



การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch)

และการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิด

กับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม

Inheritance of Cowpea Aphid (*Aphis craccivora* Koch) Resistance and Preliminary

Study of DNA Markers Associated with Cowpea Aphid Resistant Genes

in Yardlong Bean and Cowpea

สรพงศ์ เบญจศรี

Sorapong Benchasri

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Doctor of Philosophy in Plant Science

Prince of Songkla University

2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

(1)

ชื่อวิทยานิพนธ์ การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch) และการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม

ผู้เขียน นายสรพงศ์ เบญจศรี

สาขาวิชา พืชศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	คณะกรรมการสอบ
..... (รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี) ประธานกรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.สายัณห์ สดุดี)
..... กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.ขวัญจิตร สันติประชา)
..... (รองศาสตราจารย์ ดร.ขวัญจิตร สันติประชา) กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.ขวัญจิตร สันติประชา)
..... (รองศาสตราจารย์ ดร.อรรณู งามผ่องใส) กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.อรรณู งามผ่องใส)
..... กรรมการ (ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล เหล่าสุวรรณ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch) และการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม

ผู้เขียน นายสรพงศ์ เบญจศรี

สาขาวิชา พืชศาสตร์

ปีการศึกษา 2551

บทคัดย่อ

ทำการประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Koch) ในถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์ ทั้งภายใต้สภาพแปลงปลูกธรรมชาติ และในโรงเรือนตาข่ายปิด พบว่า ถั่ว 4 สายพันธุ์มีแนวโน้มต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว ประกอบด้วยพันธุ์ IT82E - 16 SR₀₀ - 863 เขาหินซ้อน และสุรนารี 1 หลังจากนั้นผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวพันธุ์คัด - ม.อ. ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว กับสายพันธุ์ต้านทานทั้ง 4 สายพันธุ์ และปลูกทดสอบแต่ละคู่ผสม 6 กลุ่มประชากร ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (P₁) พันธุ์พ่อ (P₂) ลูกผสมชั่วที่ 1 (F₁) ลูกผสมชั่วที่ 2 (F₂) ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ (BC₁) และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ (BC₂) ในโรงเรือนตาข่ายปิด โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ จำนวนซ้ำไม่เท่ากัน ณ แปลงทดลองภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วจำนวน 5 ตัวต่อต้น ขณะที่พืชมีอายุ 3 สัปดาห์หลังปลูก เพื่อศึกษาจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว และระดับความรุนแรงการเข้าทำลายในช่วง 6 สัปดาห์หลังปลูก (3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน) ผลการทดลองพบว่า ความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในลูกผสมชั่วที่ 1 (F₁) และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ (BC₂) มีค่าใกล้เคียงกับพันธุ์ต้านทาน (พันธุ์พ่อ) ในทุกคู่ผสม อย่างไรก็ตาม อัตราส่วนระหว่างต้นต้านทาน และต้นอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x IT82E - 16 เท่านั้น ที่มีอัตราส่วน 3 : 1 และ 1 : 1 ตามลำดับ แสดงว่าการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในพันธุ์ IT82E - 16 ถูกควบคุมด้วยยีนเพียงคู่เดียว และเป็นยีนเด่น ส่วนคู่ผสมอื่นๆ ยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะดังกล่าวอาจมีความซับซ้อนมากกว่า สำหรับการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของชั่วรุ่นจากถั่วทั้ง 4 คู่ผสม พบว่า อิทธิพลของยีนแบบผลบวกมีบทบาทสำคัญในการควบคุมความแปรปรวนทางพันธุกรรมของจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว และระดับความรุนแรงของการเข้าทำลาย เฉพาะคู่ผสมคัด - ม.อ. x IT82E - 16 เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบการทำงานของยีนแบบผลบวก

ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างยีนแบบผลบวกกับแบบผลบวกในลักษณะความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วเฉพาะกลุ่มสมศักดิ์ – ม.อ. x IT82E – 16 ส่วนอัตราพันธุกรรมของลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วใน 4 กลุ่มสม พบว่า มีค่าระหว่าง 22.21 ถึง 55.94 เปอร์เซ็นต์ โดยกลุ่มสมศักดิ์ – ม.อ. x IT82E – 16 มีค่าอัตราพันธุกรรมสูงสุด

การศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในกลุ่มสมระหว่างพันธุ์ศักดิ์ – ม.อ. x IT82E – 16 โดยเทคนิคอาร์เอฟดีจำนวน 190 ไพรเมอร์ พบว่า ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานหรืออ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่วได้ แต่การตรวจสอบโดยเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ โดยทดสอบกับ 4 ไพรเมอร์ พบว่า ดีเอ็นเอขนาด 1,080 คู่เบส จากไพรเมอร์ VM37 เท่านั้น ที่อาจมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม

Thesis Title	Inheritance of Cowpea Aphid (<i>Aphis craccivora</i> Koch) Resistance and Preliminary Study of DNA Markers Associated with Cowpea Aphid Resistant Genes in Yardlong Bean and Cowpea
Author	Mr. Sorapong Benchasri
Major Program	Plant Science
Academic Year	2008

ABSTRACT

Cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch) resistance was evaluated under field and screenhouse conditions in 24 accessions of yardlong bean and cowpea. The results showed that the following accessions: IT82E – 16, SR₀₀ – 863, Khao – hinson and Suranaree 1 tended to be resistant accessions. A susceptible variety, Selected – PSU, was crossed with those resistant accessions to produce 4 single crosses. Six generations including P₁, P₂, F₁, F₂, BC₁ and BC₂ from each cross were evaluated in a Randomized Complete Block Design with unequal replications under a screenhouse condition at Plant Science Department, Faculty of natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai Campus, Hat Yai, Songkhla. Five apterous adult cowpea aphids were released on each plant at 3 weeks after planting, the number of aphids and visual damage were recorded. Data of 6 weeks after planting (3 weeks after infestation) were analyzed. The results showed that the distribution of damage rating score of F₁ and BC₂ were close to the resistant parents in all crosses. However in F₂ and BC₁, the number of resistant and susceptible progenies which fit 3:1 and 1:1 ratios, respectively was only found in the cross Selected – PSU x IT82E – 16. This indicates that resistance to cowpea aphid in IT82E – 16 is controlled by a single dominant gene. In other crosses, the inheritance to cowpea aphid was found to be more complex. Gene actions were estimated by generation mean analysis on each of the 4 crosses. Results from generation mean analysis indicated that additive gene was significant in the cross Selected – PSU x IT82E – 16 for the total number of aphids and visual scored damages. The dominant gene and additive x additive interactions were also found for visual scored damages in this cross.

Heritability of visual scored damages was ranged from 22.21 to 55.94 percent, the highest heritability was found in the cross Selected – PSU. x IT82E – 16.

Preliminary study of molecular markers linked to cowpea aphid resistant gene was investigated in the cross Selected – PSU. x IT82E – 16 by RAPD and SSR techniques. From 190 primers screened by RAPD, no specific marker was detected. 4 SSR primers were then tested and primer VM37 showed polymorphism among resistant and susceptible populations. Results indicated that SSR marker 1,080 bp from primer VM37 is probably associated with cowpea aphid resistant gene in yardlong bean and cowpea.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการตารางภาคผนวก	(11)
รายการรูป	(12)
รายการรูปภาคผนวก	(18)
บทที่	
1. บทนำ	
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	4
วัตถุประสงค์	22
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	23
วัสดุ และอุปกรณ์	23
วิธีการ	27
3. ผล	41
4. วิจัยาณ์	80
5. สรุป	87
6. เอกสารอ้างอิง	89
ภาคผนวก	109
ประวัติผู้เขียน	123

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณสมบัติ และลักษณะต่างๆ ของถั่วในสกุล <i>Vigna</i>	4
2	สารประกอบสำคัญที่พืชสร้างขึ้นเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของแมลง	11
3	เครื่องหมายโมเลกุลที่มีการใช้ในปัจจุบัน	18
4	ชื่อพันธุ์ และแหล่งที่มาของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มที่ใช้ในการทดสอบการต้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว	28
5	ระดับคะแนนเฉลี่ยจากการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วภายใต้สภาพแปลงปลูกธรรมชาติ	42
6	ลักษณะผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์	44
7	เปอร์เซ็นต์การผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว	51
8	การเพิ่มของจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วในลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ 4 คู่ผสมในช่วง 1 – 4 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว	52
9	องค์ประกอบผลผลิตของถั่วพันธุ์คัด – ม.อ. IT82E – 16 และลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์IT82E – 16 ภายใต้สภาพการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในโรงเรือนตาข่ายปิด	54
10	องค์ประกอบผลผลิตของถั่วพันธุ์คัด – ม.อ. SR ₀₀ – 863 และลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์SR ₀₀ – 863 ภายใต้สภาพการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในโรงเรือนตาข่ายปิด	55
11	องค์ประกอบผลผลิตของถั่วพันธุ์คัด – ม.อ. เขาคินซ้อน และลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์เขาคินซ้อน ภายใต้สภาพการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในโรงเรือนตาข่ายปิด	56
12	องค์ประกอบผลผลิตของถั่วพันธุ์คัด – ม.อ. สุรนารี 1 และลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์สุรนารี 1 ภายใต้สภาพการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในโรงเรือนตาข่ายปิด	57
13	จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วในกลุ่มประชากรต่างๆ ของถั่ว 4 คู่ผสมที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว	60

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
14	ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในกลุ่มประชากรต่างๆ ของถั่ว 4 คู่ผสมที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว	61
15	การกระจายตัวของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในประชากร กลุ่มต่างๆ ของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ย อ่อนถั่ว	64
16	การกระจายตัวของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในประชากร กลุ่มต่างๆ ของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR ₀₀ – 863 ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ย อ่อนถั่ว	65
17	การกระจายตัวของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในประชากร กลุ่มต่างๆ ของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ย อ่อนถั่ว	65
18	การกระจายตัวของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในประชากร กลุ่มต่างๆ ของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ย อ่อนถั่ว	66
19	การกระจายตัวของอัตราส่วนระหว่างต้นด้านทานและต้นอ่อนแอในลูกผสมชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่	67
20	จำนวนคู่ของยีนที่ควบคุมการต้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว	67
21	การแสดงออกของยีนแบบต่างๆ ที่ควบคุมจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วที่อายุ 3 สัปดาห์หลัง ปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว	68
22	การแสดงออกของยีนแบบต่างๆ ที่ควบคุมระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของ เพลี้ยอ่อนถั่วที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว	69
23	อัตราพันธุกรรมแบบกว้างของลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว	70
24	จำนวนแถบดีเอ็นเอ แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน และขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้ จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16	72

รายการตารางภาคผนวก

ตารางที่		หน้า
1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนของถั่วคู่ผสมคัด – ม.อ. x IT82E – 16	110
2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนของถั่วคู่ผสมคัด – ม.อ. x SR ₀₀ – 863	110
3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนของถั่วคู่ผสมคัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน	111
4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนของถั่วคู่ผสมคัด – ม.อ. x สุรนารี 1	111
5	ไพรมอร์ที่ใช้ทดสอบ ลำดับเบสของไพรมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบอาร์เอพีดี – พีซีอาร์ กับดีเอ็นเอของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม	115
6	ไพรมอร์ที่ใช้ทดสอบ ลำดับเบสของไพรมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบเอสเอสอาร์กับดีเอ็นเอของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม	122

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
<p>11 ค่าเฉลี่ยของจำนวนเพื่อย่อนิ้วที่เพิ่มขึ้นในนิ้ว 4 คู่ผสม</p> <p style="margin-left: 20px;">ก. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ข. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863</p> <p style="margin-left: 20px;">ค. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน ง. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1</p>	58
<p>12 ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพื่อย่อนิ้วในนิ้ว 4 คู่ผสม</p> <p style="margin-left: 20px;">ก. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ข. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863</p> <p style="margin-left: 20px;">ค. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน ง. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1</p>	59
<p>13 สหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเพื่อย่อนิ้วกับระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพื่อย่อนิ้วในลูกผสมชั่วที่ 2 (F₂) ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพื่อย่อนิ้ว</p> <p style="margin-left: 20px;">ก. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ข. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863</p> <p style="margin-left: 20px;">ค. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน ง. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1</p>	62
<p>14 ระดับการประเมินการเข้าทำลายของเพื่อย่อนิ้ว</p> <p style="margin-left: 20px;">ก. ระดับ 0 (น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์) ข. ระดับ 1 (10 – 25 เปอร์เซ็นต์)</p> <p style="margin-left: 20px;">ค. ระดับ 2 (26 – 50 เปอร์เซ็นต์) ง. ระดับ 3 (51 – 75 เปอร์เซ็นต์)</p> <p style="margin-left: 20px;">จ. ระดับ 4 (มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์) ฉ. การเข้าทำลาย 100 เปอร์เซ็นต์</p>	63
<p>15 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจากไพรเมอร์ OPB – 08 ของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (คัด – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส</p>	73

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า	
16	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจาก ไพรมอร์ OPC – 05 ของคู่ผสมพันธุ์ตัด – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (กัด – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่ม ต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	73
17	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจาก ไพรมอร์ OPC – 13 ของคู่ผสมพันธุ์ตัด – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (กัด – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่ม ต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	74
18	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจาก ไพรมอร์ OPZ – 03 ของคู่ผสมพันธุ์ตัด – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (กัด – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่ม ต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	74

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า	
19	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจาก ไพรเมอร์ OPZ – 04 ของคู่ผสมพันธุ์ตัด – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (ตัด – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่ม ต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	75
20	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจาก ไพรเมอร์ OPZ – 08 ของคู่ผสมพันธุ์ตัด – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (ตัด – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่ม ต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	75
21	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจาก ไพรเมอร์ OPZ – 13 ของคู่ผสมพันธุ์ตัด – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (ตัด – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่ม ต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	76

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า	
22	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดีจาก ไพรเมอร์ OPAD – 05 ของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์ แม่ (คัด – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่ม ต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	76
23	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์จาก ไพรเมอร์ VM22 ของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 โดย lane 1 – 3 (พันธุ์แม่), lane 4 – 6 (พันธุ์พ่อ), lane 7 – 9 (ลูกผสมชั่วที่ 1), lane 10 – 16 (ลูกผสมกลับแม่ กลุ่มต้านทาน), lane 17 – 21 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ), lane 22 – 26 ลูกผสม กลับพ่อกลุ่มต้านทาน, lane 27 – 31 (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ), lane 32 – 37 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน), lane 38 – 41 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ), M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	78
24	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์จาก ไพรเมอร์ VM27 ของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 โดย lane 1 – 3 (พันธุ์แม่), lane 4 – 6 (พันธุ์พ่อ), lane 7 – 9 (ลูกผสมชั่วที่ 1), lane 10 – 16 (ลูกผสมกลับแม่ กลุ่มต้านทาน), lane 17 – 21 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ), lane 22 – 26 ลูกผสม กลับพ่อกลุ่มต้านทาน, lane 27 – 31 (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ), lane 32 – 37 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน), lane 38 – 41 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ), M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	78

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า	
25	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์จากไพรเมอร์ VM37 ของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 โดย lane 1 – 3(พันธุ์แม่), lane 4 – 6 (พันธุ์พ่อ), lane 7 – 9 (ลูกผสมชั่วที่ 1), lane 10 – 16 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มด้านทาน), lane 17 – 21 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ), lane 22 – 26 ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มด้านทาน, lane 27 – 31 (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ), lane 32 – 37 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มด้านทาน), lane 38 – 41 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ), M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	79
26	รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์จากไพรเมอร์ VM70 ของคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 โดย lane 1 – 3 (พันธุ์แม่), lane 4 – 6 (พันธุ์พ่อ), lane 7 – 9 (ลูกผสมชั่วที่ 1), lane 10 – 16 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มด้านทาน), lane 17 – 21 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ), lane 22 – 26 ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มด้านทาน, lane 27 – 31 (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ), lane 32 – 37 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มด้านทาน), lane 38 – 41 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ), M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส	79

รายการรูปภาพผนวก

รูปที่		หน้า
1	ระดับอุณหภูมิ ความชื้นในบรรยากาศ อุณหภูมิผิวดิน อัตราการระเหยของน้ำ และ ความเร็วลมในช่วงของการทดลอง (ปี พ.ศ. 2546 – 2550)	112
2	ปริมาณน้ำฝนรายเดือนในช่วงของการทดลอง (ปี พ.ศ. 2546 – 2550)	112

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ถั่วฝักยาว (Yardlong bean, Asparagus bean) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedalis* สามารถปลูกได้หลายพื้นที่ทั่วโลก เช่น ทวีปอเมริกา ทวีปแอฟริกา ทวีปยุโรป รวมทั้งบางประเทศของทวีปเอเชีย เช่น ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน จีน และไทย (Splittstoesser, 1979; Tindall, 1983) ถั่วฝักยาวเป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ และโภชนาการชนิดหนึ่งของประเทศ โดยความสำคัญทางเศรษฐกิจ พบว่า ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกถั่วฝักยาว 130,836.50 ไร่ ให้ผลผลิต 124,002.73 ตัน จังหวัดที่มีการปลูกถั่วฝักยาวมากที่สุดคือ จังหวัดราชบุรี มีพื้นที่ปลูก 18,996 ไร่ ให้ผลผลิต 26,584.65 ตัน รองลงมาคือ จังหวัดเพชรบุรี และจังหวัด นครราชสีมา มีพื้นที่ปลูก 7,517 และ 3,067 ไร่ และให้ผลผลิต 4,625 และ 3,067 ตัน ตามลำดับ สำหรับภาคใต้มีพื้นที่ปลูกถั่วฝักยาวทั้งสิ้น 31,319 ไร่ จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมากที่สุดคือ จังหวัด นครศรีธรรมราช มีพื้นที่ปลูก 2,758 ไร่ รองลงมาคือ จังหวัดสุราษฎร์ธานี มีพื้นที่ปลูก 2,605 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2550) ผลผลิตถั่วฝักยาวส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศ และบางส่วน ส่งจำหน่ายต่างประเทศ เช่น ฮองกง สิงคโปร์ มาเลเซีย เยอรมัน ฝรั่งเศส ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา และบางประเทศแถบตะวันออกกลาง (สุภาพร, 2535; อร่าม, 2543) โดยส่งออกในรูปแบบ ฝักสด ฝักแช่แข็ง และฝักบรรจุกระป๋อง สร้างรายได้เข้าประเทศปีละหลายล้านบาท (กองบรรณาธิการฐานเกษตรกรรม, 2541) และปัจจุบันการส่งออกถั่วฝักยาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ (ขวัญจิตรและวัลลภ, 2537; กรมส่งเสริมการเกษตร, 2550) ส่วนความสำคัญทางด้านคุณค่าทางโภชนาการ พบว่า ถั่วฝักยาวประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายหลายชนิด เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ไฟเบอร์ โทเอมีน ไรโบฟลาวิน ไนอาซิน และ เอสกออิกเอตีด (Knott and Deanon, 1967)

ถั่วพุ่มเป็นพืชสกุลถั่วเช่นเดียวกับถั่วฝักยาว (Li *et al.*, 2001; Phansak *et al.*, 2005) นิยมปลูกในหลายพื้นที่ทั่วโลก โดยเฉพาะประเทศกำลังพัฒนา และด้อยพัฒนา ได้แก่ ประเทศ อินเดีย ไนจีเรีย ไนเจอร์ และอูกันดา เป็นต้น ถั่วพุ่มเป็นพืชที่มีการบริโภค และใช้ประโยชน์ในหลายลักษณะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งใช้เป็นแหล่งโปรตีนราคาถูก เพื่อทดแทนโปรตีนจากเนื้อสัตว์

เนื่องจากถั่วพุ่มมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบถึง 24.80 เปอร์เซ็นต์ (Giami, 2005) นอกจากนี้พบว่า ถั่วพุ่ม มีสารอาหารที่เป็นส่วนประกอบสำคัญต่อร่างกายอีกหลายชนิด ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต 63.60 เปอร์เซ็นต์ ไฟเบอร์ 6.30 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 1.90 เปอร์เซ็นต์ ไทอามีน 0.00074 เปอร์เซ็นต์ ไรโบฟลาวิน 0.00042 เปอร์เซ็นต์ และไนอาซิน 0.00281 เปอร์เซ็นต์ (Davis *et al.*, 1991) จากความสำคัญดังกล่าว ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มจึงเป็นพืชผักที่มีการผลิต และบริโภคกันอย่างแพร่หลาย

อย่างไรก็ตามการผลิตถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มประสบปัญหาหลายประการ เช่น ปัญหาผลผลิตต่ำ เนื่องจากพันธุ์ปลูกไม่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม (Omongo *et al.*, 1998; Karungi *et al.*, 2000a) ปัญหาฐานพันธุ์กรรมแคบเนื่องจากพันธุ์ปลูกเพื่อการค้าส่วนใหญ่เป็นพันธุ์บริสุทธิ์ และอาจมีลักษณะไม่ดี เช่น ปลายฝักเป็นหางหนู (กฤษฎา และปราโมทย์, 2549) ปัญหาการระบาดของโรค (Gumedzoe *et al.*, 1998; Bashir *et al.*, 2002) รวมทั้งปัญหาการระบาดของแมลง (Saxena and Khan, 1984; Nakawuka and Adipala, 1997) โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาการระบาดของแมลง มีผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มเป็นอย่างมาก แมลงศัตรูพืชที่สำคัญได้แก่ เพลี้ยอ่อนถั่ว หนอนเจาะฝัก หนอนชอนใบ และหนอนเจาะลำต้น (Gowda *et al.*, 2002; Koono *et al.*, 2002) สำหรับการผลิตถั่วฝักยาวในภาคใต้ ประสบปัญหาการทำลายของแมลงเหล่านี้เช่นกัน โดยเฉพาะการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว มีผลต่อการเจริญของยอด ตาดอก และลดพื้นที่สังเคราะห์แสง (จารุวรรณ, 2529) ทำให้ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มไม่สามารถติดฝัก หรือติดฝักน้อย (Ofuya, 1995; พิสุทธิ, 2550) นอกจากนี้เพลี้ยอ่อนถั่วยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสมาสู่พืชปลูก ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคหลายชนิด เช่น Cowpea Mosaic Viruses (CMV), Broad Bean Leaf Roll Viruses (BBLRV) และ Bean Yellow Mosaic Viruses (BYMV) (Bashir and Hampton, 1996; Cardona and Kornegay, 1999; Kareem and Taiwo, 2007) สำหรับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว ทำให้ผลผลิตลดลง 30 – 40 เปอร์เซ็นต์ (Jayappa and Lingappa, 1988b) หรือผลผลิตเสียหายเฉลี่ยปีละ 732 ตัน (กอบเกียรติ และวีรวิทย์, 2531; อรัญ และคณะ, 2545) จากปัญหาดังกล่าวมีผลให้เกษตรกรใช้สารฆ่าแมลงควบคุมตลอดฤดูปลูก (เกรียงไกร, 2545) ซึ่งสารฆ่าแมลงที่ใช้ส่วนใหญ่มีพิษตกค้างในผลผลิต (ปวธร, 2546) โดยเฉพาะอย่างยิ่งถั่วฝักยาวซึ่งบริโภคในรูปฝักสด พบว่า มีสารพิษตกค้างมากถึง 66 เปอร์เซ็นต์ (เกรียงไกร, 2544) ซึ่งสูงเป็นอันดับสามรองจากคะน้า และกะหล่ำปลี (พนิดา และคณะ, 2545) อ้างโดย ร่วมจิตร์, 2551) ถั่วฝักยาวจึงเป็นพืชผักที่มีความเสี่ยงจากการปนเปื้อนของสารพิษตกค้างสูง การสร้างพืชตัดแต่งพันธุกรรม (Genetically Modified Organism : GMO plants) อาจเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถใช้เพื่อลดการใช้สารเคมี แต่ความกังวลถึงผลเสียจากพืชตัดแต่งพันธุกรรมยังคงมีอยู่ รวมทั้งประเทศไทยในปัจจุบันยังไม่อนุญาตให้ปลูกพืชตัดแต่งพันธุกรรมเป็นการค้า ดังนั้นการสร้างถั่วฝักยาวสายพันธุ์ใหม่ โดยการปรับปรุงพันธุ์ด้วยการ

คัดเลือก และผสมข้ามกับพันธุ์ที่มีความต้านทานหรือทนทานต่อการเข้าทำลายของแมลง จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่ง

การศึกษาพันธุกรรมและอัตราพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว เพื่อทราบการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาว แต่การปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวให้ต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในอดีตยังมีน้อย และไม่มีรายงานแน่ชัดว่าการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาวเป็นแบบใด (Mesfin *et al.*, 1992) นอกจากนี้การปรับปรุงพันธุ์ในอดีตมีข้อจำกัดในการคัดเลือก และผสมข้ามพันธุ์ซึ่งต้องใช้เวลาอันยาวนาน และลักษณะที่ปรากฏมีผลจากสภาพแวดล้อม ดังนั้นจึงมีการนำเครื่องหมายชีวโมเลกุลเข้ามาช่วยในการศึกษา และเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือก ซึ่งสามารถย่นระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์ให้สั้นลง เทคนิคหนึ่งที่ได้รับคามนิยม คือ เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA) ซึ่งทำได้ง่ายไม่ซับซ้อน ให้ข้อมูลมาก ค่าใช้จ่ายไม่สูง ใช้ปริมาณดีเอ็นเอน้อยประมาณ 25 – 100 นาโนกรัมต่อปฏิกิริยา และสามารถเป็นเครื่องหมายสำหรับช่วยในการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ (Marker Assisted Selection) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Winter and Kahl, 1995) และอีกเทคนิคหนึ่งคือ เอสเอสอาร์ เทคนิคนี้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้การเพิ่มปริมาณโดยพีซีอาร์ ต้องการดีเอ็นเอต้นแบบปริมาณน้อย และชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบมีขนาดเล็ก ไม่จำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอตัวอย่างที่มีคุณภาพดีมากนัก ผลการตรวจสอบยังมีความแม่นยำ สามารถส่งข้อมูลลำดับเบสของไพรเมอร์ เพื่อนำไปใช้ที่ห้องปฏิบัติการใดก็ได้ นอกจากนี้ยังมีการข่มร่วม (codominance) จึงสามารถแยกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซโกต และเฮเทอโรไซโกตได้

