักแก่ โรคนี้เริ่มทำลายที่ใบก่อน ต่อจากนั้นลุกลามไปตามส่วนอื่น ๆ ของต้น เมื่อเริ่มทำลายจะมีจุดแผลสีเทาบนใบตามจุดแผลเหล่านี้จะมีสีขาวคล้ายแป้งในระยะต่อมา ถ้าเกิดในระยะต้นอ่อนใบจะร่วง เมื่อโรคนี้ระบาดจะทำให้ผลผลิตลดลง 20-40%

2.1.5.1.3 โรคเน่าคอดิน (damping-off) เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* หรือ *Pythium* sp. โรคนี้เข้าทำลายรากเมื่อยังเป็นกล้าอ่อน ระบาดมากเมื่อมีอากาศเย็นทำให้มีแผลสีน้ำตาลที่รากและลำต้นใต้ผิวดิน โรคนี้สามารถอยู่ในดินได้นาน สามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิดที่ปลูกในบริเวณนั้น ดังนั้นการกำจัดโดยการปลูกพืชหมุนเวียนมักไม่ได้ผล โรคเน่าคอดินของถั่วเขียว มีอาการคล้ายกับพืชถูกทำลายโดยหนอน แมลงวันเจาะต้นถั่ว (bean fly)

2.1.5.1.4 โรครากเน่า (root rot) เกิดจากเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *Fusarium solani* f. *sp. phaseoli*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium ultimum* และ *Rhizoctonia solani* เชื้อหนึ่งเชื้อใดอาจเข้าทำลายหรือหลายเชื้อเข้าทำลายก็ได้ โรคเหล่านี้เกิดขึ้นบริเวณราก บางเชื้อทำให้เกิดแผลที่ต้นและทำให้ต้นเหี่ยวได้ด้วย

2.1.5.1.5 โรคเน่าดำ เกิดจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* พบการเข้าทำลายถั่วเขียวได้ทุกระยะ ใบสีเหลืองซีดมากกว่าปกติ อาการที่ใบจะเหี่ยว ขอบใบแห้งเป็นวงกว้าง และยืนต้นตาย ควรคลุกเมล็ดด้วย benomyl, thiaibendazole ก่อนปลูก (ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, 2550)

2.1.5.2 แมลงศัตรูถั่วเขียวและการป้องกันกำจัด

การปลูกถั่วเขียวในฤดูฝนหรือฤดูแล้ง มักจะมีแมลงเข้ารบกวนตั้งแต่ปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยว และทำความเสียหายแก่ถั่วเขียวมากขึ้นอยู่กับปริมาณการระบาด ตลอดจนการป้องกันกำจัด แมลงที่พบระบาดประจำได้แก่

2.1.5.2.1 หนอนแมลงวันเจาะต้นถั่ว (bean fly) มีด้วยกัน 2 ชนิด คือ *Ophimoyia phaseloli* Tryon และ *Melanagromyza sojae* หนอนจะซ่อนไขผ่านเส้นใบ ก้านใบ และเข้าสู่ลำต้น หรือโคนต้น ถ้าเป็นต้นที่เจริญเติบโตแล้วมีหนอนเข้าทำลายลำต้นทำให้ยอดเหี่ยวตายต้นแคระแกร็น ปล้องจะสั้น การป้องกันกำจัดทำได้โดยการหว่านด้วยสารเคมีพวกคาร์โบฟูราน (ฟูราดาน) 3% G ในอัตรา 3-5 กิโลกรัมต่อไร่ก่อนปลูก หรือหลังปลูก ถ้าไม่มีการใช้คาร์โบฟูราน ให้ฉีดพ่นด้วยสารเคมีพวกโมโนโครโตฟอส 56% WSC ในอัตรา 15-20 ซี.ซี. ต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อถั่วเขียวอยู่ในระยะที่ใบจริงงอกแรกแผ่ขยายเต็มที่ (ประมาณ 7 วันหลังงอกโผล่พ้นผิวดิน)

2.1.5.2.2 เพลี้ยอ่อน (aphid) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aphis spp.* มักระบาดเมื่ออากาศแห้งแล้งหรือฝนทิ้งช่วงนาน ๆ เพลี้ยอ่อนจะทำลายโดยดูดน้ำเลี้ยงตามยอดอ่อน ใบอ่อน ช่อดอก และฝักอ่อน ทำให้ต้นแคระแกร็น ยอดอ่อนหงิกงอ ถ้าดูกินตามช่อดอกจะทำให้ดอกและฝักอ่อนร่วง เวลาระบาดต้นถั่วเขียวจะเป็นสีดำเนื่องจากมูลของมัน การป้องกันกำจัดโดยการฉีดพ่นด้วยสารเคมีพวกโมโนโครโตฟอสในอัตรา 25-30 ซี.ซี. ต่อน้ำ 20 ลิตร

2.1.5.2.3 เพลี้ยไฟ (thrips) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Megalurothrips usitatus* Bagnall เป็นแมลงปากเข็ม ดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนของยอดใบอ่อน ตาดอก และดอก ระบาดมากในสภาพที่มีฝนทิ้งช่วง และอุณหภูมิสูง เมื่อเข้าทำลายใบอ่อนและยอดอ่อนจะทำให้หงิกงอ ใบแห้งกรอบ และมีลักษณะเหมือนใบติด ถ้าการระบาดรุนแรงจะทำให้ใบ ดอกและฝักอ่อนมีฝักลีบไม่ติดเมล็ด ถ้าการทำลายรุนแรงอาจเกิดความเสียหายถึง 100% การป้องกันกำจัดโดยฉีดพ่นด้วยสารเคมีพวกโมโนโครโตฟอส 56% WSC ในอัตรา 25-30 ซี.ซี. ต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่น 1-2 ครั้ง ทุก ๆ 14-15 วัน

2.1.5.2.4 หนอนเจาะฝัก (pod borers) มีอยู่ 2 ชนิด พบระบาดมากกับถั่วเขียวที่ปลูกปลายนทุสนหรือฤดูแล้ง การป้องกันกำจัดโดยการฉีดพ่นด้วยสารเคมี โมโนโครโตฟอส 56% WSC อัตรา 40-50 ซี.ซี. ต่อน้ำ 20 ลิตร ถ้าพ่นไปแล้วยังตรวจพบการทำลายอยู่ก็ควรทำการพ่นซ้ำอีกในระยะเวลา 7-10 วัน ในกรณีที่พบการระบาดมากจำเป็นที่จะต้องใส่สารเคมีพวกโพธิ์ทรอยด์สังเคราะห์ ซึ่งมีประสิทธิภาพการทำลายสูงขึ้น สารเคมีพวกนี้ได้แก่ เฟนเวเลอเรท 20% EC (ซูมิไซวัน) ในอัตรา 20 ซี.ซี. ต่อน้ำ 20 ลิตร

2.1.5.2.5 หนอนขอนใบ (leaf miner) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Biloba subsecivella* Zeller พบระบาดในระยะที่ต้นถั่วเขียวกำลังเจริญเติบโต ทำให้ต้นแคระแกร็น และอาจทำให้ผลผลิตลดลงถึง 50% ลักษณะของการทำลายคือหนอนที่ฟักจากไข่จะซ่อนไขอยู่ในใบพืชประมาณ 10-11 วัน แล้วกัดกินเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นสีเขียวของใบเหลือไว้แต่ผิวด้านบน และด้านล่างเป็นเยื่อบางใส และเมื่อหนอนโตถึงวัยที่ 4 ซึ่งลำตัวมีสีเทาดำขนาดยาวประมาณ 4 มม. จึงออกจากเนื้อเยื่อที่ซ่อนแล้วพับใบถั่วชักใยดึงเอาใบถั่วมาติดกันคล้ายกับหนอนม้วนใบ และจะอาศัยอยู่กินในใบที่พับประมาณ 6 วันจึงเข้าดักแด้ในใบที่พับนั้น การป้องกันกำจัดเนื่องจากว่าหนอนชนิดนี้ซ่อนไขอยู่ใต้ผิวใบ จึง

ต้องใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงประเภทดูดซึมจึงจะได้ผลดี สารเคมีที่ใช้ได้ผลดีคือ โมโนโครโต-ฟอส 56% WSC อัตรา 30-40 ซี.ซี. ต่อไร่ 20 ลิตร

2.1.5.2.6 มอดถั่ว (bean seed beetle) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Collosobuchus chinensis* Linn. จะเข้าทำลายเมล็ดถั่วตั้งแต่อยู่ในฝัก และติดไปกับเมล็ดในโรงเก็บหรือยุ้งฉาง และถ้าปล่อยทิ้งไว้มอดถั่วจะมีการแพร่พันธุ์ภายในโรงเก็บและอาจทำความเสียหายถึง 100% ลักษณะของการทำลายนั้นตัวด้วงเต็มวัยจะวางไข่ลงบนเมล็ด การป้องกันกำจัดถ้าต้องการเก็บเมล็ดเพื่อทำพันธุ์ให้คลุกด้วยสารเคมีคลุกเมล็ดพวก มาลาไรซอนฟอส หรือสารเคมีพวก อลามอน ส่วนเมล็ดที่เก็บไว้บริโภคนั้นถ้าจะเก็บไว้นาน ๆ ก็ทำการคลุกด้วยน้ำมันถั่วเหลืองหรือน้ำมันถั่วลิสง โดยใช้ไขมัน 3-5 ซี.ซี. ต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม (ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, 2550)

2.1.6 การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวในประเทศไทย

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวในประเทศไทยเริ่มกระทำมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2502 โดยในช่วงแรกนั้นเป็นการเปรียบเทียบพันธุ์พื้นเมือง จนกระทั่งปี พ.ศ. 2512 ได้นำพันธุ์ถั่วเขียวจากประเทศฟิลิปปินส์เข้ามาทดสอบ เพื่อหาพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันที่มีอายุสั้น ออกดอกติดฝักและฝักแก่พร้อมกันมากที่สุด เพื่อสะดวกในการเก็บเกี่ยว พันธุ์ที่นำเข้าที่ให้ผลผลิตสูงได้แก่ M7A และ CES 1D-21 ในปี พ.ศ. 2517 กองพืชไร่ได้เริ่มคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีการกระจายตัว (ช่วงที่ 3 และ 4) ซึ่งได้รับจากศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักแห่งเอเชีย (AVRDC) จำนวน 34 คู่ ในปี พ.ศ. 2518 ได้รวบรวมพันธุ์จำนวน 175 พันธุ์ บันทึกลักษณะประจำพันธุ์ พบว่าพันธุ์ M7A ให้ผลผลิตสูง เมล็ดโตและอายุสั้นกว่าพันธุ์พื้นเมืองที่เกษตรกรปลูกอยู่ ฝักแก่สม่ำเสมอ สามารถเก็บเกี่ยวได้ในครั้งแรกกว่า 80% ของผลผลิต ภายหลังได้ผ่านการรับรองเป็นพันธุ์มาตรฐานชื่อว่าพันธุ์ “อุทอง 1” ในปี พ.ศ. 2519 พันธุ์นี้ทำให้พื้นที่ปลูกถั่วเขียวเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตามพันธุ์อุทอง 1 ก็ยังมีข้อเสียบางประการ เช่นทรงต้นยังสูงใหญ่เกินไปทำให้หักล้มง่าย ฝักไม่ชูขึ้นเหนือพุ่มใบเท่าที่ควร ทำให้ไม่สะดวกในการเก็บเกี่ยว อ่อนแอต่อโรคใบจุดสีน้ำตาล (cercospora leaf spot) และโรคราแป้ง (powdery mildew) (พระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2538) ต่อมาการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวได้มีการนำพันธุ์หรือสายพันธุ์จาก AVRDC มาปลูกทดสอบหรือคัดเลือกให้ได้สายพันธุ์ที่บริสุทธิ์ นำเข้าทดสอบผลผลิตในแปลงเกษตรกรจนได้ผลเป็นที่น่าพอใจและได้แนะนำพันธุ์ใหม่ พันธุ์แนะนำที่ผ่านการรับรองโดยกรมวิชาการเกษตรคือ พันธุ์กำแพงแสน 1 และกำแพงแสน 2 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ปรับปรุงโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ให้ผลผลิตสูงแต่อ่อนแอต่อดินด่าง พันธุ์ชัยนาท 60 และชัยนาท 36 ปรับปรุงพันธุ์โดยกรมวิชาการเกษตร และพันธุ์ มอ1 ปรับปรุงพันธุ์โดยมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (Laosuwat, 1988) การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อต้านทานโรค พบว่าพันธุ์กำแพงแสน 1 มีแนวโน้มอ่อนแอต่อโรคใบจุดสีน้ำตาลมากขึ้นและอ่อนแอต่อการปลูกในดินด่าง จึงได้คัดเลือกสายพันธุ์ 8509-B-6-B-5-8

ซึ่งต้านทานต่อโรคใบจุดสีน้ำตาลและทนทานต่อดินด่างได้ดีกว่าพันธุ์กำแพงแสน 1 เพื่อเข้าเปรียบเทียบพันธุ์ในไร่นาเกษตรกร แต่ปรากฏว่ายังให้ผลผลิตไม่สูงกว่าชัณษาท 36 (พระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2538) สำหรับงานปรับปรุงพันธุ์พืชต้านทานโรคของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เน้นการปรับปรุงพันธุ์เพื่อต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาล แต่สายพันธุ์ที่ได้มักมีความต้านทานลดลงไปเรื่อย ๆ (พระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2538)

ส่วนงานปรับปรุงพันธุ์พืชของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีได้ทำการทดสอบสายพันธุ์ถั่วเขียวที่นำมาจาก AVRDC ในปี พ.ศ. 2531 จำนวน 20 สายพันธุ์ พบว่ามีสองสายพันธุ์คือ V4718 และ VC3689A ที่ต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาลในระดับสูง จึงได้ถ่ายทอดพันธุ์กรรมต้านทานจากสายพันธุ์ VC3689A ให้แก่พันธุ์ มอ1 กำแพงแสน 1 และกำแพงแสน 2 โดยวิธีผสมกลับ ซึ่งลูก BC_4F_2 ที่ปลูก ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี มีลักษณะใกล้เคียงกับพันธุ์รับรองทั้งสามมาก (ไพศาล เหล่าสุวรรณ และคณะ, 2538) นอกจากนี้ นุบผา ใจเที่ยง (2545) ได้ทำการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานต่อโรคราแป้งโดยวิธีการผสมกลับ โดยทำการผสมระหว่างสายพันธุ์ต้านทานราแป้ง 2 สายพันธุ์ได้แก่ มทส 4 และ VC1210A ไปยังพันธุ์อ่อนแอ ชัณษาท 36 ทำการผสมกลับถึงชั่ว BC_3F_3 พบว่ามี 5 สายพันธุ์ที่ให้ลักษณะเหมือนพันธุ์ CN36 มีความต้านทานราแป้งและให้ผลผลิตสูงขึ้น

ปัจจุบันในประเทศไทยมีการปลูกถั่วเขียวพันธุ์ชัณษาท 72 (CN72) อย่างแพร่หลาย เพราะให้ผลผลิตสูง (212 กิโลกรัมต่อไร่) ต้านทานหนอนเจาะลำต้น และมีเสถียรภาพของลักษณะน้ำหนัก 1,000 เมล็ดสูง แต่มีความอ่อนแอต่อโรคราแป้ง (อาณัติ วัฒนสิทธิ์ และคณะ, 2543) ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ให้มีผลผลิตสูงและมีความต้านทานโรคจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่ง

2.1.7 การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิตในประเทศไทย

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวของประเทศไทย พัฒนามาอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี 2512 เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีผลผลิตสูง ต้านทานโรคและแมลง ได้นำพันธุ์จากประเทศฟิลิปปินส์เข้ามาทดสอบ จนได้พันธุ์อุทอง 1 ต่อมาได้นำสายพันธุ์จาก AVRDC เข้ามาคัดเลือกจนได้พันธุ์ที่มีลักษณะดี ในปัจจุบันมีพันธุ์ที่ผ่านการรับรองจากกรมวิชาการเกษตร และแนะนำให้เกษตรกรปลูก ได้แก่ ถั่วเขียวผิวมันพันธุ์อุทอง 1, กำแพงแสน 1, กำแพงแสน 2, มอ.1, ชัณษาท 60, ชัณษาท 36, ชัณษาท 72 และ มทส1 และ ถั่วเขียวผิวดำพันธุ์อุทอง 2 และ พิชณุโลก 2 (กรมวิชาการเกษตร, 2552) งานวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวของประเทศไทยที่ผ่านมา นับว่าประสบความสำเร็จเป็นที่น่าพอใจ ผลผลิตต่อไร่มีแนวโน้มสูงขึ้นตามลำดับ โดยมีผลผลิตเฉลี่ยต่อพื้นที่ปลูกในปัจจุบันประมาณ 105 กก. ต่อไร่ และผลผลิตต่อพื้นที่เก็บเกี่ยว 115 กก. ต่อไร่ เทียบกับผลผลิตเฉลี่ยก่อนปี 2519 ซึ่งจะมีประมาณ 90 และ 100 กก. ต่อไร่ (พระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2538) อย่างไรก็ตามถั่วเขียวพันธุ์แนะนำในปัจจุบันยังมีข้อจำกัดคือผลผลิตค่อนข้างต่ำ เริ่มอ่อนแอต่อโรคราแป้งและโรคใบจุดสีน้ำตาล ดังนั้นการปรับปรุง

พันธุ์ถั่วเขียวตั้งแต่ปี 2534 เป็นต้นมาวัตถุประสงค์หลักคือเพิ่มผลผลิตและเพิ่มความต้านทานต่อโรค ขณะนี้ยังไม่พบพันธุ์ที่มีความต้านทานสูงกว่าพันธุ์แนะนำ การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิต สามารถกระทำโดยการคัดเลือกจากประชากรที่มีความแปรปรวนสูง นอกจากนั้นลักษณะที่นิยมคัดเลือกได้แก่ ลักษณะต้านทานโรค ความสูง หรือลักษณะทางลำต้น อื่น ๆ การคัดเลือกเพื่อเพิ่มผลผลิตนับว่าเป็นการคัดเลือกที่ยากและไม่สามารถคัดเลือกได้โดยตรง เนื่องจากลักษณะนี้มีอัตราพันธุกรรมต่ำ มีความแปรปรวนตามสภาพแวดล้อมสูง ถ้าสามารถลดความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อมได้ อาจช่วยให้การคัดเลือกผลผลิตโดยตรงประสบความสำเร็จได้ ดังนั้นการคัดเลือกทางอ้อมโดยคุณลักษณะอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการให้ผลผลิตน่าจะเป็นวิธีการที่สะดวกและประสบความสำเร็จได้ง่ายกว่าการคัดเลือกผลผลิตโดยตรง ทั้งนี้เพราะลักษณะเหล่านี้มักมีอัตราพันธุกรรมสูง และสามารถแสดงออกได้ชัดเจนในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ

ผลผลิตของพืชเป็นลักษณะที่สลับซับซ้อน ควบคุมโดยยีนหลายคู่ แปรปรวนไปตามสภาพแวดล้อม และมีอัตราพันธุกรรมต่ำ (Allard, 1960) นอกจากนี้ยังไม่มีรายงานจำนวนคู่ของยีนที่ควบคุมผลผลิตอย่างชัดเจน ทั้งนี้เพราะผลผลิตของพืชเกิดจากผลรวมของทุก ๆ ลักษณะ เช่น การเจริญเติบโต ไม่มีโรคแมลง ผลตก ฝักมาก รวงมาก เมล็ดใหญ่ เป็นต้น (ไพศาล เหล่าสุวรรณ และปิยะดา ทิพย์พ่อง, 2550) การคัดเลือกผลผลิตโดยตรงประสบความสำเร็จได้ยาก เนื่องจากผลผลิตของพืชมีอัตราพันธุกรรมต่ำ เช่น ในถั่วเหลืองพบว่ามีอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 11.50% (Gopani and Kabaria, 1970) ส่วนการศึกษาอัตราพันธุกรรมของผลผลิตของถั่วเขียวพบว่าต่ำกว่าลักษณะอื่น ๆ โดยมีรายงานว่าผลผลิตมีอัตราพันธุกรรมแบบกว้าง 8.6 และ 28% (Empig et al., 1970; Tomar et al., 1972) และในประเทศไทยมีรายงานว่าผลผลิตของถั่วเขียวมีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างอยู่ในช่วงตั้งแต่ 8.6-84.2% (เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2529)

2.1.8 การคัดเลือกลักษณะทางพืชไร่ที่มีสหสัมพันธ์กับผลผลิต

มีการคัดเลือกโดยใช้ลักษณะทางพืชไร่ในพืชหลายชนิด เช่น ข้าวบาร์เลย์และข้าวโอ๊ตพบว่าในพืชเหล่านี้มีลักษณะทางพืชไร่ที่สำคัญได้แก่ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง และน้ำหนักเมล็ด (Stoskopf and Reinbergs, 1966; Rasmusson and Cannell, 1970) ในข้าว พบว่าลักษณะน้ำหนักรวง จำนวนรวง และจำนวนเมล็ดต่อรวง เป็นลักษณะทางพืชไร่ที่สำคัญ (Samonte et al., 1998)

การศึกษาอัตราพันธุกรรมของผลผลิตถั่วเขียว โดย Empig et al. (1970) และ Tomar et al. (1972) พบว่าอัตราพันธุกรรมของผลผลิตต่ำกว่าลักษณะทางพืชไร่อื่น ๆ โดยให้เพียง 8.6 และ 28% ตามลำดับ และการทดลองของ Singh and Malhotra (1970) และ Rathnaswamy et al. (1978) ที่ให้ผลลักษณะเดียวกันคือ ลักษณะทางพืชไร่มีอัตราพันธุกรรมสูงกว่าผลผลิต สำหรับการศึกษาในประเทศไทยพบว่า ขนาดเมล็ดและจำนวนฝักต่อต้นของถั่วเขียว มีอัตราพันธุกรรมสูงถึง 98.0 และ

61.0% ตามลำดับ ในขณะที่ผลผลิตมีอัตราพันธุกรรม 58.0% (วินัย ตั้งบุญนิธิวงศ์, 2530) Grafius (1956) พบว่า ผลผลิตเกิดจากการแสดงออกร่วมกันของลักษณะทางพืชไร่ ซึ่งการคัดเลือกจากลักษณะเหล่านี้จะช่วยเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้นได้ และจากการศึกษาสหสัมพันธ์ในถั่วเขียวพบว่า จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักเมล็ด เป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อผลผลิต (Satyan et al., 1989; Ramana and Singh, 1987) การศึกษาสหสัมพันธ์ในแต่ละประชากรที่ใช้ศึกษานั้น อาจให้ค่าสหสัมพันธ์ในแต่ละลักษณะแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประชากรที่ใช้ศึกษา เช่น ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักเมล็ด มีทั้งที่พบว่ามีความสัมพันธ์ทางบวก (Singh and Malhotra, 1970; Joshi and Kabaria, 1973) และที่พบว่ามีความสัมพันธ์ทางลบกับผลผลิต (Malhotra et al., 1974) นอกจากนี้ยังพบรายงานว่า ผลผลิตมีความสัมพันธ์ทางลบกับความสูง จำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนข้อต่อต้นและวันเก็บเกี่ยว (Malik et al., 1982; Malik et al., 1983) อุษา เพื่อนกลาง (2542) พบว่าผลผลิตมีความสัมพันธ์กับลักษณะขนาดเมล็ด ($r = 0.51^{**}$) และจำนวนฝักต่อต้น ($r = 0.64^{**}$) ในขณะที่ Hakim (2008) ได้ศึกษาลักษณะทางพืชไร่ 9 ลักษณะ ในถั่วเขียว 350 accessions พบว่า จำนวนฝักต่อต้น และความสูงมีสหสัมพันธ์กับผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าขนาดเมล็ดมีสหสัมพันธ์ทางลบกับผลผลิต

2.1.9 การคัดเลือกลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีสหสัมพันธ์กับผลผลิตและอัตราพันธุกรรม

ในการคัดเลือกเพื่อเพิ่มผลผลิต นอกจากจะคัดเลือกจากลักษณะทางพืชไร่แล้วยังพบว่า การคัดเลือกจากลักษณะทางสรีรวิทยา ก็สามารถเพิ่มผลผลิตได้เช่นกัน และมีการใช้ลักษณะเหล่านี้ในพืชหลายชนิด เช่น การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใบที่ตำแหน่งต่าง ๆ กับลักษณะทางพืชไร่ของข้าวโพด พบว่าถ้าคัดเลือกจากพื้นที่ใบของใบที่ 6 (นับจากฝักขึ้นไป) จะทำให้จำนวนเมล็ดต่อแถว น้ำหนัก 30 เมล็ด และผลผลิตของข้าวโพดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Johnson, 1974) นอกจากนี้การคัดเลือกลักษณะทางสรีรวิทยาที่สามารถเพิ่มผลผลิตได้ เช่น ในถั่วเขียวพบว่าลักษณะดัชนีการเก็บเกี่ยวมีความสัมพันธ์กับผลผลิตในทางบวก ($r = 0.655^{**}$) และมีอัตราพันธุกรรม 76.27% (Yadav et al., 1979) ถ้าคัดเลือกจากต้นที่มีค่าดัชนีเก็บเกี่ยวสูง จะทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นด้วย (Kuo et al., 1978) และผลผลิตมีความสัมพันธ์ทางบวกกับ NAR (net assimilate rate) ที่ระยะหลังออกดอก ($r = 0.634^{**}$) แต่มีความสัมพันธ์ทางลบกับ LAR (leaf area ratio) ที่ระยะหลังออกดอก ($r = -0.583^{**}$) (Yadav et al., 1979) นอกจากนี้ยังพบว่า LA (leaf area) และ LAI (leaf area index) มีความสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิตที่ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและระยะออกดอก ส่วน SLW (specific leaf weight) มีความสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิตที่ระยะออกดอก (Poehlman, 1991) Zhang (1995) ทำการศึกษาลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาในถั่วเขียว 21 accessions พบว่า TDM มีสหสัมพันธ์กับผลผลิตสูงสุด ($r = 0.850^{**}$) และมีรายงานว่าผลผลิตมีความสัมพันธ์

ทางบวกกับจำนวนและความยาวราก ซึ่งจะทำให้การคัดเลือกเพื่อเพิ่มผลผลิตทำได้เร็วขึ้น โดยไม่ต้องรอให้ถึงระยะสุกแก่ (Poehlman, 1991) และเมื่อไม่นานมานี้ Passioura (2000) ได้ศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างระบบรากกับผลผลิตในข้าวสาลี พบว่าการมีระบบรากมาก และหยั่งลึกสามารถช่วยให้ข้าวสาลีมีผลผลิตที่สูง ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการทดลองในข้าวโพดของ Kamara et al. (2003)

2.1.10 การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทาง (path coefficient analysis)

การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทางเป็นการศึกษาอิทธิพลระหว่างตัวแปรต่าง ๆ (ลักษณะต่าง ๆ) เพื่อแยกผลของ correlation coefficient ออกเป็นอิทธิพลทางตรงและอิทธิพลทางอ้อมที่มีผลต่อผลผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Dewey and Lu, 1959) มีการนำการวิเคราะห์เส้นทางไปใช้ในการคัดเลือกหาลักษณะทางพืชไร่ที่มีผลต่อผลผลิตในพืชหลายชนิด เช่น ถั่วฝักยาว (Vidya and Oommen, 2002) ถั่วเหลือง (Iqbal et al., 2003) ฝ้าย (Iqbal et al., 2006) ถั่วเขียว (Hakim, 2008) ข้าวโพด (Saleem et al., 2007) ข้าวฟ่าง (Ezeaku and Mohammed, 2006) ข้าวสาลี (Mohsin et al., 2009) ข้าว (Samonte et al., 1998) และทานตะวัน (Machikowa and Saetang, 2008) เพื่อใช้เป็นดัชนีสำหรับคัดเลือกสายพันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิต

ในถั่วเขียวมีการใช้การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทางอย่างแพร่หลายเพื่อใช้หาดัชนีสำหรับคัดเลือกสายพันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิต Hakim (2008) ได้ศึกษาลักษณะทางพืชไร่ 9 ลักษณะ ในถั่วเขียว 350 accessions พบว่าจำนวนข้อต่อต้นมีอิทธิพลทางตรงแบบบวกต่อผลผลิตสูงที่สุด ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Zubair, 1985; Zubair and Srinives, 1986; Chaudhary, 1992; Khattak et al., 1995; Biradar, 2007 และ Makeen et al., 2007 นอกจากนี้ Hakim (2008) ยังพบว่า biomass และจำนวนกิ่งต่อต้นมีอิทธิพลทางตรงแบบลบต่อผลผลิต ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Zubair (1985), Chaudhary (1992) และ Khattak et al. (1995) นอกจากนี้มีรายงานว่าลักษณะจำนวนฝักต่อต้นและจำนวนข้อต่อต้น ส่งผลทางอ้อมแบบลบกับน้ำหนัก 100 เมล็ด (Biradar, 2007) ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของนักวิจัยหลายกลุ่ม (Singh and Malhotra, 1970; Zubair and Srinives, 1986; Khattak et al., 1995; Hakim, 2008)

ในการศึกษาของ Malhotra et al. (1974) พบความสัมพันธ์ทางบวกในระดับสูงระหว่างผลผลิตกับลักษณะจำนวนฝักต่อต้นและจำนวนข้อต่อต้นในถั่วเขียว ในขณะที่ Makeen et al. (2007) บ่งชี้ว่าจำนวนฝักต่อต้นและจำนวนเมล็ดต่อฝักเป็นองค์ประกอบหลักของผลผลิตในถั่วเขียว ส่วน Khattak et al. (1995) พบว่าขนาดเมล็ดเป็นดัชนีที่ดีที่สุดที่ใช้ในการคัดเลือกถั่วเขียวผลผลิตสูง

2.1.11 การศึกษาการแสดงออกของยีนในลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตในถั่วเขียว

ในการปรับปรุงพันธุ์พืชผสมตัวเอง ข้อมูลการแสดงออกของยีนควบคุมลักษณะที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์มีความจำเป็น เพราะเน้นการผลิตสายพันธุ์แท้ ไม่ใช่ลูกผสม จึงควรที่จะมีการสะสมยีนแบบบวกเข้าไปให้มากในทุก ๆ ช่วง ซึ่งจะส่งผลให้ถั่วเขียวแสดงลักษณะดังกล่าวในระดับสูง ส่งผลให้ผลผลิตสูงขึ้น แต่ในบางลักษณะอาจมีผลของยีนแบบข่มร่วมด้วย นอกจากนี้หากลักษณะที่ต้องการปรับปรุงมีอัตราพันธุกรรมอย่างแคบสูง จะสามารถถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวไปสู่รุ่นลูกได้ง่าย มักพบว่าประสิทธิภาพของการคัดเลือกขึ้นอยู่กับอัตราพันธุกรรมอย่างแคบและการแสดงออกของยีนแบบบวกเท่านั้น (Khattak et al., 2001; Khattak et al., 2004 a; Khattak et al., 2004 b; Jose and Soriano, 2005)

ในถั่วเขียวได้มีการศึกษาการแสดงออกของยีนในลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตเช่นกัน พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ และ วินัย ตั้งบุญนิธิพงศ์ (2534) ศึกษาการแสดงออกของยีนควบคุมลักษณะจำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนัก 1000 เมล็ด ใน 6 คู่ผสม ในฤดูแล้งและปลายฤดูฝน โดยใช้วิธี Giffing model II พบว่า ในฤดูแล้ง อิทธิพลของยีนแบบบวกและข่มมีอิทธิพลต่อลักษณะผลผลิตจำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด ส่วนปลายฤดูฝน อิทธิพลของยีนแบบบวกเท่านั้นที่มีอิทธิพลต่อลักษณะผลผลิต จำนวนฝักต่อต้น และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด ต่อมา Khattak et al. (2002 a) ศึกษาการแสดงออกของยีนควบคุมลักษณะจำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนข้อต่อต้น จำนวนฝักต่อข้อ ความยาวฝัก biomass และดัชนีเก็บเกี่ยว ในฤดู Kharif และฤดูใบไม้ร่วงต่อฤดูร้อน โดยวิธี triple test cross (TTC) พบว่า ในฤดู kharif ไม่พบการแสดงออกของยีนแบบ epistasis ในทุกลักษณะ แต่พบการแสดงออกแบบ epistasis ในลักษณะจำนวนข้อต่อต้น และ biomass ในฤดูใบไม้ร่วงต่อฤดูร้อน เมื่อทำการแยกผลของการแสดงออกแบบ epistasis พบว่า จำนวนข้อต่อต้น และ biomass มีการแสดงออกแบบ additive x additive ส่วนลักษณะจำนวนกิ่งต่อต้น ความยาวฝัก และ biomass มีการแสดงออกของยีนทั้งแบบบวก และ ข่มในทั้ง 2 ฤดู ในปีเดียวกัน Khattak et al. (2002 b) ศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนข้อต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น ความยาวฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และผลผลิต ในถั่วเขียว 6 พันธุ์โดยใช้วิธีการผสมแบบพบกันหมด (diallel cross) พบว่า จำนวนข้อต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และผลผลิตถูกควบคุมด้วยอิทธิพลของยีนแบบบวกและข่ม โดยอิทธิพลของยีนแบบบวกจะมีอิทธิพลสูงกว่าแบบข่ม ขณะที่ลักษณะจำนวนกิ่งต่อต้น ความยาวฝัก และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ถูกควบคุมด้วยอิทธิพลของยีนแบบบวกเท่านั้น ต่อมา Khattak et al. (2004 b) ได้ศึกษาการแสดงออกของยีนควบคุมลักษณะวันดอกแรกบาน ความสูงที่ระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ การสุกแก่พร้อมกัน และการทอดยอด (indeterminate) โดยใช้ประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ของ 2 คู่ผสม ได้แก่ ML-5 x NM 54 และ 6601 x NM92 ด้วยวิธี joint scaling test พบว่า มีการแสดงออกของยีนทั้งแบบบวกและข่มทุก

ลักษณะทั้ง 2 คู่ผสม ยกเว้นวันดอกแรกบานและฝักแรกสุกใน ML-5 x NM 54 และพบการข้ามข้ามคู่ ในลักษณะการสุกแก่พร้อมกัน และการทอดยอด ซึ่งมีการแสดงออกของยีนทั้ง 3 รูปแบบ คือ additive x additive, additive x dominance และ dominance x dominance

2.1.12 การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานโรคราแป้ง

การระบาดของโรคราแป้ง (powdery mildew) เกิดจากเชื้อรา *Sphaerotheca phaseoli* (ชื่อเดิม *Erysiphe polygoni* DC) ซึ่งเป็นเชื้อราที่สร้างสปอร์ขยายพันธุ์แบบใช้เพศ โดยมี ascospore ใน ascus (ไพโรจน์ จั้วพานิช, 2525) ในประเทศไทยพบเชื้อรา *Sphaerotheca phaseoli* อยู่ในช่วงที่สืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศเป็นส่วนใหญ่ (สำนักงานพัฒนาที่ดิน, 2553) ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งในถั่วเขียว และพบการระบาดในทุกพื้นที่การเพาะปลูก โดยเฉพาะในฤดูแล้งและมีอุณหภูมิต่ำ (Lucy et al., 2000) ซึ่งทำให้ผลผลิตลดลง 20-40% (Soria and Quebral, 1973) โดยเชื้อราชนิดนี้มีพืชอาศัยประมาณ 356 สปีชีส์ (Zhihui, 1999) อาการของราแป้งสามารถมองเห็นชัดเจนได้ด้วยตาเปล่า โดยจะพบจุดสีขาวขนาดเล็ก ซึ่งเป็นเส้นใยของเชื้อรากระจายทั่วไป พบได้ทั้งด้านบนและด้านล่าง ใบ เซลล์ใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลปนแดง น้ำตาลเข้ม และใบจะแห้งร่วงหล่น (Lucy et al., 2000) การระบาดจะเกิดจากใบล่างแล้วลามขึ้นสู่ใบบน การแพร่กระจายของโรค สปอร์จะปลิวลอยไปตามลม และอาจตกค้างอยู่ในดิน (Conde and Diatloff, 1991) การเกิดโรคราแป้งจะมีผลกระทบต่อความยาวฝัก จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักฝัก ขนาดเมล็ด และอัตราการงอก ซึ่งลักษณะเหล่านี้จะส่งผลโดยตรงต่อผลผลิต ถั่วเขียวที่เป็นโรคราแป้งในระยะก่อนออกดอกจะทำให้ผลผลิตลดลง แต่ถ้ามีการระบาดของโรคในช่วงระยะการพัฒนาฝัก ใบจะหลุดร่วง แต่ไม่มีผลต่อผลผลิต (Poehlman, 1991; Lucy et al., 2000)

นุจรี ดันทนภรณ์กุล (2546) ได้ศึกษาผลกระทบของโรคราแป้งที่มีต่อผลผลิตและลักษณะทางพืชไร่อื่น ๆ พบว่าในถั่วเขียวพันธุ์มทส 4 ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานโรค ให้ผลผลิต น้ำหนักเมล็ดต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และจำนวนฝักต่อต้นที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ระหว่างกรรมวิธีที่พ่นและไม่พ่นสารเคมีป้องกันโรคราแป้ง ในขณะที่พันธุ์ชยันต 36 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อโรคทำให้ค่าลักษณะเหล่านี้ลดลง 37.4, 31.78, 39.1 และ 21.1% ตามลำดับ

ในประเทศไทย โรคนี้ทำให้ผลผลิตของถั่วเขียวพันธุ์อุทอง 1 ลดลง 22% (บุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ, 2538; Quebral, 1978) และจากรายงานประจำปีของศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักแห่งเอเชีย (Asian Vegetable Research Development, AVRDC) สาธารณรัฐจีน (ไต้หวัน) พบว่าผลผลิตของถั่วเขียวลดลง 40% (Kalb, 2000)

