

สรุป

1. การผสมข้ามชนิดระหว่าง *V. radiata* กับ ถั่วในสกุล *Vigna* พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ฝักที่ผสมติดสูงเมื่อใช้ *V. radiata* เป็นพันธุ์แม่ โดยผสมได้เมล็ดจากกลุ่มผสมระหว่าง *V. radiata* x *V. radiata* (พันธุ์ป่า), *V. radiata* x *V. mungo*, *V. radiata* x *V. mungo* (พันธุ์ป่า), *V. radiata* x *V. umbellata*, *V. radiata* x *V. umbellata* (พันธุ์ป่า) มีอัตราการงอกของเมล็ดลูกผสมข้ามชนิดเท่ากับร้อยละ 94.1, 40.9, 6.4, 17.5. และ 2.0 และได้ต้นลูกผสมจำนวน 46, 10, 7, 7. และ 1 ต้นตามลำดับ เมล็ดที่ได้จากการผสมข้ามชนิดมีขนาดเล็ก ลีบ ย่น และแตก

2. หลังจากการผสมข้ามชนิดแล้ว เก็บฝักอ่อนหรือฝักที่เพิ่งร่วง มาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ พบว่าฝักร่วงมากจากการผสมข้ามชนิดระหว่าง *V. umbellata* (ทั้งพันธุ์ปลูกและพันธุ์ป่า) x *V. radiata* (ทั้งพันธุ์ปลูกและพันธุ์ป่า) โดยที่ฝักยังเป็นสีเขียวอยู่

3. การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลูกผสมชั่วที่ 1 จากการผสมข้ามชนิดเมื่อใช้ *V. radiata* เป็นพันธุ์แม่ สามารถเพาะเลี้ยงได้เกือบทุกคู่ ยกเว้นเมื่อผสมข้ามชนิดกับ *V. aconitifolia* เท่านั้น โดยพบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกของเอ็มบริโอสูงที่สุด (79.8%) ในกลุ่มผสมระหว่าง *V. radiata* x *V. mungo* (พันธุ์ป่า) สำหรับคู่ผสมอื่น ๆ สามารถเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอได้จากการผสมกับสายพันธุ์พ่อ *V. radiata* (พันธุ์ป่า), *V. mungo*, *V. mungo* (พันธุ์ป่า), *V. umbellata*, *V. umbellata* (พันธุ์ป่า), *V. angularis*, และ *V. glabrescens* โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเอ็มบริโอเท่ากับ 79.0, 72.5, 79.8, 51.3, 43.1, 40.0 และ 4.0 ได้ต้นอ่อนร้อยละ 65.7, 36.7, 49.5, 43.6, 39.2, 0, และ 2.0 ได้ต้นที่สมบูรณ์ร้อยละ 22.8, 1.8, 2.1, 17.9, 9.8,

0 และ 1.0 โดยได้ต้นที่สมบูรณ์จำนวน 24, 2, 4, 7, 5, 0 และ 1 ต้นตามลำดับ

4. ต้นลูกผสมข้ามชนิดชั่วที่ 1 ส่วนใหญ่มีลักษณะอยู่กึ่งกลางระหว่างพ่อแม่ แต่บางกลุ่มผสมให้ลูกชั่วที่ 1 ที่มีอายุสั้นกว่า บางกลุ่มผสมให้ลูกชั่วที่ 1 อายุยาวกว่า หรือต้นเดียวกับพ่อแม่

5. ต้นลูกผสมข้ามชนิดชั่วที่ 1 ส่วนใหญ่เป็นหมัน ความมีชีวิตของละอองเรณูลดลง สามารถออกดอกได้มากมาย แต่ไม่ติดฝัก เปอร์เซ็นต์การติดสีของละอองเรณูสูงที่สุด (20.6%) ในกลุ่มผสมข้ามชนิดระหว่าง *V. radiata* x *V. mungo*

6. การใช้พันธุ์ป่าผสมข้ามชนิดกับพันธุ์ปลูก มีศักยภาพในการช่วยปรับปรุงลักษณะบางอย่าง เช่น ความต้านทานโรคและแมลง จากการสังเกตในสภาพธรรมชาติ พบว่าลูกผสมข้ามชนิดจากหลายกลุ่มผสมที่ได้มีความต้านทานสูงต่อโรคใบจุดและราแป้ง

เอกสารอ้างอิง

- AVRDC. 1974. AVRDC Progress Report 1973. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan. 86 p.
- _____. 1977. AVRDC Progress Report 1976. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan. 72 p.
- _____. 1979. AVRDC Progress Report 1978. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan. 173 p.
- _____. 1981. AVRDC Progress Report 1980. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan. 110 p.

1982. AVRDC Progress Report
1981. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan. 337 p.
1986. AVRDC Progress Report
1984. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan. 480 p.
- Chen, H. K. , M. C. Mok, S. Shanmugasundaram and D. W. S. Mok. 1989. Interspecific hybridization between *Vigna radiata* and *V. glabrescens*. Theor. Appl. Genet. 78 : 641-647.
- Egawa, Y. 1988. Phylogenetic differentiation between three asian *Vigna* species, *V. radiata* , *V. mungo* and *V. umbellata*. Bull. Natl. Agr. Sci. Ser. 4 : 189-200.
- Gamborg, O. L. , R. A. Miller and K. Ojima. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50 : 152-158.
- Gosal, S. S. and Y. P. S. Bajaj. 1983. Interspecific hybridization between *Vigna mungo* and *Vigna radiata* through embryo culture. Euphytica 32 : 129-137.
- Sen, N. K. and A. K. Ghosh. 1960. Interspecific hybridization between *Phaseolus aureus* x *P. mungo*. Bull. Bot. Soc. Belg. 4 : 1-4.
- Singh, D. P. 1981. Breeding for resistance to diseases in green gram and blackgram. Theor. Appl. Genet. 59 : 1-10.
- Smartt, J. 1985. Evolution of grain legumes. III. Pulses in the genus *Vigna*. Exper. Agric. 21 : 87-100.
- Tomooka, N. , C. Lairungreang, P. Nakeeraks, Y. Egawa and C. Thavarasoo. 1991. Research summary in the slide of slides show, pp. 1-24. Mungbean and the genetic resources the Subgenus *Ceratotropis*. Under the cooperative research work between Thailand and Japan. Chai Nat FCRC. Dept. of Agr. Thailand.
- Verdcourt, B. 1970. Studies in the Leguminosae-Papilionoideae for the flora of tropical east Africa, Part 4. New Bull. 24 : 507-569.
- Verma, S. N. P. and H. S. Yadava. 1986. Improvement of greengram through interspecific hybridization. Ind. J. Agric. Sci. 56 : 296-297.
- White, R. P. 1963. The Cultivation of Animal and Plant Cells. Rohat Press, New York. 228 p.

สรุป

การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองให้มีโปรตีนในเมล็ดสูงได้ผลการศึกษา ดังนี้

1. การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ถั่วเหลืองที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ดสูง 738 พันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงสุด คือ G8976 G8884 G8891 G8355 และ G7945 มีเปอร์เซ็นต์โปรตีน ระหว่างร้อยละ 42.6 ถึง 45.9 มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์แนะนำ ร้อยละ 4.9

2. การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ 2 วิธี และในการเปรียบเทียบสายพันธุ์ที่คัดเลือกกับพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์ส่งเสริมอย่างละ 5 พันธุ์ พบว่า ลักษณะทางด้านพืชไร่ที่ศึกษามีความแตกต่างระหว่างกลุ่มสายพันธุ์ เมื่อแยกความแปรปรวนของสิ่งทดลอง เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์ SCF_5 และ DCF_4 ในลักษณะผลผลิตต่อไร่ และความสูงต้น ส่วนลักษณะอื่น ๆ ไม่แตกต่างกัน ระหว่างกลุ่มสายพันธุ์ที่กำลังคัดเลือกเทียบกับกลุ่มพันธุ์พ่อแม่ มีความแตกต่างกันในลักษณะผลผลิตต่อไร่ จำนวนฝักต่อต้น ความสูงต้น และน้ำหนัก 100 เมล็ด

3. ในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงสุด และผลผลิตสูง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ G8891/G7945-38-3-2, G8891/G8976-17-1-2, G8891/G8976-17-2-1, G8884/G7945//G8891/G8976-19-3 และ G8884/G7945//G8891/G8976-21-3 มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนระหว่าง ร้อยละ 50.4 ถึง 52.7 ผลผลิตต่อไร่ 290 ถึง 533 กิโลกรัม ผลผลิตโปรตีนระหว่าง 146 ถึง 271 กิโลกรัมต่อไร่ โดยสายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้มีค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์โปรตีนและผลผลิตต่อไร่สูงกว่าพันธุ์แนะนำ แต่มีน้ำหนัก 100 เมล็ดต่ำกว่า

คำขอขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- สมศักดิ์ ศรีสมบูรณ์. 2536. การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลือง, น. 13-35. ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการใช้เทคโนโลยีเพื่อการผลิตถั่วเหลือง, 4 - 6 สิงหาคม 2536. ศูนย์วิจัยพืชไร่ เชียงใหม่, จ. เชียงใหม่.
- Hartwig, E.E. 1968. Breeding soybeans for high protein content and quality, pp. 67-70. In New Approaches to Breeding for Improved Plant Protein. Proceedings of a Panel ROSTANGA. FAO/IAEA.
- Leffel, R.C. and W.K. Rhodes. 1993. Agronomic performance and economic value of high - seed protein soybean. J. Prod. Agric. 6: 365-368.
- Shorter, R., D.E. Byth and V.E. Mungomery. 1976. Estimates of selection parameters associated with protein and oil content of soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merr). Aust. J. Agric. Res. 28: 211-222.
- Wolf, W.J. 1972. Soybean ultrastructure and its relationship to processing. pp. 231 - 241. In G.E. Inglett (ed.). Symposium : Seed Proteins. AVI Publishing Co., Inc. Westport, Connecticut.

2.4 น้ำหนัก 100 เมล็ด

สายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้มีขนาดเมล็ดใหญ่กว่าพันธุ์พ่อแม่ แต่เล็กกว่าพันธุ์แนะนำ ทั้งนี้ เพราะพันธุ์ที่มีโปรตีนสูงที่เป็นพ่อแม่พันธุ์ มีเมล็ดขนาดเล็กมาก และในการคัดเลือกได้ พิจารณาลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ด สูงมาโดยตลอด ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 100 เมล็ด กลุ่มสายพันธุ์ SCF₅, DCF₄ พันธุ์พ่อแม่และพันธุ์แนะนำ เท่ากับ 11.2, 11.1, 9.8 และ 16.0 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเปรียบเทียบกับพันธุ์แนะนำ เท่ากับ ร้อยละ 70, 70 และ 62 ตามลำดับ

3. ปริมาณโปรตีน

ทุกกลุ่มที่ศึกษามีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยแตกต่างกัน ยกเว้นในการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม SCF₅ และ DCF₄ ระหว่างกลุ่มสายพันธุ์ที่คัดเลือกกับพันธุ์พ่อแม่ และระหว่างพันธุ์พ่อแม่ ค่าเฉลี่ยของกลุ่มสายพันธุ์ SCF₅, DCF₄ พันธุ์พ่อแม่ และพันธุ์แนะนำ เท่ากับ ร้อยละ 50.0 49.4 48.7 และ 45.8 ตามลำดับ เมื่อเทียบสัดส่วนกับพันธุ์แนะนำ พบว่า ค่าเฉลี่ยของกลุ่มสายพันธุ์ SCF₅ สายพันธุ์ DCF₄ และพันธุ์พ่อแม่ เท่ากับ ร้อยละ 109, 108 และ 106 ตามลำดับ

ในการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม สายพันธุ์ SCF₅, DCF₄ พันธุ์พ่อแม่ และพันธุ์แนะนำ พบว่า ระหว่างกลุ่มมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทุกลักษณะที่ศึกษา โดยกลุ่มที่กำลังคัดเลือก และกลุ่มพันธุ์พ่อแม่ มีค่าเฉลี่ยทุกลักษณะที่ศึกษาสูงกว่ากลุ่มพันธุ์แนะนำ ยกเว้นลักษณะน้ำหนัก 100 เมล็ด และในลักษณะปริมาณโปรตีน พบว่า กลุ่มที่กำลังคัดเลือกมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าพันธุ์แนะนำ ร้อยละ 8 ถึง 9 และสูงกว่าพันธุ์พ่อแม่ ร้อยละ 2 ถึง 3 กลุ่มสายพันธุ์ SCF₅ กับกลุ่มสายพันธุ์ DCF₄ มีความแตกต่างกันในลักษณะผลผลิตต่อไร่ และความสูงต้น ส่วนลักษณะอื่น ๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่า การคัดเลือกจากลูกผสมคู่ให้ผลไม่แตกต่างจากการคัดเลือกลูกผสมเดี่ยว เนื่องจากการคัดเลือกเน้นเฉพาะลักษณะขนาดเมล็ด จำนวนเมล็ดต่อต้น และเปอร์เซ็นต์โปรตีน เท่านั้น จึงยังไม่ได้ใช้ประโยชน์จากควมมีฐานพันธุกรรมกว้างของลูกผสมคู่ การคัดเลือกในลักษณะอื่น ๆ จากทั้งสองประชากรจึงให้ผลใกล้เคียงกัน ในการเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์พ่อแม่กับพันธุ์แนะนำ มีลักษณะที่ศึกษาทุกลักษณะแตกต่างกัน เนื่องจากพันธุ์พ่อแม่เป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ จึงมีพันธุกรรมที่แตกต่างจากพันธุ์แนะนำ ส่วนการเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่กำลังคัดเลือก ทั้งกลุ่ม SCF₅ และ DCF₄ กับพันธุ์พ่อแม่ พบว่า ลักษณะที่มีความแตกต่างกัน คือ ผลผลิตต่อไร่ จำนวนฝักต่อต้น ความสูงต้น และน้ำหนัก 100 เมล็ด ส่วนลักษณะอื่น ๆ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนเปอร์เซ็นต์โปรตีนของสายพันธุ์ที่กำลังคัดเลือก ไม่แตกต่างกับพันธุ์พ่อแม่ เนื่องจากพันธุ์พ่อแม่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูง

3. คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงสุด 5 สายพันธุ์

ในการคัดเลือกแบบบันทึกประวัติจากสายพันธุ์จากลูกผสมเดี่ยว ช่วงที่ 5 กับสายพันธุ์จากลูกผสมคู่ ช่วงที่ 4 ได้สายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงสุด 5 อันดับแรก คือ G8891/G7945-38-3-2, G8884/G7945//G8891/G8976-21-3, G8891/G8976-17-1-2, G8884/G7945//G8891/G8976-19-3 และ G8891/G8976-17-2-1 พบว่า มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนระหว่าง ร้อยละ 50.4 ถึง 52.7 (ค่าเฉลี่ย เท่ากับ 51.3) ลักษณะผลผลิตต่อไร่ ระหว่าง 290 ถึง 533 กิโลกรัม (ค่าเฉลี่ย 380 กิโลกรัม) จำนวนฝักต่อต้น มีค่าเฉลี่ย 107 ฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก เฉลี่ย 2.4 เมล็ด ความสูงต้น เฉลี่ย 87 เซนติเมตร น้ำหนัก 100 เมล็ด เฉลี่ย 11.4 กรัม เมื่อพิจารณาผลผลิตโปรตีนต่อไร่โดยนำผลผลิตต่อไร่รวมพิจารณา พบว่า สายพันธุ์ที่มีผลผลิตต่อไร่สูงจะให้ผลผลิตโปรตีนสูงตามด้วย โดยสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตโปรตีนต่อไร่สูงสุดและรองลงมาได้แก่ G8884/G7945//G8891/G8976-19-3 และ G8891/G8976-17-1-2 ซึ่งให้ผลผลิตโปรตีนต่อไร่ เท่ากับ 271 และ 203 กิโลกรัม ตามลำดับ (Table 4)

Table 1 Seed protein percentages of 6 recommended soybean varieties and 5 high protein lines, grown between July to November 1993, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom.

No.	Variety	Protein (% dry basis)	No.	Lines	Protein (% dry basis)
1	Doi Kham	41.5	1	G8976	45.9
2	NS 1	40.5	2	G8884	43.6
3	SJ 5	38.6	3	G8891	43.5
4	SJ 4	37.9	4	G8355	43.5
5	KUSL 20004	37.9	5	G7945	42.6
6	ST 1	37.0			
Average		38.9			43.8

Table 2 Analysis of variance of yield and yield components of 20 selected soybean lines, 5 parents, and 5 recommended varieties.

Source of Variation	df	Yield/ rai	Pods/ plant	Seeds/ pod	Plant height	100 Seed weight	Protein (%)
Between groups ^{1/}	3	**	***	**	**	**	
SCF ₅ vs DCF ₄	1	**	ns	ns	**	ns	
P vs R	1	**	**	**	**	**	
(SCF ₅ + DCF ₄) vs (P)	1	*	**	ns	**	**	ns
Lines/SCF ₅	7	**	**	ns	*	ns	*
Lines/DCF ₄	11	*	ns	ns	ns	ns	*
Among P	4	**	**	**	**	**	ns
Among R	4	**	ns	**	**	**	**

^{1/} Four groups of treatments were 8 single cross lines (SCF₅), 12 double cross lines (DCF₄), 5 parents (P) and 5 recommended varieties (V).

ns, *, ** non-significant, and significant at 5 and 1 % probability, respectively.

Table 3 Average yield and yield components of selected soybean lines, 5 parents and 5 recommended varieties.

Group	Pods/ plant	Seeds/ pod (cm)	Plant height (g)	100 seed weight (kg)	Yield/ rai	Percent in relative	Protein (%)	Percent in relative
SCF ₅	100	2.38	89	11.2	378	126	50.0	109
DCF ₄	100	2.38	93	11.1	491	164	49.4	108
Parents	117	2.37	70	9.8	404	135	48.7	106
Varieties	53	2.26	54	16.0	299	100	45.8	100

Table 4 Yield and yield components of 5 selected soybean lines.

Lines	Yield/ rai (kg/rai)	Pods/ plant (kg)	Seeds/ pod	Plant height (cm)	100 seed weight	Protein (%)	Protein yield
G8891/G7945-38-3-2	296	77	2.3 86	11.4	52.7	156	
G8884/G7945//G8891/G8976-21-3	385	106	2.4 90	11.5	51.4	198	
G8891/G8976-17-1-2	398	122	2.4 89	11.4	51.1	203	
G8884/G7945//G8891/G8976-19-3	533	97	2.4 90	11.3	50.8	271	
G8891/G8976-17-2-1	290	131	2.3 79	11.5	50.4	146	
Selected lines averaged	380	107	2.4 87	11.4	51.3	195	
Recommended varieties averaged	299	53	2.3 54	16.0	45.8	138	

การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองให้มีโปรตีนในเมล็ดสูง

Selection for Soybean Lines Having High Seed Protein

จานุลักษณ์ ขนบดี¹ พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์² รังสฤษดิ์ กาวิตะ² และอนันต์ชัย เขื่อนธรรม³

Januluk Khanobdee, Peerasak Srinives, Rangsarit Kaveeta and Ananchai Khuantham

บทคัดย่อ

นำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ที่นำเข้า 738 พันธุ์ วิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์โปรตีน แล้วคัดเลือก 5 พันธุ์ ที่มีโปรตีนสูงสุด ได้แก่ G7945 G8355 G8884 G8891 และ G8976 เพื่อนำมาผสมข้ามพันธุ์กันแล้ว คัดเลือกโดยใช้วิธีบันทึกประวัติจากลูกผสม 2 กลุ่ม คือ จากกลุ่มลูกผสมเดี่ยว 4 ชั่ว กับจากกลุ่มลูกผสม คู่ 3 ชั่ว พบว่า ค่าเฉลี่ยผลผลิตต่อไร่ของสายพันธุ์ลูกผสมเดี่ยวและลูกผสมคู่สูงกว่าพันธุ์แนะนำ ร้อยละ 26 และ 64 ในขณะที่เปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงกว่าพันธุ์แนะนำ ร้อยละ 9 และ 8 ตามลำดับ แต่น้ำหนัก 100 เมล็ด ต่ำกว่าพันธุ์ส่งเสริม คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีปริมาณโปรตีนสูงได้ 5 สายพันธุ์ มีปริมาณ โปรตีนระหว่างร้อยละ 50.4 ถึง 52.7 ผลผลิตต่อไร่ ระหว่าง 290 ถึง 533 กิโลกรัม

ABSTRACT

Soybean seeds from 738 introduced varieties were analyzed for protein percentage and 5 highest protein accessions were identified, i.e., G7945, G8355, G8884, G8891, and G8976. They were hybridized to form single and double cross hybrids from which a pedigree selection was applied. The single cross group was selected for 4 consecutive generations while the double cross one was selected for 3 generations. Average yields of the selected single cross and double cross lines were higher than those of the recommended cultivars by 26 % and 64 % while protein percentages were higher by 9 and 8 %, respectively. However, 100 seed weight of the selected lines was lower than that of the recommended cultivars. Five selected lines were finally chosen as having protein content ranging from 50.4 to 52.7 % with the seed yield of 290 to 533 kg/rai.

เอกสารแบบ 22

¹ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง ตู้ ปณ. 89 อ. เมือง จ. ลำปาง 52000

² ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

³ ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10903

คำนำ

เมล็ดถั่วเหลืองทั่วไปมี โปรตีน ร้อยละ 40 น้ำมันร้อยละ 21 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 34 และ เถ้าร้อยละ 4.9 (Wolf, 1977) เมื่อนำเมล็ดถั่วเหลืองมาสกัดน้ำมัน กากที่ได้ใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์และทำเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับบริโภคอย่างแพร่หลาย ทั้งนี้ เพราะโปรตีนจากถั่วเหลืองมีคุณค่าทางอาหาร สูงเท่าเทียมกับโปรตีนจากเนื้อสัตว์ แต่ใช้ระยะเวลาในการผลิตสั้น นอกจากนี้ โปรตีนจากพืชตระกูลถั่ว มีคุณภาพดีกว่าโปรตีนจากหญ้าพืชและพืชอื่น ๆ เพราะมีผล

ซีน (lysine) อยู่มาก แม้ว่าจะมีปริมาณ เมไทโอนีน (methionine) และซีสตีน์ (cystine) น้อยกว่าเนื้อสัตว์ จากการที่
ถั่วเหลืองได้รับความนิยมใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญของมนุษย์และสัตว์เพิ่มขึ้น ราคาของโปรตีนจากถั่วเหลืองจึง
สูงกว่าน้ำมันถั่วเหลือง Shorter และคณะ (1976) พบว่า ลักษณะปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองควบคุมโดยยีนหลายคู่ มี
ปฏิกริยาแบบบวกลบผสม อัตราพันธุกรรม (heritability) สูงร้อยละ 70 ถึง 86 อุปสรรคที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ถั่ว
เหลืองให้มีโปรตีนสูง คือ ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ โปรตีนกับน้ำมันเป็นทางลบ (Hartwig, 1968) Leffel และ
Rhodes (1993) รายงานว่า พันธุ์ถั่วเหลือง ในสหรัฐอเมริกาที่มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ย ร้อยละ 41 ปริมาณน้ำมัน ร้อยละ
21 ส่วนสายพันธุ์ที่กำลังปรับปรุงบางสายพันธุ์มีปริมาณโปรตีนโดยน้ำหนักแห้ง มากกว่า ร้อยละ 50 สำหรับประเทศ
ไทย เริ่มดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อโปรตีนสูงตั้งแต่ พ.ศ. 2536 เริ่มจากกรมวิชาการเกษตรนำ พันธุ์เข้ามา
จากประเทศบราซิล และสถาบันวิจัยการเกษตรเขตร้อนนานาชาติ (IITA) ประเทศไนจีเรีย เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน
ในเมล็ด โดยมีวัตถุประสงค์ขั้นสุดท้ายเพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีปริมาณโปรตีน สูง ซึ่งอาจให้ผลผลิตใกล้เคียงหรือสูงกว่าพันธุ์
แนะนำเดิม (สมศักดิ์, 2536) การพัฒนาพันธุ์ ถั่วเหลืองให้มีโปรตีนสูงมีความจำเป็นและคุ้มค่าเพียงไร ขึ้นอยู่กับ
ราคาของโปรตีนถั่วเหลือง และควรมีการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มกรดอะมิโนที่จำเป็นและมีปริมาณจำกัด เช่น เมไทโอนีน
และซีสตีน์ อีกด้วย ความต้องการทางคุณภาพถูกกำหนดโดยความต้องการของตลาด ทั้งนี้ เพราะประเทศไทยมี อุตสาห
กรรมต่อเนื่องที่ใช้ถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ ได้แก่ อุตสาหกรรมการสกัดน้ำมัน การผลิตอาหารสัตว์ และผลิตอาหารแปรรูป
เพื่อการบริโภค คุณภาพของผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีข้อกำหนดมาตรฐานที่เป็นสากล ดังนั้น พันธุ์ถั่วเหลืองที่มีปริมาณโปรตีน
สูงจึงเป็นปัจจัยการผลิตที่สำคัญ สำหรับการช่วยลดต้นทุน และเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เพื่อให้สามารถแข่งขันกับ
ตลาดโลกได้

การทดลองนี้ดำเนินการโดยคัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีปริมาณโปรตีนในเมล็ดสูง 5 พันธุ์ นำมาผสมข้ามกันได้ลูก
ผสมเดี่ยวและลูกผสมคู่ จากนั้น ทำการคัดเลือกแบบบันทึกประวัติจากลูกผสมทั้งสองกลุ่มโดยมีวัตถุประสงค์ ดังนี้

1. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีโปรตีนสูง จากลูกผสมที่ได้ โดยใช้วิธีบันทึกประวัติ
2. เพื่อเปรียบเทียบสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ ในลักษณะด้านพืชไร่ และการตอบสนองต่อการคัดเลือกของลักษณะ
ปริมาณโปรตีนในเมล็ด

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ถั่วเหลือง 738 พันธุ์ ซึ่งมีพันธุกรรมหลากหลายจากทั่วโลก และพันธุ์ที่ทางราชการเผยแพร่ (พันธุ์แนะนำ)
5 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ 'เที่ยงใหม่ 60' 'นครสวรรค์ 1' 'สุโขทัย 1' 'สจ. 4' และ 'สจ. 5' ตลอดจนพันธุ์อื่น ๆ ได้แก่ พันธุ์ 'ดอย
คำ' และ 'KUSL 20004' จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
2. เครื่องอโตอะนาไลเซอร์ (Technicon Auto Analyzer II) ของบริษัท Buchi เพื่อใช้ วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน
ในถั่วเหลือง
3. อุปกรณ์การเกษตร เช่น ปุ๋ยเคมีสูตรต่าง ๆ สารเคมีป้องกันและกำจัดศัตรูพืช

วิธีการ

1. การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ถั่วเหลืองที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ดสูง

จากถั่วเหลือง 738 พันธุ์ นำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเมล็ด คัดเลือกพันธุ์ที่มีโปรตีนสูง กว่าร้อยละ 41 มี
เมล็ดขนาดใหญ่ และสีเหลือง ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเมล็ดของ 6 พันธุ์ คือ นครสวรรค์ 1 สจ. 4 สจ. 5
สุโขทัย 1 ดอยคำ และ KUSL 20004 เพื่อเปรียบเทียบควบคุมกันด้วย

2. การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ

นำพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการคัดเลือกว่ามีเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ดสูง 5 พันธุ์ มาผสมข้ามพันธุ์ เพื่อสร้างลูกผสมเดี่ยว (single cross, SC) และลูกผสมคู่ (double cross, DC) จากนั้น คัดเลือก ลูกในชั่วต่อมาแบบบันทึกประวัติ คัดเลือกสายพันธุ์จากลูกผสมเดี่ยว 4 ชั่ว ได้จำนวน 8 สายพันธุ์ และจาก ลูกผสมคู่ 3 ชั่ว ได้จำนวน 12 สายพันธุ์ นำมาทดสอบเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ G7945 G8355 G8884 G8891 และ G8976 พันธุ์แนะนำ 5 พันธุ์ ได้แก่ เชียงใหม่ 60 นครสวรรค์ 1 สุโขทัย 1 สจ. 4 และ สจ. 5 วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block, RCB) 3 ซ้ำ ระยะปลูกระหว่างต้น 12.5 เซนติเมตร ระหว่างแถว 50 เซนติเมตร ปลูก 1 ต้นต่อหลุม ขนาดแปลงย่อย 1×3 ตารางเมตร เก็บเกี่ยวต้นจากทุกแถวในแต่ละแปลงย่อย

การบันทึกข้อมูล

1. ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)
2. องค์ประกอบของผลผลิต สุ่มตัวอย่าง 10 ต้นต่อแปลงย่อย เพื่อเก็บข้อมูลดังต่อไปนี้
 - 2.1 จำนวนฝักต่อต้น
 - 2.2 จำนวนเมล็ดต่อฝักโดยสุ่มฝักที่ติดเมล็ดสมบูรณ์จากทุกส่วนของต้นมา 20 ฝัก
 - 2.3 ความสูงของต้น (เซนติเมตร)
 - 2.4 น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)
 - 2.5 จำนวนเมล็ดต่อต้น
 - 2.6 น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม)
3. เปอร์เซ็นต์โปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)

3. คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ดสูงสุด 5 สายพันธุ์

นำสายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงสุด 5 สายพันธุ์ ตรวจทดสอบเปอร์เซ็นต์โปรตีน ที่กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และกรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

สถานที่ทำการทดลอง

ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม และศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มตั้งแต่เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2536 สิ้นสุดเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2539

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ถั่วเหลืองที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ดสูง

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเมล็ด พบว่า สายพันธุ์ที่คัดเลือกมีปริมาณโปรตีนระหว่าง ร้อยละ 42.6 ถึง 45.9 โดยพันธุ์ G8976 มีปริมาณโปรตีนสูงสุด ร้อยละ 45.9 ส่วนพันธุ์แนะนำมีปริมาณโปรตีนระหว่างร้อยละ

37.0 ถึง 41.5 (เฉลี่ย ร้อยละ 38.9) โดยพันธุ์ดอยคำมีปริมาณโปรตีนสูงสุด คือ ร้อยละ 41.5 ซึ่งต่ำกว่าพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ ร้อยละ 4.9 (Table 1)

2. การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ

จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ ในทุกลักษณะที่ศึกษา แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ในลักษณะเหล่านี้ ซึ่งสามารถแสดงผลการทดลองโดยแยกตามลักษณะต่าง ๆ ได้ดังนี้

1. ผลผลิตต่อไร่

พบว่า ผลผลิตของสายพันธุ์กลุ่ม SCF₅ 8 สายพันธุ์ กลุ่ม DCF₄ 12 สายพันธุ์ พันธุ์พ่อแม่และพันธุ์แนะนำ อย่างละ 5 พันธุ์ มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยสายพันธุ์กลุ่ม SCF₅ สายพันธุ์ DCF₄ พันธุ์พ่อแม่ และพันธุ์ส่งเสริม มีผลผลิตเฉลี่ย 378, 491, 404 และ 299 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์แนะนำ พบว่า กลุ่ม DCF₄ และพันธุ์พ่อแม่ มีผลผลิตต่อไร่สูงสุดและรองลงมา คิดเป็นร้อยละ 164 และ 135 ของพันธุ์แนะนำ ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์กลุ่ม SCF₅ ให้ผลผลิตเท่ากับ ร้อยละ 126 ของพันธุ์แนะนำ พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มในทุกการเปรียบเทียบ สายพันธุ์กลุ่ม DCF₄ ให้ผลผลิตสูงกว่ากลุ่ม SCF₅ กลุ่มพันธุ์พ่อแม่ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์แนะนำ กลุ่มสายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ (ทั้ง SCF₅ และ DCF₄) ให้ผลผลิตสูงกว่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์แนะนำ ทั้งยังพบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ภายในแต่ละกลุ่มอีกด้วย (Table 2 และ 3)