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม

ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มเป็นพืชอยู่ในสกุล *Vigna* และสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม (Herklots, 1972; Duke, 1981) คือ

1. *Vigna unguiculata* ssp. *sinensis* (common cultivated cowpea) กลุ่มนี้มีลักษณะฝักสั้นจนถึงยาวปานกลาง ฝักห้อยลงตามแรงโน้มถ่วงของโลก เมล็ดคล้ายรูปไต ได้แก่ ถั่วพุ่ม เป็นต้น

2. *Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedalis* (yardlong bean หรือ asparagus bean) กลุ่มนี้มีลักษณะฝักยาวห้อยลงตามแรงโน้มถ่วงของโลก ฝักจะเต่งในขณะอ่อน และเหี่ยวแห้งเมื่อสุกแก่ ได้แก่ ถั่วฝักยาว เป็นต้น

3. *Vigna unguiculata* ssp. *cylindrical* หรือ *Vigna unguiculata* ssp. *catjang* (*Vigna catjang* [Burn.] Walp) กลุ่มนี้มีลักษณะฝักสั้น และตั้งตรง เมล็ดมีลักษณะกลมรีขนาดเล็ก

เนื่องจากพืชทั้งสามกลุ่มนี้มีความคล้ายคลึง และสามารถผสมข้ามกันได้ง่าย จึงอาจจัดกลุ่มให้อยู่ใน species เดียวกันแต่ต่าง subspecies (Coulibaly *et al.*, 2002) อย่างไรก็ตาม Hancock (1992) รายงานเพิ่มเติมว่าพืชกลุ่ม *Vigna* อาจแยกได้ถึง 5 subspecies โดยแต่ละ subspecies มีคุณสมบัติ และลักษณะต่างๆ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณสมบัติ และลักษณะต่างๆ ของถั่วในสกุล *Vigna*

subspecies	ลักษณะ				
	พื้นที่ใบ (เซนติเมตร)	ความกว้างดอก (เซนติเมตร)	น้ำหนักฝัก แห้ง (กรัม)	เมล็ดต่อฝัก (เมล็ด)	น้ำหนักเมล็ด (มิลลิกรัม)
<i>mensis</i>	50.0 – 130.0	120.0 – 230.0	60.0 – 200.0	250.0 – 410.0	90.0 – 310.0
<i>dekindtiana</i>	3.3 – 4.2	2.3 – 3.0	2.0 – 2.5	3.0 – 3.2	2.3 – 3.2
<i>cylindrical</i>	0.2 – 0.5	0.4 – 0.8	1.0	3.0 – 4.0	1.0 – 4.0
<i>sesquipedalis</i>	16.0 – 19.0	14.0 – 17.0	–	–	13.0 – 20.0
<i>unguiculata</i>	8.0 – 25.0	20.0 – 40.0	40.0 – 80.0	10.0 – 20.0	70.0 – 300.0

ที่มา : Hancock (1992)

ถั่วฝักยาว (*V. unguiculata* ssp. *sesquipedalis*) เป็นพืชที่มีการปลูกตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน มีถิ่นกำเนิดแถบเขตร้อนของทวีปแอฟริกา และตอนใต้ของประเทศจีน (Purseglove, 1974) ถั่วฝักยาวมีชื่อสามัญหลายชื่อ เช่น yardlong bean, asparagus bean และ snake bean (Deseran, 2001) ถั่วฝักยาวเป็นพืชผสมตัวเองตามธรรมชาติ (self pollination) และบางครั้งสามารถผสมข้ามประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (กฤษฎา และปราโมทย์, 2549) สามารถปลูกได้ตลอดปี โดยช่วงเวลาที่เหมาะสมในการปลูกเพื่อให้ได้ผลผลิตดีที่สุดคือ เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤศจิกายนของทุกปี อุณหภูมิกลางวัน 27 – 30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิกลางคืน 17 – 22 องศาเซลเซียส ถั่วฝักยาวเป็นพืชที่ต้องการแสงแดดตลอด และสามารถปลูกได้ในดินทุกชนิด แต่ปลูกได้ดีในดินร่วนปนทราย มีการระบายน้ำได้ดี สภาพความเป็นกรด – ด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 5.5 – 6.5 (Rubatzky and Yamaguchi, 1997)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของถั่วฝักยาว พบว่า รากเป็นระบบรากแก้วยาวประมาณ 90 – 120 เซนติเมตร (สมภพ, 2537) ลำต้นเป็นเถาเลื้อย (indeterminate) พันตามค้างในทิศทวนเข็มนาฬิกา มีความสูงประมาณ 200 – 400 เซนติเมตร ใบเป็นแบบ trifoliolate compound leaf ประกอบด้วย 3 ใบย่อย ดอกมีช่อแบบ raceme เกิดตามซอกใบ 1 ช่อดอก มีดอกย่อย 2 – 6 ดอก แต่ละดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศเรียกว่า papilionaceous type โดยดอกย่อยมีขนาด 2.0 – 2.5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงมีสีเขียว ลักษณะเป็นกรวยล้อมรอบกลีบดอก กลีบดอกแบ่งเป็น 5 กลีบ มี 2 กลีบดอกขนาดใหญ่เรียกว่า standard ห่อหุ้มกลีบดอกชั้นใน (wing) 2 กลีบ และกลีบดอกชั้นในสุด ทำหน้าที่ห่อหุ้มเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมียซึ่งมีลักษณะเป็นกรวย หรือหลอด เรียกว่า keel เกสรเพศผู้เป็นแบบไดอเดลฟัสตาเมน (diadelphous stamen) มีอับละอองเรณู 10 อับ โดยอับละอองเรณู 9 อับเชื่อมติดกับเกสรเพศเมีย และอีก 1 อับ แยกออกจากกลุ่ม (กาญจนา, 2541) เกสรเพศเมียประกอบด้วยรังไข่ 1 อัน เป็นแบบ superior ovary รูปร่างยาวสีเขียว ก้านชูเกสรเพศเมีย และปลายเกสรเพศเมียมีขนฟูสีขาวติดอยู่ (อริยา, 2523) การจัดระเบียบของดอกเป็นแบบไม่สมมาตรรัศมี หากผ่าเป็น 2 ซีก สามารถผ่าได้เพียงแนวเดียว เรียกว่า irregular flower (สมบูรณ์, 2537) ฝักมีลักษณะตรง หรือโค้ง ยาว 20 – 60 เซนติเมตร (Tindall, 1983) และบางครั้งอาจยาวถึง 100 เซนติเมตร (รัตน, 2530) ฝักมีหลายสี ได้แก่ สีเขียวอ่อน สีเขียวเข้ม สีแดง สีนํ้าตาล และ สีม่วง เป็นต้น ภายในฝักมีเมล็ดคล้ายรูปไตประมาณ 10 – 20 เมล็ดต่อฝัก (Rubatzky and Yamaguchi, 1997) และเมล็ดมีหลายสี เช่น สีขาว สีนํ้าตาล สีดำ สีแดง หรืออาจมีสีสลับ เช่น สีนํ้าตาล – ขาว สีแดง – ขาว และ สีดำ – ขาว (วิทัศน์, 2541)

ถั่วพุ่ม (*V. unguiculata* ssp. *sinensis*) มีถิ่นกำเนิดแถบทวีปแอฟริกา และ ท่งหญ้า savanna (Menendes *et al.*, 1997) ซึ่งมีหลายชื่อเรียก เช่น black – eyed peas, cowpea, crowder pea, southern pea, field pea, china pea และ indian pea (Roy and Guste, 2001) ถั่วพุ่มเป็นพืชสกุลถั่วที่มี

ความสำคัญชนิดหนึ่งของโลก (Duke, 1981; Ehlers and Hall, 1997) โดยมีพื้นที่ปลูกทั่วโลก 12.5 ล้านเฮกตาร์ และให้ผลผลิตประมาณ 3 ล้านตันต่อปี (Alabi *et al.*, 2004) พื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในเขตร้อน และเขตกึ่งร้อน สำหรับประเทศไทยการผลิตถั่วพุ่ม ผลิตเพื่อบริโภคภายในครัวเรือน โดยพื้นที่การผลิตส่วนใหญ่อยู่บริเวณภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นพันธุ์พื้นเมือง โดยมีชื่อเรียกต่างกัน เช่น ถั่วนั้ง ถั่วปี และถั่วกระดาน (ศูนย์ศึกษาค้นคว้าและพัฒนาเกษตรกรรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, 2537; สมใจ และคณะ, 2543) ถั่วพุ่มที่ปลูกในประเทศไทยมีลักษณะลำต้นเลื้อย และปลูกได้เพียงปีละ 1 ครั้ง เพราะเป็นพันธุ์ไวแสง (สมใจ และคณะ, 2549) อย่างไรก็ตามมีการพัฒนาสายพันธุ์โดยคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เพื่อให้ได้ถั่วพุ่มที่มีลักษณะต้นตั้ง ลำต้นไม่เลื้อย อายุการเก็บเกี่ยวสั้น ปลูกได้ตลอดปี ให้ผลผลิตสูง ใช้บริโภคในรูปฝักสด และเมล็ดแห้ง (สมใจ, 2546) ซึ่งปัจจุบัน พบว่า มีการพัฒนาสายพันธุ์ถั่วพุ่มเพื่อการส่งออก สร้างรายได้เข้าประเทศปีละประมาณ 35 ล้านบาท (ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี, 2543)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของถั่วพุ่ม พบว่า มีความคล้ายคลึงกับถั่วฝักยาวคือ รากเป็นระบบรากแก้ว (taproot system) ลึก 30 – 90 เซนติเมตร และบางครั้ง พบว่า ถั่วพุ่มบางสายพันธุ์ในเขตแล้งของประเทศอุกันดา หรือประเทศไนจีเรีย มีรากที่สามารถหยั่งลึกได้ถึง 150 เซนติเมตร ทำให้ทนต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี (Davis *et al.*, 1991) นอกจากนี้ถั่วพุ่มยังมีรากแขนงซึ่งมีปม (nodules) ที่เกิดจากแบคทีเรียพวก *Rhizobium* เข้ามาอาศัยอยู่ ทำให้สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาสะสม และใช้ประโยชน์ในรูปไนเตรทได้ (ปราโมทย์, 2537) ลำต้น (stems) ถั่วพุ่มเป็นไม้ล้มลุกเนื้ออ่อน มีร่องบนลำต้น โดยลำต้นอาจมีผิวเรียบ หรือลำต้นขรุขระ การเจริญของลำต้นแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ ลำต้นแบบเลื้อย และลำต้นแบบพุ่ม โดยลักษณะลำต้นแบบเลื้อย พบว่า ลำต้นจะยึดยาว และเจริญต่อไปเรื่อยๆ ตลอดฤดูกาลปลูก ซึ่งบางครั้งอาจยาวถึง 450 เซนติเมตร ดอกของลำต้นแบบเลื้อยจะเกิดขึ้นตามซอกมุมใบเรื่อยๆ ทำให้ฝักแก่ไม่พร้อมกัน ส่วนลำต้นแบบพุ่ม พบว่า ลำต้นมีความสูง 30 – 90 เซนติเมตร เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่ จะออกดอกตามมุมใบ และปลายยอดของลำต้น ทำให้ฝักแก่พร้อมกันซึ่งสะดวกในการเก็บเกี่ยว (ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี, 2543) ใบของถั่วพุ่มเป็นแบบ trifoliate leaf เกิดสลับบนลำต้น ใบจริงคู่แรกเป็น ใบชนิด simple leaf ส่วนใบที่เกิดต่อๆ มาเป็นใบชนิด compound leaf ขนาดของใบมีขนาดเล็กจนถึงขนาดใหญ่ ลักษณะของใบมีตั้งแต่ค่อนข้างแหลมจนถึงกลมรี ใบมีสีเขียวอ่อนถึงเขียวเข้ม มีก้านใบ (pedicle) ยาว ที่โคนก้านใบมีหูใบ (stipule) 2 อัน แผ่นใบมีขนาดรูปร่างแตกต่างกันไปตามชนิด ดอกถั่วพุ่มมีหลายสี เช่น สีขาว สีเหลือง และสีม่วง (Sen and Bhowal, 1961) ช่อดอกเป็นแบบ raceme ซึ่งเกิดจากมุมใบ ดอกเรียงลำดับเป็นคู่ๆ 6 – 12 คู่ ใน 1 ช่อดอก มี 1 – 2 คู่ เท่านั้น ดอกมีก้าน

ดอกสั้น ฐานของดอกประกอบด้วยใบรูปเหลี่ยม สีเขียว เรียกว่า bract มีกลีบ 5 กลีบอยู่วงนอกสุด ส่วนวงถัดมาเป็นกลีบดอก ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ส่วนนอกสุด เรียกว่า standard ชั้นกลางเรียกว่า wing และชั้นในสุดเรียกว่า keel ซึ่งห่อหุ้มเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย เกสรเพศผู้ประกอบด้วยอับละอองเรณู 10 อับ ส่วนเกสรเพศเมียประกอบด้วยรังไข่ที่ไม่มีก้าน หรือขั้ว (multilocular) 1 อัน โดยรังไข่เป็นแบบ superior ovary เช่นเดียวกับถั่วฝักยาว ถั่วพุ่มมีฝักเรียวยาว 15 – 25 เซนติเมตร และงอเล็กน้อย เมื่อสุกแก่มีหลายสี เช่น สีเหลือง สีน้ำตาล และสีดำ ภายในฝักมีเมล็ดเป็นรูปไต ประมาณ 8 – 20 เมล็ดต่อฝัก หรือ 700 – 2,000 เมล็ดต่อกิโลกรัม (Martin, 1984) โดยแต่ละเมล็ดยาว 0.8 – 1.2 เซนติเมตร และมีหลายสี เช่น สีม่วง สีแดง สีน้ำตาลแดง สีน้ำตาล สีเทา สีขาว และสีดำเป็นจุดเล็กๆ หรือลายคล้ายหินอ่อน บางพันธุ์อาจจะมีสีเข้มเป็นจุดอยู่ตรงไฮลัม (Rubatzky and Yamaguchi, 1997)

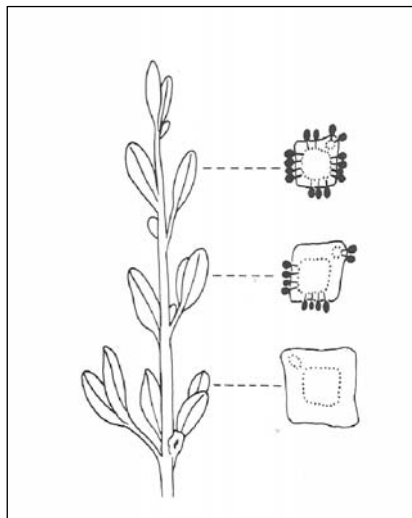
2. แมลงศัตรูของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม

แมลงศัตรูพืชเป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตพืชทุกชนิด เพราะมีผลโดยตรงต่อปริมาณ และคุณภาพผลผลิต แมลงศัตรูพืชที่สำคัญของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มมีหลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อนถั่ว เพลี้ยไฟ และหนอนเจาะฝัก (Karungi *et al.*, 2000b; Benchasri *et al.*, 2006) โดยเฉพาะเพลี้ยอ่อนถั่ว หากระบาดทำให้ผลผลิตลดลงประมาณ 30 – 40 เปอร์เซ็นต์ (Jayappa and Lingappa, 1988b) เพลี้ยอ่อนที่ทำลายถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มคือเพลี้ยอ่อนถั่ว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aphis craccivora* Koch เป็นแมลงในวงศ์ Aphididae ลักษณะเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก ผงน้ำตาลตัวอ่อนนุ่ม การเจริญเติบโตเป็นแบบ gradual metamorphosis หรือ paurometabolous คือตัวเต็มวัยจะออกลูกเป็นตัว (viviparity) (Nielson and Lehman, 1980; Dixon, 1987a) สำหรับประเทศไทย และประเทศแถบเขตร้อน พบเฉพาะเพลี้ยอ่อนถั่วเพศเมีย ซึ่งมีทั้งเพลี้ยอ่อนถั่วชนิดมีปีก และเพลี้ยอ่อนถั่วชนิดไม่มีปีก (จารุวรรณ, 2529) เพลี้ยอ่อนถั่วสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ และออกลูกเป็นตัว (Dixon, 1987b) เพลี้ยอ่อนเพศเมียหนึ่งตัวสามารถให้ลูกได้ประมาณ 27 ตัว ตัวอ่อนมีรูปร่างคล้ายตัวเต็มวัย แต่ลำตัว หนวด ขา cornicle canda และอวัยวะอื่นๆ ยังเจริญไม่เต็มที่ ซึ่งต้องใช้เวลา 5 – 7 วัน หรือลอกคราบ 3 – 4 ครั้ง จึงเจริญเป็นตัวเต็มวัยสมบูรณ์ ตัวเต็มวัยมีขนาด 1 มิลลิเมตร (Dixon, 1973) และมีอายุเฉลี่ย 11 วัน (Miyazaki, 1997) ปกติเพลี้ยอ่อนถั่วไม่ระบาด เพราะมีฝน และแมลงศัตรูธรรมชาติ เช่น ตัวห้ำ และ ตัวเบียน เป็นตัวควบคุม แต่หากฝนทิ้งช่วง หรือเข้าสู่ฤดูแล้งที่มีอากาศร้อน ไม่มีฝน หรือไม่มีแมลงศัตรูธรรมชาติควบคุม เพลี้ยอ่อนถั่วจะระบาด และสร้างความเสียหายให้กับพืชปลูกเป็นอย่างมาก เพราะเพลี้ยอ่อนถั่วมีน้ำย่อยช่วยในการย่อยผนังเซลล์ ทำให้

สามารถดูดกินน้ำเลี้ยง และทำลายพืชปลูกได้ง่าย นอกจากนี้เพลี้ยอ่อนตัวสามารถแพร่กระจายได้ง่าย และรวดเร็ว (Ibbotson and Kennedy, 1950) โดยในระยะตัวอ่อน หรือตัวเต็มวัยที่ไม่มีปีกเพลี้ยอ่อนตัวจะเคลื่อนย้ายโดยเดินจากพืชต้นหนึ่งไปสู่พืชอีกต้นหนึ่ง หรืออาศัยลมเป็นพาหะในการเคลื่อนย้าย (Powell and Hardie, 2000; Ferry *et al.*, 2004) ส่วนเพลี้ยอ่อนตัวชนิดมีปีก การเคลื่อนย้ายส่วนใหญ่จะบินจากพืชต้นหนึ่งไปสู่พืชอีกต้นหนึ่ง อย่างไรก็ตามการเคลื่อนย้ายของเพลี้ยอ่อนตัวขึ้นอยู่กับ 4 ปัจจัย ประกอบด้วย

1. อาหาร นับว่าเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เพลี้ยอ่อนตัวเคลื่อนย้าย หรือเข้าทำลายพืช ซึ่งสภาพปกติที่มีอาหารเพียงพอ เพลี้ยอ่อนตัวไม่มีการเคลื่อนย้ายจากที่อาศัยเดิมเพื่อหาอาหารแหล่งใหม่ หากเกิดสภาพขาดแคลน หรืออาหารไม่เพียงพอ เพลี้ยอ่อนตัวจะเคลื่อนย้ายเพื่อหาแหล่งอาหารใหม่ที่มีความสมบูรณ์กว่าเดิม (Smith *et al.*, 1994)

2. อายุ ของพืชมีผลต่อการเคลื่อนย้าย และการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวแตกต่างกัน โดยพืชที่มีการเจริญเต็มที่แล้ว พบว่า บริเวณยอดจะถูกทำลายมากกว่าส่วนของใบแก่ (Ibbotson and Kennedy, 1950) (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ความแตกต่างของเนื้อเยื่อพืชที่มีผลต่อพฤติกรรมการกินและการเคลื่อนย้ายของเพลี้ยอ่อนตัว ที่มา : Schnorbach (1983) อ้าง โดย Klingauf (1987)

3. เพศ เพ็ลี่ยอ่อนตัวเพศเมียมีความสามารถในการเคลื่อนย้ายเพื่อหาอาหาร และถ่ายทอดเชื้อไวรัสมากกว่าเพศผู้ เพราะเพ็ลี่ยอ่อนตัวเพศเมียต้องการอาหารเพื่อดำรงชีวิต และสืบพันธุ์มากกว่า จึงจำเป็นต้องมีการเคลื่อนย้ายหาแหล่งอาหารอยู่เสมอ (Nault and Ammar, 1989)

4. สภาพแวดล้อม นับว่าเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเข้าทำลายของเพ็ลี่ยอ่อนตัว เช่น สภาพอากาศเปลี่ยนแปลง หรือท้องฟ้ามีเมฆมาก ทำให้เพ็ลี่ยอ่อนตัวไม่เคลื่อนย้าย หรือเคลื่อนย้ายได้น้อย อย่างไรก็ตามหากสภาพแวดล้อมเหมาะสม คือ มีแสงแดด และสภาพความชื้นต่ำ เพ็ลี่ยอ่อนตัวจะสามารถเคลื่อนได้ และหาอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ibbotson and Kennedy, 1950; Robert, 1987)

3. พฤติกรรมการเลือกพืชอาหาร และการเข้าทำลายพืชของเพ็ลี่ยอ่อนตัว

การศึกษาพฤติกรรมการแสดงออก และความชอบของเพ็ลี่ยอ่อนตัวเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ เพื่ออธิบายกลไกการเข้าทำลายของเพ็ลี่ยอ่อนตัว Van Emden (1974) อ้างโดย Powell และคณะ (2006) ศึกษาพฤติกรรมการดูดกินน้ำเลี้ยงของเพ็ลี่ยอ่อนตัวฟาบา (*Aphis fabae*) พบว่าเพ็ลี่ยอ่อนตัวมีขั้นตอนการเข้าทำลายพืช 6 ขั้นตอน คือ

1. การบินเพื่อเกาะพืชอาหาร ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนแรกของการแสดงออกทางพฤติกรรม โดยเพ็ลี่ยอ่อนตัวจะบินวนไปมาเพื่อหาพืชอาหารตามแหล่งต่างๆ หากพบพืชอาหารหรือคิดว่าเป็นพืชอาหารก็บินลงเกาะพืชชนิดนั้น

2. การสัมผัสพืช และตรวจสอบพืชอาหารบริเวณผิวใบ เพ็ลี่ยอ่อนตัวจะสัมผัสกับพืชอาหาร และตรวจสอบโครงสร้างเซลล์บริเวณผิวของพืช

3. การใช้ปากทดสอบพืชอาหาร เพ็ลี่ยอ่อนตัวใช้สไตเลท (stylets) แทงผิวใบอย่างรวดเร็วเพื่อตรวจสอบหาช่องว่างระหว่างเซลล์พืช

4. เมื่อใช้สไตเลทแทงเข้าสู่เนื้อเยื่อพืช หากเพ็ลี่ยอ่อนตัวแน่ใจว่าเป็นพืชอาหาร และสามารถใช้ประโยชน์ได้ ก็จะใช้สไตเลทปักบริเวณช่องว่างระหว่างเซลล์พืชนั้น

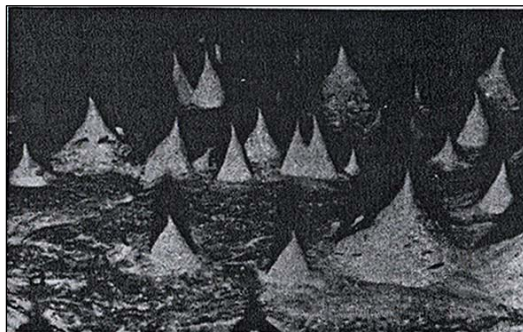
5. การย่อยเนื้อเยื่อพืช เพ็ลี่ยอ่อนตัวผลิตน้ำย่อย ที่มีส่วนประกอบของเอนไซม์โปรตีเนส และปล่อยออกมาทางสไตเลท เพื่อย่อยเซลล์พืชทำให้สะดวกแก่การดูดกิน

6. เพ็ลี่ยอ่อนตัวดูดน้ำเลี้ยงจากพืช โดยขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนสุดท้ายซึ่งเพ็ลี่ยอ่อนตัวจะดูดน้ำเลี้ยงจากพืชผ่านทางสไตเลท

4. กลไกการต้านทานแมลงของพืช

พืช และแมลงศัตรูพืชเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน จากการสังเกตวิวัฒนาการ และการเปลี่ยนแปลงต่างๆ โดยเฉพาะพืช พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการและกลไกต่างๆ มากมายเพื่อป้องกันอันตรายจากแมลง ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นสองลักษณะ (Gatehouse *et al.*, 1991) คือ