โรคราแป้งเป็นโรคที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อความเสียหายของผลผลิตถั่วเขียว ในประเทศไทย โรคราแป้งจะระบาดในช่วงที่มีอากาศเย็นหรือฤดูหนาว พันธุ์ถั่วเขียวที่มีการปลูกในประเทศไทย

เช่น ชัยนาท 60 ชัยนาท 36 ชัยนาท 72 กำแพงแสน 1 กำแพงแสน 2 และ มทส 1 เป็นพันธุ์ถั่วเขียวที่อ่อนแอต่อโรคราแป้ง

การเกิดโรคขึ้นกับพืชเป็นสาเหตุให้เกิดความเสียหายให้ผลผลิตเป็นอย่างมาก ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานต่อโรคจะช่วยให้ได้ผลผลิตและคุณภาพสูงขึ้น การปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่าง ๆ ทั้งของพืชและของโรค เช่น ลักษณะทรงต้น สปีชีส์ ระยะการเจริญเติบโต อายุของพืช ชนิดของโรค และความสัมพันธ์ระหว่างพืชกับโรคพืช และสภาพแวดล้อม (Chaitieng et al, 2002) ในสภาพธรรมชาติมักพบพืชที่ต้านทานโรคชนิดต่าง ๆ และการต้านทานโรคสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ ซึ่งการต้านทานอาจถูกควบคุมโดยยีน 1 คู่ หรือควบคุมโดยยีนหลายคู่ ขึ้นอยู่กับชนิดของโรคและการต้านทานโรคของพืช (Poehlman, 1991) การปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรคสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ (pedigree method) การคัดเลือกแบบรวม (bulk method) การปรับปรุงโดยวิธีการกลายพันธุ์ (mutation breeding) และวิธีการผสมกลับ (backcross) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เพราะใช้ระยะเวลาสั้น รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูง (Poehlman, 1991)

ความต้านทานของยีนต้านทานโรคในถั่วเขียวต่อเชื้อรา *Erysiphe polygoni* DC เป็นแบบจำเพาะเจาะจงต่อสายพันธุ์ของเชื้อ (race specific resistance) จากการศึกษาของ Reddy et al. (1987) พบว่าเมื่อนำถั่วเขียวที่ต้านทานโรคราแป้งสายพันธุ์ ML3 และ ML5 ซึ่งถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ มาทดสอบกับสายพันธุ์ของเชื้อราแป้งต่างสายพันธุ์ พบว่าถั่วเขียวทั้งสองสายพันธุ์นี้แสดงอาการอ่อนแอต่อโรค ต่อมา Reddy et al. (1994) ทำการทดสอบศักยภาพความต้านทานโรคราแป้งของ ถั่วเขียวสายพันธุ์ต้านทาน RUM ซึ่งมีศักยภาพในการต้านทานโรคในระดับสูงในสภาพธรรมชาติและสภาพควบคุมการทดลอง โดยใช้ประชากรศึกษา F_1 , F_2 และ F_3 ซึ่งได้จากการผสมระหว่างสายพันธุ์ต้านทาน RUM กับสายพันธุ์อ่อนแอ และพบว่าความต้านทานโรคของประชากรเหล่านี้ถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 2 คู่ ($Pm-1$ และ $Pm-2$) นำไปมาทดสอบความต้านทานกับเชื้อสายพันธุ์ TI-1 และแบ่งเกณฑ์ระดับความต้านทานตั้งแต่ R0-R5 โดย R0-R2 (ต้านทาน) และ R3-R5 (อ่อนแอ) พบว่าในต้นที่มีทั้ง $Pm-1$ และ $Pm-2$ จะแสดงระดับความต้านทานสูงสุด (R0) ขณะที่ต้นที่มี $Pm-1$ หรือ $Pm-2$ อย่างใดอย่างหนึ่งแสดงระดับความต้านทานสูง (R1) และต้นที่ไม่มีทั้ง $Pm-1$ หรือ $Pm-2$ แสดงความอ่อนแอต่อโรคราแป้งสายพันธุ์ TI-1 ในระดับตั้งแต่ R3-R5 Reddy (2006) ทำการทดสอบสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มียีนต้านทานโรคราแป้ง $Pm_1Pm_1Pm_2Pm_2$ (TARM-1), $Pm_1Pm_1pm_2pm_2$ (S-158-16) และ $pm_1pm_1Pm_2Pm_2$ (S-2-4-1) กับเชื้อสาเหตุโรคราแป้ง 4 สายพันธุ์ จาก Trombay, Akola, Jabalpur และ Gauribidanur ในประเทศอินเดีย พบว่าสายพันธุ์จาก Akola เท่านั้นที่สามารถเข้าทำลายถั่วเขียวที่มียีนต้านทานเหล่านี้ได้ ซึ่งอธิบายได้ว่าเกิดการกลายพันธุ์ของ avirulence ยีน (Avr_1Avr_1) เป็น virulence ยีน (avr_1avr_1) และจาก (Avr_2Avr_2) เป็น (avr_2avr_2) ที่เป็นคู่กับยีนต้านทานของถั่วเขียว (Pm_1Pm_1) และ (Pm_2Pm_2) ตามลำดับ

ดังนั้นสายพันธุ์โรคราแป้งจาก Akola (race-2) จึงเป็นสายพันธุ์ใหม่ที่ทำให้เกิดโรคราแป้งในถั่วเขียว พันธุ์ต้านทานได้ หลังจากนั้น Reddy (2009) ได้ทำการหาสายพันธุ์ถั่วเขียวที่ต้านทานต่อ race-2 พบสายพันธุ์ Mulmarada ซึ่งเป็นพันธุ์พื้นเมืองจากรัฐ Maharashtra ของอินเดีย ต้านทานต่อ race-2 ในระดับสูง และได้ทำการศึกษากายภาพของลักษณะความต้านทานโรคในประชากร F_1 , F_2 และ F_3 ที่ได้จากการผสมระหว่างสายพันธุ์ต้านทาน Mulmarada กับสายพันธุ์อ่อนแอ พบว่าความต้านทานโรคราแป้งจากสายพันธุ์นี้ถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ ซึ่งเป็นยีนต้านทานใหม่จึงตั้งชื่อว่า $Pm3$

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานโรคราแป้งและการศึกษาผลกระทบจากโรคได้กระทำมาเป็นเวลานาน ตัวอย่างเช่นการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวโดย AVRDC ได้ถั่วเขียวต้านทานโรคราแป้งหลายสายพันธุ์ เช่น ML1, ML3 หรือ ML6 (AVRDC, 1979) ปัจจุบันในประเทศไทยมีหน่วยงานที่กำลังดำเนินงานปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคราแป้ง เช่น ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ทำการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวชัยนาท 72 ให้ต้านทานต่อโรคราแป้ง โดยผสมกับพันธุ์ต้านทานต่อโรคราแป้ง 4 สายพันธุ์ คือ ถั่วเขียวสายพันธุ์ VC1163-12-B-1-2-B-6, VC1560D, VC2777-B-1-2-B และ 500181 เมื่อผสมแล้วนำลูก F_1 ผสมกลับไปยังพันธุ์ชัยนาท 72 จำนวน 5 ครั้ง ผลการทดลองในปี 2549 ได้ลูกผสม BC_2F_2 จำนวน 4 คู่ ได้ฝักดีจำนวน 74, 79, 82, 97 ฝัก ได้เมล็ดดี 443, 554, 590, 696 เมล็ด มีเปอร์เซ็นต์ฝักที่ผสมดี 41, 46, 45 และ 55% ตามลำดับ และมีความต้านทานโรคราแป้งในระดับสูงขึ้น และมีการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อต้านทานโรคราแป้งโดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท โดยคัดเลือกต้นต้านทาน เก็บเมล็ดแบบแยกต้นได้เมล็ด M_3 จากพันธุ์ชัยนาท 36 ชัยนาท 72 มทส 1 และกำแพงแสน 2 จำนวน 40, 40, 43 และ 65 ต้น ตามลำดับ รวม 188 สายพันธุ์ เพื่อปลูกคัดเลือกในช่วงต่อไป (สุมนา งามพ่องใส, 2550) ส่วนการทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ตามโครงการความร่วมมือกับทบวงการพลังงานปรมาณูระหว่างประเทศ (International Atomic Energy Agency; IAEA) โดยปลูกถั่วเขียวจำนวน 18 พันธุ์ ซึ่งประกอบด้วย สายพันธุ์กลาย 9 สายพันธุ์ และพันธุ์พ่อแม่ของสายพันธุ์กลายจำนวน 9 พันธุ์ (ถั่วเขียวพันธุ์กลายจากต่างประเทศ 8 พันธุ์ และสายพันธุ์กลายของไทย ได้แก่ พันธุ์ชัยนาท 72) โดยใช้พันธุ์ชัยนาท 36 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ พบว่าพันธุ์ชัยนาท 72 ให้ผลผลิตและขนาดเมล็ดสูงสุด โดยสามารถให้ผลผลิต 229 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งสูงกว่าพันธุ์ชัยนาท 36 (218 กิโลกรัมต่อไร่) ร้อยละ 5 น้ำหนัก 1,000 เมล็ด 73.8 กรัม ซึ่งสูงกว่าพันธุ์ชัยนาท 36 (73.5 กรัม) ร้อยละ 0.4 พันธุ์กลายที่นำเข้าจากต่างประเทศ มีหลายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคราแป้ง และให้ผลผลิตดี ได้แก่ LM6-Psj-B-II-17-6, LM10-NM54, LM12-NM98 และ LM18-1-176 ซึ่งจะนำมาใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวต่อไป (สุมนา งามพ่องใส, 2549) นอกจากนี้ยังมีการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อต้านทานโรคราแป้ง ที่อยู่ในขั้นตอนการทดสอบพันธุ์ในไร่เกษตรกร ในแหล่งปลูกถั่วเขียวของประเทศ ได้แก่ จ.นครสวรรค์ จ.เพชรบูรณ์ จ.สุโขทัย จ.พิษณุโลก และ จ.ชัยนาท โดยนำถั่วเขียวสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ M5-1 และ M4-2 มาทดสอบพันธุ์ในไร่เกษตรกร

พบว่า ถั่วเขียวสายพันธุ์ M5-1 ให้ผลผลิตและขนาดเมล็ดสูงสุด โดยสามารถให้ผลผลิต 248.5 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งสูงกว่าถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36 (231.5 กิโลกรัมต่อไร่) ร้อยละ 7 น้ำหนัก 1,000 เมล็ด 71.43 กรัม ซึ่งสูงกว่าถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36 (70.42 กรัม) ร้อยละ 1 และมีความต้านทานต่อโรคราแป้งในสภาพธรรมชาติ (สุนานา งามผ่องใส, 2549)

2.1.13 การศึกษาพันธุกรรมของความต้านทานโรคราแป้ง

การศึกษาพันธุกรรมและการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง พบการควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ ในสายพันธุ์ VC1560A (AVRDC, 1981a) สายพันธุ์ PHLV18 (Poehlman, 1991) และ สายพันธุ์ ATF-3640 (Humphry et al., 2003) หรือ 2 คู่ ในสายพันธุ์ RUM (*Pm-1* และ *Pm-2*; Reddy et al., 1994) ในปี 2545 บุปผา ใจเที่ยง ศึกษาการแสดงออกของยีนต้านทานโรคราแป้งในคู่ผสม CN36 x SUT4, CN36 x VC1210A, KPS1 x SUT4 และ KPS1 x VC1210A พบว่าความต้านทานโรคในแต่ละคู่ผสมถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ มีอิทธิพลของยีนทั้งแบบบวกและแบบลบ ซึ่งมีผลต่อลักษณะความต้านทานโรคในระดับเดียวกัน และไม่พบการข้ามข้ามคู่ของยีน ต่อมาได้มีรายงานว่า ความต้านทานโรคราแป้งถูกควบคุมโดยยีนหลายคู่ (AVRDC, 1981a and b; Young et al., 1993 และ Gawade and Patil, 2003) ซึ่งมีผลแบบ additive และ dominant (Gawade and Patil, 2003) Sorajjapinun et al. (2005) ศึกษาการแสดงออกของยีนต้านทานโดยใช้ประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ของ KPS2 x VC6468-11-1A ทำการวิเคราะห์อิทธิพลของยีนด้วยวิธี generation mean analysis (Gamble, 1962) พบว่าความต้านทานโรคราแป้งถูกควบคุมโดยยีนแบบบวก ต่อมา วราลักษณ์ เกษตรนันท์ และ พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ (2549) พบปฏิกริยาของยีนแบบบวกร่วมกับแบบลบควบคุมลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในประชากรของ KPS1 x VC6468-11-1A และพบว่าความต้านทานโรคราแป้งถูกควบคุมโดยยีนมากกว่า 1 คู่

2.1.14 การประยุกต์ใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรค

ปัจจุบันความรู้ และเทคนิควิธีการทางด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลได้มีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว จึงได้มีการนำเทคนิคเหล่านี้มาเข้าร่วมในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงและรวดเร็วขึ้น เช่นการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ (marker-assisted selection; MAS) โดยเฉพาะการคัดเลือกเพื่อให้ต้านทานต่อโรค Michelmores et al. (1991) ได้พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล RAPD ที่อยู่ใกล้กับยีนต้านทานโรคน้ำค้างในกระหล่ำ โดยใช้ประชากร bulk segregant (F_2) พบเครื่องหมาย RAPD 3 เครื่องหมาย ที่อยู่ห่างยีนต้านทาน (*Dm5/8*) 6, 8 และ 12 cM ตามลำดับ ต่อมา Ratnaparkhe et al. (1998) ได้พัฒนาเครื่องหมาย ISSR ที่อยู่ใกล้กับยีนต้านทานโรคเหี่ยวในพริกหวาน พบว่า ไพร์เมอร์ UBC825 (AC)₈ T ให้แถบดีเอ็นเอที่อยู่ห่าง

จากยีนต้านทานโรคเพียง 5 cM ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้สามารถตรวจพบยีนต้านทานโรคได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ และสามารถให้ข้อมูลที่สำคัญในการวิเคราะห์จีโนมพืช ในปีเดียวกัน Fang et al. (1998) ได้ใช้เครื่องหมายโมเลกุล ISSR และ RAPD ในการคัดเลือกส้มที่ต้านทานโรค citrus tristeza virus (CTV) ซึ่งควบคุมโดยยีนเด่น (*Ctv*) 1 คู่ โดยใช้วิธี bulk segregant analysis (BSA) พบว่ามี 10 เครื่องหมายที่อยู่ใกล้ชิดกับยีนต้านทานโรค เมื่อนำเครื่องหมายดังกล่าวไปพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุล RFLP พบว่ามี 3 เครื่องหมายที่อยู่ใกล้กับยีนต้านทานมากที่สุด คือ *Z16* ซึ่งมีการกระจายตัวร่วม (co-segregate) ไปกับ *Ctv* ส่วน *C19* และ *AD08* อยู่ห่างจากยีน 0.5 และ 0.8 cM ตามลำดับ ต่อมา Gold et al. (1999) ได้พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล ISSR เพื่อช่วยคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคราสนิมบนลำต้นและบนใบในข้าวสาลี โดยใช้ประชากรที่เป็น near isogenic line ที่มียีนต้านทานโรคราสนิมบนลำต้น (*Sr39*) และ บนใบ (*Lr35*) ซึ่งได้มาจากการผสมข้าวสาลีพันธุ์ป่า (*Aegilops speltoides* L.) กับ *Triticum monococcum* L. โดยวิธีการผสมกลับ สามารถคัดเลือกต้นข้าวสาลีที่มีทั้งยีน *Sr39* และ *Lr35* ได้สำเร็จ Barone (2004) มีการใช้ประโยชน์จากเครื่องหมายโมเลกุล SCAR (sequence characterized amplified region) และ CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) ที่อยู่ใกล้ชิดกับยีนต้านทานโรค 6 ชนิด (ยีน *Frl*, *Mi*, *Pto*, *py-1*, *Sw-5* และ *Tm2a* ซึ่งต้านทานต่อเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Meloidogyne* spp., *Pseudomonas syringae*, *Pyrenochaeta lycopersici*, TSWV และ TMV ตามลำดับ) ในการคัดเลือกต้นมะเขือเทศที่มียีนต้านทานก่อนการผสมกลับแต่ละชั่วได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่ต้องรอให้มีการระบาดของโรค นอกจากนี้ Arens et al. (2010) ได้ทำการประเมินความแม่นยำของเครื่องหมายโมเลกุล SCAR และ CAPS ที่อยู่ใกล้กับยีนต้านทานโรคในมะเขือเทศ เพื่อตรวจสอบความชัดเจน ความเหมือนกันและความเสถียรของเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้กับยีนต้านทานโรค *Verticillium* (*Ve1* และ *Ve2*), tomato mosaic virus (TMV; *Tm1* และ *Tm2*) และ *Meloidogyne incogita* (*Mil-2*) พบว่าสามารถนำไปสู่การตรวจเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศต้านทานโรคเหล่านี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพและแม่นยำ

2.1.15 การประยุกต์ใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรคราแป้ง

Chaitieng et al. (2002) รายงานว่าดีเอ็นเอจากประชากรชั่วที่สอง (F_2) ของถั่วเขียวที่เกิดจากการผสมระหว่างสายพันธุ์ต้านทานโรคราแป้ง (VC1210A) และ สายพันธุ์อ่อนแอ (TC1966) แสดงการกระจายตัวแบบต่อเนื่อง และพบเครื่องหมาย RFLP 2 ตำแหน่ง ที่มีความสัมพันธ์กับ quantitative trait loci (QTL) จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน และการทำแผนที่ยีนพบว่า QTL ที่ตรวจพบสามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะการเกิดโรคราแป้งของประชากรนี้ได้ถึง 64.9% ยีนต้านทานแสดงออกในลักษณะข่มบางส่วน และพบว่าเครื่องหมาย RFLP ที่ได้มี

ศักยภาพในการนำมาใช้ปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อให้ต้านทานต่อโรคราแป้ง ต่อมา Humphry et al. (2003) ได้ยืนยันว่าเครื่องหมาย RFLP ที่อยู่ใกล้กับตำแหน่ง QTL ที่ต้านทานโรคราแป้ง สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อให้ต้านทานต่อโรคราแป้งได้จริง

ในองุ่น Akkurt et al. (2007) พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล SCAR จากเครื่องหมาย RAPD ที่อยู่ใกล้กับบริเวณ QTL ของลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง (*Uncinula necator*) ขององุ่นลูกผสม Regent (ต้านทาน) x Lemberger (อ่อนแอ) พบว่าเครื่องหมาย *ScoRA7-760* สามารถให้แถบดีเอ็นเอในต้นต้านทานแต่ไม่พบในต้นอ่อนแอ และเหมาะสมในการนำไปใช้คัดเลือกต้นองุ่นต้านทานโรคราแป้ง เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการรวมยีน (gene pyramiding) ต่อไป นอกจากนี้ Molnar et al. (2007) ได้ประยุกต์ใช้เครื่องหมายโมเลกุล RFLP และ SSR ที่อยู่ใกล้กับยีนต้านทานโรคราแป้งในองุ่น (*Rum1*) ที่เคยมีรายงานไว้ เพื่อคัดเลือกองุ่นต้านทานโรคราแป้ง ในประชากร BC₅ ของ (*M. rotundifolia* x *V. vinifera*) x Cardinal พบว่าสามารถคัดเลือกต้นที่มียีน *Rum1* ได้ 90-99% ส่วนในข้าวบาร์เลย์ Repkova et al. (2009) พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล CAPS สำหรับคัดเลือกข้าวบาร์เลย์ต้านทานโรคราแป้ง ได้เครื่องหมาย *RGH1 aIIa* ซึ่งอยู่ห่างจากยีนต้านทาน *Mla* เพียง 0.85 cM และได้ทำการประเมินความแม่นยำ พบว่าการคัดเลือกพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายนี้มีโอกาสสำเร็จสูงถึง 99%

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 4 ส่วน คือ

1. การศึกษาความสัมพันธ์และการวิเคราะห์เส้นทางของลักษณะทางพีชไรและลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีต่อผลผลิตของถั่วเขียว เพื่อหาลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับผลผลิต สำหรับใช้เป็นดัชนีในการคัดเลือกสายพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิต

2. การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพีชไรและลักษณะทางสรีรวิทยา เพื่อหาอัตราพันธุกรรม จำนวนคู่ของยีน และการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะที่สัมพันธ์กับผลผลิต

3. การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะของยีนด้านทานโรคราแป้ง เพื่อหาอัตราพันธุกรรม จำนวนคู่ของยีน และการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว

4. การพัฒนาเครื่องหมาย ISSR ที่บ่งชี้ความต้านทานโรคราแป้ง เพื่อให้ได้เครื่องหมาย ISSR ที่มีศักยภาพในการนำไปใช้คัดเลือกลำต้นต้านทานโรคต่อไป

3.1 วัสดุ อุปกรณ์

1. ถั่วเขียวสายพันธุ์ต่างประเทศ 119 สายพันธุ์ ซึ่งได้รับมาจากศูนย์วิจัยพืชผักเขตร้อนมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน (ตารางภาคผนวกที่ 1)
2. ถั่วเขียวพันธุ์รับรองและสายพันธุ์ดีเด่น ซึ่งได้รับมาจากศูนย์วิจัยพืชไร่ จังหวัดชัยนาท
3. เครื่องดูดสารละลายปรับปริมาตร (Adjustable pipette)
4. เครื่องเขย่าสาร (Shaker)
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
6. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)
7. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง
8. เครื่องส่องดูเจลภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet transilluminator) พร้อมเครื่องบันทึกภาพลงแผ่นดิสก์
9. เครื่องแยกขนาดดีเอ็นเอแนวนอน (Horizontal gel electrophoresis apparatus)
10. เครื่องแยกขนาดดีเอ็นเอแนวตั้ง (Vertical/sequencing gel electrophoresis apparatus)
11. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Thermal cycler)
12. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

13. อุปกรณ์การเกษตร

3.2 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์ อาคารศูนย์เครื่องมือและวิทยาศาสตร์ 3 และฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.3 ระยะเวลาการทดลอง

มีนาคม 2547- พฤษภาคม 2553

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การศึกษาความสัมพันธ์และการวิเคราะห์เส้นทางของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีต่อผลผลิตของถั่วเขียว

3.4.1.1 การศึกษาลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาของประชากรถั่วเขียวเบื้องต้น

3.4.1.1.1 ประชากรที่ใช้ศึกษาเบื้องต้น การปลูก และการดูแลรักษา

ทำการปลูกถั่วเขียวจำนวน 119 สายพันธุ์จาก AVRDC และพันธุ์รับรอง ชัยนาท 72 (CN 72) สายพันธุ์ละ 1 แถว จำนวน 1 ไร่ โดยมีพันธุ์เปรียบเทียบ [กำแพงแสน 1 (KPS 1) และ มทส 2 (SUT 2)] ทุก ๆ 10 แถว และมีพันธุ์ มทส 3 เป็นแถวกัน (broader) ใช้แถวยาว 5 เมตร ใช้ระยะระหว่างแถว 50 เซนติเมตร และระยะระหว่างหลุม 20 เซนติเมตร โดยใส่ปุ๋ย NPK สูตร 12-24-12 อัตรา 30 กก./ไร่ และคาร์โบฟูเร็น 3% G รองพื้นอัตรา 10 ก./หลุม ทำการพ่นสารเคมีป้องกันวัชพืชอะลาคลอร์ (alachlor) ก่อนปลูก หลังจากงอกได้ 10 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือ 2 ต้น/หลุม เมื่อถั่วเขียวอายุ 25-30 วัน ทำการใส่ปุ๋ย NPK สูตร 12-24-12 อัตรา 30 กก./ไร่ พร้อมพูนโคน แล้วทำการฉีดพ่นสารโมโนโครโตฟอส อัตรา 15-20 ซีซี./น้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว จนถั่วเขียวอายุได้ 2 เดือนพ่นสารโมโนโครโตฟอส อัตรา 40 ซีซี./น้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันหนอนเจาะฝักถั่วเขียว ในช่วงที่ฝนตกชุกทำการฉีดพ่นสารเบโนมิลบริเวณโคนต้นเพื่อกำจัดโรคที่เกิดจากเชื้อรา อาทิเช่น โรคเน่าคอดิน โรครากเน่า และโรคเน่าดำ และใช้แรงงานกำจัดวัชพืชเมื่อขึ้นหนาแน่น ให้น้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

3.4.1.1.2 การบันทึกข้อมูล

ทำการสุ่มเก็บข้อมูลถั่วเขียวจำนวน 10 ต้น/แถว/สายพันธุ์ จากจำนวนทั้งหมด 30 ต้น/แถว/สายพันธุ์ บันทึกลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาจากถั่วเขียวดังต่อไปนี้

1. วันดอกแรกบาน นับจากวันงอกถึงวันที่ดอกแรกบาน โดยดูทั้งแถว

2. ดัชนีพื้นที่ใบ วัดพื้นที่ใบด้วยเครื่องวัดพื้นที่ใบ โดยสุ่มต้นมา 2 หลุม จำนวน 4 ต้น ระยะเมล็ดภายในฝักถูกขึ้นเห็นได้ชัด (R4)
3. น้ำหนักสดมวลรวม (biomass) ทำการสุ่มตัดต้นในระยะ R4 จำนวน 10 ต้น/แถว นำไปชั่งน้ำหนักสดด้วยเครื่องชั่งละเอียด แล้วหาค่าเฉลี่ย
4. น้ำหนักแห้งมวลรวม (total dry matter; TDM) นำต้นที่ชั่งน้ำหนักสดรวมแล้วไปอบด้วยตู้อบ hot air oven ที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เพื่อให้ต้นแห้งสนิท ชั่งน้ำหนักแห้งด้วยเครื่องชั่งละเอียด แล้วหาค่าเฉลี่ย
5. วันฝักแรกสุก นับจากวันงอกถึงวันที่เริ่มสังเกตเห็นฝักแรกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทั้งฝัก โดยดูทั้งแถว
6. ความสูงต้น สุ่มวัดความสูงจำนวน 10 ต้น ในระยะฝักสุกแก่ 80 % (R6) จากข้อแรกจนถึงข้อสุดท้ายเป็นเซนติเมตร แล้วหาค่าเฉลี่ย
7. น้ำหนัก 100 เมล็ด สุ่มเมล็ดจากแต่ละต้น ต้นละ 100 เมล็ด จำนวน 10 ต้น/แถว ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียดแล้วหาค่าเฉลี่ย
8. จำนวนฝักต่อต้น ทำการสุมนับจำนวนฝักจาก 10 ต้น แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย
9. จำนวนข้อต่อต้น ทำการสุมนับจำนวนข้อจาก 10 ต้น แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย
10. น้ำหนักเมล็ดต่อต้น ทำการสุ่มเก็บเมล็ดทั้งหมดจำนวน 10 ต้น ชั่งน้ำหนักเมล็ดด้วยเครื่องชั่งละเอียด แล้วหาค่าเฉลี่ย
11. ความยาวฝัก ทำการสุ่มวัดความยาวฝักเป็นเซนติเมตรจำนวน 10 ฝัก/ต้น จำนวน 10 ต้น/แถว แล้วหาค่าเฉลี่ย
12. จำนวนเมล็ดต่อฝัก สุ่มนับจำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวน 10 ฝัก/ต้น จำนวน 10 ต้น/แถว แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย
13. จำนวนกิ่งต่อต้น สุ่มนับจำนวนกิ่งจาก 10 ต้น/แถว แล้วหาค่าเฉลี่ย
14. จำนวนเมล็ดต่อต้น สุ่มเก็บเมล็ดทั้งหมดจำนวน 10 ต้น นับเมล็ดทั้งหมดต่อต้น แล้วหาค่าเฉลี่ย
15. ผลผลิตต่อไร่ สุ่มเก็บน้ำหนักเมล็ดจำนวน 10 ต้น/แถว แล้วคำนวณผลผลิตเป็นกิโลกรัม/ไร่ ที่ความชื้น 12% โดยใช้สมการ

$$\text{ผลผลิต (กก./ไร่)} = \frac{\text{ผลผลิต (กรัมต่อแปลง)}}{1000 \text{ กรัม}} \times \frac{1600 \text{ ตร.ม}}{\text{ขนาดแปลง (ตร.ม)}} \times \frac{100 - \% \text{ ความชื้น}}{88}$$

3.4.1.2 การคัดเลือกพันธุ์ที่ให้ลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาสูง

คัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวจาก AVRDC จำนวน 41 สายพันธุ์ จากจำนวนทั้งหมด 119 สายพันธุ์ โดยคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาสูงที่สุด 5 อันดับแรกใน 13 ลักษณะ ในหัวข้อ 3.4.1.1.2 (เลือกจากทุกลักษณะ ยกเว้นลักษณะน้ำหนักเมล็ดต่อต้น และผลผลิตต่อไร่) และใช้ข้อมูลลักษณะทรงพุ่ม ความแข็งแรงของลำต้น (การหักล้มของลำต้น) ลักษณะการติดฝักแก่ในระยะเก็บเกี่ยว (กระจายในทรงพุ่มหรือชูเหนือทรงพุ่ม) มาประกอบการตัดสินใจคัดเลือกสายพันธุ์เพื่อนำไปใช้ศึกษาสัมพันธ์และวิเคราะห์เส้นทางต่อไป

3.4.1.3 การศึกษาสัมพันธ์และการวิเคราะห์เส้นทางระหว่างลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยากับผลผลิต

3.4.1.3.1 ประชากรที่ใช้ศึกษาสัมพันธ์และการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทาง การปลูก และการดูแลรักษา

สายพันธุ์ที่คัดเลือกมาจาก AVRDC 41 สายพันธุ์ (จากข้อ 3.4.1.2) พันธุ์รับรองจำนวน 10 สายพันธุ์ ได้แก่ ชัยนาท 36 (CN 36) ชัยนาท 60 (CN 60) ชัยนาท 72 (CN 72) อุทอง 1 (UT 1) กำแพงแสน 1 (KPS 1) กำแพงแสน 2 (KPS 2) มอ. 1 มทส 1 (SUT 1) KAB 4 และ พิชญ์โลก 2 (PL 2) สายพันธุ์ดีเด่นจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ M4-2, M5-1 และ M5-5 และสายพันธุ์ที่พัฒนา ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีจำนวน 4 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ มทส 2 (SUT 2) มทส 3 (SUT 3) มทส 4 (SUT 4) และ มทส 5 (SUT 5) รวมทั้งหมด 58 พันธุ์/สายพันธุ์ ทำการปลูกพันธุ์/สายพันธุ์ละ 1 แถว ใช้แผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 4 ซ้ำ โดยมีพันธุ์เปรียบเทียบ [กำแพงแสน 1 (KPS 1) และ มทส 2 (SUT 2)] ทุก ๆ 10 แถว ใช้แถวยาว 5 เมตร ใช้ระยะระหว่างแถว 50 เซนติเมตร และระยะระหว่างหลุม 20 เซนติเมตร ใช้วิธีการดูแลรักษาเหมือนข้อ 3.4.1.1.1 เนื่องจากสายพันธุ์จาก AVRDC เป็นสายพันธุ์ที่ให้ลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาในแต่ละลักษณะสูง ซึ่งแต่ละสายพันธุ์ที่คัดเลือกมา มีการกระจายตัวของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาอื่นด้วย จึงเหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวแทนประชากรในการวิเคราะห์สัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยากับผลผลิต ดังแสดงในหัวข้อ 3.4.1.1.2 (1-15)

3.4.1.3.2 การบันทึกข้อมูล

สุ่มเก็บข้อมูลลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาทั้ง 15 ลักษณะ ได้แก่ วันดอกแรกบาน วันฝักแรกสุก ความสูงต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนช่อต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น ความยาวฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อต้น ผลผลิต (กก. ต่อไร่) LAI, biomass และ TDM จำนวน 10 ต้น/แถว คัดเลือกลักษณะที่ให้ค่าสัมพันธ์กับผลผลิตสูง และคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีลักษณะดังกล่าวดี เพื่อนำไปปรับปรุงสายพันธุ์รับรอง และสายพันธุ์ดีเด่น

บางสายพันธุ์ที่มีลักษณะดังกล่าวดีกว่าสายพันธุ์คัดเลือกจากการทดลองนี้ต่อไป

3.4.1.3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.4.1.3.3.1 การวิเคราะห์หาเรียนซ์

นำข้อมูลลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาทั้ง 15 ลักษณะจากทั้ง 4 ซ้ำมาหาค่าเฉลี่ย แล้วทำการวิเคราะห์หาเรียนซ์โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows Version 14.0 (Levesque and SPSS Inc., 2006)

3.4.1.3.3.2 การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation) และอัตราทางพันธุกรรมแบบกว้าง (heritability in broad sense)

ทำการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางยีนไทป์ (genotypic coefficient of variation; GCV), สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางฟีโนไทป์ (phenotypic coefficient of variation; PCV), สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางสภาพแวดล้อม (environmental coefficient of variation; ECV) และ อัตราพันธุกรรมอย่างกว้าง (heritability in broad sense; h^2_b) ตามวิธีการของ Singh and Chaudhary (1979) โดยมีสมการดังต่อไปนี้

$$\begin{aligned}\text{สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางยีนไทป์} &= \frac{\sqrt{V_g}}{\text{mean}} \\ \text{สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางฟีโนไทป์} &= \frac{\sqrt{V_g + V_e}}{\text{mean}} \\ \text{สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางสภาพแวดล้อม} &= \frac{\sqrt{V_e}}{\text{mean}}\end{aligned}$$

$$\text{อัตราพันธุกรรมอย่างกว้าง} = \frac{V_g}{V_{ph}}$$

เมื่อ V_g = วาเรียนซ์เนื่องจากผลของยีน, V_{ph} = วาเรียนซ์เนื่องจากผลของฟีโนไทป์ และ V_e = วาเรียนซ์เนื่องจากผลของสภาพแวดล้อม

3.4.1.3.3.3 การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางพืชไร่และสรีรวิทยากับผลผลิต

ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับลักษณะทางพืชไร่และลักษณะสรีรวิทยาต่าง ๆ ตามวิธีการของ Dewey and Lu (1959) ดังนี้

(1) สหสัมพันธ์ทางฟีโนไทป์ระหว่างลักษณะ x และ y

$$r_{ph(xy)} = \frac{\sigma_{ph(xy)}}{\sqrt{(\sigma_{ph(x)}^2)(\sigma_{ph(y)}^2)}}$$

(2) สหสัมพันธ์ทางยีนไทป์ระหว่างลักษณะ x และ y

$$r_{g(xy)} = \frac{\sigma_{g(xy)}}{\sqrt{(\sigma_{g(x)}^2)(\sigma_{g(y)}^2)}}$$

เมื่อให้ $\sigma_{ph(xy)}$ = โควาเรียนซ์ของลักษณะภายนอกของลักษณะ x และ y
 $\sigma_{g(xy)}$ = โควาเรียนซ์ของพันธุกรรมของลักษณะ x และ y
 $\sigma_{ph(x)}^2$ = วาเรียนซ์ของลักษณะภายนอกของลักษณะ x
 $\sigma_{ph(y)}^2$ = วาเรียนซ์ของลักษณะภายนอกของลักษณะ y
 $\sigma_{g(x)}^2$ = วาเรียนซ์ของพันธุกรรมของลักษณะ x
 $\sigma_{g(y)}^2$ = วาเรียนซ์ของพันธุกรรมของลักษณะ y

3.4.1.3.3.4 การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทาง

ทำการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทางของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาต่อผลผลิต (Singh and Chaudhary, 1979) ดังนี้

สัมประสิทธิ์เส้นทาง

นำค่าสหสัมพันธ์ทางยีนไทป์มาวิเคราะห์หาขนาดของอิทธิพลทางตรงและทางอ้อมของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาต่อผลผลิต ดังนี้

$$\begin{aligned} r(x_1, y_1) &= P + r(x_1, x_2) Q + r(x_1, x_3) R \\ r(x_2, y_1) &= r(x_2, x_1) P + Q + r(x_2, x_3) R \\ r(x_3, y_1) &= r(x_3, x_1) P + r(x_3, x_2) Q + R \end{aligned}$$

เมื่อให้

$$\begin{aligned} y_1 &= \text{ลักษณะผลผลิต} \\ x_1 &= \text{ลักษณะทางเกษตรที่ 1} \\ x_2 &= \text{ลักษณะทางเกษตรที่ 2} \\ x_3 &= \text{ลักษณะทางเกษตรที่ 3} \\ P &= \text{อิทธิพลทางตรงของลักษณะที่ 1 ต่อผลผลิต (y}_1\text{)} \\ Q &= \text{อิทธิพลทางตรงของลักษณะที่ 2 ต่อผลผลิต (y}_1\text{)} \\ R &= \text{อิทธิพลทางตรงของลักษณะที่ 3 ต่อผลผลิต (y}_1\text{)} \end{aligned}$$

3.4.2 การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพีชไรและลักษณะทางสรีรวิทยา

3.4.2.1 ประชากรที่ใช้ศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะทางพีชไร และลักษณะทางสรีรวิทยา การปลูก และการดูแลรักษา

3.4.2.1.1 ทำการคัดเลือกลักษณะทางพีชไร และลักษณะทางสรีรวิทยาที่ให้ค่าสหสัมพันธ์กับผลผลิตสูง ได้แก่ ลักษณะTDM จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้นจำนวนเมล็ดต่อฝัก ความยาวฝัก น้ำหนัก 100 เมล็ด จากการทดลองที่ 3.4.1 ส่วนการคัดเลือกลักษณะความยาวราก นั้น คัดเลือกจากการปลูกถั่วเขียวทดสอบระบบรากในกระบะดินผสมทราย โดยการคัดเลือกจากน้ำหนักแห้งรากเป็นหลัก

3.4.2.1.2 ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ค่าของลักษณะในข้อ 3.4.1.1.2 สูงเพื่อผสมพันธุ์กับสายพันธุ์รับรองหรือสายพันธุ์ดีเด่นที่ให้ค่าลักษณะเหล่านี้ต่ำ เพื่อผลิตประชากรในการศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะเหล่านี้

3.4.2.1.3 ทำการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์ที่ให้ค่าต่ำและสูง จำนวน 12 คู่ผสมได้แก่ สายพันธุ์ที่ให้ TDM ต่ำ x สูง ได้แก่ CN60 x V1946 และ SUT4 x M5-1 สายพันธุ์ที่ให้จำนวนฝักต่อต้นต่ำ x สูง ได้แก่ CN60 x V4785 และ SUT2 x V4758 สายพันธุ์ที่ให้น้ำหนักเมล็ดต่อต้นต่ำ x สูง ได้แก่ SUT2 x V4758 และ CN60 x V1946 สายพันธุ์ที่ให้น้ำหนัก 100 เมล็ดต่ำ x สูง ได้แก่ SUT2 x V4758 สายพันธุ์ที่ให้จำนวนเมล็ดต่อฝักต่ำ x สูง ได้แก่ SUT1 x V4785 และ SUT3 x V4451 สายพันธุ์ที่ให้ความยาวฝักต่ำ x สูง ได้แก่ CN60 x V1414AG และสายพันธุ์ที่ให้ความยาวรากน้อย x มาก ได้แก่ CN60 x V1414AG และ KPS1 x V1415AG เพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ปลอ่ยให้ F_1 ผสมตัวเองแล้วเก็บเมล็ดลูกผสมชั่วที่สอง (F_2) ผสมพันธุ์ลูกผสมชั่ว F_1 กลับไปยังพันธุ์แม่ที่ให้ค่าของลักษณะต่ำ (BC_1) และ ผสมพันธุ์ลูกผสมชั่ว F_1 กลับไปยังพันธุ์พ่อที่ให้ค่าของลักษณะสูง (BC_2)

3.4.2.1.4 ปลูกถั่วเขียวทั้ง 6 ประชากรของแต่ละคู่ผสมได้แก่ พันธุ์แม่ (P_1) พันธุ์พ่อ (P_2) ลูกผสมชั่วที่หนึ่ง (F_1) ลูกผสมกลับระหว่างลูกผสมชั่วที่หนึ่งกับพันธุ์แม่(BC_1) ลูกผสมกลับระหว่างลูกผสมชั่วที่หนึ่งกับพันธุ์พ่อ (BC_2) และ ลูกผสมชั่วที่สอง (F_2) ใช้สายพันธุ์ มทส 3 เป็นแถวกัน (broader) แต่ละแถวยาว 5 เมตร ใช้ระยะระหว่างแถว 50 เซนติเมตร และระยะระหว่างหลุม 20 เซนติเมตร ในแต่ละประชากรของ P_1 , P_2 , F_1 , BC_1 และ BC_2 ปลูกจำนวนต้นทั้งหมด 30 ต้น/แถว/ซ้ำ ส่วนประชากร F_2 ปลูกจำนวนต้นทั้งหมด 90 ต้น/3 แถว/ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 3 ซ้ำ ใช้วิธีการดูแลรักษาเหมือนข้อ 3.4.1.1.1

3.4.2.2 การบันทึกข้อมูล

ทำการสุ่มเก็บข้อมูลในแต่ละคู่ผสมดังต่อไปนี้ P_1 , P_2 และ F_1 จำนวน 10 ต้น/ซ้ำ จากจำนวนต้นทั้งหมด 30 ต้น/ซ้ำ สำหรับ BC_1 , BC_2 และ F_2 จำนวน 15, 15 และ 20 ต้น/ซ้ำ จาก

จำนวนต้นในแถวทั้งหมด 30, 30 และ 90 ต้น/ซ้ำ ตามลำดับ บันทึกข้อมูลลักษณะ TDM จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อฝัก ความยาวฝัก เหมือนกับการทดลองที่ 3.4.1 และเก็บข้อมูลความยาวรากต่อปริมาตรดิน

การเก็บข้อมูลราก

ทำการเจาะรากด้วยเครื่องมือเจาะราก (เส้นผ่าศูนย์กลาง 5.2 เซนติเมตร) โดยเจาะลึก 1 เมตร ห่างจากลำต้น 10 เซนติเมตร ทำกันทุก ๆ ต้น แบ่งดินออกเป็น 5 ส่วนตามระดับความลึกเป็นเซนติเมตร (0-20, 20-40, 40-60, 60-80 และ 80-100) ล้างดินออกจากราก แล้วนำรากแต่ละส่วนไปวัดความยาวรากด้วยไม้บรรทัด นำความยาวรากทั้ง 5 ระดับความลึกมารวมกันเป็นความยาวของราก (ชม.) ต่อปริมาตรดินในเครื่องมือเจาะราก ซึ่งปริมาตรดินคำนวณจากสมการดังนี้

$$\text{ปริมาตรทรงกระบอก (เครื่องมือเจาะราก)} = (\pi) \times (r^2) \times (h)$$

เมื่อ $\pi = 3.14$, $r =$ รัศมีทรงกระบอก (2.6 เซนติเมตร), $h =$ ความสูงของทรงกระบอก (เซนติเมตร)

$$\text{ปริมาตรดินในเครื่องมือเจาะราก} = 3.14 \times (2.6)^2 \times 100 = 2,122 \text{ ลบ.ชม.}$$

ดังนั้นหน่วยของความยาวรากจึงเป็น เซนติเมตรต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ชม.