2. องค์ประกอบของผลผลิต

2.1 จำนวนฝักต่อต้น

จำนวนฝักต่อต้นของกลุ่มสายพันธุ์ SCF₅ ไม่แตกต่างจากสายพันธุ์ DCF₄ ส่วนพันธุ์พ่อแม่ให้ฝักมากกว่าพันธุ์แนะนำ จำนวนฝักต่อต้นเฉลี่ยทั้ง 4 กลุ่ม คือ 100, 100, 117 และ 53 ฝัก ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยของกลุ่มสายพันธุ์ SCF₅ DCF₄ และพันธุ์พ่อแม่ เท่ากับ ร้อยละ 187, 187 และ 219 ของพันธุ์แนะนำ ตามลำดับ สายพันธุ์ภายในกลุ่ม DCF₄ และภายในกลุ่มพันธุ์แนะนำมีจำนวนฝักต่อต้นไม่แตกต่างกัน (Table 2 และ 3) ในขณะที่สายพันธุ์ที่คัดเลือก มีจำนวนฝักต่อต้นต่ำกว่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อแม่

2.2 จำนวนเมล็ดต่อฝัก

ไม่พบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ จากกลุ่มคู่ผสมเดี่ยวและคู่ผสมคู่ (Table 2 และ 3) สายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้มีจำนวนเมล็ดต่อฝักไม่แตกต่างจากค่าเฉลี่ยของกลุ่มพันธุ์พ่อแม่ และไม่พบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ภายในทั้งลูกผสมเดี่ยวและลูกผสมคู่ แต่พบว่า ภายในกลุ่มสายพันธุ์ SCF₅ DCF₄ พันธุ์พ่อแม่ และพันธุ์แนะนำ มีจำนวนเมล็ดต่อฝักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมีค่าเฉลี่ยของกลุ่มเท่ากับ 2.38, 2.38, 2.37 และ 2.26 เมล็ด ตามลำดับ พบว่า ค่าเฉลี่ยของกลุ่มสายพันธุ์ SCF₅ สายพันธุ์ DCF₄ และพันธุ์พ่อแม่ มีจำนวนเมล็ดต่อฝักเมื่อเทียบกับพันธุ์แนะนำเท่ากับร้อยละ 105

2.3 ความสูงต้น

สายพันธุ์ที่คัดเลือกจากลูกผสมคู่มีต้นสูงกว่าสายพันธุ์จากลูกผสมเดี่ยว และสายพันธุ์คัดเลือกทั้งหมดมีต้นสูงกว่าเฉลี่ยของพ่อแม่และพันธุ์แนะนำ กลุ่มที่ศึกษามีความสูงต้นเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ค่าเฉลี่ยของความสูงกลุ่มสายพันธุ์ SCF₅ DCF₄ พันธุ์พ่อแม่และพันธุ์แนะนำ เท่ากับ 89, 93, 70 และ 54 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยของกลุ่มสายพันธุ์ SCF₅ สายพันธุ์ DCF₄ และพันธุ์พ่อแม่ เท่ากับ ร้อยละ 166, 174 และ 131 ของพันธุ์แนะนำ ตามลำดับ

การเกิดคัพภะจากเนื้อเยื่อใบเลี้ยงอ่อนของถั่วเหลือง

Somatic Embryogenesis from Immature Cotyledonary Tissue of Soybean

เสาวณีย์ เหลืองทองอร่าม¹ ถวัลย์ศักดิ์ เผ่าสังข์¹ รังษฤษดิ์ กาวีตะ¹

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ² และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์¹

Saowani Loungthongaram¹ Thawansak Phaosang¹ Rangsarit Kaveeta¹

Pradit Pongtongkam² and Peerasak Srinives¹

ABSTRACT

A study on somatic embryogenesis in soybean was conducted using the cultivar SJ4 and KUSL 20004 line. Immature cotyledons at 15 days after flowering were cultured on MS basic medium supplemented with B5 vitamins, 0.3% sucrose, 0-20 mg/l NAA and 0-20 mg/l 2,4-D, solidified by 0.3% gelrite. Three weeks after culturing, the highest frequency of callus derived from the explants was observed on the medium containing 7.5 mg/l NAA, in combination with 2.5 mg/l 2,4-D. The callus was subsequently proliferated. The highest proliferation frequency was on hormone-free medium of MS salts, B5 vitamins, with 0.6% sucrose and 0.3% gelrite, cultured for 14 days. The callus was regenerated on the same medium supplemented with 5 mg/l yeast extract.

Key words : soybean, somatic embryogenesis, NAA, 2,4-D

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาการพัฒนาดันถั่วเหลืองจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อ ผ่านกระบวนการเกิดคัพภะจากเซลล์ต้นพืช (somatic embryogenesis) โดยนำส่วนของใบเลี้ยงอ่อนจากเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์สง.4 และ KUSL 20004 ที่มีอายุ 15 วันหลังดอกบาน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ซึ่งมีสูตรอาหารพื้นฐานของ Murashige and Skoog (MS) และวิตามินของสูตรอาหาร B5 น้ำตาลซูโครส 0.3% gelrite 0.3% NAA ความเข้มข้น 0-20 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D 0-20 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติม NAA 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำแคลลัสจากใบเลี้ยงอ่อนของถั่วเหลืองได้สูงสุดทั้ง 2 พันธุ์ จากนั้นนำแคลลัสที่ได้จากอาหารข้างต้นไปเพิ่มปริมาณ พบว่า สูตรอาหารของ MS ร่วมกับวิตามิน B5 ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาลซูโครส 0.6% และ gelrite 0.3% เมื่อเพาะเลี้ยงแล้ว 14 วัน สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้ดีที่สุด แคลลัสที่เพิ่มปริมาณได้สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้น โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกันที่เติม yeast extract 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารแนบ 23

1. ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus
Nakhon Pathom 73140
2. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10903
Department of Genetics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10903

คำนำ

ถั่วเหลือง (*Glycine max* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย นิยมนำมาบริโภคโดยตรง หรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้หลายชนิด และใช้เป็นอาหารสัตว์ การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองส่วนใหญ่ใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐาน (conventional breeding) การใช้เทคโนโลยีชีวภาพยังมีน้อยกว่า ซึ่งเทคโนโลยีชีวภาพที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองมีหลายวิธี วิธีที่นิยมกันวิธีหนึ่งได้แก่ การเพาะเลี้ยงคัพภะจากเซลล์ต้นพืช (somatic embryogenesis) ร่วมกับการถ่ายยีน (transformation)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดคัพภะของถั่วเหลือง

1. ชิ้นส่วนพืช

ในถั่วเหลืองมักใช้เมล็ดอ่อน (immature cotyledon) เพาะเลี้ยง เนื่องจากการชักนำให้เกิดคัพภะจากต้นกล้าหรือเมล็ดแก่ จะได้ต้นที่มีลักษณะผิดปกติ (Beverdort และ Bingham, 1977) Komatsuda และคณะ (1992) พบว่า เมล็ดอ่อนของถั่วเหลืองพันธุ์ Bonminor ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.0-5.0 มม. ที่ตัดแกนคัพภะออก สามารถชักนำให้เกิด somatic embryo ได้ดีบนอาหารสูตรที่ใช้เกลือจาก MS วิตามินจาก B5

2. อาหารเพาะเลี้ยง

Evans และคณะ (1981) ตั้งข้อสังเกตไว้ว่า ประมาณ 70% ของเนื้อเยื่อพืชมักเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS หรือสูตรอาหารดัดแปลงของ MS ซึ่งการเลือกสูตรอาหารมีผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงคัพภะได้ อาหารสูตร MS มีปริมาณไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมไนเตรตสูง ช่วยชักนำให้เกิดคัพภะและการสุกแก่ของคัพภะ ธาตุเหล็กในรูปของ chelated ion คือ EDTA และธาตุโบดิสเซียมมีความสำคัญต่อการพัฒนาคัพภะ (Ammirato, 1983) ส่วนน้ำตาลซูโครส เป็นแหล่งของ reduced carbon สำหรับการกำเนิดคัพภะ (Verma และ Dougall, 1977)

3. สารควบคุมการเจริญเติบโต

ออกซินสังเคราะห์ เช่น 2,4-D, zeatin และ succinic acid มีผลในการกระตุ้นหรือส่งเสริมการกำเนิดคัพภะ ออกซินธรรมชาติ เช่น IAA ออกซินสังเคราะห์ IBA รวมทั้งไซโตไคนินสังเคราะห์ เช่น BAP มีผลในการยับยั้งการกำเนิดคัพภะ (รังสฤษดิ์, 2540) การใช้ออกซินอย่างเดี่ยวหรือใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนิน มีผลต่อการเจริญและการชักนำการเกิดคัพภะ (Fujimura และ Komamine, 1980)

4. ปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม

4.1 แสง

ความต้องการแสงในการกำเนิดคัพภะขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เช่น ยาสูบ (*Nicotiana tabacum*) ต้องการความเข้มแสงสูงสำหรับการกำเนิดคัพภะ (Ammirato, 1983) ส่วนในพืชสกุล *Daucus* (Ammirato และ Steward, 1971) และ *Carum* (Ammirato, 1974) ต้องการความมืดเพื่อชักนำให้คัพภะสุกแก่ Ranch และคณะ (1986) ศึกษาการเกิดคัพภะของถั่วเหลืองพันธุ์ Gem เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ในสภาพไม่มีแสงเกิดคัพภะ 26.0% สภาพ

ความเข้มแสง 100 lux ตลอดเวลาเกิดคัพพะ 54.0% สภาพความเข้มแสง 1,580 lux เป็นเวลา 16 ชั่วโมง เกิด 62.0% สภาพความเข้มแสง 2,400 lx เป็นเวลา 16 ชั่วโมง เกิด 76.0%

4.2 อุณหภูมิ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการกำเนิดคัพพะ โดยปกติต้องการอุณหภูมิสูงกว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออื่น ๆ เพียงเล็กน้อย คือ สูงกว่า 25 °ซ (รังสฤษฎ์, 2540) Ranch และคณะ (1986) พบว่า การกำเนิดคัพพะของถั่วเหลือง พันธุ์ Gem เกิดได้สูงสุด (76.7%) ที่อุณหภูมิ 28 °ซ ส่วนที่อุณหภูมิ 33 °ซ ทำให้เนื้อเยื่อตายหมด

4.3 ออกซิเจน

คัพพะหรือเซลล์ที่เปลี่ยนไปเป็นคัพพะ มีกิจกรรมภายในเซลล์ค่อนข้างสูง จึงต้องการออกซิเจนในปริมาณมาก เพื่อใช้ในกระบวนการหายใจให้ได้พลังงานมาใช้ (รังสฤษฎ์, 2540) ปริมาณออกซิเจนสูง กระตุ้นการเกิดแคลลัสและรากในกระบวนการเกิดคัพพะของพืช (Kessel และ Carr, 1972)

4.4 ความเป็นกรดและด่างของอาหารเพาะเลี้ยง

มีความผันแปรขึ้นอยู่กับชนิด อายุ และระยะการพัฒนาของพืชที่จะนำชิ้นส่วนมาเลี้ยง (รังสฤษฎ์, 2540) Thompson และคณะ (1977) พบว่า ความเป็นกรดและด่างของอาหารเพาะเลี้ยง ที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสะสมโปรตีนของใบเลี้ยงอ่อนของถั่วเหลือง มีค่าประมาณ 6.0

วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1. เพื่อพัฒนากระบวนการกำเนิดคัพพะ (somatic embryogenesis) ของถั่วเหลืองพันธุ์ไทย
2. เพื่อเป็นพื้นฐานการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองในสภาพเพาะเลี้ยง

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

- | | |
|---|---|
| 1. ถั่วเหลืองพันธุ์สง.4 และสายพันธุ์ KUSL 20004 | 4. autoclave |
| 2. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ | 5. hot air oven |
| 3. ตู้ laminar air flow | 6. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ |
| 7. อุปกรณ์ในการเตรียมและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น เครื่องแก้ว ไปปต มีดผ่าตัด ตะเกียงอัลกอฮอล์ เป็นต้น | |

วิธีการทดลอง

การเตรียมเนื้อเยื่อถั่วเหลืองเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส

1. ปูถั่วเหลืองพันธุ์สง.4 และสายพันธุ์ KUSL 20004 ที่แปลงทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักแห่งเอเชีย

2. เก็บฝักถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์ เมื่อมีอายุหลังออกดอก 15 วัน คัดเลือกฝักอ่อนที่มีเมล็ดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำมาล้างน้ำ จากนั้นแช่แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาแช่ในอัลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% อีก 5 นาที
3. แกะฝัก นำเมล็ดอ่อนฟอกด้วยคลอโรกซ์ความเข้มข้น 20% ร่วมกับ Tween 20 เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งมาเช็ดแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที
4. ตัดเมล็ดด้านที่มีแกนด้านอ่อน (embryonic axis) ออก เหลือเพียงใบเลี้ยง 2 ส่วน นำไปวางให้ส่วนโค้งของใบเลี้ยง (abaxial) สัมผัสกับอาหารสูตรพื้นฐาน MS วิตามินของสูตรอาหาร B5 ร่วมกับ NAA และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 วัน เก็บข้อมูลโดยนับจำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัสจากจำนวนที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด

การเพิ่มปริมาณแคลลัส

ตัดแคลลัสของใบเลี้ยงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำ มาเพิ่มปริมาณบนอาหารสูตรพื้นฐาน MS วิตามินของสูตรอาหาร B5 ร่วมกับ NAA และ 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน บันทึกข้อมูลโดยให้คะแนนการเกิดแคลลัสด้วยสายตา ดังนี้

- + หมายถึง ปริมาณแคลลัสเพิ่มขึ้นน้อย
- ++ หมายถึง ปริมาณแคลลัสเพิ่มขึ้นปานกลาง
- +++ หมายถึง ปริมาณแคลลัสเพิ่มขึ้นมาก

การพัฒนาแคลลัสให้เป็นคัพพะ

นำแคลลัสจากการเพิ่มปริมาณ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรพัฒนาแคลลัสให้เป็นคัพพะเป็นเวลา 30 วัน

การชักนำคัพพะให้เกิดขึ้น

นำคัพพะที่ได้มาเพาะเลี้ยงและชักนำให้เกิดขึ้น บันทึกข้อมูลจำนวนต้นที่เกิดขึ้น

สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ทุกสูตรปรับ pH เท่ากับ 5.8)

1. อาหารชักนำการเกิดแคลลัส

MS macro salts	B5 vitamins	NAA
MS micro salts	sucrose 3%	2,4-D
MS iron	gelrite 0.3%	

2. อาหารเพิ่มปริมาณแคลลัส

MS macro salts	B5 vitamins	gelrite 0.3%
MS micro salts	sucrose 6%	NAA
MS iron	glutamine 2000 mg/l	2,4-D

3. อาหารชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นคัพภะและต้น

MS macro salts	B5 vitamins	ABA
MS micro salts	sucrose 3%	glutamine
MS iron	gelrite 0.3%	yeast extract

สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์พืชตระกูลถั่ว ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม
2. ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักแห่งเอเชีย (ARC/AVRDC) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

ผลการทดลอง

1. การชักนำให้เกิดแคลลัส

การเพาะเลี้ยง cotyledon ของถั่วเหลืองพันธุ์สง.4 บนอาหารสูตรพื้นฐานของ MS วิตามินของสูตรอาหาร B5 และใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต คือ ออกซิน (auxin) ได้แก่ NAA และ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (Table 1) พบว่า cotyledon ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของ NAA ร่วมกับ 2,4-D คือ 7.5 กับ 2.5, 10.0 กับ 10.0 และ 15.0 กับ 5.0 มก./ลิตร เป็นเวลา 21 วัน เมื่อนับจำนวนชิ้นที่เกิดแคลลัสจากจำนวนชิ้นที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด พบว่าเกิดแคลลัสได้มากที่สุด 47 จาก 48 ชิ้นหรือ 97.92%

Table 1 Callus formation from cotyledon of SJ4 soybean on induction medium supplemented with NAA and 2,4-D, cultured for 21 days.

NAA (mg/l)	2,4-D (mg/l)	Callus / explant (%)	Callus fresh weight (g)
10.0	0	8.33 (4/48)	0.084
20.0	0	23.07 (12/52)	0.043
0	10.0	65.63 (21/32)	0.032
0	20.0	96.15 (50/52)	0.088
5.0	5.0	93.75 (45/48)	0.191
2.5	7.5	93.75 (45/48)	0.192
7.5	2.5	97.92 (47/48)	0.219
10.0	10.0	97.92 (47/48)	0.204
15.0	5.0	97.92 (47/48)	0.199

การเพาะเลี้ยง cotyledon ของถั่วเหลืองสายพันธุ์ KUSL 20004 บนอาหารสูตรพื้นฐานของ MS วิตามินของสูตรอาหาร B5 และใช้ NAA ร่วมกับ 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (Table 2) พบว่า ใบเลี้ยงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของ NAA ร่วมกับ 2,4-D คือ 7.5 กับ 2.5, 10.0 กับ 10.0, และ 15.0 กับ 5.0 มก./ลิตร เป็นเวลา 21 วัน เกิดแคลลัสได้สูงสุด คือ 64.28% (36 จาก 56 ใบเลี้ยง)

Table 2 Callus formation from cotyledon of KUSL 20004 on induction medium supplemented with NAA and 2,4-D cultured for 21 days.

NAA (mg/l)	2,4-D (mg/l)	Callus/explant (%)	Callus fresh weight (g)
10.0	0	53.03 (35/66)	0.027
20.0	0	37.14 (39/105)	0.083
0	10.0	58.30 (7/12)	0.092
0	20.0	54.54 (24/44)	0.086
5.0	5.0	62.50 (10/16)	0.101
2.5	7.5	62.50 (10/16)	0.098
7.5	2.5	64.28 (36/56)	0.283
10.0	10.0	64.28 (36/56)	0.244
15.0	5.0	64.28 (36/56)	0.239

2. การเพิ่มปริมาณแคลลัส

หลังจากที่ชักนำการเกิดแคลลัสจากใบเลี้ยงได้แล้ว จึงเพิ่มจำนวนแคลลัสโดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเพิ่มปริมาณแคลลัส ที่ใช้ NAA และ 2,4-D ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า แคลลัสที่ได้สามารถเพิ่มจำนวนได้มากที่สุดบนอาหารเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเติม NAA และ 2,4-D (Table 3 และ Table 4) แสดงว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณแคลลัสที่ได้จากใบเลี้ยงอ่อนของถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์นี้

Table 3 Callus proliferation of SJ4 soybean on induction medium supplemented with NAA and 2,4-D cultured for 14 days.

NAA (mg/l)	2,4-D (mg/l)	Embryogenic callus
0	0	+++
0	2.5	+
0	5.0	+
5.0	5.0	+
10.0	5.0	+

+ and +++ represent slight and high proliferation, respectively

Table 4 Callus proliferation of KUSL 20004 soybean on induction medium supplemented with NAA and 2,4-D cultured for 14 days.

NAA (mg/l)	2,4-D (mg/l)	Embryogenic callus
0	0	+++
0	2.5	+
0	5.0	+
5.0	5.0	+
10.0	5.0	+

+ and +++ represent slight and high proliferation, respectively

3. การชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นคัพภะและการชักนำให้เกิดต้น

นำแคลลัสที่เพิ่มปริมาณได้ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นคัพภะ เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารชักนำให้เกิดต้น พบว่า คัพภะที่ได้จากใบเลี้ยงของทั้ง 2 พันธุ์ สามารถชักนำให้เกิดต้น ได้บนอาหารที่เติม yeast extract 5 มก./ลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

Table 5 Plant regeneration percentage of SJ4 and KUSL 20004 soybean on induction medium cultured for 30 days.

	SJ4	KUSL 20004
ABA 0.1 mg/l	-	-
ABA 1.0 mg/l	-	-
Glutamine 10 mM	-	-
Yeast extract 5 mg/l	30%(3/10)	50% (6/12)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงอ่อนของถั่วเหลืองพันธุ์สง.4 และสายพันธุ์ KUSL 20004 เกิดแคลลัสได้ทั้ง 2 พันธุ์ จากอาหารเพาะเลี้ยงสูตรพื้นฐานของ MS วิตามินของสูตร B5 ร่วมกับ NAA 7.5 มก./ลิตรและ 2,4-D 2.5 มก./ลิตร สามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้สูงสุดบนอาหารสูตรพื้นฐาน MS วิตามินของสูตร B5 ที่ไม่มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต แคลลัสที่เพิ่มปริมาณได้นำไปพัฒนาให้เป็นคัพภะ จากนั้นนำคัพภะไปชักนำให้เกิดต้น พบว่า ถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์สามารถชักนำให้เกิดต้นได้จากอาหารเพาะเลี้ยงสูตรเดียวกันที่เติม yeast extract 5 มก./ลิตร

คำนิยม

งานวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

- รังสฤษฎ์ กาวิฑีระ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Ammirato, P.V. 1974. The effects of abscisic acid on the development of somatic embryos from cell of caraway (*Carum carvi* L.). Bot. Gaz. 135 : 328-337.
- Ammirato, P.V. 1983. Embryogenesis. pp. 82-123. In D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Ammirato and Y. Yamada (eds.), Handbook of Plant Cell Culture. McMillan, New York.
- Ammirato, P.V. and F.C. Steward. 1971. Some effects of the environment on the development of embryos from cultured free cells. Bot. Gaz. 132 : 149-158.
- Berversdorf, W.D. and E.T. Bingham. 1977. Degree of differentiation obtained in tissue cultures of *Glycine* species. Crop Sci. 17 : 307-311.
- Evans, D.A., W.R. Sharp and C.E. Flick. 1981. Growth and behavior of cell cultures : Embryogenesis and organogenesis. pp. 45-113. In T.A. Thorpe (ed.), Plant Tissue Culture : Methods and Application in Agriculture. Academic Press, New York.
- Fujimura, T. and A. Komamine. 1980. Mode of action of 2,4-D and zeatin on somatic embryogenesis in a carrot cell suspension culture. Z. Pflanzenphysiol. 99 : 1-8.
- Kessel, R.H.J. and A.H. Carr. 1972. The effect of dissolved oxygen concentration on growth and differentiation of carrot (*Daucus carota*) tissue. J. Exp. Bot. 23 : 996-1007.
- Komatsuda, T., W. Lee and S. Oka. 1992. Maturation and germination of somatic embryos as affected by sucrose and plant growth regulations in soybean *Glycine gracillis* Skvortz and *Glycine max* (L.) Merr. Plant Cell Tissue Organ Cult. 28 : 103-113.
- Ranch, J.P., L. Ogelsby and A.C. Zielinski. 1986. Plant regeneration from cultures of soybean by somatic embryogenesis. pp. 97-110. In I.K. Vasil (ed.), Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. Academic Press. New York.
- Thompson, J.F., J.T. Madison and A.M.E. Muenster. 1977. In vitro culture of immature cotyledon of soybean (*Glycine max* L. Merr.). Ann. Bot. 41 : 29-39.
- Verma, D.C. and D.K. Dougall. 1977. Influence of carbohydrate on quantitative aspects of growth and embryo formation in wild carrot suspension cultures. Plant Physiol. 59 : 81-85.

พันธุกรรมที่ต้านทานต่อเชื้อ *Fusarium solani* และ *Macrophomina phaseolina* ในถั่วเหลือง
Genetic Resistance of *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina* in Soybean

สุกุมารณ์ ศรีเผด็จ¹ พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์¹

รังสฤษฎ์ กาวีตะ¹ และศรีสุข พูนผลกุล²

Sukumaporn Sriphadej¹, Peerasak Srinives¹

Rangsarid Kavecta¹, and Srisuk Poonpolgul²

ABSTRACT

Soybean grown in many parts of Thailand are infested by the sudden death syndrome (SDS) incited by the fungi *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina*. The pathogens survive over seasons in the soil for many years and cause yield reduction of up to 15-20 %. Many Thai recommended cultivars are susceptible to the disease. Control of the disease through chemical and cultural practices are not effective at the moment. Thus the use of resistant cultivars seems to be the best control measures. To identify for resistant genotypes, fungus suspension was inoculated into the sorghum meal, and later mixed with the soil (infested sorghum method). For *Fusarium solani* the rate used was 10 % while the *Macrophomina phaseolina* was mixed at 6, 8, and 10 percents v/v, prior to planting the soybeans. Germination percentage was recorded 7 days after planting and disease reaction was observed thereafter. The results revealed that the soybean genotypes can be divided into 4 groups. The highly resistance group comprised KUSL 20004 and GC 89045-13, the moderate resistance group comprised GC 85039-1-2-1-1 and GC 88028-4, the moderate susceptible group comprised GC 87016-12-B-5 and SS 84062-2-3, and the susceptible group was GC 87018-12-2B-1. Crossing is being made among the 4 groups to study on inheritance of the resistance to the SDS.

เอกสารแบบ 24

Key word: *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, Soybean, Sudden death syndrome

1 ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

2 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ 10903

Plant Pathology and Microbiology Division, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok 10903

บทคัดย่อ

ถั่วเหลืองที่ปลูกในแหล่งปลูกของประเทศไทยหลายแหล่ง กำลังประสบกับปัญหาเป็นโรค sudden death syndrome (SDS) ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium solani* และ *Macrophomina phaseolina* เชื้อทั้งสองชนิดเจริญอยู่ในดินได้นานหลายปี ทำให้ถั่วเหลืองที่เป็นโรคผลผลิตลดลง 15-20 % โดยพันธุ์ส่งเสริมของไทยก็ประสบกับปัญหาดังกล่าว การควบคุมโรคด้วยสารเคมีและการเกษตรกรรม ยังไม่มีรายงานว่าประสบความสำเร็จ การใช้พันธุ์ต้านทานจึงเป็นวิธีการควบคุมที่ดีที่สุด ดังนั้น จึงได้มีการศึกษาและคัดเลือกหาพันธุ์กรรมที่ต้านทานต่อเชื้อโรค เริ่มจากเลี้ยงเชื้อราแต่ละชนิดในข้าวฟ่าง แล้วปลูกเชื้อลงในดินด้วยวิธี infested sorghum method นำข้าวฟ่างที่มีเชื้อติดกับดินด้วยอัตราต่าง ๆ กัน กล่าวคือ เชื้อ *Fusarium solani* ใช้ข้าวฟ่าง 10 % โดยปริมาตรของเชื้อต่อปริมาตรดิน อัตราเดียว ส่วนเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ใช้อัตราต่าง ๆ กัน คือ 6, 8 และ 10 % โดยปริมาตร แล้วทำการปลูกถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่าง ๆ ตามลงไป ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด 7 วันหลังปลูก และสังเกตปฏิกิริยาการตอบสนองของต้นถั่วเหลืองต่อการเกิดโรค พบว่าสามารถแบ่งสายพันธุ์ถั่วเหลืองได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ต้านทานมาก คือ สายพันธุ์ KUSL 20004 กับ GC 89045-13 กลุ่มที่ต้านทานปานกลาง คือ สายพันธุ์ GC 85039-1-2-1-1 กับ GC 88028-4 กลุ่มที่ต้านทานน้อย ถึง สายพันธุ์ GC 87016-12-B-5 กับ SS 84062-2-3 และ กลุ่มที่อ่อนแอมาก คือ สายพันธุ์ GC 87018-12-2B-1 จึงทำการผสมเกสรระหว่างถั่วเหลืองทั้ง 4 กลุ่ม เพื่อศึกษาพันธุ์กรรมที่ควบคุมการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อโรค SDS ต่อไป

คำนำ

ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) จัดเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คนไทยบริโภคถั่วเหลืองทั้งในรูปเมล็ดและรูปอื่น ๆ เช่น สก๊ตน้ำมัน เต้าเจี้ยว และซอสปรุงรสชนิดต่าง ๆ รวมถึงผลิตภัณฑ์แปรรูป เช่น สาบู่ ผงซักฟอก ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ จึงนิยมใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ ปัจจุบันถั่วเหลืองที่ผลิตได้ภายในประเทศยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ ด้วยเหตุนี้ รัฐบาลจึงได้ส่งเสริมให้มีการขยายพื้นที่ปลูก และหาทางเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ให้มากขึ้น แม้ว่าผลผลิตถั่วเหลืองจะเพิ่มขึ้น แต่ก็ยังอยู่ในอัตราที่ต่ำ เนื่องจากขาดแคลนพันธุ์ดี และมีการระบาดของโรคและแมลง เป็นสาเหตุที่สำคัญ ดังรายงานของ Sinclair and Shurtleff (1975) พบว่า ถั่วเหลืองมีเชื้อสาเหตุที่สามารถก่อให้เกิดโรคกว่า 100 ชนิด ถั่วเหลืองพันธุ์ส่งเสริมที่เกษตรกรใช้ปลูกมีพันธุ์ดีค่อนข้างน้อย ก่อนเฝ้าต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค การใช้สารเคมีเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถปฏิบัติได้ แต่เป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และก่อให้เกิดสารพิษตกค้าง

ในพืช และสิ่งแวดล้อม การใช้พันธุ์ต้านทานทำให้การระบาดของเชื้อโรคลดลง ลดปัญหาสารพิษตกค้าง และสามารถลดต้นทุนการผลิต ถั่วเหลืองที่ใช้ปลูกในประเทศไทย ปัจจุบันจะประสบปัญหาเรื่องโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรค sudden death syndrome (SDS) ซึ่งเกิดจากเชื้อสาเหตุ *Fusarium solani* ทำให้เกิดอาการใบจุดสีน้ำตาลเป็นวงกลม (necrosis) ใบเหลืองม้วนงอ และแห้งตายในที่สุด (Yorimori, 1994) และมีรายงานของ Roy *et al.* (1997) ว่า เชื้อโรคสามารถติดต่อด้านทางเมล็ด (seed born) เกิดเมล็ดที่เสื่อมคุณภาพ และเมล็ดแข็งเพิ่มขึ้น ทำให้ถั่วเหลืองที่เป็นโรคผลผลิตลดลง 15-20 %

Steptens *et al.* (1993) ได้ทำการศึกษาอาการของโรคบนใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ Ripley เพื่อจำแนกลักษณะความต้านทาน โดยทำการทดลองในเรือนกระจก พบว่า ความต้านทานต่อการเกิดโรคของเชื้อ *F. solani* ควบคุมด้วยยีนเด่น *Rfs* ทำให้ถั่วเหลืองสามารถทนทานต่อสารพิษ ซึ่งเป็นสาร polypeptide ที่เชื้อผลิตขึ้นมาได้ สารนี้ไม่ทนความร้อน มีประจุลบ และถูกทำลายได้ด้วย enzyme proteinase K (Jim *et al.*, 1996) แต่แตกต่างจากการศึกษาในแปลงปลูก ที่พบว่า ความต้านทานต่อเชื้อ *F. solani* ถูกควบคุมด้วยยีนหลายตำแหน่ง (Njiti *et al.*, 1996) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Torto *et al.* ในปี 1997 ทำให้ไม่สามารถปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อต้านทานต่อทุก race ได้ เนื่องจากอัตราความต้านทานจะพัฒนาให้เกิดได้ยากโดยวิธีคัดเลือกแบบมาตรฐาน เพราะพบว่า มียีนหลายตำแหน่งที่ควบคุมลักษณะนี้ และมีอิทธิพลร่วมกับสิ่งแวดล้อมด้วย แต่อาจจะพัฒนาพันธุ์ถั่วเหลืองที่สามารถทนทานได้ในระดับหนึ่ง (Chang *et al.*, 1996)