1. กลไกทางกายภาพ เป็นกลไกที่พืชสร้างขึ้นเพื่อป้องกันอันตรายจากแมลง โดยพืชสามารถป้องกันแมลงไม่ให้เข้ามาทำลาย หรือทำให้แมลงไม่สามารถใช้พืชชนิดนั้นเป็นอาหาร เป็นที่อยู่อาศัย หรือวางไข่ได้ เช่น พืชมีการสร้างลิกนิน (lignification) ไข (wax) หนามแหลม (trichomes) ขน หรือสารเมือก ซึ่งขับออกมาเพื่อป้องกันไม่ให้แมลงศัตรูเข้าถึงเนื้อเยื่อพืช (Horber, 1980; พืชนี้, 2545) โดยกลไกทางกายภาพมีการสร้างขึ้นในพืชหลายชนิด เช่น การสร้างเปลือกหุ้มเมล็ด หรือการสร้างเปลือกหุ้มลำต้นให้หนาขึ้นของมะเขือเทศ เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน (Norris and Kogan, 1980) การสร้างลำต้นให้มีความแข็งแรงมากขึ้นในข้าวสาลี เพื่อป้องกันหนอนเจาะลำต้น (Norris and Kogan, 1980) หรือการสร้างหนามบริเวณใบ และลำต้นของต้น *Bombacopsis* และ *Urera baccifera* เพื่อป้องกันเพลี้ยอ่อน เป็นต้น (Panda and Khush, 1995) (รูปที่ 2)



(ก)



(ข)

รูปที่ 2 การสร้างหนามบริเวณลำต้นของพืช ก. *Bombacopsis* ข. *Urera baccifera*

ที่มา : Panda และ Khush (1995)

2. กลไกทางเคมี เป็นกลไกขั้นสูงของพืชที่มีการผลิตสารเคมีขึ้นมาเพื่อกำจัด หรือยับยั้งแมลงศัตรูพืช มี 2 ขั้นตอน คือ primary metabolites และ secondary metabolites โดย primary metabolites เป็นกระบวนการที่พืชสร้างฮอร์โมน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน และสารประกอบฟอสฟอรัส (พืชนี้, 2545) เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ ซึ่งสารที่สร้างขึ้นมีผลทำให้

แมลงไม่ชอบพืชนั้น (Panda and Khush, 1995) ส่วน secondary metabolites ถูกสร้างขึ้นในกรณีที่พืชได้รับการกระตุ้นจากแมลง หรือมีแมลงเข้าทำลายพืช และไม่สามารถป้องกันได้ด้วยชั้นคอนแรก โดยพืชจะมีการสร้างสารที่มีความหลากหลายเพิ่มมากขึ้น สารแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่ต่างกักัน เช่น สารฆ่าแมลงศัตรู สารควบคุมการเจริญเติบโตของแมลง (insect growth regulators) สารยับยั้งการกิน (antifeedant) สารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอส (proteinase inhibitors) สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส สารยับยั้งการทำงานของกรดอะมิโนที่ไม่ใช่โปรตีน (Gatehouse *et al.*, 1992; Ferry *et al.*, 2004) หรือสารชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ (ตารางที่ 2) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารยับยั้งการเจริญเติบโต และสารยับยั้งการลอกคราบเป็นสารที่สำคัญ เพราะเมื่อพืชผลิตสารเหล่านี้ขึ้นมาจะมีผลโดยตรงต่อแมลง หากแมลงตัวใดสัมผัส หรือกินพืชนั้นเป็นอาหาร ทำให้แสดงอาการผิดปกติ เช่น หยุดกินอาหาร หยุดลอกคราบ และตายในที่สุด (Hilder and Boulter, 1992) ฉะนั้นพืชต้านทานแมลงที่ดีต้องมีคุณสมบัติในการป้องกันตัวเองทั้งกลไกทางกายภาพ และกลไกทางเคมี นอกจากนี้พืชยังตอบสนองทางพฤติกรรมเพื่อรักษาผลผลิต และความอยู่รอด 3 ลักษณะคือ หลีกเลีย่ง (avoidance) ทนทาน (tolerance) และฟื้นคืน (recovery) (Painter, 1968)

ตารางที่ 2 สารประกอบสำคัญที่พืชสร้างขึ้นเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของแมลง

สารที่พืชสร้างขึ้น	หน้าที่ของสาร	ที่มาของข้อมูล
Alkanes, aldehydes, ketones, waxes	protective layer	Panda และ Khush (1995)
Lignins, tannins	mechanical barrier	De Bruxelles และ Roberts (2001)
Terpenoids (monoterpenoids)	toxicants and ovicidal toxicants	Nishida (2002)
Phenolics	photosensitizing anti insect digest	Nishida (2002)
Flavonoids (anthocyanins, flavond)	antifeedant, phytoalexins	Ananthakrishnan (1999)
Quinones	toxicants, antifeedant	Panda และ Khush (1995)
Alkaloids	interfere in the nerve system, digestive enzyme inhibitor	Panda และ Khush (1995)
Cyanogenic glycosides	toxicant	Panda และ Khush (1995)
Glucosinolates	repellent, toxicant, irritant	Kliebenstein และคณะ (2001)
α-amylase inhibitors	digest enzyme inhibitors	Silva และคณะ (2001)
Proteinase inhibitors	digest enzyme inhibitors	Pompermayer และคณะ (2001)
B- glucosidase 1 (BGL 1)	Unknown	Stotz และคณะ (2000)

ที่มา : Mello และ Silva – Filho (2002)

5. ลักษณะการต้านทานแมลงในพืช

ลักษณะการต้านทานแมลงในพืชสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 แบบ คือ

1. แมลงไม่ชอบ (non preference, antixenosis) คือความต้านทานที่เกิดจากการแสดงออกของพืช เพื่อตอบสนองต่อแมลง ซึ่งมีผลทำให้แมลงไม่ชอบ เช่น ผีเสื้อไม่ชอบวางไข่หรือวางไข่น้อยบนข้าวสาลีพันธุ์ที่มีขนน้อย หรือไม่มีขน (Pathak, 1977 อ้างโดย ปริญญา, 2530) หนอน cereal beetle (*Oulema melanopus*) ไม่ชอบกินข้าวสาลีพันธุ์ CI 8591 เนื่องจากใบมีขนยาว และหนาแน่นทำให้หนอน cereal beetle ไม่สามารถเข้ากัดกินได้ อีกทั้งขนยังมีผลยับยั้งการสืบพันธุ์ของหนอน cereal beetle (Schillinger, 1969) หรือข้าวที่มีใบเล็กจะถูกทำลายจากเพลี้ยไฟน้อยกว่าข้าวใบปกติ (Painter, 1968) ส่วน ริระ และวัชรินทร์ (2543) อธิบายเพิ่มเติมว่าแมลงไม่ชอบ เป็นกลไกชนิดหนึ่งที่พืชใช้ในการหลบหนีจากแมลงศัตรู ซึ่งมีหลายรูปแบบ ได้แก่

(1) อายุของพืช เป็นปัจจัยหนึ่งในการแสดงออกของแมลงในการไม่ชอบ เช่น ฝ้ายที่มีอายุแก่กว่าจะถูกด้วงวงเจาะสมอฝ้ายเข้าทำลายน้อยกว่าฝ้ายที่มีอายุน้อยกว่า

(2) สัณฐานวิทยาของพืช เช่น ข้าวที่มีลำต้นแข็งแรง สามารถต้านทานหนอนกอ (stem borer) ได้ดีกว่าข้าวที่มีลำต้นอ่อนแอ ถั่วเหลืองพันธุ์มีขนบนลำต้นหนาสามารถต้านทานเพลี้ยจักจั่น (*Empoasca fabae*) ได้มากกว่าพันธุ์ที่มีขนบาง (ชาบุญรงค์, 2549) อย่างไรก็ตาม Ohlache และคณะ (1992) พบว่า ความหนาแน่นของขน (trichomes) บนต้นถั่วพุ่มสายพันธุ์ต้านทานมีความสัมพันธ์กันในทางบวก และมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเสียหายของฝัก โดยหากความหนาแน่น และความยาวของขนสูงมีผลให้หนอนเจาะฝักลดลง และทำความเสียหายบนฝักน้อยลงเช่นกัน

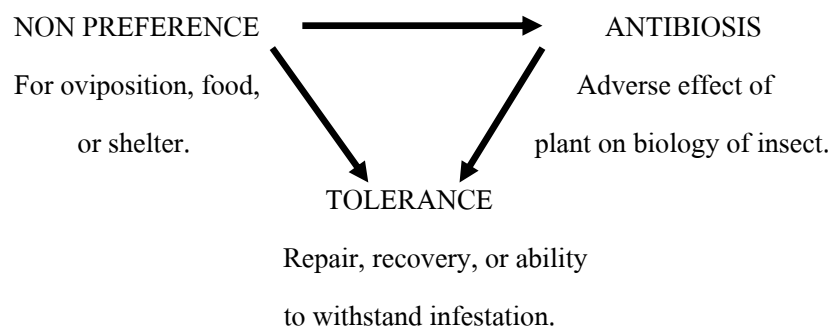
(3) สารเคมีในตัวพืช เป็นสิ่งที่พืชผลิตขึ้นมาทำให้แมลงไม่ชอบ เช่น ด้วงวงเจาะสมอฝ้ายไม่ทำลายฝ้ายที่มีกลิ่น (นพพร, 2543) หรือหนอนกอแถบลายสีม่วง (*Chilo suppressalis* Walker) ไม่วางไข่บนต้นข้าวพันธุ์ TKM6 เพราะมีสารบางชนิด ซึ่งมีคุณสมบัติต้านทาน และยับยั้งการวางไข่ (สมพงษ์, 2527)

(4) สีของพืช เป็นการตอบสนองอีกลักษณะหนึ่งที่ทำให้แมลงไม่ชอบ เช่น ตัวเต็มวัยของ *Pieris rapae* และผีเสื้อบางชนิดไม่ชอบวางไข่บนใบกะหล่ำปลีสีแดง (red cabbage) แต่ชอบวางไข่บนใบกะหล่ำปลีสีเขียว (Dickson and Eckenrode, 1975) เพลี้ยอ่อนถั่ว (*A. craccivora*) ตอบสนอง หรือเข้าทำลายพืชอาหารที่มีใบสีเหลือง หรือสีเขียวอ่อนมากกว่าสีเขียวเข้ม (Dixon, 1985; นพพร, 2543) ฝ้ายดอกสีแดงต้านทานต่อด้วงวงเจาะสมอฝ้าย (boll weevil, *Anthonomus grandis*) ดีกว่าฝ้ายดอกสีขาว (ไพศาล, 2527)

2. ด้านทานต่อแมลง (antibiosis) คือความต้านทานที่เกิดจากพืชสร้างสาร หรือแสดงลักษณะต่างๆ ซึ่งเป็นผลร้ายต่อวงจรชีวิตของแมลงทำให้การเจริญเติบโต และพัฒนาการของแมลงลดลง (Horber, 1980; Salifu, 1988b) ความต้านทานต่อแมลงจะสมบูรณ์เมื่อแมลงไม่สามารถมีชีวิตอยู่ต่อไปได้ (กฤษฎา, 2528) โดยความต้านทานต่อแมลงอาจแสดงออกในลักษณะทางปริมาณ และความเสียหายของพืชจะแตกต่างกันตามระดับ และปริมาณการเข้าทำลายของแมลง ในกรณีที่พืชมีแมลงเข้าทำลายเท่าๆ กัน หากพืชพันธุ์ใดถูกแมลงทำลายมาก แสดงว่ามีความต้านทานต่อแมลงน้อย

3. ทนทานต่อแมลง (tolerance) คือความต้านทานที่เกิดจากความสามารถของพืชที่จะเจริญเติบโต ขยายพันธุ์ เพิ่มผลผลิต หรือซ่อมแซมส่วนที่เสียหายจากการทำลายของแมลง ซึ่งพบในพืชหลายชนิด เช่น ข้าวที่ทนต่อหนอนกอสีครีม จะมีปฏิกริยาชดเชยต่อการถูกทำลาย (Pathak, 1977 อ้างโดย ปริญญา, 2530) หรือ turnip ที่ถูกหนอนใยผัก (*Plutella macolipenis*) เข้ากัดกินใบ แต่เส้นใบยังคงอยู่ สามารถที่จะเจริญเติบโต และมีอายุยาวนานกว่าปกติ เพื่อชดเชยพื้นที่ใบที่เสียไป (ธีระ และ วัชรินทร์, 2543) ซึ่งจากลักษณะความต้านทานแบบทนทานต่อแมลง จึงทำให้สามารถประเมินความต้านทานแมลงได้ โดยศึกษาจากส่วนของพืชที่ถูกทำลาย เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของผลผลิต หรือระดับความรุนแรงที่เกิดขึ้น (Smith *et al.*, 1994) นอกจากนี้การศึกษาจำนวนประชากรของแมลงที่เข้าทำลายพืชในแต่ละสายพันธุ์ และตรวจวัดผลผลิต หรือเปอร์เซ็นต์ที่แมลงรอดตายก็เป็นส่วนหนึ่งของความต้านทานแบบทนทานต่อแมลง (Davis *et al.*, 1984)

เมื่อพิจารณาจากทั้ง 3 ลักษณะ พบว่า แมลงไม่ชอบ ด้านทานต่อแมลง และทนทานต่อแมลง มีความสัมพันธ์กันดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ของพืชในการตอบสนองต่อการเข้าทำลายของแมลง

ที่มา : Painter (1968)

6. การศึกษายีน และการปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มให้ต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว

จากการศึกษาความต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงในพืช พบว่า สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ และอาจถูกควบคุมด้วยยีนตั้งแต่ 1 คู่, 2 คู่, 3 คู่ หรือ ยีนหลายๆ คู่ ยีนต้านทานอาจเป็นยีนเด่น หรือยีนด้อย และการแสดงออกของยีนอาจเป็นแบบบวก (บุญหงษ์, 2548) สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม International Institute of Tropical Agriculture (1982) รายงานว่าลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วพุ่มควบคุมด้วยยีนเด่นเพียง 1 คู่ สอดคล้องกับรายงานของ Pathak (1988) ที่รายงานว่ายีนต้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วพุ่มเป็นยีนคู่เดียว และกำหนดชื่อว่า *Rac 1* และ *Rac 2* ส่วน Githiri และคณะ (1996) ศึกษาการถ่ายทอดพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ โดยผสมข้ามระหว่างถั่วพุ่มพันธุ์ต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว 8 สายพันธุ์ คือพันธุ์ ICV10, ICV11, ICV12, IT82E – 25, TVU 310, IT87S – 1394, IT87S – 1459 และ IT84S – 2246 กับพันธุ์ TVU946 ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว พบว่า ยีนควบคุมการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วมีเพียง 1 คู่ และเป็นยีนเด่น เนื่องจากอัตราส่วนของต้นต้านทานต่อต้นอ่อนแอในลูกผสมชั่วที่ 2 และ ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ (อ่อนแอ) มีค่าเท่ากับ 3 : 1 และ 1 : 1 ตามลำดับ

7. พันธุกรรมพื้นฐานเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช

7.1. การทำงาน และการแสดงออกของยีน

นักปรับปรุงพันธุ์จำเป็นต้องทราบข้อมูลพื้นฐานต่างๆ ของการทำงาน และการแสดงออกของยีน เพื่อสะดวก และง่ายต่อการปรับปรุงพันธุ์ การแสดงผลของยีนแบ่งเป็น 2 แบบ คือ

การทำงานของยีนในตำแหน่งเดียวกัน ซึ่งปฏิกริยาของยีนอาจเป็นแบบผลบวก (additive) คือ ลักษณะที่แสดงออกขึ้นอยู่กับจำนวนยีนที่ช่วยเสริมลักษณะนั้นๆ และยีนเด่นแต่ละตัว จะเพิ่ม หรือลดค่าได้เท่าๆ กัน ไม่ว่าจะอยู่ในรูปของเฮเทอโรไซโกต หรือโฮโมไซโกต หรือ ยีนแบบข่ม (dominant) คือ ยีนตัวหนึ่งไปข่มการแสดงออกของยีนอีกตัวหนึ่ง อาจเป็นการข่มสมบูรณ์ ข่มไม่สมบูรณ์ หรือข่มเกินก็ได้

การทำงานของยีนต่างตำแหน่ง ซึ่งปฏิกริยาของยีนอาจเป็นแบบผลบวก คือ เป็นผลบวกของยีนคนละตำแหน่งที่ควบคุมลักษณะเดียวกัน ยีนหลายๆ คู่ ที่ควบคุมลักษณะเดียวกันในแบบผลบวกเรียกว่า multiple factors ยีนแต่ละคู่ทำงานเป็นอิสระ การแสดงออกของยีนตัวหนึ่งจะไม่ขึ้นอยู่กับยีนตัวอื่นๆ หรือ แบบข่ม เกิดขึ้นกับลักษณะควบคุมด้วยยีนหลายคู่ และแต่ละคู่ไม่เป็นอิสระต่อกัน พืชที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกันอาจแสดงลักษณะออกมาเหมือนกัน ขึ้นอยู่กับปฏิกริยาระหว่างกลุ่มของยีนที่แสดงลักษณะนั้นๆ กลุ่มของยีนย่อย (minor genes) ที่ควบคุมลักษณะทางปริมาณเหล่านี้เรียกว่า poly – genes สภาพแวดล้อมมีผลอย่างมากต่อการแสดงออกของยีน และประสิทธิภาพในการคัดเลือกลักษณะเหล่านี้ นอกจากนี้มียีนบางกลุ่มที่แสดงลักษณะข่ม การแสดงออกของยีนบนตำแหน่งอื่นๆ ซึ่งเรียกว่า epistasis ซึ่งมักเป็นการแสดงออกของกลุ่มยีนหลัก (major gene) (กฤษฎา, 2528)

7.2 ความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variation)

ความแปรปรวนทางพันธุกรรมเป็นสิ่งสำคัญที่นักปรับปรุงพันธุ์ต้องทราบว่าพืชที่ต้องการปรับปรุงมีความแปรปรวนมาก น้อย หรือมีความแปรปรวนในลักษณะใด เช่น ลักษณะฝักของถั่วฝักยาว พบว่า ความแปรปรวนหลายระดับ เช่น ฝักสั้น ฝักยาวปานกลาง หรือฝักยาวมาก ส่วนลักษณะอื่นๆ ก็มีการกระจายตัวแตกต่างกัน การปรับปรุงพันธุ์จึงเป็นการเพิ่มโอกาสให้ได้พืชที่มีลักษณะดี หรือลักษณะใหม่ โดยความแปรปรวนอาจพิจารณาได้ 2 ลักษณะ คือ

7.2.1 ลักษณะทางคุณภาพ คือ ลักษณะที่ควบคุมด้วยหน่วยควบคุม หรือยีนน้อยคู่ ยีนแต่ละคู่มีความสามารถที่จะแสดงลักษณะที่ควบคุมอยู่ออกมาได้อย่างเด่นชัด ลักษณะการกระจายตัวของรุ่นลูกสามารถแยกออกได้เป็นกลุ่มอย่างชัดเจน มีการกระจายตัวอย่างไม่ต่อเนื่อง (discontinuous variation) สภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะเหล่านี้เพียงเล็กน้อย เช่น ลักษณะความสูง สีเมล็ด หรือความต้านทานโรค เป็นต้น

7.2.2 ลักษณะทางปริมาณ คือ ลักษณะที่ควบคุมด้วยยีนหลายคู่ แต่ละคู่มีผลต่อการแสดงออกของยีนลักษณะนั้นได้น้อย รุ่นลูกมีการกระจายตัวแบบต่อเนื่อง (continuous variation) ไม่สามารถจะแบ่งเป็นกลุ่มได้อย่างชัดเจน และสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะเหล่านี้มาก เช่น ลักษณะผลผลิต ความแข็งแรงของต้น การต้านทานแมลง หรือการปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

7.3 อัตราพันธุกรรม (heritability)

อัตราพันธุกรรม หรือความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม คือ อัตราส่วนของความแปรปรวน ซึ่งเป็นส่วนที่สืบเนื่องจากยีน อัตราพันธุกรรมเป็นตัวบ่งบอกถึงลักษณะบางลักษณะเกิดจากผลของยีน และสภาพแวดล้อมในอัตราส่วนเท่าใด อีกทั้งบอกถึงลักษณะที่ปรากฏสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานในอัตราส่วนเท่าใด คือ มีลูกหลานที่เปอร์เซ็นต์ที่มีลักษณะเหมือนพ่อแม่ (ไพศาล, 2525) ซึ่งลักษณะใดมีอัตราพันธุกรรมต่ำ แสดงว่ายีนมีอิทธิพลต่อลักษณะนั้นน้อย และความแปรปรวนเกิดจากสภาพแวดล้อมเป็นส่วนใหญ่ (กฤษฎา, 2544)

8. การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาพันธุกรรมพืช

จากการประสบปัญหาการแบ่งกลุ่ม หรือการจำแนกกลุ่มต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตทำได้ยาก โดยเฉพาะพืชซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่คล้ายกัน ซึ่งการจำแนกพืชในอดีตอาศัยความแตกต่างทางรูปร่างลักษณะ (morphology) เช่น ความสูงต้น ลักษณะทรงพุ่ม การใช้ขนาดใบ รูปร่างของเมล็ด ความยาวฝัก สีดอก หรือลักษณะสีฝัก เป็นตัวแยกความแตกต่าง แต่ความแตกต่างเหล่านี้ไม่เพียงพอที่จะแยกความแตกต่างของพืชได้อย่างสมบูรณ์ บางลักษณะยังขึ้นอยู่ก็ระยะเวลาการเจริญเติบโต ต้องอยู่ในช่วงที่เหมาะสมจึงจะสามารถจำแนกความแตกต่างได้ เช่น ลักษณะสีดอก

ลักษณะสีฝัก และลักษณะผลผลิต เป็นต้น นอกจากนี้ลักษณะที่แสดงออกอาจเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม (จรัสศรี, 2548)

ปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายโมเลกุล มาใช้เพื่อการจำแนก หรือตรวจสอบลักษณะต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตในระดับดีเอ็นเอได้ โดยในระยะแรกเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้เป็นการตรวจสอบในระดับโปรตีน คือ การใช้ไอโซไซม์ (isozyme) แต่การใช้ไอโซไซม์มีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่น มีอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม หรือขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตของพืช ทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ หรือแยกความแตกต่างได้น้อย (Degani *et al.*, 2001; Claros *et al.*, 2002) ต่อมามีการพัฒนาเทคนิคขึ้นมาใหม่ คือเทคนิคอาร์เอฟแอลพี (Restriction Fragment Length Polymorphism) พัฒนาโดย Botstein และคณะ (1980) ซึ่งเป็นเทคนิคแรกที่เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในระดับดีเอ็นเอ โดยอาศัยหลักการของความแตกต่างในลำดับเบสที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ความแตกต่างของลำดับเบสนี้เป็นคุณสมบัติทั่วไปที่พบในสิ่งมีชีวิตที่มีจีโนมที่ต่างกัน อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้มีข้อเสีย คือ ต้องใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจำนวนมาก และดีเอ็นเอต้องมีคุณภาพดี อีกทั้งมีขั้นตอนยุ่งยาก และค่าใช้จ่ายสูง (Kuandun *et al.*, 2000) ทำให้นักวิทยาศาสตร์พยายามหาเทคนิคใหม่ๆ ทดแทนในระยะต่อมา เช่น เทคนิคอาร์เอฟดี (RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA) เอสเอสอาร์ (SSR : Simple Sequence Repeat) และเอเอฟแอลพี (AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism) และปัจจุบันมีการคิดค้น และใช้เครื่องหมายโมเลกุลในระดับดีเอ็นเอหลายชนิด (ตารางที่ 3) ซึ่งเทคนิคแต่ละชนิดมีวิธีการ และวัตถุประสงค์แตกต่างกัน เช่น ใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืช การทำแผนที่ยีน (gene mapping) การหาคำแหน่งของยีน (gene tagging) หรือใช้เป็นเครื่องหมายในการคัดเลือกลักษณะสำคัญต่างๆ เช่น การหายีนที่ต้านทานโรค ยีนต้านทานแมลง หรือยีนที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะผลผลิตสูง เป็นต้น (Byrne and Richardson, 2005)

ตารางที่ 3 เครื่องหมายโมเลกุลที่มีการใช้ในปัจจุบัน

เทคนิค	ชื่อเต็ม	ผู้คิดค้น
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism	Vos และคณะ (1995)
AMP – PCR	Anchored Microsatellite Primed PCR	Wolff และคณะ (1995)
AP – PCR	Arbitrarily Primed PCR	Welsh และ McClelland (1990)
ASA	Allele – Specific Amplification	Wu และคณะ (1989)
ASSR	Anchored Simple Sequence Repeat	Wu และคณะ (1994)
CAPS	Cleaved Amplification Polymorphic Sequence	Akopyanz และคณะ (1992)
DALP	Direct Amplification of Length Polymorphism	Desmarais และคณะ (1998)
DFLP	DNA Fragment Length Polymorphism	Hongtrakul และคณะ (1998)
dRAMP	Digested RAMP	Becker และ Heun (1995)
IFLP	Intron Fragment Length Polymorphism	Hongtrakul และคณะ (1998)
IM – PCR	Inter – Microsatellite PCR	Zietkiewicz และคณะ (1994)
IRAP	Inter – Retrotransposon Amplified Polymorphism	Kalendar และคณะ (1999)
ISA	Inter – SSR Amplification	Zietkiewicz และคณะ (1994)
ISSR	Inter – Simple Sequence Repeats	Zietkiewicz และคณะ (1994)
MAAP	Multiple Arbitrary Amplicon Profiling	Caetano – Annolles (1994)
MP – PCR	Microsatellite – Primed PCR	Meyer และคณะ (1993)
RAHM	Randomly Amplified Hybridizing Microsatellites	Cifarelli และคณะ (1995)
RAMPO	Randomly Amplified Microsatellite Polymorphism	Richardson และคณะ (1995)
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA	Williams และคณะ (1990)
RBIP	Retrotransposon – Based Insertion Polymorphism	Flavell และคณะ (1998)
REMAP	Retrotransposon – Microsatellite Polymorphism	Kalendar และคณะ (1999)
SCAR	Sequence Characterised Amplified regions	Paran และ Michelmore (1993)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	Landegren และคณะ (1988)
SPAR	Single primer Amplification Reactions	Gupta และคณะ (1994)
S – SAP	Sequence – Specific Amplification Polymorphism	Waugh และคณะ (1997)
SSCP	Single Strand Conformation polymorphism	Hayashi (1992)
SSR	Simple Sequence Repeat	Hearne และคณะ (1992)
STMS	Sequence – Tagged Microsatellite Site	Beckmann และ Soller (1990)
STR	Short Tandem Repeat	Edwards และคณะ (1991)
STS	Sequence – Tagged – Site	Olson และคณะ (1989)
VNTR	Variable Number of Tandem Repeats	Nakamura และคณะ (1987)