3.4.2.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้ไปทดสอบความเหมาะสมของ additive-dominant model โดยวิธี scaling test (Mather, 1949) วิเคราะห์การแสดงออกของยีนโดยวิธี joint scaling test ตามวิธีการของ Cavalli (1952) และ Mather and Jink (1982) คำนวณการแสดงออกของยีนโดยวิธี generation mean analysis ตามวิธีการของ Gamble (1962) คำนวณหาอัตราทางพันธุกรรมอย่างแคบและอย่างกว้างตามวิธีการของ Warner (1952) และคำนวณหาจำนวนยีนที่ควบคุมลักษณะเหล่านี้ตามวิธีการของ Sinnot et al. (1953) โดยใช้ค่าเฉลี่ยและวาเรียนซ์ในการวิเคราะห์ดังนี้

3.4.2.3.1 การทดสอบมาตราวัดและความสอดคล้องกับ additive-dominant model โดยวิธี scaling test (Mather, 1949)

คำนวณค่า A, B และ C และวาเรียนซ์ของแต่ละประชากร ดังนี้

$$A = 2\overline{BC}_1 - \overline{P}_1 - \overline{F}_1$$

$$B = 2\overline{BC}_2 - \overline{P}_2 - \overline{F}_1$$

$$C = 4\overline{F}_2 - 2\overline{F}_1 - \overline{P}_1 - \overline{P}_2$$

ถ้าค่า A, B หรือ C มีค่าไม่เท่ากับ 0 แสดงว่าการแสดงออกของยีนไม่สอดคล้องกับสมการแบบบวก-ข้าม หรืออาจมีการแสดงออกของยีนแบบข้ามข้ามคู่ (epistasis)

ทดสอบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ t-test ดังนี้

$$t_{(A)} = \frac{A}{\sqrt{V_A}}$$

$$t_{(B)} = \frac{B}{\sqrt{V_B}}$$

$$t_{(C)} = \frac{C}{\sqrt{V_C}}$$

ค่า V_A , V_B และ V_C มีสมการดังนี้

$$V_A = 4V_{(BC1)} + V_{(P1)} + V_{(F1)}$$

$$V_B = 4V_{(BC2)} + V_{(P2)} + V_{(F1)}$$

$$V_C = 16V_{(F2)} + 4V_{(F1)} + V_{(P1)} + V_{(P2)}$$

เมื่อ $\overline{P_1}$, $\overline{P_2}$, $\overline{F_1}$, $\overline{F_2}$, $\overline{BC_1}$ และ $\overline{BC_2}$ คือค่าเฉลี่ยของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ตามลำดับ และ $V_{(P1)}$, $V_{(P2)}$, $V_{(F1)}$, $V_{(F2)}$, $V_{(BC1)}$ และ $V_{(BC2)}$ คือความแปรปรวนของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 หาด้วยจำนวนค่าสังเกตในแต่ละประชากร ตามลำดับ

นำค่า $t_{(A)}$, $t_{(B)}$ และ $t_{(C)}$ ไปเปรียบเทียบกับค่าจากตาราง t ที่ df = จำนวนค่าสังเกตของประชากรทั้งหมด - จำนวนประชากร เช่น การทดสอบ $t_{(A)}$ ค่า $df = (45 + 30 + 30) - 3 = 102$ ดังนั้น ค่า $df_{0.05, 102} = 1.982$ และ $df_{0.01, 102} = 2.625$

3.4.2.3.2 การทดสอบ additive - dominance model โดยวิธี joint scaling test และการทดสอบความเหมาะสมของ model โดยวิธีไคสแควร์ (χ^2)

การทดสอบ additive-dominance model โดยวิธี joint scaling test ใช้ค่าเฉลี่ยและค่าเฉลี่ยของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ในการประเมินพารามิเตอร์ m (mean) a (additive gene action) และ d (dominance gene action) โดยไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนใด ๆ ตามวิธีการของ Cavalli (1952) และ Mather and Jinks (1982) ทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่า m , a และ d โดยใช้ t -test และทำการทดสอบไคสแควร์ที่ $df = 3$ ($df_{0.05, 3} = 7.81$; $df_{0.01, 3} = 11.34$) ถ้าพบค่าไคสแควร์มีความแตกต่างทางสถิติ แสดงว่าการแสดงออกของยีนไม่เป็นไปตามสมการแบบบวกข่ม หรือมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีน (epistasis) ให้ทำการประเมินการแสดงออกของยีนโดยการวิเคราะห์ generation mean โดยวิธี Gamble (1962) ต่อไป

3.4.2.3.3 การวิเคราะห์ generation mean

วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยและค่าเฉลี่ยของแต่ละประชากรทั้ง 6 ประชากร ตามวิธีการของ Gamble (1962) เพื่อคำนวณชนิดการแสดงออกของยีนในลักษณะที่มี epistasis โดยวิเคราะห์การแสดงออกของยีนทั้ง 6 ประชากร ในรูปแบบของ ค่าเฉลี่ยของ F_2 (m), additive gene effect (a), dominance gene effect (d), additive x additive gene effect (aa), additive x dominance

gene effect (ad) และ dominance x dominance gene effect (dd) โดยมีสมการดังนี้

$$\begin{aligned} m &= \overline{F_2} \\ a &= \overline{BC_1} - \overline{BC_2} \\ d &= -\frac{1}{2}(\overline{P_1}) - \frac{1}{2}(\overline{P_2}) + \overline{F_1} - 4\overline{F_2} + 2\overline{BC_1} + 2\overline{BC_2} \\ aa &= -4\overline{F_2} + 2\overline{BC_1} + 2\overline{BC_2} \\ ad &= -\frac{1}{2}(\overline{P_1}) + \frac{1}{2}(\overline{P_2}) + \overline{BC_1} - \overline{BC_2} \\ dd &= \overline{P_1} + \overline{P_2} + 2\overline{F_1} + 4\overline{F_2} - 4\overline{BC_1} - 4\overline{BC_2} \end{aligned}$$

คำนวณหาเรียนซ้ำของค่าเหล่านี้ จากสมการดังนี้

$$\begin{aligned} V_{(m)} &= V_{(\overline{F_2})} \\ V_{(a)} &= V_{(\overline{BC_1})} + V_{(\overline{BC_2})} \\ V_{(d)} &= \frac{1}{4} V_{(\overline{P_1})} + \frac{1}{4} V_{(\overline{P_2})} + V_{(\overline{F_1})} + 16V_{(\overline{F_2})} + 4V_{(\overline{BC_1})} + 4V_{(\overline{BC_2})} \\ V_{(aa)} &= 16 V_{(\overline{F_2})} + 4V_{(\overline{BC_1})} + 4V_{(\overline{BC_2})} \\ V_{(ad)} &= \frac{1}{4} V_{(\overline{P_1})} + \frac{1}{4} V_{(\overline{P_2})} + V_{(\overline{BC_1})} + V_{(\overline{BC_2})} \\ V_{(dd)} &= V_{(\overline{P_1})} + V_{(\overline{P_2})} + 4V_{(\overline{F_1})} + 16V_{(\overline{F_2})} + 16V_{(\overline{BC_1})} + 16V_{(\overline{BC_2})} \end{aligned}$$

เมื่อ $\overline{P_1}$, $\overline{P_2}$, $\overline{F_1}$, $\overline{F_2}$, $\overline{BC_1}$ และ $\overline{BC_2}$ คือค่าเฉลี่ยของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ตามลำดับ และ $V_{(\overline{P_1})}$, $V_{(\overline{P_2})}$, $V_{(\overline{F_1})}$, $V_{(\overline{F_2})}$, $V_{(\overline{BC_1})}$ และ $V_{(\overline{BC_2})}$ คือความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยประชากร (variance of mean) ซึ่งคำนวณได้จากความแปรปรวนของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 หาค่าด้วยจำนวนซ้ำ (3) ตามลำดับ

ค่า t คำนวณจากสมการดังนี้ เช่น

การทดสอบค่า t ของ dominant gene effect นำค่า d และ $V_{(d)}$ มาแทนค่าในสมการ

$$t_{(d)} = \frac{d}{\sqrt{V_{(d)}}}$$

ผลของ t-test จะเป็นตัวบ่งชี้ความสำคัญของการแสดงออกของยีน

3.4.2.3.4 การวิเคราะห์อัตราพันธุกรรม

คำนวณอัตราทางพันธุกรรมอย่างแคบและอย่างกว้างตามวิธีการของ

Warner (1952) ดังสมการ

$$\text{อัตราทางพันธุกรรมอย่างแคบ } (h_n^2) = \frac{2V_{(F_2)} - (V_{(BC_1)} + V_{(BC_2)})}{V_{(F_2)}} \times 100$$

$$\text{อัตราทางพันธุกรรมอย่างกว้าง (h_b^2)} = \frac{V_{(F2)} - (V_{(P1)} + V_{(P2)} + V_{(F1)})/3}{V_{F2}} \times 100$$

เมื่อ $V_{(P1)}$, $V_{(P2)}$, $V_{(F1)}$, $V_{(F2)}$, $V_{(BC1)}$ และ $V_{(BC2)}$ คือความแปรปรวนของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ตามลำดับ

3.4.2.3.5 การวิเคราะห์จำนวนยีนที่ควบคุมลักษณะ (number of effective factors)

$$\text{จำนวนยีนที่น้อยที่สุด (k)} = \frac{(\bar{P}_1 - \bar{P}_2)^2}{8(V_{(F2)} - V_{(F1)})}$$

เมื่อ $\bar{P}_1$ และ $\bar{P}_2$ คือค่าเฉลี่ยของประชากร P_1 และ P_2 ตามลำดับ และ $V_{(F1)}$ และ $V_{(F2)}$ คือ ความแปรปรวนของประชากร F_1 และ F_2 ตามลำดับ

3.4.3 การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะของยีนต้านทานโรคราแป้ง

3.4.3.1 ประชากรที่ใช้ศึกษา การปลูก และการดูแลรักษา

3.4.3.1.1 ทำการคัดเลือกสายพันธุ์อ่อนแอและต้านทานโรคราแป้งจากการทดลองที่ 3.4.1 ในฤดูที่มีการระบาดของโรค

3.4.3.1.2 ทำการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์อ่อนแอ (KPS1 และ KPS2) และต้านทานโรคราแป้ง (V4758 และ V2106) จำนวน 3 คู่ผสม ได้แก่ KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106 เพื่อผลิตประชากรในการศึกษาการแสดงออกของยีนต้านทานโรค

3.4.3.1.3 ปลูกถั่วเขียวทั้ง 6 ประชากรของแต่ละคู่ผสม ได้แก่ พันธุ์แม่ (P_1) พันธุ์พ่อ (P_2) ลูกผสมชั่วที่หนึ่ง (F_1) ลูกผสมกลับระหว่างลูกผสมชั่วที่หนึ่งกับพันธุ์แม่ (BC_1) ลูกผสมกลับระหว่างลูกผสมชั่วที่หนึ่งกับพันธุ์พ่อ (BC_2) และ ลูกผสมชั่วที่สอง (F_2) แต่ละแถวยาว 5 เมตร ใช้ระยะระหว่างแถว 50 เซนติเมตร และระยะระหว่างหลุม 20 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 3 ซ้ำ โดยมีวิธีการปลูกและดูแลรักษาเหมือนข้อ 3.4.1.1 ยกเว้นการฉีดพ่นสารเบโนมิลบริเวณใบเพื่อกำจัดโรคราแป้ง เพื่อให้มีการระบาดของโรคราแป้งอย่างธรรมชาติ

3.4.3.2 การบันทึกข้อมูล

ทำการสุ่มเก็บข้อมูลในแต่ละคู่ผสมดังต่อไปนี้ P_1 , P_2 และ F_1 จำนวน 10 ต้น/ซ้ำ จากจำนวนต้นทั้งหมด 30 ต้น/ซ้ำ สำหรับ BC_1 , BC_2 และ F_2 จำนวน 15, 15 และ 20 ต้น/ซ้ำ จากจำนวนต้นในแถวทั้งหมด 30, 30 และ 90 ต้น/ซ้ำ ตามลำดับ ทำการให้คะแนนการเกิดโรคเมื่อถั่วเขียวมีอายุ 55 วัน โดยระดับคะแนนแบ่งออกเป็นดังนี้

คะแนน 1 หมายถึง ไม่แสดงอาการของโรค

คะแนน 2 หมายถึง พบแผล 2-3 แผลบนใบตอนล่าง

คะแนน 3 หมายถึง พบแผล 2-3 แผลบนใบตอนล่าง เชื้อเริ่มสร้างสปอร์

คะแนน 4 หมายถึง พบแผลจำนวนมากบนใบตอนล่างและตอนกลาง เชื้อเริ่มสร้างสปอร์

คะแนน 5 หมายถึง เหมือนระดับที่ 4 ใบเริ่มเหลืองหรือแห้งกรอบ เชื้อสร้างสปอร์มาก

คะแนน 6 หมายถึง เหมือนระดับที่ 5 สามารถมองเห็นอาการได้ในระยะใกล้ เชื้อสร้างสปอร์มาก

คะแนน 7 หมายถึง พบแผลบนใบทั่วทั้งต้น ใบแห้งกรอบแต่ไม่เกิน 25%

คะแนน 8 หมายถึง เหมือนระดับที่ 7 ใบแห้งกรอบ 25-50%

คะแนน 9 หมายถึง ใบแห้งกรอบมากกว่า 50%

3.4.3.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทดสอบมาตราวัดและความสอดคล้องกับ additive-dominant model โดยวิธี scaling test (Mather, 1949) วิเคราะห์การแสดงออกของยีนโดยวิธี joint scaling test ตามวิธีการของ Cavalli (1952) และ Mather and Jink (1982) คำนวณอัตราทางพันธุกรรมอย่างกว้างตามวิธีการของ Warner (1952) และคำนวณจำนวนยีนที่ควบคุมลักษณะเหล่านี้ตามวิธีการของ Simnot et al. (1953) โดยมีสมการและขั้นตอนเหมือนการทดลองที่ 3.4.2

3.4.4 การพัฒนาเครื่องหมาย ISSR บ่งชี้ความต้านทานโรคราแป้ง

3.4.4.1 การผลิตประชากรที่มีการกระจายตัวของยีนต้านทานโรค

ทำการผลิตประชากรที่มีการกระจายตัว (recombinant inbred line; RIL) โดยการผสมระหว่างถั่วเขียวพันธุ์ CN 72 (พันธุ์อ่อนแอ) กับ V4718 (พันธุ์ต้านทาน) เพื่อผลิตเมล็ดลูกผสมชั่วที่หนึ่ง (F_1) ปลูกเมล็ด F_1 เพื่อผลิตประชากร F_2 จำนวน 180 ต้น ผสมตัวเองแล้วเก็บหนึ่งเมล็ดต่อต้นเพื่อปลูกในชั่วถัดไป ทำเช่นเดียวกันจนถึงประชากร $F_{2.6}$

ปลูกถั่วเขียวพันธุ์ CN72, V4718 และประชากร $F_{2.6}$ จำนวน 180 ต้น ในช่วงที่มีโรคราแป้งระบาด คัดเลือกต้น $F_{2.6}$ ที่มีความต้านทานและอ่อนแอต่อโรคราแป้งสูงสุดมาอย่างละ 10 ต้น โดยให้คะแนนการเกิดโรค ตามวิธีการในการทดลองที่ 3.4.3.2

3.4.4.2 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

ทำการเก็บยอดอ่อน ฝักอ่อน หรือดอกอ่อนในระยะที่มีการระบาดของโรคชัดเจน (55 วัน หลังปลูก) เพื่อสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Owens (2003) นำดีเอ็นเอของต้น $F_{2.6}$ ที่ต้านทานโรคทั้ง 10 ต้น มารวมในสัดส่วนที่เท่ากัน เป็นดีเอ็นเอประชากรรวมต้านทาน (resistant bulk

DNA) และนำดีเอ็นเอของต้น $F_{2,6}$ ที่อ่อนแอต่อโรคทั้ง 10 ต้น มารวมในสัดส่วนที่เท่ากัน เป็นดีเอ็นเอประชากรรวมอ่อนแอ (susceptible bulk DNA)

3.4.4.3 การวิเคราะห์ ISSR (ISSR analysis)

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR โดยใช้องค์ประกอบดังนี้ ดีเอ็นเอ 150 ng, 1x buffer [20 mM Tris-HCl (pH 8.4) และ 50 mM KCl], 250 μ M dNTP, 3.5 mM $MgCl_2$, 0.4 μ M ไพร์เมอร์ (ตารางที่ 30) และ Taq DNA polymerase 1 unit โดยใช้ขั้นตอนอุณหภูมิดังนี้

Denaturing step:	อุณหภูมิ 94 °ซ	5 นาที	จำนวน 1 รอบ
Denaturing step:	อุณหภูมิ 95 °ซ	1 นาที	จำนวน 16 รอบ โดยทุก ๆ รอบลดลง 1 °ซ
Annealing step:	อุณหภูมิ 65-50 °ซ	1 นาที	
Elongation step:	อุณหภูมิ 72 °ซ	1 นาที	
Elongation step:	อุณหภูมิ 72 °ซ	10 นาที	จำนวน 1 รอบ

หลังจากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ไปแยกขนาดภายใต้สนามไฟฟ้า 1,000 โวลต์ บน denaturing polyacrylamide gel 6% เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยซิลเวอร์ตามวิธีการของ Vari and Bell (1996)

3.4.4.4 การตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่มีลิงค์เกจ (linkage) กับยีนต้านทานโรค

วิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอจากไพร์เมอร์ทั้ง 46 ไพร์เมอร์ โดยนับจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดของพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ในแต่ละไพร์เมอร์ (number of scorable bands; NB) นับจำนวนแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ของ แต่ละไพร์เมอร์ คำนวณเป็น % แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์พ่อและแม่ (% male-female parent polymorphic bands; PB)

ตรวจหาการมีลิงค์เกจระหว่างเครื่องหมาย ISSR กับยีนต้านทานโรคด้วยวิธี bulk segregant analysis (BSA) โดยสังเกตการมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอดังกล่าวระหว่างพันธุ์พ่อแม่ที่ต้านทาน (resistant parent) และ ประชากรรวมที่ต้านทาน (resistant bulk DNA) และระหว่างพันธุ์พ่อแม่ที่อ่อนแอ (susceptible parent) และ ประชากรรวมที่อ่อนแอ (susceptible bulk DNA) โดยถ้าพบแถบดีเอ็นเอดังกล่าวในพันธุ์พ่อแม่ที่ต้านทานและประชากรรวมที่ต้านทานเหมือนกัน แต่ไม่พบแถบดีเอ็นเอดังกล่าวในพันธุ์พ่อแม่ที่อ่อนแอและประชากรรวมที่อ่อนแอ หรือไม่พบแถบดีเอ็นเอในพันธุ์พ่อแม่ที่ต้านทานและประชากรรวมที่ต้านทาน แต่พบในทั้งพันธุ์พ่อแม่ที่อ่อนแอและประชากรรวมที่อ่อนแอ แสดงว่าน่าจะมีลิงค์เกจระหว่างเครื่องหมายนั้น ๆ กับยีนต้านทานโรค

คัดเลือกเครื่องหมาย ISSR ที่มีลิงค์เกากับยีนต้านทานโรค วิเคราะห์ซ้ำเพื่อยืนยันผล โดยใช้ข้อสรุปประกอบใน PCR เหมือนกับในหัวข้อ 3.4.4.3 แต่ใช้ขั้นตอนอุณหภูมิดังนี้

Denaturing step: อุณหภูมิ 94 °ซ	5 นาที	จำนวน 1 รอบ
Denaturing step: อุณหภูมิ 95 °ซ	1 นาที	จำนวน 35 รอบ
Annealing step: อุณหภูมิ 50 °ซ	1 นาที	
Elongation step: อุณหภูมิ 72 °ซ	1 นาที	
Elongation step: อุณหภูมิ 72 °ซ	10 นาที	จำนวน 1 รอบ

หลังจากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ไปแยกขนาดภายใต้สนามไฟฟ้า 1,000 โวลต์ บน denaturing polyacrylamide gel 6% เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วย ซิลเวอร์ตามวิธีการของ Vari and Bell (1996) คัดเลือกแถบดีเอ็นเอที่มีลิงค์เกจ (linkage) กับยีนต้านทานโรค

3.4.4.5 การประเมินระยะห่างระหว่างเครื่องหมาย ISSR และยีนต้านทานโรคเบื้องต้น

ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่มีลิงค์เกากับยีนต้านทานโรคราแป้งในหัวข้อ 3.4.4.4 โดยใช้ต้น $F_{2:6}$ ที่ต้านทาน (resistant individual RIL) และต้น $F_{2:6}$ ที่อ่อนแอ (susceptible individual RIL) อย่างละ 10 ต้น บันทึกการมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอ นับจำนวนต้นที่เกิด recombination ระหว่างเครื่องหมาย ISSR และยีนต้านทานโรค แล้วนำมาคำนวณ % recombination ดังนี้

$$\% \text{ recombination} = \frac{\text{จำนวนต้นที่เกิด recombination}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$$

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การศึกษาสหสัมพันธ์และการวิเคราะห์เส้นทางของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีต่อผลผลิตของถั่วเขียว

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ มีลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาทั้ง 14 ลักษณะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$; ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นว่าประชากรถั่วเขียวทั้ง 58 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่นำมาศึกษาในการทดลองนี้มีความแปรปรวนในลักษณะทั้ง 14 ลักษณะ จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน พบว่าลักษณะจำนวนเมล็ดต่อต้นให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางฟีโนไทป์ (phenotypic coefficient of variation; PCV) และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางจีโนไทป์ (genotypic coefficient of variation; GCV) สูงที่สุด คือ 49.59% และ 42.80% ตามลำดับ รองลงมาคือ จำนวนฝักต่อต้น (40.29% และ 31.15% ตามลำดับ) และ LAI (39.16% และ 23.88% ตามลำดับ) บางลักษณะมีความแตกต่างระหว่าง PCV และ GCV น้อย แสดงให้เห็นว่าสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการควบคุมการแสดงออกของลักษณะเหล่านี้ต่ำ เช่น ลักษณะวันดอกแรกบานให้ค่า PCV และ GCV ใกล้เคียงกัน (7.96% และ 8.19% ตามลำดับ) ความยาวฝัก (15.21% และ 14.75% ตามลำดับ) วันฝักแรกสุก (7.60% และ 6.57% ตามลำดับ) จำนวนเมล็ดต่อฝัก (12.36% และ 10.81% ตามลำดับ) น้ำหนัก 100 เมล็ด (12.65% และ 11.26% ตามลำดับ) และความสูง (18.88% และ 16.60% ตามลำดับ) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Idress et al. (2006) ซึ่งพบว่าลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตในถั่วเขียวที่ให้ค่า PCV และ GCV ใกล้เคียงกัน ได้แก่ลักษณะความสูงให้ค่า PCV และ GCV (1.51% และ 0.62% ตามลำดับ) ความยาวฝัก (5.55% และ 1.98% ตามลำดับ) และน้ำหนัก 100 เมล็ด (7.27% และ 3.97% ตามลำดับ) ในขณะที่ลักษณะอื่น ๆ มีความแตกต่างระหว่างค่า PCV และ GCV มาก แสดงให้เห็นว่าสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการแสดงออกในลักษณะนั้น ๆ มาก

จากการวิเคราะห์อัตราพันธุกรรมแบบกว้างในทุกลักษณะพบว่า ลักษณะที่ให้อัตราพันธุกรรมแบบกว้างมากกว่า 50% ได้แก่ วันดอกแรกบาน (94.41%) ความยาวฝัก (94.07%) น้ำหนัก 100 เมล็ด (79.17%) ความสูง (77.33%) จำนวนเมล็ดต่อฝัก (76.49%) จำนวนเมล็ดต่อต้น (74.48%) จำนวนฝักต่อต้น (62.95%) และจำนวนกิ่งต่อต้น (59.57%) ซึ่งบ่งชี้ว่าลักษณะเหล่านี้สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้สูง (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับการศึกษาของ Makeen et al. (2007) ซึ่งพบว่าลักษณะวันดอกแรกบาน (69.54%) ความยาวฝัก (53.75%) ความสูง (75.62%) จำนวนเมล็ดต่อ

ฝัก (59.63%) จำนวนฝักต่อต้น รวมไปถึงลักษณะวันฝักแรกสุก (66.57%) มีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างสูง นอกจากนี้ Siddique et al. (2006) ศึกษาอัตราพันธุกรรมในลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตในถั่วเขียว 8 สายพันธุ์ พบว่าให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้คือ ลักษณะที่ให้อัตราพันธุกรรมแบบกว้างสูงได้แก่ น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (92.18%) วันดอกแรกบาน (89.06%) และวันฝักแรกสุก (88.50%) และการทดลองของ Sriphadet et al. (2007) ซึ่งพบว่าลักษณะความยาวฝักให้อัตราพันธุกรรมแบบแคบสูง (93.70%) อัตราพันธุกรรมของลักษณะทางสรีรวิทยาทั้ง 3 ลักษณะ ได้แก่ biomass, TDM และ LAI มีค่าต่ำกว่า 50% ซึ่งบ่งชี้ว่าลักษณะเหล่านี้ได้รับอิทธิพลจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อมหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้องกับการแสดงออก ในปัจจุบันการศึกษาอัตราพันธุกรรมของลักษณะทางสรีรวิทยาในถั่วเขียวมีจำกัด ดังนั้นการศึกษ้อัตราพันธุกรรมของลักษณะทางสรีรวิทยาในประชากรศึกษากลุ่มนี้ จึงอาจใช้เป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวในอนาคตได้

สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางฟีโนไทป์และลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีต่อผลผลิตของถั่วเขียว

ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตนั้นขึ้นอยู่กับผลของการแสดงออกของยีนที่มีความสัมพันธ์กัน (pleiotropic effect of genes) และลิงก์เกจ (linkage) ระหว่างยีน (Madhur and Jinks, 1994) จากการศึกษาสหสัมพันธ์ทางฟีโนไทป์และยีนโนไทป์ระหว่างผลผลิตและลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตทั้ง 14 ลักษณะ พบว่าผลผลิตมีสหสัมพันธ์กับจำนวนฝักต่อต้น ($r_p = 0.622^{**}$; $r_g = 0.599$) และ จำนวนข้อต่อต้น ($r_p = 0.529^{**}$; $r_g = 0.601$; ตารางที่ 3) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการมีจำนวนฝักและจำนวนข้อต่อต้นมากขึ้น ทำให้มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงขึ้น ซึ่งสายพันธุ์ที่ให้จำนวนฝักต่อต้นสูงที่สุด 3 อันดับแรกได้แก่ V2106, V4785 และ V4758 ให้จำนวนฝักต่อต้น 49.2, 37.8 และ 40.4 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และพบว่าผลผลิตมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝัก $r_p = 0.477^{**}$; $r_g = 0.526$) และจำนวนเมล็ดต่อต้น ($r_p = 0.457^{**}$; $r_g = 0.684$; ตารางที่ 3) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงที่สุด 3 อันดับแรก คือ V2106, V4785 และ V4758 ให้ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อต้นและจำนวนเมล็ดต่อฝักสูงที่สุด 3 อันดับแรก โดยให้จำนวนเมล็ดต่อต้น 597, 396.7 และ 405.6 ตามลำดับ และจำนวนเมล็ดต่อฝัก 11.5, 11.3 และ 11.6 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสรีรวิทยากับผลผลิต พบว่าลักษณะ TDM ($r_p = 0.518^{**}$; $r_g = 0.702$), biomass ($r_p = 0.347^{**}$; $r_g = 0.477$) และ LAI ($r_p = 0.321^{**}$; $r_g = 0.431$) มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3) โดยพบว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง 3 สายพันธุ์ได้แก่ V2106, V1946 และ V2075 มี TDM, biomass และ LAI สูงเช่นกัน (ตารางที่ 4) จากการศึกษาของ Sadeghipour (2009) และ Khan et al.