Njiti *et al.* (1997) ทำการผสมพันธุ์ถั่วเหลืองระหว่าง พันธุ์ Essex กับ Forrest ต่อเชื้อ *F. solani* พบว่า มียีนหลัก (major genes) ที่ควบคุมลักษณะความต้านทาน อยู่ 4 ตำแหน่ง โดยยีนที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวมาจากพันธุ์ Forrest 3 ตำแหน่ง และจากพันธุ์ Essex อีก 1 ตำแหน่ง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Huetkovesky *et al.* (1996) ที่ได้ทำการผสมพันธุ์ระหว่าง Forrest กับ Pyramid โดยพบว่า ความต้านทานต่อเชื้อ *F. solani* ถูกควบคุมด้วยยีนหลายตำแหน่ง

ในประเทศไทยยังพบอีกว่า เชื้อ *Macrophomina phaseolina* ก็เป็นสาเหตุของโรค sudden death syndrome ได้ เชื้อนี้มีรายงานในละหุ่งว่ามียีนควบคุม 1 คู่ (Grezes-Besset *et al.*, 1996) ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาเพื่อหาสายพันธุ์ต้านทาน สำหรับเป็นแหล่งพันธุกรรมเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคนี้ในถั่วเหลืองอีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สายพันธุ์ถั่วเหลืองจากศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักแห่งเอเชีย ได้แก่ KUSL 20004, GC 89045-13, GC 85039-1-2-1-1, GC 88028-4, GC 87016-12-B-5, SS 84062-2-3 และ GC 87018-12-28-1
2. เชื้อราสาเหตุของโรคที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เชื้อ *Fusarium solani* และเชื้อ *Macrophomina phaseolina*
3. วัสดุอุปกรณ์ทางการเกษตร เช่น กระจกดิน ช้อนปลูก ตะแกรง ไม้บรรทัด
4. อุปกรณ์ในการเตรียมเชื้อ เช่น ตู้เขี่ยเชื้อ หลอดทดลอง จานเลี้ยงเชื้อ
5. อุปกรณ์ในการผสมเกสร
6. วัสดุอุปกรณ์ในการบันทึกผล

วิธีการ

วิธีการแยกเชื้อและเตรียมเชื้อให้บริสุทธิ์

• เชื้อ *Fusarium solani*

นำดินที่เก็บจากแปลงที่มีโรครบาด มาละลายในน้ำกลั่น โดยใช้ดิน 10 กรัมต่อน้ำกลั่น 90 มล. (ความเข้มข้น 10^{-2}) แล้วทำให้เจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-4} , 10^{-5} และ 10^{-6} ตามลำดับ ในระหว่างการทำให้เจือจาง จะต้องปั่นดินให้เข้ากันดีกับน้ำทุกครั้ง แล้วแยกเชื้อโดยวิธี dilution plate โดยนำน้ำสารละลายดินที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ความเข้มข้นละ 0.1 มล. หยดลงบนอาหาร peptone dextrose rose-bengal agar ซึ่งเป็น selective media ใช้แท่งแก้วเกลี่ยให้ทั่วผิวน้ำอาหาร แล้วนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-2 วัน แล้วแยกเชื้อจนบริสุทธิ์ใน potato dextrose agar (PDA) เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

• เชื้อ *Macrophomina phaseolina*

ใช้วิธี tissue transplanting โดย चुคมเปลือกบริเวณที่เป็นโรคออก แล้วตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติ หรือนำดินพืชที่แสดงอาการเป็นโรคมาคัดเนื้อเยื่อบริเวณโคนต้นแช่ใน clorox 10% นาน 5 นาที นำมาวางบน peptone dextrose rose-bengal agar ซึ่งใช้เป็น selective media แล้วแยกเชื้อจนบริสุทธิ์ใน potato dextrose agar (PDA) สามารถเปลี่ยนอาหารได้ไม่เกิน 4 ครั้ง เนื่องจากถ้าเปลี่ยนอาหารหลายครั้งกว่านี้ จะทำให้ความสามารถในการเกิดโรคน้อยลง

ในการเลี้ยงชื้อรานั้น อาหารที่ใช้แยกเชื้อและเลี้ยงเชื้อ จะต้องใส่ streptomycin เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียด้วยเสมอ

การเตรียม inoculum เพื่อนำไปปลูกเชื้อ

เมื่อเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อ *Fusarium solani* และเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ตามขั้นตอนต่าง ๆ ได้แล้ว เชื้อที่เปลี่ยนในอาหาร PDA อาจได้จำนวนเส้นใย หรือ spore เชื้อราไม่พอเพียงที่จะนำไปปลูกเชื้อทดลองในถั่วเหลือง จึงจำเป็นต้องเตรียมเชื้อราให้มากพอ โดยการขยายเชื้อราจากอาหาร PDA มาเลี้ยงบนข้าวฟ่าง ซึ่งมีขั้นตอนในการทำดังนี้

1. นำเมล็ดข้าวฟ่างที่สะอาดประมาณครึ่งกิโลกรัมมาแช่น้ำสะอาด ทิ้งไว้เป็น 24 ชม. แล้วจึงเทน้ำออก นำเมล็ดข้าวฟ่างไปวางบนตะแกรง ปล่อยให้เมล็ดแห้งโดยการผึ่งลม หรืออาจนำเมล็ดข้าวฟ่างที่สะอาดมาคั่วประมาณ 15-20 นาที จนเมล็ดเริ่มนํม รินน้ำออก แล้วผึ่งลมไว้สักครู่

2. บรรจุเมล็ดข้าวฟ่างลงในขวด ขนาด 250 มล. ประมาณครึ่งขวด ปิดขวดด้วยสำลีและใช้กระดาษปิดทับอีกครั้งหนึ่ง ระวังให้แน่น แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที ข้าวฟ่างจะถูกพอกดี นำออกจากหม้อนึ่งความดัน ปล่อยให้เย็น จะได้เมล็ดข้าวฟ่างที่ใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเชื้ออื่น ๆ มาเพาะปน

3. ขยายเชื้อบริสุทธิ์ของ *F. solani* และเชื้อ *M. phaseolina* มาใส่ใน flask หรือขวด โดยทำในตู้เขี่ยเชื้อภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เมื่อขยายเชื้อเรียบร้อยแล้ว นำขวดเลี้ยงเชื้อมาเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องปกติต่อไป

4. หลังจากขยายเชื้อแล้ว 2-3 วัน เชื้อราจะเริ่มเจริญ มีเส้นใยเกาะตามเมล็ดข้าวฟ่าง ควรเขย่าขวดให้เส้นใยของเชื้อรากระจายกระจายจนทั่วขวด และเจริญได้เท่า ๆ กัน ซึ่งจะเป็นการดีต่อการเตรียมโคนิเดีย (conidia) หลังเลี้ยงเชื้อราในขวดได้ประมาณ 2 สัปดาห์ จะได้เชื้อราที่สร้างสปอร์มากพอที่จะนำไปปลูกบนต้นพืช เชื้อราที่เตรียมได้ไม่ควรปล่อยให้ยืดยาวเกินไป เพราะจะทำให้ความแข็งแรง หรือประสิทธิภาพในการทำให้เกิดโรคลดลง

การคลุกเชื้อ

นำดินที่ต้องการคลุกเชื้อมานึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที แล้วนำดินที่เตรียมไว้มาวัดปริมาตรเพื่อหาอัตราคลุกเชื้อที่เหมาะสม คลุกเชื้อ *F. solani* อัตรา 10% โดยปริมาตรของเชื้อต่อปริมาตรดินอัตราเดียว ส่วนเชื้อ *M. phaseolina* ทำการคลุกเชื้อในอัตราต่าง ๆ กัน ดังนี้ คือ 6, 8 และ 10 % โดยปริมาตรเชื้อต่อปริมาตรดิน นำดินที่คลุกเชื้อด้วยข้าวฟ่างแล้วไปใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 10x13 นิ้ว ปลูกถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่าง ๆ ตามลงไป รดน้ำให้ชุ่ม หลังจาก 7 วัน ตรวจนับเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด และสังเกตปฏิบัติการตอบสนองของต้นถั่วเหลืองต่อการเกิดโรค

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการตรวจสอบความงอกของเมล็ดถั่วเหลืองที่ปลูกในดินที่คลุกเชื้อ *Fusarium solani* และ *Macrophomina phaseolina* ให้ผลสอดคล้องกัน ดังแสดงใน Table 1 และ Table 2 กล่าวคือ ถั่วเหลืองสายพันธุ์ KUSL20004 และ GC 89045-13 มีอัตราการงอกสูงสุด ในขณะที่ สายพันธุ์ GC 87018-12-2B-1 มีอัตราการงอกต่ำสุด ทำให้สามารถแบ่งสายพันธุ์ถั่วเหลืองได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ต้านทานมาก คือ สายพันธุ์ KUSL 20004 กับ GC 89045-13 กลุ่มที่ต้านทานปานกลาง คือ สายพันธุ์ GC 85039-1-2-1-1 กับ GC 88028-4 กลุ่มที่ต้านทานน้อย คือ สายพันธุ์ GC 87016-12-B-5 กับ SS 84062-2-3 และ กลุ่มที่อ่อนแอมาก คือ สายพันธุ์ GC 87018-12-2B-1 ทำการผสมเกสรระหว่างถั่วเหลืองทั้ง 4 กลุ่ม เพื่อศึกษาพันธุกรรมที่ควบคุมการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อโรค SDS คอไป ทั้งในโรงเรือนและในแปลงทดลอง

ถำนิคม

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนค้ำเงินงบประมาณ จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

- Chang, S. J., T. W. Doubler, V. Kilo, R. Suttner, J. Klein, M. E. Schmidt, P. T. Gibson, and D. A. Lightfoot. 1996. Two additional loci underlying durable field resistance to soybean sudden death syndrome (SDS). *Crop Sci.* 36:1684-1688.
- Hnetkovesky N., S. J. Chang, T. W. Doubler, P. T. Gibson, and D. A. Lightfoot. 1996. Genetic mapping of loci underlying field resistance to soybean sudden death syndrome (SDS). *Crop Sci.* 36:393-400.
- Grezes-Besset B., N. Lucante, V. Kelecian, R. Dargent, and H. Muller. 1996. Evaluation of castor bean resistance to sclerotial wilt disease caused by *Macrophomina phaseolina*. *Plant Dis.* 80:824-846.
- Jin H., G. L. Hartman, C. D. Nickell, and J. M. Widholm. 1996. Phytotoxicity of culture filtrate from *Fusarium solani*, the causal agent of sudden death syndrome of soybean. *Plant Dis.* 80:922-927.

- Njiti, V.N., M.A. Shenaut, R. J. Suttner, M. E. Schmidt, and P. T. Gibson. 1996. Soybean response to sudden death syndrome : Inheritance influenced by cyst nematode resistance in Pyramid x Douglas progenies. *Crop Sci.* 36:1165-1170.
- Njiti, V.N., R.J. Suttner, L.E. Gray, P.T. Gibson, and D. A. Lightfoot. 1997. Rate-reducing resistance to *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* underlies field resistance to soybean sudden death syndrome. *Crop Sci.* 37:132-138.
- Roy K.W., J.C. Rupe, D.E. Hershrnan, and T.S. Abrey. 1997. Sudden death syndrome of soybean. *Plant Dis.* 81:1100-1111.
- Sinclair, J.B. and M. C. Shurtleff. 1975. Compendium of Soybean disease. The American Phytopathological Society. Minnesota. 82 p.
- Stephens P. A., C. D. Nickell, and F. L. Kolb. 1993. Genetic analysis of resistance to *Fusarium solani* in soybean. *Crop Sci.* 33:929-930.
- Torto G.A., V. N. Njiti, L. E. Gray, and D. A. Lightfoot. 1997. An effective greenhouse assay for field resistance to SDS. *Soybean Genet. Newsl.* 24:132-133.
- Yorinori J. T. 1994. Fungal disease. *Tropical Soybean : Improvement and Production*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. p.37-38.

Table 1 Germination of 7 soybean lines in the soil infested by *Macrophomina phaseolina*, tested under greenhouse condition.

Line name	6 % v/v		8 % v/v		10 % v/v	
	Planted	Germinated	Planted	Germinated	Planted	Germinated
KUSL 20004	40	36	40	31	40	20
GC 89045-13	40	30	40	27	40	13
GC 85039-1-2-1-1	40	26	40	21	40	8
GC 88028-4	40	22	40	18	40	6
GC 87016-12-B-5	40	18	40	13	40	1
SS 84062-2-3	40	12	40	10	40	0
GC 87018-12-2B-1	40	6	40	4	40	0

Table 2 Germination of 7 soybean lines in the soil infested by *Fusarium solani*, tested under greenhouse condition.

Line name	Seeds planted	Seeds germinated
KUSL 20004	30	24
GC 89045-13	30	21
GC 85039-1-2-1-1	30	18
GC 88028-4	30	14
GC 87016-12-B-5	30	8
SS 84062-2-3	30	5
GC 87018-12-2B-1	30	1

การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่เมล็ดพันธุ์มีอายุการเก็บรักษาได้ยาวนาน
Selection for Seed Storability in Soybean

สุริยณ สุภาพ¹ พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์¹
ภาณี ทองพูน² วรวิทย์ โสรจจาภินันท์³
สนั่น ริวทองชุ่ม³ เข็มหาญ เจเดือน³ และ วันเฉลิม ชูตานนท์³
Suriyon Supab¹, Peerasak Srinives¹,
Panie Tongpumnuk², Worawit Sorajjapinun³,
Sanan Riewthongchum³, Hiamhan Jathaun³, and Wanchalerm Theetanont³

ABSTRACT

The experiment was conducted to select for soybean lines having good storability and field germinability as compared to 3 soybean cultivars, i.e. NS1, CM60, and KUSL20004. The cultivars, especially CM60, lose their germination percentages easily. Data from an accelerated aging (AA) test of 95 soybean lines revealed that 30 lines were superior in terms of germination percentage, with the 100 seed weight well over 10 gm. The lines were compared with the above 3 cultivars for standard germination, seed moisture content, AA test, electrical conductivity of seed leachate in water, and AA test under controlled seed moisture and germination temperature. Two lines were finally chosen to cross with the above 3 cultivars and select for soybean lines with high seed storability, high yield and yield components, and desirable agronomic characters.

Key words: Soybean, Seed storability, Germination test, Hard seed, Selection

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่เมล็ดมีความแข็งแรงสูงสามารถงอกในสภาพไร่นาได้ดี โดยเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองอีก 3 พันธุ์ได้แก่ นครสวรรค์ 1 เชียงใหม่ 60 และ KUSL20004 เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว โดยเฉพาะพันธุ์ เชียงใหม่ 60 เสื่อมความงอกเร็ว จากการตรวจสอบความสามารถในการงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 95 สายพันธุ์ โดยผ่านการเร่งอายุของเมล็ด สามารถคัดเลือกถั่วเหลืองได้ 30 สายพันธุ์ ที่มีความแข็งแรงของเมล็ดสูงและมีน้ำหนัก 100 เมล็ดเกิน 10 กรัม นำเมล็ดพันธุ์ทั้ง 30 สายพันธุ์ปลูกร่วมกับพันธุ์ทั้ง 3 เพื่อนำเมล็ดไปทดสอบความงอกโดยวิธีมาตรฐาน หาค่าความชื้นภายในเมล็ด เร่งอายุของเมล็ด วัดค่า

เอกสารแนบ 25

1 ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

2 ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

Central Laboratory and Greenhouse Complex, KURDI, Kasetsart University, Kamphaeng Saen

3 ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

Tropical Vegetable Research and Development Center, Kasetsart University, Kamphaeng Saen

ความนำไฟฟ้าของน้ำแช่เมล็ด และเร่งอายุของเมล็ด ขณะควบคุมความชื้นในเมล็ด และอุณหภูมิในขณะเพาะ จากผลการทดลองสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่รักษาความงอกได้ดี 2 สายพันธุ์ จึงนำสายพันธุ์ดังกล่าวผสมกับพันธุ์ทั้ง 3 เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้เมล็ดเก็บรักษาได้ยาวนาน มีผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะทางการเกษตรที่ต้องการ

คำนำ

ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) จัดเป็นพืชที่เมล็ดพันธุ์มีอายุการเก็บรักษาสั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งถั่วเหลืองที่ปลูกในประเทศเขตร้อน อย่างไรก็ตาม พบว่ามีถั่วเหลืองบางพันธุ์ที่มีอายุการเก็บรักษายาวนาน (Kueneman, 1983) จากการทดลองของ วันชัย (2533) ศึกษาอายุการเก็บรักษามล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองของสหรัฐอเมริกา และประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบว่าพันธุ์ที่มีเมล็ดขนาดเล็กจากเอเชียตะวันออกเฉียงใต้หลายพันธุ์ สามารถรักษาความงอกได้ยาวนานกว่าพันธุ์อื่น จึงกล่าวได้ว่า พันธุกรรมมีผลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วย นอกจากนี้ ประวัติเมล็ด การพักตัว และสภาพการเก็บรักษา ก็มีผลต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจะเสื่อมคุณภาพเร็วภายใต้อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์สูง (Ndimande *et al.*, 1981) องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดพันธุ์เป็นลักษณะหนึ่งที่ถูกควบคุมโดยพันธุกรรม จากการศึกษาของ วันชัย และคณะ (2539) พบว่า ลักษณะทางกายภาพของเมล็ดพันธุ์บางลักษณะ น้ำหนักเมล็ด ค่า eccentricity (บ่งบอกรูปร่างเมล็ด) เปอร์เซ็นต์เยื่อหุ้มเมล็ด และเปอร์เซ็นต์แกนคัพพะ มีความสัมพันธ์กับคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ Edwards and Hartwig (1971) ศึกษาถั่วเหลือง 3 สายพันธุ์ ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียงกัน (near-isogenic lines) แต่มีน้ำหนักเฉลี่ยของเมล็ดแตกต่างกัน พบว่า สายพันธุ์ที่มีเมล็ดขนาดเล็กและขนาดกลางสามารถงอกได้เร็วกว่า และมีความแข็งแรงสูงกว่าสายพันธุ์ที่มีเมล็ดมีขนาดใหญ่ Potts *et al.* (1978) รายงานว่า ลักษณะเมล็ดแข็งมีอิทธิพลต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ โดยลักษณะเมล็ดแข็งถูกควบคุมด้วยยีนหลัก (major genes) 3-4 ตำแหน่ง เมล็ดแข็งเป็นการพักตัวของเมล็ดพันธุ์เพื่อการอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ซึ่งช่วยป้องกันการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลือง เมล็ดแข็งมักถูกคัดทิ้ง เนื่องจากมีปัญหาในการงอก แต่ในพืชบางชนิดที่มีปัญหาในการควบคุมคุณภาพเมล็ดพันธุ์ นักปรับปรุงพันธุ์พืชได้พยายามใช้ประโยชน์จากลักษณะเมล็ดแข็ง ในการรักษาความงอกของพืชตระกูลถั่ว

การตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีการเร่งอายุ (accelerate aging หรือ AA-test) สามารถจำแนกสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่เมล็ดมีอายุการเก็บรักษายาวนาน ออกมาจากสายพันธุ์อื่นได้ สรรพสิทธิ์ (2540) ตรวจสอบความสามารถในการรักษาความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 95 สายพันธุ์ พบว่า ความงอกหลังจากผ่านการเร่งอายุ มีสหสัมพันธ์กับความงอกในสภาพไร่อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

การวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่เมล็ดมีความแข็งแรงสูง และนำไปใช้ในการผสมพันธุ์กับถั่วเหลืองอีก 3 พันธุ์ได้แก่ นครสวรรค์ 1 เชียงใหม่ 60 และ KUSL20004 เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่เมล็ดเก็บรักษาได้ยาวนาน มีผลผลิต องค์ประกอบของผลผลิต และลักษณะทางการเกษตรที่ต้องการ

อุปกรณ์และวิธีการ

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจากศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักแห่งเอเชีย (AVRDC) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จำนวน 300 สายพันธุ์ที่เก็บในห้องเย็นเป็นเวลา 2 ปี มาตรวจสอบความงอกในห้องปฏิบัติการ คัดเอาสายพันธุ์ที่มีความงอกตั้งแต่ 10 % ขึ้นไป และมีอายุเก็บเกี่ยวไม่เกิน 100 วัน มาปลูกขยายสายพันธุ์ละ 20 เมล็ด ในแปลงขนาด 0.5 x 3 เมตร ปลูก 1 แถวต่อสายพันธุ์ หลุมละ 1 ต้น ตรวจสอบความงอกที่ 7 และ 10 วันหลังปลูก เมื่อถั่วเหลืองแก่จึงเก็บเกี่ยวผลผลิต คัดเลือกเฉพาะสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตอย่างน้อย 100 เมล็ดขึ้นไปได้ทั้งหมด 95 สายพันธุ์ นำเมล็ดมาสายพันธุ์ละ 100 เมล็ดเพื่อตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ โดยตรวจสอบความแข็งแรงด้วยวิธี accelerated aging test ตรวจสอบความงอกมาตรฐาน และตรวจสอบความงอกในไร่ นำผลการตรวจสอบความงอกหลังการเร่งอายุ และความงอกในไร่ ของทั้ง 95 สายพันธุ์ เปรียบเทียบและหาสหสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ได้ จากการตรวจสอบทั้ง 2 วิธี จัดบันทึกระดับความแข็งแรงตามข้อกำหนดของ American Official Seed Analysts; AOSA) โดยเมล็ดที่มีความงอกตั้งแต่ 70 % ขึ้นไป จัดเป็นเมล็ดที่มีความแข็งแรงสูง คัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองกลุ่มที่เมล็ดมีความแข็งแรงสูง และน้ำหนัก 100 เมล็ดเกิน 10 กรัมขึ้นไปได้ทั้งหมด 30 สายพันธุ์ ปลูกถั่วเหลืองทั้ง 30 สายพันธุ์ร่วมกับพันธุ์ นครสวรรค์ 1 (นว.1) เชียงใหม่ 60 (ชม. 60) และ KUSL 20004 ในสภาพไร่ ที่แปลงศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อนมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ใช้ขนาดแปลงย่อย 1 x 5 เมตร จำนวน 3 ต้นต่อหลุม เก็บข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางการเกษตร ผลผลิต และองค์ประกอบของผลผลิต เมล็ดถั่วเหลืองที่เก็บเกี่ยวได้นำไปตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพในลักษณะความงอกมาตรฐาน (ใช้วิธีของ International Seed Testing Association; ISTA, 1985) ความแข็งแรงหลังการเร่งอายุ (accelerated aging test ; AA-test) ที่ 40 °ซ, ความชื้นสัมพัทธ์ 100 % นาน 72 ชั่วโมง (Delouche and Baskin, 1973)

การตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดโดยวิธีการควบคุมความชื้นและอุณหภูมิขณะการเร่งอายุ (controlled deterioration test ; CD - test) มีหลักการเดียวกับ AA-test แต่เพิ่มวิธีการควบคุมความชื้นในเมล็ด โดยการปรับความชื้นในเมล็ดให้ได้ใกล้เคียงกัน เมื่อบรรจุในภาชนะปิดผนึกแล้วจึงนำไปไว้ที่อุณหภูมิสูง ส่วนการทำ AA-test นั้น เมล็ดจะเพิ่มความชื้นขึ้นเรื่อย ๆ ขณะที่อยู่ใน

อุณหภูมิเร่งความเสื่อม และการที่เมล็ดดูดซึมน้ำเข้าไปในอัตราที่ต่างกันนี้ ทำให้เกิดอัตราการเสื่อมที่ต่างกันในช่วงเวลาการเร่งความเสื่อม ส่วน CD-test นั้น เริ่มจากเมล็ดที่มีความชื้นเริ่มต้นเท่ากัน และถูกครึ่งไว้ ณ จุดเดิม ขณะทำการเร่งความเสื่อมด้วยอุณหภูมิสูง วิธีการนี้ได้ดัดแปลงเพิ่มเติมจาก Don *et al.* (1981) เริ่มจากนำเมล็ดไปวางบนกระดาษเพาะที่แช่น้ำ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 17 ชั่วโมง หากเก็บไว้นานเกินไปจะทำให้รากอ่อนงอกออกมาได้ บรรจุเมล็ดในถุงอูมิแน่นพอยล์แล้ว ปิดผนึกนำไปเร่งอายุใน water bath อุณหภูมิ 45 °C นาน 48 ชั่วโมง นำเมล็ดออกมาผึ่งไว้ในอุณหภูมิห้องข้ามคืน แล้วจึงทำการเพาะตามวิธีของ ISTA ใช้เมล็ดซ้ำละ 50 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ

การวัดความแข็งแรงโดยวิธีวัดค่าความนำไฟฟ้า (electrical conductivity test) ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด โดยบรรจุเมล็ดในบีกเกอร์ เติมน้ำ 100 ลบ.ซม. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 20 °C นาน 24 ชั่วโมง จึงนำไปวัดค่าความนำไฟฟ้าของน้ำแช่เมล็ด ด้วยเครื่อง electrical conductivity meter มีหน่วยเป็น $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g seed}$ ส่วนการหาความชื้นของเมล็ดพันธุ์ ใช้วิธีอบที่ 103 °C นาน 17 ชั่วโมง

การวางแผนการทดลอง ในห้องปฏิบัติการใช้แผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำ ผลการทดลองนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย และหาความสัมพันธ์ simple correlation ระหว่างคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ที่หาได้จากวิธีการดังกล่าวข้างต้น

ผลและวิจารณ์

ผลการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่าง ๆ ทั้ง 95 สายพันธุ์ โดยวิธีเร่งอายุ พบว่า ความงอกหลังการเร่งอายุแล้วของถั่วเหลืองแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน สามารถแบ่งได้เป็น 3 ระดับ คือ สูง (สูงกว่า 70%) 49 สายพันธุ์ กลาง (55-70%) 19 สายพันธุ์ และต่ำ (ต่ำกว่า 55%) 27 สายพันธุ์ เนื่องจากเมล็ดที่นำมาทดสอบเป็นผลผลิตจากการปลูกขยายในฤดูปลูกเดียวกัน จึงถือได้ว่า แต่ละสายพันธุ์ได้รับการดูแลรักษา สภาพแวดล้อม อายุเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษาใกล้เคียงกัน การที่แต่ละสายพันธุ์มีความงอกหลังเร่งอายุแตกต่างกันในช่วงค่อนข้างกว้างนี้ อาจเนื่องมาจาก ในขณะที่เมล็ดกำลังพัฒนาและสุกแก่อยุ่นั้น มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมแตกต่างกัน จึงทำให้เมล็ดที่เก็บเกี่ยวมา มีคุณภาพที่แตกต่างกัน (วันชัย, 2533) นอกจากนี้ ลักษณะทางพันธุกรรมซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของแต่ละสายพันธุ์ ก็มีผลถึงความแข็งแรงที่ซ่อนเร้นอยู่ในเมล็ด และแสดงออกมาให้เห็นเมื่อเมล็ดอยู่ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ที่ไม่เหมาะสม คุณภาพเมล็ดดี อาจเกิดจากพันธุกรรมของเมล็ด หรือเกิดจากสภาพแวดล้อมที่เมล็ดได้รับตลอดกระบวนการผลิตเมล็ดพันธุ์ก็ได้ และเนื่องจากการทดสอบโดยวิธีเร่งอายุ ไม่มีการปรับความชื้นในเมล็ดก่อน ความชื้นที่แตกต่างกันจะทำให้เมล็ดมีความได้เปรียบเสียเปรียบในการงอกต่างกัน (วันชัย, 2533)

ค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ระหว่างความงอกจากการทดสอบโดยวิธีเร่งอายุ กับความงอกในสภาพไร่ มีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน ($r = 0.475$) แสดงให้เห็นว่า ถ้าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีความงอกสูงหลังการเร่งอายุ ความงอกในแปลงปลูกก็จะสูงด้วย ทำให้สามารถประเมินคุณภาพเมล็ดจากความงอกหลังการเร่งอายุได้ ส่วนน้ำหนัก 100 เมล็ด กับเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ได้จากการทดสอบแบบต่าง ๆ พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์กัน เช่นเดียวกับความงอกที่ทดสอบในแปลง ในเบื้องต้นก็พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน ทั้งนี้เนื่องจากเมล็ดที่นำมาทดสอบ มีอายุการเก็บรักษายาวนานเกินไป คือประมาณ 2 ปี ก่อนที่จะนำมาตรวจสอบ

จากการศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ ทั้ง 33 สายพันธุ์ (Table 1) พบว่า มีวันออกดอกและวันเก็บเกี่ยวไม่แตกต่างกันนัก แต่มีความสูงต้นแตกต่างกันมาก ตั้งแต่ 19 ถึง 82.4 ซม. อีกลักษณะหนึ่งที่น่าสนใจได้แก่ สีของเมล็ด ทั้งนี้เพราะอาจนำมาในการคัดเลือกเพื่อปรับปรุงคุณภาพเมล็ดได้ Starzinger *et al.* (1982) รายงานว่า ถั่วเหลืองพันธุ์เมล็ดสีดำ มีความสามารถในการเก็บรักษาไว้ได้นานกว่าถั่วเหลืองที่มีสีเมล็ดจางซึ่งใน Table 1 แสดงให้เห็นว่า เมล็ดถั่วเหลืองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีทั้งเมล็ดสีเหลือง เขียว น้ำตาลแก่ และดำ

การที่เมล็ดมีการเสื่อมสภาพมาก จึงมีความงอกต่ำ จำนวนต้นกล้าปกติมีน้อย ข้อมูลใน Table 2 พบว่า พันธุ์นครสวรรค์ 1 และ KUSL 20004 มีจำนวนต้นกล้าปกติสูงกว่า พันธุ์เชียงใหม่ 60 ส่วนสายพันธุ์ GC4670, GC10215, GC10848, GC10999 และ GC9822 มีต้นกล้าปกติเฉลี่ยประมาณ 60-70 %

ลักษณะเมล็ดแข็งจากการตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ทั้ง 3 วิธี พบว่า วิธีการควบคุมความชื้นและอุณหภูมิขณะเร่งอายุ มีจำนวนเมล็ดแข็งน้อยที่สุด เนื่องจากการนำเมล็ดแช่ในน้ำร้อนสามารถแก้ไขลักษณะเมล็ดแข็งได้ (Kueneman, 1983) พันธุ์ เชียงใหม่ 60 มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดแข็งสูงกว่าพันธุ์นครสวรรค์ 1 และ KUSL20004 สายพันธุ์ GC10999, GC4816, GC10920, GC4670 และ GC7715 มีเมล็ดแข็งเฉลี่ยประมาณ 17-27 % เมล็ดคนละพันธุ์กันมีลักษณะทางกายวิภาคและองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกัน ทำให้มีปริมาณเมล็ดแข็งที่แตกต่างกัน เป็นผลให้อายุการเก็บรักษาด่างกันไปด้วย เมล็ดแข็งสามารถเก็บรักษาได้นานกว่าปกติ จากรายงานของ Kilen and Hatwing (1978) กล่าวว่า ลักษณะเมล็ดแข็งถูกควบคุมโดยยีนหลัก (major gene) 3-4 ตำแหน่ง และลักษณะดังกล่าวถ่ายทอดสู่รุ่นลูกโดยผ่านทางฝ่ายแม่ ดังนั้นต้องใช้สายพันธุ์เมล็ดแข็งเป็นสายพันธุ์แม่ เพื่อถ่ายทอดลักษณะเมล็ดแข็งสู่รุ่นลูก