ที่มา : Gupta และคณะ (2002)

8.1 เทคนิคอาร์เอพีดี (RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA)

เทคนิคอาร์เอพีดีเป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้น โดย Williams และคณะ (1990) ซึ่งอาศัยหลักการเพิ่มขยายชิ้นส่วนของดีเอ็นเอโดยการทำพีซีอาร์ ใช้ไพรเมอร์สายสั้นๆ ประมาณ 8 – 10 เบส เพียงชนิดเดียว มีลำดับเบสแบบสุ่ม และเป้าหมายการเกาะของไพรเมอร์ คือ บริเวณที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกัน โดยไม่คำนึงถึงทิศทางของไพรเมอร์ที่เกาะกับดีเอ็นเอต้นแบบ และไม่จำเพาะกับยีนใดๆ แยกขนาดของดีเอ็นเอที่ได้ด้วยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจล ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ การเกิดแถบดีเอ็นเอ เป็นผลมาจากไพรเมอร์เข้าไปเกาะได้หลายตำแหน่ง โดยเกาะกับดีเอ็นเอคนละสายในทิศทางเข้าหากัน จะสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในช่วงนั้นได้ แต่ถ้าไพรเมอร์เกาะดีเอ็นเอสายเดียวในทิศทางเดียวกัน หรือเกาะกับดีเอ็นเอคนละสาย แต่ทิศทางแยกออกจากกัน หรือเกาะได้สองสายห่างไกลกันมาก แม้ทิศทางเข้าหากันก็ไม่สามารถเกิดผลผลิตได้ (สุวิมล, 2544; กุลยา, 2550) เทคนิคอาร์เอพีดีมีข้อดี คือ เป็นวิธีที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก ผลการตรวจสอบมีความรวดเร็ว มีโพลิเมอร์พีซีเอ็มสูง ให้ข้อมูลมาก ใช้ปริมาณดีเอ็นเอประมาณ 25 – 100 นาโนกรัมต่อปฏิกิริยา (Winter and Kahl, 1995) แต่มีข้อเสียในการทดลองซ้ำ เนื่องจากเทคนิคนี้มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพต่างๆ สูง จึงต้องควบคุมสภาพต่างๆ ให้คงที่ และเทคนิคอาร์เอพีดียังแสดงการข่มทำให้ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างลักษณะพันธุ์แท้ยีนเด่น (homozygous dominant) และพันธุ์ทาง (heterozygous) ได้ (Cipriani *et al.*, 1996) อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอสามารถนำมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ หรือความแตกต่างทางพันธุกรรมได้ (Thormann *et al.*, 1994) เครื่องหมายอาร์เอพีดีมีประสิทธิภาพสำหรับการให้ลักษณะความแตกต่าง (polymorphism) และสามารถใช้ในการจำแนกลักษณะต่างๆ ได้อย่างรวดเร็ว โดยมีกานำเทคนิคนี้มาใช้ประโยชน์ในด้านเป็นเครื่องหมายช่วยในการคัดเลือก ดังนี้

การใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอพีดีในการปรับปรุงพันธุ์พืชด้านทานโรค และแมลง Mayer และคณะ (1997) รายงานความสำเร็จในการสร้างเครื่องหมายอาร์เอพีดีเพื่อใช้ตรวจสอบยีนด้านทานโรค *Fusarium wilt* ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* ใน chickpea (*Cicer arietinum*) Young และ Kelly (1997) พบว่า มียีนหลัก 3 ตำแหน่งควบคุมลักษณะด้านทานโรค antracnose ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Colletotrichum lindemuthianum* ในถั่วแขกเชื่อมติดกับเครื่องหมายอาร์เอพีดี Jeon และคณะ (1999) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอพีดีในการคัดเลือกลักษณะด้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว จากการใช้ไพรเมอร์ 140 ไพรเมอร์ พบว่า ไพรเมอร์ OPD – 07 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างลักษณะด้านทาน และลักษณะอ่อนแอได้ สุนทรีย์ และคณะ (2547) รายงานว่าไพรเมอร์ OPO – 11 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างถั่วลิสงพันธุ์

NcAc 17090 ซึ่งต้านทานต่อโรคราสนิมกับพันธุ์ มข.1 และไทนาน 9 ที่อ่อนแอต่อโรคราสนิมได้ Namayanja และคณะ (2006) ประสบความสำเร็จในการสร้างเครื่องหมายอาร์เอพีดีเพื่อใช้ตรวจสอบและแยกยีนต้านทานโรค angular leaf spot ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Phaeoisariopsis griseola* Sacc. ได้โดยใช้ไพรเมอร์ OPE – 04 ขนาด 700 คู่เบส

8.2 เทคนิคเอสเอสอาร์ (SSR : Simple Sequence Repeat)

เอสเอสอาร์ หรือ ไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite) เป็นเครื่องหมายโมเลกุลชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในปัจจุบัน โดยอาศัยหลักการกระจายตัวของเบสซ้ำที่มีในสิ่งมีชีวิต ลักษณะที่สำคัญของเบสซ้ำเหล่านี้ คือการมีลำดับเบสจำเพาะอยู่บริเวณหัวท้ายของเบสซ้ำ ซึ่งเบสจำเพาะเหล่านี้สามารถนำมาใช้สร้างเป็นไพรเมอร์ขนาด 20 เบส หรือมากกว่า เพื่อใช้ขยายปริมาณเบสซ้ำในตำแหน่งที่ต้องการ โดยใช้หลักการของพีซีอาร์ ผลผลิตของการทำพีซีอาร์นั้นจะนำไปแยกขนาดโดยใช้โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ซึ่งความแตกต่างของแต่ละต้นในประชากรนั้นเกิดจากความแตกต่างของจำนวนเบสซ้ำในแต่ละต้น คุณสมบัติสำคัญของเครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้คือความจำเพาะเจาะจงของตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมายบนจีโนม และจำนวนของ allelic form ที่สามารถตรวจสอบได้ นอกจากนี้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้ยังเป็นแบบ codominant จึงสามารถตรวจสอบ heterozygous ได้ (สุรินทร์, 2549)

การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์มีวิธีการยุ่งยาก และเสียค่าใช้จ่ายสูง แต่หลังจากพัฒนาเครื่องหมายแบบเอสเอสอาร์ได้แล้ว สามารถนำไปใช้ได้ง่าย เนื่องจากเครื่องหมายดีเอ็นเอนี้เพิ่มปริมาณโดยพีซีอาร์ จึงใช้ดีเอ็นเอต้นแบบจำนวนน้อย และชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการขนาดเล็ก ไม่จำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอต้นแบบที่มีคุณภาพดีมากนัก ผลการตรวจสอบมีความแม่นยำสูง สามารถนำไปใช้ห้องปฏิบัติการใดก็ได้ มีโพลิมอร์ฟิซึมสูง เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงชุดซ้ำได้ง่าย (กรกช, 2550; Suwannarat and Nualsri, 2008) จึงมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์มาใช้หลายรูปแบบ เช่น

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม Li และคณะ (2001) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วพุ่ม จำนวน 90 สายพันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 46 ไพรเมอร์ ประกอบด้วย 128 อัลลิล พบว่า 31 ไพรเมอร์ หรือ 67 เปอร์เซ็นต์ ให้แถบดีเอ็นเอมีความแตกต่างกัน และมี 27 ไพรเมอร์ ให้แถบดีเอ็นเอมีความแตกต่าง และชัดเจน โดยมีแถบดีเอ็นเอเฉลี่ย 4.7 แถบต่อไพรเมอร์ Phansak และคณะ (2005) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วฝักยาว 15 สายพันธุ์ และถั่วในสกุล *Vigna* 6 ชนิด ประกอบด้วย ถั่วพุ่ม, ถั่วเขียว,

blackgram, rice bean, adzuki bean และ moth bean ซึ่งถั่วทั้งหมดนี้ได้จากศูนย์วิจัยพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม พบว่า เมื่อทดสอบโดยไพรมอร์ 27 ไพรมอร์ มีแถบดีเอ็นเอชัดเจนจำนวน 16 ไพรมอร์ และแถบดีเอ็นเอเฉลี่ย 3.4 แถบต่อไพรมอร์ และเมื่อตรวจสอบความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่มถั่วฝักยาว 15 สายพันธุ์ พบว่า สามารถแบ่งถั่วออกเป็น 3 กลุ่ม

การจำแนกพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์ He และคณะ (2005) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบเอสเอสอาร์จำแนกชนิดของถั่วลิสง 48 สายพันธุ์ ตามความแตกต่างของลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 6 ชนิด ประกอบด้วย *Arachis hypogaea*, *A. hirsute*, *A. fastigiata*, *A. peruviana*, *A. aequatorian* และ *A. vulgaris* พบว่า 8 ไพรมอร์ให้แถบดีเอ็นเอที่จำเพาะในแต่ละพันธุ์ คือ PM15, PM32, PM188, PM375, PM402, PM297, PM478 และ PM588

การศึกษา และคัดเลือกลักษณะที่ต้องการ Che และคณะ (2003) ทำการศึกษาหาตำแหน่งของยีนต้านทานโรคกาบใบแห้งในข้าว โดยผสมข้าม 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ 4011 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ต้านทานโรคกาบใบแห้ง กับพันธุ์ Xiangzaoxian19 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคกาบใบแห้ง เพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 2 และตรวจสอบโดยใช้เครื่องหมายอาร์เอฟดี (OPN – 16₂₀₀₀) เอเอฟแอลพี (E – AT:M-CAC₁₂₀, E – A T: M – CTA₂₃₀) และเอสเอสอาร์ (RM164₃₂₀, RM39₃₀₀) พบว่า ลักษณะดังกล่าวมีการควบคุมแบบข่ม โดยยีน *Rsb1* และอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 5 ของข้าว มีระยะห่างระหว่างยีน *Rsb1* ตามลำดับดังนี้ 1.6 cM, 1.6 cM, 9.9 cM, 15.2 cM และ 1.6 cM Changchao และคณะ (2006) ใช้เทคนิคเอสเอสอาร์ศึกษาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งควบคุมด้วยยีน *Bph9* โดยทำการผสมข้ามข้าว 2 สายพันธุ์ คือ Kaharamana ซึ่งต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และพันธุ์ 02428 ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล สร้างลูกผสมชั่วที่ 2 เพื่อหาเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับยีน *Bph9* พบว่า ไพรมอร์ RM463 และ RM534 มีความสัมพันธ์กับยีนที่ควบคุมการต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 12 และมีระยะห่าง 6.8 cM และ 9.7 cM ตามลำดับ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษา และเปรียบเทียบความสามารถในการต้านทานเพลี้ยอ่อนตัวงอของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มภายใต้สภาพแปลงทดลองธรรมชาติ และในโรงเรือนตาข่ายปิด
2. เพื่อศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนตัวงอในถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม
3. เพื่อศึกษาข้อมูลเบื้องต้นในการหาเครื่องหมายอาร์เอพีดี และ เอสเอสอาร์ ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนตัวงอในถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ และอุปกรณ์

1. วัสดุ และอุปกรณ์ในแปลงทดลอง

1.1 วัสดุในแปลงทดลอง

- เมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์
- เมล็ดพันธุ์ลูกผสมของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม ประกอบด้วยลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ
- เปลี้ยอ่อนถั่ว
- ปุ๋ยคอก
- ปุ๋ยเคมีสูตร 15 – 15 – 15 และสูตร 21 – 0 – 0

1.2 อุปกรณ์ในแปลงทดลอง

- ป้ายแสดงกลุ่มผสม
- ถุงกระดาษสำหรับคลุมดอก
- อุปกรณ์สำหรับวัด ได้แก่ ไม้บรรทัด และ ไม้เมตร เป็นต้น
- เครื่องชั่ง ทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
- ไม้สำหรับปักค้ำ
- กระจกดินเผา และกระจกพลาสติก ขนาด 12 นิ้ว และ 14 นิ้ว
- ตะกร้าพลาสติก
- อุปกรณ์ในการผสมเกสร ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ คลิปหนีบ และแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น
- อุปกรณ์ในการให้น้ำ ได้แก่ บั้วรดน้ำ และสายน้ำหยด เป็นต้น

- จอบ
- พลาสติกคลุมแปลง
- คู่อบเมล็ดพันธุ์

2. วัสดุ และอุปกรณ์ในการศึกษาระดับดีเอ็นเอ

2.1 วัสดุในห้องปฏิบัติการสำหรับการศึกษาระดับดีเอ็นเอ

2.1.1 ตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างใบของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มทุกต้นจาก 4 กลุ่มผสม ประกอบด้วยตัวอย่างใบจากกลุ่มประชากรของพันธุ์แม่ พันธุ์พ่อ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อของกลุ่มผสมระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน และกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1

2.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

- CTAB
- β - mercaptoethanol
- PVP – 40 (Polyvinyl pyrrolidone)
- EDTA
- Tris – HCl (pH 8.0)
- TE buffer
- คลอโรฟอร์ม
- ไอโซโพรพานอล
- เอทานอล
- โซเดียมคลอไรด์

2.1.3 สารเคมีสำหรับทำอิเล็กโทรโฟรีซิส

- อะกาโรส
- กรดอะซิติค
- กรดบอริก
- เอซีเดียมโบรไมด์
- ยูเรีย
- Loading buffer
- Lamda DNA (λ DNA)
- 100 bp และ 500 bp DNA Ladder (Operon, USA)
- Tris-base
- Denaturing polyacrylamide gel electrophoresis
- Acrylamide : bis-acrylamide solution (29:1)
- Bind silane
- Repel silane
- Formamind
- Formaldehyde
- TEMED (N,N,N',N' – tetramethyethyenediamine)
- Ammonium persulfate
- Sodium thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- Sodium carbonate (Na_2CO_3)
- Silver nitrate (AgNO_3)

2.1.4 สารเคมีในการทำพีซีอาร์

- dNTP (dATP, dTTP, dCTP และ dGTP) (Promega, USA)
- ไพร์เมอร์ จำนวน 190 ไพร์เมอร์ ประกอบด้วย OPA01 – 20, OPB01 – 20, OPC01 – 20, OPD01 – 20, OPT01 – 20, OPR01 – 20, OPZ01 – 20, OPAA01 – 20, OPAB01 – 20, OPAD – 01, OPAD – 04, OPAD – 05, OPAD – 06, OPAD – 08, OPAD – 09, OPAD – 11, OPAD – 15, OPAN – 12 และ OPAN – 16 (Operon, USA)
- 10X *Taq* buffer (Promega, USA)
- *Taq* DNA Polymerase (Promega, USA)
- แมกนีเซียมคลอไรด์

2.2 อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ

2.2.1 อุปกรณ์ในการสกัดดีเอ็นเอ การทำอิเล็กโทรโฟรีซิส และการทำพีซีอาร์

- ตู้เย็น และตู้แช่แข็ง – 30 องศาเซลเซียส
- เครื่องไมโครเซนติฟิวจ์
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องคนสารละลายอัตโนมัติ
- ปิเปตปรับปริมาตร
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
- เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า
- เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส
- เครื่องพีซีอาร์
- หลอดเอฟเฟนคอร์ด์ฟ
- ไมโครเวฟ
- Tip ขนาดต่างๆ
- เครื่อง Gel documentation
- เครื่องแก้ว กระจกตวง และขวดขนาดต่างๆ

วิธีการ

1. การประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วภายใต้สภาพแปลงปลูกตามธรรมชาติ

เก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มจากแหล่งต่างๆ ประกอบด้วย ศูนย์วิจัยพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี อำเภอสว่างวีระวงศ์ จังหวัดอุบลราชธานี พันธุ์ที่มีขายในท้องตลาด และมหาวิทยาลัยต่างๆ รวม 24 สายพันธุ์ (ตารางที่ 4) หลังจากนั้นทำการปลูกทดสอบเพื่อประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในสภาพแปลงปลูกธรรมชาติ โดยเตรียมแปลงกว้าง 1 เมตร ยาว 5 เมตร ระยะปลูกระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระยะระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ณ แปลงทดลองภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design) จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น ดูแลบำรุงรักษาอย่างดี เพื่อให้ต้นพืชมีความสมบูรณ์ บันทึก วันออกดอก ความยาวฝัก จำนวนฝักต่อต้น เมล็ดต่อฝัก และผลผลิตต่อต้น

ประเมินระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว โดยสุ่มประเมินการเข้าทำลายจากสายตา และให้คะแนนการเข้าทำลาย 5 ระดับ (Jayappa and Lingappa, 1988b; อรุณี, 2530) ดังนี้

ระดับ 0 หมายถึง บริเวณใบ และยอดถูกเพลี้ยอ่อนถั่วทำลายน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 1 หมายถึง บริเวณใบ และยอดถูกเพลี้ยอ่อนถั่วทำลาย 10 – 25 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 2 หมายถึง บริเวณใบ และยอดถูกเพลี้ยอ่อนถั่วทำลาย 26 – 50 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 หมายถึง บริเวณใบ และยอดถูกเพลี้ยอ่อนถั่วทำลาย 51 – 75 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 4 หมายถึง บริเวณใบ และยอดถูกเพลี้ยอ่อนถั่วทำลายมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์

บันทึกจำนวนต้นถั่วที่ถูกเพลี้ยอ่อนถั่วเข้าทำลาย เพื่อคำนวณระดับความรุนแรงเฉลี่ยจากสูตร

ระดับความรุนแรงเฉลี่ย = $\frac{\text{ระดับความรุนแรงที่ประเมินจากสายตา} \times \text{จำนวนต้นที่เพลี้ยอ่อนถั่วทำลาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}}$

และประเมินลักษณะการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วจากระดับคะแนนความรุนแรงเฉลี่ย ดังนี้

ระดับความรุนแรงเฉลี่ย 0 = ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว

ระดับความรุนแรงเฉลี่ย < 1.0 = ทนทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว

ระดับความรุนแรงเฉลี่ย 1.0 – 1.9 = ค่อนข้างทนทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว

ระดับความรุนแรงเฉลี่ย 2.0 – 2.9 = ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว

ระดับความรุนแรงเฉลี่ย 3.0 – 4.0 = อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว

ตารางที่ 4 ชื่อพันธุ์ และแหล่งที่มาของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มที่ใช้ในการทดสอบการต้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว

-	สายพันธุ์	ที่มาของเมล็ดพันธุ์
1	คัด – ม.อ.	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
2	เทพสถิตย์	พันธุ์การค้าในท้องตลาด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
3	บี๊กวัน	พันธุ์การค้าในท้องตลาด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
4	พนมสารคาม	อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา
5	มก. 20	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม
6	ราชบุรี	พันธุ์การค้าในท้องตลาด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
7	สายธาร	พันธุ์การค้าในท้องตลาด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
8	สายทอง	พันธุ์การค้าในท้องตลาด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
9	สายพิน	พันธุ์การค้าในท้องตลาด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
10*	สุรนารี 1	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา
11	เอเวอร์กรีน	พันธุ์การค้าในท้องตลาด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
12*	เขาหินซ้อน	ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี อำเภอสว่างวีระวงศ์ จังหวัดอุบลราชธานี
13*	IT82E – 9	ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี อำเภอสว่างวีระวงศ์ จังหวัดอุบลราชธานี
14*	IT82E – 16	ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี อำเภอสว่างวีระวงศ์ จังหวัดอุบลราชธานี
15*	IT84D – 666	ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี อำเภอสว่างวีระวงศ์ จังหวัดอุบลราชธานี
16	RW#24	ศูนย์วิจัยผักเมืองร้อน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม
17	SR01 – 0402	ศูนย์วิจัยผักเมืองร้อน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม (ถิ่นเดิมคือประเทศศรีลังกา)
18	SR ₀₀ – 863	ศูนย์วิจัยผักเมืองร้อน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม (ถิ่นเดิมคือประเทศศรีลังกา)
19	VU012	ศูนย์วิจัยผักเมืองร้อน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม (ถิ่นเดิมคือจังหวัดมุกดาหาร)
20	VU041 – A	ศูนย์วิจัยผักเมืองร้อน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม (ถิ่นเดิมคือจังหวัดนราธิวาส)
21	VU063	ศูนย์วิจัยผักเมืองร้อน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม
22	VU124	ศูนย์วิจัยผักเมืองร้อน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม (ถิ่นเดิมคือจังหวัดนราธิวาส)
23	VU144	ศูนย์วิจัยผักเมืองร้อน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม
24*	VU176	ศูนย์วิจัยผักเมืองร้อน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม (ถิ่นเดิมคือประเทศศรีลังกา)

* สายพันธุ์ถั่วพุ่ม

2. การประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วภายใต้โรงเรือนตาข่ายปิด

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มทั้ง 24 สายพันธุ์ (ตารางที่ 4) ปลุกทดสอบอีกครั้งในโรงเรือนตาข่ายปิด ณ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (ภาคใต้) โดยปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 12 นิ้ว จำนวน 1 ต้นต่อกระถาง รองก้นกระถางด้วยปุ๋ยคอก และ ปุ๋ยเคมีสูตร 15 – 15 – 15 วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) จำนวน 3 ซ้ำ เมื่อถั่วอายุ 3 สัปดาห์ ปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วตัวเต็มวัย จำนวน 5 ตัวต่อต้น (Annan *et al.*, 1995) ศึกษาการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว โดยนับจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วต่อต้นด้วยการประเมินแบบสัมบูรณ์ (absolute estimate) และ แบบสัมพัทธ์ (relative estimate) ตั้งแต่บริเวณยอดลงมาจนถึงใบจริงคู่ที่ 3 จากยอด (ชาญณรงค์, 2549) รวมทั้งประเมินระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว

3. การสร้างลูกผสม

ทำการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่างถั่วฝักยาวสายพันธุ์คัด – ม.อ. ซึ่งเป็นถั่วฝักยาวชนิดเดี่ยว (indeterminate) มีฝักยาวเป็นที่ต้องการของตลาด รสชาติดี และนิยมปลูกในท้องถิ่น แต่มีความอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว กับพันธุ์ต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว ซึ่งผ่านเกณฑ์การประเมินความต้านทานต่อการทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วภายใต้แปลงปลูกตามธรรมชาติ (ระดับความรุนแรงเฉลี่ย <1) และ ผ่านการประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วภายใต้โรงเรือนตาข่ายปิด ประกอบด้วยถั่ว 4 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ IT82E – 16 สายพันธุ์ SR₀₀ – 863 สายพันธุ์เขาคินซ้อน และสายพันธุ์สุรนารี 1 โดยเตรียมแปลงพ่อ และแม่พันธุ์ ขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 5 เมตร มีระยะระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระยะระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ณ แปลงทดลอง ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา และสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง คณะทรัพยากรธรรมชาติ อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา

3.1 การผลิตลูกผสมชั่วที่ 1 มีขั้นตอนดังนี้

สร้างลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างตัวผู้ยาว และตัวผู้แม่ 4 คู่ผสม ซึ่งผ่านการประเมินจากวิธีข้างต้น ประกอบด้วยคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน และคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 โดยการทดลองครั้งนี้ กำหนดให้พันธุ์คัด – ม.อ. เป็นพันธุ์แม่ทุกคู่ผสม

3.1.1. การกำจัดเกสรเพศผู้

ทำการกำจัดเกสรเพศผู้ระหว่างเวลา 17.00 – 18.00 นาฬิกา โดยเลือกดอกขนาดประมาณ 2 เซนติเมตร ที่พร้อมจะบานในวันรุ่งขึ้น ใช้ปากคิบบลายแหลมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ กรีดกลีบดอกส่วนของ standard แยกส่วน standard และ wing ออกทั้งสองด้าน พยายามไม่ให้ standard และ wing เสียหาย จากนั้นกรีดส่วนของ keel ออก พบเกสรเพศผู้ 10 อับ และเกสรเพศเมีย 1 อับ ใช้ปากคิบบดเฉพาะเกสรเพศผู้ออกให้หมดระวังไม่ให้เกสรเพศเมียได้รับการกระทบกระเทือน หุ้มส่วนกลีบดอกในลักษณะเดิม หลังจากนั้นคลุมดอกด้วยถุงกระดาษเพื่อป้องกันการปนเปื้อน และรอการผสมข้ามสายพันธุ์จากดอกของต้นที่คัดเลือกในวันรุ่งขึ้น (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 ขั้นตอนการกำจัดเกสรเพศผู้