(2001) พบว่าผลผลิตมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับ biomass เช่นเดียวกับการทดลองนี้ นอกจากนี้ผลการทดลองนี้ยังได้รับการสนับสนุนจากผลการศึกษาของ Zhang (1995) ซึ่งพบว่าผลผลิตมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับ TDM สูงมาก ($r_p = 0.850^{**}$) ลักษณะจำนวนกิ่งต่อต้น ($r_p = 0.230^*$, $r_g = 0.259$) มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ และสายพันธุ์ที่มีจำนวนกิ่งต่อต้นสูงที่สุด 3 อันดับแรกได้แก่ V2106, V3495 และ V2075 (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตาม ผลผลิตไม่มีสหสัมพันธ์กับน้ำหนัก 100 เมล็ด ความสูง ความยาวฝัก และวันดอกแรกบาน แต่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับวันฝักแรกสุก ($r_p = -0.244^*$, $r_g = -0.290$; ตารางที่ 3)

ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตเหล่านี้ได้รับการสนับสนุนจากผลการศึกษาของกลุ่มนักวิจัยหลายกลุ่ม เช่น Khan et al. (2001) ได้ศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต พบว่าผลผลิตมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับจำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อต้น และ biomass และพบว่าผลผลิตไม่มีสหสัมพันธ์กับวันดอกบาน 50 % และความยาวฝัก ซึ่งให้ผลการทดลองคล้ายกับการศึกษาในครั้งนี้ ส่วน Makeen et al. (2007) ได้ทำการประเมินสหสัมพันธ์ของหลายลักษณะในถั่วเขียว 20 สายพันธุ์ พบว่าลักษณะจำนวนฝักต่อต้น จำนวนช่อต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝักมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบสหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับน้ำหนัก 100 เมล็ด ความสูง ความยาวฝัก วันดอกแรกบานและวันฝักแรกสุกด้วย ในขณะที่การศึกษานี้พบว่าลักษณะเหล่านี้ไม่มีสหสัมพันธ์หรือมีสหสัมพันธ์ทางลบกับผลผลิต และผลการศึกษาในครั้งนี้ยังคล้ายกับการทดลองของ Zhang (1995) ซึ่งพบว่าผลผลิตมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับจำนวนช่อต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และ TDM ในถั่วเขียว 21 สายพันธุ์ อย่างไรก็ตาม นักวิจัยกลุ่มนี้พบสหสัมพันธ์ทางบวกระหว่างผลผลิตและวันดอกแรกบาน วันฝักแรกสุก ความสูง ความยาวฝัก และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดด้วย Hakim (2008) ศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับองค์ประกอบผลผลิต 9 ลักษณะ ในถั่วเขียว 350 สายพันธุ์ พบว่าจำนวนฝักต่อต้น และความสูงมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิต แต่ลักษณะขนาดเมล็ดมีสหสัมพันธ์ทางลบกับผลผลิต ในขณะที่การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต 12 ลักษณะ ของถั่วเขียว 240 พันธุ์/สายพันธุ์ พบว่าจำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวนช่อต่อต้น ความสูงและขนาดเมล็ดมีสหสัมพันธ์กับผลผลิตสูงมาก (Shamsuzzaman et al., 1983) ซึ่งการทดลองดังกล่าวให้ผลสอดคล้องกับ Singh and Singh (1973), Verma and Sandha (1988), Satyan et al. (1989), Poehlman (1991), Pundir et al. (1992), Jan et al. (1993) และ Naidu (1993) สำหรับในประเทศไทย ไพศาล เหล่าสุวรรณ (2543) พบว่า ผลผลิตมีสหสัมพันธ์กับลักษณะขนาดเมล็ด จำนวนฝักต่อต้น และดัชนีเก็บเกี่ยว และแนะนำว่าลักษณะทั้งสามนี้สามารถใช้เป็นดัชนีในการคัดเลือกถั่วเขียวผลผลิตสูง

จากงานวิจัยที่กล่าวมาแล้วทั้งหมดและงานวิจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยสรุปพบสหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับจำนวนฝักต่อต้น จำนวนช่อต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ในขณะที่ความสัมพันธ์

ระหว่างผลผลิตกับลักษณะน้ำหนักราก 100 เมล็ด วันดอกแรกบาน ความสูง ความยาวฝัก และวันฝักแรกสุกจะให้ผลที่แตกต่างกันไปในแต่ละการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องจากพันธุ์/สายพันธุ์ของถั่วเขียว (ยีนไทย) และสภาพแวดล้อมที่ใช้ในแต่ละการทดลองมีความแตกต่างกัน (Singh and Singh, 1973; Shamsuzzaman et al., 1983; Khan 1988; Verma and Sandha, 1988; Satyan et al., 1989; Poehlman, 1991; Chaudhary, 1992; Jan et al., 1993; Naidu and Rosaiah, 1993; Sharma, 1999; Amanullah and Hatam, 2000; Khan et al., 2001; Biradar, 2007; Makeen et al., 2007) นอกจากนี้ นักวิจัยหลายกลุ่ม พบว่าลักษณะจำนวนเมล็ดต่อต้นเป็นลักษณะที่มีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อเพิ่มผลผลิตถั่วเขียว (Singh and Singh, 1973; Shamsuzzaman et al., 1983; Khan, 1988; Verma and Sandha, 1988; Satyan et al., 1989; Chaudhary, 1992; Jan et al., 1993; Naidu, 1993; Zhang, 1995; Amanullah and Hatam, 2000; Khan et al., 2001; Biradar, 2007; Makeen et al., 2007; Hakim, 2008)

ลักษณะที่เกี่ยวข้องผลผลิตเหล่านี้บางลักษณะมีสหสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน เช่น จำนวนช่อดอต้นมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับลักษณะจำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อต้น และจำนวนฝักต่อต้น ผลการทดลองนี้คล้ายกับการทดลองของ Zubair (1985), Zubair and Srinives (1986), Chaudhary (1992), Khattak et al. (1995) และ Zhang (1995) ซึ่งพบว่าจำนวนช่อดอต้นมีสหสัมพันธ์กับจำนวนกิ่งต่อต้นและจำนวนฝักต่อต้น นอกจากนี้การทดลองนี้ยังพบว่า ลักษณะจำนวนช่อดอต้นมีสหสัมพันธ์ทางลบกับความยาวฝักและน้ำหนักราก 100 เมล็ด ซึ่งให้ผลคล้ายกับการทดลองของ Biradar (2007) และ Zubair and Srinives (1986)

การศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่า จำนวนฝักต่อต้นมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับจำนวนเมล็ดต่อต้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม จำนวนฝักต่อต้นมีสหสัมพันธ์ทางลบกับความยาวฝัก และน้ำหนักราก 100 เมล็ด ซึ่งให้ผลคล้ายกับการศึกษาของ Sandhu et al. (1979), Zhihui (1999) และ Hakim (2008) ในขณะที่การทดลองของอุษา เพื่อนกลางและไพศาล เหล่าสุวรรณ (2543) พบว่าจำนวนฝักต่อต้นมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับขนาดเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญ

ลักษณะวันดอกแรกบาน มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับวันฝักแรกสุก จำนวนกิ่งต่อต้น ความสูงและ LAI บ่งชี้ว่าการเลือกพันธุ์/สายพันธุ์ที่สุกแก่เร็ว อาจทำให้จำนวนกิ่งต่อต้น ความสูงและ LAI ลดน้อยลง อย่างไรก็ตาม ลักษณะวันดอกแรกบานไม่มีสหสัมพันธ์กับผลผลิต ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของอุษา เพื่อนกลางและไพศาล เหล่าสุวรรณ (2543) ที่พบว่าลักษณะวันดอกแรกบานไม่มีสหสัมพันธ์กับผลผลิต นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะวันดอกแรกบานมีสหสัมพันธ์ทางลบกับลักษณะขนาดเมล็ด และน้ำหนักรากต่อต้นอีกด้วย และ Khattak et al. (1995) ซึ่งพบว่าจำนวนเมล็ดต่อต้นมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับ 6 ลักษณะ โดยมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับ 4 ลักษณะ คือจำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนช่อดอต้น จำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ในขณะที่จำนวนเมล็ดต่อต้นมีสหสัมพันธ์ทางลบกับ 2 ลักษณะ คือความยาวฝักและน้ำหนักราก 100 เมล็ด

ลักษณะจำนวนกิ่งต่อต้นมีสหสัมพันธ์ทางบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ 10 ลักษณะ แต่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับลักษณะความยาวฝัก และน้ำหนัก 100 เมล็ด ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของนักวิจัยหลายกลุ่ม ซึ่งรายงานว่าจำนวนกิ่งต่อต้นมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับวันดอกแรกบาน (Francisco and Maeda, 1989; Khattak et al., 1995) จำนวนข้อต่อต้น (Zubair and Srinives, 1986; Biradar, 2007) ความสูงและจำนวนเมล็ดต่อฝัก (Biradar, 2007) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าจำนวนกิ่งต่อต้นมีสหสัมพันธ์ทางลบกับน้ำหนัก 100 เมล็ด (Khattak et al., 1995; Biradar, 2007)

ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝักมีสหสัมพันธ์ทางบวกอย่างมีนัยสำคัญกับลักษณะวันดอกแรกบาน จำนวนกิ่งต่อต้น ความยาวฝัก จำนวนเมล็ดต่อต้น ความสูง LAI, biomass และ TDM ซึ่งพบสหสัมพันธ์ที่คล้ายกันนี้ในการทดลองของ Zhang (1995) โดยพบว่าลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝักมีสหสัมพันธ์กับ TDM ความสูง ความยาวฝัก และน้ำหนัก 100 เมล็ด Zubair and Srinives (1986) และ Makeen et al. (2007) พบสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเมล็ดต่อฝักกับจำนวนกิ่งต่อต้นและความยาวฝักเช่นกัน นอกจากนี้ Chaudary (1992) ยังพบสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเมล็ดต่อฝักกับความยาวฝัก จำนวนข้อต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด

ลักษณะของความยาวฝักมีสหสัมพันธ์กับ 7 ลักษณะ โดยพบว่ามีสหสัมพันธ์ทางบวกกับจำนวนเมล็ดต่อฝัก น้ำหนัก 100 เมล็ด และ biomass ในขณะที่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับจำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนข้อต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อต้น ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้คล้ายกับผลการศึกษาของ Chaudhary (1992) และ Biradar (2007) ซึ่งพบว่าความยาวฝักมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝัก นอกจากนี้ยังพบสหสัมพันธ์ทางลบระหว่างความยาวฝักกับจำนวนข้อต่อต้น ในการศึกษาของ Zubair and Srinives (1986) ด้วย

ลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ดมีสหสัมพันธ์กับ 7 ลักษณะ โดยมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับความยาวฝักเพียงลักษณะเดียว ในขณะที่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับอีก 6 ลักษณะ ได้แก่ วันดอกแรกบาน วันฝักแรกสุก จำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนข้อต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อต้น ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Raje and Rao (2000) และ Biradar (2007) ซึ่งพบว่าน้ำหนัก 100 เมล็ดมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับความยาวฝัก แต่มีสหสัมพันธ์ทางลบกับจำนวนข้อต่อต้น จำนวนกิ่งต่อต้น และวันดอกแรกบาน ในทางตรงกันข้าม Chaudhary (1992) พบว่าลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ดมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับความสูง จำนวนข้อต่อต้น และจำนวนฝักต่อต้น

ในการทดลองนี้พบสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสรีรวิทยา เช่น สหสัมพันธ์ระหว่าง biomass กับ TDM, biomass กับความสูง และ biomass กับ LAI ฯลฯ ผลการทดลองนี้แสดงว่าการคัดเลือกลักษณะใดลักษณะหนึ่งจะส่งผลกระทบต่ออีก 3 ลักษณะ นอกจากนี้ยังพบสหสัมพันธ์ทางบวกระหว่างลักษณะ biomass กับความยาวฝัก และ biomass กับจำนวนเมล็ดต่อฝัก ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Sadeghipour (2009) ที่พบว่า biomass มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับความสูง ดังนั้น

การมีสหสัมพันธ์ทางบวกระหว่าง biomass กับผลผลิตและลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตอื่นๆ แสดงว่าการเพิ่มขึ้นของ biomass จะส่งผลให้ผลผลิตสูงขึ้น หรือกล่าวได้อีกนัยหนึ่งว่าพืชที่มีต้นใหญ่จะให้ผลผลิตสูงกว่าต้นเล็ก

นอกจากนี้ยังพบสหสัมพันธ์ทางบวกระหว่าง LAI กับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตอีกหลายลักษณะ เช่น วันดอกแรกบาน วันฝักแรกสุก จำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนช่อต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝัก และพบว่า TDM มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับจำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนช่อต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝักคล้ายกับการทดลองของ Zhang (1995) ซึ่งพบว่าลักษณะ TDM มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับจำนวนช่อต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝัก

ลักษณะความสูงมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับวันดอกแรกบาน วันฝักแรกสุก จำนวนกิ่งต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างความสูงกับวันฝักแรกสุกนี้พบในหลายการทดลองที่ผ่านมา (Khalli et al., 1986; Amanullah and Hatam, 2000; Makeen et al., 2007 และ อุษา เพื่อนกลาง และ ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2543) นอกจากนี้ Biradar (2007) ยังพบสหสัมพันธ์ระหว่างความสูงกับจำนวนกิ่งต่อต้น ในขณะที่การศึกษาของอุษา เพื่อนกลางและไพศาล เหล่าสุวรรณ (2543) พบว่าความสูงมีสหสัมพันธ์ทางลบกับลักษณะผลผลิต จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น วันดอกแรกบานและฝักแรกสุก

การวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทาง (path coefficient analysis)

ทำการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทางเพื่อให้เข้าใจผลการศึกษาศักยภาพของสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อย่างละเอียดและชัดเจน โดยใช้ข้อมูลจากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ทางยีนไทป์และฟีโนไทป์ (ตารางที่ 3) เลือกเฉพาะค่าสหสัมพันธ์ทางยีนไทป์ระหว่างผลผลิตกับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตทั้ง 9 ลักษณะ จากผลการทดลองพบว่า ลักษณะจำนวนช่อต่อต้น (0.780) มีอิทธิพลทางตรงต่อผลผลิตสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ น้ำหนัก 100 เมล็ด (0.582) จำนวนเมล็ดต่อฝัก (0.562) TDM (0.497) และจำนวนฝักต่อต้น (0.259; ตารางที่ 5) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาจากนักวิจัยหลายกลุ่มที่พบลักษณะที่มีอิทธิพลทางตรงต่อผลผลิตเหล่านี้เช่นกัน (Zubair, 1985; Zubair and Srinives, 1986; Chaudhary, 1992; Khattak et al., 1995; Biradar, 2007; Makeen et al., 2007; Hakim, 2008) จากการศึกษาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์นั้น พบว่าผลผลิตมีสหสัมพันธ์ทางบวกอย่างมีนัยสำคัญกับลักษณะจำนวนช่อต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก TDM และจำนวนฝักต่อต้น (ตารางที่ 3) ซึ่งลักษณะเหล่านี้ให้ค่าอิทธิพลทางตรงต่อผลผลิตเท่ากับ 0.780, 0.562, 0.497 และ 0.259 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ผลการศึกษาเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าสายพันธุ์ถั่วเขียวที่ให้ผลผลิตสูงควรมีลักษณะต้นใหญ่ จำนวนช่อต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝักและจำนวนฝักต่อต้นสูง การคัดเลือกผ่านลักษณะเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพสูง ถึงแม้ว่าลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ด (0.582) มีอิทธิพลทางตรงต่อผลผลิตเช่นกัน

แต่ลักษณะนี้ถูกหักล้างโดยอิทธิพลทางอ้อมแบบลบจากลักษณะจำนวนช่อดอต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และจำนวนฝักต่อต้น ซึ่งลักษณะเหล่านี้มีอิทธิพลทางตรงกับผลผลิตสูงที่สุด 1, 2 และ 4 อันดับแรก ตามลำดับ จึงทำให้ลักษณะนี้มีสหสัมพันธ์กับผลผลิตต่ำมาก ($r_p = 0.071$) ในกรณีเช่นนี้ การคัดเลือกเมล็ดขนาดใหญ่ ร่วมกับต้นที่ให้จำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวนช่อดอต้น และจำนวนฝักต่อต้น ปานกลาง อาจทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นได้เช่นกัน

ผลผลิตมีสหสัมพันธ์กับ biomass ($r_p = 0.347^{**}$, $r_g = 0.477$) จำนวนเมล็ดต่อต้น ($r_p = 0.457^{**}$, $r_g = 0.684$) และ LAI ($r_p = 0.321^{**}$, $r_g = 0.431$) แต่ทั้งสามลักษณะนี้มีอิทธิพลทางตรงแบบลบต่อผลผลิต (-0.241, -0.159 และ -0.156 ตามลำดับ) (ตารางที่ 5) ดังนั้นการคัดเลือกทางตรงผ่านลักษณะ biomass จำนวนเมล็ดต่อต้น และ LAI จึงไม่มีประสิทธิภาพในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง โดยสรุปการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง ควรคัดเลือกจากลักษณะที่มีอิทธิพลทางตรงกับผลผลิตสูง ได้แก่ จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวนช่อดอต้น และ TDM โดยคัดเลือกลักษณะต้นใหญ่และมีจำนวนช่อดอต้น จำนวนเมล็ดต่อฝักและจำนวนฝักต่อต้นสูง ซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Makeen et al. (2007) ที่บ่งชี้ว่าจำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝักเป็นองค์ประกอบหลักของผลผลิตในถั่วเขียว

ในการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และสัมประสิทธิ์เส้นทางในถั่วเขียวของ Malhotra et al. (1974) พบความสัมพันธ์ในระดับสูงระหว่างผลผลิตกับจำนวนช่อดอต้น และระหว่างผลผลิตกับจำนวนฝักต่อต้น โดยทั้งสองลักษณะนี้มีอิทธิพลทางตรงแบบบวกสูงต่อผลผลิต และการศึกษาของ Khattak et al. (1995) ในถั่วเขียวผลผลิตสูง 10 พันธุ์/สายพันธุ์ พบว่าลักษณะจำนวนช่อดอต้นไม่มีสหสัมพันธ์กับผลผลิต แต่ขนาดเมล็ดเป็นดัชนีที่ดีที่สุดที่ใช้ในการคัดเลือกถั่วเขียวผลผลิตสูง ถึงแม้ว่าการศึกษานี้พบว่าลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ดมีอิทธิพลทางตรงต่อผลผลิต แต่ผลของลักษณะนี้ถูกหักล้างด้วยอิทธิพลทางอ้อมแบบลบจากลักษณะจำนวนฝักต่อต้น จำนวนช่อดอต้นและเมล็ดต่อฝัก การส่งผลหักล้างกันระหว่างน้ำหนัก 100 เมล็ดกับจำนวนฝักต่อต้นและจำนวนช่อดอต้นนี้ พบในการศึกษาของนักวิจัยหลายกลุ่มเช่นกัน (Singh and Malhotra, 1970; Zubair and Srinives, 1986; Khattak et al., 1995; Biradar, 2007; Hakim, 2008) ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตที่แตกต่างกันของนักวิจัยหลายกลุ่มนั้น อาจเนื่องจากผลการวิเคราะห์สหสัมพันธ์และการวิเคราะห์เส้นทางผันแปรไปตามพันธุกรรมของประชากรพืชและปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่ใช้ศึกษา ซึ่งต่างส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของประชากรพืชที่ศึกษาทั้งสิ้น ทำให้ผลการวิเคราะห์ข้อมูลแตกต่างกัน

ค่าสหสัมพันธ์ในไทป์ส่วนมากจะสูงกว่าค่าสหสัมพันธ์ฟีโนไทป์ เนื่องจากดัดอิทธิพลของสภาพแวดล้อมออก ดังนั้นการนำค่าสหสัมพันธ์ในไทป์มาใช้ในการวิเคราะห์เส้นทางจะทำให้ได้ผลการทดลองที่แม่นยำ เนื่องจากเป็นค่าความสัมพันธ์ที่เกิดจากผลของยีนเท่านั้น จากผลการ

วิเคราะห์สหสัมพันธ์ทางฟีโนไทป์ พบว่าลักษณะที่ให้ค่าสูงสุด 5 อันดับแรกได้แก่ จำนวนฝักต่อต้น ($r_p = 0.622^{**}$) จำนวนช่อต่อต้น ($r_p = 0.529^{**}$) TDM ($r_p = 0.518^{**}$) จำนวนเมล็ดต่อฝัก ($r_p = 0.477^{**}$) และจำนวนเมล็ดต่อต้น ($r_p = 0.457^{**}$) ตามลำดับ ซึ่งค่าสหสัมพันธ์เหล่านี้จะมีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย ถ้าตัดอิทธิพลของสภาพแวดล้อมออก จะพบว่าลักษณะดังกล่าว ยังคงให้สหสัมพันธ์ทางฟีโนไทป์กับผลผลิตสูงสุด 5 อันดับแรก แต่มีการเรียงลำดับต่างไปจากเดิม คือ TDM ($r_g = 0.702$) จำนวนเมล็ดต่อต้น ($r_g = 0.684$) จำนวนช่อต่อต้น ($r_g = 0.601$) จำนวนฝักต่อต้น ($r_g = 0.599$) และ จำนวนเมล็ดต่อฝัก ($r_g = 0.526$)

เมื่อนำค่าสหสัมพันธ์ฟีโนไทป์มาวิเคราะห์สัมประสิทธิ์เส้นทางเพื่อแยกผลของสหสัมพันธ์ออกเป็นอิทธิพลทางตรงและทางอ้อม พบว่าลักษณะที่ให้อิทธิพลทางตรงต่อผลผลิตสูงได้แก่ จำนวนช่อต่อต้น (0.780) จำนวนเมล็ดต่อฝัก (0.562) TDM (0.497) และ จำนวนฝักต่อต้น (0.259) ซึ่งทั้งสี่ลักษณะนี้มีค่าสหสัมพันธ์ฟีโนไทป์เท่ากับ 0.601, 0.526, 0.702 และ 0.599 ตามลำดับ โดยลักษณะจำนวนช่อต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และ TDM ซึ่งมีค่าสูงใกล้เคียงกับค่าอิทธิพลทางตรง แสดงให้เห็นว่าลักษณะทั้ง 3 นี้มีสหสัมพันธ์ที่แท้จริงกับผลผลิต และสามารถใช้เป็นดัชนีในการคัดเลือกถั่วเขียวผลผลิตสูงได้ (ไพศาล เหล่าสุวรรณ และปิยะดา ทิพย์พ่อง, 2550) อย่างไรก็ตาม ลักษณะจำนวนฝักต่อต้นเป็นลักษณะที่มีสหสัมพันธ์ทางบวกและอิทธิพลทางตรงสูงต่อผลผลิต จึงอาจใช้ลักษณะนี้เป็นดัชนีในการคัดเลือกถั่วเขียวผลผลิตสูงด้วยเช่นกัน

ค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้างนั้นเป็นการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่เกิดจากการแสดงออกของยีนทุกรูปแบบ ซึ่งถ้ามีค่าสูงแสดงว่าความแปรปรวนทั้งหมดเกิดจากผลของยีนสูง และมีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องน้อย ดังนั้นลักษณะที่ให้อัตราพันธุกรรมแบบกว้างมากกว่า 50% ได้แก่ วันดอกแรกบาน (94.41%) ความยาวฝัก (94.07%) น้ำหนัก 100 เมล็ด (79.17%) ความสูง (77.33%) จำนวนเมล็ดต่อฝัก (76.49%) จำนวนเมล็ดต่อต้น (74.48%) จำนวนฝักต่อต้น (62.95%) และจำนวนกิ่งต่อต้น (59.57%) จึงเป็นลักษณะที่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้สูง และมีผลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องน้อยในประชากรที่ใช้ศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Siddique et al. (2006), Makeen et al. (2007) และ Shiphadet et al. (2007) ในขณะที่อัตราพันธุกรรมของลักษณะทางสรีรวิทยาทั้ง 3 ลักษณะได้แก่ biomass, TDM และ LAI มีค่าต่ำกว่า 50% บ่งชี้ว่าลักษณะเหล่านี้ได้รับอิทธิพลจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อมหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้องกับการแสดงออก

ตารางที่ 2 ค่ามโนสแควร์ (MSE) สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation) ช่วงข้อมูล (range) ค่าเฉลี่ย (mean) และอัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (broad sense heritability) ของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยา 14 ลักษณะในถั่วเขียว 58 พันธุ์/สายพันธุ์

ลักษณะ	MSE			Coefficient of variation (%)			Range	Mean	h^2_b (%)
	Block	Treatment	Error	Environmental	Genotypic	Phenotypic	Min - Max		
ผลผลิต (กก./ไร่)	174430.94**	21089.63**	7144.72	25.92	18.11	31.62	152.8 – 508.2	326.1	32.79
วันดอกแรกบาน	9.32**	43.17**	0.63	1.94	7.96	8.19	33.8 - 52.3	41.0	94.41
วันฝักแรกสุก	19.07**	63.06**	4.90	3.82	6.57	7.60	51.3 - 71.0	58.0	74.80
จำนวนกิ่งต่อต้น	1.96**	1.16**	0.17	14.64	17.77	23.02	1.8 - 4.3	2.8	59.57
จำนวนช่อต่อต้น	37.44**	14.57**	3.18	20.27	19.18	27.91	5.3 - 13.8	8.8	47.26
จำนวนฝักต่อต้น	1188.65**	248.00**	31.81	23.90	31.15	40.29	12.2 - 49.2	23.6	62.95
ความยาวฝัก (ซม.)	0.49**	5.80**	0.90	3.70	14.75	15.21	5.0 - 10.5	8.1	94.07
จำนวนเมล็ดต่อฝัก	0.36ns	4.93**	0.35	5.99	10.81	12.36	6.1 - 11.6	9.9	76.49
จำนวนเมล็ดต่อต้น	56362.14**	32262.77**	2545.94	25.05	42.80	49.59	82.6 - 597.0	201.4	74.48
น้ำหนัก 100 เมล็ด (ก.)	1.22*	5.62**	0.35	11.33	11.26	12.65	2.4 - 7.6	5.2	79.17
ความสูง (ซม.)	65.13*	267.99**	18.30	8.99	16.60	18.88	30.7 - 62.2	47.6	77.33
LAI	7.06**	1.87**	0.56	31.04	23.88	39.16	1.2 - 4.0	2.4	37.18
Biomass (ก.)	4532.39**	1532.85**	400.64	25.76	21.65	33.65	31.3 - 119.7	77.7	41.40
TDM (ก.)	493.81**	73.43**	24.29	22.82	16.23	27.99	12.0 - 31.9	21.6	33.59

***, ns = ความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, 0.05 และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ตามลำดับ

h^2_b = อัตราพันธุกรรมแบบกว้าง, LAI = leaf area index (ดัชนีพื้นที่ใบ), Biomass = น้ำหนักสดชีวมวล, TDM = total dry matter (น้ำหนักแห้งมวลรวม)

Environmental coefficient of variation = สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางสภาพแวดล้อม, Genotypic coefficient of variation = สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางยีน โทไพ

Phenotypic coefficient of variation = สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทางฟีโนไทป์

ตารางที่ 3 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ทางฟีโนไทป์ (r_p) และอีโนไทป์ (r_e) ของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยา 14 ลักษณะในถั่วเขียว 58 พันธุ์/สายพันธุ์

ลักษณะ	วันดอกแรกบาน	วันฝักแรกสุก	จำนวนกิ่งต่อต้น	จำนวนข้อต่อต้น	จำนวนฝักต่อต้น	ความยาวฝัก	จำนวนเมล็ดต่อฝัก	จำนวนเมล็ดต่อต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด	ความสูง	LAI	Biomass	TDM
ผลผลิต	-0.101 ns (-0.131)	-0.244 * (-0.29)	0.230 * (0.259)	0.529 ** (0.601)	0.622 ** (0.599)	0.13 ns (-0.026)	0.477 ** (0.526)	0.457 ** (0.684)	0.071 ns (0.007)	0.101 ns (0.092)	0.321 ** (0.431)	0.347 ** (0.477)	0.518 ** (0.702)
วันดอกแรกบาน		0.723 ** (0.756)	0.498 ** (0.539)	0.163 ns (0.136)	0.136 ns (0.143)	-0.162 ns (-0.167)	0.233 * (0.243)	0.098 ns (0.194)	-0.445 ** (-0.474)	0.516 ** (0.538)	0.421 ** (0.495)	0.152 ns (0.175)	-0.011 ns (-0.024)
วันฝักแรกสุก			0.391 ** (0.435)	0.054 ns (0.047)	-0.032 ns (-0.020)	-0.127 ns (-0.138)	0.002 ns (0.006)	0.077 ns (-0.041)	-0.278 * (-0.303)	0.587 ** (0.636)	0.420 ** (0.526)	0.286 * (0.355)	0.058 ns (0.086)
จำนวนกิ่งต่อต้น				0.631 ** (0.714)	0.520 ** (0.595)	-0.300 * (-0.337)	0.233 * (0.235)	0.228 ** (0.574)	-0.469 ** (-0.525)	0.477 ** (0.522)	0.607** (0.789)	0.314 ** (0.385)	0.255 * (0.301)
จำนวนข้อต่อต้น					0.859 ** (0.973)	-0.598 ** (-0.694)	0.172 ns (0.194)	0.564 ** (0.848)	-0.526 ** (-0.645)	0.173 ns (0.167)	0.222 * (0.284)	0.157 ns (0.131)	0.271 * (0.266)
จำนวนฝักต่อต้น						-0.652 ** (-0.717)	0.243 ns (0.235)	0.640 ** (0.936)	-0.609** (-0.702)	0.114 ns (0.111)	0.216 ns (0.267)	0.079 ns (0.097)	0.245 ns (0.288)
ความยาวฝัก							0.325 ** (0.313)	-0.427 ** (-0.483)	0.678 ** (0.692)	0.183 ns (0.183)	0.158 ns (0.183)	0.365 ** (0.420)	0.208 ns (0.239)
จำนวนเมล็ดต่อฝัก								0.400 ** (0.518)	-0.214 ns (-0.224)	0.470 ** (0.497)	0.498 ** (0.571)	0.388** (0.458)	0.328 ** (0.387)
จำนวนเมล็ดต่อต้น									-0.578 ** (-0.661)	0.133 ns (0.239)	0.105 ns (0.146)	0.025 ns (0.205)	0.079 ns (0.350)
น้ำหนัก 100 เมล็ด										-0.209 ns (-0.240)	-0.065 ns (-0.076)	0.154 ns (0.181)	0.182 ns (0.199)
ความสูง											0.730 ** (0.89)	0.718 ** (0.850)	0.478 ** (0.559)
LAI												0.640 ** (0.837)	0.498 ** (0.684)
Biomass													0.840 ** (0.880)

** , * , ns = ความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, 0.05 และ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติตามลำดับ

ค่าในวงเล็บ = สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ทางอีโนไทป์, LAI = leaf area index (ดัชนีพื้นที่ใบ), Biomass = น้ำหนักสดชีวมวล, TDM = total dry matter (น้ำหนักแห้งมวลรวม)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยา 14 ลักษณะ ของถั่วเขียว 15 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่ให้ผลผลิตสูง

ลักษณะ สายพันธุ์/ พันธุ์	ผลผลิต (กก./ไร่)	วันดอก แรกบาน	วันฝัก แรกสุก	จำนวนกิ่ง ต่อต้น	จำนวนข้อ ต่อต้น	จำนวนฝัก ต่อต้น	ความยาวฝัก (ซม.)	จำนวนเมล็ด ต่อฝัก	จำนวนเมล็ด ต่อต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด (ก.)	ความสูง (ซม.)	LAI	Biomass (ก.)	TDM (ก.)
V2106	508.2	44	54	4.3	13.4	49.2	7.2	11.5	597.0	4.2	56.3	3.8	103.6	30.0
V4785	503.2	40	54	2.9	11.3	37.8	7.3	11.3	396.7	3.9	50.1	2.8	77.8	22.5
V4758	495.0	41	55	2.6	10.6	40.4	7.5	11.6	405.6	4.0	48.8	1.6	97.2	27.3
KPS2	450.4	39	54	2.0	7.1	20.5	9.6	11.2	210.9	6.7	41.2	2.2	58.5	18.6
V1946	434.9	37	53	2.5	8.3	20.0	9.9	10.2	168.5	7.6	40.2	2.3	109.8	31.9
SUT5	417.6	40	54	2.7	10.5	34.0	7.1	10.5	321.6	4.1	39.8	2.1	72.1	22.8
V1380	416.1	43	60	2.6	8.0	19.1	9.7	10.3	172.4	6.6	52.7	2.4	82.7	22.7
V4956	413.2	43	60	3.1	12.5	34.5	6.9	10.3	312.4	4.1	47.2	2.0	74.0	22.8
KAB4	381.3	39	59	2.8	13.0	33.6	5.0	6.1	171.5	6.6	34.7	1.8	71.4	21.4
V4451	377.7	40	59	2.6	10.0	30.6	7.1	11.5	322.6	3.7	50.0	2.3	64.7	17.0
V2075	374.1	49	62	4.0	10.1	29.1	8.2	10.7	246.1	4.5	59.3	4.0	98.0	22.8
V3384	371.9	43	59	3.3	10.2	25.5	7.9	10.9	230.0	5.1	48.1	2.9	85.7	24.5
V3495	366.7	36	58	4.1	13.8	37.8	7.4	9.9	341.9	3.5	50.1	2.9	76.0	20.4
KPS1	361.0	40	58	2.8	9.0	21.1	8.8	9.6	169.6	6.3	52.8	2.6	93.7	25.9
V4535	360.7	42	61	2.7	8.4	22.1	8.7	10.0	187.4	5.4	46.6	2.3	72.0	20.0

LAI = leaf area index (ดัชนีพื้นที่ใบ), Biomass = น้ำหนักสดชีวมวล, TDM = total dry matter (น้ำหนักแห้งมวลรวม)

ตารางที่ 5 อิทธิพลทางตรงและทางอ้อมของลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยา 9 ลักษณะ ของถั่วเขียว 58 พันธุ์/สายพันธุ์

อิทธิพลของผลผลิตผ่าน ลักษณะ	จำนวนกิ่ง ต่อต้น	จำนวนข้อ ต่อต้น	จำนวนฝัก ต่อต้น	จำนวนเมล็ด ต่อฝัก	จำนวนเมล็ด ต่อต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด	Biomass	LAI	TDM	สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์
จำนวนกิ่งต่อต้น	<u>-0.121</u>	0.557	0.154	0.132	-0.091	-0.306	-0.093	-0.123	0.150	0.259
จำนวนข้อต่อต้น	-0.086	<u>0.780</u>	0.252	0.109	-0.135	-0.375	-0.032	-0.044	0.132	0.601
จำนวนฝักต่อต้น	-0.072	0.758	<u>0.259</u>	0.132	-0.149	-0.409	-0.023	-0.042	0.143	0.599
จำนวนเมล็ดต่อฝัก	-0.028	0.151	0.061	<u>0.562</u>	-0.082	-0.130	-0.110	-0.089	0.192	0.526
จำนวนเมล็ดต่อต้น	-0.069	0.661	0.243	0.291	<u>-0.159</u>	-0.385	-0.049	-0.023	0.174	0.684
น้ำหนัก 100 เมล็ด	0.063	-0.503	-0.182	-0.126	0.105	<u>0.582</u>	-0.044	0.012	0.099	0.007
Biomass	-0.047	0.102	0.025	0.257	-0.033	0.105	<u>-0.241</u>	-0.131	0.438	0.477
LAI	-0.095	0.221	0.069	0.321	-0.023	-0.044	-0.201	<u>-0.156</u>	0.340	0.431
TDM	-0.036	0.207	0.075	0.217	-0.056	0.116	-0.212	-0.107	<u>0.497</u>	0.702

Biomass = น้ำหนักสดชีวมวล, LAI = leaf area index (ดัชนีพื้นที่ใบ), TDM = total dry matter (น้ำหนักแห้งมวลรวม)

ค่าที่ขีดเส้นใต้ = อิทธิพลทางตรงต่อผลผลิต; ค่าที่ไม่ได้ขีดเส้นใต้ = อิทธิพลทางอ้อมของลักษณะหนึ่ง ๆ ที่มีผลต่ออีกลักษณะหนึ่ง

4.2 การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยา

ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต 7 ลักษณะในประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ของ 12 คู่ผสม แสดงไว้ในตารางที่ 6

ค่าเฉลี่ย วาเรียนซ์ และการกระจายตัวของลักษณะ TDM จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อฝัก ความยาวฝัก และความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ. ซม. ในประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 แสดงไว้ในตารางที่ 7-18

ลักษณะ TDM ในทั้ง 2 คู่ผสม (CN60 x V1946 และ SUT4 x M5-1) พบว่ามีการกระจายตัวของต้นในประชากร F_2 บางต้นที่มีค่า TDM สูงกว่า P_2 (transgressive segregation) ซึ่งบ่งชี้ว่ามียีนที่ควบคุมลักษณะ TDM สูง (effective factor) กระจายตัวใน P_1 และ P_2 ของทั้ง 2 คู่ผสม ค่าเฉลี่ยของ F_1 ใน 2 คู่ผสม สูงกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อและแม่ (mid parent; MP) ซึ่งบ่งชี้ว่ายีนควบคุมลักษณะ TDM มีการแสดงออกแบบข่มบางส่วน (partial positive dominance) ค่าวาเรียนซ์ประชากรทั้ง 6 ประชากรในทั้ง 2 คู่ผสมเป็นไปตามทฤษฎี กล่าวคือ วาเรียนซ์ของประชากรที่มีการกระจายตัว (BC_1 , BC_2 และ F_2) มีค่าสูงกว่าประชากรสายพันธุ์แท้ (P_1 , P_2 และ F_1) และวาเรียนซ์ประชากร F_2 สูงกว่าประชากร BC_1 และ BC_2 (ตารางที่ 7 และ 8)

ลักษณะจำนวนฝักต่อต้นพบว่า ทั้ง 2 คู่ผสม CN60 x V4758 และ SUT2 x V4758 มีการกระจายตัวของประชากร F_2 ส่วนมากให้อายุระหว่าง P_1 และ P_2 และพบบางต้นมีจำนวนฝักต่อต้นสูงกว่า P_2 (ตารางที่ 9 และ 10) สำหรับค่าเฉลี่ยของประชากร F_1 พบว่า สูงกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อและแม่ (mid parent; MP) ในทั้ง 2 คู่ผสม ซึ่งบ่งชี้ว่ายีนควบคุมลักษณะนี้ เป็นแบบข่มบางส่วน (partial positive dominance) ค่าวาเรียนซ์ประชากรทั้ง 6 ประชากรในทั้ง 2 คู่ผสมเป็นไปตามทฤษฎี (ตารางที่ 9 และ 10)

ลักษณะน้ำหนักเมล็ดต่อต้น พบว่า ในคู่ผสม SUT2 x V4758 มีการกระจายตัวของต้น F_2 ทุกต้นอยู่ระหว่าง P_1 และ P_2 (ตารางที่ 11) สำหรับคู่ผสม CN60 x V1946 มีการกระจายตัวของต้น F_2 บางต้นให้ค่าน้อยกว่า P_1 และมากกว่า P_2 ซึ่งบ่งชี้ว่ายีนที่ควบคุมลักษณะน้ำหนักเมล็ดต่อต้นสูงและต่ำนั้น กระจายอยู่ในทั้ง CN60 และ V1946 และสำหรับค่าเฉลี่ยของประชากร F_1 พบว่า ค่าเฉลี่ยของ F_1 ใน 2 คู่ผสม สูงกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อและแม่ (mid parent; MP) ซึ่งบ่งชี้ว่ายีนควบคุมนี้เป็นแบบการข่มบางส่วน (partial positive dominance) (ตารางที่ 12) ค่าวาเรียนซ์ประชากรทั้ง 6 ประชากร ของคู่ผสม SUT2 x V4758 เป็นไปตามทฤษฎี ในขณะที่ในคู่ผสม CN60 x V1946 พบว่า วาเรียนซ์ของ F_1 สูงกว่า BC_1 และ BC_2 เล็กน้อย ($47.03 > 43.31$ และ 45.71 ตามลำดับ) ค่าวาเรียนซ์ประชากรทั้ง 6 ประชากรในทั้ง 2 คู่ผสมเป็นไปตามทฤษฎี (ตารางที่ 11 และ 12)

ลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ด พบว่า ในคู่ผสม SUT2 x V4758 มีการกระจายตัวของประชากร F_2 ส่วนมากให้อายุระหว่าง P_1 และ P_2 และพบบางต้นมีน้ำหนัก 100 เมล็ด สูงกว่า P_1 (ตารางที่ 13)

ค่าเฉลี่ยของ F_1 (5.53) สูงกว่าและใกล้เคียงกับค่า MP (5.33) ซึ่งบ่งชี้ว่ายีนควบคุมนี้เป็นแบบบวก (additive gene effect) สำหรับค่าวาเรียนซ์ พบว่าวาเรียนซ์ F_1 (0.60) สูงกว่า BC_1 (0.58) เล็กน้อย แต่น้อยกว่า BC_2 (0.62) และ F_2 (0.72) (ตารางที่ 13)

ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝัก พบว่าทั้ง 2 คู่ผสม SUT1 x V4785 และ SUT3 x V4451 มีการกระจายตัวของต้น F_2 ทุกต้นอยู่ระหว่าง P_1 และ P_2 (ตารางที่ 14 และ 15) ค่าเฉลี่ยของ F_1 สูงกว่าแต่ใกล้เคียงกับค่า MP ของคู่ผสม SUT1 x V4785 (11.00>10.68; ตารางที่ 14) และ SUT3 x V4451 (10.76>10.33; ตารางที่ 15) ซึ่งบ่งชี้ว่ายีนควบคุมนี้เป็นแบบบวก (additive gene effect) ค่าวาเรียนซ์ประชากรทั้ง 6 ประชากรในทั้ง 2 คู่ผสมเป็นไปตามทฤษฎี (ตารางที่ 14 และ 15)

ลักษณะความยาวฝัก พบว่า ในคู่ผสม CN60 x V1414AG มีการกระจายตัวของต้น F_2 ทุกต้นอยู่ระหว่าง P_1 และ P_2 ค่าเฉลี่ยของ F_1 สูงกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อและแม่ (mid parent; MP) ซึ่งบ่งชี้ว่ายีนควบคุมนี้เป็นแบบการข่มบางส่วน (partial positive dominance) ค่าวาเรียนซ์ประชากรทั้ง 6 ประชากรเป็นไปตามทฤษฎี (ตารางที่ 16)

ลักษณะความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. พบว่าในทั้ง 2 คู่ผสม (CN60 x V1414AG และ KPS1 x V1415AG) มีการกระจายตัวของต้น F_2 ทุกต้นอยู่ระหว่าง P_1 และ P_2 (ตารางที่ 17 และ 18) ค่าเฉลี่ยของ F_1 สูงกว่าค่า MP ของคู่ผสม CN60 x V1414AG (141>133; ตารางที่ 17) และ KPS1 x V1415AG (144>138; ตารางที่ 18) ซึ่งบ่งชี้ว่ายีนควบคุมนี้เป็นแบบข่มบางส่วน (partial positive dominance) ค่าวาเรียนซ์ประชากรทั้ง 6 ประชากรในทั้ง 2 คู่ผสมเป็นไปตามทฤษฎี (ตารางที่ 17 และ 18)

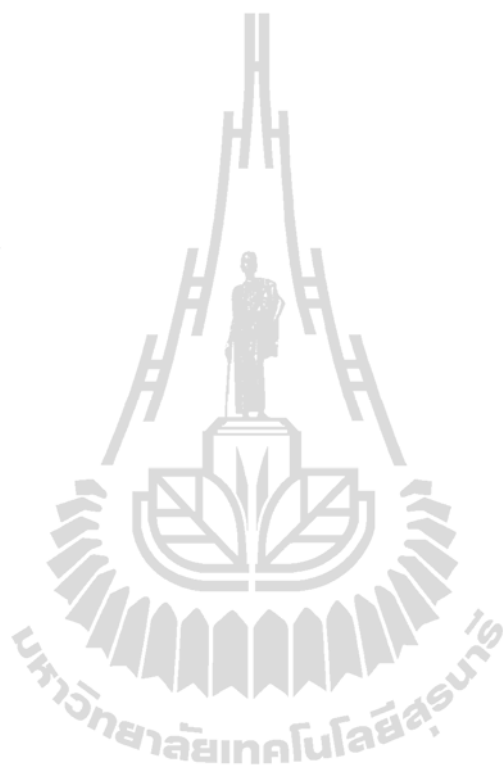
จากการทดลองนี้พบว่าลักษณะทั้งหมดถูกควบคุมด้วยยีนแบบข่มบางส่วน ยกเว้นลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ด และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ซึ่งอาจส่งผลให้มีความดีเด่น (heterosis) เกิดขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์พ่อแม่ที่นำมาผลิตคู่ผสมในการทดลองนี้ มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะที่ศึกษาสูง ซึ่งสายพันธุ์ที่ใช้เป็นพันธุ์พ่อ เป็นสายพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ขณะที่สายพันธุ์ M4-2 เป็นสายพันธุ์ที่ได้จากการชักนำให้เกิดกลายพันธุ์ ซึ่งทั้งการนำเข้าสายพันธุ์จากต่างประเทศ และการก่อกลายพันธุ์ ล้วนแล้วแต่เป็นวิธีที่เพิ่มความแปรปรวนในลักษณะของประชากรที่ศึกษาได้ มีการศึกษาความดีเด่นในถั่วเขียวอย่างแพร่หลาย เช่น Melquiades and Reyes (1990) ได้ศึกษา heterobeltiosis (% Hb) ในลักษณะทางพืชไร่ 7 ลักษณะ ได้แก่ความสูง จำนวนช่อต่อต้น จำนวนฝักต่อช่อ จำนวนเมล็ดต่อฝัก น้ำหนัก 1,000 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น และผลผลิต ของลูกผสมถั่วเขียว 10 คู่ผสม พบว่าทุกลักษณะ ยกเว้นจำนวนเมล็ดต่อฝักมี heterobeltiosis ต่อมา Khattak et al. (2002c) ศึกษาความดีเด่นของลูกผสมในลักษณะทางพืชไร่และผลผลิต โดยใช้วิธี half diallel cross ในถั่วเขียว 6 สายพันธุ์ พบว่า ลักษณะผลผลิตต่อต้น ดัชนีเก็บเกี่ยว จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนช่อต่อต้น ในคู่ผสมหลายคู่มี heterosis Chen et al.