จากการทดลอง พบว่า การทดสอบความแข็งแรงโดยวิธี AA-test จะประสบปัญหาเกิดเชื้อรา ทำให้การประเมินผลการทดลองผิดพลาด เพราะไม่สามารถทราบได้ว่า เชื้อราเกิดขึ้นจากภายในเมล็ด หรือที่ติดมาจากเมล็ดอื่น ดังนั้น จึงสมควรที่จะหาวิธีการทดสอบความแข็งแรงวิธีอื่นที่สามารถทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อน ใช้อุปกรณ์ธรรมดาที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการมา และพบว่าวิธี CD-test

สามารถแก้ปัญหาก็ได้ Anon. (1975) รายงานว่า ผลการงอกของ CD-test มีความสัมพันธ์อย่างสูงกับความงอกในไร่ และมีความสัมพันธ์กับค่าการนำไฟฟ้าของน้ำแช่เมล็ดอีกด้วย (Table 3)

ค่าการนำไฟฟ้า ซึ่งแสดงถึงความแข็งแรงของเมล็ด พบว่า พันธุ์ KUSL 20004 มีค่าการนำไฟฟ้า 165.20 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ seed สูงกว่าพันธุ์ เชียงใหม่ 60 (119.90) และพันธุ์ NS1 (102.80) ส่วนสายพันธุ์ GC4670, GC10972, GC10981, GC4816 และ GC10848 ซึ่งเป็นกลุ่มเมล็ดสีเข้ม มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำกว่ากลุ่มที่มีเมล็ดสีจางค่าการนำไฟฟ้าที่มากสะท้อนถึงการรั่วไหลของสารที่มีมากขึ้น การเพิ่มขึ้นของสารรั่วไหลจะมากขึ้นตามระดับความเสื่อมสภาพของเมล็ดนั้น สำหรับการหาค่าความชื้นในเมล็ด พบว่า ค่าที่วัดได้เฉลี่ยประมาณ 6.37-9.32 %

จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะต้นกล้าปกติ เมล็ดแข็ง ค่าการนำไฟฟ้า และค่าความชื้นของเมล็ด พบว่า ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างต้นกล้าปกติจากวิธีทดสอบความงอก กับต้นกล้าปกติของวิธี AA-test มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน แสดงว่า ถ้านำเมล็ดถั่วเหลืองที่มีความงอกสูง ไปเร่งอายุ ความงอกหลังการเร่งอายุก็จะสูงด้วย ความสัมพันธ์ระหว่างเมล็ดแข็งจากวิธีทดสอบความงอก กับวิธี AA-test และวิธี CD-test มีความสัมพันธ์กัน แสดงว่าสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีจำนวนเมล็ดแข็งแรงมาก เมื่อผ่านการเร่งอายุแล้วเมล็ดแข็งก็ยังคงมีจำนวนมากเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่น ๆ และพบว่าวิธี CD-test จะแก้ไขลักษณะเมล็ดแข็งได้ดีกว่าวิธี AA-test

ค่าการนำไฟฟ้า มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงข้ามกับลักษณะต่าง ๆ 4 ลักษณะ

(Table 3, Fig. 1) ได้แก่ เปอร์เซ็นต์เมล็ดแข็งแรงของวิธีทดสอบความงอก ต้นกล้าปกติแบบ CD-test เมล็ดแข็งของวิธี AA-test และเมล็ดแข็งของวิธี CD-test แสดงให้เห็นว่า เมล็ดที่มีความงอกสูงทั้งก่อน และหลังการเร่งอายุและเมล็ดแข็ง มีการรั่วไหลของสารออกจากเมล็ดน้อย ทำให้วัดค่าการนำไฟฟ้าได้ต่ำกว่าสายพันธุ์ที่มีการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดมาก ความชื้นในเมล็ดมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงข้ามกับลักษณะเมล็ดแข็งจากการทดสอบการงอก เมล็ดแข็งจาก CD-test และเมล็ดแข็งจาก AA-test แสดงว่า การเกิดเมล็ดแข็ง เมล็ดต้องมีความชื้นภายในเมล็ดต่ำ

สรุปผลการทดลอง

1. เมล็ดถั่วเหลืองต่างสายพันธุ์กัน มีความสามารถในการเก็บรักษา หรือมีอัตราการเสื่อมสภาพที่ต่างกัน
2. ความงอกในไร่ (initial field emergence) ของเมล็ดที่เก็บไว้เป็นเวลานาน ไม่มีความสัมพันธ์กับความงอกหลังการเร่งอายุและความงอกของเมล็ดในไร่

3. ความงอกหลังการเร่งอายุกับความงอกในไร่ของเมล็ดใหม่มีความสัมพันธ์กัน และสามารถประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์ได้จากความงอกที่ผ่านการเร่งอายุ
4. ลักษณะเมล็ดแข็งช่วยให้เมล็ดพันธุ์มีอายุการเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้น และช่วยรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ให้คงอยู่ได้นานขึ้น
5. ลักษณะเมล็ดแข็งมีปัจจัยทางพันธุกรรมควบคุมลักษณะดังกล่าว และสามารถแก้ไขลักษณะเมล็ดแข็งโดยการแช่น้ำร้อน
6. วิธีการทดสอบความแข็งแรงแบบ Controlled Deterioration Test มีความสัมพันธ์กับการนำไฟฟ้า, ความงอกในแปลง และสามารถแก้ปัญหการเกิดเชื้อราของวิธี AA-test ได้

เอกสารอ้างอิง

- วันชัย จันทรประเสริฐ. 2533. การศึกษาความงอก ความแข็งแรง และความสามารถในการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 18 สายพันธุ์. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทช.) 24(3):261-267.
- วันชัย จันทรประเสริฐ สุชาติ อ่อนคำ รังสฤษฎ์ กาวีดิษฐ์ และสุรพล อุปติสสกุล. 2539. การเสื่อมคุณภาพในแปลงและลักษณะทางกายภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 10 พันธุ์. น. 296-302. ใน รายงานการประชุมวิชาการถั่วเหลืองแห่งชาติ ครั้งที่ 6. วันที่ 3-6 กันยายน 2539 โรงแรมดิเอ็มเพรส จ. เชียงใหม่.
- สรรพสิทธิ์ คอยคำ. 2540. การตรวจสอบความสามารถในการรักษาความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 95 สายพันธุ์. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- Anon. 1975. Vegetable seeds regulations. Her Majesty's Stationery Office, London. p.39-45.
- Delouche, J.C., and C.C. Baskin. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. Seed Sci. & Technol. 1: 427-452.
- Don, R., W.J. Rennie, and M.M. Tomlin. 1981. A comparison of laboratory vigour test procedures for winter wheat seed samples. Seed Sci. & Technol. 9: 641-653.
- Edwards, C. J. and E.E. Hartwig. 1971. Effect of seed size upon rate of germination in soybeans. Agron. J. 63:429-430.
- ISTA. 1985. International rules for seed testing. Seed Sci. & Technol. 13:299-355.
- Kilen, T.C., and E.E. Hartwig. 1978. An inheritance study of impermeable seed in soybean. Field Crops Res. 1(1):65-70.
- Kueneman, E.A. 1983. Genetic control of seed longevity in soybeans. Crop Sci. 23:5-8.
- Ndimande, B.N., H.C. Wien, and E.A. Kueneman. 1981. Soybean seed deterioration in the tropics. The role physiological factors and fungal pathogens. Field Crops Res. 4(2):113-121.
- Potts, H.C., J. Duangpatra, W.G. Hairston, and J.C. Delouche. 1978. Some influences of hardseededness on soybean seed quality. Crop Sci. 18:221-224.
- Starzinger, E.K., S.H. West and K. Hinson. 1982. An observation on the relationship of soybean seed coat colour to viability maintenance. Seed Sci. & Technol. 10 : 301-305.

Table 1. Agronomic characters, yield and yield components of 33 soybean lines tested at ARC/AVRDC field, Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom, 1997.

Accession no.	Days to flowering	Days to maturity	Flower color	Plant height (cm)	Pods / plant	Seeds / pod	100 seed wt. (gm)	Yield (kg/rai)	Seedcoat color
GC 2679	27	80	P	25.4	18.2	2.10	18.1	147.2	Y
GC 2697	27	84	P	50.6	46.2	2.60	11.68	227.2	Y
GC 2796	27	76	W	35.4	29.8	2.54	16.12	249.6	Y
GC 2888	27	78	W	27.2	22.8	2.02	17.71	182.4	Y
GC 3318	27	86	P	27.8	35.6	2.04	15.54	134.4	G
GC 4120	28	80	W	55.0	39.0	1.94	10.67	208.0	Y
GC 4408	29	78	P	40.8	24.8	1.66	7.67	156.8	Y
GC 4508	28	85	P	35.2	30.0	2.02	22.71	254.2	Y
GC 4637	29	82	P	28.0	22.8	2.10	14.27	179.2	Y
GC 4670	28	82	P	44.0	31.4	2.06	12.11	73.6	Bl
GC 4796	27	76	W	35.2	16.8	2.46	14.77	169.6	Y
GC 4816	28	80	P	26.2	12.8	1.98	17.55	96.0	Br
GC 7231	29	80	P	40.6	35.6	2.34	15.7	224.0	Y
GC 7682	28	80	W	22.8	24.2	2.34	13.01	70.4	Y
GC 7715	30	80	P	27.6	21.0	2.24	12.98	132.0	Y
GC 9766	28	82	P	19.2	19.8	2.30	15.53	121.6	Y
GC 9822	27	78	P	25.4	18.6	2.10	15.03	160.0	G
GC 9984	35	85	P	82.4	74.0	2.26	13.72	467.2	Y
GC 10191	28	82	P	26.4	18.4	2.14	15.46	137.0	Y
GC 10215	27	82	P	21.6	24.4	2.10	14.14	124.8	Y
GC 10848	28	78	P	20.0	18.2	2.28	10.57	80.0	DB
GC 10920	28	82	P	20.0	22.0	2.06	13.19	135.2	Br
GC 10950	27	78	P	25.4	17.0	2.18	13.96	144.0	G
GC 10972	28	82	W	20.8	15.2	1.90	10.8	76.8	G
GC 10981	28	82	W	19.0	15.6	1.78	12.3	70.4	G
GC 10986	27	84	P	20.2	19.0	2.28	13.26	137.6	Y
GC 10992	27	84	W	23.4	20.0	1.96	12.19	112.0	Y
GC 10999	27	76	P	35.2	20.2	1.98	11.6	112.0	Y
GC 11101	28	80	W	37.6	37.8	2.12	13.28	124.8	Y
GC 11254	28	80	P	24.6	21.4	2.02	16.63	140.8	G
NS1	27	78	P	40.6	34.8	1.94	15.9	246.4	Y
CM60	31	89	W	51.8	53.2	2.20	9.58	172.8	Y
KUSL20004	27	86	P	48.8	54.8	2.90	16.82	176.0	Y

P=ม่วง, W=ขาว, Y=เหลือง, G=เขียว, Bl=ดำ, Br=น้ำตาล, DB=น้ำตาลแก่

Table 2. Germination test, controlled deterioration test, accelerated aging test, electrical conductivity test, and moisture test of seeds from 33 soybean accessions*.

Accession no.	Germination test (%)		Controlled deterioration test (%)		Accelerated aging test (%)		EC - test (μ S/cm/g seed)	Moisture test (%)
	Normal seedling	Hard seed	Normal seedling	Hard seed	Normal seedling	Hard seed		
GC 2679	92.0 a-c	0.0 j	18.5 k-l	0.5 b	58.5 b-j	0.0 g	158.1 ab	8.79 b-f
GC 2697	56.0 j-l	3.5 i-j	42.0 g-j	1.5 b	38.0 j-n	1.0 g	125.0 b-g	7.84 h-j
GC 2796	70.5 f-i	1.0 j	38.5 g-j	0.0 b	43.0 g-n	0.0 g	154.9 a-c	9.32 a
GC 2888	93.0 a-c	1.0 j	10.0 l	0.5 b	71.0 a-c	0.0 g	150.8 a-d	9.08 ab
GC 3318	61.5 I-k	25.0 c-e	43.5 g-j	3.5 ab	27.5 mn	6.0 e-g	112.8 d-i	8.39 b-b
GC 4120	60.0 I-k	0.0 j	46.0 f-j	0.5 b	39.0 i-n	0.0 g	168.6 a	8.17 d-j
GC 4408	74.5 d-h	0.5 j	51.0 d-i	0.5 b	49.5 d-l	0.5 g	122.0 b-h	8.98 a-d
GC 4508	43.5 m-o	17.5 e-g	43.0 g-j	1.0 b	29.5 l-n	3.5 fg	120.3 b-i	8.46 b-h
GC 4637	90.5 a-c	1.0 j	53.0 c-h	8.5 ab	46.5 f-m	0.0 g	114.6 d-i	8.90 a-e
GC 4670	60.5 I-k	29.0 b-e	76.5 a	6.0 ab	40.5 h-n	16.0 bc	86.9 g-j	7.97 g-j
GC 4796	64.0 g-j	0.0 j	55.0 b-g	19.0 a	28.0 mn	1.0 g	142.1 a-e	8.50 b-b
GC 4816	56.0 j-l	37.0 b	54.5 b-g	6.5 ab	35.0 k-n	28.5 a	95.1 g-j	8.08 f-j
GC 7231	84.0 b-e	3.0 ij	73.0 ab	10.5 ab	60.0 a-h	3.0 fg	106.5 g-j	7.84 h-j
GC 7682	42.0 no	28.5 b-d	64.5 a-e	7.5 ab	47.0 e-m	18.0 b	98.4 f-j	7.57 i-k
GC 7715	50.0 k-n	29.5 bc	31.5 jk	13.5 ab	22.5 n	14.0 b-d	112.8 d-i	6.37 m
GC 9766	55.0 j-m	22.0 c-f	54.0 b-h	10.5 ab	51.5 c-k	4.5 e-g	157.6 a-d	7.49 j-l
GC 9822	73.5 d-h	6.0 h-j	74.5 a	1.5 b	61.5 a-h	1.0 g	123.6 d-g	8.30 b-i
GC 9984	47.0 l-n	12.0 g-i	68.0 a-d	3.5 ab	61.0 a-h	2.5 fg	135.7 a-f	8.23 d-j
GC 10191	66.5 g-j	7.0 h-j	67.5 a-d	2.5 b	67.5 a-h	0.5 g	94.3 g-j	8.20 d-j
GC 10215	43.0 no	14.0 f-h	75.0 a	6.0 ab	79.0 ab	0.5 g	90.7 g-j	7.81 h-j
GC 10848	63.0 h-j	26.5 c-e	69.0 a-c	10.5 ab	68.0 a-e	11.5 b-e	94.6 g-j	8.55 b-h
GC 10920	42.5 no	46.0 a	34.5 i-k	7.0 ab	32.0 k-n	26.5 a	79.8 ij	6.86 lm
GC 10950	58.5 h-l	18.5 e-g	54.5 b-g	10.5 ab	59.0 a-i	4.5 e-g	88.5 g-j	8.08 f-j
GC10972	47.5 l-n	19.5 d-g	53.0 c-h	10.5 ab	61.5 a-h	18.0 bc	68.9 j	8.20 d-j
GC 10981	76.5 d-g	25.0 c-e	65.5 a-e	16.5 ab	67.5 a-f	10.0 c-f	70.8 j	8.53 b-b
GC 10986	81.5 c-f	7.0 h-j	49.5 e-i	4.0 ab	70.5 a-d	3.5 fg	81.7 h-j	8.53 b-b
GC 10992	35.0 o	3.5 ij	47.5 f-j	7.5 ab	30.5 l-n	0.0 g	112.0 d-i	8.39 b-h
GC 10999	77.5 d-g	22.5 c-f	63.0 a-e	14.5 ab	62.0 a-g	16.5 bc	66.9 j	6.98 j-l
GC 11101	85.5 a-d	4.5 ij	70.0 a-c	3.0 ab	60.0 a-h	0.0 g	117.1 c-i	7.90 h-j
GC 11254	57.0 j-l	2.5 ij	67.5 a-d	0.5 b	80.0 a	0.5 g	105.6 e-j	8.74 a-g
NS 1	97.0 a	0.5 j	73.5 a	0.0 b	63.5 a-g	0.0 g	102.8 e-j	9.03 a-c
CM 60	70.5 f-i	11.5 g-i	36.5 h-j	3.5 ab	23.0 n	7.5 d-g	119.9 b-i	8.28 c-i
KUSL20004	94.5 ab	0.5 j	34.0 I-k	0.0 b	69.5 a-d	0.0 g	165.2 a	8.46 b-b

* Mean followed by the same letters are not significantly different at $p \leq 0.01$ by DMRT

Table 3. Correlation coefficients between seed quality traits of 33 soybean accessions.

Character	HSG	NSCD	HSCD	NSAA	HSAA	EC	MT
1. NSG	-0.529**	-0.118	-0.208	0.377**	-0.396**	0.242	0.459**
2. HSG		0.097	0.422*	-0.241	0.895	-0.563**	-0.634**
3. NSCD			0.216	-0.355*	0.042*	-0.479**	-0.084
4. HSCD				-0.113	0.406	-0.431*	-0.449**
5. NSAA					-0.249	-0.183**	0.251
6. HSAA						-0.577	-0.566**
7. EC							0.328

NSG = Normal seedling, germination test

NSAA = Normal seedling, AA-test

HSG = Hard seed, germination test

HSAA = Hard seed, AA-test

NSCD = Normal seedling, CD-test

MT = Moisture test

HSCD = Hard seed, CD-test

EC = Electrical conductivity test

*, ** Significant at .05 and .01 levels of probability, respectively

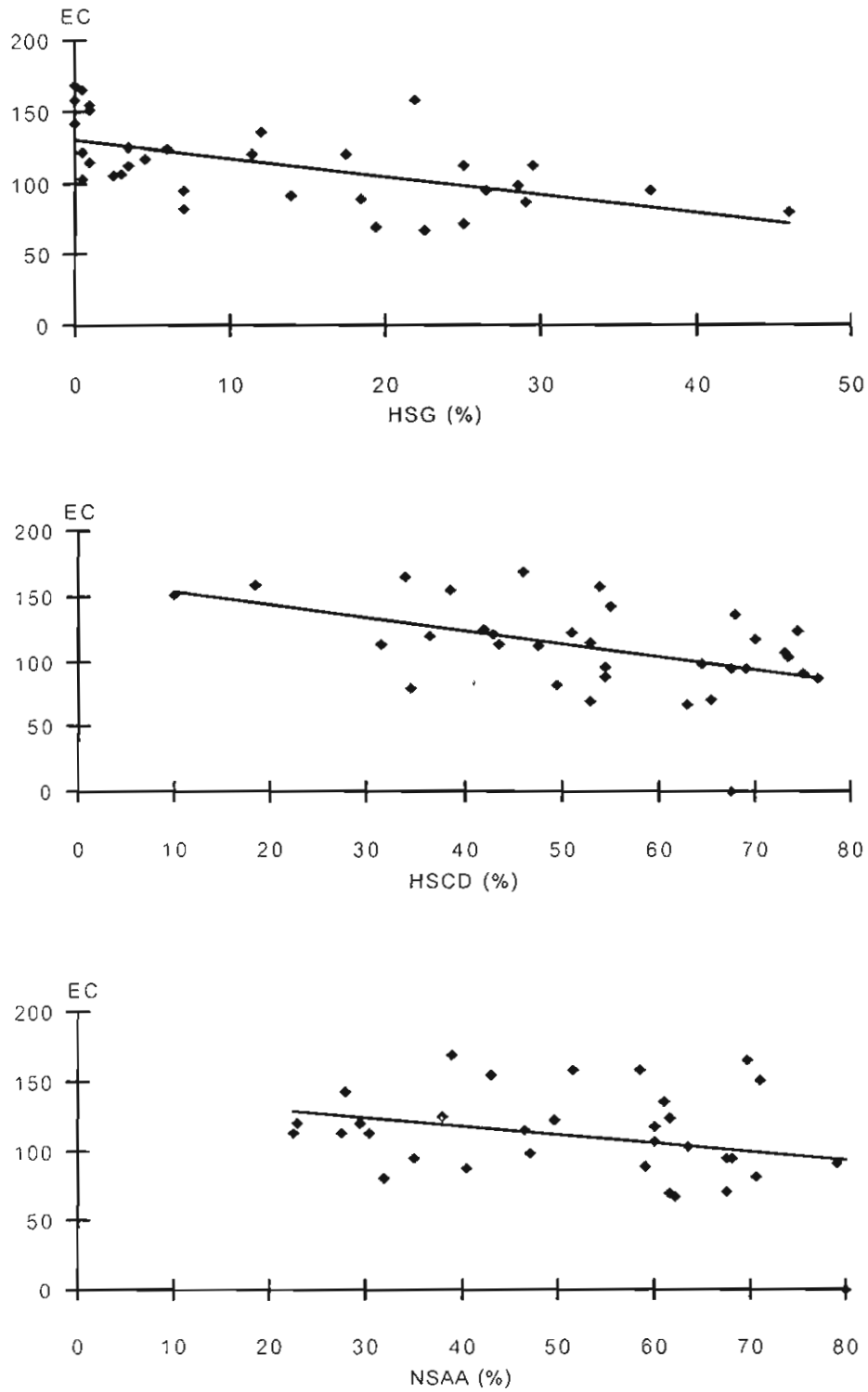


Fig. 1 Relationship between electrical conductivity (EC) of seed leachate and percentages of hard seed from germination test -HSG (above), hard seed from controlled deterioration test -HSCD (middle), and normal seedlings from accelerated aging test -NS AA (bottom).

การพัฒนาสายพันธุ์ถั่วเหลืองโปรตีนสูง

Development of High Protein Soybean

สมจิตร ใจวังเย็น¹ พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์¹ รังสฤกษ์ กาวีตะ¹ อนันต์ชัย เขื่อนธรรม²
และ จานุลักษณ์ ขนบดี³

Somchit Chaiwangyen¹ Peerasak Srinives¹ Rangsarid Kaveeta¹ Ananchai Khuantham²
and Januluk Khanobdee³

Abstract

Soybean seeds from 738 introduced lines were analyzed for protein percentage and 5 highest protein accessions were identified, i.e. G7945, G8355, G8891 and G8976. They were hybridized to form single and double cross hybrids from which a pedigree selection was applied. The single cross group was selected for 4 consecutive generations while the double cross one was selected for 3 generations. Average yields of the selected single cross and double cross lines were higher than those of the recommended cultivars by 26 and 64 %, while protein percentages were higher by 9 and 8 %, respectively. However, the selected lines had lower 100 seed weight. Five selected high protein lines from single crosses and 4 lines from double crosses were planted and the seeds determined for protein percentage. Three highest protein lines were selected, namely (G8891/G7945)-31-3-5 plant no. 5, (G8891/G7945)-38-3-2 plant no. 1 and no. 5. Their respective seed protein contents were 49.41, 50.01 and 48.83%. They were then hybridized with NS1, AGS 292, and TG 1547 (Keunak Kong) cultivars to obtain 9 direct crosses and 9 reciprocal crosses. F₁ seeds were sown in the field and the seed analyzed for protein content. Testing will be performed until F₃ generation and 18 high protein lines selected and tested in 2 different seasons to study the seasonal effect on seed protein content.

¹ ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

¹ Department of Agronomy, Faculty of Agricultural, Kasetsart University, Kamphaeng Sean, Nakhon Pathom 73140

² ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร 10900

² Department of Statistics, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10903

³ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง อ. เมือง จ.ลำปาง 52000

³ Lampang Agricultural Research and Training Institute, Muang District, Lampang 52000

บทคัดย่อ

นำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ที่นำเข้า 738 สายพันธุ์ วิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์โปรตีน คัดเลือก 5 สายพันธุ์ที่มีโปรตีนสูงสุดได้แก่ G7945 G8355 G8884 G8891 และ G8576 เพื่อนำมาผสมข้ามพันธุ์กัน แล้วคัดเลือกโดยใช้วิธีบันทึกประวัติจากลูกผสม 2 กลุ่ม คือ จากกลุ่มลูกผสมเดี่ยว 4 ชั่ว กับ จากกลุ่มลูกผสมคู่ 3 ชั่ว พบว่า ค่าเฉลี่ยผลผลิตต่อไร่ของสายพันธุ์ลูกผสมเดี่ยว และลูกผสมคู่ สูงกว่า พันธุ์แนะนำร้อยละ 26 และ 64 ในขณะที่เปอร์เซ็นต์โปรตีน สูงกว่าพันธุ์แนะนำร้อยละ 9 และ 8 ตามลำดับ แต่น้ำหนัก 100 เมล็ด ต่ำกว่า จากนั้นนำสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีปริมาณโปรตีนในเมล็ด สูงจากกลุ่มลูกผสมเดี่ยว 5 สายพันธุ์ และ จากกลุ่มลูกผสมคู่ 4 สายพันธุ์ มาปลูกและเก็บเกี่ยวเมล็ด วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่า 3 สายพันธุ์ที่ให้ปริมาณโปรตีนในเมล็ดสูงสุด ได้แก่ (G8891/G7945) -31-3-5 ต้นที่ 5 กับ (G8891/G7945)-38-3-2 ต้นที่ 1 และ 5 ซึ่งให้ปริมาณโปรตีน เฉลี่ยในเมล็ด 49.41 50.01 และ 48.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จึงนำทั้ง 3 สายพันธุ์ผสมข้ามและผสม สลับกับพันธุ์ปลูก 3 พันธุ์ ได้แก่ NS1, AGS 292 และ TG 1547 (Keunai Kong) ได้ 9 คู่ผสมตรง และ 9 คู่ผสมสลับ นำเมล็ด F₁ ที่ได้ ปลูกทดสอบ และวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเมล็ด จนถึง ชั่วที่ 3 คัดเลือกไว้ 18 สายพันธุ์ นำไปปลูกทดสอบร่วมกับพันธุ์พ่อแม่ ใน 2 ฤดูกาล เพื่อตรวจสอบ อิทธิพลของฤดูปลูกต่อเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ดต่อไป

คำนำ

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองในระยะแรก ๆ มุ่งคัดเลือกให้ได้พันธุ์ที่มีผลผลิตและน้ำมันใน เมล็ดสูง เพราะในยุคนั้น ถั่วเหลืองมีการใช้ประโยชน์จากการนำมาสกัดน้ำมันพืชสำหรับบริโภค และใช้กากเป็นอาหารสัตว์ ประกอบกับผลผลิตมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณน้ำมัน แต่มีสห สัมพันธ์ทางลบกับปริมาณโปรตีน ทำให้สามารถปรับปรุงผลผลิตร่วมกับน้ำมันได้ง่ายกว่าปรับปรุง ร่วมกับโปรตีน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากโปรตีนในถั่วเหลืองมีคุณค่าอาหารสูงเท่าเทียมโปรตีนจาก เนื้อสัตว์ และใช้เวลาในการผลิตสั้นกว่า จึงมีความนิยมที่จะใช้ถั่วเหลืองเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่ สำคัญของมนุษย์ ทำให้มีงานปรับปรุงพันธุ์ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ให้ถั่วเหลืองมีโปรตีนสูง จานุลักษณ์ (2540) คัดเลือก ได้สายพันธุ์จำนวนหนึ่งที่มีโปรตีนสูง แต่ก็มีต้นสูง อายุการเก็บเกี่ยวยาว และมีน้ำหนัก 100 เมล็ดต่ำกว่าพันธุ์ส่งเสริม ดังนั้น เพื่อให้ได้สายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มี ต้นสูงพอ เหมาะ อายุเก็บเกี่ยวสั้นลง และมีเมล็ดโต จึงได้ผสมพันธุ์ระหว่างถั่วเหลืองดังกล่าว 3 สายพันธุ์ กับ พันธุ์ปลูกที่มีต้นเตี้ย อายุเก็บเกี่ยวสั้น และน้ำหนัก 100 เมล็ดสูง แล้วคัดเลือกในช่วงลูกให้ได้สาย พันธุ์ที่ดีตามวัตถุประสงค์ เพื่อส่งเสริมให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกถั่วเหลืองต่อไป

อุปกรณ์

1. ถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 738 สายพันธุ์ จากสาขาเอเชียของศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักแห่งเอเชีย (ARC/AVRDC) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

2. ถั่วเหลืองพันธุ์ปลูก 3 พันธุ์ ได้แก่

2.1 พันธุ์นครสวรรค์ 1 (NS1) ของไทย

2.2 พันธุ์ถั่วเหลืองฝักสด AGS 292 จาก สำนักงานใหญ่ AVRDC ประเทศไต้หวัน

2.3 พันธุ์ TG 1547 (Keunai Kong) ซึ่งเป็นพันธุ์ถั่วเหลืองเมล็ดโตจากประเทศ

เกาหลี

พันธุ์ทั้ง 3 มีลักษณะเด่นคือ ต้นเตี้ย อายุสั้น และเมล็ดโต

3. เครื่องมือและอุปกรณ์วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเมล็ดถั่วเหลือง

3.1 เครื่องมือเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ ตู้อบไฟฟ้า เครื่องบดเมล็ดถั่วเหลือง เครื่องชั่งน้ำหนัก กระจกตาชสำหรับบดเมล็ด โถดูดความชื้น

3.2 เครื่องมือวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเมล็ด ได้แก่ เครื่องย่อย (digestion block) เครื่องวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน Auto analyzer และเครื่องแก้ว

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ กรดบอริก กรดกำมะถัน

4. อุปกรณ์ในการผสมถั่วเหลือง ได้แก่ ปากคีบ ป้ายแสดงราคา แอลกอฮอล์

วิธีการ

1. คัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองที่นำเข้าจาก AVRDC 738 พันธุ์ โดยการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเมล็ด ได้ 5 สายพันธุ์ที่มีโปรตีนในเมล็ดสูง ได้แก่ G7945, G8355, G8884, G8891 และ G8976

2. สร้างลูกผสมเดี่ยว 10 คู่ และลูกผสมคู่ 8 คู่ จากถั่วเหลืองสายพันธุ์โปรตีนสูง 5 สายพันธุ์ ทำการคัดเลือกจากลูกผสมเดี่ยวชั่วที่ 4 และ 5 คัดเลือกจากลูกผสมคู่ ชั่วที่ 3 และ 4 มาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเมล็ด ได้สายพันธุ์ที่มีโปรตีนสูง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ G8891/G7945-31-3-5-5, G8891/G7945-38-3-2-1 และ G8891/G7945-38-3-2-5

3. สร้างกลุ่มผสมระหว่างถั่วเหลืองสายพันธุ์โปรตีนสูงกับพันธุ์ปลูก และผสมกลับพ่อแม่ได้ทั้งหมด 18 กลุ่ม