ก. ระบุดอกที่เหมาะสม

ค. การแยกส่วน standard และ wing

จ. คลุมดอกด้วยถุงกระดาษ

ข. การเปิดกลีบดอก

ง. การใช้ปากคีบปลายแหลมกำจัดเกสรเพศผู้

ฉ. การปิดถุงคลุมดอกเพื่อป้องกันการปนเปื้อน

3.1.2 การถ่ายละอองเรณู

ทำการถ่ายละอองเรณูระหว่างเวลา 6.00 – 8.00 นาฬิกา โดยนำละอองเรณูจากพันธุ์พ่อซึ่งผ่านการคัดเลือกประกอบด้วยพันธุ์IT82E – 16 SR₀₀ – 863 เขาหินซ้อน และสุรนารี 1 ป้ายบนยอดเกสรเพศเมีย ของดอกถั่วพันธุ์คัด – ม.อ. ที่กำจัดเกสรเพศผู้แล้ว พยายามให้ละอองเรณูติดให้มากที่สุด หลังจากนั้นใช้ถุงกระดาษคลุมดอก และปิดปากให้สนิทเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากมดและแมลง เขียนชื่อระบุกลุ่มผสม และวันที่ทำการผสม หลังการผสม 2 – 3 วัน นำถุงกระดาษที่คลุมดอกออก (กรุง, 2520) (รูปที่ 5) ตรวจสอบนับดอกที่มีการผสมติด ซึ่งสังเกตได้จากฝักอ่อนที่เกิดขึ้น เพื่อศึกษาความสามารถและเปอร์เซ็นต์การผสมข้าม



รูปที่ 5 ขั้นตอนการถ่ายละอองเรณู

- ก. ดอกปกติที่พร้อมถ่ายละอองเรณู
- ค. คลุมดอกด้วยถุงกระดาษ

- ข. การป้ายละอองเรณูบนยอดเกสรเพศเมีย
- ง. ดอกที่ผสมติด

3.2 การผลิตลูกผสมกลับ และลูกผสมชั่วที่ 2

ปลูกถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม พันธุ์พ่อ พันธุ์แม่จำนวน 5 สายพันธุ์ และลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 4 คู่ผสม ณ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา และแปลงทดลองสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง คณะทรัพยากรธรรมชาติ อำเภอลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา เพื่อสร้างกลุ่มประชากรต่างๆ ประกอบด้วย ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับ ไปยังพันธุ์แม่ และลูกผสมกลับ ไปยังพันธุ์พ่อ

4. การเปรียบเทียบความต้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในพันธุ์พ่อ แม่ และลูกผสมชั่วที่ 1

ปลูกทดสอบพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ และลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้ง 4 คู่ผสม ในโรงเรือนตาข่ายปิด ณ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (ภาคใต้) โดยปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 12 นิ้ว จำนวน 1 ต้นต่อกระถาง รองกันกระถางด้วยปุ๋ยคอก และปุ๋ยเคมีสูตร 15 – 15 – 15 จำนวน 3 ช้ำ ช้ำละ 2 กระถาง วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ เมื่อถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มอายุ 5 สัปดาห์หลังจากปลูก ปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วจำนวน 5 ตัวต่อต้น บันทึกวันดอกแรกบาน ฝักต่อต้น ความยาวฝัก เมล็ดต่อฝัก น้ำหนักต่อฝัก และผลผลิตต่อต้น นอกจากนี้ศึกษาการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว โดยนับจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วต่อต้น และประเมินระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว

5. การถ่ายทอดพันธุกรรมของลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในพันธุ์พ่อแม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ

ปลูกถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มพันธุ์พ่อแม่ พันธุ์แม่ และลูกผสมทั้งหมด (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2) ของแต่ละกลุ่มผสมแยกชุดในเรือนตาข่ายปิด กว้าง 20 เมตร ยาว 22 เมตร และสูง 2.5 เมตร ณ แปลงทดลอง ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

โดยแต่ละกลุ่มผสมประกอบด้วย

พันธุ์พ่อแม่ พันธุ์แม่ และลูกผสมชั่วที่ 1 ประชากรละ 4 แปลง

ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ ประชากรละ 6 แปลง

ลูกผสมชั่วที่ 2 ปลูก 25 แปลง

โดยแต่ละแปลงปลูกเป็นแถวเดี่ยวจำนวน 6 ต้นต่อแถว ระยะระหว่างต้น 70 เซนติเมตร ระหว่างแถว 70 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ เมื่อถั่วมีอายุ 3 สัปดาห์ ปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วจำนวน 5 ตัวต่อต้น ศึกษาการเพิ่มจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว การเพิ่มระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว ค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว สหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วกับระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว การกระจายตัวระดับคะแนนการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว ในประชากรกลุ่มต่างๆ และจำนวนคู่ของยีนที่ควบคุมลักษณะการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว

5.1 ศึกษาสหสัมพันธ์

ทำการคำนวณค่าสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วกับระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยของถั่ว 4 กลุ่มผสม เนื่องจาก 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนเป็นช่วงเวลาที่มีความสม่ำเสมอและมีการเพิ่มขึ้นของเพลี้ยอ่อนสูงที่สุด

5.2 ศึกษาจำนวนคู่ของยีน

ศึกษาจำนวนคู่ของยีนที่ควบคุมลักษณะการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในลูกผสมชั่วที่ 2 ของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 4 กลุ่มผสม จากสูตร

$$k = \frac{(\bar{P}_1 - \bar{P}_2)^2}{8(V_{F_2} - V_{F_1})}$$

- เมื่อ k = จำนวนคู่ของยีน
 \bar{P}_1 = ค่าเฉลี่ยของพันธุ์แม่
 \bar{P}_2 = ค่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อ
 V_{F_1} = วาเรียนซ์ของลูกผสมชั่วที่ 1
 V_{F_2} = วาเรียนซ์ของลูกผสมชั่วที่ 2 (ไพศาล, 2525)

6. การแสดงออกของยีน

ศึกษาการแสดงออกของยีน โดยการประเมินพารามิเตอร์ตามวิธีของ Mather และ Jinks (1977) ทดสอบความเหมาะสมของ model ด้วย χ^2 และวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของชั่วรุ่นต่างๆ รวมทั้งศึกษาอิทธิพลทางพันธุกรรม (genetic effect) ตามวิธีของ Hayman (1958) โดยวิเคราะห์ตามสัมประสิทธิ์ของพฤติกรรมการแสดงออกของยีนที่ปรากฏใน

สายพันธุ์แม่ (P_1) สายพันธุ์พ่อ (P_2)

ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ (BC_1)

ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ (BC_2) ลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2)

สำหรับการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของชั่วรุ่นต่างๆ ตามวิธีของ Hayman (1958) โดยในแต่ละคู่ผสมตามสัมประสิทธิ์ของพฤติกรรมการแสดงออกของยีนที่ปรากฏในสายพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ และลูกผสมชั่วต่างๆ ดังนี้

$$m = \frac{1}{2}\bar{P}_1 + \frac{1}{2}\bar{P}_2 + 4\bar{F}_2 - 2\bar{BC}_1 - 2\bar{BC}_2$$

$$d = \frac{1}{2}\bar{P}_1 - \frac{1}{2}\bar{P}_2$$

$$h = -\frac{3}{2}\bar{P}_1 - \frac{3}{2}\bar{P}_2 - \bar{F}_1 - 8\bar{F}_2 + 6\bar{BC}_1 + 6\bar{BC}_2$$

$$i = -4\bar{F}_2 + 2\bar{BC}_1 + 2\bar{BC}_2$$

$$j = -\bar{P}_1 + \bar{P}_2 + 2\bar{BC}_1 - 2\bar{BC}_2$$

$$l = \bar{P}_1 + \bar{P}_2 + 2\bar{F}_1 + 4\bar{F}_2 - 4\bar{BC}_1 - 4\bar{BC}_2$$

- เมื่อ m แทน ค่าที่กึ่งกลางระหว่าง homozygous recessive กับ homozygous dominance
- d แทน อิทธิพลของยีนแบบผลบวก (additive gene effects)
- h แทน อิทธิพลของยีนแบบข่ม (dominance gene effects)
- i แทน ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างยีนแบบผลบวกกับแบบผลบวก (additive x additive gene effects)
- j แทน ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างยีนแบบผลบวกกับแบบข่ม (additive x dominance gene effects)
- l แทน ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างยีนแบบข่มกับแบบข่ม (dominance x dominance gene effects)

การทดสอบนัยสำคัญของอิทธิพลของยีน โดยใช้ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error) ของค่าประเมินนั้นๆ ว่าแตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หรือไม่ โดยการตรวจสอบค่า t โดย

$$t = \frac{X}{S_x}$$

- เมื่อ X แทน ค่าอิทธิพลของยีนแบบต่างๆ ที่คำนวณได้จากสมการข้างต้น
- S_x แทน ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าประเมินตามปฏิกริยาของยีนนั้นๆ เช่น การทดสอบนัยสำคัญของอิทธิพลของยีนแบบผลบวก ทดสอบได้โดยใช้ S_d

คำนวณจาก

$$\sqrt{\text{variance (d)}}$$

เมื่อ $\text{variance (d)} = \frac{1}{4} V_{P_1} + \frac{1}{4} V_{P_2}$

ซึ่งได้จากการยกกำลังสองของค่า d ในสูตร โดยที่ V_{P_1} และ V_{P_2} เป็น variance ของค่าเฉลี่ย P_1 และ P_2 ตามลำดับ

7. ศึกษาอัตราพันธุกรรม

ศึกษาค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (broad – sense heritability) เพื่อประเมินความเป็นไปได้ในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของลักษณะด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วจากสูตร

$$H^2 = \frac{V_{F2} - (V_{P1} + V_{P2} + V_{F1})/3}{V_{F2}}$$

เมื่อ V_{P1} , V_{P2} , V_{F1} , V_{F2} คือ mean square ของ P_1 , P_2 , F_1 และ F_2 ตามลำดับ (Burton, 1951 อ้างโดย สุภาพร, 2535)

8. การศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับลักษณะด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว

8.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม และลักษณะด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วจากประชากรทั้ง 4 กลุ่มสม โดยเก็บตัวอย่างใบ (ใบเพศลาค) จากต้นถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มทุกต้นจากประชากรพ่อ แม่ และลูกผสมทั้งหมด โดยเก็บตัวอย่างใบประมาณ 1 – 2 ใบต่อต้น เพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอ

8.2 วิธีการสกัดดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอจากใบถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มในทุกต้นที่เก็บได้ โดยใช้สารละลาย CTAB (hexadecyl trimethyl ammonium bromide) ซึ่งดัดแปลงจาก Doyle และ Doyle (1990) โดยใช้ตัวอย่างใบถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม ประมาณ 200 มิลลิกรัม น้ำหนักสด บดใน CTAB buffer (PVP – 40, NaCl, EDTA 0.5 M pH 8.0) CTAB ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ β -mercaptoethanol ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรรวม 700 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างใส่ในหลอดแอฟเฟนดอร์ฟ เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที กลับหลอดไปมาทุก 15 นาที เติมคลอโรฟอร์ม 800 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมา ปั่นเหวี่ยงใช้ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ได้สารละลายที่แยกชั้นใสส่วนบน คูดสารละลายเฉพาะส่วนใส ใส่หลอดแอฟเฟนดอร์ฟใหม่ เติมไอโซโพรพานอล 750 ไมโครลิตร กลับหลอดไปมาเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ

หรือวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ - 30 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที เทส่วนใสที่ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer [Tris – HCl (pH 7.5) 10 มิลลิโมลาร์ และ Na₂EDTA (pH 7.0) 1 มิลลิโมลาร์] ที่อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

8.3 วิธีการตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอ

ตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ โดยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (λ ดีเอ็นเอ) ด้วยการทำอิเล็กโทรโฟรีซิสบนอะกาโรส (LE Agarose; Promega, USA) เข้มข้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ ในสารละลาย TAE บัฟเฟอร์ (Tris Base, Glacial acetic acid, EDTA 0.5 โมลาร์, pH 8.0) เป็นเวลา 20 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แล้วนำไปตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel documentation

8.4 เทคนิคอาร์เอพีดี

ทำการทดสอบไพรเมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 190 ไพรเมอร์ (OPA01 – 20, OPB01 – 20, OPC01 – 20, OPD01 – 20, OPT01 – 20, OPR01 – 20, OPZ01 – 20, OPAA01 – 20, OPAB01 – 20, OPAD – 01, OPAD – 04, OPAD – 05, OPAD – 06, OPAD – 0 8, OPAD – 09, OPAD – 11, OPAD – 15, OPN – 12 และ OPN – 16 : Operon, USA) โดยคัดเลือกไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มได้ด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ และแยกความแตกต่างระหว่างตัวแทนของกลุ่มประชากรต่างๆ โดยในเบื้องต้นทำการเก็บตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวแทนของแต่ละกลุ่มประชากร โดยการเตรียมปฏิกิริยาพีซีอาร์ จากปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 60 นาโนกรัม ไพรเมอร์เข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ เอ็นไซม์ *Taq* polymerase เข้มข้น 1.5 ยูนิต 10X *Taq* บัฟเฟอร์ 0.5 ไมโครลิตร MgCl₂ 2.5 มิลลิโมลาร์ dNTP เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ตั้งอุณหภูมิเป็น 3 ระดับ คือ อุณหภูมิที่ใช้เริ่มต้น 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 37 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวน 39 รอบ และตามด้วยอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 1 นาที 37 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 10 นาที หลังทำพีซีอาร์นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสบนแผ่นวุ้น LE อะกาโรส ที่มีความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ละลายใน TBE บัฟเฟอร์ (Tris Base, Boric acid, Na₂EDTA 0.5 โมลาร์; pH 8.0) ใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้า 100 โวลต์ 60 นาที ย้อมแถบดีเอ็นเอด้วย

เอธิเดียมโบรไมด์ เข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที ล้างน้ำ 10 นาที ตรวจสอบแถบ ดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต 260 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Gel documentation คัดเลือก ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณ และให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างชัดเจน วิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอาร์เอพีดี – พีซีอาร์ จากพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ ลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมชั่วที่ 2 ของกลุ่มประชากรอ่อนแอ และกลุ่มต้านทานเพลี้ยอ่อนแล้วเพื่อหาแถบดีเอ็นเอที่อาจมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนแล้ว

8.5 เทคนิคเอสเอสอาร์

ทดสอบหาไพรเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการทำเอสเอสอาร์ในถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม จากไพรเมอร์ของ Li และคณะ (2001) และ Phansak และคณะ (2005) ซึ่งประกอบด้วยไพรเมอร์ 4 ไพรเมอร์ ได้แก่ VM22, VM27, VM37 และ VM70 หลังจากนั้นนำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 2 ชนิด ซึ่งเป็น forward และ reverse โดยวิธีพีซีอาร์ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ จากปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ 20 นาโนกรัม ไพรเมอร์แต่ละชนิดเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ เอ็นไซม์ *Taq* polymerase เข้มข้น 0.7 ยูนิต 10X *Taq* บัฟเฟอร์ 0.28 ไมโครลิตร dNTP เข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ตั้งอุณหภูมิเป็น 3 ระดับ คือ อุณหภูมิที่ใช้เริ่มต้น 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ตามด้วยการทำ touch – down พีซีอาร์ ด้วยอุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 1 นาที 64 องศาเซลเซียส 30 วินาที 72 องศาเซลเซียส 1 นาที (และลดอุณหภูมิลงถึง 55 องศาเซลเซียสในแต่ละรอบ) จำนวน 18 รอบ และ 94 องศาเซลเซียส 1 นาที 55 องศาเซลเซียส 1 นาที 72 องศาเซลเซียส 1 นาที จำนวน 30 รอบ และ 72 องศาเซลเซียส อีก 10 นาที หลังทำพีซีอาร์ นำสารละลายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้ว จำนวน 10 ไมโครลิตร มาตรวจสอบขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ โดยนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่จะวิเคราะห์มาทำให้เสียสภาพก่อน เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการเสียดสภาพธรรมชาติในเวลาต่างกันเมื่ออยู่ในเจล โดยผสมกับฟอร์มาไมด์ 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นส่วนประกอบใน loading buffer นำไปเพิ่มอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส แล้วนำไปแช่น้ำแข็งทันที จากนั้นนำมาแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอโดยการทำอะครีลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ที่มีความเข้มข้นของเจล 6 เปอร์เซ็นต์ และย้อมแถบดีเอ็นเอโดยใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท โดยนำแผ่นเจลมาแช่ในสารละลาย fixative (กรดอะซิติก 10 เปอร์เซ็นต์) นาน 20 นาที เขย่าเบาๆ เมื่อครบเวลานำไปล้างในน้ำกลั่น 15 นาที เปลี่ยนน้ำล้างใหม่แล้วล้างต่ออีก 5 นาที นำแผ่นเจลไปลงในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท (ซิลเวอร์ไนเตรท 0.2 เปอร์เซ็นต์) เพื่อย้อมเจลเป็นเวลา 30 นาที เขย่าอย่างสม่ำเสมอ หลังจากนั้นนำแผ่นเจลจุ่มน้ำกลั่นอย่างรวดเร็วเพื่อล้างซิลเวอร์ไนเตรทที่มากเกินไป

ไม่ควรเกิน 5 วินาที แล้วนำแผ่นเจลใส่ในสารละลาย developer (โซเดียมคาร์โบเนต 25 เปอร์เซ็นต์, ฟอรัมาลดีไฮด์ 40 เปอร์เซ็นต์, โซเดียมไตรซัลเฟต 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ที่เตรียมใหม่ๆ และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เขย่าสม่ำเสมอ จนกว่าจะเห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจน หยุดปฏิกิริยาโดยแช่สารละลายกรดอะซิติก (stop solution) นาน 3 – 5 นาที นำแผ่นเจลมาจุ่มลงในน้ำกลั่น แล้วผึ่งให้แห้งในอากาศ หลังจากนั้นวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอ จากพันธุพ่อ พันธุแม่ ลูกผสมกลับไปยังพันธุแม่ ลูกผสมกลับไปยังพันธุพ่อ ลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมชั่วที่ 2 ของกลุ่มประชากรอ่อนแอ และกลุ่มต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วเพื่อหาแถบดีเอ็นเอที่อาจจะมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว

บทที่ 3

ผล

1. การประเมินการต้านทานเพลิงอ่อนถั่วภายใต้สภาพแปลงปลูกธรรมชาติ

1.1 การประเมินการต้านทานเพลิงอ่อนถั่วภายใต้สภาพแปลงปลูกธรรมชาติ

จากการปลูกทดสอบเพื่อประเมินการต้านทานเพลิงอ่อนถั่วภายใต้แปลงปลูกธรรมชาติ พบว่า ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มแต่ละพันธุ์มีระดับความรุนแรงเฉลี่ย และการเข้าทำลายของเพลิงอ่อนถั่วแตกต่างกัน โดยพันธุ์ SR₀₀ – 863 มีระดับความรุนแรงของเพลิงอ่อนถั่วเฉลี่ยน้อยที่สุดเพียง 0.33 คะแนน รองลงมาคือพันธุ์ IT82E – 16 สุรนารี 1 และเขานินซ็อน มีระดับความรุนแรงเฉลี่ยเท่ากับ 0.40 0.54 และ 0.61 คะแนน ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ส่วนพันธุ์ มก. 20 มีระดับความรุนแรงเฉลี่ยของการเข้าทำลายสูงสุดคือ 2.97 คะแนน รองลงมาคือพันธุ์คัด – ม.อ. พบว่า มีระดับความรุนแรงเฉลี่ยเท่ากับ 2.95 คะแนน ส่วนพันธุ์อื่นๆ มีระดับความรุนแรงเฉลี่ยแตกต่างกัน โดยกลุ่มที่ค่อนข้างทนทานต่อการเข้าทำลายของเพลิงอ่อนถั่ว (ระดับความรุนแรงเฉลี่ยระหว่าง 1.00 – 1.90) พบว่า มีจำนวน 4 สายพันธุ์ประกอบด้วยพันธุ์ ราชบุรี พนมสารคาม IT82E – 9 และ VU176 ส่วนอีก 14 สายพันธุ์ประกอบด้วยพันธุ์ เทพสถิตย์ บิ๊กวัน สายพิน สายธาร สายทอง เอเวอร์กรีน IT84D – 666 RW#24 SR₀₁ – 0402 VU012 VU041 – A VU063 VU124 และ VU144 มีระดับความรุนแรงเฉลี่ยระหว่าง >1.90 – 2.90 คะแนน (ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลิงอ่อนถั่ว)

ตารางที่ 5 ระดับคะแนนเฉลี่ยจากการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวภายใต้สภาพแปลงปลูกธรรมชาติ

สายพันธุ์	การประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนตัว			
	ความรุนแรงที่ประเมินจากสายตา	จำนวนต้นอ้วนทั้งหมด	จำนวนต้นที่เพลี้ยอ่อนตัวเข้าทำลาย	ระดับความรุนแรงเฉลี่ย
คัต – ม.อ.	3.67	56.00	45.00	2.95
เทพสถิตย์	3.00	52.00	35.00	2.02
บึกวัน	3.33	52.00	33.00	2.12
พนมสารคาม	3.00	56.00	32.00	1.71
มก. 20	3.67	58.00	47.00	2.97
ราชบุรี	3.00	58.00	34.00	1.76
สายทอง	3.33	54.00	34.00	2.10
สายธาร	3.33	57.00	35.00	2.05
สายพิน	3.67	54.00	37.00	2.51
สุรนารี 1	2.33	60.00	14.00	0.54
เอเวอร์กรีน	3.00	50.00	34.00	2.04
เขาหินซ้อน	2.00	59.00	18.00	0.61
IT82E – 9	3.00	57.00	30.00	1.58
IT82E – 16	1.67	59.00	14.00	0.40
IT84D – 666	3.00	50.00	32.00	1.92
RW#24	3.00	55.00	36.00	1.96
SR ₀₁ – 0402	3.00	48.00	37.00	2.31
SR ₀₀ – 863	1.33	60.00	15.00	0.33
VU012	3.33	52.00	32.00	2.05
VU041 – A	3.00	48.00	35.00	2.19
VU063	3.33	55.00	35.00	2.12
VU124	3.33	51.00	32.00	2.09
VU144	3.33	54.00	38.00	2.35
VU176	2.33	57.00	38.00	1.56

1.2 การประเมินลักษณะผลผลิต และองค์ประกอบของผลผลิตภายใต้สภาพแปลงปลูกธรรมชาติ

การประเมินลักษณะผลผลิต และองค์ประกอบของผลผลิต ซึ่งบันทึกควบคู่กับการศึกษาการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วภายใต้สภาพแปลงปลูกธรรมชาติ ณ แปลงทดลองภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา พบว่า ถั่วพันธุ์ SR₀₀ – 863 มีผลผลิตต่อต้นสูงสุด คือ 282.17 กรัมต่อต้น พันธุ์ SR₀₁ – 0402 ให้ผลผลิตต่อต้นน้อยที่สุดเพียง 48.42 กรัมต่อต้น อายุของคอกแรกบานพบว่า พันธุ์ IT84D – 666 ใช้เวลาในการออกดอกเร็วที่สุด คือ 32 วัน และพันธุ์ VU124 ออกดอกช้าที่สุดคือ 45 วัน ความยาวฝัก พบว่า พันธุ์คัด – ม.อ. ซึ่งเป็นถั่วฝักยาวพันธุ์ที่อ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว และต้องการปรับปรุงมีความยาวฝักยาวที่สุด คือ 56.29 เซนติเมตร ส่วนพันธุ์ IT82E – 9 มีฝักสั้นที่สุดเพียง 14.11 เซนติเมตร จำนวนฝักต่อต้น พบว่า พันธุ์ SR₀₀ – 863 มีจำนวนฝักต่อต้นสูงสุดคือ 33.09 ฝัก และพันธุ์สายทอง มีจำนวนฝักต่อต้นน้อยที่สุดเพียง 4.00 ฝัก พันธุ์ IT82E – 16 เขาหินซ้อน และพันธุ์สุรนารี 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว พบว่า มีผลผลิตต่อต้นเท่ากับ 146.21 78.83 และ 52.79 กรัม ตามลำดับ ส่วนจำนวนฝักต่อต้น พบว่า พันธุ์ IT82E – 16 พันธุ์เขาหินซ้อน และพันธุ์สุรนารี 1 มีจำนวนฝักต่อต้นเท่ากับ 27.71 6.17 และ 6.67 ฝัก ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์อื่นๆ มีองค์ประกอบของผลผลิตแตกต่างกัน (ตารางที่ 6)