(2003) ได้ทำการศึกษาความดีเด่นของลูกผสมถั่วเขียว [heterosis (% H) และ heterobeltiosis (% Hb)] จาก 3 ประเทศ ได้แก่ ไทย จีนและเกาหลีในลักษณะทางพืชไร่ต่าง ๆ ได้แก่ ความสูง จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักเมล็ดต่อต้น พบว่าในทุกลักษณะมีบางกลุ่มผสมที่ให้ค่า %H และ %Hb สูง แสดงให้เห็นว่าในพืชผสมตัวเอง ถ้าพ่อแม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมสูง ก็อาจทำให้ลูกผสมที่ได้มีความดีเด่นเกิดขึ้น Soehendi and Srinives (2005) ศึกษาความดีเด่นของลูกผสมถั่วเขียว จำนวน 4 กลุ่มผสม จาก 3 สายพันธุ์ พบว่าลูกผสมทั้ง 4 กลุ่ม มีความดีเด่นเหนือค่าเฉลี่ยของพ่อแม่และเหนือพ่อแม่ที่ดีที่สุด ในลักษณะความยาวฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก และความสูง และความสูงเป็นลักษณะเดียวที่มี heterobeltiosis

จากการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนตามวิธีการของ Gamble (1962) พบว่ายีนแบบข่มมีบทบาทสำคัญกว่าแบบบวกในลักษณะ TDM จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น และความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. และมีปฏิกริยาระหว่างยีนในทุกรูปแบบ ดังนั้น ในลักษณะเหล่านี้ผลของยีนที่ไม่ใช่แบบบวก (non additive effect) มีความสำคัญมากกว่าผลของยีนแบบบวก และทุกลักษณะมีอัตราพันธุกรรมทั้งแบบกว้างและแคบปานกลาง ยกเว้นลักษณะน้ำหนักเมล็ดต่อต้นซึ่งให้อัตราพันธุกรรมทั้ง 2 แบบต่ำ ดังนั้นการปรับปรุงลักษณะ TDM จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้นและความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. จึงควรชะลอการคัดเลือกรากออกไปในชั่วหลัง ๆ เนื่องจากมีการแสดงออกของยีนในทุกรูปแบบ และ epistasis เข้ามาเกี่ยวข้องทำให้การคัดเลือกในชั่วต้น ๆ ทำได้ยาก จึงควรรอให้มีการกระจายตัวของยีนในรูปแบบที่ให้ลักษณะดังกล่าวดีขึ้น ซึ่งมักจะเกิดขึ้นในชั่วหลัง ๆ นอกจากนี้การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวซึ่งเป็นพืชผสมตัวเองนั้น เน้นการผลิตสายพันธุ์แท้เป็นหลัก ในชั่วหลัง ๆ จะมีโอกาสได้ต้นที่มีลักษณะดังกล่าวดีและอยู่ในสภาพโฮโมไซกัสสูง ซึ่งวิธีปรับปรุงพันธุ์ที่เหมาะสมกับลักษณะเหล่านี้ ได้แก่การคัดเลือกแบบหนึ่งเมล็ดต่อต้น (single seed descent) และการคัดเลือกแบบเก็บรวม เนื่องจากวิธีเหล่านี้จะทำการคัดเลือกในชั่ว F_5 ขึ้นไปเพื่อให้เกิดการรวมตัวของยีน (gene recombination) ในรูปแบบต่าง ๆ และทำให้ประชากรส่วนใหญ่มียีนโตนีในสภาพโฮโมไซกัสก่อน แล้วจึงทำการคัดเลือกรากต้นที่มีการรวมตัวของยีนในรูปแบบที่เหมาะสมที่สุดไปใช้ประโยชน์ต่อไป และเป็นวิธีที่ใช้พื้นที่ เวลาและแรงงานน้อยกว่าวิธีบันทึกประวัติ (ไพศาล เหล่าสุวรรณ และปิยะดา ทิพย์ผ่อง, 2550) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ อาณัติ วัฒนสิทธิ์ และคณะ (2531) ซึ่งทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียว 3 วิธี ได้แก่วิธีทดสอบในชั่วต้น (early generation testing) วิธีบันทึกประวัติ (pedigree method) และวิธีเก็บหนึ่งเมล็ดต่อต้น (single seed descent) พบว่าวิธีการคัดเลือกแบบหนึ่งเมล็ดต่อต้นเหมาะสมที่สุดในการคัดเลือกผลผลิต

สำหรับลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ด และ จำนวนเมล็ดต่อฝัก พบว่ายีนควบคุมเป็นแบบบวกเท่านั้น ในขณะที่ลักษณะความยาวฝักถูกควบคุมด้วยอิทธิพลของยีนแบบข่มมากกว่ายีนแบบบวก

และไม่พบ epistasis ในทั้ง 3 ลักษณะที่ศึกษา ลักษณะเหล่านี้มีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแบบแคบในระดับปานกลาง และมีจำนวนยีนควบคุม 2-4 คู่ ถึงแม้ว่าลักษณะเหล่านี้จะถูกควบคุมด้วยยีนแบบบวกหรือแบบข่ม แต่เนื่องจากมีอัตราพันธุกรรมทั้ง 2 แบบต่ำ ดังนั้นวิธีการคัดเลือกแบบหนึ่งเมล็ดต่อต้น และการคัดเลือกแบบเก็บรวมจึงเหมาะสมสำหรับปรับปรุงลักษณะเหล่านี้เช่นกัน



ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต 7 ลักษณะในประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2

ลักษณะ ประชากร	TDM (กรัม)		จำนวนฝักต่อต้น		น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม)	
	CN60 x V1946	SUT4 x M5-1	CN60 x V4785	SUT2 x V4758	SUT2 x V4758	CN60 x V1946
P_1	22.16 ± 2.45^1	32.09 ± 5.04	21.10 ± 3.54	19.43 ± 4.30	9.03 ± 1.41	11.02 ± 1.51
F_1	40.67 ± 6.92	46.38 ± 6.05	39.47 ± 4.97	29.23 ± 6.00	16.87 ± 2.92	16.77 ± 3.96
F_2	37.74 ± 9.01	42.33 ± 9.14	36.10 ± 9.19	27.57 ± 8.28	12.54 ± 3.08	13.50 ± 4.09
BC_1	37.91 ± 7.65	44.95 ± 7.81	39.17 ± 7.14	28.96 ± 6.82	13.63 ± 2.95	14.72 ± 3.80
BC_2	42.93 ± 7.62	48.08 ± 7.52	41.36 ± 7.95	36.44 ± 7.49	16.47 ± 3.06	18.07 ± 3.90
P_2	48.79 ± 4.58	51.37 ± 5.31	44.53 ± 4.77	38.23 ± 5.94	18.46 ± 2.64	20.72 ± 3.66

¹ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error; SE) = $\sqrt{(s^2 / n)}$; n = จำนวนค่าสังเกตในแต่ละประชากร, s^2 = วาริเียนซ์ของประชากร

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต 7 ลักษณะในประชากร P₁, P₂, F₁, F₂, BC₁ และ BC₂ (ต่อ)

ลักษณะ ประชากร	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)	จำนวนเมล็ดต่อฝัก			ความยาวฝัก (ซม.)	ความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. (ซม.)	
	SUT2 x V4758	SUT1 x V4785	SUT3 x V4451	CN60 x V1414AG	CN60 x V1414AG	KPS1 x V1415AG	
P ₁	6.31 ± 0.34 ¹	9.23 ± 0.36	8.62 ± 0.35	8.10 ± 0.22	114 ± 5.90	107 ± 7.06	
F ₁	5.53 ± 0.45	11.00 ± 0.47	10.76 ± 0.53	10.82 ± 0.46	141 ± 8.95	144 ± 8.97	
F ₂	5.40 ± 0.49	10.72 ± 0.60	10.42 ± 0.68	10.72 ± 0.72	135 ± 10.72	136 ± 12.96	
BC ₁	6.10 ± 0.44	10.74 ± 0.55	10.50 ± 0.63	8.93 ± 0.62	135 ± 9.24	135 ± 10.76	
BC ₂	4.56 ± 0.45	11.44 ± 0.48	11.46 ± 0.54	11.26 ± 0.55	145 ± 9.95	149 ± 11.87	
P ₂	4.35 ± 0.30	12.13 ± 0.35	12.03 ± 0.35	11.87 ± 0.29	152 ± 6.93	169 ± 7.56	

¹ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error; SE) = $\sqrt{(s^2 / n)}$; n = จำนวนค่าสังเกตในแต่ละประชากร, s² = ความแปรปรวนของประชากร

ตารางที่ 7 การกระจายตัวของลักษณะ TDM ของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ใน
คู่ผสม CN60 x V1946

TDM (ก.)	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
		(สูงสุด 63.46)		(สูงสุด 94.46)		
90.01-95.00				1		
85.01-90.00				0		
80.01-85.00				1		
75.00-80.00				0		1
70.01-75.00				0	1	0
65.01-70.00			1	1	1	2
60.01-65.00		2	1	1	0	2
55.01-60.00		5	1	2	2	1
50.01-55.00		8	2	6	3	5
45.01-50.00		4	6	4	9	9
40.01-45.00		5	2	5	2	1
35.01-40.00		6	6	3	0	7
30.01-35.00	1		5	12	6	5
25.01-30.00	4		3	12	14	11
20.01-25.00	14		2	7	5	1
15.01-20.00	10		1	4	2	
10.01-15.00	1			1		
	(ต่ำสุด 14.70)			(ต่ำสุด 15.62)		
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	22.16	48.79	40.67	37.74	37.91	42.93
วาเรียนซ์	18.08	62.83	143.72	243.31	175.47	173.96

ตารางที่ 8 การกระจายตัวของลักษณะ TDM ของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ใน
กลุ่ม SUT4 x M5-1

TDM (ก.)	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
		(สูงสุด 74.55)		(สูงสุด 89.03)		
85.01-90.00				1		
80.01-85.00				1		
75.00-80.00				1	1	1
70.01-75.00		1		2	0	1
65.01-70.00		0	1	1	4	0
60.01-65.00		6	0	3	1	7
55.01-60.00		3	5	2	4	7
50.01-55.00	1	3	4	3	6	3
45.01-50.00	1	7	5	3	4	3
40.01-45.00	2	6	4	3	4	6
35.01-40.00	7	4	8	16	4	7
30.01-35.00	4		2	10	13	3
25.01-30.00	6		0	7	3	3
20.01-25.00	6		0	7	1	2
15.01-20.00	3		1			
	(ต่ำสุด 18.20)			(ต่ำสุด 22.63)		
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	32.09	51.37	46.38	42.33	44.95	48.08
วาเรียนซ์	76.21	84.51	109.93	250.77	183.09	169.82

ตารางที่ 9 การกระจายตัวของลักษณะ จำนวนฝักต่อต้น ของประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ในคู่ผสม CN60 x V4785

จำนวนฝัก ต่อต้น	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
		(สูงสุด 65)		(สูงสุด 77)		
76-80				1		1
71-75				1		1
66-70				1		1
61-65		2		1	2	2
56-60		1		5	4	2
51-55		5	4	5	5	4
46-50		4	5	3	3	6
41-45		7	2	6	5	2
36-40	1	7	8	4	6	9
31-35	2	4	5	8	2	5
26-30	3		5	7	14	7
21-25	9		1	10	4	5
16-20	10			10		
10-15	5			1		
	(ต่ำสุด 10)			(ต่ำสุด 13)		
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	21.10	44.53	39.47	36.10	39.17	41.36
วาเรียนซ์	37.54	70.53	74.05	253.31	152.88	189.64

ตารางที่ 10 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนฝักต่อต้นของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ในคู่ผสม SUT2 x V4758

จำนวนฝัก ต่อต้น	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
		(สูงสุด 51)		(สูงสุด 63)		
61-65			1	1	1	3
56-60			0	3	1	3
51-55		1	1	0	0	3
46-50	1	7	2	3	1	1
41-45	0	3	2	6	1	4
36-40	0	5	3	0	9	6
31-35	1	9	3	4	6	6
26-30	2	2	3	6	9	9
21-25	5	3	11	12	4	8
16-20	10		3	13	4	2
10-15	11		1	11	9	
	(ต่ำสุด 10)			(ต่ำสุด 10)		
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	19.43	38.23	29.23	27.56	28.96	36.44
วาเรียนซ์	55.56	68.32	108.05	205.57	139.5	168.48

ตารางที่ 11 การกระจายตัวของลักษณะน้ำหนักรเมล็ดต่อต้นของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ในคู่ผสม SUT2 x V4758

น้ำหนัก เมล็ดต่อต้น (ก.)	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
		(สูงสุด 29.46)		(สูงสุด 25.78)		
29.01-31.00		1				
27.01-29.00		0				2
25.01-27.00		2	2	4	1	2
23.01-25.00		4	1	1	2	2
21.01-23.00		4	3	1	1	3
19.01-21.00		0	4	2	2	5
17.01-19.00		4	6	3	6	4
15.01-17.00	1	6	4	4	6	4
13.01-15.00	2	8	2	6	2	8
11.01-13.00	2	1	4	6	3	9
9.01-11.00	5		2	16	13	5
7.01-9.00	17		2	15	7	1
5.00-7.00	3			2	2	
	(ต่ำสุด 6.50)			(ต่ำสุด 5.56)		
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	9.03	18.46	16.87	12.54	13.63	16.47
วาเรียนซ์	5.94	20.95	25.52	28.38	26.05	28.07

ตารางที่ 12 การกระจายตัวของลักษณะน้ำหนักเมล็ดต่อต้นของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ในคู่ผสม CN60 x V1946

น้ำหนักเมล็ด ต่อต้น (ก.)	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
		(สูงสุด 31.2)		(สูงสุด 39.24)		
38.01-41.00				1		
35.01-38.00				0		
33.01-35.00		2		1		
31.01-33.00		4		1	2	1
29.01-31.00		1		0	0	3
27.01-29.00		0	2	0	1	2
25.01-27.00		3	6	2	0	2
23.01-25.00		3	1	0	2	2
21.01-23.00		2	1	2	2	7
19.01-21.00		3	0	2	2	2
17.01-19.00	1	5	1	4	5	4
15.01-17.00	0	4	5	7	3	3
13.01-15.00	4	3	3	5	9	5
11.01-13.00	10		3	9	6	2
9.01-11.00	10		4	10	5	4
7.01-9.00	5		3	9	5	2
5.01-7.00			1	5	2	
3.01-5.00				2	1	
	(ต่ำสุด 7.32)			(ต่ำสุด 3.63)		
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	11.02	20.72	16.77	13.50	14.72	18.07
วาเรียนซ์	6.87	40.16	47.03	50.21	43.31	45.71

ตารางที่ 13 การกระจายตัวของลักษณะน้ำหนักร 100 เมล็ดของประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ในคู่ผสม SUT2 x V4758

น้ำหนัก	ประชากร/จำนวนต้น					
100 เมล็ด (ก.)	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
	(สูงสุด 7.04)		(สูงสุด 7.19)			
7.61-7.90			1			
7.31-7.60			0			
7.01-7.30	1		0	1	5	
6.71-7.00	8		0	6	7	
6.41-6.70	8		4	3	8	
6.11-6.40	4		2	4	2	2
5.81-6.10	2		1	8	5	2
5.51-5.80	2	1	0	2	6	2
5.21-5.50	4	1	9	7	6	5
4.91-5.20	1	2	3	7	3	5
4.61-4.90		7	6	13	3	6
4.31-4.60		3	2	7		0
4.01-4.30		8		1		5
3.71 -4.00		5		0		16
3.41-3.70		3		1		1
3.10-3.40						1
	(ต่ำสุด 3.53)		(ต่ำสุด 3.55)			
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	6.31	4.35	5.53	5.40	6.10	4.56
วาเรียนซ์	0.34	0.27	0.60	0.72	0.58	0.62

ตารางที่ 14 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝักของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ในคู่ผสม SUT1 x V4785

จำนวนเมล็ด ต่อฝัก	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
		(สูงสุด 13.40)		(สูงสุด 12.70)		
13.40 - 13.90		1				
12.90 - 13.30		3				3
12.40 - 12.80		6		2	1	3
11.90 - 12.30		9	4	6	7	7
11.40 - 11.80		9	10	9	7	11
10.90 - 11.30		2	4	7	6	9
10.40 - 10.80	4		4	12	6	8
9.90 - 10.30	3		7	10	11	4
9.40 - 9.80	9		0	9	3	
8.90 - 9.30	9		1	1	4	
8.40 - 8.80	7			2		
7.90 - 8.30	0			2		
7.40 - 7.80	1					
	(ต่ำสุด 7.40)			(ต่ำสุด 8.00)		
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	0.38	12.13	11.00	10.72	10.74	11.44
วาเรียนซ์	0.13	0.37	0.61	1.07	0.91	0.70

ตารางที่ 15 การกระจายตัวของลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝักของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ในคู่ผสม SUT3 x V4451

จำนวนเมล็ด ต่อฝัก	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
		(สูงสุด 13.00)		(สูงสุด 13.20)		
13.40 - 13.90						1
12.90 - 13.30		2		1		2
12.40 - 12.80		8	2	1	1	5
11.90 - 12.30		10	0	5	6	8
11.40 - 11.80		5	6	7	8	10
10.90 - 11.30		5	6	9	2	7
10.40 - 10.80			6	9	1	9
9.90 - 10.30			5	10	13	1
9.40 - 9.80	4		3	8	12	0
8.90 - 9.30	7		1	5	1	2
8.40 - 8.80	11		1	2	0	
7.90 - 8.30	3			2	0	
7.40 - 7.80	4			1	1	
6.90 - 7.30	1					
	(ต่ำสุด 7.20)			(ต่ำสุด 7.40)		
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	8.62	12.03	10.76	10.42	10.50	11.46
วาเรียนซ์	0.37	0.36	0.86	1.39	1.19	0.88

ตารางที่ 16 การกระจายตัวของลักษณะความยาวฝักของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2
ในคู่ผสม CN60 x V1414AG

ความยาวฝัก (ซม.)	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
		(สูงสุด 13.14)		(สูงสุด 12.25)		
12.90 - 13.30		1				
12.40 - 12.80		1	1			6
11.90 - 12.30		14	2	13		8
11.40 - 11.80		13	4	13	1	7
10.90 - 11.30		1	6	7	0	9
10.40 - 10.80			10	5	3	5
9.90 - 10.30			2	5	10	5
9.40 - 9.80			3	3	12	4
8.90 - 9.30			2	8	2	1
8.40 - 8.80	7			5	12	
7.90 - 8.30	16			1	5	
7.41 - 7.80	6				1	
6.91 - 7.40	1				1	
6.41 - 6.89						
	(ต่ำสุด 7.35)			(ต่ำสุด 8.12)		
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	8.10	11.87	10.82	10.72	8.93	11.26
วาเรียนซ์	0.15	0.25	0.62	1.55	1.16	0.91

ตารางที่ 17 การกระจายตัวของลักษณะความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม.ของประชากร

P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ในคู่ผสม CN60 x V1414AG

ความยาวราก (ซม.) ต่อ ปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม.	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
	(สูงสุด 175)			(สูงสุด 169)		
175 - 184		1				2
165 - 174		3	3	2	3	4
155 - 164		9	4	10	3	6
145 - 154		7	2	9	6	10
135 - 144	2	9	14	8	10	12
125 - 134	1	1	3	14	11	6
115 - 124	11		2	9	9	4
105 - 114	12		2	4	2	1
95 - 104	3			4	1	
85 - 94	1					
	(ต่ำสุด 89)			(ต่ำสุด 100)		
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	114	152	141	135	135	145
วาเรียนซ์	104.44	143.96	240.36	344.49	256.23	297.06

ตารางที่ 18 การกระจายตัวของลักษณะความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. ของประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ในคู่ผสม KPS1 x V1415AG

ความยาวราก (ซม.) ต่อ ปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม.	ประชากร/จำนวนต้น					
	P_1	P_2	F_1	F_2	BC_1	BC_2
	(สูงสุด 194)		(สูงสุด 190)			
185 - 194		4		2		1
175 - 184		5		0		2
165 - 174		8	2	6		12
155 - 164		9	7	5	11	6
145 - 154		4	7	8	5	4
135 - 144			6	11	8	6
125 - 134	2		4	14	6	6
115 - 124	8		3	4	6	8
105 - 114	9		1	3	8	
95 - 104	7			5	1	
85 - 94	3			2		
75 - 84	1					
	(ต่ำสุด 79)		(ต่ำสุด 86)			
จำนวนต้น	30	30	30	60	45	45
ค่าเฉลี่ย	107	169	144	136	135	149
วาเรียนซ์	149.47	171.56	241.22	503.74	347.19	422.48

การวิเคราะห์พันธุกรรมของลักษณะ (Genetic analysis of characters)

จากผลการวิเคราะห์ scaling test ตามวิธีของ Mather (1949) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ความเหมาะสมของ additive-dominance model ในการอธิบายความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ของ 12 คู่ผสม พบว่า ค่า A, B และ C ของ 12 คู่ผสม ใน 7 ลักษณะ มีค่า t ของ A, B และ C อย่างน้อย 1 ค่าที่ให้ความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$; ตารางที่ 19) ในแต่ละลักษณะ อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการวิเคราะห์ joint scaling test ตามวิธีของ Cavalli (1952) โดยใช้ค่าเฉลี่ยและวาเรียนซ์จากประชากร P_1, P_2, F_1, F_2, BC_1 และ BC_2 ของแต่ละลักษณะ เพื่อทดสอบความเหมาะสม

ของ additive-dominance model อีกครั้ง พบว่า ลักษณะ TDM (CN60 x V1946 และ SUT4 x M5-1) ลักษณะจำนวนฝักต่อต้น (CN60 x V4785 และ SUT2 x V4758) ลักษณะน้ำหนักเมล็ดต่อต้น (SUT2 x V4758 และ CN60 x V1946) และลักษณะความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. (CN60 x V1414AG และ KPS1 x V1415AG) ให้ค่าไคสแควร์แตกต่างทางสถิติ ($\chi^2 = 19.60^{**}, 15.40^{**}, 33.90^{**}, 13.60^{**}, 10.00^{**}, 7.98^*, 22.00^{**}$ และ 50.80^{**} ตามลำดับ; ตารางที่ 20) แสดงให้เห็นว่าลักษณะเหล่านี้มีการแสดงออกของยีนไม่เป็นไปตามสมการแบบบวก-ข่ม หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่ามีการแสดงออกของปฏิกริยาของยีนแบบข้ามคู่ (epistasis หรือ non-allelic gene action) ในขณะที่ลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ด (SUT2 x V4758) จำนวนเมล็ดต่อฝัก (SUT1 x V4785 และ SUT2 x V4758) และความยาวฝัก (CN60 x V1414AG) ให้ค่าไคสแควร์ไม่แตกต่างทางสถิติ ($\chi^2 = 1.21_{ns}, 6.71_{ns}, 3.34_{ns}$ และ 2.28_{ns} ตามลำดับ; ตารางที่ 20) แสดงให้เห็นว่าลักษณะเหล่านี้มีการแสดงออกของยีนเป็นไปตามสมการแบบบวก-ข่ม หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าไม่มีการแสดงออกของปฏิกริยาของยีนแบบข้ามคู่

ทำการวิเคราะห์เพื่อประเมินปฏิกริยาระหว่างยีน (epistasis) โดยวิธี joint scaling test ตามวิธีของ Gamble (1962) จากการทดสอบค่า t ใน 6 พารามิเตอร์ (m, a, d, aa, ad และ dd) ในแต่ละลักษณะพบว่า ลักษณะ TDM ในคู่ผสม CN60 x V1946 และ SUT4 x M5-1 มีการแสดงออกของยีนทุกรูปแบบอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่การแสดงออกของยีนแบบข่มมีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของยีนแบบบวก และมีบทบาทสำคัญกว่ายีนแบบบวก ซึ่งบ่งบอกว่ายีนแบบข่มเป็นยีนหลักในการควบคุมการแสดงออกและการถ่ายทอดลักษณะ TDM การที่ค่า a ติดลบ บ่งชี้ว่าผลของยีนแบบบวกอาจทำให้ TDM ลดลง สำหรับปฏิกริยาระหว่างยีนนั้นพบว่า การแสดงออกของยีนแบบ a x a และ a x d มีอิทธิพลใกล้เคียงกัน แต่ d x d มีอิทธิพลมากที่สุด ซึ่งการที่ค่า d x d มีค่าติดลบ แสดงว่าการข่มบาง loci จะทำให้ TDM ลดลง ดังนั้น non additive effect มีความสำคัญมากกว่า additive effect สำหรับลักษณะ TDM ในทั้ง 2 คู่ผสมนี้ (ตารางที่ 21) การศึกษาในครั้งนี้ให้ผลการทดลองคล้ายกับพรรณธิดา ณ เชียงใหม่ (2547) ซึ่งรายงานว่าลักษณะ TDM ถูกควบคุมด้วยยีนแบบข่ม

ลักษณะจำนวนฝักต่อต้น พบว่าในคู่ผสม CN60 x V4758 และ SUT2 x V4758 มีการแสดงออกของยีนทุกรูปแบบอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) การแสดงออกของยีนข่มมีบทบาทสำคัญกว่ายีนแบบบวก ซึ่งบ่งบอกว่ายีนแบบข่มเป็นยีนหลักในการควบคุมการแสดงออกและการถ่ายทอดลักษณะจำนวนฝักต่อต้น ค่า a ติดลบ แสดงว่า ผลของยีนแบบบวกอาจทำให้จำนวนฝักต่อต้นลดลง สำหรับปฏิกริยาระหว่างยีนนั้นพบว่าในคู่ผสม CN60 x V4758 การแสดงออกของยีนแบบ a x a และ a x d มีอิทธิพลใกล้เคียงกัน ในขณะที่ในคู่ผสม SUT2 x V4758 ไม่พบการแสดงออกของยีนแบบ a x d โดยทั้ง 2 คู่ผสมนี้ d x d มีอิทธิพลมากที่สุด การที่ค่า d x d มีค่าติดลบ แสดงว่าการข่มบาง loci จะทำให้จำนวนฝักต่อต้นลดลง ดังนั้น non additive effect มีความสำคัญมากกว่า additive effect

สำหรับลักษณะจำนวนฝักต่อต้นใน 2 กลุ่มผสมนี้ (ตารางที่ 21) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Khattak et al. (2002a) ซึ่งพบว่าจำนวนฝักต่อต้นถูกควบคุมด้วยการแสดงออกของยีนแบบ $a \times a$ ในขณะที่ Malik and Singh (1983) พบว่าลักษณะนี้ควบคุมด้วยยีนแบบบวกและเข้ม แต่ไม่มี epistasis ลักษณะน้ำหนักรเมล็ดต่อต้น พบว่าในกลุ่มผสม SUT2 x V4758 และ CN60 x V1946 การแสดงออกของยีนเข้มมีบทบาทสำคัญกว่ายีนแบบบวก ซึ่งบ่งบอกว่ายีนแบบเข้มเป็นยีนหลักในการควบคุมการแสดงออกและการถ่ายทอดลักษณะน้ำหนักรเมล็ดต่อต้น ยีนแบบบวกจะมีผลทำให้น้ำหนักรเมล็ดต่อต้นลดลง สำหรับปฏิกริยาระหว่างยีนนั้นพบว่า กลุ่มผสม SUT2 x V4758 มีการแสดงออกของยีนแบบ $a \times a$ เท่านั้น ในขณะที่ CN60 x V1946 มีการแสดงออกแบบ $a \times a$ และ $d \times d$ บ่งชี้ว่า การเข้มบาง loci จะทำให้น้ำหนักรเมล็ดต่อต้นของกลุ่มผสม CN60 x V1946 ลดลงได้ (ตารางที่ 21) ซึ่งให้ผลการทดลองคล้ายกับ Khattak et al. (2001) และ Khattak et al. (2002a) ที่พบว่าลักษณะผลผลิตถูกควบคุมด้วย additive และ non additive gene action แต่ยีนแบบบวกมีบทบาทสำคัญกว่ายีนแบบเข้ม

ลักษณะน้ำหนักร 100 เมล็ด (SUT2 x V4758) และ ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝัก (SUT1 x V4785 และ SUT3 x V4451) พบว่าลักษณะเหล่านี้ในทั้ง 3 กลุ่มผสม มีการแสดงออกของยีนแบบบวกเป็นยีนหลักในการควบคุมการแสดงออกและการถ่ายทอดลักษณะน้ำหนักร 100 เมล็ดใน SUT2 x V4758 และการถ่ายทอดลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝักในกลุ่มผสม SUT1 x V4785 และ SUT3 x V4451 โดยไม่มีปฏิกริยาระหว่างยีนเข้ามาเกี่ยวข้อง (ตารางที่ 21) ซึ่งให้ผลการทดลองคล้ายกับ Mak and Yap (1980), Rohman et al. (2003) และ Sarwar et al. (2004) โดยพบว่าลักษณะน้ำหนักร 100 เมล็ด ถูกควบคุมโดยอิทธิพลของยีนแบบบวกเท่านั้น ผลการทดลองนี้ยังได้รับการสนับสนุนจากพรณธิภา ณ เชียงใหม่ (2547) ซึ่งทำการศึกษาลักษณะขนาดเมล็ด โดยวิธีการผสมทดสอบแบบพบกันหมดครึ่งชุด (half diallel) พบว่าถูกควบคุมด้วยยีนแบบบวกเท่านั้น และคล้ายกับการศึกษาของ พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ และ วินัย ตั้งบุญนิธิพงศ์ (2534) ซึ่งศึกษาการแสดงออกของยีนควบคุมน้ำหนักร 1,000 เมล็ด โดยใช้วิธี Giffing model II พบอิทธิพลของยีนแบบบวกต่อลักษณะน้ำหนักร 1,000 เมล็ดในปลายฤดูฝนเท่านั้น ส่วนในฤดูแล้ง อิทธิพลของยีนแบบบวกและเข้มมีอิทธิพลต่อลักษณะนี้ ในขณะที่ Khattak et al. (2002a) พบว่าลักษณะน้ำหนักร 1,000 เมล็ด ถูกควบคุมด้วยอิทธิพลของยีนแบบบวกและเข้ม โดยอิทธิพลของยีนแบบบวกจะมีอิทธิพลสูงกว่าแบบเข้ม ต่อมา Khattak et al. (2004a) ได้ทำการศึกษา น้ำหนักร 1,000 เมล็ดโดยวิธี joint scaling test พบว่าการแสดงออกของยีนแบบบวกเท่านั้นที่ควบคุมลักษณะนี้ และไม่มี epistasis สำหรับลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝัก พบเฉพาะอิทธิพลของยีนแบบบวกที่ควบคุมลักษณะนี้เช่นกัน ซึ่งให้ผลการทดลองคล้ายกับพรณธิภา ณ เชียงใหม่ (2547) และ Khattak et al. (2001) ต่อมา Khattak et al. (2002b) ศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝัก ในถั่วเขียว 6 พันธุ์โดยใช้วิธีการผสมแบบพบกันหมด (diallel cross) พบว่าจำนวนเมล็ดต่อฝักถูก

ควบคุมด้วยอิทธิพลของยีนแบบบวกเท่านั้น ในปีเดียวกัน Khattak et al. (2002a) พบว่าลักษณะนี้ถูกควบคุมด้วยยีนแบบ $a \times a$ และ $d \times d$

ลักษณะความยาวฝัก พบว่าในกลุ่มผสม CN60 x V1414AG มียีนแบบข่มเป็นยีนหลักในการควบคุมการแสดงออกและการถ่ายทอดลักษณะความยาวฝัก ยีนแบบบวกและแบบข่มจะมีผลทำให้ลักษณะความยาวฝักลดลง และลักษณะนี้ไม่มีปฏิริยาระหว่างยีนเข้ามาเกี่ยวข้อง (ตารางที่ 21) ซึ่งให้ผลการทดลองคล้ายกับ Khattak et al. (2002a) ที่ศึกษาการแสดงออกของยีนควบคุมความยาวฝักโดยวิธี triple test cross (TTC) พบว่ามีการแสดงออกของยีนทั้งแบบบวกและข่ม แต่ไม่พบการแสดงออกของยีนแบบ epistasis ในขณะที่พรรณธิภา ณ เชียงใหม่ (2547) พบว่าลักษณะนี้ถูกควบคุมด้วยยีนแบบบวกเท่านั้น

ลักษณะความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. พบว่าในกลุ่มผสม CN60 x V1414AG และ KPS1 x V1415AG มีการแสดงออกของยีนทุกรูปแบบอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) การแสดงออกของยีนแบบข่มมีบทบาทสำคัญกว่ายีนแบบบวก แสดงว่ายีนแบบข่มเป็นยีนหลักในการควบคุมการแสดงออกและการถ่ายทอดลักษณะนี้ และลักษณะความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. นี้ ยีนแบบบวกอาจมีผลทำให้ความยาวรากลดลง สำหรับปฏิริยาระหว่างยีนนั้นพบว่า การแสดงออกของยีนแบบ $a \times a$ และ $a \times d$ มีอิทธิพลใกล้เคียงกัน แต่ $d \times d$ มีอิทธิพลมากที่สุด การข่มบาง loci อาจทำให้ความยาวรากลดลงได้ ดังนั้น non-additive effect มีความสำคัญมากกว่า additive effect สำหรับลักษณะความยาวรากในทั้ง 2 กลุ่มผสม (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 19 ค่า A, B และ C และค่า “t” จากการวิเคราะห์ scaling test ของ 7 ลักษณะใน 12 คู่ผสม