สายพันธุ์โปรตีนสูง	พันธุ์ปลูก
1. (G8891/G7945)-31-3-5-5	1. NS1
2. (G8891/G7945)-38-3-2-1	2. AGS 292
3. (G8891/G7945)-38-3-2-5	3. TG 1547 (Keunal Kong)

4. ปลูกเมล็ด F_1 จากแต่ละกลุ่มผสม ร่วมกับพันธุ์พ่อแม่ เพื่อเปรียบเทียบลักษณะของ F_1 ที่ได้จากพ่อแม่

5. เก็บเมล็ด F_2 แยกต้น แบ่งเมล็ดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเมล็ดเปรียบเทียบกับพ่อแม่ เมล็ดส่วนที่ 2 ปลูกทุกกลุ่มผสมร่วมกับพ่อแม่ เพื่อทำการคัดเลือกต้น F_2 ที่ต้องการไว้ประมาณ 20%

6. ปลูกเมล็ดถั่วเหลือง F_3 จาก F_2 แต่ละต้นที่คัดเลือกไว้ เปรียบเทียบกับพ่อแม่ แบบไม่มีซ้ำ เก็บข้อมูลในลักษณะผลผลิตและลักษณะทางพืชไร่อย่างละเอียด ยืนยันผลโดยการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเมล็ดของแต่ละแถว คัดเลือกสายพันธุ์โปรตีนสูงไว้ 18 สายพันธุ์ เก็บเกี่ยวรวมต้นในแต่ละสายพันธุ์

7. ปลูกเมล็ด F_4 ของทั้ง 18 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับพ่อแม่ 6 สายพันธุ์แบบมีซ้ำในต้นฤดูฝนและปลายฤดูฝน วิเคราะห์โปรตีนในเมล็ดทั้งสองฤดูปลูก เพื่อตรวจสอบอิทธิพลของฤดูปลูกที่มีต่อเปอร์เซ็นต์โปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

หาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Colorimetric method (ทัศนีย์และคณะ, 2537) โดยนำตัวอย่างที่บดแล้วสายพันธุ์ละ 0.2 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 75 มล. เติมน้ำกลั่นเข้มข้น 4 มล. และคละดีสค์ คือ โซเดียมซัลเฟตผสมกับซิลิเนียมอัตราส่วน 100:1หนัก 1 กรัม ย่อยสลายในตู้ดูดควันซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 350 °ซ จนกระทั่งได้สารละลายสีขาวใส ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 50 มล. เขย่าให้ผสมทั่วกัน แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 สารละลายที่กรองได้เก็บใส่ขวดพลาสติกขนาด 100 มล. จากนั้นเจือจางสารละลาย 1 มล. ค่อน้ำกลั่น 4 มล. เขย่าให้เข้ากัน แล้ววิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยเครื่อง Auto analyzer II คำนวณค่าปริมาณธาตุไนโตรเจนโดยวัดความสูงของกราฟแต่ละตัวอย่าง ปรับค่าโดยใช้ค่ามาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ในคราวเดียวกัน

ปริมาณธาตุไนโตรเจน = ความสูงกราฟ x ค่าเฉลี่ยสารละลายมาตรฐาน (ppm/ซม.) x ค่าคงที่

ค่าคงที่ (K) ได้จากการคำนวณความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจนในสารละลาย แปลงเป็นความเข้มข้นของธาตุอาหารในเนื้อเยื่อพืช มีหน่วยเป็นร้อยละต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

$$= (50 \times 10^{-6} \times 100 \times 5) / 0.2 = 0.125$$

เมื่อ 50 = ปริมาตรสารละลายเป็นมล. ที่ปรับหลังการย่อยตัวอย่าง

10^{-6} = หน่วยความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่วิเคราะห์ในคราวเดียวกัน

100 = เทียบปริมาณธาตุไนโตรเจนในตัวอย่างเป็นร้อยละ

5 = ปริมาตรเป็นมล. ที่เจือจางของสารละลาย ก่อนเข้าเครื่องออโตอะนาไลเซอร์

0.2 = น้ำหนักเป็นกรัมของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ไนโตรเจน

จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์โปรตีนจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีน} = \text{ปริมาณธาตุไนโตรเจน} \times 6.25$$

สรุปผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ด จากสายพันธุ์ข้าวที่ 5 จากลูกผสมเดี่ยว 5 สายพันธุ์ และ สายพันธุ์ข้าวที่ 4 จากลูกผสมคู่ 4 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงได้แก่ G8891/G7945-31-3-5 ดันที่ 5, G8891/G7945-38-3-2 ดันที่ 1 และดันที่ 5 (ตารางที่แนบ 2) จึงนำมาผสมกับพันธุ์ปลูกได้แก่ NSI, AGS 292 และ TG 1547 (Keunai Kong) เพื่อศึกษาถึงการถ่ายทอดลักษณะต่าง ๆ จากพันธุ์ปลูกสู่พันธุ์โปรตีนสูง และทดสอบอิทธิพลของฤดูปลูกต่อการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์โปรตีนในเมล็ดถั่วเหลืองต่อไป

แผนผังการพัฒนาถั่วเหลืองโปรตีนสูงตลอดโครงการ แสดงไว้ในแผนผังที่ 1

เอกสารอ้างอิง

จานุลักษณะ ขนบดี. 2540. การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองให้มีโปรตีนในเมล็ดสูง. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์คุณวุฒิบัณฑิต (พืชไร่) ภาควิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 100 น.
ทัศนีย์ อัดตะนันท์ จงรักย์ จันทรเจริญสุข และ สุรเดช จินตกานนท์. 2537. แบบฝึกหัดและคู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและพืช. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 171 น.

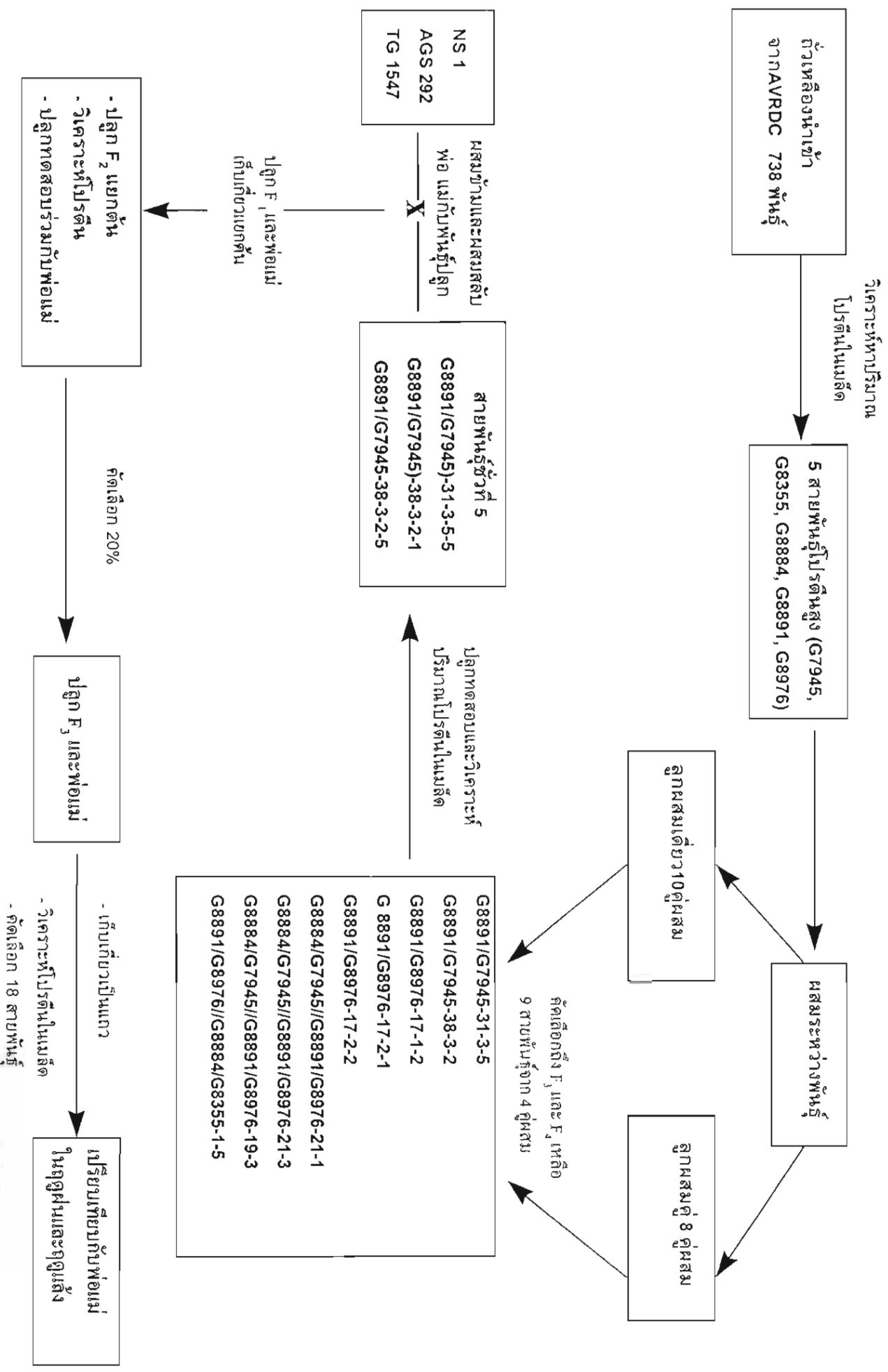
Table 1. Seed protein percentage of 9 high protein lines from SCF₂ and DCF₁

Lines	Protein (%)	Lines	Protein (%)
G8891/G7945-31-3-5	47.9	G8884/G7945//G8891/G8976-19-3	45.4
G8891/G7945-38-3-2	48.6	G8884/G7945//G8891/G8976-21-1	46.0
G8891/G8976-17-1-2	46.7	G8884/G7945//G8891/G8976-21-3	46.9
G8891/G8976-17-2-1	47.2	G8891/G8976//G8884/G8355-1-5	45.5
G8891/G8976-17-2-2	46.8		

Table 2. Yield, protein yield, and yield components of 3 selected soybean lines.

Lines	Yield (kg/rai)	Protein (%)	Protein yield (kg/rai)	Plant height(cm)	No. pod/ plant	No. seed/ pod	100 seed wt. (gm)
G8891/G8977-17-2-1-1	338	32.5	110	85.0	56.0	2.3	10.0
G8891/G8977-17-2-1-2	364	31.1	113	85.8	57.0	2.4	9.4
G8891/G8978-17-2-1-3	377	31.5	119	83.1	46.9	2.4	9.5
G8891/G8979-17-2-1-4	350	31.4	110	84.3	45.9	2.4	9.6
G8891/G8980-17-2-1-5	411	31.4	129	83.8	53.2	2.4	9.6
G8891/G7945-31-3-5-1	420	38.4	161	81.5	51.5	2.5	10.5
G8891/G7946-31-3-5-2	350	37.2	130	87.2	55.2	2.3	10.5
G8891/G7947-31-3-5-3	361	38.6	139	83.1	51.7	2.4	10.5
G8891/G7948-31-3-5-4	373	38.8	145	85.7	45.8	2.4	10.1
G8891/G7949-31-3-5-5	395	40.0	158	83.4	49.2	2.5	10.8
G8891/G7945-38-3-2-1	302	41.3	125	78.9	55.1	2.4	11.2
G8891/G7946-38-3-2-2	320	39.6	127	82.9	52.4	2.4	10.6
G8891/G7947-38-3-2-3	315	38.0	120	85.4	51.4	2.5	10.3
G8891/G7948-38-3-2-4	306	38.5	118	86.4	58.1	2.3	10.9
G8891/G7949-38-3-2-5	375	42.1	158	83.7	57.1	2.4	10.7

แผนผัง 1. แผนผังแสดงการปรับปรุงถั่วเหลืองพันธุ์ไทยให้มโปรตีนสูง



ผลของรังสีแกมมาต่อความแปรปรวนของสายพันธุ์ถั่วเขียวที่เกิดจากการผสม
ระหว่างถั่วเขียวพันธุ์ปลูกกับพันธุ์ป่า

Effect of Gamma Radiation on Variation of Progenies from Crosses between
Cultivated and Wild Mungbeans

นภาพร หวลาลัย¹ พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์¹ วรวิทย์ โสรจจาภินันท์² สนั่น รี้วทองชุม²

Napaporn Hual-alai¹, Peerasak Srinives¹, Worawit Sorajjapinan², Sanan Reiwthongchum²

ABSTRACT

Gamma rays of 100, 200, 500 and 700 Gy were administered to induce mutation in F_2 seeds from the mungbean crosses *Vigna radiata* x *V. radiata* (wild), *V. radiata* (wild) x *V. radiata*, *V. mungo* x *V. mungo* (wild), *V. mungo* (wild) x *V. mungo* for improving agronomic characters and studying the variation of irradiated mungbean lines derived from crosses between cultivated and wild mungbeans. Quantitative response to irradiation was found only in 1000 seed weight of M_1 plants from the black gram crosses. Individual plant selections was made in M_2 and M_3 and 54 mutant lines were finally obtained. Mutation was detected in both quantitative and qualitative traits. Quantitatively, early maturity and large-seeded lines were extracted. Qualitatively, leaf mutants (dark green, waxy, multiple, wrinkled), pod mutant (profuse and top podding), and semi-dwarf plant, were identified.

¹ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

Dept. of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus,
Nakhon Pathom 73140

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักแห่งเอเชีย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

Asian Vegetable Research and Development Center, Kasetsart University, Kamphaeng Saen
Campus, Nakhon Pathom 73140

บทคัดย่อ

การใช้รังสีแกมมาปริมาณ 100, 200, 500 และ 700 เกรย์ เหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ใน ถั่วเขียวลูกผสมข้ามชนิดชั่วที่สอง ระหว่าง *Vigna radiata* x *V. radiata* (พันธุ์ป่า), *V. radiata* (พันธุ์ป่า) x *V. radiata*, *V. mungo* x *V. mungo* (พันธุ์ป่า), *V. mungo* (พันธุ์ป่า) x *V. mungo* เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ให้ได้ลักษณะที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร และศึกษาผลของรังสีแกมมาที่มีต่อลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของถั่วเขียวลูกผสมระหว่างพันธุ์ปลูกกับพันธุ์ป่า จากการวิเคราะห์ผลของรังสีที่มีต่อน้ำหนัก 1000 เมล็ด พบว่า ในชั่ว M_1 ลูกผสมถั่วเขียวมีค่าตอบสนองต่อรังสีมากกว่าถั่วเขียวผิวมัน ในชั่ว M_2 และ M_3 พบว่ารังสีไม่มีผลต่อน้ำหนัก 1000 เมล็ด ของลูกผสมที่ศึกษา ทำการคัดเลือกต้นกลายพันธุ์และต้นที่มีลักษณะที่ดีทางการเกษตรไว้ 54 สายพันธุ์ การกลายพันธุ์พบทั้งลักษณะทางปริมาณและทางคุณภาพ โดยลักษณะทางปริมาณที่พบได้แก่ อายุเก็บเกี่ยวสั้น และน้ำหนัก 1000 เมล็ดสูง ลักษณะทางคุณภาพที่พบได้แก่ การกลายพันธุ์ที่ใบ (เขียวเข้ม, มีไข, หลายใบย่อย, ย่น), การกลายพันธุ์ที่ฝัก (ดก, ชูเหนือลำต้น) และต้นเตี้ย

คำนำ

ถั่วเขียว (mungbean : *Vigna radiata* (L.) Wilczek) เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชีย ประชาชนในประเทศเหล่านี้ได้ปลูกและใช้ประโยชน์จากถั่วเขียวมานานแล้ว ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่มีการผลิตถั่วเขียวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ แต่เกษตรกรไทยยังนิยมปลูกถั่วเขียวเป็นพืชเสริม มีการดูแลน้อย ประกอบกับพันธุ์ที่ส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกยังมีข้อจำกัดในหลายลักษณะ เช่น ไม่ต้านทานโรคที่สำคัญของถั่วเขียว ได้แก่ โรคใบจุด (*Cercospora leaf spot*) และ โรคราแป้ง (powdery mildew) ไม่ต้านทานแมลงที่สำคัญได้แก่ แมลงวันหนอนเจาะลำต้น (beanflies) หนอนเจาะฝัก (pod borer) และด้วงถั่ว (bruchid) ผลผลิตที่ได้จึงค่อนข้างต่ำ ถั่วเขียวจัดเป็นพืชผลตนเอง นักปรับปรุงพันธุ์ส่วนใหญ่นิยมใช้วิธีปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐาน ซึ่งต้องอาศัยความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่มีอยู่ตามธรรมชาติ แต่บางครั้งก็ไม่พบลักษณะที่ต้องการหรือถ้าพบก็อาจจะนำมาใช้ประโยชน์ได้ยาก เช่น พบลักษณะที่ต้องการเฉพาะในถั่วเขียวพันธุ์ป่าซึ่งไม่สามารถผสมข้ามกับพันธุ์ปลูกได้ หรือแม้ว่าสามารถผสมข้ามได้ แต่ลูกผสมมักจะเป็นหมัน การใช้สารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) ช่วยชักนำให้เกิดลักษณะใหม่ ๆ เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ หรือ ศึกษาด้านพันธุศาสตร์ของถั่วเขียวต่อไป นักปรับปรุงพันธุ์ส่วนใหญ่นิยมใช้รังสีแกมมาเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ที่เป็นประโยชน์ในพืช เนื่องจากมีอำนาจในการทะลุทะลวงสูง การวัดปริมาณรังสีถูกต้อง สามารถทำซ้ำแล้วให้ผลใกล้เคียงกัน ที่สำคัญคือ วิธีการฉายรังสีไม่ยุ่งยาก (อรุณี, 2539) Wang (1993) รายงานว่า 79.7% ของพันธุ์กลายที่ได้ใน

ประเทศจีนพัฒนาโดยใช้รังสีแกมมาในการปรับปรุงพันธุ์ สำหรับการใช้รังสีแกมมาเพื่อปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวในประเทศไทย Na-Lampang และคณะ (1981) รายงานว่า เริ่มขึ้นครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2522 โดยนำเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์อุทอง 1 มาฉายรังสีแกมมาปริมาณ 600 และ 900 เกรย์ พันธุ์อุทอง 2 ใช้ปริมาณรังสี 900 และ 1200 เกรย์ สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและมีอายุเก็บเกี่ยวสั้นไว้ได้จำนวนหนึ่ง Wongpiyasatid และคณะ (1998) นำเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 36 และกำแพงแสน 1 มาฉายรังสีแกมมาปริมาณ 500 เกรย์ นำไปปลูกและสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคราแป้ง โรคใบจุด และมีลักษณะทางการเกษตรที่ดีไว้ได้ส่วนหนึ่ง

John (1995) นำเมล็ดถั่วเขียวผิวดำที่เป็นลูกผสมชั่วที่หนึ่งระหว่าง COBG 301 x PDU 1 มาฉายรังสีแกมมาปริมาณ 300 – 500 เกรย์ พบว่า ลูกผสมมีความถี่ของการกลายพันธุ์สูงกว่าพันธุ์แม่และพันธุ์พ่อ ซึ่งได้รับปริมาณรังสีเท่ากัน อรุณี (2539) กล่าวว่า การนำเอาเมล็ดลูกผสมมาฉายรังสี จะเป็นการเพิ่มความถี่ของการกลายพันธุ์ เพิ่มการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ตลอดจนทำให้สเปกตรัมของการกลายพันธุ์ (mutation spectrum) กว้างขึ้น ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์กลายจากวิธีนี้จะได้พันธุ์กลายเป็นจำนวนค่อนข้างมาก

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ ก็เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการกระจายตัวของลูกผสมระหว่างพันธุ์ปลูกกับพันธุ์ป่า ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณต่าง ๆ และคัดเลือกสายพันธุ์เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในโครงการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดถั่วเขียวที่เป็นพันธุ์แม่และพันธุ์พ่อ จำนวน 4 พันธุ์ จากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท อ. เมือง จ. ชัยนาท ได้แก่

1.1 ถั่วเขียวผิวมัน (*V. radiata*) พันธุ์แนะนำ 'ชัยนาท 36' (CN 36) และถั่วเขียวผิวดำ (*V. mungo*) พันธุ์แนะนำ 'พิษณุโลก 2' (PSL 2)

1.2 ถั่วเขียว (*V. radiata*) สายพันธุ์ป่า 'TC 1966' และถั่วเขียวผิวดำ (*V. mungo*) สายพันธุ์ป่า 'TC 2211'

2. เมล็ดถั่วเขียวลูกผสมชั่วที่สอง (F_2 seed) ระหว่างพันธุ์ปลูกกับพันธุ์ป่า 4 คู่ผสม จากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท อ.เมืองฯ จ.ชัยนาท เมล็ดเหล่านี้ เก็บจากต้นชั่วที่ 1 รวมทั้งสิ้น 124 ต้น ดังนี้

2.1 จาก CN 36 x TC 1966 จำนวน 19 ต้น

2.2 จาก TC 1966 x CN 36 จำนวน 37 ต้น

2.3 จาก PSL 2 x TC 2211 จำนวน 32 ต้น

2.4 จาก TC 2211 x PSL 2 จำนวน 36 ต้น

3. แหล่งรังสีแกมมา ใช้เครื่องฉายรังสีแกมมายี่ห้อ J.L. Shepherd & Associates หมายเลขเครื่อง 1116 และ รุ่น MK1-30 ซึ่งมีซีซีเอ็ม 137 (CS-137) เป็นแหล่งต้นกำเนิดให้รังสีแกมมา ของศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง ได้แก่ ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 (ใส่หลังปลูก 10 วัน) ปุ๋ยเคมีสูตร 12-24-12 (ใส่หลังปลูก 30 วัน) โดยใช้อัตรา 25 กก./ไร่ และสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

วิธีการ

1. การฉายรังสีแกมมา

นำเมล็ดถั่วเขียวหัวที่ 2 แต่ละต้น F₂ จากทั้ง 4 คู่ผสม และ พันธุ์พ่อแม่ 4 พันธุ์ แบ่งออกเป็น 5 ส่วน ส่วนหนึ่งใช้เป็นกลุ่มเปรียบเทียบ (check) อีก 4 ส่วนนำแต่ละส่วนไปฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 100, 200, 500 และ 700 เกรย์

2. การปลูกและการเก็บเกี่ยว

ฤดูที่ 1 นำเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา (M₁ หรือ F₂) และกลุ่มเปรียบเทียบ จำนวน 620 สายพันธุ์ (124 สายพันธุ์ x รังสี 4 อัตรา + 124 check) กับ สายพันธุ์พ่อแม่อีก 20 สายพันธุ์ (4 พันธุ์ x รังสี 4 อัตรา + 4 check) ปลูกในแปลงทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ปลูกแถวยาว 5 ม. ระยะห่างระหว่างต้น 12.5 ซม. ระหว่างแถว 50 ซม. เมื่อฝักแก่จึงทำการเก็บเกี่ยวแบบรวมแถวโดยไม่คัดเลือก ได้เมล็ด M₂ รวม (M₂-bulk) ซึ่งเป็นสายพันธุ์หัวที่ 3 จำนวน 560 สายพันธุ์ (เนื่องจากบางแถวไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้) กับสายพันธุ์พ่อแม่อีก 20 สายพันธุ์

ฤดูที่ 2 นำสายพันธุ์ที่ได้จากฤดูที่ 1 จำนวน 580 สายพันธุ์ (560 สายพันธุ์ กับสายพันธุ์พ่อแม่อีก 20 สายพันธุ์) ปลูกเป็นแถว ยาว 3 ม. 2 แถว ระยะห่างระหว่างต้น 12.5 ซม. ระหว่างแถว 50 ซม. เมื่อฝักแก่จึงทำการเก็บเกี่ยวดังนี้

- ลูกผสมจาก CN 36 x TC 1966, PSL 2 x TC 2211 และลูกผสมกลับ เก็บเมล็ด M₃ (F₄) แบบรวมแถว โดยเก็บต้นละฝัก และคัดเลือกสายพันธุ์โดยพิจารณาจากน้ำหนัก 1000 เมล็ด ได้เมล็ด M₃ -รวม (M₃-bulk) ที่คัดเลือกแล้วจำนวน 190 สายพันธุ์
- ต้นที่มีลักษณะกลายพันธุ์ เก็บเกี่ยวแบบแยกต้น

ฤดูที่ 3 นำเมล็ดที่เก็บแบบรวมแถวที่คัดเลือกไว้ จำนวน 190 สายพันธุ์ และสายพันธุ์พ่อแม่ จำนวน 20 สายพันธุ์ ปลูกเช่นเดียวกับฤดูที่ 2 เมื่อผักแก่แล้วจึงสุ่มเก็บเกี่ยวเมล็ด M_2 (F_2) จาก ต้น M_3 แถวละ 5 ต้น เก็บต้นละ 2 ผัก ส่วนต้นที่มีลักษณะกลายพันธุ์ทำการเก็บแบบแยกต้น

ฤดูที่ 4 นำสายพันธุ์กลายที่น่าสนใจจำนวน 59 สายพันธุ์ ที่คัดเลือกไว้ ปลูกเช่นเดียวกับฤดูที่ 3 เพื่อเปรียบเทียบลักษณะทางพฤกษศาสตร์ต่าง ๆ กับกลุ่มพันธุ์พ่อแม่

ฤดูที่ 5 นำสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ในฤดูที่ 4 ไปเปรียบเทียบผลผลิตเบื้องต้นกับกลุ่มพันธุ์พ่อแม่ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) มี 5 ซ้ำ

3. การบันทึกข้อมูล

ฤดูที่ 1 บันทึกข้อมูล น้ำหนัก 1000 เมล็ด และ จำนวนเมล็ดต่อผัก

ฤดูที่ 2 บันทึกข้อมูล วันดอกแรกบาน 50% วันผักแรกแก่ 50% และน้ำหนัก 1000 เมล็ด

ฤดูที่ 3 และ 4 บันทึกข้อมูล วันดอกแรกบาน 50% วันผักแรกแก่ 50% ความสูง ความต้านทานโรค จำนวนผักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อผัก และ น้ำหนัก 1000 เมล็ด

ฤดูที่ 5 บันทึกข้อมูล วันดอกแรกบาน 50% วันผักแรกแก่ 50% ความต้านทานโรค จำนวนผักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อผัก น้ำหนัก 1000 เมล็ด และ ผลผลิต

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลทางสรีรวิทยา

ในช่วง M. พบว่า รังสีสามารถเหนี่ยวนำก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ ของถั่วเขียว ลูกผสมข้ามชนิดได้ โดยส่วนใหญ่เป็นลักษณะการทำลายทางสรีระ (physiological damage) เช่น ความผิดปกติของรูปร่างใบ จำนวนใบจริงคู่แรก และลักษณะการกระจายตัวของคลอโรฟิลล์บนใบ ผิดปกติไป (chlorophyll mutation) มีผลทำให้ใบมีระดับสีบนใบต่าง ๆ กัน (sectorial chlorophyll deficient) หากเกิดในระยะกล้าพบว่า ต้นกล้ามีสีขาว (albino) เหลือง (xantha) และไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เนื่องจากขาดคลอโรฟิลล์ในการสังเคราะห์แสง Malik (1996) รายงานไว้ว่า ลักษณะที่ควบคุมการกลายของคลอโรฟิลล์มักอยู่ในสภาพ heterozygous และมีการกระจายตัวแบบ monogenic recessive ความสมบูรณ์ของละอองเรณูก็ลดลงเมื่อใช้ปริมาณรังสีเพิ่มขึ้น จากการทดลองนี้พบว่า ที่ปริมาณรังสี 30-40 กิโลเรด ลดความสมบูรณ์ของละอองเรณูลงถึง 50% เมื่อเทียบกับกลุ่มเปรียบเทียบ ทำให้พบต้นที่เป็นหมันและติดเมล็ดต่ำจำนวนมาก

ในชั่ว M_2 และ M_3 พบลักษณะการกลายของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll mutation) เช่นเดียวกับชั่ว M_1 นอกจากนี้ยังพบต้นที่มีการกลายพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ เช่น มีใบย่อยหลายใบ (multiple leaves) ตัวใบย่น (wrinkled leaves) ใบเรียว (narrow leaves) ใบมีขนาดใหญ่ (large leaflets) ใบเขียวเข้ม (dark-green leaves) เกิดไขที่ใบ (waxy leaves) อายุเก็บเกี่ยวสั้น (earliness) ฝักชูขึ้น (top podding) ฝักดก (profuse pods) ลำต้นตั้งตรง (erect stems) สิริनुช และคณะ (2526) คาดคะเนพันธุกรรมของลักษณะพันธุ์กลายหลายใบย่อย ว่าเป็นลักษณะที่ควบคุมด้วยยีนตำแหน่งเดียว (monogenic inheritance) ต่อมา สมใจ (2541) รายงานว่า ถั่วเขียวที่มีลักษณะหลายใบย่อยมีแนวโน้มที่จะให้ผลผลิตต่ำกว่าถั่วเขียว 3 ใบย่อย เนื่องจากในระยะการเจริญเติบโตช่วง vegetative มีเปอร์เซ็นต์การรับแสงเรือนพุ่ม และ LAI ต่ำกว่าถั่วเขียว 3 ใบย่อย ซึ่งเป็นระยะที่จำเป็นต้องใช้อาหารในการสร้างการเจริญเติบโต และสะสมอาหารไว้เพื่อสร้างผลผลิตในระยะการเจริญโต reproductive ต่อไป

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนต้นกลายพันธุ์ของถั่วเขียวลูกผสมเมื่อได้รับรังสีแกมมาปริมาณต่าง ๆ

Generation	Crosses	Dose					Total
		0	10	20	50	70	
M_2	Mung x Wild	0	1	3	0	2	6
	Wild x Mung	0	1	0	6	3	10
	Black x Wild	0	0	1	2	0	3
	Wild x Black	0	0	0	0	0	0
	Parent (CN 36)	0	1	2	1	1	5
	Totals	0	3	6	9	6	24
M_3	Mung x Wild	0	2	2	3	7	14
	Wild x Mung	0	4	6	1	1	13
	Black x Wild	0	0	0	0	6	6
	Wild x Black	0	0	0	0	2	2
	Totals	0	6	8	4	16	35



ภาพที่ 1 ลักษณะของต้นกลายพันธุ์ที่พบ ในชั่ว M_2 และ M_3

- | | |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| a ต้นเผือก (albino) | b ใบเขียวเข้ม (dark green leaves) |
| c ใบย่อยหลายใบ (multiple leaves) | d ฝักชูขึ้น (top podding) |
| e ใบมีไข (waxy leaves) | f ใบเรียว (narrow leaves) |
| g ใบด่าง (chlorophyll mutation) | h ตัวใบย่น (wrinkled leaves) |

ผลต่อลักษณะเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์ลักษณะน้ำหนัก 1000 เมล็ด ในชั่ว $M_1 - M_3$

ถั่วเขียวลูกผสมผิวมัน ระหว่าง CN 36 x TC 1966 และ TC 1966 x CN 36

พบว่า ในชั่ว $M_1 - M_3$ รังสีไม่มีผลต่อลักษณะน้ำหนัก 1000 เมล็ด (Table 2,4,6) แต่พบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ของลูกผสม ซึ่งมีพื้นฐานพันธุกรรม (genetic background) แตกต่างกัน และเมื่อทดสอบความเป็นเอกภาพของความแปรปรวน (homogeneity of variance) ของลักษณะน้ำหนัก 1000 เมล็ด พบว่า ปริมาณรังสีไม่มีผลต่อความแปรปรวนของลักษณะน้ำหนัก 1000 เมล็ด (Table 9)

ถั่วเขียวลูกผสมผิวดำ ระหว่าง PSL 2 x TC 2211 และ TC 2211 x PSL 2

พบว่า ในชั่ว M_1 รังสีมีผลต่อลักษณะน้ำหนัก 1000 เมล็ด ในถั่วเขียวลูกผสมข้ามชนิดระหว่าง TC 2211 x PSL 2 (table 3) โดยถั่วเขียวที่ผ่านการฉายรังสีมีแนวโน้มให้น้ำหนัก 1000 เมล็ดมากกว่าถั่วเขียวที่ไม่ได้ฉายรังสี ซึ่งอาจเป็นผลของรังสีร่วมกับพันธุกรรม และเมื่อทดสอบความเป็นเอกภาพของความแปรปรวน (homogeneity of variance) ของลักษณะน้ำหนัก 1000 เมล็ด พบว่า ปริมาณรังสีมีผลต่อความแปรปรวนของลักษณะน้ำหนัก 1000 เมล็ดในลูกผสมระหว่าง TC 2211 x PSL 2 เมื่อพิจารณาในชั่ว $M_2 - M_3$ พบว่า รังสีไม่มีผลต่อน้ำหนัก 1000 เมล็ด (Table 5,7) เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยน้ำหนัก 1000 เมล็ดทั้ง M_1 , M_2 และ M_3 ระหว่างลูกผสมตรงกับผสมกลับ พบว่า TC 1966 x CN 36 มีแนวโน้มที่ให้ลูกที่มีเมล็ดโตกว่า CN 36 x TC 1966 (Table 8) โดยในชั่ว M_3 พบว่า รังสีก็ไม่มีผลต่อความแปรปรวนของลักษณะเชิงปริมาณในถั่วเขียวลูกผสมเลย (Table 9)

Table 2. Analysis of variance of 1000 seed weight from M_1 plants of CN 36 x TC 1966 and TC 1966 x CN 36.