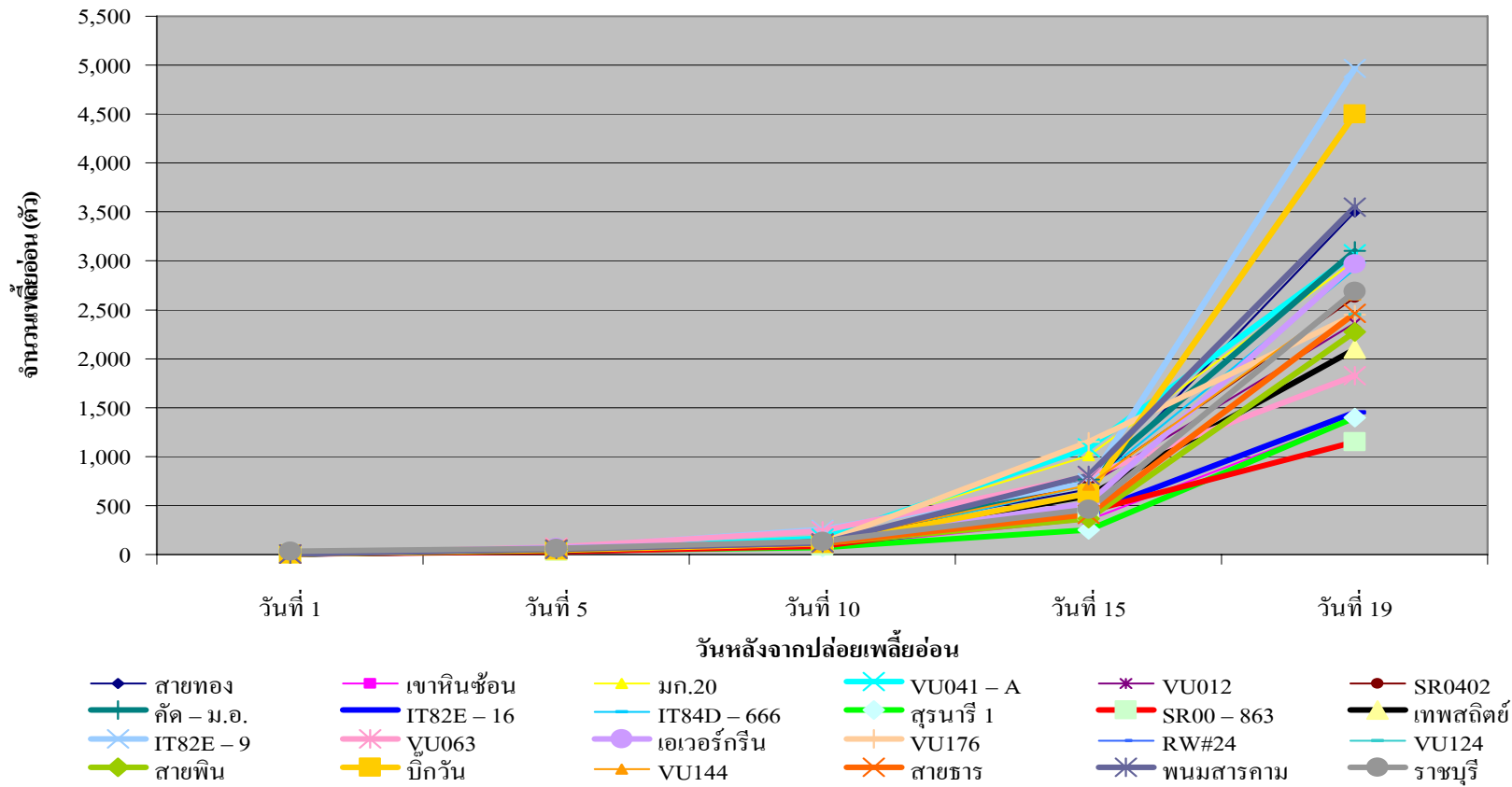
ตารางที่ 6 ลักษณะผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์

พันธุ์	องค์ประกอบผลผลิต				
	ผลผลิตต่อต้น (กรัม)	ดอกแรกบาน (วัน)	ความยาวฝัก (เซนติเมตร)	จำนวนฝักต่อต้น (ฝัก)	เมล็ดต่อฝัก (เมล็ด)
กั๊ด - ม.อ.	123.83	43.09	56.29	8.21	14.40
เทพสถิตย์	117.13	42.77	40.31	5.00	14.63
ปีกวัน	87.75	42.30	36.47	5.13	12.54
พนมสารคาม	167.50	43.53	44.84	10.21	13.39
มก. 20	197.71	40.82	33.87	12.67	15.74
ราชบุรี	166.50	40.90	51.08	10.83	15.82
สายทอง	80.17	42.36	41.59	4.00	13.64
สายธาร	170.88	41.08	43.36	9.08	12.61
สายพิน	141.75	43.09	45.78	8.42	14.56
สุรนารี 1	52.79	36.87	27.86	6.67	10.87
เอเวอร์กรีน	102.88	41.01	48.22	6.08	13.96
เขาหินซ้อน	78.83	34.18	33.26	6.17	11.00
IT82E - 9	127.58	34.02	14.11	24.04	12.04
IT82E - 16	146.21	42.34	14.95	27.71	15.88
IT84D - 666	143.83	31.70	14.21	19.79	15.28
RW#24	116.04	43.31	51.17	7.08	15.66
SR ₀₁ - 0402	48.42	43.29	31.27	4.96	12.25
SR ₀₀ - 863	282.17	41.88	24.98	33.09	12.83
VU012	97.33	43.46	47.84	6.42	16.94
VU041 - A	186.63	42.19	36.18	10.71	13.14
VU063	76.50	41.49	33.44	6.63	12.48
VU124	105.54	44.04	44.58	8.38	11.51
VU144	175.42	41.54	39.53	11.33	15.96
VU176	67.08	38.86	16.15	17.04	11.95
F - test	*	*	*	*	*
LSD _{0.05}	65.17	2.06	4.52	5.19	3.04
CV (%)	31.13	3.07	7.58	28.12	13.50

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มแบบ LSD

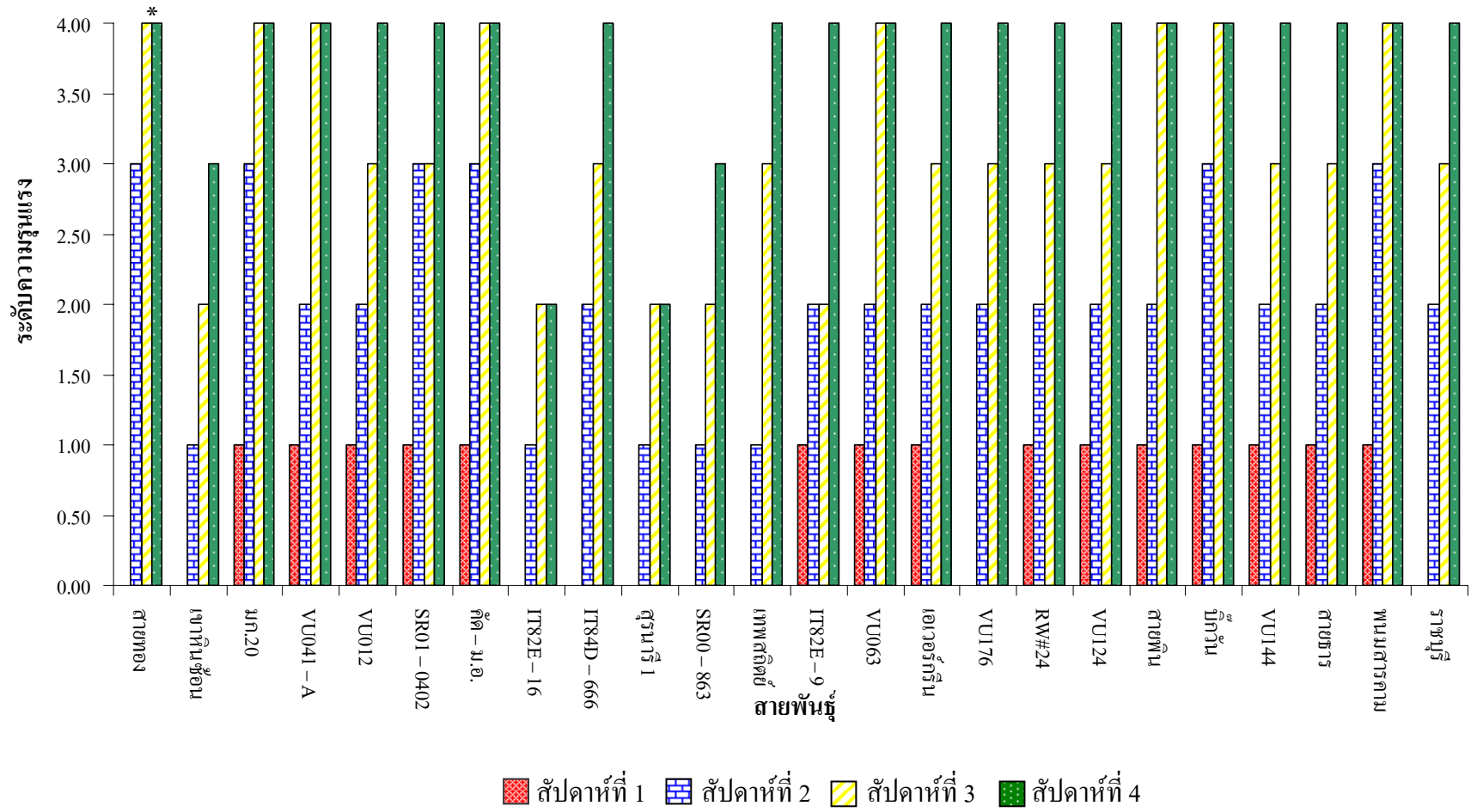
2. การประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนตัวในโรงเรือนตาข่ายปิด

การทดลอง ณ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (ภาคใต้) เพื่อประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนตัวในโรงเรือนตาข่ายปิด พบว่า หลังจากปล่อยเพลี้ยอ่อนตัวจำนวน 5 ตัวต่อต้นที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปลูก พบว่า จำนวนเพลี้ยอ่อนตัวเพิ่มขึ้นในทุกสายพันธุ์ โดยจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวต่อต้นในช่วง 1 - 10 วันหลังปล่อยเพลี้ยอ่อนไม่มีความแตกต่างกัน แต่ 15 วันหลังปล่อยเพลี้ยอ่อน เริ่มพบความแตกต่างของจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวมากขึ้น (รูปที่ 6) และ 19 วันหลังปล่อยเพลี้ยอ่อน พบความแตกต่างของจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวอย่างชัดเจน และสามารถแบ่งกลุ่มตัวจากจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวที่เข้าทำลายออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวน้อยกว่า 1,500 ตัวต่อต้น และกลุ่มที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวมากกว่า 1,500 ตัวต่อต้น ซึ่งกลุ่มที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวน้อยกว่า 1,500 ตัวต่อต้น ประกอบด้วยพันธุ์ IT82E - 16 SR₀₀- 863 สุรนารี 1 และเขาหินซ้อน โดยพันธุ์ SR₀₀- 863 มีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวน้อยที่สุดเพียง 1,283 ตัวต่อต้น รองลงมาคือ IT82E - 16 สุรนารี 1 และเขาหินซ้อน มีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัว 1,350 1,400 และ 1,450 ตัวต่อต้นตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวมากกว่า 1,500 ตัวต่อต้น ประกอบด้วยพันธุ์ IT82E - 9 RW#24 IT84D - 666 SR₀₁ - 0402 VU012 VU041 - A VU063 VU124 VU144 VU176 พนมสารคาม ราชบุรี เทพสถิตย์ บิ๊กวัน สายทอง สายธาร สายฟิน เอเวอร์กรีน มก.20 และคัด - ม.อ. โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุ์คัด - ม.อ. และพันธุ์บิ๊กวัน เป็นสายพันธุ์ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวต่อต้นสูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ คือมีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวเท่ากับ 3,900 และ 4,500 ตัวต่อต้น ตามลำดับ



รูปที่ 6 จำนวนแมลงวันบนต้นถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์ ภายใต้การทดลองในโรงเรือนตาข่ายปิด

ผลการประเมินระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในโรงเรือนตาข่ายปิด ณ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (ภาคใต้) พบว่า ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วมีความสัมพันธ์กับจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว คือระดับคะแนนการทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วเพิ่มขึ้นจาก 0 คะแนน จนมีระดับคะแนนสูงสุดที่ 4 คะแนน ส่วนจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วพบว่า มีจำนวนน้อยในช่วงเริ่มปล่อยเพลี้ยอ่อน และเพิ่มมากขึ้นในช่วงสัปดาห์ที่ 3 และ 4 (รูปที่ 7) โดยอายุ 1 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน พบว่า ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วมีค่าน้อย และไม่มีความแตกต่างกัน และนอกจากนี้บางสายพันธุ์ยังไม่มียาระดับความเสียหายซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว เนื่องจากในระยะแรกเพลี้ยอ่อนถั่วยังมีน้อย อย่างไรก็ตามระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วง 4 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน พบว่า ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วมีค่าสูง จึงทำให้ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มถูกทำลายมากขึ้น และสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว และกลุ่มต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วได้ โดยกลุ่มอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว พบว่า มีระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วสูงสุด (รูปที่ 8) คือระดับ 4 ประกอบด้วยพันธุ์ VU012 IT84D – 666 VU041 – A VU063 VU124 VU144 VU176 IT82E – 9 RW#24 SR₀₁ – 0402 พนมสารคาม ราชบุรี เทพสถิตย์ บิ๊กวัน สายทอง สายธาร สายพิน เอเวอร์กรีน มก. 20 และคัด – ม.อ. ส่วนกลุ่มที่มีความต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว พบว่า มีระดับคะแนนการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วที่อายุ 4 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนน้อยกว่า ประกอบด้วยพันธุ์ IT82E – 16 SR₀₀ – 863 เขานินซอน และสุรนารี 1 โดยเฉพาะพันธุ์ IT82E – 16 และสุรนารี 1 มีระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วเพียง 2 คะแนน



*หมายเหตุ กราฟที่มี 3 แท่งเนื่องจากไม่พบการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวที่อายุ 1 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน

รูปที่ 7 ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวบนต้นถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์ ภายใต้การทดลองในโรงเรือนตาข่ายปิด

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการพัฒนาการของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มหลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วเข้าทำลาย พบว่า ยอด ตาดอก และฝักไม่สามารถพัฒนาได้ในถั่วกลุ่มอ่อนแอ ในขณะที่ถั่วกลุ่มต้านทานหรือทนทานต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว พบว่า มีการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว แต่บริเวณ ยอด ตาดอก และฝักยังคงสามารถพัฒนาได้ แม้จะไม่สมบูรณ์ก็ตาม (รูปที่ 9) อย่างไรก็ตามช่วงสุดท้ายของการทดลอง หรือช่วงพัฒนาฝัก เพลี้ยอ่อนถั่วมีการเคลื่อนย้ายจากพันธุ์อ่อนแอ (ตาย) สู่นพันธุ์ต้านทานหรือทนทาน (มีชีวิตรอด) เป็นจำนวนมาก จึงทำให้ต้นที่เหลือถูกทำลายเพิ่มขึ้น



รูปที่ 8 การเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วบนต้นถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว

ก. พันธุ์คัด – ม.อ.

ข. พันธุ์มก. 20

ค. พันธุ์IT82E – 16

ง. พันธุ์SR₀₀ – 863



รูปที่ 9 การพัฒนาตาดอก และการติดฝักของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม หลังถูกเพลี้ยอ่อนถั่วเข้าทำลาย ภายใต้สภาพโรงเรือนตาข่ายปิด

ก. พันธุ์คัด – ม.อ.

ข. พันธุ์มก. 20

ค. พันธุ์IT82E – 16

ง. พันธุ์เขานินซอน

3. ความสามารถในการผสมข้าม

ผลจากการผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – ม.อ. กับสายพันธุ์ที่มีแนวโน้มด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว 4 สายพันธุ์ประกอบด้วย IT82E – 16 SR₀₀ – 863 เขาคินซ็อน และสุรนารี 1 พบว่า เปอร์เซ็นต์การผสมข้ามเพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้ง 4 คู่ผสม มีค่าระหว่าง 18.25 – 26.43 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 มีเปอร์เซ็นต์ผสมติดสูงสุด โดยมีจำนวนดอกที่ทำการผสม 140 ดอก และผสมติด 37 ดอก คิดเป็น 26.43 เปอร์เซ็นต์ ส่วนคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 และคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาคินซ็อน มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดเท่ากับ 25.19 และ 24.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำที่สุดเพียง 18.25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การผสมข้ามระหว่างถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์ที่มีแนวโน้มด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว

คู่ผสม	จำนวนดอกที่ผสม	จำนวนดอกที่ผสมติด	เปอร์เซ็นต์ผสมติด
คัด – ม.อ. x IT82E – 16	135.00	34.00	25.19
คัด – ม.อ. x SR ₀₀ – 863	140.00	37.00	26.43
คัด – ม.อ. x เขาคินซ็อน	95.00	23.00	24.21
คัด – ม.อ. x สุรนารี 1	137.00	25.00	18.25

4. การประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ และลูกผสมชั่วที่ 1

4.1 จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วของพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ และลูกผสมชั่วที่ 1

จากการเปรียบเทียบจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วหลังจากมีการปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วจำนวน 5 ตัวต่อต้น ที่อายุ 5 สัปดาห์หลังปลูก พบว่า เพลี้ยอ่อนถั่วมีจำนวนเพิ่มขึ้นในทุกสายพันธุ์ (ตารางที่ 8) โดย 1 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน พบว่า พันธุ์ IT82E – 16 มีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วต่อต้นน้อยที่สุดเพียง 21.67 ตัวต่อต้น รองลงมาคือลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาคินซ็อน มีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว 23.33 ตัวต่อต้น ส่วนพันธุ์พ่อ และลูกผสมคู่อื่นๆ มีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วใกล้เคียงกัน และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ยกเว้นพันธุ์คัด – ม.อ. ที่มีจำนวนเพลี้ยอ่อนมากกว่าพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ 2 และ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน พบว่า พันธุ์ต้านทาน

หรือพันธุ์หนทาน (พันธุ์พ่อ) และลูกผสมคู่ต่างๆ มีจำนวนเพลี้ยอ่อนถัวน้อยกว่า พันธุ์คัด – ม.อ. ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ในช่วง 4 สัปดาห์หลังจากปล่อยเพลี้ยอ่อน พบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญของจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วเช่นกัน โดยพันธุ์คัด – ม.อ. มีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วต่อต้นสูงสุด คือ 4,125 ตัวต่อต้น ส่วนลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 มีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วบนต้นน้อยที่สุดเพียง 1,286 ตัวต่อต้น รองลงมาคือ พันธุ์ IT82E – 16 พันธุ์เขาคินซ้อน และลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาคินซ้อน มีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว 1,300 1,643 และ 1,650 ตัวต่อต้น ตามลำดับ ส่วนประชากรอื่นๆ มีปริมาณเพลี้ยอ่อนถั่วแตกต่างกันระหว่าง 1,680 – 1825 ตัวต่อต้น

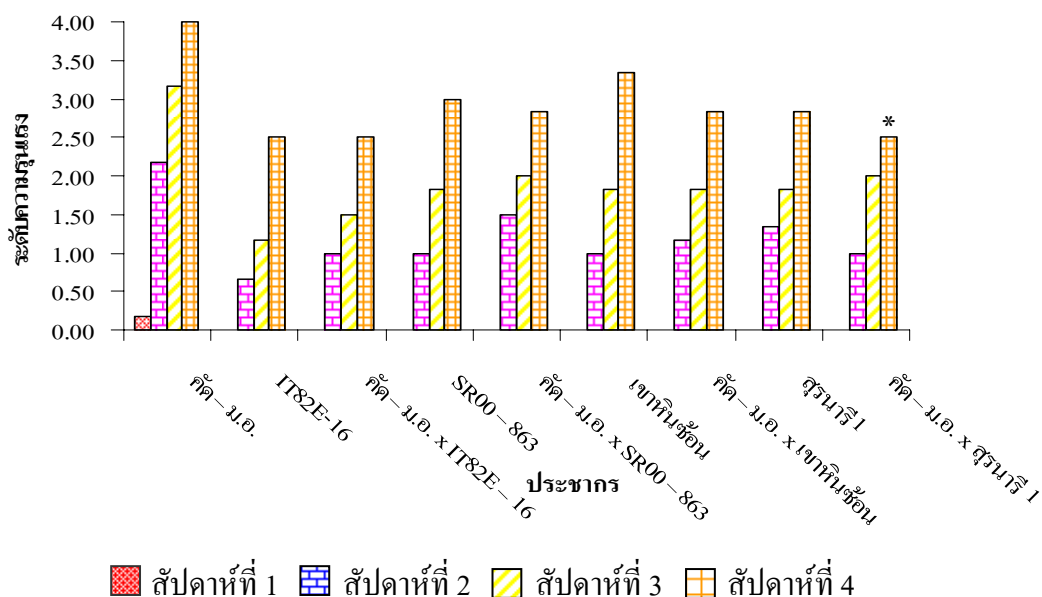
ตารางที่ 8 การเพิ่มของจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วในลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ 4 กลุ่มผสมในช่วง 1 – 4 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว

กลุ่มประชากร (พันธุ์)	จำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว (หลังจากปล่อยเพลี้ยอ่อน)			
	สัปดาห์ 1	สัปดาห์ 2	สัปดาห์ 3	สัปดาห์ 4
พันธุ์คัด – ม.อ.	62.33	425.80	3,925.00	4,125.00
พันธุ์IT82E – 16	21.67	75.70	876.70	1,300.00
ลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างคัด – ม.อ. x IT82E – 16	25.33	77.50	1,040.00	1,286.00
พันธุ์SR ₀₀ – 863	28.67	116.20	1,590.00	1,749.00
ลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างคัด – ม.อ. x SR ₀₀ – 863	31.17	138.70	1,686.70	1,750.00
พันธุ์เขาคินซ้อน	29.00	68.30	1,315.00	1,643.30
ลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างคัด – ม.อ. x เขาคินซ้อน	23.33	79.80	1,331.70	1,650.00
พันธุ์สุรนารี 1	29.33	91.70	1,583.30	1,680.00
ลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างคัด – ม.อ. x สุรนารี 1	31.67	112.50	1,790.00	1,825.00
F – test	*	*	*	*
LSD _{0.05}	12.00	223.64	906.99	798.70
C.V. (%)	24.88	48.96	19.14	11.72

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซนต์จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มแบบ LSD

4.2 ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในกลุ่มประชากรพ่อ แม่ และลูกผสมชั่วที่ 1

จากการศึกษาระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวระหว่างพันธุ์พ่อพันธุ์แม่ และลูกผสมชั่วที่ 1 พบว่า ระดับการทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวเพิ่มขึ้นจาก 0 คะแนน จนมีคะแนนสูงสุดที่ 4 คะแนน โดย 1 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน ไม่พบการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในทุกกลุ่มประชากร ยกเว้น พันธุ์คัด – ม.อ. เริ่มพบการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัว (ระดับความรุนแรง 0.17 คะแนน) (รูปที่ 10) ช่วง 2 และ 3 สัปดาห์หลังจากปล่อยเพลี้ยอ่อน พบว่า ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในพันธุ์คัด – ม.อ. มีค่าเท่ากับ 2.17 และ 3.17 คะแนน ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์ IT82E – 16 มีระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวน้อยที่สุดเพียง 0.67 และ 1.17 คะแนน ตามลำดับ รองลงมา คือ ลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 และพันธุ์เขาหินซ้อน ตามลำดับ และ 4 สัปดาห์หลังจากปล่อยเพลี้ยอ่อน พบว่า ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะพันธุ์คัด – ม.อ. มีระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวสูงสุดคือ 4 คะแนน ในขณะที่พันธุ์ IT82E – 16 ลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 และลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 มีระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวน้อย และใกล้เคียงกันคือ 2.50 คะแนน



* หมายเหตุ กราฟที่มี 3 แท่งเนื่องจากไม่พบการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวที่อายุ 1 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนตัว

รูปที่ 10 ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในประชากรพ่อ แม่ และลูกผสมชั่วที่ 1

4.3 ลักษณะผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตของถั่วพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ และลูกผสมชั่วที่ 1

ลักษณะผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิต ซึ่งศึกษาและวิเคราะห์ภายใต้การเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในโรงเรือนตาข่ายปิด พบว่า ผลผลิตต่อต้นของลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าสูงกว่าพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ โดยลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 มีผลผลิตต่อต้นเท่ากับ 57.67 กรัม ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ที่มีผลผลิตต่อต้นเท่ากับ 25.74 และ 7.25 กรัม ตามลำดับ ลักษณะฝักต่อต้น พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 มีจำนวนฝักเท่ากับ 4.17 ฝักต่อต้น ซึ่งมากกว่าพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ที่มีจำนวนฝักต่อต้น 3.33 และ 0.50 ฝัก ตามลำดับ ดอกแรกบาน พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 ออกดอกเร็วกว่าพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ โดยใช้เวลาในการออกดอกบานเพียง 42 วัน ซึ่งวันออกดอกบานมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับลักษณะความยาวฝัก ส่วนลักษณะเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักต่อฝัก พบว่า พันธุ์ IT82E – 16 (พ่อ) มีจำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักต่อฝักน้อยที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับพันธุ์แม่ และ ลูกผสมชั่ว 1 (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 องค์ประกอบผลผลิตของถั่วพันธุ์คัด – ม.อ. IT82E – 16 และลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์ IT82E – 16 ภายใต้สภาพการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในโรงเรือนตาข่ายปิด

กลุ่มประชากร	องค์ประกอบของผลผลิต					
	ดอกแรกบาน (วัน)	ฝักต่อต้น (ฝัก)	ความยาวฝัก (เซนติเมตร)	เมล็ดต่อฝัก (เมล็ด)	น้ำหนักต่อฝัก (กรัม)	ผลผลิตต่อต้น (กรัม)
แม่ (คัด – ม.อ.)	48.67	0.50	40.37	13.00	14.50	7.25
พ่อ (IT82E – 16)	45.83	3.33	20.06	11.25	7.73	25.74
ลูกผสมชั่วที่ 1 (F ₁)	41.60	4.17	30.92	21.20	13.83	57.67
F – test	*	*	*	ns	ns	*
LSD _{0.05}	6.07	2.81	9.58	14.20	8.77	45.25
C.V. (%)	5.22	17.71	11.11	24.45	22.03	25.37

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซนต์, ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มแบบ LSD