	TDM				จำนวนฝักต่อต้น				น้ำหนักเมล็ดต่อต้น			
	CN60 x V1946		SUT4 x M5-1		CN60 x V4785		SUT2 x V4758		SUT2 x V4758		CN60 X V1946	
	Value	t value	Value	t value	Value	t value	Value	t value	Value	t value	Value	t value
A	12.99	2.84 **	11.43	2.41 **	17.77	4.27 **	9.26	2.19 *	1.36	0.74 ns	1.65	0.69 ns
B	-3.60	-0.76 ns	-1.59	-0.34 ns	-1.28	-0.27 ns	5.42	1.19 ns	-2.43	-1.21 ns	-1.35	-0.51 ns
C	-1.33	-0.14 ns	-6.90	-0.74 ns	-0.17	-0.02 ns	-5.84	-0.68 ns	-11.07	-3.21 **	-11.28	-2.45 **

**, *, ns = ความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, 0.05 และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ตามลำดับ

ตารางที่ 19 ค่า A, B และ C และค่า “t” จากการวิเคราะห์ scaling test ของ 7 ลักษณะใน 12 คู่ผสม (ต่อ)

	น้ำหนัก 100 เมล็ด		จำนวนเมล็ดต่อฝัก		ความยาวฝัก		ความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม.					
	SUT2 x V4758		SUT1 x V4785		SUT3 x V4451		CN60 x V1414AG		CN60 x V1414AG		KPS1 x V1415AG	
	Value	t value	Value	t value	Value	t value	Value	t value	Value	t value	Value	t value
A	0.36	1.25 ns	1.25	3.70**	1.62	4.23 **	-1.06	-2.95 **	15.0	2.56 *	19.0	2.87 **
B	-0.76	-2.62*	-0.25	-0.81 ns	0.13	0.38 ns	-0.17	-0.51 ns	-3.0	-0.48 ns	-15.0	-2.09*
C	-0.12	-0.22 ns	-0.48	-0.77 ns	-0.49	-0.69 ns	1.27	1.78 ns	-8.0	-0.70 ns	-20.0	-1.50 ns

**, *, ns = ความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, 0.05 และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ตามลำดับ

ตารางที่ 20 ค่าไคสแควร์ (χ^2) ของการทดสอบ additive-dominance model โดยวิธี joint scaling test ของ 7 ลักษณะใน 12 คู่ผสม

ลักษณะ	TDM		จำนวนฝักต่อต้น		น้ำหนักเมล็ดต่อต้น	
	CN60 x V1946	SUT4 x M5-1	CN60 x V4785	SUT2 x V4758	SUT2 x V4758	CN60 X V1946
χ^2	19.60 **	15.40**	33.90**	13.60**	10.00**	7.98*

**, *, ns = ความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, 0.05 และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ตามลำดับ

χ^2 = Chi-sqaure สำหรับการทดสอบความเหมาะสมของ additive-dominance model ที่ df = 3

ตารางที่ 20 ค่าไคสแควร์ (χ^2) ของการทดสอบ additive-dominance model โดยวิธี joint scaling test ของ 7 ลักษณะใน 12 คู่ผสม (ต่อ)

ลักษณะ	น้ำหนัก 100 เมล็ด	จำนวนเมล็ดต่อฝัก		ความยาวฝัก	ความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม.	
	SUT2 x V4758	SUT1 x V4785	SUT3 x V4451	CN60 x V1414AG	CN60 x V1414AG	KPS1 x V1415AG
χ^2	1.21 ns	6.71 ns	3.34 ns	2.28 ns	22.00**	50.80**

**, *, ns = ความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, 0.05 และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ตามลำดับ

χ^2 = Chi-sqaure สำหรับการทดสอบความเหมาะสมของ additive-dominance model ที่ df = 3

ตารางที่ 21 ค่า additive, dominance, additive x additive, additive x dominance และ dominance x dominance gene effects (และ SE) ของลักษณะ องค์ประกอบ
ผลผลิตและลักษณะทางสรีรวิทยา จากการทดสอบ โดยวิธี joint scaling test โดยใช้ประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2

Parameter ⁽¹⁾	TDM (กรัม)		จำนวนฝักต่อต้น		น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม)	
	CN60 x V1946	SUT4 x M5-1	CN60 x V4785	SUT2 x V4758	SUT2 x V4758	CN60 x V1946
m	24.68 ± 5.26**	25.20 ± 5.34**	13.28 ± 5.33**	8.36 ± 5.10 ns	3.80 ± 3.17 ns	4.26 ± 3.65 ns
a	-13.29 ± 0.57**	-9.80 ± 0.69**	-11.73 ± 0.62**	-9.33 ± 0.64 **	-4.60 ± 0.43 **	-4.84 ± 0.49 **
d	35.98 ± 12.58*	47.48 ± 12.77**	63.16 ± 12.70**	55.94 ± 12.25 **	22.00 ± 7.71 *	24.41 ± 8.85 *
aa	10.83 ± 5.23*	16.52 ± 5.30**	19.69 ± 5.30**	20.51 ± 5.06 **	10.06 ± 3.14 **	11.58 ± 3.62 **
ad	16.56 ± 3.22**	13.10 ± 3.32**	18.69 ± 3.24**	3.84 ± 3.19 ns	3.65 ± 2.08 ns	2.95 ± 2.35 ns
dd	-20.13 ± 7.78**	-26.26 ± 7.86**	-37.05 ± 7.76**	-35.07 ± 7.57 **	-8.84 ± 4.84 ns	-11.89 ± 5.55 *

**, *, ns = ความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, 0.05 และ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ตามลำดับ

⁽¹⁾ m = mid-parent effect, a = additive effect, d = dominance effect, aa = additive x additive effect, ad = additive x dominance effect, และ dd = dominance x dominance effect.

ตารางที่ 21 ค่า additive, dominance, additive x additive, additive x dominance และ dominance x dominance gene effects (และ SE) ของลักษณะองค์ประกอบ
ผลผลิตและลักษณะทางสรีรวิทยา จากการทดสอบ โดยวิธี joint scaling test โดยใช้ประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 (ต่อ)

Parameter ⁽¹⁾	น้ำหนัก 100 เมล็ด	จำนวนเมล็ดต่อฝัก		ความยาวฝัก	ความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม.	
	SUT2 x V4758	SUT1 x V4785	SUT3 x V4451	CN60 x V1414AG	CN60 x V1414AG	KPS1 x V1415AG
m	5.62 ± 1.25 **	9.03 ± 1.37 **	6.99 ± 1.46 **	13.07 ± 1.49**	112.69 ± 5.87 **	113.97 ± 6.32 **
a	1.10 ± 0.17 **	-1.85 ± 0.18 **	-2.08 ± 0.18 **	-1.88 ± 0.15**	-18.94 ± 0.77 **	-31.40 ± 0.82 **
d	-0.78 ± 3.03 ns	4.24 ± 3.29 ns	6.38 ± 3.51 ns	-5.24 ± 3.54 **	60.16 ± 14.16 **	57.54 ± 1.16 **
aa	-0.29 ± 1.24 ns	1.47 ± 1.36 ns	2.24 ± 1.45 ns	-2.43 ± 1.48 ns	19.79 ± 5.82 **	24.02 ± 6.27 **
ad	0.94 ± 0.81 ns	0.96 ± 0.86 ns	1.29 ± 0.91 ns	-0.79 ± 0.89 ns	17.64 ± 3.71 **	27.15 ± 4.02 **
dd	0.62 ± 1.89 ns	-2.00 ± 2.04 ns	-3.88 ± 2.17 ns	3.89 ± 2.17 ns	-32.18 ± 8.81 **	-27.91 ± 9.36 *

*,** = ความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 และ 0.01 ตามลำดับ

⁽¹⁾ m = mid-parent effect, a = additive effect, d = dominance effect, aa = additive x additive effect, ad = additive x dominance effect, และ dd = dominance x dominance effect.

อัตราพันธุกรรม

อัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแบบแคบของ 7 ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต ใน 12 คู่ผสม แสดงไว้ในตารางที่ 22 พบว่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้างจะให้ค่าสูงกว่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบ ในทุกลักษณะและทุกคู่ผสม ซึ่งความแตกต่างกันของค่าทั้ง 2 นี้จะเป็นตัวบ่งชี้อิทธิพลของ non additive gene action

ลักษณะทางพืชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาบางลักษณะมีค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแบบแคบปานกลาง เช่น TDM [CN60 x V1946 (69.2 และ 56.4 ตามลำดับ) และ SUT4 x M5-1 (64.0 และ 59.3 ตามลำดับ)] จำนวนฝักต่อต้น [CN60 x V4785 (76.0 และ 64.8 ตามลำดับ) และ SUT2 x V4758 (62.4 และ 50.2 ตามลำดับ)] ความยาวฝัก [CN60 x V1414AG (78.1 และ 66.5 ตามลำดับ)] และความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. [CN60 x V1414AG (52.7 และ 39.4 ตามลำดับ) และ KPS1 x V1415AG (62.8 และ 47.2 ตามลำดับ)] บ่งชี้ว่าลักษณะทางพืชไร่เหล่านี้ ถูกควบคุมด้วยการแสดงออกของยีนและการถ่ายทอดลักษณะแบบ non additive ส่วนลักษณะน้ำหนักเมล็ดต่อต้น [SUT2 x V4758 (38.4 และ 9.3 ตามลำดับ) และ CN60 x V1946 (37.6 และ 22.7 ตามลำดับ)] มีค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้างและอัตราพันธุกรรมแบบแคบต่ำบ่งชี้ว่าลักษณะนี้ ถูกควบคุมด้วยการแสดงออกของยีนและการถ่ายทอดลักษณะแบบ non additive เช่นกัน และมีผลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ในขณะที่ลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ด [SUT2 x V4758 (44.0 และ 33.3 ตามลำดับ)] และ จำนวนเมล็ดต่อฝัก [SUT1 x V4785 (57.6 และ 49.5 ตามลำดับ) และ SUT3 x V4451 (61.9 และ 51.1 ตามลำดับ)] ถึงแม้ว่าในการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนตามวิธีของ Gamble (1962) จะพบเฉพาะการแสดงออกของยีนแบบบวกเท่านั้น แต่ค่า a มีค่าค่อนข้างต่ำ จึงส่งผลให้ลักษณะเหล่านี้มีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างและอัตราพันธุกรรมแบบแคบอยู่ในระดับปานกลาง และมีผลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องเช่นกัน (ตารางที่ 22)

อัตราพันธุกรรมของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิตเหล่านี้พบว่าทุกลักษณะให้ค่าปานกลางหรือต่ำ แสดงให้เห็นว่าอาจมีผลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง สอดคล้องกับการศึกษาของ Sriphadet et al. (2007) ซึ่งพบว่าลักษณะจำนวนฝักต่อต้นมีอัตราพันธุกรรมอย่างแคบปานกลาง (58.4%) ในขณะที่การทดลองของ Empig et al. (1970) พบว่าจำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝักมีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างต่ำคือ 24.6 และ 10.0% ตามลำดับ แต่ขนาดเมล็ดมีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างปานกลาง (51.3%) ส่วนผลผลิตมีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างเพียง 8.6% เท่านั้น ซึ่งการศึกษาของ Tomar et al. (1972) พบว่าผลผลิตมีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างต่ำ (28%) เช่นกัน

จำนวนยีนน้อยที่สุดที่ควบคุมลักษณะ (minimum number of genes)

ค่าประมาณของจำนวนยีนน้อยที่สุดที่ควบคุมลักษณะทั้ง 7 ลักษณะ ของ 12 คู่ผสม แสดง

ไว้ในตารางที่ 23 พบว่าลักษณะ TDM [CN60 x V1946 (0.89) และ SUT4 x M5-1 (0.33)] และ จำนวนฝักต่อต้น [CN60 x V4785 (0.38) และ SUT2 x V4758 (0.45)] ให้ค่าประมาณจำนวนคูยีนมีค่าน้อยกว่า 1 บ่งชี้ว่าลักษณะ TDM ในทั้ง 2 คู่ผสม และจำนวนฝักต่อต้นในทั้ง 2 คู่ผสมนี้ ถูกควบคุมการแสดงออกและการถ่ายทอดลักษณะด้วยยีนหลักอย่างน้อย 1 คู่ ลักษณะน้ำหนักเมล็ดต่อต้น [SUT2 x V4758 (3.90) และ CN60 x V1946 (3.70)] และน้ำหนัก 100 เมล็ด [SUT2 x V4758 (4.00)] ให้ค่าประมาณจำนวนคูยีนมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 บ่งชี้ว่าลักษณะน้ำหนักเมล็ดต่อต้นในทั้ง 2 คู่ผสมนี้ และ น้ำหนัก 100 เมล็ดใน SUT2 x V4758 ถูกควบคุมการแสดงออกและการถ่ายทอดลักษณะด้วยยีนหลักอย่างน้อย 4 คู่ ลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝักของ [SUT1 x V4785 (2.29) และ SUT3 x V4451 (2.74)] ให้ค่าประมาณจำนวนคูยีนมีค่าน้อยกว่า 3 บ่งชี้ว่าลักษณะจำนวนเมล็ดต่อฝักในทั้ง 2 คู่ผสมนี้ ถูกควบคุมการแสดงออกและการถ่ายทอดลักษณะด้วยยีนหลักอย่างน้อย 2-3 คู่ และสำหรับลักษณะความยาวฝัก [CN60 x V1414AG (1.91)] และ ลักษณะความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. [CN60 x V1414AG (1.73) และ KPS1 x V1415AG (1.83)] ให้ค่าประมาณจำนวนคูยีนมีค่าน้อยกว่า 2 แสดงให้เห็นว่าลักษณะความยาวฝักและลักษณะความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. ของคู่ผสมดังกล่าวนี้ ถูกควบคุมการแสดงออกและการถ่ายทอดลักษณะด้วยยีนหลักอย่างน้อย 2 คู่ (ตารางที่ 23) อย่างไรก็ตาม ในคู่ผสมที่มีการกระจายตัวของประชากร F_2 ที่ให้ค่ามากกว่าพ่อหรือแม่ที่ให้ค่าลักษณะนั้น ๆ สูงที่สุด (transgressive segregating population) เช่น TDM (CN60 x V1946 และ SUT4 x M5-1) จำนวนฝักต่อต้น (CN60 x V4785 และ SUT2 x V4758) น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (CN60 x V1946) น้ำหนัก 100 เมล็ด (SUT4 x V4758) และจำนวนเมล็ดต่อฝัก (SUT3 x V4451) ทำให้หาเรียนซ้ำในประชากร F_2 มีค่ามากขึ้น อาจส่งผลให้ค่าประมาณจำนวนคูยีนมีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง

ตารางที่ 22 อัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแบบแคบของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต 7 ลักษณะ

อัตราพันธุกรรม	TDM		จำนวนฝักต่อต้น		น้ำหนักเมล็ดต่อต้น	
	CN60 x V1946	SUT4 x M5-1	CN60 x V4785	SUT2 x V4758	SUT2 x V4758	CN60 x V1946
h^2_b	69.2	64.0	76.0	62.4	38.4	37.6
h^2_n	56.4	59.3	64.8	50.2	9.3	22.7

h^2_b และ h^2_n = อัตราพันธุกรรมแบบกว้างและอัตราพันธุกรรมแบบแคบ ตามลำดับ

TDM = total dry matter (น้ำหนักแห้งมวลรวม)

ตารางที่ 22 อัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแบบแคบของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต 7 ลักษณะ (ต่อ)

อัตราพันธุกรรม	น้ำหนัก 100 เมล็ด	จำนวนเมล็ดต่อฝัก		ความยาวฝัก	ความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม.	
	SUT2 x V4758	SUT1 x V4785	SUT3 x V4451	CN60 x V1414AG	CN60 x V1414AG	KPS1 x V1415AG
h^2_b	44.0	57.6	61.9	78.1	52.7	62.8
h^2_n	33.3	49.5	51.1	66.5	39.4	47.2

h^2_b และ h^2_n = อัตราพันธุกรรมแบบกว้างและอัตราพันธุกรรมแบบแคบ ตามลำดับ

ตารางที่ 23 จำนวนคู่ของยีนที่น้อยที่สุดที่ควบคุมลักษณะ 7 ลักษณะใน 12 คู่ผสม

ลักษณะ	TDM		จำนวนฝักต่อต้น		น้ำหนักเมล็ดต่อต้น	
	CN60 x V1946	SUT4 x M5-1	CN60 x V4785	SUT2 x V4758	SUT2 x V4758	CN60 X V1946
k	0.89	0.33	0.38	0.45	3.90	3.70

k = number of effective factors (จำนวนคู่ของยีนที่น้อยที่สุด)

TDM = total dry matter (น้ำหนักแห้งมวลรวม)

ตารางที่ 23 จำนวนคู่ของยีนที่น้อยที่สุดที่ควบคุมลักษณะ 7 ลักษณะใน 12 คู่ผสม (ต่อ)

ลักษณะ	น้ำหนัก 100 เมล็ด	จำนวนเมล็ดต่อฝัก		ความยาวฝัก	ความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม.	
	SUT2 x V4758	SUT1 x V4785	SUT3 x V4451	CN60 x V1414AG	CN60 x V1414AG	KPS1 x V1415AG
k	4.00	2.29	2.74	1.91	1.73	1.83

k = number of effective factors (จำนวนคู่ของยีนที่น้อยที่สุด)

4.3 การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะของยีนต้านทานโรคราแป้ง

ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของคะแนนการเกิดโรคจากทั้ง 6 ประชากร (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2) ของทั้ง 3 คู่ผสม แสดงไว้ในตารางที่ 24 พบว่าสายพันธุ์อ่อนแอต่อโรค KPS 1 และ KPS 2 มีค่าคะแนนการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 6.50-6.80 ในขณะที่สายพันธุ์ต้านทานโรค V4758 และ V2106 มีค่าคะแนนการเกิดโรคอยู่ระหว่าง 1.90-2.23 ค่าเฉลี่ยของคะแนนการเกิดโรคในประชากร F_1 และ F_2 ของทั้ง 3 คู่ผสม จะมีค่าต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของ P_1 และ P_2 ตามสมการ $[MP = (\bar{P}_1 + \bar{P}_2)/2]$ และมีค่าแนวโน้มเฉลี่ยไปทางสายพันธุ์ต้านทานโรค (P_2) ประชากร BC_1 ให้ค่าเฉลี่ยของคะแนนการเกิดโรคต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์อ่อนแอต่อโรค (P_1) และมีค่าใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของ P_1 และ P_2 สำหรับประชากร BC_2 ค่าเฉลี่ยของคะแนนการเกิดโรคใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์ต้านทานโรค (P_2) (ตารางที่ 24) ซึ่งแนวโน้มของค่าเฉลี่ยในแต่ละประชากรนี้ให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ บุนพาใจเที่ยง (2545)

ตารางที่ 24 ค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของคะแนนการเกิดโรคของ 6 ประชากร (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2) จากคู่ผสม KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106 ที่เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์อ่อนแอ x สายพันธุ์ต้านทาน

ประชากร	KPS1 x V4758	KPS1 x V2106	KPS2 x V2106
P_1	6.63 ± 0.44^1	6.50 ± 0.42	6.80 ± 0.41
F_1	3.03 ± 0.39	2.97 ± 0.44	2.90 ± 0.44
F_2	3.43 ± 0.96	3.50 ± 0.92	3.77 ± 1.08
BC_1	4.20 ± 0.60	4.22 ± 0.76	4.33 ± 0.83
BC_2	2.71 ± 0.40	2.69 ± 0.44	2.82 ± 0.41
P_2	2.23 ± 0.33	1.90 ± 0.32	2.03 ± 0.41

¹ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error; SE) = $\sqrt{(s^2/n)}$; n = จำนวนค่าสังเกตในแต่ละประชากร

s^2 = วาเรียนซ์ของประชากร

จากการทดสอบมาตราวัดและความสอดคล้องกับ additive-dominance model ด้วย scaling test ตามวิธีของ Mather (1949) โดยใช้ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของลักษณะในประชากรที่ศึกษา แสดงค่าสมการ A, B และ C ในตารางที่ 25 พบว่า ประชากรศึกษาทั้ง 3 คู่ผสม มีอย่างน้อยหนึ่งสมการ คือ สมการ A ที่ให้ค่าแตกต่างทางสถิติ ผลการทดสอบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี t-test ของคู่ผสม KPS1 x V4758 และ KPS1 x V2106 พบว่าสมการ A (-1.26** และ -1.03* ตามลำดับ)

แตกต่างทางสถิติ ในขณะที่กลุ่มผสม KPS2 x V2106 ให้ค่าสมการ A (-1.04*) และ B (0.71*) แตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 25)

ตารางที่ 25 ค่า A, B และ C สำหรับทดสอบ scaling test ในลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในกลุ่มผสม KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106

กลุ่มผสม	KPS1 x V4758		KPS1 x V2106		KPS2 x V2106	
	Value	t value	Value	t value	Value	t value
A	-1.26	-3.51**	-1.03	-2.36*	-1.04	-2.22*
B	0.16	0.61ns	0.51	1.76ns	0.71	2.48*
C	-1.20	-1.32ns	-0.34	-0.38ns	0.45	0.44ns

**, *, ns = ความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, 0.05 และ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ตามลำดับ

ทำการทดสอบความเหมาะสมกับ additive-dominance model ด้วย joint scaling test ใช้ค่าเฉลี่ยและวาเรียนซ์ของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 และประเมินพารามิเตอร์ m (mean) a (additive gene action) และ d (dominance gene action) โดยไม่มีปฏิกริยาระหว่างยีนใด ๆ ตามวิธีการของ Cavalli (1952) และ Mather and Jinks (1982) พบว่า ค่า m , a และ d มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) ในทั้ง 3 กลุ่มผสม และผลการทดสอบความเหมาะสมของ additive-dominance model โดยวิธีไคสแควร์ ให้ค่าไม่แตกต่างทางสถิติ [ทดสอบที่ค่า $df = 3$ ($df_{0.05, 3} = 7.81$); ($df_{0.01, 3} = 11.34$)] (ตารางที่ 26) แสดงว่าการแสดงออกของยีนเป็นไปตามสมการแบบบวกข่ม หรือไม่มีปฏิกริยาระหว่างยีน (epistasis) โดยในกลุ่มผสม KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106 ให้ค่า χ^2 เท่ากับ 2.15, 1.64 และ 2.03 ตามลำดับ (ตารางที่ 26)

จากการให้คะแนนการเกิดโรค (1 = ด้านทานโรคมาก และ 9 = ไม่ด้านทานโรค) ค่าคะแนนการเกิดโรคที่ต่ำหมายถึงความต้านทานโรคสูง ดังนั้นค่า d ที่มีค่าติดลบ บ่งชี้ถึงความต้านทานโรค ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่า ทั้ง 3 กลุ่มผสมมีการแสดงออกของยีนแบบบวก และข่มอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 26 ค่าอิทธิพลของยีนแบบบวกและข่ม (และ SE) จากการวิเคราะห์ลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง โดยวิธี joint scaling test โดยใช้ 6 ประชากร (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2) ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์อ่อนแอและสายพันธุ์ต้านทาน (KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106)

พารามิเตอร์ ⁽¹⁾	KPS1 x V4758	KPS1 x V2106	KPS2 x V2106
m	4.34 ± 0.23**	4.17 ± 0.22**	4.43 ± 0.24**
a	2.06 ± 0.22**	2.18 ± 0.22**	2.23 ± 2.23**
d	-1.46 ± 0.42**	-1.23 ± 0.43*	-1.50 ± 0.44**
χ^2	2.15	1.64	2.03
P	0.10-0.25	0.10-0.25	0.10-0.25

⁽¹⁾ m = mid-parent effect, a = additive effect, d = dominance effect

*, ** = ความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 และ 0.01 ตามลำดับ

χ^2 = Chi-square สำหรับการทดสอบความเหมาะสมของ additive-dominance model ที่ df = 3

P = Probability (ความน่าจะเป็น)

จากการคำนวณจำนวนยีนที่ควบคุมลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง พบว่า ทั้ง 3 คู่ผสมมีจำนวนยีนที่ควบคุมลักษณะความต้านทานโรคราแป้งอยู่ในช่วง 0.97-1.34 (ตารางที่ 27) ซึ่งบ่งชี้ว่าการแสดงออกของยีนต้านทานโรคราแป้งในทั้ง 3 คู่ผสมนี้ ถูกควบคุมด้วยยีนหลักยีนเดี่ยว (single major gene) ที่ได้รับมาจากสายพันธุ์ต้านทาน V4758 และ V2106 สำหรับค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (h_b^2) ซึ่งคำนวณจากวาเรียนซ์ของทั้ง 6 ประชากรในแต่ละคู่ผสม พบว่าให้ค่า h_b^2 อยู่ในช่วง 0.82-0.85 ซึ่งมีค่าสูงมาก ภายใต้การควบคุมการแสดงออกของยีนหลักเพียงยีนคู่เดียว (ตารางที่ 27)

ค่าการกระจายตัวของคะแนนการเกิดโรคของประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ของทั้ง 3 คู่ผสม แสดงไว้ในตารางที่ 28 พบว่าการกระจายตัวของทั้ง 3 คู่ผสมมีความคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ คะแนนการต้านทานโรคของ F_1 และ BC_2 จะเข้าใกล้ลักษณะความต้านทานโรคของพันธุ์ต้านทาน (P_2) ในทุกคู่ผสม ในขณะที่การกระจายตัวของคะแนนการเกิดโรคในประชากร BC_1 มีอยู่ในทุกระดับคะแนนการเกิดโรค โดยอยู่ในช่วงระดับคะแนนการเกิดโรคของ P_1 และ P_2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการกระจายตัวของยีนที่ควบคุมลักษณะการต้านทานโรค

ตารางที่ 27 การประเมินจำนวนยีนที่น้อยที่สุด (k) และ อัตราพันธุกรรม (h_b^2) ของลักษณะความต้านโรคราแป้ง

คู่ผสม	k	h_b^2
KPS1 x V4758	1.05	0.84
KPS1 x V2106	1.34	0.82
KPS2 x V2106	0.97	0.85

k = number of effective factors (จำนวนคู่ของยีนที่น้อยที่สุด)

h_b^2 และ h_n^2 = อัตราพันธุกรรมแบบกว้างและอัตราพันธุกรรมแบบแคบ ตามลำดับ

ในประชากร F_2 ทั้ง 3 คู่ผสม อัตราส่วนจำนวนต้นลูกที่ต้านทานต่อต้นอ่อนแอต่อโรคในทุกคู่ผสม มีการกระจายตัวแบบ 3 : 1 (ตารางที่ 29) บ่งชี้ว่าความต้านทานโรคราแป้งควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ สำหรับประชากร BC_1 ทั้ง 3 คู่ผสม จำนวนต้นลูกที่ต้านทานต่อต้นอ่อนแอต่อโรคในทุกคู่ผสม มีการกระจายตัวแบบ 1 : 1 (ตารางที่ 29) ซึ่งสนับสนุนสมมติฐานว่าความต้านทานโรคราแป้งควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความต้านทานโรคราแป้งในสายพันธุ์ต้านทานโรค 2 สายพันธุ์ คือ V4758 และ V2106 ถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ และเป็นแหล่งของยีนต้านทานโรคราแป้งจากสายพันธุ์ใหม่ที่ยังไม่มีการศึกษามาก่อน แม้ว่าจะมีการศึกษายีนต้านทานโรคราแป้งโดยนักวิจัยหลายกลุ่ม แต่ผลการศึกษาแตกต่างกัน เช่นการศึกษาของ AVRDC (1979) รายงานว่าความต้านทานโรคราแป้งในสายพันธุ์ ML-3 และ ML-5 ถูกควบคุมด้วยยีนเพียง 1 คู่ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ นุบผา ใจเที่ยง (2545) ซึ่งรายงานความต้านทานโรคราแป้งในสายพันธุ์ SUT 4 และ VC1210A ถูกควบคุมด้วยยีนเด่นหนึ่งคู่ นอกจากนี้การทดลองของ Hegde et al. (1996) ให้ผลสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้เช่นกัน อย่างไรก็ตาม Reddy et al. (1994) ได้รายงานความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวสายพันธุ์ RUM ว่าถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่ และวาราลักษณ์ เกษตรนันท์ และ พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ (2549) รายงานว่าความต้านทานโรคราแป้งในคู่ผสม KPS1 x VC6468-11-1A ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ และมีอิทธิพลของยีนแบบบวกร่วมกับแบบข่มส่วน Gawade and Patil (2003) ซึ่งศึกษาความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว 3 คู่ผสม พบว่ามีการแสดงออกของยีนทั้งแบบบวกและข่มในการควบคุมลักษณะความต้านทานนี้ และไม่มี epistasis ในขณะที่การศึกษาของ Sorajjapinun et al. (2005) ซึ่งวิเคราะห์การแสดงออกของยีนที่ควบคุมความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวด้วยวิธี generation mean analysis ของ Gamble (1962) พบว่าความต้านทานโรคถูกควบคุมด้วยการแสดงออกของยีนแบบบวกเท่านั้น และไม่มี epistasis

ยีนต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวสายพันธุ์ V4758 และ V2106 มีการแสดงออกของยีนแบบบวกและแบบข่ม ไม่มีปฏิกิริยาระหว่างยีน และมีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างสูง (0.82-0.85) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของบุบผา ใจเที่ยง (2545) ซึ่งพบว่าในสายพันธุ์ต้านทานโรคราแป้ง SUT 4 และ VC1210A มีการแสดงออกของยีนทั้งแบบบวกและข่มและไม่มีปฏิกิริยาระหว่างยีน และมีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างสูง (0.71-0.89)

ดังนั้นการรวมยีนต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวจากสายพันธุ์ต้านทาน V2106, V4758, VC1210A และ SUT4 เข้าไว้ในพันธุ์เดียวกัน (gene pyramiding) อาจทำให้ได้สายพันธุ์ถั่วเขียวซึ่งต้านทานโรคราแป้งได้หลายสายพันธุ์มากขึ้น หรือมีความต้านทานสูงขึ้น ซึ่งการรวมยีนต้านทานโรคไว้ในพันธุ์เดียวมีการทำกันอย่างแพร่หลาย เช่น Reddy et al. (1994) ได้ทำการทดสอบความต้านทานโรคราแป้งของถั่วเขียวสายพันธุ์ต้านทาน RUM ซึ่งมีศักยภาพในการต้านทานโรคในระดับสูงในสภาพธรรมชาติและสภาพควบคุมการทดลอง โดยใช้ประชากรศึกษา F_1 , F_2 และ F_3 ที่ได้จากการผสมระหว่างสายพันธุ์ต้านทาน RUM กับสายพันธุ์อ่อนแอ และพบว่าความต้านทานโรคของประชากรเหล่านี้ถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 2 คู่ ($Pm-1$ และ $Pm-2$) นำไปมาทดสอบความต้านทานกับเชื้อสาเหตุโรคราแป้งสายพันธุ์ TI-1 และแบ่งเกณฑ์ระดับความต้านทานตั้งแต่ R0-R5 โดย R0-R2 (ต้านทาน) และ R3-R5 (อ่อนแอ) พบว่าในต้นที่มีทั้ง $Pm-1$ และ $Pm-2$ จะแสดงระดับความต้านทานสูงสุด (R0) ขณะที่ต้นที่มี $Pm-1$ หรือ $Pm-2$ อย่างใดอย่างหนึ่ง แสดงระดับความต้านทานสูง (R1) และต้นที่ไม่มีทั้ง $Pm-1$ หรือ $Pm-2$ แสดงความอ่อนแอต่อโรคราแป้งสายพันธุ์ TI-1 ในระดับตั้งแต่ R3-R5 นอกจากนี้ Zhang et al. (1998) ได้ค้นพบยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวใหม่ใน *Oryza rufipogon* accession WBB1 และ WBB2 พบว่ามีการกระจายตัวระหว่างต้นต้านทานและอ่อนแอต่อโรคในอัตราส่วน 3:1 ในทั้ง 2 accessions ซึ่งสรุปผลได้ว่ายีนต้านทานในแต่ละ accession เป็นยีนเด่น 1 คู่ เมื่อรวมยีนต้านทานโรคสองยีนเข้าไว้ในพันธุ์เดียว (pyramiding) สามารถเพิ่มระดับความต้านทานโรคให้สูงขึ้นได้ และในการทดลองของ Liu et al. (2000) ซึ่งรวมยีนต้านทานโรคราแป้งได้แก่ $Pm2+Pm4a$, $Pm2+Pm21$, $Pm4a+Pm21$ เข้าสู่พันธุ์ข้าวสาลี Yangli 58 ได้สำเร็จ ทำให้ได้พันธุ์ข้าวสาลีที่มีระดับความต้านทานโรคราแป้งสูง

ตารางที่ 28 การกระจายตัวของต้นที่เป็นโรคราแป้งในระดับคะแนนการเกิดโรคต่าง ๆ ในประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ของกลุ่มผสม KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106

ประชากร	คะแนนการเกิดโรค									รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
	จำนวนต้น										
KPS1 x V4758											
P ₁ (KPS1)						16	9	5		30	6.63
F ₁		6	17	7						30	3.03
F ₂		22	17	10	2	4	3	2		60	3.43
BC ₁		3	7	16	17	1	1			45	4.20
BC ₂		19	20	6						45	2.71
P ₂ (V4758)	2	19	9							30	2.23

ตารางที่ 28 การกระจายตัวของต้นที่เป็นโรคราแป้งในระดับคะแนนการเกิดโรคต่าง ๆ ในประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ของคู่ผสม KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106 (ต่อ)

ประชากร	คะแนนการเกิดโรค									รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
	จำนวนต้น										
KPS1 x V2106											
P ₁ (KPS1)						19	7	4		30	6.50
F ₁		9	13	8						30	2.97
F ₂		17	21	12	3	2	2	3		60	3.50
BC ₁		4	11	10	13	5	2			45	4.22
BC ₂		22	15	8						45	2.69
P ₂ (V2016)	6	21	3							30	1.90

ตารางที่ 28 การกระจายตัวของต้นที่เป็นโรคราแป้งในระดับคะแนนการเกิดโรคต่าง ๆ ในประชากร P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2 ของกลุ่มผสม KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106 (ต่อ)

ประชากร	คะแนนการเกิดโรค									รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
	จำนวนต้น										
KPS2 x V2106											
P ₁ (KPS2)						11	14	5		30	6.80
F ₁		10	13	7						30	2.90
F ₂		17	21	5	5	4	4	4		60	3.77
BC ₁		5	10	9	8	12	1			45	4.33
BC ₂		16	21	8						45	2.82
P ₂ (V2106)	7	15	8							30	2.03

ตารางที่ 29 อัตราส่วนการกระจายตัวของประชากร F_2 และ BC_1 ที่ได้มาจากการผสมระหว่างสายพันธุ์อ่อนแอ x ด้านทาน จำนวน 3 คู่ผสม

คู่ผสม	ประชากร	ต้นด้านทาน (R)	ต้นอ่อนแอ (S)	Expected ratio	χ^2	Probability
KPS1 x V4758	F_2	49	11	3:1	1.42	0.10-0.25
	BC_1	26	19	1:1	1.08	0.25-0.50
KPS1 x V2106	F_2	50	10	3:1	2.23	0.10-0.25
	BC_1	25	20	1:1	0.56	0.25-0.50
KPS2 x V2106	F_2	43	17	3:1	0.29	0.50-0.75
	BC_1	24	21	1:1	0.20	0.50-0.75

4.4 การพัฒนาเครื่องหมาย ISSR บ่งชี้ความต้านทานโรคราแป้ง

ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่ (polymerase chain reaction; PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR 46 ไพรเมอร์ (ตารางที่ 30) เพื่อค้นหาไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อแม่ที่ต้านทานโรค (V4718; R) และพันธุ์แม่ที่อ่อนแอต่อโรค (CN72; S) แล้วนับจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่พบในพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ [number of scorable bands; NB] เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (percentage of polymorphic bands between resistant and susceptible parents; %PB) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ [number of unique bands (NUB); แสดงในตารางที่ 30] เมื่อใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ลดลงขั้นตอนละ 1 องศาเซลเซียส จาก 65 ถึง 50 องศาเซลเซียส พบว่าไพรเมอร์ ISSR จำนวน 39 ไพรเมอร์สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทาน และอ่อนแอต่อโรค รวม 177 แถบ โดยไพรเมอร์ ISSR 859 ให้ค่า %PB สูงที่สุด คือ 76% สำหรับไพรเมอร์ที่ให้ค่า %PB สูงอยู่ในช่วงตั้งแต่ 40-50% ได้แก่ ไพรเมอร์ ISSR 890 (47.06 %), 849 (45.45%), 812 (43.75%), 826 (41.67%), 842 (41.03%) และ 827 (40%) ในขณะที่ไพรเมอร์ ISSR 885 ให้ค่า %PB ต่ำที่สุดเพียง 4.55% (ตารางที่ 30)

ทำการคัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความเหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ [unique bands (UB)] พบว่ามีไพรเมอร์ ISSR จำนวน 9 ไพรเมอร์ที่ให้จำนวน UB (NUB) อยู่ระหว่าง 1-2 แถบดีเอ็นเอ (ตารางที่ 30)

นำไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความเหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอทั้ง 9 ไพรเมอร์ และไพรเมอร์ที่ให้ %PB สูง (ตารางที่ 31) ไปทำการยืนยันผลอีกครั้ง โดยทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยวิธี PCR โดยใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ที่ 50 องศาเซลเซียส พบว่า ไพรเมอร์ ISSR 809 ให้ค่า %PB สูงที่สุด คือ 51.28% รองลงมาได้แก่ ไพรเมอร์ ISSR 887 (21.05%), 840 (20.59%) และ 860 (20%) ตามลำดับ และพบว่าไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความเหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ มีเพียง 2 ไพรเมอร์เท่านั้น ได้แก่ ไพรเมอร์ ISSR 842 และ 885 โดยให้ค่า NUB เท่ากับ 1 ทั้งสองไพรเมอร์ (ตารางที่ 31) แถบดีเอ็นเอจำเพาะได้จากไพรเมอร์ ISSR 842 มีขนาด 340 คู่เบส (base pair; bp) และที่ได้จากไพรเมอร์ ISSR 885 มีขนาด 420 คู่เบส จึงตั้งชื่อเครื่องหมายดังกล่าวว่า ISSR 842_340 และ ISSR 885_420 ตามลำดับ

ตารางที่ 30 แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และแม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR ต่าง ๆ และใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ลดลงขั้นตอนละ 1 องศาเซลเซียส จาก 65 ถึง 50 องศาเซลเซียส

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	NB	%PB	NUB
801	(AT) ₈ T	12	8.33	-
807	(AG) ₈ T	15	0	-
808	(AG) ₈ C	18	27.78	-
809	(AG) ₈ G	23	13.04	-
810	(GA) ₈ T	18	27.78	1
811	(GA) ₈ C	13	7.69	-
812	(GA) ₈ A	16	43.75	-
813	(CT) ₈ T	10	30.00	-
815	(CT) ₈ G	8	25.00	-
819	(GT) ₈ A	8	25.00	-
825	(AC) ₈ T	11	9.09	-
826	(AC) ₈ C	12	41.67	-
827	(AC) ₈ G	5	40.00	-
828	(TG) ₈ A	7	14.29	-
834	(AG) ₈ YT	20	15.00	-
835	(AG) ₈ YC	27	25.93	-
836	(AG) ₈ YA	24	12.50	-
840	(GA) ₈ YT	27	25.93	2
841	(GA) ₈ YC	16	37.50	1
841 c	(GA) ₈ CC	13	15.38	1

NB = จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่นับได้ในสายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ [number of scorable bands]

%PB = เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ [% polymorphic bands between resistant and susceptible parents]

NUB = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ [number of unique bands]

Y = ไพริมิดีน (C, T); R = พิวรีน (A, G); N = A, G, C, T; B = C, G, T; D = A, G, T; H = A, C, T; V = A, C, G

ตารางที่ 30 แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และแม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR ต่าง ๆ และใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ลดลงขั้นตอนละ 1 องศาเซลเซียส จาก 65 ถึง 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	NB	% PB	NUB
841 t	(GA) ₈ TC	20	30.00	-
842	(GA) ₈ YG	39	41.03	2
843	(CT) ₈ RA	8	0	-
844	(CT) ₈ RC	8	0	-
845	(CT) ₈ RG	14	28.57	-
847	(CA) ₈ RC	10	20.00	-
848	(CA) ₈ RG	6	0	-
849	(GT) ₈ YA	11	45.45	-
851	(GT) ₈ YG	11	0	-
854	(TC) ₈ RG	24	20.83	-
855	(AC) ₈ YT	15	33.33	-
856	(AC) ₈ YA	8	37.50	2
857	(AC) ₈ YG	9	11.11	-
858	(TG) ₈ RT	14	28.57	-
859	(TG) ₈ RC	25	76.00	-
860	(TG) ₈ RA	16	31.25	-
864	(ATG) ₆	10	30.00	-
867	(GGC) ₆	3	0	-
868	(GAA) ₆	12	0	-
881	(GGGT) ₃ G	35	28.57	-
885	BHB (GA) ₇	22	4.55	1
886	VDV (CT) ₇	33	9.09	1

NB = จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่นับได้ในสายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ [number of scorable bands]

%PB = เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ [% polymorphic bands between resistant and susceptible parents]

NUB = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ [number of unique bands]

Y = ไพริมิติน (C, T); R = พิวรีน (A, G); N = A, G, C, T; B = C, G, T; D = A, G, T; H = A, C, T; V = A, C, G

ตารางที่ 30 แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และแม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ด้านทานและประชากรรวมด้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR ต่าง ๆ และใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ลดลงขั้นตอนละ 1 องศาเซลเซียส จาก 65 ถึง 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	NB	%PB	NUB
887	DVD (TC) ₇	23	26.09	1
889	DBD (AC) ₇	16	18.75	-
890	VHV (GT) ₇	17	47.06	-
891	HVH (TG) ₇	19	10.53	-

NB = จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่นับได้ในสายพันธุ์ด้านทานและอ่อนแอ [number of scorable bands]

%PB = เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ด้านทานและอ่อนแอ [% polymorphic bands between resistant and susceptible parents]

NUB = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ด้านทานและประชากรรวมด้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ [number of unique bands]

Y = ไพริมิดีน (C, T); R = พิวรีน (A, G); N = A, G, C, T; B = C, G, T; D = A, G, T; H = A, C, T; V = A, C, G

จากการสังเกตในการทำ PCR ทั้ง 2 ครั้ง โดยใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ที่แตกต่างกันระหว่างอุณหภูมิที่ลดลงขั้นตอนละ 1 องศาเซลเซียส จาก 65 ถึง 50 องศาเซลเซียส และที่ 50 องศาเซลเซียส เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR เดียวกัน พบว่าการใช้อุณหภูมิ 65-50 องศาเซลเซียสทำให้ค่า %PB ของไพรเมอร์ส่วนใหญ่มีค่ามากกว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในขณะที่มีเพียง 5 ไพรเมอร์เท่านั้นที่พบว่าการใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้ค่า %PB มากกว่า (ตารางที่ 31) อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้พบว่าการใช้อุณหภูมิ 65-50 องศาเซลเซียส ให้รูปแบบดีเอ็นเอที่ไม่คงที่ ดังนั้นจึงเลือกใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ที่ 50 องศาเซลเซียส ในการประเมินระยะห่างระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอและยีนด้านทาน โรคราแป้งเบื้องต้น

จากการวิเคราะห์ประชากร RIL ($F_{2:6}$) ของคู่ผสม CN72 x V4718 เป็นรายต้น โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR 842 และ 885 พบว่าทั้งเครื่องหมาย ISSR 842_340 และ ISSR 885_420 ตรวจพบต้นที่เป็น recombinant จำนวน 2 ต้น ในจำนวนทั้งหมด 20 ต้น คือต้นด้านทานที่ 3 และ 5 (ภาพที่ 1 และ 2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเครื่องหมาย ISSR 842 และ ISSR 885 อาจอยู่ด้านเดียวกันของยีนด้านทาน เมื่อนำมาคำนวณ % recombination ระหว่างเครื่องหมายทั้งสองและยีนด้านทาน พบว่ามีค่าเท่ากับ 10 % หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งได้ว่าเครื่องหมาย ISSR 842_340 และ ISSR 885_420 อยู่ห่างจากยีนด้านทาน โรคราแป้งในถั่วเขียวประมาณ 10 cM (ตารางที่ 32) การศึกษาในครั้งนี้เป็นการประเมินระยะห่าง

ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล ISSR และยีนต้านทานโรคราแป้งเบื้องต้นเท่านั้น ในอนาคตควรมีการนำเครื่องหมาย ISSR 842_340 และ ISSR 885_420 ไปตรวจสอบในประชากร RIL ($F_{2,6}$) เป็นรายต้น โดยใช้จำนวนต้นในประชากรอย่างน้อย 100 ต้น เพื่อให้ได้ระยะห่างระหว่างเครื่องหมาย ISSR และยีนต้านทานโรคราแป้งที่แม่นยำมากกว่านี้ อย่างไรก็ตามการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมาย ISSR มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบหาตำแหน่งยีนต้านทานโรคราแป้ง เนื่องจากไพรเมอร์ชนิดนี้จะทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่าง SSR พร้อมกันหลายตำแหน่งบนจีโนม (multilocus) จึงมีโอกาสสูงที่จะตรวจพบตำแหน่งยีนเป้าหมายได้ นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่รวดเร็ว มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ดังนั้นในอนาคตอาจสามารถนำเครื่องหมาย ISSR ที่ใกล้ชิดกับยีนต้านทานโรคราแป้งเหล่านี้มาประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกต้นถั่วเขียวต้านทานโรคราแป้งได้



ตารางที่ 31 แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และแม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความเหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR ต่าง ๆ และใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ที่ 50 องศาเซลเซียส

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	NB	%PB	NUB
808	(AG) ₈ C	29	3.45	-
809	(AG) ₈ G	39	51.28	-
810	(GA) ₈ T	36	5.56	-
811	(GA) ₈ C	16	6.25	-
815	(CT) ₈ G	9	0	-
834	(AG) ₈ YT	34	2.94	-
836	(AG) ₈ YA	21	0	-
840	(GA) ₈ YT	34	20.59	-
841	(GA) ₈ YC	36	0	-
841 c	(GA) ₈ CC	24	12.50	-
841 t	(GA) ₈ TC	32	9.38	-
842	(GA) ₈ YG	46	8.70	1
856	(AC) ₈ YA	14	0	-
858	(TG) ₈ RT	13	15.38	-
859	(TG) ₈ RC	18	5.56	-
860	(TG) ₈ RA	10	20.00	-
864	(ATG) ₆	18	11.11	-
881	(GGGT) ₃ G	15	0	-
885	BHB (GA) ₇	17	5.88	1
886	VDV (CT) ₇	16	12.50	-

NB = จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่นับได้ในสายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ [number of scorable bands]

%PB = เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ [% polymorphic bands between resistant and susceptible parents]

NUB = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ [number of unique bands]

Y = ไพริมิดีน (C, T); R = พิวรีน (A, G); N = A, G, C, T; B = C, G, T; D = A, G, T; H = A, C, T; V = A, C, G

ตารางที่ 31 แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และแม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความเหมือนกันระหว่างพันธุ์ด้านทานและประชากรรวมด้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR ต่าง ๆ และใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ที่ 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	NB	%PB	NUB
887	DVD (TC) ₇	19	21.05	-
889	DBD (AC) ₇	20	0	-
890	VHV (GT) ₇	25	0	-
891	HVH (TG) ₇	16	6.25	-

NB = จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่นับได้ในสายพันธุ์ด้านทานและอ่อนแอ [number of scorable bands]

%PB = เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ด้านทานและอ่อนแอ [% polymorphic bands between resistant and susceptible parents]

NUB = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ด้านทานและประชากรรวมด้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ [number of unique bands]

Y = ไพริมิดีน (C, T); R = พิวรีน (A, G); N = A, G, C, T; B = C, G, T; D = A, G, T; H = A, C, T; V = A, C, G

ตารางที่ 32 แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และแม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ด้านทานและประชากรรวมด้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอจำนวนต้น recombinant และ % recombination เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR 842 และ 885

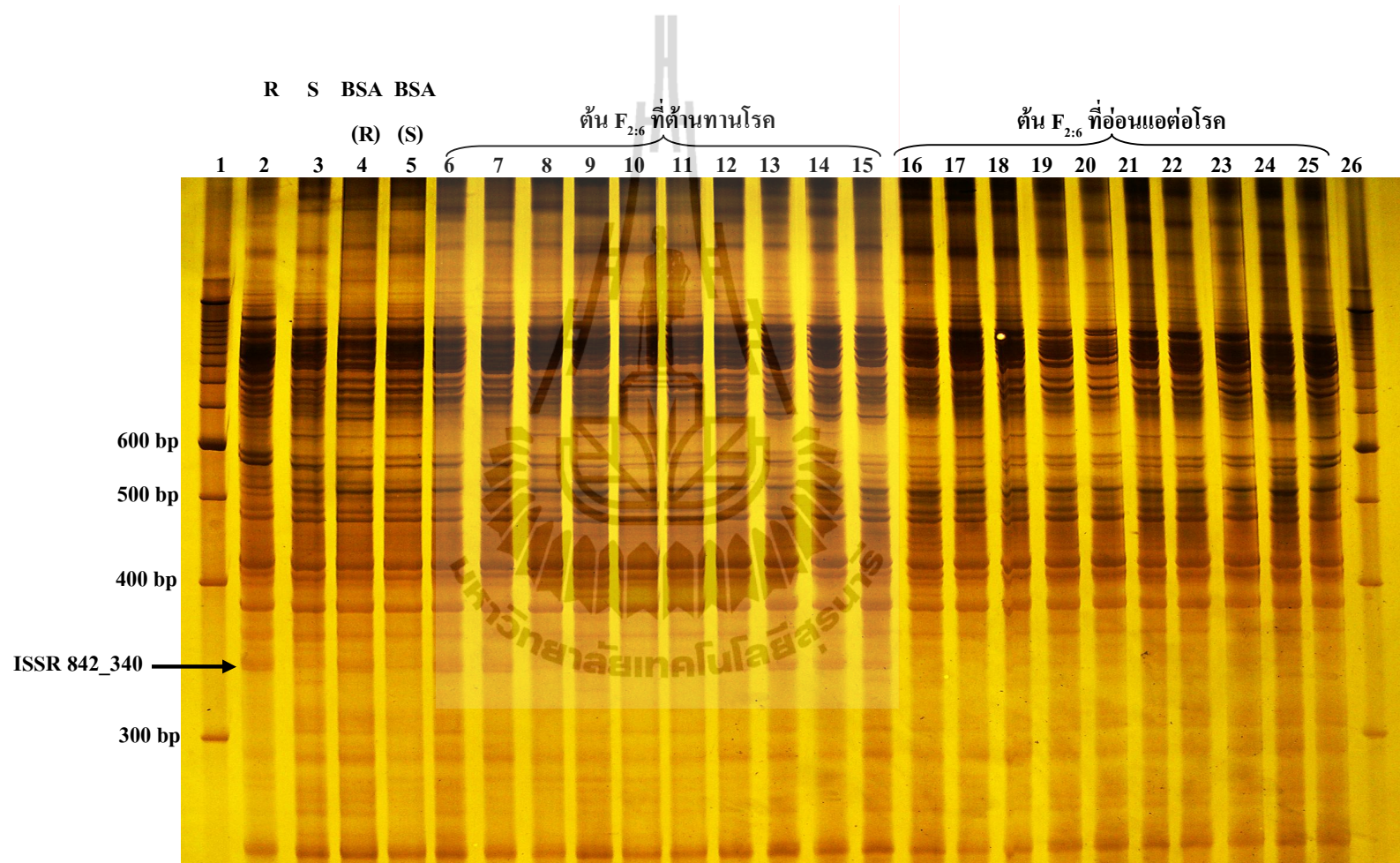
ไพรเมอร์	ลำดับเบส	NB	%PB	NUB	จำนวนต้น	
					recombinant (จาก 20 ต้น)	% recombination
842	(GA) ₈ YG	46	8.70	1	2	10
885	BHB (GA) ₇	17	5.88	1	2	10

NB = จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่นับได้ในสายพันธุ์ด้านทานและอ่อนแอ [number of scorable bands]

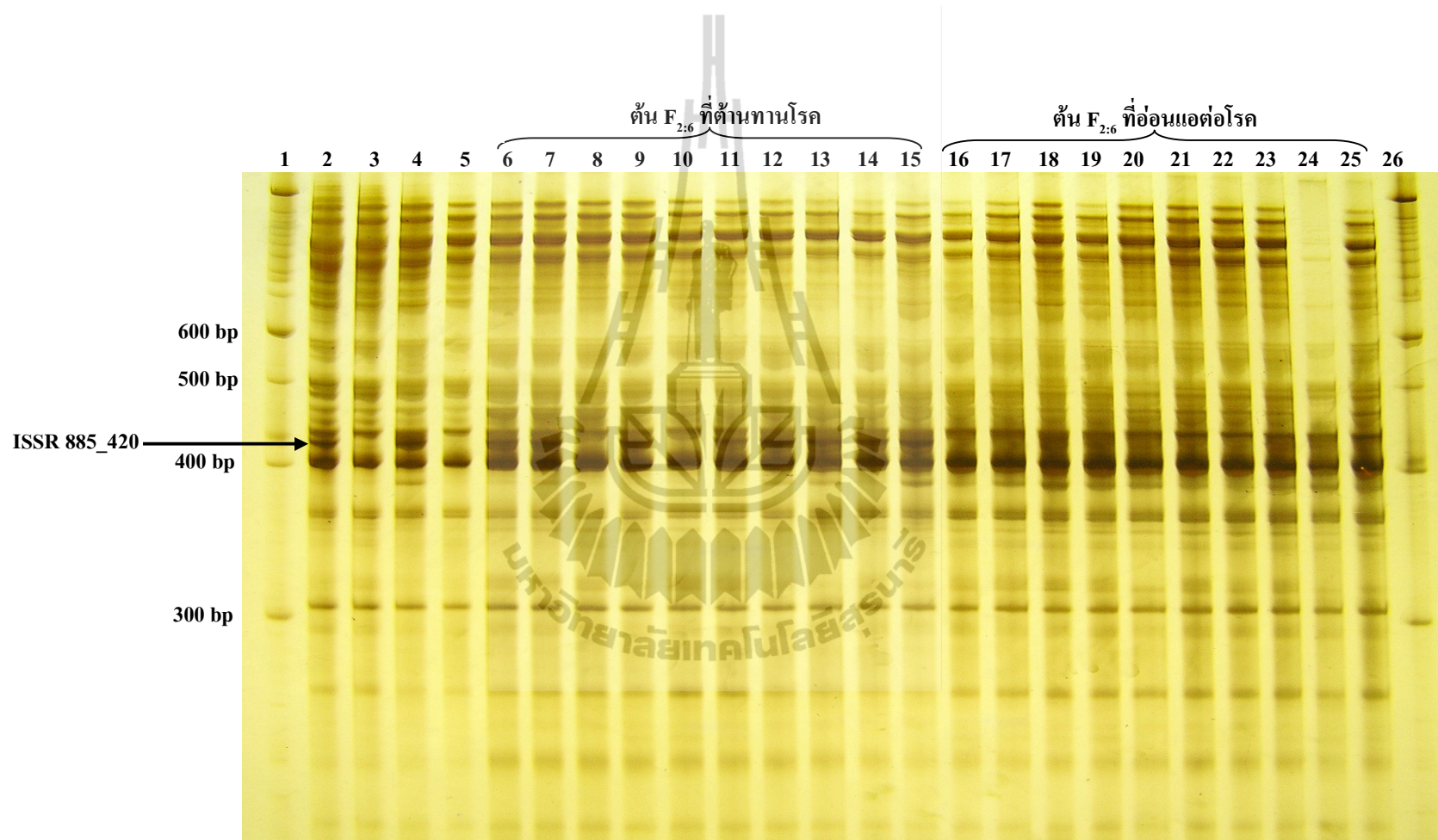
%PB = เปอร์เซ็นต์แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ด้านทานและอ่อนแอ [% polymorphic bands between resistant and susceptible parents]

NUB = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ด้านทานและประชากรรวมด้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ [number of unique bands]

Y = ไพริมิดีน (C, T); R = พิวรีน (A, G); N = A, G, C, T; B = C, G, T; D = A, G, T; H = A, C, T; V = A, C, G



ภาพที่ 1 แอปติเอ็นเอของพันธุ์ต้านทาน, พันธุ์อ่อนแอ, ประชากรรวมต้น F_{2:6} ที่ต้านทาน, ประชากรรวมต้น F_{2:6} ที่อ่อนแอต่อโรค, ต้น F_{2:6} ที่ต้านทานโรค 10 ต้น และต้น F_{2:6} ที่อ่อนแอต่อโรค 10 ต้น เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR 842
 ช่อง 1 และ 26 คือ 100 bp DNA ladder; ช่อง 2, 3, 4 และ 5 คือ V4718 (R), CN72 (S), ประชากรรวมต้านทาน [BSA (R)] และ ประชากรรวมอ่อนแอ [BSA (S)] ตามลำดับ ช่อง 6-15 คือ ต้น F_{2:6} ที่ต้านทานโรคต้นที่ 1-10 ตามลำดับ และ ช่อง 16-25 คือ ต้น F_{2:6} ที่อ่อนแอต่อโรคต้นที่ 1-10 ตามลำดับ



ภาพที่ 2 แถบดีเอ็นเอของพันธุ์ต้านทาน, พันธุ์อ่อนแอ, ประชากรรวมต้น $F_{2,6}$ ที่ต้านทาน, ประชากรรวมต้น $F_{2,6}$ ที่อ่อนแอต่อโรค, ต้น $F_{2,6}$ ที่ต้านทานโรค 10 ต้น และต้น $F_{2,6}$ ที่อ่อนแอต่อโรค 10 ต้น เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR 885
 ช่อง 1 และ 26 คือ 100 bp DNA ladder; ช่อง 2, 3, 4 และ 5 คือ V4718 (R), CN72 (S), ประชากรรวมต้านทาน [BSA (R)] และ ประชากรรวมอ่อนแอ [BSA (S)] ตามลำดับ ช่อง 6-15 คือ ต้น $F_{2,6}$ ที่ต้านทานโรครุ่นที่ 1-10 ตามลำดับ และ ช่อง 16-25 คือ ต้น $F_{2,6}$ ที่อ่อนแอต่อโรครุ่นที่ 1-10 ตามลำดับ

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสัมพันธ์ทางฟีโนไทป์และอีโนไทป์ระหว่างผลผลิตและลักษณะที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต และการวิเคราะห์เส้นทางพบว่า ลักษณะจำนวนข้อต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก TDM และจำนวนฝักต่อต้น เป็นลักษณะที่มีอิทธิพลทางตรงต่อผลผลิตสูง ดังนั้นจึงควรใช้เป็นดัชนีในการคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิตโดยเฉพาะในประชากรที่ใช้ศึกษา ดังนั้นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีต้นใหญ่ จำนวนข้อต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝักสูง จึงมีศักยภาพในการเพิ่มผลผลิตถั่วเขียวในอนาคต

จากการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะทางพืชไร่ 7 ลักษณะ ใน 12 คู่ผสม พบว่า ลักษณะ TDM จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น และความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. มีอิทธิพลจากยีนทุกรูปแบบ และมีความซับซ้อน มีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแคบปานกลาง และถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อย 1-2 คู่ ยกเว้นลักษณะน้ำหนักเมล็ดต่อต้นซึ่งมีอัตราพันธุกรรมทั้ง 2 แบบต่ำ และถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อย 4 คู่ ส่วนลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อฝัก และความยาวฝัก มีอิทธิพลของยีนในแบบบวกลบ มีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแคบปานกลาง และถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อย 4 คู่ (น้ำหนัก 100 เมล็ด) 3 คู่ (จำนวนเมล็ดต่อฝัก) และ 2 คู่ (ความยาวฝัก) การปรับปรุงลักษณะเหล่านี้ควรใช้วิธีคัดเลือกแบบหนึ่งเมล็ดต่อต้น หรือการคัดเลือกแบบเก็บรวม

การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวใน 3 คู่ผสม KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 และ KPS2 x V2106 พบว่าลักษณะความต้านทานโรคราแป้งมีการแสดงออกของยีนทั้งแบบบวกและแบบลบอย่างมีนัยสำคัญ แต่ยีนแบบบวกมีอิทธิพลมากกว่ายีนแบบลบ โดยไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีน และทั้ง 3 คู่ผสมมีจำนวนคู่ของยีนที่ควบคุมลักษณะความต้านทานโรค 1 คู่ แสดงว่าลักษณะนี้ถูกควบคุมด้วยยีนหลักเพียงยีนเดียว (single major gene)

การพัฒนาเครื่องหมาย ISSR บ่งชี้ความต้านทานโรคราแป้ง ได้เครื่องหมาย ISSR 842_340 และ 885_420 มีระยะห่างจากยีนต้านทานโรคประมาณ 10 cM แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมาย ISSR มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบหาตำแหน่งยีนต้านทานโรคราแป้ง และอาจสามารถนำเครื่องหมาย ISSR ที่ใกล้เคียงกับยีนต้านทานโรคราแป้งเหล่านี้มาประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกถั่วเขียวต้านทานโรคราแป้งได้ในอนาคต

รายการอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. (2550). [ออนไลน์] ได้จาก <http://as.doa.go.th/fieldcrops/res/fcri/006.pdf>
- กรมวิชาการเกษตร. (2552). [ออนไลน์] ได้จาก <http://it.doa.go.th/vichakan/news.php?newsid=33>
- เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ และ พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. (2529). การปรับปรุงพันธุ์พืชเศรษฐกิจของประเทศไทย. โรงพิมพ์ท้าวชิน: กรุงเทพฯ ๑.
- ทรงเขว้ อินสมพันธ์. (2545). ถั่วเขียว. พืชไร่สำคัญของประเทศไทย. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 1-18.
- นุจรี ดันทนารณกุล. (2546). ผลของโรคราแป้งและโรคใบจุดต่อถั่วเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- บุบผา ใจเที่ยง. (2545). การถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวและการพัฒนาดีเอ็นเอเครื่องหมายสำหรับการคัดเลือก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- บุษราคัม อุดมศักดิ์, อัมภา สืบรสปลื้ม และ ปรีชา สุรินทร์. (2538). รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วเขียวครั้งที่ 6. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. หน้า 129-146.
- ปริญญา ขจัดพาล, ธงชัย ประจงใจ และ ปิยะดา ทิพย์ผ่อง. (2549). รายงานการประชุมวิชาการพืชไร่ วงศ์ถั่วแห่งชาติครั้งที่ 1. กรมวิชาการเกษตร. หน้า 289-294.
- พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. (2538). รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วเขียวครั้งที่ 6. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. หน้า 21-35.
- พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. (2542). ถั่วเขียว. พืชเศรษฐกิจ. ภาควิชาพืชไร่นา. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ ๑. หน้า 143-156.
- พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ และ วินัย ตั้งบุญนิธิพงศ์. (2534). พันธุกรรมของผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเขียวที่ปลูกในฤดูแล้งและฤดูฝน. วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 23 (1): 1-13.
- ไพโรจน์ จ้วงพานิช. (2525). หลัทธิวิชาโรคพืช. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 393 หน้า.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ. (2543). การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวและถั่วเหลือง ระยะที่ 1. [ออนไลน์] ได้จาก http://sutlib2.sut.ac.th/Sut_Article/Paisal/bib251_a.pdf

- ไพศาล เหล่าสุวรรณ และ ปิยะดา ทิพย์พ่อง. (2550). **หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช**. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 369 หน้า.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ, สมใจ น้อยสีรุ่ง และชัยยะ แสงอุ่น. (2538). **รายงานวิจัยโครงการพัฒนาการปลูกถั่วเหลืองและถั่วเขียวในจังหวัดนครราชสีมา**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. หน้า 1-5.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ, อุษา เพื่อนกลาง, บัณฑิต ทองพิมาย, ศรีชาติ พลนิม และ ชศศักดิ์ แก้มค้างพูล. (2543). **การประชุมวิชาการถั่วเขียวแห่งชาติครั้งที่ 8**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. หน้า 13-20.
- พรรณธิภา ณ เชียงใหม่. (2547). **การศึกษาขนาดของเมล็ดและการถ่ายทอดลักษณะขนาดของเมล็ดถั่วเขียว**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- รังสฤษฎ์ กาวีตะ, เรวัตติ เลิศฤทัยโยธิน, ชุศักดิ์ จอมพุก และ จุฑามาศ ร่วมแก้ว (2541). **พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 189 หน้า.
- วินัย ตั้งบุญนิธิวงศ์. (2530). **การศึกษาสมรรถนะการผสมในลักษณะผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเขียว**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วรลักษณ์ เกษตรนันท์ และ พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. (2549). **พันธุกรรมของความต้านทานโรคราแป้ง** [ออนไลน์] ได้จาก http://kukr.lib.ku.ac.th/fulltext_kukr/ku0241169c.pdf
- ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท. (2550). [ออนไลน์] ได้จาก http://www.chainat.go.th/sub1/cnfcrc/gap/mungbean/mungbean_gap.htm
- สำนักงานพัฒนาที่ดิน. (2553). [ออนไลน์] ได้จาก <http://www.gisweb06.idd.go.th/iddweb/knowledge/plant/mungbean/5.html>
- สมจินตนา ทุมแสน และอิสระ พุทธสิมมา. (2551). [ออนไลน์] ได้จาก <http://oard3kk.dyndns.org/agriculture/pdfdata/PMDmDEBTue112650.pdf>
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2548). [ออนไลน์] ได้จาก <http://www.oae.go.th/mis/predict/mungbeans47.htm>
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2553). [ออนไลน์] ได้จาก http://www.oae.go.th/download/download_journal/fundamaton-2552.pdf
- สุมนา งามพ่องใส. (2549). **ผลการดำเนินงาน ปี 2548/2549**. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท. [ออนไลน์] ได้จาก <http://www.chainat.go.th/sub1/cnfcrc/report/48-49/yeild1/yeild1.doc>
- สุมนา งามพ่องใส. (2550). **ถั่วเขียว**. การประชุมวิชาการพืชไร่ ประจำปี 2550. [ออนไลน์] ได้จาก <http://as.doa.go.th/fieldcrops/res/fcri2/011.pdf>

- อาณัติ วัฒนสิทธิ์, พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ และ จรัสพร ถาวรสุข. (2531). การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียว 3 วิธี. วารสารวิชาการเกษตร 6: 3-10.
- อาณัติ วัฒนสิทธิ์, สุมณา งามพ่องใส, วันชัย ถนอมทรัพย์ และ สุวิมล ถนอมทรัพย์. (2543). การประชุมวิชาการถั่วเขียวแห่งชาติครั้งที่ 8. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. หน้า 53-62.
- อุษา เพื่อนกลาง. (2542). การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวโดยใช้องค์ประกอบผลผลิตและลักษณะลำต้น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- อุษา เพื่อนกลาง และไพศาล เหล่าสุวรรณ. (2543). การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวโดยใช้องค์ประกอบผลผลิตและลักษณะทางลำต้น. วารสารเทคโนโลยีสุรนารี 7: 242-249.
- Ajibade, S.R., Weeden, N.F. and Chite, S.M. (2000). Inter-simple sequence repeat analysis of genetic relationships in the genus *Vigna*. **Euphytica** 111: 47-55.
- Akkurt, M., Welter, L., Maul, E., Topfer, R. and Zyprian, E. (2007). Development of SCAR markers linked to powery mildew (*Uncinula necator*) resistance in grapevine (*Vitis vinifera* L. and *Vitis* sp.). **Mol. Breed.** 19: 103-111.
- Allard, R.W. (1960). **Principles of Plant Breeding**. New York: John Wiley and Sons.
- Amanullah and Hatam, M. (2000). Correlation between grain yield and agronomic parameters in mungbean (*Vigna radiata* L.). **Pak. J. Biol. Sci.** 3: 1242-1244.
- Arens, P., Mansilla, C., Deinum, D., Cavellini, L., Moretti, A., Rolland, S., Schoot, H.V.D., Calvache, D., Ponz, F., Collonnier, C., Mathis, R., Smilde, D., Caranta, C. and Vosman, B. (2010). Development and evaluation of robust molecular markers linked disease resistance in tomato for distinctness, uniformity and stability testing. **Theor. Appl. Genet.** 120: 655-664.
- AVRDC. (1979). **Progress Report 1978**. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan, pp. 71- 91.
- AVRDC. (1981a). **Progress Report 1979**. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan, pp. 42- 55.
- AVRDC. (1981b). **Progress Report 1980**. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan, pp. 40- 50.
- Barone, A. (2004). Molecular marker-assisted selection for resistance to pathogens in tomato. [online]. <http://www.fao.org/biotech/docs/Barone.pdf>

- Biradar, K. (2007). Genetic studies in greengram and association analysis. **Karnataka J. Agric. Sci.** 20(4): 843-844.
- Carvalho, A., Manuela, M., Jose, L., Guedes-pinto, H. and Cesar, B. (2005). DNA fingerprint of F_1 interspecific hybrids from the *Triticeae* tribe using ISSRs. **Euphytica** 143: 93-99.
- Cavalli, L.L. (1952). An analysis of linkage in quantitative inheritance. In: E.C.R. Reeve and C.H. Waddington (eds). **Quantitative Genetics**. (pp. 135 - 144). London: HMSO.
- Chaitieng, B., Kaga, A., Han, O.K., Wang, X.W., Wongkeaw, S., Laosuwan, P., Tomooka, N. and Vaughan, D.A. (2002). Mapping a new source of resistance of powdery mildew in mungbean. **Plant Breed.** 121: 521-525.
- Chaudhary, M.S. (1992). Path analysis and correlation in high yielding mungbean varieties. In: **ARC Training Report 1992**. Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, Taiwan, pp. 1-5.
- Chen, X., Sorajjapinun, W., Reiwthingchum, S. and Srinivis, P. (2003). Identification of parental mungbean lines for production of hybrid varieties. **CMU Journal** 2 (2): 97-106.
- Conde, B.D. and Diatloff, A. (1991). Disease of mungbean. Mungbean: The Australian experience. In: **Proceedings of the First Australian Mungbean Workshop**. In: B.C. Imrie and R.J. Lawn (eds). (pp. 73-77). Brisbane: CSIRO Division of Tropical Crops and Pastures.
- Dewey, D.R. and Lu, K.H. (1959). Correlation and path coefficient analysis of crested wheat grass seed production. **Agron. J.** 51: 515-518.
- Empig, L.T., Lantican, R.M. and Escuro, P.B. (1970). Heritability estimates of quantitative characters in mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.). **Crop Sci.** 10: 240-241.
- Ezeaku, I.E. and Mohammed, S.G. (2006). Characters association and path analysis in grain sorghum. **African J. Biotech.** 5(14): 1337-1340.
- Fang, D.Q., Federici, C.T. and Roose, M.L. (1998). A high resolution linkage map of citrus triteza virus resistance gene region in *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Genetics** 150: 883-890.
- Francisco, P.B. and Maeda, K. (1989). Agro-physiological studies on the yield performance of mungbean. **Japanese J. Crop Sci.** 58: 704-719.
- Gamble, E.E. (1962). Gene effects in corn (*Zea mays* L.) I. separation of relative importance of gene effects. **Can. J. Plant Sci.** 42: 339-348.

- Gawade, V.L. and Patil, J.V. (2003). Genetic of powdery mildew (*Erysiphe poligoni* D.C) resistance in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). **Crop Prot.** 22: 567-571.
- Gold, J., Harder, D., Townley-Smith, F., Aung, T. and Procunier, J. (1999). Development of a molecular marker for rust resistance gene *Sr39* and *Lr35* in wheat breeding lines. **J. Biotech.** 2 (1): 35-40.
- Gopani, D.D. and Kabaria, M.M. (1970). Correlation of yield with agronomic characters and their heritability in soybean. **Indian J. Agric. Sci.** 40: 847-853.
- Grafius, J.E. (1956). Components of yield in oats: A geometric interaction. **Agron. J.** 48: 419-423.
- Hakim, L. (2008). Variability and correlation of agronomic characters of mungbean germplasm and their utilization for variety improvement program. **Indonesian J. Agric Sci.** 9 (1): 24-28.
- Hegde, V.S., Parameshwarappa, R. and Goud, J.V. (1996). Gene action and heritability for powdery mildew resistance in mungbean. **Legume Res.** 19 (4): 223-226.
- Humphry, M.E., Magner, T., McIntyre, C.L., Aitken, E.A.B. and Liu, C.J. (2003). Identification of a major locus conferring resistance to powdery mildew (*Vigna radiata* L. Wilczek) by QTL analysis. **Genome** 46: 738-744.
- Idress, A., Sadiq, M.S., Hanif, M., Abbas, G. and Haider, S. (2006). Genetic parameters and path coefficient analysis in mutated generation of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). **J. Agric. Res.** 44(3): 181-190.
- Iqbal, M., Hayat, K., Khan, R.S.A., Sadiq, A. and Islam, N. (2006). Correlation and path coefficient analysis for earliness and yield traits in cotton (*G. hirsutum* L.). **Asian J. Plant Sci.** 5 (2): 341-344.
- Iqbal, S., Mahmood, T., Ali, M., Anwar, M. and Sarwar, M. (2003). Path coefficient analysis in different genotypes of soybean (*Glycine max* (L) Merril). **Pak J. Biol. Sci.** 6 (12): 1085-1087.
- Jan, R., Hassen, S., Rashid, A., Jan, H. and Shah, M.A. (1993). Screening of mungbean genotypes of mungbean genetic parameters and protein content. **Sarhad J. Agric.** 9: 317-321.
- Johnson, G.R. (1974). Analysis of the genetic relationships between several yield components of maize and leaf area at specific leaf positions. **Crop Sci.** 14: 559-561.
- Jose, M. and Soriano, V. (2005). Dominance, epistasis, heritability and expected genetic gains. **Gen. Mol. Biol.** 28: 67-74.