SOV	df	MS
Between crosses	1	1058**
Direct cross	91	9.26
M_1 lines	18	18.9**
Doses	4	5.6
Reciprocal cross	149	51**
M_1 lines	34	191**
Doses	4	18.9
Pooled error	180	8.52
Total	241	

** Significant at $P = .01$

Table 3. Analysis of variance of 1000 seed weight from M_1 plants of PSL 2 x TC 2211 and TC 2211 x PSL 2.

SOV	df	MS
Between crosses	1	6.2
Direct cross	152	9.8
M_1 lines	31	24**
Doses	4	18.7
Reciprocal cross	164	16.4**
M_1 lines	35	29.5**
Doses	4	72.3**
Pooled error	242	8.4
Total	317	

* ** Significant at $P = .05$ and $P = .01$, respectively

Table 4. Analysis of variance of 1000 seed weight from M_2 plants of CN 36 x TC 1966 and TC 1966 x CN 36.

SOV	df	MS
Between crosses	1	93**
Direct cross	86	15.1
M_2 lines	18	18.3
Doses	4	12.7
Reciprocal cross	138	54**
M_2 lines	33	195**
Doses	4	6.9
Pooled error	165	11.3
Total	225	

** Significant at $P = .01$

Table 5. Analysis of variance of 1000 seed weight from M_2 plants of PSL 2 x TC 2211 and TC 2211 x PSL 2.

SOV	df	MS
Between crosses	1	127**
Direct cross	150	9
M_2 lines	31	13*
Doses	4	5.8
Reciprocal cross	162	8.8
M_2 lines	35	12*
Doses	4	4
Pooled error	238	8.02
Total	313	

* Significant at $P = .05$

Table 6. Analysis of variance of 1000 seed weight from M_3 plants of CN 36 x TC 1966 and TC 1966 x CN 36.

SOV	df	MS
Between crosses	1	197**
Direct cross	24	16.3
M_3 lines	4	3.3
Doses	4	10
Reciprocal cross	24	18
M_3 lines	4	9.1
Doses	4	16.3
Pooled error	32	21
Total	49	

* Significant at $P = .01$

สรุปผลการทดลอง

การใช้รังสีแกมมา กับเมล็ดถั่วเขียวลูกผสมข้ามชนิดชั่วที่ 2 สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll mutation) และต้นกลายพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ ที่น่าสนใจ เช่น ลักษณะใบเขียว ใบย่น ใบย่อยหลายใบ ใบเขียวเข้ม ใบมีไข เป็นต้น ในชั่ว M_1 ถั่วเขียวลูกผสมมีความตอบสนองต่อรังสีมากกว่าผิวมัน แต่ในชั่ว M_2 - M_3 รังสีไม่มีผลต่อลักษณะเชิงปริมาณที่ศึกษา นักปรับปรุงพันธุ์สามารถสกัดสายพันธุ์กลายเหล่านี้ให้บริสุทธิ์ เพื่อนำมาศึกษาการให้ผลผลิตโดยละเอียด หรือ เพื่อการศึกษาทางพันธุศาสตร์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- สมใจ โคสุรัตน์. 2541. ผลของเอนไซม์ความคมลักษณะหลายใบย่อยต่อลักษณะทางสรีรวิทยาและทางพืชไร่ของถั่วเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สิริสุข ลานศรีจันทร์ สุรินทร์ สมุทรคุปต์ และ อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. 2526. ถั่วเขียวพันธุ์กลายจากการใช้รังสีแกมมา. ว. วิทย์. กษ. 16(6) : 446-454.
- อรุณี วงศ์ปิยะสถิตย์. 2539. การใช้รังสีในการปรับปรุงพันธุ์พืช. น. 29-30. ใน เอกสารคำสอนวิชาการใช้รังสีและไอโซโทปในการเกษตร. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 96 น.
- John, S. A. 1995. Genetics of seed yield in black gram following mutagenesis. J. Madras Agri. 82 : 428-431.
- Malik, I. A. 1996. Improvement of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) through induced mutations and molecular techniques, pp. 123-168. In Workshop on Induced Mutations and Molecular Techniques for Crop Improvement. Bangkok, Thailand.
- Na-Lampang, A., J. Jan-orn, W. Chareonsirisoonthorn and T. Eksomtramage. 1981. Varietal improvement of mungbean and blackgram through mutation breeding. A progress report of the FAO/IAEA 2nd Co-ordination Meeting on the Use of Induced Mutation for Improvement of Grain Legumes Production in Southeast Asia. Chiang Mai, Thailand. 14 p.
- Wang, L. Q. 1993. Present status of crop mutation breeding in China, pp. 11-19. In Proceeding of the Seminar on Plant Mutation Breeding for Regional Nuclear Cooperation in Asia. Beijing, China.
- Wongpiyasatid, A., S. Chotechuen, P. Hormchan, S. Ngampongsai, S. Lamseejan and S. Pichitporn. 1998. Use of radiation and chemical mutagens in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] improvement, pp 30 – 43. In Proceeding 7th National Mungbean Research Conference, Phitsanulok, Thailand.

พันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กในกลุ่มสายพันธุ์ถั่วเขียว

Genetic Control of Tolerance to Iron Deficiency in Mungbean Lines

วารุณี โสมนัส¹ พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์¹ อภิชาติ วรรณวิจิตร¹ สมวงศ์ ตระกูลรุ่ง² และ จุลภาค ชุ่มวงศ์³
Warunee Somanas¹, Peerasak Srinives¹, Apichart Vanavichit¹, Somvong Tragoonrung² and
Julapark Chunwongse³

- 1 ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140
 - 2 ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์ฯ ถนนพระรามที่ 6 กรุงเทพฯ 10400
 - 3 ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140
- 1 Department of Agronomy, Kasetsart Univ. Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140
 - 2 National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Min. of Science, Technology and Environment, Rama VI Road, Bangkok 10400
 - 3 Department of Horticulture, Kasetsart Univ. Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140

ABSTRACT

Recombinant inbred lines (RILs) of mungbean were developed from the cross between the cultivar 'Kamphaeng Saen 1' (KPS1) which is sensitive to iron deficiency and the Pakistani line 'NM 10-12' tolerant to iron deficiency. The segregating generations were advanced by single seed descent method and 212 RILs were finally obtained. They were tested in an alkaline soil field of Nakhon Sawan Field Crops Research Center. Leaf chlorosis was observed at 2, 3 and 4 weeks after planting. The number of tolerant and sensitive lines were 161 and 51 respectively, which agreed well with the expected 3:1 ratio. This supported our earlier report that tolerance to iron deficiency was conditioned by 2 loci of genes, A and I, expressing inhibition action in which I nullifies the action of A. Thus the

เอกสารแนบ

NIL_s had 4 possible genotypes, viz. AAII, AAii, aaII and aaii at equal frequencies. The sensitive genotype was AAii while the tolerant ones were the rests.

When test cross was administered on 82 RILs using KPS 1 (AAii) as the tester, progenies from 38 lines were sensitive to iron deficiency and thus the genotypes of the parental lines can be assigned as aaii and AAii, which would give all the progenies of genotype A₋ii. Progenies from 44 lines were tolerant to iron deficiency and the parental line genotypes can be assigned as AAII and aaII, which would give all the progenies of genotype A₋I₋. Thus the phenotypic ratio of tolerant to sensitive lines was in agreement with the theoretical 1:1.

บทคัดย่อ

ทำการสร้างสายพันธุ์ recombinant inbred (RI) ที่เกิดจากการผสมระหว่าง พันธุ์กำแพงแสน 1 ซึ่งอ่อนแอต่อการขาดธาตุเหล็ก กับสายพันธุ์ NM 10-12 จากประเทศปากีสถาน ซึ่งทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก โดยใช้วิธี single seed descent จนถึงชั่วที่ 8 ได้สายพันธุ์ S₇ ทั้งหมด 212 สายพันธุ์ ปลูกทดสอบในดินด่างที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ตรวจสอบอาการใบด่าง (chlorosis) ในสัปดาห์ที่ 2, 3 และ 4 หลังปลูก พบว่า 161 สายพันธุ์เป็นปกติ ส่วนอีก 51 สายพันธุ์ แสดงอาการใบด่าง จำนวนสายพันธุ์ทนทานต่ออ่อนแอสอดคล้องกับอัตราส่วน 3:1 แสดงว่า ลักษณะดังกล่าวนี้ ควบคุมด้วยยีน 2 คู่ และมีปฏิกริยาเป็นแบบข่มข้ามคู่ กำหนดให้เป็นยีน A และ I โดยยีน I ข่มการแสดงออกของยีน A ได้ กลุ่มสายพันธุ์ RI จึงมีอีโนไทป์ที่เป็นไปได้ 4 แบบ คือ AAII, aaII, aaii และ AAii โดยอีโนไทป์ที่แสดงอาการอ่อนแอ คือ AAii ส่วนอีก 3 อีโนไทป์ แสดงอาการทนทาน

เมื่อทำการ test cross กลุ่มสายพันธุ์ RI 82 สายพันธุ์ โดยใช้พันธุ์กำแพงแสน 1 เป็นตัวทดสอบ (tester) ได้ลูก test cross ที่แสดงอาการอ่อนแอ 38 สายพันธุ์ คาดว่าเกิดจากแม่ที่มีอีโนไทป์ aaii และ AAii ทำให้ได้ลูก test cross ที่มีอีโนไทป์ A₋ii และได้ลูก test cross ที่แสดงอาการทนทาน (ปกติ) 44 สายพันธุ์ คาดว่าเกิดจากแม่ที่มีอีโนไทป์ AAII และ aaII ได้ลูก test cross ที่มีอีโนไทป์ A₋I₋ ดังนั้น อัตราส่วนของลูก test cross ทั้งหมดแสดงอาการทนทานต่ออ่อนแอสอดคล้องกับอัตราส่วน 1:1

คำนำ

ถั่วเขียว (*Vigna radiata*) เป็นพืชไร่ที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น ทนแล้ง สามารถปลูกเป็นพืชเดี่ยวหรือพืชรองในระบบการปลูกพืชได้ เป็นพืชบำรุงดินเนื่องจากสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดี อีกทั้งยังเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพสูง ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตวันเส้น เพาะถั่วงอก รวมทั้งนำไปสกัดโปรตีนและแป้งเพื่อทำเนื้อเทียม เมล็ดถั่วเขียวมีโปรตีนประมาณ 20% และคาร์โบไฮเดรต 55% โปรตีนจากถั่วเขียวมีคุณภาพดีเท่ากับโปรตีนจากเนื้อสัตว์ การปลูกถั่วเขียวในบางแหล่งของประเทศได้ผลผลิตต่ำเนื่องจากปลูกในดินที่ขาดธาตุเหล็ก ดินคัลคาเรียสเป็นดินชนิดหนึ่งที่ขาดธาตุเหล็ก เนื่องจากดินมี pH สูง ทำให้ปฏิกิริยาของดินเป็นด่าง ธาตุเหล็กในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชตกตะกอนเปลี่ยนเป็นรูปที่พืชไม่สามารถใช้ได้ (เอิบ, 2533) ประเทศไทยมีพื้นที่ที่เป็นดินคัลคาเรียสประมาณ 3 ล้านไร่ พบในชุดดินดากลิและลพบุรี ซึ่งได้รับอิทธิพลจากหินปูนหรือหินมาร์ลที่กำลังสลายตัว มักพบเม็ดปูนสีขาวปนอยู่ในเนื้อดิน (ปริดา และคณะ, 2533; สรสิทธิ์ และคณะ, 2533)

ชุดดินดากลิมีระดับความอุดมสมบูรณ์ตามธรรมชาติค่อนข้างสูง แต่เนื่องจากปฏิกิริยาของดินเป็นด่าง จึงประสบปัญหาการขาดธาตุเหล็ก (เอิบ, 2533) มีการสู่มเก็บตัวอย่างดินชุดนี้จากศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ เพื่อวิเคราะห์สมบัติของดินบางประการและ พบว่ามีค่า pH สูงถึง 7.9 ซึ่งเกินกว่าช่วงของค่าวิกฤต (6.6-7.3) ที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืช แต่ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และค่า EC ที่บอกถึงระดับความเค็มของดิน จัดอยู่ในระดับที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ธาตุรอง ได้แก่ แมงกานีส สังกะสี และทองแดงที่วิเคราะห์ได้ ก็จัดอยู่ในระดับที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเช่นกัน แต่ปริมาณธาตุเหล็กที่วิเคราะห์ได้มีค่าต่ำกว่าช่วงค่าวิกฤต (2.5-4.5 mg/kg) (สุมนทนา, 2539)

ธาตุเหล็กมีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยมีหน้าที่หลายอย่างในกระบวนการเมตาโบลิซึม เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์และตัวพา (carrier) หลายชนิด ได้แก่ ไซโตโครม (cytochrome) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในการถ่ายทอดอิเล็กตรอน ทั้งในกระบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจ และมีหน้าที่สำคัญ่วงกระบวนการสร้างกลอโรฟิลล์ โดยที่เฟอรีดอกซินซึ่งเป็นโปรตีนที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบจะกระตุ้นการสร้างสาร ALA (delta-amino-levulinic acid) ซึ่งเป็นสารเริ่มต้นในการสร้างกลอโรฟิลล์ การที่พืชได้รับธาตุเหล็กไม่เพียงพอมีผลต่อคุณภาพของกลอโรฟิลล์ โดยใบพืชจะแสดงอาการด่างเหลือง หรือที่เรียกว่า คลอโรซิส (chlorosis) (สรสิทธิ์ และคณะ 2527; Locascio และ Fiskull, 1988)

Ohwaki และคณะ (1997) ศึกษาการตอบสนองของถั่วเขียวต่อการขาดธาตุเหล็ก โดยปลูกทดสอบในดินคัลลาเรียสที่มี pH สูง พบว่าถั่วเขียวพันธุ์ส่งเสริมกำแพงแสน 1 และกำแพงแสน 2 ซึ่งให้ผลผลิตสูงแสดงอาการคลอโรซิส ในขณะที่ พันธุ์ชัยนาท 36 ชัยนาท 60 และอุทุมพร 1 แสดงอาการทนทานในระดับปานกลาง การศึกษาพันธุกรรมที่ควบคุมความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กจึงเป็นสิ่งสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ด้านทาน สุมณฑา (2539) รายงานว่า ถั่วเขียวสายพันธุ์ NM6-97 และ NM10-12 แสดงความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กสูง และได้ศึกษาพันธุกรรมดังกล่าวนี้ พบว่าควบคุมด้วยยีน 2 คู่ มีปฏิกริยาแบบข่มข้ามคู่ กำหนดให้เป็นยีน A และ I โดย I ข่มการแสดงออกของ A ทำให้ลูกชั่วที่ 2 มีอัตราส่วนของสายพันธุ์ทนทานต่ออ่อนแอเป็น 13:3

ในการศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่ควบคุมความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กในประชากร Recombinant inbred lines (RILs) และ ลูก test cross ของสายพันธุ์ RI เพื่อยืนยันผลการทดลองของสุมณฑา (2539)

อุปกรณ์และวิธีการ

การสร้างประชากร recombinant inbred lines (RILs)

พันธุ์ถั่วเขียวที่ใช้ในการศึกษาคือ 'กำแพงแสน 1' และ 'NM10-12' โดยใช้พันธุ์กำแพงแสน 1 ซึ่งอ่อนแอต่อการขาดธาตุเหล็ก และเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกมากที่สุดในปัจจุบัน เป็นสายพันธุ์แม่ ส่วน สายพันธุ์ NM10-12 ซึ่งทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กจากประเทศปากีสถาน เป็นสายพันธุ์พ่อ สร้างประชากร recombinant inbred lines (RILs) โดยการผสมข้ามระหว่างพันธุ์กำแพงแสน 1 กับสายพันธุ์ NM10-12 ลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้ นำไปปลูกปล่อยให้ผสมตัวเองจนได้เมล็ดชั่วที่ 2 นำเมล็ดชั่วที่ 2 ปลูกแบบ single seed descent เก็บเมล็ดแบบฝักต่อต้น ปลูกแบบฝักต่อหลุม แล้วถอนแยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น ปลูกเช่นนี้ต่อไปจนได้เมล็ดชั่วที่ 8 ซึ่งมีพันธุกรรมเข้าสู่สภาพ homozygous กว่าร้อยละ 99 แล้วเก็บเมล็ดชั่วที่ 8 จากแต่ละต้นแยกเป็นแต่ละสายพันธุ์ ได้ทั้งหมด 212 RILs นำไปปลูกทดสอบในดินคัลลาเรียส

การทำ test cross ประชากร recombinant inbred lines

ปลูกถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 (จีโนไทป์ Aaⁱⁱ) เพื่อใช้เป็นตัวทดสอบ (tester) ก่อนการปลูก RILs 5 วัน และปลูกอีกครั้งพร้อมกับ RILs ปลูก RILs สายพันธุ์ละ 5 ต้น ทำการผสมเกสรแต่ละ

สายพันธุ์โดยใช้ละอองเกสรตัวผู้จากพันธุ์กำแพงแสน 1 มาตะบนยอดเกสรตัวเมียสายพันธุ์ RILs เมล็ด test cross จากแต่ละคู่ผสมเก็บแยกกันไว้เพื่อนำไปปลูกทดสอบในดินคัลคาเรียส

การปลูกทดสอบในดินคัลคาเรียสดินตาคลี

ปลูกทดสอบ RILs 212 สายพันธุ์ และลูกผสมจากการ test cross 82 คู่ผสม ในดินคัลคาเรียสดินที่มีปฏิกิริยาของดินเป็นด่าง ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ โดยปลูกพันธุ์กำแพงแสน 1 และ NM10-12 เป็นแถวยาว 3 เมตร แถวละ 1 สายพันธุ์ ระยะห่างระหว่างแถว 75 เซนติเมตร แล้วปลูกเรียงต่อกับสายพันธุ์ที่ต้องการทดสอบ 10 สายพันธุ์ คู่กับกำแพงแสน 1 และ NM10-12 อีก ปลูกสลับกันเช่นนี้ต่อไปเรื่อย ๆ จนครบทุกสายพันธุ์ที่ต้องการปลูกทดสอบ ใช้พันธุ์กำแพงแสน 1 เป็นตัวทดสอบสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อการขาดธาตุเหล็ก และใช้ NM10-12 เป็นตัวทดสอบสายพันธุ์ที่ทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก

ตรวจสอบอาการคลอโรซิส หรือใบด่างเหลืองในสัปดาห์ที่ 2, 3 และ 4 หลังปลูก เปรียบเทียบสายพันธุ์ที่ปลูกทดสอบกับสายพันธุ์ทดสอบทั้งสอง คัดเลือกและนับจำนวนสายพันธุ์ที่ทนทานและอ่อนแอต่อการขาดธาตุเหล็ก

การคัดเลือกจีโนไทป์

ลักษณะความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่ โดยยีน 1 ชุมการแสดงออกของยีน A พันธุ์กำแพงแสน 1 ซึ่งอ่อนแอต่อการขาดธาตุเหล็กมีจีโนไทป์เป็น AAii และสายพันธุ์ NM10-12 ซึ่งทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กมีจีโนไทป์เป็น aaII (สุมนฉา, 2539) ดังนั้น ประชากร RILs ที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างสองสายพันธุ์นี้จึงมีจีโนไทป์เป็นไปได้ 4 แบบ คือ AAII, aaII, aaii และ AAii โดยที่ 3 จีโนไทป์แรกแสดงความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก

ผลจากการปลูกทดสอบ RILs ในดินคัลคาเรียส สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีจีโนไทป์ AAii ได้ทันที เพราะจะแสดงอาการคลอโรซิสให้เห็น RILs ที่มีจีโนไทป์ aaii เป็นปกติเมื่อปลูกทดสอบในดินคัลคาเรียส แต่จะให้ลูก test cross ที่แสดงอาการคลอโรซิส Aaii ส่วนสายพันธุ์ที่มีจีโนไทป์ AAII และ aaII ไม่สามารถแยกออกจากกันได้ เนื่องจากทั้งสายพันธุ์และลูก test cross (A_I_) เป็นปกติทั้งหมด

การวิเคราะห์ผล

ทำการศึกษาพันธุกรรมที่ควบคุมความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก โดยนับจำนวนต้นที่แสดงอาการคลอโรซิส หรือไม่แสดงอาการคลอโรซิส แล้ววิเคราะห์ไคสแควร์ (χ^2) เปรียบเทียบระหว่างจำนวนต้นสังเกตและค่าคาดหวัง จากสูตร

$$\chi^2 = (O_1 - E_1)^2 / E_1 + (O_2 - E_2)^2 / E_2 \quad (\text{Mather, 19951})$$

โดยที่ O_1 = ค่าสังเกต (observed) ของจำนวนต้นปกติ (ทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก)

E_1 = ค่าคาดหวัง (expected) ของจำนวนต้นปกติ (ทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก)

O_2 = ค่าสังเกตของจำนวนต้นที่แสดงอาการคลอโรซิส

E_2 = ค่าคาดหวังของจำนวนต้นที่แสดงอาการคลอโรซิส

จากนั้นเปรียบเทียบค่า χ^2 ที่คำนวณได้กับตารางที่ $df = 1$ ถ้ายอมรับสมมุติฐานที่ตั้งไว้ในกรณีคำนวณค่าคาดหวัง ก็จะสมารถอธิบายพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวได้

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

การปลูกทดสอบสายพันธุ์ RI ในดินอัลคาเรียส สามารถเห็นการแสดงออกของแต่ละสายพันธุ์ได้ชัดเจน ทุก ๆ ต้นในแต่ละสายพันธุ์จะแสดงอาการเหมือนกัน ทำให้สะดวกต่อการคัดเลือก จากการทดสอบสายพันธุ์ RI 212 สายพันธุ์ สามารถแยกสายพันธุ์ที่ไม่แสดงอาการคลอโรซิส ได้ 161 สายพันธุ์ ส่วนอีก 51 สายพันธุ์แสดงอาการคลอโรซิส ซึ่งเป็นอาการขาดธาตุเหล็ก กลุ่มสายพันธุ์ RI เหล่านี้มีจีโนไทป์ 4 แบบ คือ AAII, aaII, aaii และ Aaii ซึ่งยีน I ข่มการแสดงออกของยีน A (สุมนธา, 2539) ดังนั้น สามจีโนไทป์แรกจึงแสดงความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก ส่วนจีโนไทป์ AAii แสดงความอ่อนแอ และจากการทดสอบค่า Chi-square ของสายพันธุ์ทนทานต่อสายพันธุ์อ่อนแอ พบว่ามีอัตราส่วนสอดคล้องกับ 3:1 (ตารางที่ 1) และเมื่อทำ test cross ประชากร RI โดยใช้พันธุ์กำแพงแสน 1 (ซึ่งสุมนธา, 2539 รายงานว่ามีจีโนไทป์ Aaii) เป็นตัวทดสอบ (tester) พบว่า จำนวนลูก test cross 44 สายพันธุ์แสดงอาการทนทาน และอีก 38 สายพันธุ์แสดงอาการอ่อนแอ อัตราส่วนของสายพันธุ์ทนทานต่อสายพันธุ์อ่อนแอเป็น 1:1 เนื่องจากสายพันธุ์ RI ที่มีจีโนไทป์ AAII และ aaII จะให้ลูก test cross ที่แสดงอาการทนทานทั้งหมด ในขณะที่สายพันธุ์ RI ที่มีจีโนไทป์ aaii และ Aaii จะให้ลูก test cross ที่แสดงอาการอ่อนแอทั้งหมด

ตารางที่ 1. แสดงจำนวนสายพันธุ์ทนทานและอ่อนแอในประชากร recombinant inbred lines (RILs) และ ประชากรลูก test cross (TC) ของ RILs ที่ปลูกทดสอบในดินคัลคาเรียส และผลการทดสอบค่า Chi-square ของทั้งสองประชากร

ชั่ว	จำนวนต้นสังเกต		อัตราส่วน คาดหวัง	จำนวนต้นคาดหวัง		X^2	P
	ปกติ	ใบด่าง		ปกติ	ใบด่าง		
RILs	161	51	3:1	158	53	0.132	>.5
TC	44	38	1:1	41	41	0.439	>.5

สรุปผลการทดลอง

ลักษณะความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก ถูกควบคุมด้วยยีน 2 คู่ มีปฏิกริยาเป็นแบบข่มข้ามคู่ ซึ่งการทดลองครั้งนี้ยืนยันผลการทดลองของสุมนทา (2539)

คำนิยม

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ Asian Regional Center - Asian Vegetable Research and Development Center

เอกสารอ้างอิง

- ปรีดา พากเพียร นันทกร บุญเกิด และวิทยา ธนานุสนธิ์. 2533. ความสัมพันธ์ของเหล็กกับการเกิด ปมและการตรึงไนโตรเจนของถั่วลิสง. วารสารดินและปุ๋ย 12 (2) : 118-127.
- สรสิทธิ์ วัชรโรทยาน ทศนีย์ อัดตะนันท์ ชัยฤกษ์ สุวรรณรัตน์ และ จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข. 2533. การแก้ปัญหการขาดธาตุอาหารจุลธาตุของพืชเศรษฐกิจที่ปลูกในดินด่าง. รายงานการวิจัย โครงการวิจัยการใช้วัสดุเหลือใช้โรงงานอุตสาหกรรมเพื่อการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 64 น.

สรสิทธิ์ วัชรโรทยาน ถวิล ครุฑกุล ไพบุลย์ ประพุดิธรรม และ อำนาจ สุวรรณฤทธิ์. 2527.

ความอุดมสมบูรณ์ของดิน. ภาควิชาปุ๋ย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 777 น.

สุมนทนา นพรัตน์. 2539. การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะของถั่วเขียวที่ทนทานต่อการขาดจุลธาตุใน

หูดินดาคี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

เอิบ เขียวรัตน์. 2533. ดินของประเทศไทย. ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรุงเทพฯ. 651 น.

Locascio, S.J. and J.G.A. Fiskell. 1988. Vegetable need for micro nutrients in perspective. Soil and Crop Sci. Soc. Fla Proc. 47:12-18

Ohwaki, Y., S. Kraokaw, S. Chotechuen, Y. Egawa and K. Sugahara. 1997. Difference in responses to iron deficiency among various cultivars of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Plant and Soil 192: 107-114.

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถั่วเขียวเพื่อการถ่ายยีน

ฉัตรนภา ข่มอาวุธ สอนธิชัย จันทร์เปรม พิระศักดิ์ ศรีนิเวศน์

Chatnapa Khomarwut, Sontichai Chanprame, Peerasak Srinives

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

ABSTRACT

Transgenic plant production is essentially depended on the success of plant tissue culture. However, in mungbean (*Vigna radiata*), both gene transfer and tissue culture technique are restricted. In this experiment, multiple shoots of mungbean cv 'Kamphaeng Saen 1' and 'Kamphaeng Saen 2' were obtained by culturing embryonic shoot or cotyledonary node with cotyledons of germinating seed. The seeds were germinated for 2, 3, 4 and 5 days on MS hormone-free medium, or supplemented with 2 mg/l kinetin, or 10 mg/l BA. They were then transferred onto MB medium (MS salt + B5 vitamin) plus BA or 2iP at the concentrations of 0 to 4 mg/l with or without 0.1 NAA. It was found that cotyledonary nodes from mature seed which were germinated for 5 days on MS hormone-free medium, and cultured on the medium containing 2 mg/l BA, gave the highest number of shoots. To induce root, the multiple shoots were transferred to 1/2 MB hormone-free medium or 1/2 MB plus 0.5 mg/l IBA. The experiment for gene transfer using *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA 105 pCambia 1301 harboring *gus* A and kanamycin resistance genes was conducted using 2 types of tissue, multiple shoots and cotyledonary node with one cotyledon. Wounding was done using various techniques, i.e. sonicator, vortexing with silicon carbide and macerated with a scalpel.

เอกสารแนบ

บทคัดย่อ

การถ่ายยีนประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิด เนื่องจากเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความก้าวหน้ามาก แต่การถ่ายยีนในถั่วเขียว (*Vigna radiata*) ยังมีการศึกษาน้อยมาก ในการทดลองครั้งนี้ ได้ทำการชักนำให้เกิดยอดหลายยอดในถั่วเขียวพันธุ์ 'กำแพงแสน 1' และ 'กำแพงแสน 2' โดยใช้ส่วนยอด และส่วนของข้อใบเลี้ยงที่ยังมีใบเลี้ยงติดอยู่ทั้งคู่ ที่ได้จากการนำเมล็ดแก่ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากฮอร์โมน หรือมี kinetin 2 มก./ลิตร หรือ BA 10 มก./ลิตร อย่างใดอย่างหนึ่งเป็นเวลา 2, 3, 4 และ 5 วัน แล้วย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MB (เกลือจากสูตร MS + วิตามินจากสูตร B5) ที่เติมฮอร์โมน BA หรือ 2iP ที่ระดับความเข้มข้น 0 ถึง 4 มก./ลิตร โดยทุกระดับมีการเติมและไม่เติม NAA 0.1 มก./ลิตร พบว่า ส่วนข้อของใบเลี้ยงที่ยังมีใบเลี้ยงติดอยู่ทั้งคู่ ที่ได้จากการนำเมล็ดแก่ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากฮอร์โมน เป็นเวลา 5 วัน แล้วย้ายลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MB ที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก./ลิตร ทำให้เกิดยอดหลายยอดได้ดี การชักนำให้เกิดรากพบว่า อาหารสูตร 1/2 MB ที่ปราศจากฮอร์โมน หรือเติมฮอร์โมน IBA 0.5 มก./ลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ ส่วนขั้นตอนในการถ่ายยีน โดยใช้เชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ EHA 105 ที่มีพลาสมิด pCambia 1301 ซึ่งมียีน *gus A* และ kanamycin resistance อยู่ เป็นพาหะสำหรับถ่ายยีน โดยทำการปลูกเชื้อลงบนเนื้อเยื่อพืช 2 ชนิดที่มีบาดแผลคือ เนื้อเยื่อที่เป็นยอดหลายยอด และเนื้อเยื่อที่เป็นข้อของใบเลี้ยงที่มีใบเลี้ยงติดอยู่เพียงใบเดียว ในการทำให้เนื้อเยื่อเกิดบาดแผลนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การใช้คลื่นเสียง ใช้ silicon carbide และกรีดด้วยมีดผ่าตัด

คำนำ

การปรับปรุงพันธุ์พืช เป็นวิธีการปรับปรุงหรือเปลี่ยนแปลงยีน (gene) หรือจีโนไทป์ (genotype) ที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative) หรือเชิงคุณภาพ (qualitative) ต่าง ๆ ของพืช เพื่อให้เกิดประโยชน์แก่มนุษย์ (พีระศักดิ์, 2539) ในถั่วเขียวได้มีการปรับปรุงพันธุ์จนประสบความสำเร็จหลายพันธุ์ เช่น พันธุ์อุทอง 1, กำแพงแสน 1, กำแพงแสน 2, ชัยนาท 36 ซึ่งใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐาน (conventional breeding) นอกจากนั้น นักปรับปรุงพันธุ์พืชสามารถใช้วิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพ (non-conventional breeding) เช่น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการถ่ายยีน โดยเฉพาะเทคนิคการชักนำให้เกิดยอดหลายยอด (multiple shoot) เพื่อใช้เป็นเนื้อเยื่อสำหรับการถ่ายยีน และเพิ่มจำนวนต้นกล้าภายหลังการถ่ายยีน (Ramsay, 1993) ซึ่งการเพาะเลี้ยงในถั่วเขียวพบว่า

สามารถชักนำให้เกิดยอดหลายยอดหลายยอดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ด ส่วนของใบเลี้ยง (cotyledon), ส่วนของปลายยอด (shoot tip) และส่วนของข้อใบเลี้ยงที่ยังมีใบเลี้ยงติดอยู่ทั้งคู่ (เลวานี๋ย และคณะ, 2531 ; สิริบุษ และคณะ, 2534; Gulati และ Jaiwal, 1992; Chandra และ Pal, 1996)

การถ่ายยีนในพืชมี 2 ขบวนการคือ การถ่ายยีนโดยไม่ใช้พาหะ เช่น การใช้สารเคมี การใช้กระแสไฟฟ้า หรือใช้เครื่องยิงอนุภาค อีกขบวนการหนึ่งใช้พาหะเช่น เชื้อ *Agrobacterium* สามารถทำได้หลายวิธี เช่น ปลุกเชื้อลงบนพืชที่มีบาดแผลโดยตรง (infection of wound plant) การเพาะเลี้ยงเซลล์พืชหรือเซลล์ไธลัส ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย (co-cultivation method) ความสำเร็จในการถ่ายยีนให้พืชขึ้นอยู่กับ การมีระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ มีเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการถ่ายยีน และลักษณะที่ได้จากการถ่ายยีนสามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกหลานได้ สำหรับในถั่วเขียวมีการศึกษาการถ่ายยีนโดยใช้เชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* ลงบนพืชที่มีบาดแผลบริเวณต้นอ่อนที่ตัดใบเลี้ยงออก 1 ใบ ปลายยอด กับส่วนของข้อใบเลี้ยงที่มียอดติดอยู่ และส่วนของใบจริงคู่แรกที่กำลังเจริญเติบโต (สุรินทร์ และคณะ, 2534; AVRDC, 1996; Rungnoi, 1998)

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษานหาวิธีการชักนำให้เกิดยอดหลายยอด และหาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการถ่ายยีน

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1

การชักนำต้นกล้าถั่วเขียวที่มียอดหลายยอด

นำเมล็ดแก่ของถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 แห่แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70% นาน 1 นาที ฟอกด้วย *clorox* 15 % นาน 15 นาที ล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งมาเพื่อ 3 ครั้ง ทุละ 5 นาที นำไปเพาะให้งอกบนอาหาร MS ที่ปราศจากฮอร์โมน หรือมี kinetin 2 มก./ล หรือ BA 10 มก./ล อย่างใดอย่างหนึ่ง เป็นเวลา 2, 3, 4 และ 5 วัน จากนั้นตัดเอาส่วนยอดของคัพภะและส่วนข้อของใบเลี้ยงที่ยังมีใบเลี้ยงติดอยู่ทั้งคู่ เพาะเลี้ยงลงในอาหารสูตร MB (เกลือจากสูตร MS + วิตามินจากสูตร B5) ที่เติมฮอร์โมน BA หรือ 2iP ที่ระดับความเข้มข้น 0 ถึง 4 มก./ล โดยทุกระดับมีการเติมและไม่เติม NAA 0.1 มก./ล เพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 °C เป็นเวลา 30 วัน เก็บข้อมูลโดยนับจำนวนยอดที่เกิดขึ้น

การชักนำให้เกิดราก

นำยอดที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอด มาตัดเพาะเลี้ยงลงในอาหาร 1/2 MB (เกลือครึ่งหนึ่งของสูตร MS + วิตามินจากสูตร B5) ที่เติมฮอร์โมน IBA หรือ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 ถึง 2 มก./ลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพที่มีแสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 30 วัน บันทึกการเกิดราก

การทดลองที่ 2 การศึกษาหาเทคนิคที่เหมาะสมสำหรับการถ่ายยีน

การเตรียมเชื้อ *A. tumefaciens*

นำโคโลนีเดี่ยวของ *A. tumefaciens* สายพันธุ์ EHA 105 ที่มีพลาสมิด pCAMBIA 1301 เลี้ยงในอาหารเหลว AB ที่เติมไฮโกรมัยซิน 50 มก./ล และกานามัยซิน 50 มก./ลิตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่า (shaker) ที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นดูดเอาเชื้อมาเลี้ยงในอาหารเหลว AB พร้อมกับเติมกานามัยซินและไฮโกรมัยซินความเข้มข้นเท่าเดิม เขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วและอุณหภูมิเดิม แต่เลี้ยงเป็นเวลา 1 วัน นำมาปั่นให้ตกตะกอนด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที ละลายตะกอนเชื้อในอาหารสูตรเดียวกับที่ใช้เลี้ยงเชื้อเชื้อ นำไปวัดค่า O.D. (optical density) ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้มีค่า 1

เทคนิคการถ่ายยีนเข้าสู่ถั่วเขียว

เชื้อ *A. tumefaciens* จะเข้าสู่เนื้อเยื่อทางบาดแผล ในการทดลองนี้มีเนื้อเยื่อ 2 ชนิดคือ ชนิดแรกเป็นเนื้อเยื่อที่เป็นยอดหลายยอดที่ได้จากการทดลองที่ 1 ทำให้เกิดบาดแผลโดยการใช้คลื่นเสียง (ultrasound) ที่เวลาต่างๆ กัน และใช้ silicon carbide เนื้อเยื่ออีกชนิดหนึ่งคือ ส่วนของข้อที่มีใบเลี้ยงติดอยู่เพียงใบเดียว ทำให้เกิดบาดแผลโดยใช้ใบมีดผ่าตัด กรีดบริเวณรอยต่อระหว่างใบเลี้ยงกับ hypocotyl ซึ่งบริเวณดังกล่าวเป็นที่อยู่ของตาข้าง จากนั้นนำเนื้อเยื่อที่มีบาดแผล ไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรชักนำให้เกิดยอด ร่วมกับเชื้อ *A. tumefaciens* ในอัตราส่วน 1:1 ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที ซับเนื้อเยื่อด้วยกระดาษกรอง แล้วเพาะเลี้ยงลงในอาหารแข็งสูตรเดิม ในที่มืด เป็นเวลา 2 วัน กำจัดเชื้อแบคทีเรียโดยนำเนื้อเยื่อไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมที่เติม cefotaxime 500 มก./ลิตร เขย่าเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง จากนั้นย้ายเลี้ยงลงในอาหารแข็งสูตรเดิมที่เติม cefotaxime 500 มก./ลิตร และไฮโกรมัยซิน 25 มก./ลิตร เลี้ยงเป็นเวลา 2 อาทิตย์ ทำอย่างนี้ไปเรื่อย ๆ จนกว่าจะแน่ใจว่าสามารถกำจัดเชื้อ

แบคทีเรียได้หมด แล้วคัดเลือกเซลล์ที่ได้รับการถ่ายยีน โดยสังเกตจากการเจริญของเนื้อเยื่อในอาหาร ที่มีไฮโกรมัยซิน หากเจริญได้ตามปกติแสดงว่าชิ้นพืชนั้นได้รับการถ่ายยีนแล้ว ตรวจสอบการแสดงออก ของยีนรายงานผล (GUS) โดยดูการเกิดสีน้ำเงินบนเนื้อเยื่อพืช เมื่อนำเนื้อเยื่อดังกล่าวไปบ่ม (incubate) ในสารละลาย X-gluc จากนั้นนำไปสกัด DNA เพื่อตรวจสอบส่วนของยีน GUS โดยเพิ่ม ปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค PCR ตรวจผลที่ได้ด้วยอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟเรซิส เปรียบเทียบระหว่าง ต้นที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนและต้นที่ได้รับการถ่ายยีน

ผลการทดลอง

การชักนำให้เกิดยอด

จากตารางที่ 1 พบว่า ต้นอ่อนที่เกิดจากการเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากฮอร์โมน นาน 5 วัน เมื่อย้ายเอาส่วนของข้อใบเลี้ยงที่ยังมีใบเลี้ยงติดอยู่ทั้งคู่ เพาะเลี้ยงลงในอาหารสูตร MB ที่ เติม BA 2 มก./ลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุดประมาณ 8 ยอด ต้นอ่อนที่เกิดจากการเพาะเมล็ดบนอาหาร สูตร MS ที่มี kinetin 2 มก./ลิตร นาน 3 และ 5 วัน เมื่อย้ายเอาส่วนของข้อใบเลี้ยง เพาะเลี้ยงลงใน อาหารสูตร MB ที่เติม BA 1 มก./ลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุดประมาณ 6 ยอด ต้นอ่อนที่เกิดจากการ เพาะเมล็ดบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 10 มก./ลิตร นาน 5 วัน เมื่อย้ายเอาส่วนของข้อใบเลี้ยง เพาะ เลี้ยงลงในอาหารสูตร MB ที่เติม BA 3 มก./ลิตร และ NAA 0.1 มก./ลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด ประมาณ 6 ยอด

จากผลการทดลองพบว่า ต้นอ่อนที่เกิดจากการเพาะเมล็ดนาน 5 วัน ให้จำนวนยอดสูงสุด

การชักนำให้เกิดราก

อาหารที่เติมฮอร์โมน IBA และ NAA สามารถชักนำให้เกิดรากได้ โดย NAA ทุกระดับความเข้มข้น ชักนำให้เกิดแคลลัสได้ก่อน แล้วจึงเกิดรากภายหลัง ส่วน IBA ทุกระดับสามารถชักนำให้เกิด รากได้โดยตรง โดยเฉพาะที่ระดับ 0 และ 0.5 มก./ลิตร สามารถการเกิดรากได้

ตารางที่ 1 แสดงการเกิดยอดหลายยอดในแก้วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	จำนวนยอดที่เกิดขึ้นในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเมล็ด											
	MS				MS+kinetin 2 mg/l				MS-BA 10 mg/l			
	2d	3d	4d	5d	2d	3d	4d	5d	2d	3d	4d	5d
MB+BA0 mg/l	2.5	2.4	2.4	1.5	2.6	2.6	2.1	1.4	1.5	2.5	2	2.6
MB+BA1 mg/l	2.8	3.5	4.7	8.7	5.1	6.1	4.2	6.1	3.2	5.9	3.3	4.9
MB+BA2 mg/l	3.3	5.1	4.9	8.8	5.7	5.1	3.7	4.2	4	5	4.7	5
MB+BA3 mg/l	4.8	2.1	4.8	7	5.6	3	5.9	2.8	4.7	4.2	3.5	4.3
MB+BA4 mg/l	3.9	3.8	4.4	4.9	5.4	3.4	3	4.8	2.4	3	3.2	4.5
MB+BA 0+NAA 0.1 mg/l	2.8	2.4	1.9	1	2.3	2.2	2.7	1.1	1.8	2.3	3.1	2.2
MB+BA 1+NAA 0.1 mg/l	3.2	1.7	3.6	2.6	3.6	3.1	2.3	2.4	2.8	2	2.1	3.7
MB+BA 2+NAA 0.1 mg/l	2.7	2.1	3.1	2.7	3.1	2	1.7	3.3	3.6	1.3	2.2	2.9
MB+BA 3+NAA 0.1 mg/l	3.5	1.6	2.5	1.9	2.3	2.9	2	2.4	5.9	1.1	2.7	6.1
MB+BA 4+NAA 0.1 mg/l	4.6	2.1	3.1	3.1	2.5	1.6	1.8	2.3	3.1	1.7	2.1	3.3

วิจารณ์

ในการชักนำให้เกิดยอดหลายยอด พบว่าส่วนข้อของใบเลี้ยงที่ยังมีใบเลี้ยงติดอยู่ทั้งคู่ ที่ได้จากการเพาะเมล็ดในอาหารสูตรเพาะเลี้ยงต้นอ่อน เมื่อย้ายลงในอาหารสูตร MB ที่เติมฮอร์โมนความเข้มข้นต่าง ๆ จะให้จำนวนยอดมากกว่าการใช้ส่วนของยอด สำหรับอาหารที่ใช้เพาะเมล็ดนั้น ไม่จำเป็นต้องเติมฮอร์โมนลงไปอีก เพราะจากผลการทดลองให้จำนวนยอดที่ไม่แตกต่างกัน ในการชักนำให้เกิดรากนั้น ถ้าเกิดเป็นแคลลัสก่อนจะให้ผลไม่ดี เพราะแคลลัสเป็นเนื้อเยื่อที่อ่อนนุ่ม เมื่อนำไปปลูกจะถูกเชื้อโรคเข้าทำลายได้ง่าย ทำให้ต้นเน่าตาย เหตุผลอีกประการหนึ่งคือ แคลลัสไม่ได้มีระบบท่อลำเลียง

อาหารที่ต่อมาโดยตรงจากยอด ทำให้พืชดูดน้ำและอาหารได้น้อย นอกจากนี้ยังพบอีกว่า ลักษณะของ ยอดมีผลต่อการชักนำให้เกิดราก กล่าวคือถ้ายอดมีลักษณะยืดยาว จะสามารถชักนำให้เกิดรากใน อาหารสูตร 1/2 MB ที่ปราศจากฮอร์โมน แต่ถ้ายอดมีลักษณะสั้น สามารถชักนำให้เกิดรากในอาหาร สูตร 1/2 MB ที่เติม IBA 0.5 มก./ลิตร

สรุปผลการทดลอง

สามารถชักนำให้เกิดยอดหลายยอดได้จากการเพาะเมล็ดลงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจาก ฮอร์โมนนาน 5 วัน เมื่อย้ายส่วนของข้อของใบเลี้ยงที่ยังมีใบเลี้ยงติดอยู่ทั้งคู่ เพาะเลี้ยงลงในอาหาร สูตร MB ที่เติม BA 2 มก./ลิตร จะให้จำนวนยอดสูงสุด ส่วนการทดลองที่ 2 ขณะนี้ยังอยู่ในระหว่าง การคัดเลือกเซลล์ที่ได้รับการถ่ายยีน

คำนิยม

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย และมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

- พระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2539. บทเบื้องต้นเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์พืช และการขยายพันธุ์พืช หน่วยที่ 1. น. 1-72. ใน เอกสารการสอนชุดวิชา การปรับปรุงพันธุ์พืชและการขยายพันธุ์พืช. สาขาส่งเสริมการเกษตร และสหกรณ์. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. นนทบุรี.
- เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ และเผด็จ ระติสุนทร. 2532. การเกิดยอดหลายยอดโดยการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถั่วเขียว, น 211-218. ใน รายงานการวิจัยในการประชุมวิชาการครั้งที่ 27 สาขา วิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สินุช ตามศรีจันทร์ อรุณี วงศ์ปิยะสกลิตย์ และ สุมินทร์ สมุทคุปดี. 2534. ผลของรังสีแกมมาต่อการ เพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของถั่วเขียว. วารสารเกษตรศาสตร์ (วิทย์.) 25 : 139-145.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล จีรัตน์ ผลจันทร์ ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ เผด็จ ระติสุนทร เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา และเลิศลักษณ์ เงินศิริ. 2539. การถ่ายยีนในถั่วเขียว. ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย์.) 30 : 303-311.

- AVRDC. 1996. AVRDC 1995 Report Asian Vegetable Research and Development Center. Shanhua, Tainan, Taiwan (ROC). 187 p.
- Chandra, M. and A. Pal. 1996. Differential response of the two cotyledons of *Vigna radiata* in vitro. Plant Cell Rep. 15 : 248-253.
- Gulati , A. and P.K. Jaiwal. 1992 *In vitro* induction of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Plant Cell Tissue & Organ Cult. 29: 199-205.
- Ramsay, G. 1993. Regeneration in grain legume tissue culture. Grain Legumes (Paris). 2: 16-17.
- Rungnoi, O. 1998. Application of Biotechnology on the Genetic Improvement of Mungbean. Training Report, Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan, Taiwan (ROC). 17p.

การศึกษาวิธีเพิ่มการติดเมล็ดในลูกผสมข้ามชนิดระหว่าง *Vigna* spp.
A Study on Increasing Pod Setting in Interspecific Hybrids between *Vigna* spp.

สุภาวณี แสงโชติ¹, พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์¹, รุ่งสฤษฎ์ กาวิณะ¹, สิรินุช ลามศรีจันทร์²

Supavinee Saengchot¹, Peerasak Srinives¹, Rungsarid Kaveeta¹, Siranut Lamseejan²

1. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
จ. นครปฐม 73140

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng
Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

2. ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
กรุงเทพฯ 10900

Department of Applied Radiation and Isotopes, Faculty of Science, Kasetsart
University, Bangkok 10900

ABSTRACT

Interspecific crosses in mungbean allow segregation of novel traits in hybrids and their progenies. However, variation in chromosome number and genomes result in hybridization failure and hybrid sterility. To increase pollen viability and seed setting in 9 hybrids three chemicals were applied, namely NAA (1-naphthalene acetic acid) at 0, 15, 30 and 45 ppm, GA₃ (gibberellic acid) at 0, 75, 100 and 120 ppm and colchicine at 0, 0.3, 0.6 and 0.9 %. NAA at 15 and 30 ppm increased viability of pollen in *Vigna radiata* x *V. umbellata*, *V. radiata* x *V. umbellata* (wild) and *V. mungo* x *V. radiata* (wild). Highest pod setting was obtained from 15 ppm NAA. The effects of GA₃ and colchicine were under investigation.

บทคัดย่อ

การผสมข้ามชนิดเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว เพื่อให้เกิดการกระจายตัวทางพันธุกรรมในลักษณะใหม่ ๆ ของลูกผสมและลูกชั่วต่อมา แต่อุปสรรคหนึ่งที่ทำให้การผสมข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวกับถั่วในสกุล *Vigna* อื่น ๆ ไม่ประสบความสำเร็จ คือ ความแตกต่างของจำนวนโครโมโซมและชุดจีโนม ทำให้ผสมไม่ติด หรือผสมติดแต่ลูกผสมเป็นหมัน จึงได้ศึกษาผลของ NAA (1-naphthalene acetic acid) อัตรา 0, 15, 30 และ 45 ppm, GA₃ (gibberellic acid) อัตรา 0, 75, 100 และ 120 ppm และ colchicine อัตรา 0, 0.3, 0.6 และ 0.9 % ในการเพิ่มความสมบูรณ์ของละอองเกสร และการติดฝักจากลูกผสมข้ามชนิด จำนวน 9 คู่ผสม พบว่า การใช้ NAA อัตรา 15 และ 30 ppm ทำให้ความสมบูรณ์ของละอองเกสรเพิ่มขึ้น และความสมบูรณ์ของละอองเกสรสูงขึ้นในลูกผสมของ *Vigna radiata* x *V. umbellata*, *V. radiata* x *V. umbellata* (wild) และ *V. mungo* x *V. radiata* (wild) โดยติดฝักสูงสุดที่อัตรา 15 ppm ส่วนผลของ GA₃ และโคลชิซินนั้น ยังอยู่ในขั้นตอนการทดลอง

คำนำ

ในการปรับปรุงพันธุ์พืช แหล่งของยีนส่วนใหญ่ได้จากพืชปลูกชนิด (species) เดียวกัน ทำให้ลักษณะต่าง ๆ ของพืชถูกจำกัดในกรอบของพืชแต่ละชนิดเท่านั้น นักปรับปรุงพันธุ์จึงพยายามใช้ประโยชน์จากพันธุ์ป่า (wild species) หรือพืชต่างชนิดที่มีความสัมพันธ์กับพืชปลูก เป็นแหล่งพันธุกรรมของลักษณะต่าง ๆ เช่น ความต้านทานโรคและแมลง ความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ฯลฯ เพื่อถ่ายทอดลักษณะนั้นให้กับพืชปลูก การผสมข้ามชนิดถึงแม้ว่าจะทำได้ยากและไม่ประสบความสำเร็จในหลายกรณีก็ตาม แต่อาจให้ประโยชน์ในการเพิ่มความผันแปรทางพันธุกรรมโดยการถ่ายทอดยีนใหม่ ๆ ไปยังพืชปลูก ทำให้เกิดลักษณะใหม่ ๆ ที่พึงประสงค์ได้ (นิตยศรี, 2536)

การผสมข้ามชนิดเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว แต่อุปสรรคหนึ่งที่ทำให้การผสมข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวกับถั่วในสกุล *Vigna* อื่น ๆ ไม่ประสบความสำเร็จ คือ ความแตกต่างของจำนวนโครโมโซมและชุดจีโนม ทำให้ผสมไม่ติด หรือผสมติดแต่เป็นหมัน จึงสมควรทำการศึกษาวิธีการเพิ่มความสมบูรณ์ของละอองเกสร และการติดฝักในลูกผสมที่ได้ เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวต่อไป

Sen และ Ghosh รายงานการผสมข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวและถั่วเขียวผิวดำเป็นครั้งแรกในปี 1960 ซึ่งเป็นการผสมเพื่อรวมลักษณะทางการเกษตรที่ดีของถั่วเขียว กับลักษณะอายุการเก็บเกี่ยวสั้น ปริมาณกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบสูง ความแข็งแรงของต้น ความต้านทานโรคและแมลงหลาย ๆ ชนิด และความทนทานต่อสภาพอากาศของถั่วเขียวผิวดำ

Rashid และคณะ (1988) รายงานว่า การผสมระหว่าง *V. radiata* กับ *V. umbellata* โดยใช้ *V. radiata* เป็นพันธุ์แม่สามารถทำได้สำเร็จ แต่ถ้าใช้ *V. umbellata* เป็นพันธุ์แม่จะไม่ประสบความสำเร็จ โดยต้น F_1 ติดฝักมากมาย แต่เมล็ดฝักเกือบทั้งหมด

Verma และ Yadava (1986) พบว่า การผสมระหว่างถั่วเขียวและถั่วเขียวผิวดำ จะประสบความสำเร็จเมื่อใช้ถั่วเขียวเป็นพันธุ์แม่ แต่ถ้าใช้ถั่วเขียวผิวดำเป็นพันธุ์แม่จะไม่ประสบความสำเร็จ เพราะเมล็ด F_1 ที่ได้เป่ามาก ภายในกลวงและเหี่ยวย่น

Chen และคณะ (1989) ศึกษาการผสมข้ามชนิดระหว่าง *V. radiata* ($2n = 22$) กับ *V. glabrescens* ($2n = 24$) โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ ได้ต้นชั่วที่ 1 เมื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำนวนโครโมโซม และรูปแบบของเอนไซม์ (isozyme) พบว่ามีความเป็นหมันสูงมาก

จากรายงานการศึกษาการผสมข้ามระหว่างถั่วเขียวกับถั่วในสกุล *Vigna* ลูกผสมที่ได้มีลักษณะเป็นหมัน ต้น F_1 ออกดอกได้มากแต่ร่วงหมด ถ้าสามารถทำให้ต้น F_1 ติดฝักได้ก็จะเป็นความสำเร็จอีกขั้นหนึ่ง การแก้ไขอุปสรรคในการผสมข้ามชนิดอาจทำได้โดยการให้ฮอร์โมนพืช เช่น GA_3 (gibberellic acid), NAA (1-naphthalene acetic acid) และ kinetin ทั้งใช้เดี่ยว ๆ และผสมกัน เพื่อชักนำให้ติดฝักและชะลอการร่วงของฝัก ส่วนการใช้สารเคมีโคซิซินเพื่อเพิ่มความมีชีวิตของละอองเรณูในลูกผสมโดยเพิ่มจำนวนโครโมโซม ทำให้โครโมโซมสามารถจับคู่กันได้เพิ่มขึ้นในช่วงการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ลูกผสมจึงมีความสามารถในการสืบพันธุ์เพิ่มขึ้น (Rashid และคณะ 1988)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ต้นกล้วยไข่ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) 9 คู่ผสม ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท สถาบันพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร ได้แก่
 - 1) *V. radiata* x *V. umbellata*
 - 2) *V. radiata* x *V. umbellata* (wild)
 - 3) *V. radiata* x *V. glabrescens*
 - 4) *V. radiata* (wild) x *V. mungo* (wild)
 - 5) *V. radiata* (wild) x *V. umbellata*
 - 6) *V. radiata* (wild) x *V. umbellata* (wild)
 - 7) *V. radiata* (wild) x *V. glabrescens*
 - 8) *V. mungo* x *V. radiata* (wild)
 - 9) *V. glabrescens* x *V. umbellata* (wild)
2. ฮอร์โมนพืช GA_3 , NAA และ IBA
3. สารเคมีโคลิชิซีน (colchicine)

วิธีการ

1. การขยายพันธุ์กล้วยผสมข้ามชนิดโดยการเพาะชำ โดยนำต้นกล้วยผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอทั้ง 10 คู่ผสม ปลูกในบล็ออค เมื่อกล้วยผสมมีอายุประมาณ 2 เดือน ตัดกิ่งกล้วยที่มีจุดกำเนิดราก แห้งใน IBA ความเข้มข้น 5 มก./ล. นำไปปักชำในกระถาง
2. การศึกษาความสมบูรณ์ของละอองเกสร ทำโดยสุมเก็บดอกกล้วยที่เพิ่งบานคู่ผสมละ 5 ดอก ใช้สียอะซิโตคาร์มิน 1 % หยดบนสไลด์ 1 หยด เชียละอองเกสร ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ทั้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วนำไปนับความสมบูรณ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พวกที่ติดสีจัดเป็นพวกที่มีความสมบูรณ์ พวกที่ไม่ติดสีหรือติดเพียงบางส่วน จัดว่าเป็นหมัน

3. การผสมกลับไปหาพันธุ์ปลูกโดยใช้ลูกชั่วที่ 1 เป็นต้นแม่ ใช้เกสรตัวผู้จากถั่วเขียวผิวนั้นพันธุ์ชั๊นนาท 36 ผสมกลับไปยังลูกชั่วที่ 1 จำนวน 4 คู่ผสม คือ *V. radiata* x *V. umbellata*, *V. radiata* x *V. umbellata* (w) *V. radiata* x *V. glabrescens*, *V. mungo* x *V. radiata* (w) แล้วเก็บข้อมูลจำนวนฝักที่ติด
4. การศึกษาระดับของฮอร์โมนและสารเคมีที่เหมาะสม ในการเพิ่มความสมบูรณ์ของละอองเกสรและการติดฝักถั่วของลูกผสมข้ามชนิด ใช้แผนการทดลองแบบ Nested Design in CRD โดยลูกผสมแต่ละคู่ใช้ GA₃ อัตรา 0, 75, 100 และ 120 มก./ล. NAA อัตรา 0, 15, 30 และ 45 มก./ล. จีดพ่นที่ช่อดอกทุก ๆ 3 วัน และใช้โคลชิซิน ความเข้มข้น 0, 0.3, 0.6 และ 0.9 % หยดบนดอกที่ยังไม่บานทุก ๆ 3 วัน เช่นเดียวกัน จีดฮอร์โมนและหยดสารโคลชิซินติดต่อกันเป็นเวลา 2 เดือน

ผลการทดลอง

ผลการผสมกลับโดยใช้เกสรตัวผู้จากถั่วเขียวผิวนั้นพันธุ์ชั๊นนาท 36 ผสมกับดอกของลูกชั่วที่ 1 พบว่าติดฝักประมาณร้อยละ 10 ถึง 24 (Table 1) แต่ไม่มีเมล็ดในฝักเลย

การศึกษาผลของ NAA (1-naphthalene acetic acid) อัตรา 0, 15, 30 และ 45 ppm, GA₃ (gibberellic) อัตรา 0, 75, 100 และ 120 ppm และโคลชิซิน (colchicine) ที่อัตรา 0, 0.3, 0.6 และ 0.9 % ในการเพิ่มความสมบูรณ์ของละอองเกสรและการติดฝักจากลูกผสมข้ามชนิด จำนวน 9 คู่ผสม พบว่า การใช้ NAA อัตรา 15 และ 30 ppm ทำให้ความสมบูรณ์ของละอองเกสรเพิ่มขึ้น และความสมบูรณ์ของละอองเกสรสูงขึ้นในลูกผสมของ *Vigna radiata* x *V. umbellata*, *V. radiata* x *V. umbellata* (wild) และ *V. mungo* x *V. radiata* (wild) (Table 2) โดยติดฝักสูงสุดที่อัตราระหว่าง 15 ถึง 30 ppm (Table 3 และ 4) เมื่อถึงระยะฝักแก่ NAA ที่อัตรา 15 และ 30 ppm ก็ให้จำนวนฝักสูงสุดเช่นกัน (Table 5) ซึ่งอาจมองได้อีกแง่หนึ่งว่า NAA ทั้งสองอัตราทำให้ฝักรวมน้อยลง (Table 6) ส่วนผลของ GA₃ และโคลชิซินนั้น ยังอยู่ในขั้นดำเนินการทดลอง

คำนิยาม

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

- นิตยศิริ แสงเดือน. 2536. พันธุศาสตร์พืช. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- Chen, H.K., M.C. Mok, S. Shammugasundaram and D.W.S. Mok. 1989. Interspecific hybridization between *Vigna radiata* and *V. glabrescens*. Theor. Appl. Genet. 78 : 641-647.
- Rashid, K.A., J. Smatt and N. Haq. 1988. Hybridization in the genus *Vigna* sp. p 205-214. In Mungbean, Proc. 2nd Int. Symp. AVRDC, Shanhua, Taiwan.
- Sen, N.K. and A.K. Ghosh. 1960. Interspecific hybridization between *Phaseolus aureus* x *P. mungo*. Bull. Bot. Soc. Belg. 14 : 1-4.
- Verma, S.N.P. and H.S. Yadava. 1986. Improvement of greengram though interspecific hybridization. Ind. J. Agric. Sci. 56 : 296-297.