- Joshi, S.N. and Kabaria, M.M. (1973). Interrelationship between yield and yield components in *Phaseolus aureus* Roxb. **Madras Agr. J.** 60: 1331-1334.
- Kalb, T. (2000). Mungbean cultivation. [online]. Available: <http://www.avrdc.org.tw>
- Kamara, A.Y., Kling, J.G., Menkir, A. and Ibikunle, O. (2003). Association of vertical root pulling resistance with root lodging and grain yield in selected S1 maize lines derived from a tropical low-nitrogen population. **J. Agron. & Crop Sci.** 189: 129-135.
- Kantety, R.V., Zeng, X., Bebbetzen, J.L. and Zehr, B.E. (1995). Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter simple sequence repeat (ISSR) amplification. **Mol. Breed.** 1: 363-373.
- Khalli, S.K., Rehman, S., Afridi, K. and Jan. T. (1986). Performance of mungbean cultivars grown under agroclimatic conditions of Peshawar Valley. **Sarhad J. Agric.** 2: 593-598.
- Khan, I.A. (1988). Path coefficient analysis of yield attribute in mungbean (*Vigna radiata* L.). **Legumes Res.** 11: 41-43.
- Khan, M., Nawab, K., Khan, A. and Baloch, M.S. (2001). Genetic variability and correlation studies in mungbean. **J. Biol. Sci.** 1 (3): 117-119.
- Khattak, G.S.S., Srinives, P. and Kim, D.H. (1995). Yield partitioning in high yielding mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Kasetsart J. (Nat. Sci.)**. 29: 494-497.
- Khattak, G.S.S., Ashraf, M. and Khan, M.S. (2004 a). Assessment of genetic variation for yield and yield components in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek.) using generation mean analysis. **Pak. J. Bot.** 36: 583-588.
- Khattak, G.S.S., Ashraf, M. and Zamir, R. (2004 b). Gene action for synchrony in pod maturity and indeterminate growth habit in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek.). **Pak. J. Bot.** 36: 589-594.
- Khattak, G.S.S., Haq, M.A., Ashraf, M. and Mcneilly, T. (2001). Genetic basis of variation of yield, and yield components in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek.). **Hereditas** 134: 211-217.
- Khattak, G.S.S., Haq, M.A., Ashraf, M. and Tahir, G.R. (2002 a). Triple test cross analysis for some morphological traits in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek.). **Euphytica** 126: 413-420.

- Khattak, G.S.S., Haq, M.A., Ashraf, M., Khan A.J. and Zamir, R. (2002 b). Genetic architecture of secondary yield components in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek.). **Breed. Sci.** 52: 235-241.
- Khattak, G.S.S., Haq, M.A., Marwat, E.U.K., Ashraf, M. and Srinives, P. (2002 c). Heterosis for seed yield and yield components in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Sci. Asia** 28: 345-350
- Kuo, C.G., Wang, L.T., Cheng, A.C. and Chou, M.H. (1978). Physiological basis for mungbean yield improvement. In: **Proceedings of the 1st International Mungbean Symposium**. Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, Taiwan, pp. 205-209.
- Laosuwan, P. (1988). Mungbean varietal improvement : A review. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 30: 41-48.
- Levesque, R. and SPSS Inc. (2006). **SPSS Programming and Data Management**. (3rd ed.). United State of America, SPSS Institute.
- Liu, J., Liu, D., Tao, W., Li, W., Wang, S., Chen, P. and Gao, D. (2000). Molecular marker facilitated pyramiding of different genes for powdery mildew resistance in wheat. **Plant Breed.** 119: 21-24.
- Lucy, M., Brimstead, B., McCosker, K. and White D. (2000). Mungbean update 2000: Diseases. [online]. Available: <http://www.dpi.gld.gov.au>
- Machikowa, T. and Saetang, C. (2008). Correlation and path coefficient analysis on seed yield in sunflower. **Suranaree J. Sci. Technol.** 15 (3): 243-248.
- Madhur, J. and Jinks, C. (1994). Study of different days of sowing on yield parameters of green gram (*V. mungo*). **Agric. News.** 12: 53-56.
- Mak, C. and Yap, T.C. (1980). Inheritance of seed protein content and other agronomic characters in long bean (*Vigna sesquipedalis*). **Theor. Appl. Genet.** 56: 233-239.
- Makeen, K., Abraham, G., Jan, A. and Singh, A.K. (2007). Genetic variability and correlation studies on yield and its components in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **J. Agron.** 6 (1): 216-218.
- Malhotra, V.V., Singh, S. and Singh, K.B. (1974). Yield components in greengram (*Phaseolus aureus* Roxb.). **Indian J. Agric. Sci.** 44: 136-141.
- Malik, B.P.S., Singh, V.P., Chaudhary, B.D., and Chowdhary, R.K. (1982). Path coefficients and selection indices in greengram. **Indian J. Agric. Sci.** 52: 288-291.

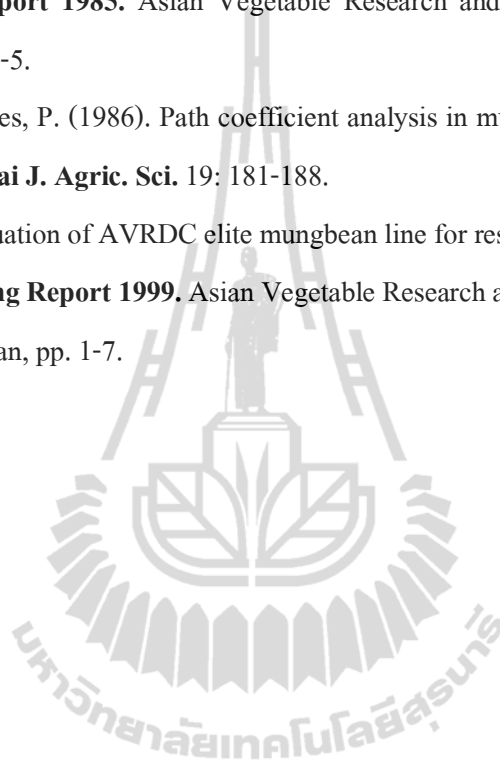
- Malik, B.P.S., Singh, V.P. and Singh, M. (1983). Correlation, correlated response and relative selection efficiency in greengram. **Indian J. Agric. Sci.** 53: 101-105.
- Malik, B.P.S. and Singh, V.P. (1983). Genetics of some metric traits in greengram. **Indian J. Agric. Sci.** 53: 1002-1005.
- Mather, K. (1949). **Biometrical Genetics**. New York: Dover Publication Inc.
- Mather, K. and Jink, J.L. (1982). **Biometrical Genetics**. London : Chapman.
- Melquiades and Reyes. (1990). Preliminary study on heterobeltiosis for yield and yield components of 10 mungbean F_1 cross. **Progress Report 1990**. Asian Vegetable Research and Development Center, Hanhua, Taiwan, pp 40- 50.
- Michelmore, R.W., Paran, I. and Kesseli, R.V. (1991). Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 88: 9828-9832.
- Molnar, S., Galbacs, Z., Halasz, G., Hoffmann, S., Kiss, E., Kozma, P. Veres, A., Galli, Z., Szoke, A. and Heszky, L. (2007). Marker assisted selection (MAS) for powdery mildew resistance in grapevine hybrid family. **Vitis** 46: 212-213.
- Mohsin, T., Khan, N. and Naqvi, N. (2009). Heritability, phenotypic correlation and path coefficient studies for some agronomic characters in synthetic elite lines of wheat. **J. Food Agric. Envi.** 7: 278-282.
- Naidu, N.V. (1993). Interrelationship between yield and yield components in mungbean (*Vigna radiata* L.). **Ann. Plant Physiol.** 7: 119-122.
- Naidu, N.V. and Rosaiah, G. (1993). Association analysis in segregating and non-segregating population of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Ann. Agric. Res.** 14: 25-29.
- Owens, C.L. (2003). SNP detection and genotyping in *Vitis*. **Acta Hort.** 603: 139-140.
- Passioura, J.B. (2000). The effect of root geometry on the yield of wheat growing on stored water. **Aust. J. Agric. Res.** 23: 745-752.
- Poehlman, J.M. (1991). **The Mungbean**. New Delhi: Oxford & IBH publishing.
- Pundir, S.R., Gupta, R. and Singh, V.P. (1992). Studies on correlation coefficient analysis in mungbean (*Vigna radiata*). **Haryana Agric. Univ. J. Res.** 22: 256-258.

- Quebral, F.C. (1978). Powdery mildew and Cercospora leafspot of mungbean in the Philippines. In: **Proceedings of the 1st International Mungbean Symposium**. Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, Taiwan, pp. 147-148.
- Raje, R.S. and Rao, S.K. (2000). Association analysis for yield and its components in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Madras Agric. J.** 87: 590-593.
- Ramana, M.V. and Singh, D.P. (1987). Genetic parameters and character associations in green gram. **Indian J. Agric. Sci.** 57: 661-663.
- Rasmusson, D.C. and Cannell, R.G. (1970). Selection for grain yield and components of yield in barley. **Crop. Sci.** 10: 51-54.
- Ratnaparkhe, M.B., Tekeoglu, M. and Muehlbauer, F.J. (1998). Inter-simple-sequence-repeat (ISSR) polymorphism are useful for finding markers associated with disease resistance gene clusters. **Theor. Appl. Genet.** 97: 515-519.
- Rathnaswamy, R., Krishnaswamy, S., Iyemperumal, S. and Marappan, P.V. (1978). Estimates of variability, correlation coefficients, and path coefficient analysis in early maturing greengram (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Madras Agr. J.** 65: 188-190.
- Reddy, K.S. (2007). Identification by genetic analysis of two races of *Erysiphe polygoni* DC. causing powdery mildew disease in mungbean. **Plant Breed.** 126 (6): 603-606.
- Reddy, K.S. (2009). Identification and inheritance of a new gene for powdery mildew resistance in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek.). **Plant Breed.** 128 (5): 521-523.
- Reddy, K.S., Pawar, S.E. and Bhatia, C.R. (1987). Screening for powdery mildew (*Erysiphe polygoni* D.C) resistance in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek.) using excised leaves. **Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Sci.)**. 97: 365-369.
- Reddy, K.S., Pawar, S.E. and Bhatia, C.R. (1994). Inheritance of powdery mildew (*Erysiphe polygoni* DC) resistance in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). **Theor. Appl. Genet.** 88: 945-948.
- Repkova, J., Dreisel, A. and Lizal, P. (2009). New CAPS marker for selection of a barley powdery mildew resistance gene in the *Mla* locus. **Cereal Res. Commu.** 37 (1): 93-99.
- Rohman, M.M., Iqbal, H.A.S.M., Arifin, M.D.S., Akhter, Z. and Hasanuzzaman, M. (2003). Genetic variability, correlation and path analysis in mungbean. **Asian J. Plant Sci.** 2: 1209-1211.

- Sadeghipour, O. (2009). The influence of water stress on biomass and harvest index in three mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) cultivars. **Asian J. Plant Sci.** 8 (3): 245-249.
- Saleem, A.R., Saleem, U. and Subhani, G.M. (2007). Correlation and path coefficient analysis in maize (*Zea mays* L.). **J. Agric. Res.** 45 (3): 177-183.
- Samonte, S.O.P., Wilson, L.T. and McClung, A.M. (1998). Path analyses of yield and yield related traits of fifteen diverse rice genotypes. **Crop. Sci.** 38: 1130-1136.
- Sandhu, T.S., Cheema, H.S. and Grill, A.S. (1979). Variability and inter-relationship between yield and yield components in mungbean. **Indian J. Genet. Plant Breed.** 39: 480-484.
- Sarwar, G. Siddique, M., Saleem, M. and Abbas, G. (2004). Selection criteria in F₃ population of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Pak. J. Bot.** 36 (2): 297-310.
- Satyan, B.A., Prakash, K.S., and Ranganatha A.R.G. (1989). Yield structure analysis in mungbean. **Indian J. Genet.** 46 (3): 558-562.
- Semagn, K., Bjornstad, A. and Ndjiondjop, M.N. (2006). An overview of molecular marker methods for plants. **African J. Biotech.** 5 (25): 2540-2568.
- Shamsuzzaman, K.M., Khan, R.H. and Shaikh, M.A. (1983). Genetic variability and characters association in mungbean (*Vigna radiata*). **Bangladesh J. Agric. Res.** 8: 1-5.
- Sharma, R.N. (1999). Heritability and character association in non-segregating population of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **J. Inter-Academic.** 3: 5-10.
- Siddique, M., Malik, F.A. and Awan, S.I. (2006). Genetic divergence, association and performance evaluation of different genotype of mungbean (*Vigna radiata*). **Int. J. Agric. Biol.** 8 (6): 793-795.
- Singh, K.B., and Malhotra, R.S. (1970). Estimates of genetic and environmental variability in mung (*Phaseolus aureus* Roxb.). **Madras Agr. J.** 57: 155-159.
- Singh, R.K. and Chaudhary, B.D. (1979). **Biometric Methods in Quantitative Genetic Analysis.** New Dehli: Kelyen publishers.
- Singh, T.P. and Singh, K.B. (1973). Association of grain yield and its components in segregation populations of greengram. **Ind. J. Genet. Plant Breed.** 33: 113.
- Sinnot, E.W., Dunn, L.C. and Dobzhansky, T. (1953). **Principle of Genetics.** New York: McGraw-Hill Book Co., Inc.

- Soehendi, R. and Srinives, P. (2005). Significant of heterosis and heterobeltiosis in an F_1 hybrid of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) for hybrid seed production. **J. Breed. Genet.** 37 (2): 97-105.
- Sorajjapinun, W., Rewthongchem, S., Koizumi, M. and Srinives, P. (2005). Quantitative inheritance of resistance to powery mildew disease in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). **J. Breed. Genet.** 37 (2): 91-96.
- Soria, J.A. and Quebral, F.C. (1973). Occurrence and development of powdery mildew on mungbean. **Philippine Agric.** 57: 158-177.
- Stoskopt, N.C. and Reinbergs, E. (1966). Breeding for yield in spring cereals. **Can. J. Plant Sci.** 46: 513-519.
- Sriphadet, S., Lambrides, C.J. and Srinives, P. (2007). Inheritance of agronomics traits and their interrelationship in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). **J. Crop Sci. Biotech.** 10 (4): 249-256.
- Tomar, G.S., Singh, L. and Sharma, D. (1972). Effects of environment on characters correlation and heritability in greengram. **SABRAO Newslett.** 4: 49-52.
- Vari, F. and Bell, K. (1996). A simplified silver diamine method for the staining of nucleic acid in polyacrylamide gels. **Electrophoresis** 17: 20-25.
- Verma, M.M. and Sandha, S.S. (1988). Development of mungbean varieties for favorable environment, a new selection methodology. In: **Proceedings of the 2nd International Mungbean Symposium**. Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, Taiwan, pp. 159-163.
- Vidya, C. and Oommen, S.K. (2002). Correlation and path analysis in yard long bean. **J. Trop. Agric.** 40: 48-50.
- Warner, J.N. (1952). A method for estimating heritability. **Agron. J.** 44:427-430.
- Yadav, A.K., Yadava, T.P. and Chaudhary, B.D. (1979). Path coefficient analysis of the association of physiological traits with grain yield and harvest index in greengram. **Indian J. Agric. Sci.** 49 (2): 86-90.
- Young, N.D., Danesh, D., Menancio-Hautea, D. and Kumar, L. (1993). Mapping oligogenic resistance to powdery in mungbean with RFLPs. **Theor. Appl. Genet.** 87: 243-249.
- Zhang, W. (1995). Mungbean varietal trial-21st IMN [online].
[http://www.arcavrdc.org/pdf_files/Zhangwen\(14-N\).pdf](http://www.arcavrdc.org/pdf_files/Zhangwen(14-N).pdf)

- Zhang, Q., Zhao, C.L., Wang, C.L., Zhou, Y.L. and Leung, H. (1998). Two new genes for resistance to bacterial blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) were identified from wild rice. [online]. <http://www.bspp.org.uk/icpp98/6/131.html>
- Zubair, M. (1985). Path coefficient analysis in (*Vigna radiata* (Linn.) wilczek). In: **ARC Training Report 1985**. Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, Taiwan, pp. 1-5.
- Zubair, M. and Srinives, P. (1986). Path coefficient analysis in mungbean (*Vigna radiata* (Linn.) Wilczek). **Thai J. Agric. Sci.** 19: 181-188.
- Zhihui, S. 1999. Evaluation of AVRDC elite mungbean line for resistance to powdery mildew. In: **ARC Training Report 1999**. Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, Taiwan, pp. 1-7.





ตารางภาคผนวกที่ 1 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบผลผลิตและลักษณะทางสรีรวิทยาของถั่วเขียวสายพันธุ์ ต่างประเทศ จาก AVRDC

No	สายพันธุ์	ความสูง (ซม.)	biomass (ก.)	TDM (ก.)	จำนวน กิ่งต่อต้น	จำนวน ข้อต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อฝัก	วันดอกแรก บาน	วันฝักแรก สุก	ความยาว ฝัก (ซม.)	จำนวน ฝักต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด	LAI	คะแนนการ เกิดโรค
1	V 1016	52.8	83.35	29.07	9.60	11.00	8.8	39	54	8.8	37	313	5.34	1.77	1
2	V 1066	57.1	93.53	30.98	10.70	18.20	9.5	39	54	9.5	33	326	6.24	2.32	2
3	V 1067	65.7	120.06	39.97	8.50	20.80	10.7	39	54	10.7	54	527	6.27	2.99	4
4	V 1103	57.7	91.17	30.77	8.80	22.80	10.7	36	53	10.7	37	368	4.44	3.53	4
5	V 1110	55.3	119.90	40.77	10.00	28.40	9.6	35	53	9.6	43	382	4.11	2.88	3
6	V 1132	38.4	98.31	38.04	7.30	19.20	9.9	33	51	9.9	20	182	5.36	2.92	3
7	V 1133	43.6	81.09	30.23	9.00	27.00	9.8	36	52	9.8	33	299	5.61	2.61	2
8	V 1160 (<i>V. sublobata</i>)	71.5	100.10	21.71	14.80			ไม่ออกดอก						5.20	1
9	V 1207	47.6	96.71	36.11	8.40	19.80	11.4	39	51	11.4	47	471	3.55	2.90	1
10	SUT 2	60.1	74.20	29.55	8.00	19.60	6.8	36	51	6.8	31	272	6.33	4.14	5
11	KPS 1	69.2	90.53	36.39	10.60	26.60	9.0	33	51	9.0	41	409	7.52	3.04	6
12	V 1270	49.5	63.37	21.17	6.80	25.20	10.1	33	50	10.1	33	319	4.46	2.32	2
13	V 1323	64.4	121.43	42.58	7.60	17.20	9.9	38	50	9.9	33	320	6.12	2.47	5
14	V 1327	50.2	116.72	42.86	7.40	23.80	9.4	40	54	9.4	38	306	6.37	3.14	4
15	V 1330	60.7	115.84	41.07	7.60	21.80	9.5	38	54	9.5	32	265	5.73	4.93	6
16	V 1364	51.8	71.89	26.31	7.80	31.20	10.8	39	54	10.8	25	242	5.94	3.05	3
17	V 1375	49.3	65.54	24.76	7.40	15.60	8.8	33	54	8.8	21	188	6.29	2.87	2
18	V 1377	70.6	93.35	31.90	7.80	25.00	11.2	40	54	11.2	30	294	6.67	3.94	6
19	V 1380	71.1	106.38	36.72	6.20	16.40	10.4	39	55	10.4	17	159	7.35	3.45	6
20	V 1387	71.0	71.77	25.81	6.40	19.00	11.2	38	55	11.2	18	162	7.24	3.32	6
21	V 1388	68.0	67.22	20.10	6.00	13.20	9.6	39	55	9.6	23	198	7.38	4.13	4
22	SUT 2	66.1	89.92	37.55	6.00	17.00	9.1	39	53	9.1	21	161	6.16	2.15	5
23	KPS 1	67.4	96.47	40.65	8.60	20.40	8.9	39	50	8.9	27	236	7.04	3.29	8
24	V 1399	85.1	82.71	28.33	8.00	22.80	11.4	39	54	11.4	18	174	7.60	4.66	8

ตารางภาคผนวกที่ 1 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบผลผลิตและลักษณะทางสรีรวิทยาของถั่วเขียวสายพันธุ์ ต่างประเทศ จาก AVRDC (ต่อ)

No	สายพันธุ์	ความสูง (ซม.)	biomass (ก.)	TDM (ก.)	จำนวน กิ่งต่อต้น	จำนวน ข้อต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อฝัก	วันดอกแรก บาน	วันฝักแรก สุก	ความยาว ฝัก (ซม.)	จำนวน ฝักต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด	LAI	คะแนนการ เกิดโรค
25	V 1410	95.2	95.94	28.91	7.40	30.60	12.4	38	54	12.4	20	174	8.54	5.02	7
26	V 1410 AG1	38.2	26.14	24.79	7.90	30.80	8.9	30	50	8.9	19	167	4.59	1.76	7
27	V 1410 AG2	94.2	65.38	20.98	7.40	21.40	12.3	40	53	12.3	19	196	7.96	3.44	6
28	V 1415	61.6	102.48	29.13	6.10	18.40	9.7	38	51	9.7	14	145	7.64	3.10	5
29	V 1416 AG	63.7	79.19	26.66	6.70	21.20	9.5	41	55	9.5	14	125	7.85	2.51	7
30	V 1445	74.3	81.99	28.13	8.20	26.20	10.6	43	55	10.6	25	252	4.66	3.54	3
31	V 1471	82.9	61.99	23.47	8.90	27.60	11.2	44	58	11.2	26	288	2.69	2.90	2
32	V 1573	73.8	114.23	37.57	7.90	27.00	11.0	42	58	11.0	31	304	2.82	3.03	1
33	V 1578	74.6	55.51	20.32	5.60	26.80	10.9	41	58	10.9	43	411	5.50	2.64	1
34	SUT 2	67.6	66.86	24.46	6.80	20.00	6.3	36	51	6.3	23	182	7.19	3.28	6
35	KPS 1	67.80	91.74	35.70	7.90	22.40	9.64	41	54	9.6	26	219	4.45	4.81	6
36	V 1631	59.30	62.46	24.11	7.80	22.20	11.26	40	54	11.3	40	377	3.51	5.34	3
37	V 1649	32.70	47.67	21.10	8.50	26.40	8.53	35	50	8.5	18	140	3.16	0.92	1
38	V 1667	63.00	91.62	34.16	6.60	27.40	10.91	41	51	10.9	21	225	4.65	3.78	4
39	V 1673	50.10	64.04	27.96	5.40	19.60	10.16	36	50	10.2	15	161	5.53	2.28	4
40	V 1709	42.70	57.49	26.82	7.60	19.40	9.57	36	51	9.6	24	210	3.94	1.78	7
41	V 1730	59.80	64.14	22.60	8.00	28.40	10.27	36	50	10.3	29	240	3.70	3.03	2
42	V 1735	65.80	77.27	27.20	8.40	19.60	10.55	36	50	10.6	31	274	3.76	4.54	1
43	V 1745	48.90	69.70	27.41	7.40	22.20	9.61	39	50	9.6	27	236	4.41	2.95	3
44	V 1776	44.10	44.43	15.54	6.80	22.60	9.69	36	50	9.7	24	195	4.58	1.67	2
45	V 1837	ไม่งอก						ไม่งอก							
46	SUT 2	62.70	52.56	23.83	6.90	25.80	10.42	38	50	10.4	29	229	6.07	2.93	5
47	KPS 1	64.40	80.35	29.18	7.30	19.60	9.76	41	53	9.8	27	234	7.37	2.88	6
48	V 1844	66.90	100.05	41.85	7.90	21.80	11.12	41	57	11.1	37	349	3.95	3.18	7
49	V 1867	50.20	73.33	29.84	7.30	23.80	8.16	36	54	18.2	30	254	4.65	3.61	6

ตารางภาคผนวกที่ 1 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบผลผลิตและลักษณะทางสรีรวิทยาของถั่วเขียวสายพันธุ์ ต่างประเทศ จาก AVRDC (ต่อ)

No	สายพันธุ์	ความสูง (ซม.)	biomass (ก.)	TDM (ก.)	จำนวน กิ่งต่อต้น	จำนวน ข้อต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อฝัก	วันดอกแรก บาน	วันฝักแรก สุก	ความยาว ฝัก (ซม.)	จำนวน ฝักต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด	LAI	คะแนนการ เกิดโรค
50	V 1867M	48.90	60.42	21.88	7.20	19.60	10.71	34	54	10.7	26	246	4.54	2.76	7
51	V 1944	49.20	70.71	23.83	6.40	12.40	8.91	34	53	8.9	15	122	8.88	2.49	5
52	V 1945	63.50	59.53	23.64	6.50	12.00	9.13	40	54	9.1	25	206	7.03	2.04	5
53	V 1946	47.00	39.08	20.19	8.20	13.40	8.07	40	50	8.1	10	67	8.79	2.15	7
54	V 1947	75.60	65.45	23.95	6.00	9.20	10.86	35	50	10.9	20	180	7.31	2.01	6
55	V 1948	67.40	62.95	22.36	7.80	11.00	10.99	41	54	11.0	20	183	7.61	3.05	8
56	V 1968	39.20	56.56	20.82	7.20	17.60	8.18	41	54	8.2	18	122	4.31	2.03	3
57	V 1969	30.00	59.52	23.01	6.70	12.40	7.90	36	50	7.9	9	70	6.01	0.92	3
58	SUT 2	54.20	64.34	24.39	5.80	11.20	8.74	40	54	8.7	21	130	6.66	1.96	6
59	KPS 1	58.30	88.77	37.86	6.40	12.40	9.02	41	56	9.0	34	250	6.81	5.12	5
60	V 1984	48.10	53.21	17.44	6.60	10.20	9.86	33	50	9.9	21	165	5.19	4.13	6
61	V 2010	55.10	78.30	27.83	6.40	13.00	10.25	36	51	10.3	24	239	6.89	2.38	5
62	V 2022	85.90	115.40	34.77	8.90	34.20	11.08	45	58	11.1	35	297	4.71	3.65	2
63	V 2075	94.50	113.17	30.43	8.50	19.00	10.22	43	58	10.2	27	226	4.28	9.13	2
64	V 2085	75.70	49.95	15.98	7.50	19.80	9.99	41	54	10.0	23	211	6.97	3.52	6
65	V 2110	62.00	67.66	27.40	8.40	17.20	8.34	44	56	8.3	16	166	4.71	4.19	3
66	V 2184	60.30	52.47	17.62	6.00	12.60	8.95	36	53	9.0	21	178	7.24	2.27	4
67	V 2159	60.60	66.76	24.73	7.00	21.80	10.62	33	50	10.6	23	215	3.68	1.65	2
68	V 2191	62.00	84.09	30.94	6.60	11.80	10.67	42	55	10.7	24	267	5.97	5.07	6
69	V 2268	59.60	57.51	22.59	7.20	24.20	9.76	41	55	9.8	39	360	3.77	3.27	5
70	SUT 2	61.20	106.33	23.83	6.20	13.80	9.34	36	53	9.3	20	231	6.38	4.55	6
71	KPS 1	60.90	64.90	25.14	6.10	21.20	9.77	36	50	9.8	22	126	7.57	2.55	6
72	V 2273	49.80	54.10	17.87	7.20	13.40	8.11	35	50	8.1	20	180	5.06	2.96	2
73	V 2365	ไม่งอก						ไม่งอก							
74	V 2396	70.30	81.44	25.94	5.90	17.80	10.60	41	50	10.6	35	341	2.80	4.68	6

ตารางภาคผนวกที่ 1 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบผลผลิตและลักษณะทางสรีรวิทยาของถั่วเขียวสายพันธุ์ ต่างประเทศ จาก AVRDC (ต่อ)

No	สายพันธุ์	ความสูง (ซม.)	biomass (ก.)	TDM (ก.)	จำนวน กิ่งต่อต้น	จำนวน ข้อต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อฝัก	วันดอกแรก บาน	วันฝักแรก สุก	ความยาว ฝัก (ซม.)	จำนวน ฝักต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด	LAI	คะแนนการ เกิดโรค
75	V 2565	53.60	88.21	31.94	6.10	16.40	9.47	39	53	9.5	19	175	7.01	3.07	6
76	V 2688	64.70	126.22	44.18	7.00	23.60	10.43	38	55	10.4	48	380	4.30	4.20	6
77	V 2709	53.10	75.26	34.96	7.60	28.40	10.88	38	50	10.9	44	395	3.21	4.60	2
78	V 2773	58.30	57.95	22.31	8.60	35.40	10.75	34	56	10.8	70	584	3.62	5.14	3
79	V 2774	67.50	56.09	23.21	8.30	28.20	10.34	38	55	10.3	64	556	3.50	2.73	4
80	V 2787	50.60	48.97	21.89	6.80	17.20	8.92	33	51	8.9	42	357	3.54	1.92	3
81	V 2802	69.00	97.27	28.77	7.60	27.40	8.57	38	54	8.6	47	327	4.02	4.68	3
82	SUT 2	66.20	63.30	37.15	7.00	19.60	6.41	40	54	6.4	30	235	5.96	4.89	6
83	KPS 1	76.60	102.32	39.09	7.40	21.40	6.71	40	54	6.7	34	292	7.20	3.50	5
84	V 2802 BR	69.60	114.46	34.85	7.40	16.80	8.97	42	55	9.0	27	192	4.64	4.85	2
85	V 2802 G	64.70	70.03	19.94	8.00	31.80	4.91	40	55	4.9	17	125	3.88	4.49	3
86	V 2808	69.20	62.48	21.73	6.20	20.00	10.25	42	56	10.3	14	116	5.92	3.44	4
87	V 2815	79.70	102.32	39.57	8.30	26.40	11.69	40	54	11.7	23	219	7.85	4.31	6
88	V 2915	60.10	78.10	29.05	7.00	29.60	11.72	41	5	11.7	34	319	6.30	5.05	4
89	V 2949	50.10	63.90	27.97	6.60	20.00	10.04	36	56	10.0	17	173	4.59	3.64	4
90	V 2984	57.60	59.41	27.16	6.50	19.20	10.44	36	54	10.4	33	335	4.16	3.68	3
91	V 3017	46.90	76.56	27.04	8.90	48.40	9.84	37	57	9.8	25	241	2.22	4.71	1
92	V 3092	47.50	106.13	43.64	7.10	29.40	9.35	37	54	9.4	30	271	4.31	5.97	4
93	V 3096	30.30	31.13	14.35	6.00	11.60	8.96	34	50	8.0	7	74	4.08	1.99	3
94	SUT 2	62.60	93.53	31.72	6.30	12.00	10.95	38	53	11.0	23	167	5.13	4.88	6
95	KPS 1	65.50	73.21	27.21	7.20	20.60	9.70	40	54	9.7	29	233	7.59	5.33	6
96	V 3109	23.60	32.52	15.16	5.60	18.60	9.08	33	51	9.1	14	135	3.98	1.21	1
97	V 3131	53.80	106.27	42.20	6.00	19.60	9.34	36	50	9.3	25	216	5.72	3.59	4
98	V 3372	40.80	30.73	15.47	7.80	24.40	8.56	36	55	8.6	12	98	3.96	1.72	3
99	V 3384	61.70	110.48	51.02	7.80	22.00	11.13	41	55	11.1	37	346	4.65	5.71	4

ตารางภาคผนวกที่ 1 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบผลผลิตและลักษณะทางสรีรวิทยาของถั่วเขียวสายพันธุ์ ต่างประเทศ จาก AVRDC (ต่อ)

No	สายพันธุ์	ความสูง (ซม.)	biomass (ก.)	TDM (ก.)	จำนวน กิ่งต่อต้น	จำนวน ข้อต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อฝัก	วันดอกแรก บาน	วันฝักแรก สุก	ความยาว ฝัก (ซม.)	จำนวน ฝักต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด	LAI	คะแนนการ เกิดโรค
100	V 3387	51.00	95.16	38.38	6.40	22.60	11.18	35	54	11.2	31	259	5.38	3.45	3
101	V 3388	62.50	162.96	43.99	6.40	20.80	9.21	41	55	9.2	23	190	5.80	5.59	5
102	V 3404	81.80	106.39	43.80	7.80	19.80	9.07	39	55	9.1	22	157	7.88	5.61	5
103	V 3476A	60.70	71.62	29.74	6.60	17.40	9.65	39	50	9.7	35	288	5.87	2.74	6
104	V 3484	49.10	96.38	45.39	6.80	20.20	11.13	41	54	11.1	35	302	5.18	4.17	5
105	V 3490	53.30	57.52	25.03	8.70	36.60	9.08	41	54	9.1	43	355	7.55	2.09	2
106	SUT 2	62.80	64.58	23.39	6.20	23.60	8.87	39	51	8.9	31	231	6.65	2.60	4
107	KPS 1	72.20	71.72	26.28	7.00	15.80	10.43	41	53	10.4	20	176	7.07	4.81	5
108	V 3495	59.50	112.49	30.91	8.00	43.60	8.88	40	55	8.9	35	311	2.78	4.31	1
109	V 4281	63.90	72.37	29.72	8.00	41.20	10.53	40	58	10.5	25	246	2.65	4.08	1
110	V 4287	61.90	84.23	35.81	8.40	28.20	9.47	41	56	9.5	37	263	5.34	5.29	2
111	V 4451	69.20	122.87	41.88	6.40	26.80	10.87	40	56	10.9	41	324	3.78	3.51	2
112	V 4535	63.10	127.37	46.37	7.20	21.20	10.71	40	56	10.7	38	342	5.19	4.76	2
113	V 4685	61.60	81.24	26.60	6.60	20.60	9.39	34	56	9.4	30	309	4.15	4.59	2
114	V 4718	60.50	99.53	33.57	6.60	36.60	9.67	38	56	9.7	57	566	2.91	2.41	1
115	V 4758	54.70	111.76	36.33	6.40	23.20	11.32	40	56	11.3	46	500	3.55	2.58	1
116	V 4785	55.90	168.74	54.26	7.40	34.40	9.74	40	55	9.7	45	481	3.32	4.30	1
117	V 4793	52.30	96.30	29.87	7.20	22.60	10.90	36	54	10.9	42	299	4.60	2.28	2
118	SUT 2	69.00	63.45	25.48	7.80	24.60	8.90	39	51	8.9	24	202	6.31	3.77	6
119	KPS 1	70.40	85.42	33.13	7.60	16.60	9.37	39	55	9.4	37	349	7.28	4.44	7
120	V 4956	52.80	113.92	45.52	7.80	33.60	9.24	40	54	9.2	63	589	3.65	3.41	2
121	V 5000	60.30	90.84	36.27	7.70	25.40	8.93	41	57	8.9	52	462	5.79	2.94	3
122	V 5036	64.10	136.79	44.08	6.80	16.40	9.78	41	58	9.8	56	709	2.79	2.66	2
123	V 5197	59.40	86.63	30.46	8.50	40.00	8.88	41	54	8.9	80	671	3.65	2.64	1
124	V 5461	26.70	19.75	10.33	6.70	21.80	9.29	33	48	9.3	21	223	3.53	1.31	4

ตารางภาคผนวกที่ 1 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบผลผลิตและลักษณะทางสรีรวิทยาของถั่วเขียวสายพันธุ์ ต่างประเทศ จาก AVRDC (ต่อ)

No	สายพันธุ์	ความสูง (ซม.)	biomass (ก.)	TDM (ก.)	จำนวน กิ่งต่อต้น	จำนวน ข้อต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อฝัก	วันดอกแรก บาน	วันฝักแรก สุก	ความยาว ฝัก (ซม.)	จำนวน ฝักต่อต้น	จำนวน เมล็ดต่อต้น	น้ำหนัก 100 เมล็ด	LAI	คะแนนการ เกิดโรค
125	V 5926	84.80	109.78	30.51	9.50	39.80	9.12	46	63	9.1	28	257	5.69	4.74	1
126	V 5991	53.50	57.83	25.75	6.60	10.00	8.92	43	59	8.9	32	245	2.90	3.88	3
127	V 6009	57.10	67.79	27.64	6.60	16.00	12.64	40	54	12.6	37	341	6.37	2.70	3
128	V 6011	56.20	74.75	29.34	7.20	17.60	10.17	40	55	10.2	40	330	5.68	2.33	2
129	V 6013	80.10	69.21	27.22	7.60	18.40	9.38	39	55	9.4	33	289	6.60	2.86	2
130	SUT 2	66.40	85.74	30.84	6.50	11.40	9.31	39	55	9.3	29	215	6.75	1.89	6
131	KPS 1	69.80	102.52	37.58	8.30	22.20	9.37	41	56	9.4	42	337	7.12	5.32	7
132	V 6015	50.50	70.51	20.71	4.80	15.00	9.48	41	50	9.5	29	225	6.18	1.54	2
133	V 6017	43.70	56.99	16.50	6.10	15.80	10.59	35	55	6.8	15	88	5.32	2.87	2
134	V 6037	20.20	68.82	26.71	6.50	17.80	10.98	39	55	7.2	2	18	2.99	0.58	2
135	V 6083	48.20	68.76	27.62	7.50	17.80	10.83	41	54	10.4	24	219	6.45	3.14	4
136	V 6094	58.40	66.82	22.69	8.20	19.40	9.31	41	55	9.3	33	212	4.46	3.34	5
137	V 1410AG	88.10	69.43	15.91	7.00	12.20	9.45	41	55	9.5	17	141	8.73	3.27	3
138	V 1414AG	84.90	97.00	31.15	7.50	25.40	12.2	43	59	12.2	25	252	7.68	3.69	2
139	V 1415AG	57.60	92.53	29.52	5.90	14.20	10.44	40	54	10.4	29	246	7.37	2.63	1
140	V 1842	38.70	42.67	20.51	6.90	17.00	9.78	40	54	9.8	8	69	4.41	1.49	3
141	SUT 2	55.40	79.62	28.92	7.00	21.60	8.95	40	54	9.0	24	178	6.21	3.56	7
142	KPS 1	59.70	102.20	37.80	7.70	13.40	9.24	41	54	9.2	27	219	7.44	3.34	7
143	CN 72	62.90	70.13	27.15	6.80	10.00	10.3	40	54	10.3	24	206	7.23	3.32	7

ประวัติผู้เขียน

นายปริญญา ขจัดพาล เกิดเมื่อวันที่ 6 มิถุนายน พ.ศ. 2521 ที่ อ. ภูเขียว จ.ชัยภูมิ ระหว่างปี พ.ศ.2536-2538 ได้ศึกษาและสำเร็จการศึกษาระดับมัธยมปลายจากโรงเรียนแก่นนครวิทยาลัย อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ในปีการศึกษา 2539 เริ่มเข้าศึกษาระดับปริญญาตรีที่สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำเร็จการศึกษาเมื่อปีการศึกษา 2542 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในปีการศึกษา 2546 หลังจากนั้นได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาดุษฎีบัณฑิตในปีการศึกษา 2547