Table 1. Number of flowers pollinated, pods set, and pods shed in F_1 plants from crosses between *Vigna* spp.

Cross	No. of pollinated flowers	No. pods set*	Pod shedding (%)
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i>	95	9	90.53
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	112	24	78.57
<i>V. radiata</i> x <i>V. glabrescens</i>	67	16	76.12
<i>V. mungo</i> x <i>V. radiata</i> (w)	72	11	84.72

* No seed set in pod

Table 2. Effect of NAA on pollen straining percentage in F_1 plants from crosses between *Vigna* spp.

Cross	% pollen staining after application of NAA (ppm)			
	0	15	30	45
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i>	0.36	4.57	3.37	2.42
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	0.74	3.89	2.43	2.98
<i>V. radiata</i> x <i>V. glabrescens</i>	0.14	2.95	3.46	3.18
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. mungo</i> (w)	0.44	3.13	1.83	1.94
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. umbellata</i>	2.32	1.80	3.13	1.65
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. umbellata</i> (w)	0.34	2.07	3.87	3.29
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. glabrescens</i>	1.39	3.52	1.25	2.69
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. radiata</i> (w)	2.53	8.94	5.03	2.64
<i>V. glabrescens</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	2.84	6.47	4.25	4.22

Table 3. Effect of NAA on number of pods set in F_1 plants from crosses between *Vigna* spp.

Cross	Number of pods set after application of NAA (ppm)			
	0	15	30	45
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i>	1	88	57	19
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	4	79	44	35
<i>V. radiata</i> x <i>V. glabrescens</i>	-	11	7	-
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. mungo</i> (w)	-	96	33	30
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. umbellata</i>	-	50	51	32
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. umbellata</i> (w)	-	41	20	15
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. glabrescens</i>	-	18	11	7
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. radiata</i> (w)	4	53	74	21
<i>V. glabrescens</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	17	137	149	50

Table 4. Effect of NAA on pod setting percentage in F_1 plants from crosses between *Vigna* spp.

Cross	% pod setting after application of NAA (ppm)			
	0	15	30	45
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i>	0.17	15.09	9.78	3.26
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	0.54	10.72	5.97	4.75
<i>V. radiata</i> x <i>V. glabrescens</i>	-	2.38	1.52	0
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. mungo</i> (w)	-	19.39	6.67	6.06
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. umbellata</i>	-	9.28	11.32	5.94
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. umbellata</i> (w)	-	4.49	2.19	1.64
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. glabrescens</i>	-	5.29	3.23	2.05
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. radiata</i> (w)	1.04	13.77	19.22	5.45
<i>V. glabrescens</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	1.68	13.54	14.72	4.94

Table 5. Effect of NAA on number of mature pods set in F_1 plants from crosses between *Vigna* spp.

Cross	Number of mature pods after application of NAA (ppm)			
	0	15	30	45
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i>	-	18	7	3
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	-	14	9	1
<i>V. radiata</i> x <i>V. glabrescens</i>	-	-	-	-
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. mungo</i> (w)	-	12	4	2
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. umbellata</i>	-	3	4	1
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. umbellata</i> (w)	-	1	-	-
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. glabrescens</i>	-	-	-	-
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. radiata</i> (w)	-	7	4	5
<i>V. glabrescens</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	-	3	-	-

Table 6. Effect of NAA on pod shedding percentage in F_1 plants from crosses between *Vigna* spp.

Cross	Number of pod shedding after applicator of NAA (ppm)			
	0	15	30	45
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i>	100	79.54	87.72	84.21
<i>V. radiata</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	100	82.28	79.54	97.14
<i>V. radiata</i> x <i>V. glabrescens</i>	100	100	100	100
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. mungo</i> (w)	100	87.50	87.88	93.33
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. umbellata</i>	100	94.00	93.44	96.88
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. umbellata</i> (w)	100	97.56	100	100
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. glabrescens</i>	100	100	100	100
<i>V. radiata</i> (w) x <i>V. radiata</i> (w)	100	86.79	94.59	76.19
<i>V. glabrescens</i> x <i>V. umbellata</i> (w)	100	97.81	100	100

การลงทุนด้านการวิจัย ผลตอบแทนคุ้มเกินคุ้ม

ตัวอย่าง
ผลงานวิจัย
ในรอบ 90 ปี
ของนักวิทยาศาสตร์
การเกษตร สาขาพืช



โดย ศาสตราจารย์ ดร. พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์

เมธีวิจัยอาวุโส สกว. รุ่นที่ 2 (พ.ศ.2539) ภาควิชาพืชไร่นา
ม.เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน

ใน 2-3 เดือนที่ผ่านมา กระแสสังคมได้วิพากษ์วิจารณ์ประชาคมวิจัยทั้งในแง่ลบและแง่บวก โดยที่ผู้มองในแง่ลบมองว่า ผลงานวิจัยที่ได้ไม่คุ้มกับเงินที่ลงทุนไป ส่วนผู้มองในแง่บวกจะไม่พิจารณาผลงานวิจัยที่เกิดขึ้นขณะนั้นเพียงอย่างเดียว แต่มองถึงผลงานสะสมที่จะนำไปสู่การพัฒนาในอนาคต รวมทั้งการสร้างทรัพยากรบุคคลด้านการวิจัย อันเป็นจุดเน้นที่สอดคล้องกับแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับปัจจุบัน

ผู้เขียนเป็นเมธีวิจัยอาวุโสรุ่นที่ 2 ของ สกว. (พ.ศ. 2539) และเป็นนายกสมาคมปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย จึงอยากจะ

นำเสนอภาพรวมของการลงทุนวิจัยด้านพืชของประเทศไทยว่า ได้ผลตอบแทนคุ้มเกินคุ้มจริง ๆ

การที่ประเทศไทยเป็นหนึ่งในไม่ถึง 10 ประเทศของโลก ที่มีการส่งอาหารออกมากกว่านำเข้า ไม่ใช่เป็นเรื่องบังเอิญแต่อย่างใด แต่เป็นเพราะประเทศไทยมีพันธุ์พืชที่ไม่เหมือนใคร มีการผลิตที่เหมาะสมกับพันธุ์นั้น ๆ จนผู้ที่นำพันธุ์ของเราไปปลูกที่อื่นก็ยากที่จะได้ผลผลิตและ/หรือคุณภาพดีเท่า

ดร.ภักดี ลุคนันท์ อดีตอธิบดีกรมวิชาการเกษตร และอดีตผู้เชี่ยวชาญขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ ประจำภูมิภาค

เอเชียและแปซิฟิก ได้กล่าวในการสัมมนาเรื่องความก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์พืชของกรมวิชาการเกษตร เมื่อวันที่ 4 ตุลาคม 2525 ว่า “ในการกสิกรรม พันธุ์พืชเป็นจุดเริ่มต้นของการผลิต เป็นจุดเริ่มต้นของกสิกรที่จะลงทุนลงแรงที่จะปฏิบัติกิจกรรมต่าง ๆ เพื่อให้ได้มาซึ่งผลผลิตที่คาดหมายไว้ เนื่องจากด้วยพันธุ์พืชที่ใช้ปลูกย่อมเกี่ยวโยงโดยตรงไปถึงคุณภาพและปริมาณผลผลิต หรือรายได้ กสิกรทั่วไปจึงมักจะเข้าใจดีในสำคัญของพันธุ์พืช และจะพยายามแสวงหาพันธุ์พืชที่ดีกว่าเดิมอยู่เสมอเท่าที่จะทำได้ เพื่อแก้ปัญหาการผลิตและเพื่อตอบสนองความต้องการของตลาด การปรับปรุงพันธุ์พืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ๆ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาเศรษฐกิจของกสิกรและของประเทศเป็น

เอกสารแนบ

ส่วนรวม"

แม้แต่ในหนังสือเรื่อง กัลลิเวอร์ผจญภัย (Gulliver's Travel) ซึ่งแต่งโดย นายโจนาธาน สวิฟท์ (Jonathan Swift) เมื่อเกือบ 270 ปีมาแล้ว (พ.ศ. 2272) ก็ยังกล่าวว่า "ใครก็ตามที่สามารถสร้างข้าวโพดให้มี 2 ผักหรือหญาอาหารสัตว์ให้มี 2 ใบเมื่อปลูกบนพื้นที่เดิมได้เพียงหนึ่ง จะรับใช้มนุษยชาติและประเทศของเขา มากกว่านักการเมืองทั้งหมดรวมกัน"

การที่พืชเศรษฐกิจหลายชนิดของไทยได้รับความนิยมและกล่าวขวัญถึง เกิดจากการผลิตโดยใช้พันธุ์ที่มีคุณภาพสูง เป็นที่ต้องการของตลาดและผู้บริโภค พืชเหล่านี้ได้แก่ ข้าว สับปะรดทุเรียน มะม่วง ลำไย กัลยไม้ ไม้ดอก ไม้ประดับ ฯลฯ ส่วนพืชที่ไม่ได้เน้นด้านคุณภาพนัก ก็ต้องให้ผลผลิตที่สูงพอที่เกษตรกรจะปลูกเพื่อใช้ในประเทศ หรือเพื่อส่งออกโดยแข่งขันในทุกรูปแบบกับต่างประเทศทั่วโลก พืชเหล่านี้มีถิ่นกำเนิดในต่างประเทศทั้งสิ้น ได้แก่ ยางพารา อ้อย มันสำปะหลัง ปาล์มน้ำมัน ข้าวโพด ถั่วเขียว สับปะรด ไม้ดอกไม้ประดับ องุ่น ผักต่างๆ (แม้แต่พริกชี้หู) แต่นักวิจัยไทยก็ยังสามารถหาพันธุ์ใหม่ๆ และวิธีปลูกที่เหมาะสม แล้วส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกจนกลายเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอยู่ในปัจจุบัน

ความสำเร็จเหล่านี้ไม่ใช่เรื่องบังเอิญ แต่เป็นการสะสมผลงานวิจัยของนักวิจัยด้านวิทยาศาสตร์การเกษตร ซึ่งมีจุดกำเนิดย้อนหลังไปตั้งแต่ปลายรัชสมัยสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว โดยกระทรวงเกษตรราชการได้จัดการประกวดพันธุ์ข้าวเป็นครั้งแรกที่

อ. ธัญบุรี จ.ปทุมธานี ในปี 2450 และ 2451 ซึ่งถือว่าเป็นการเริ่มต้นรวบรวมแหล่งพันธุ์กรรมเพื่อการวิจัยของนักวิทยาศาสตร์การเกษตรอีกด้วย ต่อมาได้ขยายงานเป็นการประกวดพันธุ์พืชและพันธุ์สัตว์ทั่วประเทศในปี 2453 และ 2454 เพื่อกระตุ้นให้เกษตรกรไทยสนใจพันธุ์พืชที่มีคุณภาพดี ทางราชการก็ได้แหล่งพันธุ์กรรมที่ดีเหล่านี้ไว้ขยายพันธุ์ให้แพร่หลาย หรือนำไปปรับปรุงพันธุ์ต่อไป เกิดการจัดตั้งกรมเพาะปลูก ในปี 2451 และมีการจัดตั้งสถานีทดลองเพื่อทำการวิจัยด้านพืช 3 แห่ง คือ สถานีทดลองฝ้ายที่ อ.พรหมพิราม จ.พิษณุโลก ในปี 2458 สถานีทดลองข้าวที่ อ.ธัญบุรี ในปี 2459 และสถานีทดลองไม้ผลที่บางกอกน้อย ในปี 2464

ปัจจุบันนี้ งานวิจัยและพัฒนาพันธุ์พืชและการผลิตพืชไม่ได้จำกัดอยู่เฉพาะในกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เท่านั้น แต่ได้ขยายไปถึงหน่วยงานอื่นๆ ที่สำคัญ ได้แก่ สถาบันการศึกษาต่างๆ ที่มีการเรียนการสอนด้านเกษตรศาสตร์

โรงงานยาสูบ สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ กรมป่าไม้ กรมปศุสัตว์ กรมพัฒนาที่ดิน ฯลฯ และภาคเอกชน

หน่วยงานต่างๆ เหล่านี้ประสบความสำเร็จมากน้อยแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาว่าที่ประสบความสำเร็จเมื่อไร ก็เห็นได้ว่า งบประมาณที่สนับสนุนการวิจัยในอดีต แม้ว่าจะเล็กน้อยเมื่อเทียบกับมาตรฐานนานาชาติ แต่ก็ก่อให้เกิดประโยชน์อย่างมหาศาลต่อเศรษฐกิจของไทยในปัจจุบัน ดังตัวอย่างต่อไปนี้

งานวิจัยด้านข้าว

ในปีพ.ศ. 2486 อันเป็นปีที่สถาปนามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทยมีพลเมืองเพียง 17 ล้านคน แต่สามารถผลิตข้าวเปลือกได้ 5 ล้าน 5 แสนตัน เหลือส่งออกเป็น



ข้าวสาร 7 แสนตัน อีก 40 ปีต่อมา (พ.ศ. 2526) ประเทศไทยมีพลเมือง 50 ล้านคน แต่สามารถส่งข้าวสารจำหน่ายต่างประเทศได้ถึง 3.5 ล้านตัน โดยมีเนื้อที่เพาะปลูกทั้งนาปีและนาปรังรวมประมาณ 60 ล้านไร่ ซึ่งเป็นเนื้อที่ที่ค่อนข้างคงที่มาจนถึงปัจจุบัน ในปี 2541 นี้ ประเทศไทยมีพลเมืองกว่า 60 ล้านคน แต่คาดว่าจะส่งข้าวสารออกได้มากกว่า 6 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 8 หมื่นล้านบาท

การที่ข้าวไทยส่งออกได้ราคาดีในตลาดโลกไม่ใช่เรื่องบังเอิญ แต่เป็นผลจากการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวร่วมกับเทคโนโลยีการผลิตสมัยใหม่ ทำให้สามารถเพิ่มผลผลิตข้าวเปลือกจากประมาณ 240 กก./ไร่ ในปี 2486 เป็น 320 กก./ไร่ ในปี 2526 และเป็นกว่า 350 กก./ไร่ ในปัจจุบัน ถ้าคิดง่าย ๆ ว่างานวิจัยและพัฒนาข้าวทำให้ผลผลิตเฉลี่ยเพิ่มขึ้นปีละ 2 กก./ไร่ อย่างในอดีต 55 ปีที่ผ่านมา ผลงานวิจัยนี้จะคิดเป็นปริมาณข้าวเปลือกที่เพิ่มขึ้นปีละ 120 ล้าน กก. หรือคิดเป็นเงินเกือบ 1,000 ล้านบาท

ขณะนี้นักวิจัยข้าวของไทยกำลังสนใจที่จะสร้างพันธุ์ข้าวคุณภาพดีเพื่อผลิตในฤดูนาปรัง หรือในสภาพน้ำลึก เพื่อให้เกษตรกรสามารถปลูกข้าวได้ทั้งปีในหลายๆ ท้องที่ อาชีพปลูกข้าวก็สามารถเป็นอาชีพหลักของเกษตรกรส่วนใหญ่ได้

งานวิจัยด้านข้าวโพด

แม้ว่าข้าวโพดจะไม่ใช่พืชพื้นเมืองของไทย แต่ประเทศไทยก็ปลูกข้าวโพดส่งต่างประเทศมาตั้งแต่

ก่อนสงครามโลกครั้งที่สอง โดยมีผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 130 กก./ไร่ ต่อมาเมื่อกรมวิชาการเกษตรได้ทดสอบพันธุ์ (ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่งในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืช) ก็ได้พบว่า มีพันธุ์ดีพันธุ์หนึ่ง ให้ชื่อว่าพันธุ์แก้วเดมาลา แนะนำแก่เกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดตั้งแต่ปี 2500 สามารถยกระดับผลผลิตเฉลี่ยขึ้นได้เป็น 300 กก./ไร่ ทำให้เนื้อที่ปลูกข้าวโพดของไทยเพิ่มจากปีละ 6 แสนไร่ ในปี 2500 เป็นกว่า 4 ล้านไร่ ในปี 2509

แต่ในปีเดียวกันนั้นกลับมีการระบาดของโรคน้ำค้าง ซึ่งเป็นโรคที่ทำความเสียหายแก่ข้าวโพด จนทำให้เกษตรกรเลิกปลูกข้าวโพดไปหลายราย ต่อมาในปี 2517 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ได้แนะนำข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 ซึ่งต้านทานต่อโรคน้ำค้าง โรคนี้ก็ลดความสำคัญทางเศรษฐกิจลงเป็นลำดับตั้งแต่นั้น พันธุ์สุวรรณ 1 นี้ยังทำให้ประเทศไทยผลิตข้าวโพดมากขึ้น โดยขยายเนื้อที่เป็น 10 ล้านไร่ ในปี 2525 มีผลผลิตเฉลี่ยกว่า 360 กก./ไร่ จนประเทศไทยกลายเป็นผู้ส่งออกข้าวโพดที่สำคัญอันดับสองของโลก รองจากสหรัฐอเมริกาในขณะนั้น

ปัจจุบันนี้เกือบทุกประเทศในเขตร้อนทั่วโลกใช้พันธุ์สุวรรณ 1 เป็นพันธุ์ส่งเสริม หรือใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดของตน นับเป็นอานิสงส์ที่นักวิจัยไทยให้ไว้แก่ชาวโลกอีกด้วย ข้าวโพดเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ เกิดอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ตามมา ได้แก่ การเลี้ยงโค สุกร ไก่ เป็ด ปลา กุ้ง ซึ่งถ้าประเทศไทยไม่สามารถผลิตข้าวโพดได้เองในปริมาณมากแล้ว อุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ในประเทศ

จะต้องพึ่งวัตถุดิบอาหารสัตว์จากต่างประเทศ ซึ่งจะทำให้ต้นทุนสูงขึ้น และอุตสาหกรรมมีความมั่นคงน้อยลง การส่งออกสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ของไทยคงไม่สามารถทำรายได้ให้แก่ประเทศไทยได้มากเท่านี้

โครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ยังเป็นต้นแบบ และเป็นแหล่งผลิตนักปรับปรุงพันธุ์พืชป้อนหน่วยราชการและบริษัทเอกชน โดยมีศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ เป็นสถานที่วิจัยที่สำคัญ ปัจจุบันนี้มีบริษัทเอกชน 6 บริษัท ที่มีงานวิจัยและพัฒนาของตนเอง ผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสมจำหน่ายในประเทศปีละกว่า 15,000 ตัน และยังส่งเมล็ดพันธุ์บางส่วนออกนอกประเทศอีกด้วย พันธุ์ดีเหล่านี้ทำให้ประเทศไทยสามารถผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้ใกล้เคียงกับความต้องการใช้ในประเทศ โดยใช้เนื้อที่ปลูกน้อยกว่าปี 2525 เสียอีก คือประมาณ 8 ล้านไร่ แต่กลับได้ข้าวโพดกว่า 4 ล้านตัน เนื่องจากผลผลิตเฉลี่ยในปัจจุบันสูงกว่า 500 กก./ไร่ แล้ว

ถั่วเขียว

ถั่วเขียวไม่ใช่พื้นเมืองของไทย แต่ประเทศไทยก็เคยเป็นผู้ส่งออกกรายใหญ่ที่สุดของโลกมาหลายสิบปีติดต่อกัน เพิ่งจะมาเสียตำแหน่งให้แก่จีนและเวียดนามเมื่อไม่กี่ปีมานี้ เนื่องจากประเทศไทยลดพื้นที่ปลูกถั่วเขียวลงเล็กน้อย แต่ก็มีผลผลิตต่อไร่สูงขึ้น กล่าวคือ ผลจากการแนะนำถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 และ กำแพงแสน 2 ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แก่เกษตรกร ในปี 2528 เป็นต้นมา ประกอบกับการแนะนำพันธุ์อื่นๆ ของกรมวิชาการเกษตรเพิ่มเติมอีก โดยเฉพาะพันธุ์ ชัยนาท 36 ทำให้ผลผลิตของถั่วเขียวที่เคยได้ไม่ถึง 100 กก./ไร่ ในช่วงปี 2530/31 กลายเป็นกว่า 115 กก./ไร่ ในปัจจุบันเมื่อคิดว่าประเทศไทยปลูกถั่วเขียวปีละประมาณ 2.5 ล้านไร่ ผลผลิตที่สูงขึ้นจะมีไม่ต่ำกว่าปีละ 37.5 ล้าน กก. หรือคิดเป็นมูลค่าราว 450 ล้านบาท

ถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองพันธุ์ใหม่ๆ ของกรมวิชาการเกษตร ร่วมกับการใช้เทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสม ทำให้ผลผลิตถั่วเหลืองของประเทศไทยเพิ่มจากประมาณ 200 กก./ไร่ เป็น 220 กก./ไร่ ในช่วง 10 ปี ที่ผ่านมา หรือคิดเป็นผลผลิตที่เพิ่มจากเนื้อที่ปลูกถั่วเหลืองปีละ 2 ล้านไร่ คือปีละ 40 ล้าน กก.

คิดเป็นมูลค่าราว 400 ล้านบาท

ถ้าจะสรุปในรูปตาราง ความก้าวหน้าและมูลค่าที่เพิ่มขึ้นของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในช่วง 5 ปี ระหว่างปีเพาะปลูก 2529/30 ถึง 2533/34 เทียบกับปีเพาะปลูก 2534/35 ถึง 2538/39 จะเป็นดังตารางที่ 1 การใช้ข้อมูลเฉลี่ย 5 ปี ของ 2 ช่วงดังกล่าว เพื่อแก้ปัญหาข้อมูลไม่สม่ำเสมอ อันเนื่องมาจากอิทธิพลของสภาพแวดล้อมในแต่ละปีเพาะปลูก ดังนั้น ข้อมูลที่ได้จะเสมือนกับการเปรียบเทียบค่าประมาณผลผลิตที่ห่างกัน 5 ปี ซึ่งเป็นปีกลางของช่วงทั้งสอง คือ 2531/32 เทียบกับ 2536/37 ซึ่งเห็นได้ว่า แม้พิจารณาเพียงพืชเศรษฐกิจ 7 พืชในช่วง 5 ปีดังกล่าว มีมูลค่าเพิ่มขึ้นถึง 35,687.42 ล้านบาท หรือคิดเป็นมูลค่าเพิ่มเฉลี่ยต่อปีกว่า 7,000 ล้านบาท ถ้าจะประเมินการเพิ่มผลผลิตต่อไร่ของพืชเศรษฐกิจ

7 ชนิดนี้ ว่าเป็นผลมาจากการวิจัยเพียงครั้งเดียว อีกครั้งหนึ่งเกิดจากตัวเกษตรกรหรือปัจจัยอะไรก็แล้วแต่ ก็จะเป็นมูลค่าเพิ่มจากการวิจัยถึงกว่า 3,500 ล้านบาทต่อปี ยิ่งถ้าคิดพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ เข้าไปด้วยแล้ว ผลผลิตที่เพิ่มเนื่องจากงานวิจัยด้านพืชน่าจะถึง 5,000 ล้านบาทต่อปี นับว่าคุ้มเกินคุ้มต่อทุนวิจัยที่รัฐบาลให้แก่นักวิจัยวิทยาศาสตร์การเกษตรในปัจจุบัน ซึ่งประเมินได้ว่าทั่วประเทศไม่เกินปีละ 400 ล้านบาท หรือประมาณร้อยละ 8 ของผลตอบแทนเนื่องจากงานวิจัย หรือได้ผลตอบแทนมากกว่า 12 เท่าของเงินลงทุน

เหตุผลสำคัญที่งานวิจัยการเกษตรด้านพืช ก้าวหน้าอย่างเห็นได้ชัดแบบปีต่อปีอยู่ในขณะนี้ ก็เนื่องจากรัฐบาลให้ความสำคัญและสนับสนุนด้านกำลังคนและงบประมาณอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา 90

ตารางที่ 1 ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่และมูลค่าที่เพิ่มขึ้นต่อปีของพืชเศรษฐกิจของไทยบางพืช ช่วงปีเพาะปลูก 2529/30 ถึง 2533/34 เทียบกับ 2534/35 ถึง 2538/39*

พืชเศรษฐกิจ	ผลผลิตเฉลี่ย (กก./ไร่)**		ผลผลิตเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (กก./ไร่)	พื้นที่ปลูกโดยประมาณ (ล้านไร่)	ราคาผลผลิต (บาท/กก.)	มูลค่าที่เพิ่มขึ้นโดยประมาณ (ล้านบาท)
	29/30-33/34	34/35-38/39				
ข้าว	328	364	36	60	6	12,960
ข้าวโพด	384.6	468.4	83.8	85	5	3,551.5
อ้อย	8,035.6	8,094.8	59.2	8	5	1,776
ถั่วเขียว	107.8	117.8	10	25	12	300
ถั่วเหลือง	202.6	219.2	16.6	2	9	298.8
ถั่วลิสง	218.6	233.2	14.6	0.6	12	105.12
ยางพารา	138.2	200	61.8	9	30	1,568.5
มูลค่าเพิ่มต่อ 5 ปี รวม 7 พืช						35,687.42

* ที่มา : สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปีเพาะปลูก 2538/39 ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

** การเปรียบเทียบผลผลิตเฉลี่ยระหว่างช่วงปีเพาะปลูกช่วงละ 5 ปี เพื่อปรับความไม่สม่ำเสมอเนื่องจากสภาพแวดล้อมของปีที่ไม่ปกติ

ปีที่ผ่านมานั่นเอง

ในขณะที่ประเทศไทยกำลังประสบกับภาวะเศรษฐกิจถดถอย และมีปัญหาขาดแคลนเงินตราต่างประเทศ เนื่องจากส่งออกได้น้อยลง แต่ปรากฏว่า สินค้าเกษตรกลับส่งออกได้มากขึ้น ทั้งปริมาณและมูลค่า เนื่องจากประเทศไทยมีพันธุ์พืชที่ดี มีเทคโนโลยีการผลิตที่ต้นทุนต่ำพอสมควร จึงสามารถแข่งขันกับนานาชาติได้ ภาคเกษตร โดยเฉพาะการผลิตพืชเศรษฐกิจยังสามารถรองรับแรงงานส่วนเกินจากภาคธุรกิจและอุตสาหกรรมได้เป็นจำนวนมาก ทำให้ลดปัญหาด้านเศรษฐกิจและสังคมไปได้อีกส่วนหนึ่ง

อย่างไรก็ตาม นักวิทยาศาสตร์การเกษตรก็ไม่ได้พอใจในผลงานอยู่เพียงเท่านี้ แต่ต้องมีการพัฒนาผลงาน และสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่ มาทดแทนนักวิจัยรุ่นเก่าที่เลิกลำบากไป เนื่องจากมีตำแหน่งสูงขึ้น หรือไปดำรงตำแหน่งบริหาร ทำให้ไม่มีโอกาสทำงานวิจัย ได้เต็มเวลา และไม่มีโอกาสศึกษาหาความรู้ใหม่ๆ ที่ใช้ในการพัฒนาพันธุ์และการผลิตพืช ประกอบกับระบบงบประมาณวิจัยในหน่วยงานของตน ไม่สามารถที่จะให้การสนับสนุนงานวิจัยได้อย่างพอเพียงตามแผนงาน เมื่อสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ได้จัดตั้งขึ้นเมื่อไม่กี่ปีมานี้ มีการให้ทุนเพื่อพัฒนาผลงานวิจัยและบุคลากรที่เกี่ยวข้องอย่างเป็นรูปธรรมยิ่งขึ้น ก็ทำให้วงการวิจัยคึกคัก โดยเฉพาะงานวิจัยด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร เป็นความรู้ใหม่ที่นักวิทยาศาสตร์

ศาสตร์การเกษตรจะต้องติดตาม ศึกษา และนำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาพันธุ์ขยายพันธุ์ และผลิตพืช ซึ่งถ้าประเทศไทยไม่สร้างองค์ความรู้หรือพัฒนาบุคลากรทางด้านนี้

ขึ้นมา ก็จะต้องอยู่กับที่ และถูกชาติคู่แข่งแซงหน้าไปในที่สุด แต่งานวิจัยด้านนี้ใช้งบประมาณวิจัยค่อนข้างสูง ลำพังงบประมาณประจำปีของหน่วยงานไม่สามารถสนับสนุนได้ สวทช. และ สกว. เป็นหน่วยงานหนึ่งที่เล็งเห็นความสำคัญของการวิจัยด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร และให้การสนับสนุนอยู่หลายโครงการ ซึ่งมีศักยภาพทางเศรษฐกิจสูงทั้งสิ้น

อาจารย์มหาวิทยาลัยบางท่านที่มีความสามารถสูง แต่ไม่สามารถใช้ศักยภาพได้เต็มที่ เนื่องจากติดขัดปัญหาด้านทุนอุดหนุนวิจัย ก็มีโอกาที่จะได้รับการสนับสนุนจาก สกว. เพื่อทำงานวิจัยพื้นฐาน วิจัยประยุกต์ หรือเพื่อวิจัยและพัฒนา นักวิจัยที่ทำงานมานานจนเชี่ยวชาญในสาขาของตน ก็สามารถพัฒนาดตนเองจนได้รับทุนเมธีวิจัย หรือเมธีวิจัยอาวุโส เพื่อจะผลิตผลงานและทีมงานอย่างต่อเนื่อง เพิ่มคุณภาพของงานวิจัยให้ทัดเทียมกับนานาชาติ โดยมีเป้าหมายที่ชัดเจนเป็นจำนวนผลงานและจำนวนนักวิจัย ที่ต้องทำให้ได้ตามที่ได้สัญญาไว้กับ สกว.

ผู้เขียนไม่กล้าที่จะยกตัวอย่างความสำเร็จของงานวิจัยในสาขาอื่น นอกเหนือสาขาการผลิตพืช ทั้งที่พอรู้อยู่บ้างว่า งานวิจัยในสาขาแพทยก็



ประสบความสำเร็จอย่างมาก ทำให้คนไทยมีสุขภาพและคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น นักวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและนักวิจัยด้านสังคมศาสตร์ ก็ได้สร้างผลงานที่มีความสำคัญต่อบ้านเมืองไม่แพ้กัน การมีหน่วยงานให้ทุนวิจัย 4 หน่วยงาน ได้แก่ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และ สวทช. ในสังกัดกระทรวงวิทยาศาสตร์ฯ สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข ในสังกัดกระทรวงสาธารณสุข และ สกว. ในสังกัดสำนักนายกรัฐมนตรี ทำให้ประชาคมวิจัยคึกคักขึ้น หน่วยงานผู้ให้ทุนทั้ง 4 แห่ง มีการแข่งขันกันสร้างผลงานอยู่ในที่ จึงต้องติดตามและตรวจสอบคุณภาพผลงานของผู้รับทุนจากแหล่งของตนอยู่ตลอดเวลา ยิ่งสังคมให้ความสนใจและตรวจสอบอย่างใกล้ชิดอย่างในปัจจุบันด้วยแล้ว ทั้งหน่วยงานผู้ให้ทุนและนักวิจัยจะต้องพัฒนาผลงานของตนเองอย่างสม่ำเสมอ และผลงานวิจัยที่ส่งมอบไว้เมื่อถึงจุดจุดหนึ่งก็จะสามารถนำมา รวมกันเป็นองค์ความรู้ เพื่อวิจัยและพัฒนาให้เกิดผลที่ตรวจวัดได้ทางเศรษฐกิจ เพื่อตอบสนองความต้องการของสังคม ผลดีก็ตกอยู่กับประชาคมวิจัยและประเทศไทยโดยรวม