ลักษณะผลผลิต และองค์ประกอบของผลผลิตจากกลุ่มผสมระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 พบว่า ผลผลิตต่อต้นของลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าสูงกว่าพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ โดยลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 มีผลผลิตเท่ากับ 45.97 กรัมต่อต้น ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์พ่อ – แม่ที่มีผลผลิตเท่ากับ 32.53 และ 7.25 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ลักษณะฝักต่อต้น พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 มีจำนวนฝักเท่ากับ 3.17 ฝักต่อต้น ซึ่งมากกว่าพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ที่มีจำนวนฝักต่อต้นเท่ากับ 2.33 และ 0.50 ฝัก ตามลำดับ ลักษณะวันดอกแรกบาน พบว่า พันธุ์แม่ (คัด – ม.อ.) มีค่าสูงสุดคือ 49 วัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กับ พันธุ์ SR₀₀ – 863 และ ลูกผสมชั่วที่ 1 ที่มีวันดอกแรกบานเท่ากัน คือ 47 วัน ลักษณะน้ำหนักต่อฝัก พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ (ตารางที่ 10) โดยน้ำหนักต่อฝักของลูกผสมชั่วที่ 1 พบว่า มีค่าเท่ากับ 14.50 กรัม

ตารางที่ 10 องค์ประกอบผลผลิตของถั่วพันธุ์คัด – ม.อ. SR₀₀ – 863 และลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์ SR₀₀ – 863 ภายใต้สภาพการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในโรงเรือนตาข่ายปิด

กลุ่มประชากร	องค์ประกอบของผลผลิต					
	ดอกแรกบาน (วัน)	ฝักต่อต้น (ฝัก)	ความยาวฝัก (เซนติเมตร)	เมล็ดต่อฝัก (เมล็ด)	น้ำหนักต่อฝัก (กรัม)	ผลผลิตต่อต้น (กรัม)
แม่ (คัด – ม.อ.)	48.67	0.50	40.37	13.00	14.50	7.25
พ่อ (SR ₀₀ – 863)	47.00	2.33	29.95	16.00	13.96	32.53
ลูกผสมชั่วที่ 1 (F ₁)	47.00	3.17	38.00	14.50	14.50	45.97
F – test	ns	ns	ns	ns	*	*
LSD _{0.05}	3.46	3.35	12.71	4.71	0.51	19.81
C.V. (%)	3.94	18.65	14.44	4.68	17.98	15.57

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์, ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มแบบ LSD

ลักษณะผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตของถั่วคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาคินซ้อน พบว่า ผลผลิตต่อต้นของลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าสูงกว่าพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ โดยลูกผสมชั่วที่ 1 มีผลผลิตเท่ากับ 100.27 กรัมต่อต้น ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ที่มีผลผลิตเท่ากับ 55.95 และ 7.25 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ลักษณะฝักต่อต้น พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 มีจำนวนฝัก 4.83 ฝักต่อต้น ซึ่งมากกว่าพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ที่มีจำนวนฝักต่อต้นเท่ากับ 4.67 และ 0.50 ฝัก ตามลำดับ ลักษณะดอกแรกบาน พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 มีวันดอกแรกบานเท่ากับ 44 วัน ส่วนพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ มีอายุดอกแรกบานเท่ากับ 41 และ 49 วัน ตามลำดับ ส่วนลักษณะความยาวฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักต่อฝัก พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญระหว่างลูกผสมชั่วที่ 1 กับ พันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 องค์ประกอบผลผลิตของถั่วพันธุ์คัด – ม.อ. เขาคินซ้อน และลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์เขาคินซ้อน ภายใต้สภาพการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในโรงเรือนตาข่ายปิด

กลุ่มประชากร	องค์ประกอบของผลผลิต					
	ดอกแรกบาน (วัน)	ฝักต่อต้น (ฝัก)	ความยาวฝัก (เซนติเมตร)	เมล็ดต่อฝัก (เมล็ด)	น้ำหนักต่อฝัก (กรัม)	ผลผลิตต่อต้น (กรัม)
แม่ (คัด – ม.อ.)	48.67	0.50	40.37	13.00	14.50	7.25
พ่อ (เขาคินซ้อน)	40.16	4.67	26.76	9.80	11.98	55.95
ลูกผสมชั่วที่ 1 (F ₁)	43.80	4.83	43.15	16.60	20.76	100.27
F – test	*	ns	*	*	*	*
LSD _{0.05}	7.50	4.36	5.37	4.65	7.82	67.56
C.V. (%)	6.36	17.80	6.77	12.29	15.02	29.59

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์, ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มแบบ LSD

ลักษณะผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตของถั่วคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 พบว่า ผลผลิตต่อต้นของลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าอยู่ระหว่างพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ โดยลูกผสมชั่วที่ 1 มีผลผลิตต่อต้นเท่ากับ 62.24 กรัม ส่วนพันธุ์พ่อก็มีผลผลิตต่อต้นมากที่สุดคือ 82.80 กรัมต่อต้น ลักษณะฝักต่อต้น พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 มีจำนวนฝักเท่ากับ 2.00 ฝักต่อต้น ซึ่งมากกว่าพันธุ์แม่แต่น้อยกว่าพันธุ์พ่อที่มีจำนวนฝักต่อต้นเท่ากับ 0.50 และ 6.33 ฝัก ตามลำดับ ส่วนลักษณะวันดอกแรกบาน พบว่า พันธุ์คัด – ม.อ. (แม่) มีค่าเท่ากับ 49 วัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กับ พันธุ์สุรนารี 1 (พ่อ) และ ลูกผสมชั่วที่ 1 (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 องค์ประกอบผลผลิตของถั่วพันธุ์คัด – ม.อ. สุรนารี 1 และลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์สุรนารี 1 ภายใต้สภาพการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในโรงเรือนตาข่ายปิด

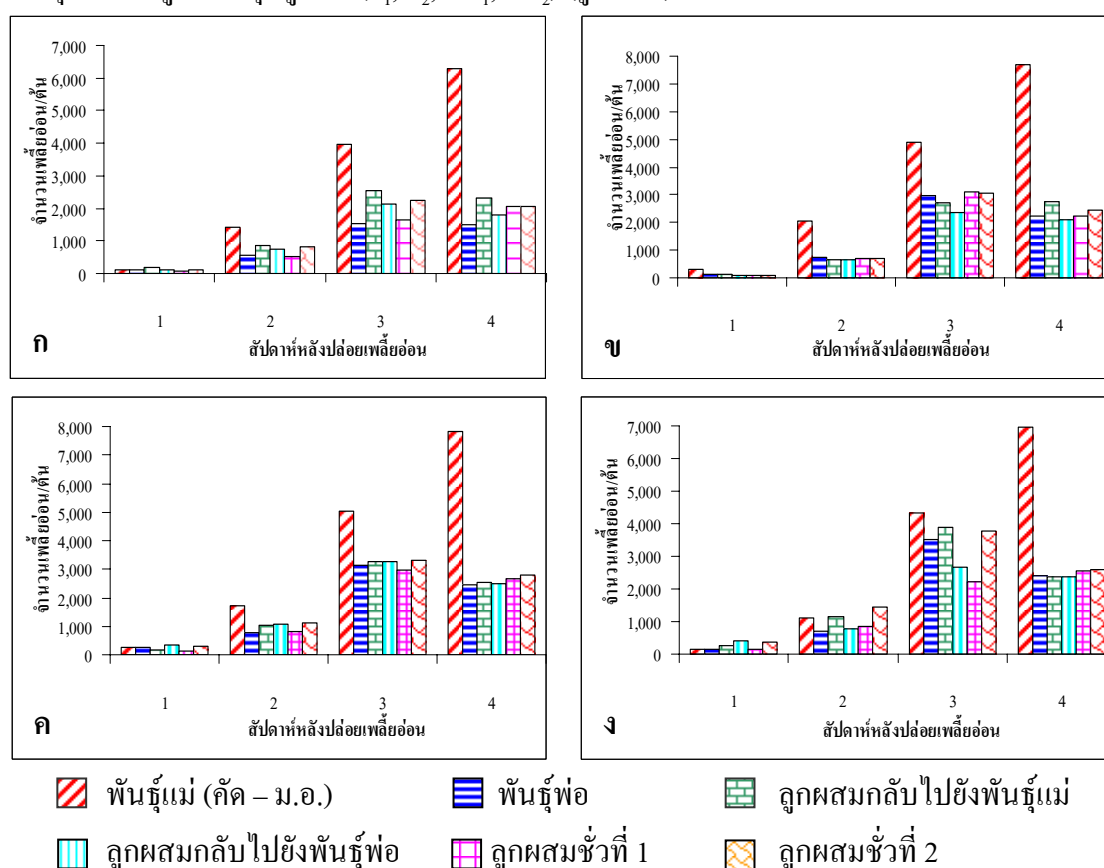
กลุ่มประชากร	องค์ประกอบของผลผลิต					
	ดอกแรกบาน (วัน)	ฝักต่อต้น (ฝัก)	ความยาวฝัก (เซนติเมตร)	เมล็ดต่อฝัก (เมล็ด)	น้ำหนักต่อฝัก (กรัม)	ผลผลิตต่อต้น (กรัม)
แม่ (คัด – ม.อ.)	48.67	0.50	40.37	13.00	14.50	7.25
พ่อ (สุรนารี 1)	42.40	6.33	33.25	10.00	13.08	82.80
ลูกผสมชั่วที่ 1 (F ₁)	48.00	2.00	40.63	16.40	31.12	62.24
F – test	ns	*	ns	*	*	*
LSD _{0.05}	7.28	5.57	9.57	3.78	14.62	47.76
C.V. (%)	4.00	19.06	15.73	4.28	11.12	28.46

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซ็นต์, ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มแบบ LSD

5. การถ่ายทอดพันธุกรรมของลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนตัวในพันธุ์พ่อแม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ

5.1 การเพิ่มจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวในแต่ละกลุ่มประชากรหลังจากปล่อยเพลี้ยอ่อนตัว 1 – 4 สัปดาห์

ผลการศึกษาจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวจากกลุ่มประชากร พ่อ แม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่และพ่อ (BC_1 , BC_2) จากตัว 4 กลุ่ม พบว่า แต่ละกลุ่มผสมมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวในกลุ่มประชากรต่างๆ แตกต่างกัน ตั้งแต่ 1 สัปดาห์ ถึง 4 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน โดยเฉพาะ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน เป็นช่วงที่มีการเพิ่มจำนวนของเพลี้ยอ่อนตัวอย่างรวดเร็วในทุกกลุ่มผสม และการเพิ่มขึ้นของเพลี้ยอ่อนตัวมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน คือ พันธุ์คัด – ม.อ. ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนตัวมีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวต่อต้นสูงกว่าพันธุ์พ่อแม่ และลูกผสมทุกกลุ่มผสม (F_1 , F_2 , BC_1 , BC_2) (รูปที่ 11)



รูปที่ 11 ค่าเฉลี่ยของจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวที่เพิ่มขึ้นในตัว 4 กลุ่มผสม

ก. กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16

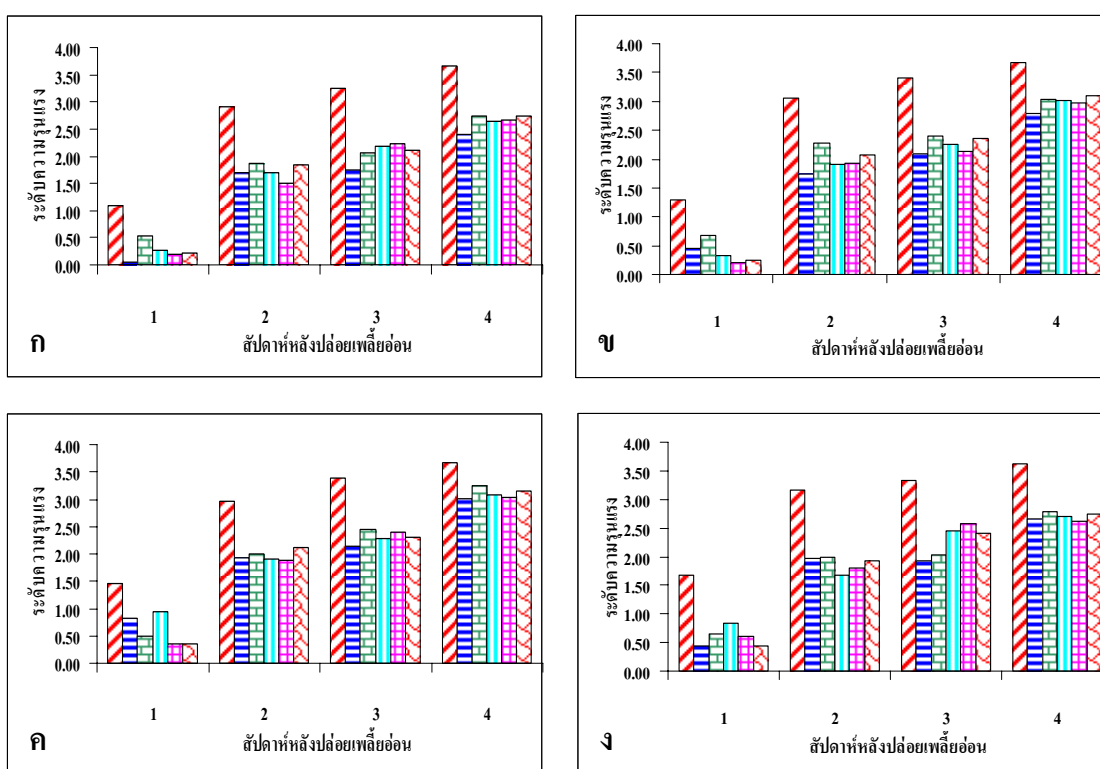
ข. กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863

ค. กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาคินซ้อน

ง. กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1

5.2 การเพิ่มระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในแต่ละกลุ่มประชากร หลังจากปล่อยเพลี้ยอ่อนตัว 1 – 4 สัปดาห์

จากการศึกษาระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในถั่วฝักยาว และ ถั่วพุ่มกลุ่มประชากรต่างๆ พบว่า ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัว สอดคล้องกับ จำนวนเพลี้ยอ่อนตัวต่อต้น โดยพันธุ์คัด – ม.อ. มีระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัว สูงสุด ในขณะที่พันธุ์พ่อ และลูกผสมกลุ่มต่างๆ (ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยัง พันธุ์พ่อ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่) มีระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวน้อยกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 พบว่า พันธุ์ IT82E – 16 มีระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวน้อยกว่าอย่างชัดเจน (รูปที่ 12)



พันธุ์แม่ (คัด – ม.อ.)
 พันธุ์พ่อ
 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่
 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ
 ลูกผสมชั่วที่ 1
 ลูกผสมชั่วที่ 2

รูปที่ 12 ค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวที่เพิ่มขึ้นในถั่ว 4 กลุ่มผสม

- ก. กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ข. กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863
 ค. กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน ง. กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1

5.3 ค่าเฉลี่ยจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวในแต่ละกลุ่มประชากร ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนตัว

จากการศึกษา และเปรียบเทียบจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวในประชากรกลุ่มต่างๆ ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังจากปล่อยเพลี้ยอ่อน พบว่า พันธุ์คัด – ม.อ. ซึ่งอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวมีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวต่อต้นสูงที่สุด (ตารางที่ 13) โดยมีค่าเฉลี่ย 3,959 ตัวต่อต้น ในกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 มีจำนวน 4,897 5,042.70 และ 4,329 ตัวต่อต้น ในกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 กลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาคินซ้อน และกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์พ่อมีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัว 1,517 – 3,529.30 ตัวต่อต้น โดยสายพันธุ์ IT82E – 16 มีจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวน้อยที่สุด

ตารางที่ 13 จำนวนเพลี้ยอ่อนตัวในกลุ่มประชากรต่างๆ ของตัว 4 กลุ่มที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนตัว

กลุ่มผสม	ค่าเฉลี่ยของจำนวนเพลี้ยอ่อนที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน(ตัว/ต้น)			
	คัด – ม.อ. x IT82E – 16	คัด – ม.อ. x SR ₀₀ – 863	คัด – ม.อ. x เขาคินซ้อน	คัด – ม.อ. x สุรนารี 1
พันธุ์แม่	3,959.00	4,897.00	5,042.70	4,329.00
พันธุ์พ่อ	1,517.00	2,958.50	3,125.80	3,529.30
ลูกผสมชั่วที่ 1	1,651.20	3,081.80	2,969.20	2,225.30
ลูกผสมชั่วที่ 2	2,259.00	3,115.60	3,302.60	3,796.20
ผสมกลับแม่	2,531.80	2,696.70	3,272.00	3,905.70
ผสมกลับพ่อ	2,145.30	2,375.00	3,251.30	2,660.70
F – test	*	*	*	*
LSD _{0.05}	477.96	599.40	521.83	639.01
C.V. (%)	24.22	28.42	26.82	25.34

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซนต์จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มแบบ LSD

5.4 ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในแต่ละกลุ่มประชากร ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน

เมื่อเปรียบเทียบความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว พบว่า พันธุ์คัด - ม.อ. มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 3.25 – 3.40 ส่วนพันธุ์พ่อทั้ง 4 กลุ่มมีระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว 1.75 – 2.14 โดยพันธุ์ IT82E – 16 และพันธุ์สุรนารี 1 มีค่าระดับความรุนแรงต่ำกว่า 2.00 (1.75 และ 1.93 ตามลำดับ) ส่วนลูกผสมชั่วต่างๆ และลูกผสมกลับทั้ง 4 กลุ่ม พบว่า มีความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วใกล้เคียงกัน (มีระดับคะแนน 2.08 – 2.58) (ตารางที่ 14)

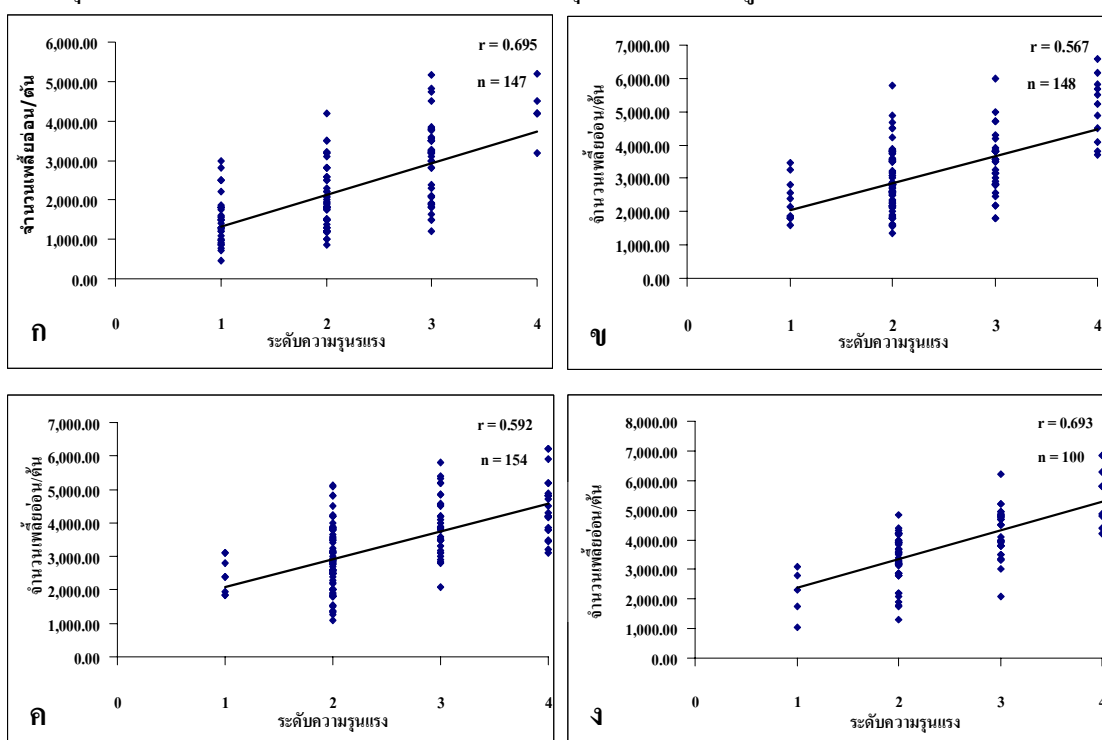
ตารางที่ 14 ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในกลุ่มประชากรต่างๆ ของถั่ว 4 กลุ่มที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว

กลุ่มประชากร	ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว (คะแนน)			
	คัด - ม.อ. x	คัด - ม.อ. x	คัด - ม.อ. x	คัด - ม.อ. x
	IT82E - 16	SR ₀₀ - 863	เขาคินซ้อน	สุรนารี 1
พันธุ์แม่	3.25	3.40	3.38	3.32
พันธุ์พ่อ	1.75	2.10	2.14	1.93
ลูกผสมชั่วที่ 1	2.25	2.13	2.40	2.58
ลูกผสมชั่วที่ 2	2.11	2.36	2.30	2.40
ผสมกลับแม่	2.26	2.45	2.48	2.08
ผสมกลับพ่อ	2.17	2.28	2.29	2.47
F - test	*	*	*	*
LSD _{0.05}	0.86	0.87	0.75	0.94
C.V. (%)	20.93	18.47	24.12	20.48

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซนต์จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มแบบ LSD

5.5 สหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวกับระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน

การศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวกับระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนในลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) ของถั่ว 4 คู่ผสม ประกอบด้วยคู่ผสมระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน และคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 พบว่า ทุกคู่ผสมมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งของสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวกับระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัว โดยคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 มีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวกับระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวสูงที่สุด คือ 0.695 รองลงมาคือคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 และคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน มีสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวกับระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวเท่ากับ 0.693 และ 0.592 ตามลำดับ ในขณะที่คู่ผสมระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 มีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวกับระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวน้อยที่สุดเพียง 0.567 (รูปที่ 13)



รูปที่ 13 สหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเพลี้ยอ่อนตัวกับระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน

- ก. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ข. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863
 ค. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน ง. คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1

5.6 การกระจายตัวระดับคะแนนการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในประชากรแม่ พ่อ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่และพ่อของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 4 กลุ่มผสม

ศึกษาการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วโดยสุ่มประเมินระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนจากสายตา พบว่า คะแนนการเข้าทำลายแบ่งออกเป็น 5 ระดับ (รูปที่ 14)



รูปที่ 14 ระดับการประเมินการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว

- | | |
|--------------------------------------|----------------------------------|
| ก. ระดับ 0 (น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์) | ข. ระดับ 1 (10 – 25 เปอร์เซ็นต์) |
| ค. ระดับ 2 (26 – 50 เปอร์เซ็นต์) | ง. ระดับ 3 (51 – 75 เปอร์เซ็นต์) |
| จ. ระดับ 4 (มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์) | ฉ. การเข้าทำลาย 100 เปอร์เซ็นต์ |

การกระจายตัวของระดับคะแนนการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในประชากรกลุ่มต่างๆ ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน พบว่า พันธุ์แม่ส่วนใหญ่มีระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในระดับ 2, 3 และ 4 ในขณะที่พันธุ์พ่อ มีระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในระดับต่ำกว่า (ระดับ 1, 2 และ 3) ส่วนลูกผสมชั่วที่ 2 พบว่า กราฟมีการกระจายตัว ตั้งแต่ระดับ 1 (ต่ำสุด) ถึงระดับ 4 (สูงสุด) ในขณะที่ประชากรกลุ่มอื่นๆ มีระดับความรุนแรงแตกต่างกัน (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 การกระจายตัวของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในประชากรกลุ่มต่างๆ ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนตัว

ประชากร	ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัว				
	0	1	2	3	4
พันธุ์แม่ (คัด – ม.อ.)	0	0	3	9	8
พันธุ์พ่อ (IT82E-16)	0	6	13	1	0
ลูกผสมชั่วที่ 1	0	4	6	4	2
ลูกผสมชั่วที่ 2	0	39	79	25	4
ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่	0	7	11	9	3
ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ	0	9	10	8	3

การกระจายตัวของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในประชากรกลุ่มต่างๆ ของตัวกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 พบว่า พันธุ์แม่มีระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวอยู่ในระดับสูง ในขณะที่พันธุ์พ่อมีระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในระดับต่ำ ลูกผสมชั่วที่ 2 กราฟมีการกระจายตัวอย่างต่อเนื่อง โดยระดับการเข้าทำลายที่ 1 คะแนน มีจำนวน 12 ต้น ระดับเข้าทำลายที่ 2, 3 และ 4 คะแนน มีจำนวน 82, 42 และ 12 ต้น ตามลำดับ ส่วนระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับมีค่าแตกต่างกัน (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 การกระจายตัวของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในประชากรกลุ่ม
ต่างๆ ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว

ประชากร	ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว				
	0	1	2	3	4
พันธุ์แม่ (คัด – ม.อ.)	0	0	3	7	6
พันธุ์พ่อ (SR ₀₀ – 863)	0	5	9	6	1
ลูกผสมชั่วที่ 1	0	5	13	4	2
ลูกผสมชั่วที่ 2	0	12	82	42	12
ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่	0	4	7	8	3
ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ	0	6	9	7	3

การกระจายตัวของระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาคินซ้อน พบว่า พันธุ์แม่มีระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วอยู่ในระดับสูง (ระดับ 2, 3 และ 4) ในขณะที่พันธุ์พ่อมีระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในระดับต่ำ (ระดับ 1 – 3) ลูกผสมชั่วที่ 2 พบว่า กราฟมีการกระจายตัวอย่างต่อเนื่อง โดยระดับเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วระดับ 1 มีจำนวน 11 ต้น ระดับเข้าทำลายที่ 2, 3 และ 4 คะแนน มีจำนวน 91 40 และ 12 ต้น ตามลำดับ ส่วนลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ และแม่มีค่าแตกต่างกัน (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 การกระจายตัวของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในประชากรกลุ่ม
ต่างๆ ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาคินซ้อน ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว

ประชากร	ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว				
	0	1	2	3	4
พันธุ์แม่ (คัด – ม.อ.)	0	0	1	8	7
พันธุ์พ่อ (เขาคินซ้อน)	0	2	8	4	0
ลูกผสมชั่วที่ 1	0	2	10	6	2
ลูกผสมชั่วที่ 2	0	11	91	40	12
ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่	0	5	10	9	5
ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ	0	8	13	10	4

การกระจายตัวของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวของตัวผู้ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 พบว่า พันธุ์แม่มีระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในระดับสูง ในขณะที่พันธุ์พ่อมีระดับการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในระดับต่ำ ลูกผสมชั่วที่ 2 พบว่า กราฟมีการกระจายตัวอย่างต่อเนื่องเช่นกัน โดยระดับเข้าทำลาย 1 คะแนน มีจำนวน 6 ต้น ระดับเข้าทำลายที่ 2 คะแนน มีจำนวน 51 ต้น และระดับการทำลายที่ 3 และ 4 คะแนน พบว่า มีจำนวน 36 และ 7 ต้น ตามลำดับ ส่วนลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อและแม่ มีค่าแตกต่างกัน (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 การกระจายตัวของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวในประชากรกลุ่มต่างๆ ของผู้ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 ที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนตัว

ประชากร	ระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัว				
	0	1	2	3	4
พันธุ์แม่ (คัด – ม.อ.)	0	0	1	9	6
พันธุ์พ่อ (สุรนารี 1)	0	5	5	4	0
ลูกผสมชั่วที่ 1	0	2	8	7	3
ลูกผสมชั่วที่ 2	0	6	51	36	7
ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่	0	11	14	8	3
ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ	0	7	10	11	6

5.7 จำนวนคู่ของยีนที่ควบคุมลักษณะการต้านทานเพลี้ยอ่อนตัว

การศึกษาพันธุศาสตร์ต้านทานเพลี้ยอ่อนตัวจากการวิเคราะห์ไค – สแควร์ระหว่างตัวผู้ยกยวและตัวผู้ผสม พันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนตัวจำนวน 4 คู่ผสมที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 มีจำนวนทั้งหมด 147 ต้น เป็นต้นต้านทานจำนวน 118 ต้น (0 – 2.0 คะแนน) และต้นอ่อนแอจำนวน 29 ต้น (2.1 – 4 คะแนน) (ตารางที่ 19) ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนตัว พบว่า มีทั้งหมด 30 ต้น เป็นต้นต้านทานจำนวน 18 ต้น ต้นอ่อนแอ จำนวน 12 ต้น ซึ่งทั้งลูกผสมชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ มีค่าสอดคล้องกับอัตราส่วน 3 : 1 ($P = 0.140$) และอัตราส่วน (1 : 1) ($P = 0.273$) ซึ่งเป็นลักษณะที่ควบคุมด้วยยีน 1 คู่ ในขณะที่ผู้ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x SR₀₀ – 863 มีต้นต้านทานเพลี้ยอ่อนตัวจำนวน 94 ต้น และต้นอ่อนแอจำนวน 54 ต้น ซึ่งไม่สอดคล้องกับอัตราส่วน

3 : 1 ($P = 0.001$) ส่วนกลุ่มสมพันธุ์คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน และกลุ่มสมพันธุ์คัด – ม.อ. x สุรนารี 1 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกัน

ตารางที่ 19 การกระจายตัวของอัตราส่วนระหว่างต้นด้านทานและต้นอ่อนแอในกลุ่มสมชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่

กลุ่มสม	ประชากร	ต้น ด้านทาน	ต้น อ่อนแอ	อัตราส่วน	χ^2	P
คัด – ม.อ. x IT82E – 16	F_2	118	29	3 : 1	2.179	0.140
	BC_1	18	12	1 : 1	1.200	0.273
คัด – ม.อ. x SR_{00} – 863	F_2	94	54	3 : 1	10.414	0.001
	BC_1	11	11	1 : 1	0.000	1.000
คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน	F_2	102	52	3 : 1	7.312	0.002
	BC_1	15	14	1 : 1	0.034	0.853
คัด – ม.อ. x สุรนารี 1	F_2	57	43	3 : 1	17.280	0.001
	BC_1	25	11	1 : 1	5.444	0.020

การศึกษาจำนวนยีนควบคุมลักษณะการด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วตามวิธีของ ไพศาล (2525) พบว่า การด้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในกลุ่มสมต่างๆ มีค่าต่างกัน โดยกลุ่มสมคัด – ม.อ. x IT82E – 16 มียีนควบคุมการด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว 1 คู่ ในขณะที่ถั่วอีก 3 กลุ่มสมมียีนควบคุมการด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วมากกว่า 1 คู่ โดยกลุ่มสมคัด – ม.อ. x SR_{00} – 863 และกลุ่มสมคัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน มียีนควบคุมการด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วเท่ากันคือ 3 คู่ ส่วนกลุ่มสมคัด – ม.อ. x สุรนารี 1 พบว่า อาจมียีนควบคุมการด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วมากถึง 4 คู่ (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 จำนวนคู่ของยีนที่ควบคุมการด้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว

กลุ่มสม	ค่าเฉลี่ย พันธุ์แม่	ค่าเฉลี่ย พันธุ์พ่อ	วาเรียนซ์ ลูกชั่วที่ 2	วาเรียนซ์ ลูกชั่วที่ 1	จำนวนคู่ ของยีน
คัด – ม.อ. x IT82E – 16	3.25	1.75	0.722	0.478	1.075
คัด – ม.อ. x SR_{00} – 863	3.4	2.1	0.520	0.441	2.676
คัด – ม.อ. x เขาหินซ้อน	3.38	2.14	0.656	0.591	2.966
คัด – ม.อ. x สุรนารี 1	3.23	1.93	0.594	0.542	3.824

6. การแสดงออกของยีน

จากการศึกษาจำนวนเพ็ลี่ยอ่อนตัว และระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพ็ลี่ยอ่อน เพื่อวิเคราะห์อิทธิพลทางพันธุกรรม พบว่า อิทธิพลของยีนแบบผลบวกมีบทบาทสำคัญ และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญในการควบคุมความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะจำนวนเพ็ลี่ยอ่อนตัวที่อายุ 3 สัปดาห์หลังจากปล่อยเพ็ลี่ยอ่อน (ตารางที่ 21) เฉพาะกลุ่มผสมพันธุ์ คัด - ม.อ. x IT82E - 16 เท่านั้น ส่วนอีก 3 กลุ่มผสม คือ กลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x SR₀₀ - 863 กลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x เขาคินซ้อน และกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x สุรนารี 1 อิทธิพลแบบผลบวกไม่มีนัยสำคัญ ในขณะที่อิทธิพลของยีนแบบข่มมีความสำคัญใน 2 กลุ่มผสมคือกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x IT82E - 16 และกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x เขาคินซ้อน ปฏิกริยาสัมพันธระหว่างยีนต่างตำแหน่งแบบผลบวกกับแบบข่มมีความสำคัญในกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x SR₀₀ - 863 และกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x เขาคินซ้อน ส่วนปฏิกริยาสัมพันธระหว่างยีนแบบข่มกับแบบข่มมีความสำคัญเฉพาะกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x IT82E - 16 เท่านั้น และไม่พบนัยสำคัญทางปฏิกริยาสัมพันธระหว่างยีนแบบผลบวกกับแบบผลบวกทั้ง 4 กลุ่มผสม

ตารางที่ 21 การแสดงออกของยีนแบบต่างๆ ที่ควบคุมจำนวนเพ็ลี่ยอ่อนตัวที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพ็ลี่ยอ่อนตัว

Parameter	กลุ่มผสม			
	คัด - ม.อ. x IT82E - 16	คัด - ม.อ. x SR ₀₀ - 863	คัด - ม.อ. x เขาคินซ้อน	คัด - ม.อ. x สุรนารี 1
m	1042.823 ± 13.550**	1711.475 ± 12.236**	1467.122 ± 14.148*	2152.746 ± 21.545**
d	451.465 ± 3.146*	771.375 ± 4.135	478.346 ± 4.113	205.038 ± 4.524
h	-411.2811 ± 37.352*	-2934.225 ± 34.762	-65.091 ± 41.864**	7674.505 ± 52.845
i	-43.443 ± 13.549	-315.455 ± 11.954	-222.444 ± 14.316	3696.110 ± 14.330
j	-615.614 ± 6.178	-1185.811 ± 6.4354*	-1022.545 ± 7.445*	302.044 ± 7.598
l	-95.625 ± 24.744**	1948.181 ± 23.656	-1373.553 ± 27.312	-4029.548 ± 33.465

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 99 เปอร์เซนต์

เมื่อพิจารณาระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนแล้ว พบว่า มีนัยสำคัญทางสถิติของการแสดงออกของยีนระหว่างยีนแบบผลบวกเพียงคู่ผสมเดียวคือคู่ผสมพันธุ์คัต – ม.อ. x IT82E – 16 ขณะที่การแสดงออกของยีนข่มมีความสำคัญ 2 คู่ผสม คือ คู่ผสมพันธุ์คัต – ม.อ. x IT82E – 16 และ คู่ผสมพันธุ์คัต – ม.อ. x เขาหินซ้อน พบปฏิริยาสัมพันธ์ระหว่างยีนต่างตำแหน่งมีความสำคัญระหว่างยีนแบบผลบวกกับแบบผลบวกในคู่ผสมพันธุ์คัต – ม.อ. x IT82E – 16 และ คู่ผสมพันธุ์คัต – ม.อ. x สุรนารี 1 และพบปฏิริยาสัมพันธ์แบบข่มกับแบบข่มในคู่ผสมพันธุ์คัต – ม.อ. x IT82E – 16 เท่านั้น ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติของปฏิริยาสัมพันธ์แบบข่มกับแบบข่มและปฏิสัมพันธ์แบบผลบวกกับแบบข่มทั้ง 4 คู่ผสม (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22 การแสดงออกของยีนแบบต่างๆ ที่ควบคุมระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนอ้วนที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน

Parameter	คู่ผสม			
	คัต – ม.อ. x IT82E – 16	คัต – ม.อ. x SR ₀₀ – 863	คัต – ม.อ. x เขาหินซ้อน	คัต – ม.อ. x สุรนารี 1
m	2.135 ± 1.647**	2.862 ± 0.523**	2.452 ± 0.559*	3.262 ± 0.542**
d	0.750 ± 0.119*	0.652 ± 0.130	0.616 ± 0.172	0.692 ± 0.150
h	0.734 ± 0.726**	-1.278 ± 1.159	-0.741 ± 0.573*	-2.769 ± 1.432
i	0.365 ± 0.231**	-0.114 ± 0.006	0.707 ± 0.531	-0.641 ± 0.353**
j	-1.367 ± 1.099	-0.987 ± 0.252	-1.461 ± 0.286	-2.225 ± 0.248
l	-0.040 ± 0.002**	0.5413 ± 0.490	0.7365 ± 0.078	2.090 ± 0.960

* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 95 เปอร์เซนต์

** มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 99 เปอร์เซนต์

7 อัตราพันธุกรรมของลักษณะด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว

การศึกษาอัตราพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วแบบกว้างที่อายุ 3 สัปดาห์ หลังปล่อยเพลี้ยอ่อน (ตารางที่ 23) พบว่า อัตราพันธุกรรมค่อนข้างต่ำในกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x $SR_{00} - 863$ กลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x เหาหินซ้อน และกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x สุรนารี 1 โดยกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x $SR_{00} - 863$ มีอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 28.898 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x เหาหินซ้อน มีอัตราพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วเท่ากับ 36.733 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x สุรนารี 1 มีอัตราพันธุกรรมต่ำสุดคือ 22.209 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x IT82E - 16 คือกลุ่มผสมที่มีอัตราพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วสูงที่สุด คือ 55.941 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 23 อัตราพันธุกรรมแบบกว้างของลักษณะด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว

กลุ่มผสม	อัตราพันธุกรรม (เปอร์เซ็นต์)
คัด - ม.อ. x IT82E - 16	55.941
คัด - ม.อ. x $SR_{00} - 863$	28.898
คัด - ม.อ. x เหาหินซ้อน	36.733
คัด - ม.อ. x สุรนารี 1	22.209

8. การศึกษาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความใกล้ชิดกับลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วใน คู่ผสมระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16

8.1 การคัดเลือก และทดสอบไพโรมอร์โดยเทคนิคอาร์เอพีดี

ทำการทดสอบหาไพโรมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างพันธุ์แม่ (คัด – ม.อ.) และพันธุ์ IT82E – 16 ในเบื้องต้น โดยทดสอบกับไพโรมอร์ขนาด 10 เบส จำนวน 190 ไพโรมอร์ ประกอบด้วย OPA01 – 20, OPB01 – 20, OPC01 – 20, OPD01 – 20, OPT01 – 20, OPR01 – 20, OPZ01 – 20, OPAA01 – 20, OPAB01 – 20, OPAD – 01, OPAD – 04, OPAD – 05, OPAD – 06, OPAD – 08, OPAD – 09, OPAD – 11, OPAD – 15, OPN – 12 และ OPN – 16 เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ พบว่า มีไพโรมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ (polymorphisms) จำนวน 31 ไพโรมอร์ (16.32 เปอร์เซ็นต์) ไพโรมอร์ให้แถบดีเอ็นเอเหมือนกัน (monomorphism) จำนวน 133 ไพโรมอร์ (70.00 เปอร์เซ็นต์) ไพโรมอร์ไม่ให้แถบดีเอ็นเอเลย (non – amplified) จำนวน 13 ไพโรมอร์ (6.84 เปอร์เซ็นต์) และ 13 ไพโรมอร์ (6.84 เปอร์เซ็นต์) ให้ผลไม่ชัดเจน (not clear) โดยไพโรมอร์ที่ให้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ จำนวน 31 ไพโรมอร์ ประกอบด้วยไพโรมอร์ OPA – 15, OPA – 16, OPA – 17, OPB – 04, OPB – 08, OPB – 17, OPB – 20, OPC – 01, OPC – 04, OPC – 05, OPC – 13, OPC – 14, OPC – 20, OPD – 02, OPD – 05, OPD – 13, OPD – 20, OPZ – 03, OPZ – 04, OPZ – 08, OPZ – 13, OPZ – 17, OPZ – 18, OPAD – 01, OPAD – 05, OPAD – 06, OPAD – 09, OPAD – 11, OPAD – 15, OPN – 12 และ OPN – 16 หลังจากนั้นทำการคัดเลือกอีกครั้ง สามารถเลือกไพโรมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน และชัดเจนระหว่างพันธุ์แม่ พันธุ์พ่อ และลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 8 ไพโรมอร์ ประกอบด้วยไพโรมอร์ OPB – 08, OPC – 05, OPC – 13, OPZ – 03, OPZ – 04, OPZ – 08, OPZ – 13 และ OPAD – 05 นำไพโรมอร์ ทั้ง 8 ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 จากตัวแทนกลุ่มประชากรอ่อนแอ (คะแนนการทำลายระดับ 4) และกลุ่มต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว (คะแนนการทำลายระดับ 1) ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่กลุ่มอ่อนแอ ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่กลุ่มต้านทาน ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อกลุ่มอ่อนแอ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อกลุ่มต้านทาน พบว่า ให้แถบดีเอ็นเอทั้งหมด 79 แถบ เฉลี่ย 9.88 แถบต่อไพโรมอร์ โดย 42 แถบ (53.16 เปอร์เซ็นต์) เป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน เฉลี่ย 5.25 แถบต่อไพโรมอร์ และ 37 แถบ (46.84 เปอร์เซ็นต์) เป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่มีความแตกต่างกัน

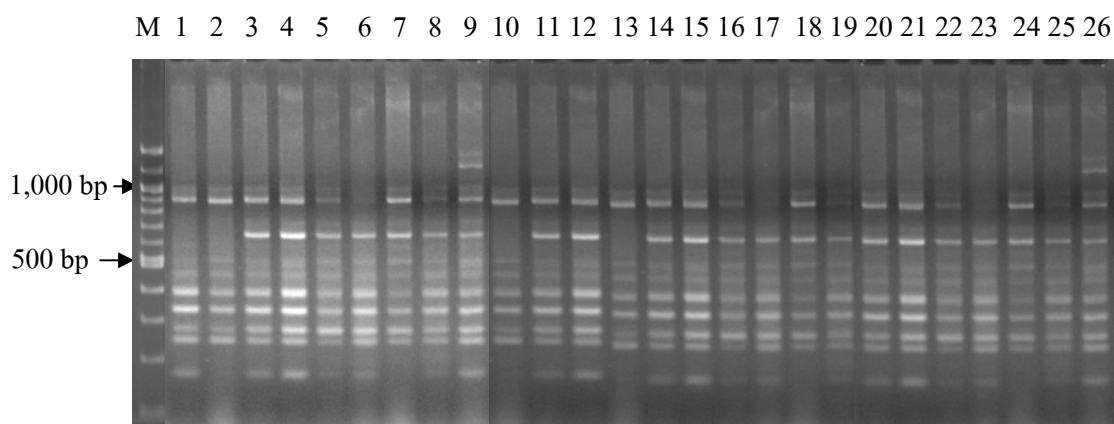
ไพรเมอร์ OPZ – 04 มีจำนวนแถบดีเอ็นเอมากที่สุด จำนวน 13 แถบ และไพรเมอร์ OPAD – 05 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอน้อยที่สุด จำนวน 7 แถบ (ตารางที่ 24)

ตารางที่ 24 จำนวนแถบดีเอ็นเอ แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน และขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16

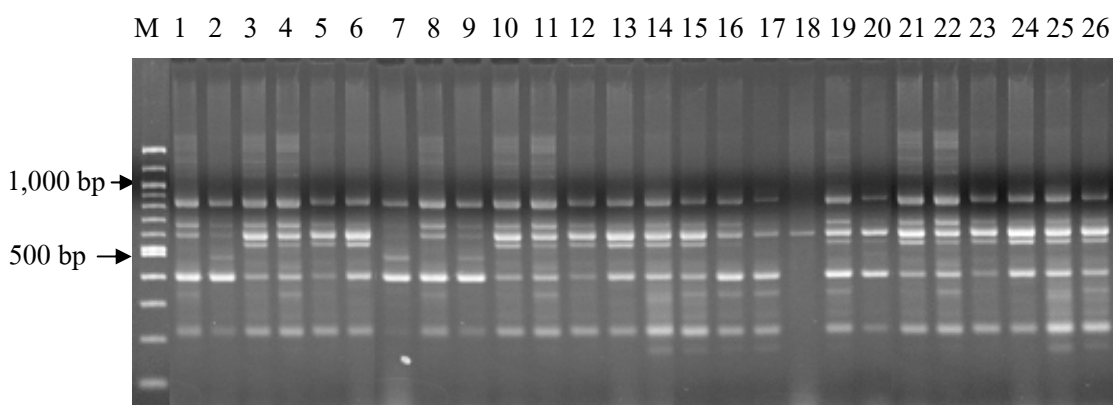
ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'→3')	จำนวนแถบดีเอ็นเอ	แถบดีเอ็นเอที่เป็นโพลิมอร์ฟิซึม	ขนาดชิ้นส่วน
OPB – 08	GTCCACACGG	9	3	175 – 900
OPC – 05	GATGACCGCC	8	6	225 – 850
OPC – 13	AAGCCTCGTC	8	6	400 – 1,100
OPZ – 03	CAGCACCGCA	11	5	275 – 1,100
OPZ – 04	AGGCTGTGCT	13	6	175 – 1,200
OPZ – 08	GGGTGGGTAA	12	6	175 – 1,200
OPZ – 13	GACTAAGCCC	11	6	200 – 1,200
OPAD – 05	TTTGCCCCGT	7	4	200 – 800
รวม	-	79	42	175 – 1,200

8.2 การวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอาร์เอพีดี – พีซีอาร์

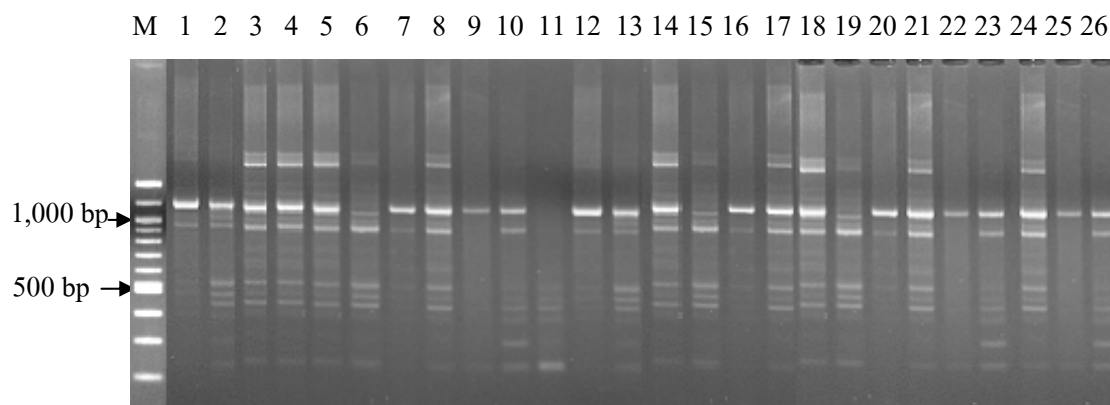
ผลการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำอาร์เอพีดี – พีซีอาร์กับไพรเมอร์จำนวน 8 ไพรเมอร์ พบว่า แถบดีเอ็นเอมีขนาดแตกต่างกัน โดยไพรเมอร์ OPB – 08 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 175 – 900 คู่เบส (รูปที่ 15) ไพรเมอร์ OPC – 05 มีขนาด 225 – 850 คู่เบส (รูปที่ 16) ไพรเมอร์ OPC – 13 มีขนาด 400 – 1,100 คู่เบส (รูปที่ 17) ไพรเมอร์ OPZ – 03 มีขนาด 275 – 1,100 คู่เบส (รูปที่ 18) ไพรเมอร์ OPZ – 04 มีขนาด 175 – 1,200 คู่เบส (รูปที่ 19) ไพรเมอร์ OPZ – 08 มีขนาด 175 – 1,200 คู่เบส (รูปที่ 20) ไพรเมอร์ OPZ – 13 มีขนาด 200 – 1,200 คู่เบส (รูปที่ 21) และไพรเมอร์ OPAD – 05 มีขนาด 200 – 800 คู่เบส (รูปที่ 22) อย่างไรก็ตาม การทดสอบความแตกต่างระหว่างประชากรถั่วกลุ่มอ่อนแอกับกลุ่มต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วทั้ง 8 ไพรเมอร์ ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะเจาะจงกับลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว



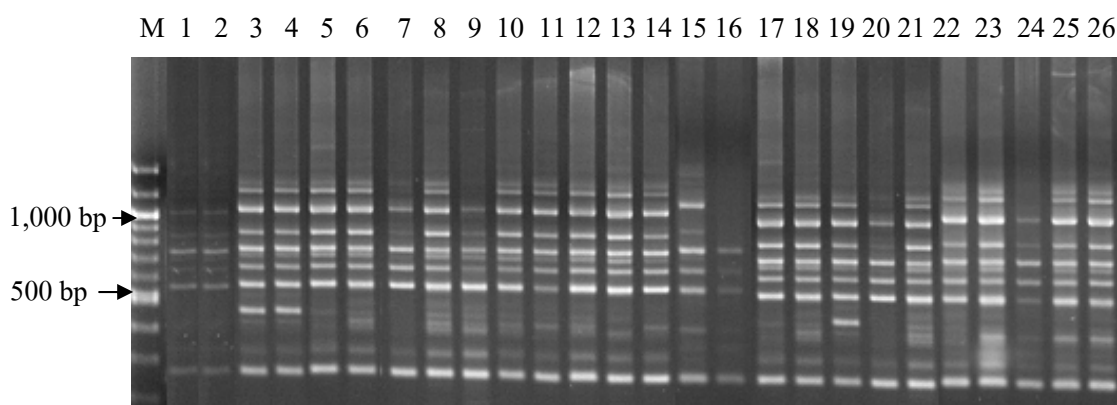
รูปที่ 15 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี จากไพรเมอร์ OPB – 08 ของกลุ่มผสมพันธุ์กัก – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (กัก – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



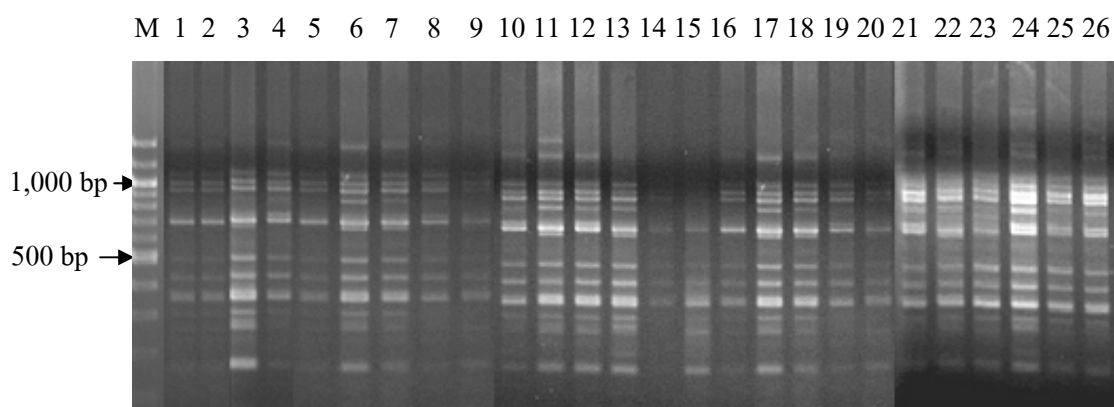
รูปที่ 16 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี จากไพรเมอร์ OPC – 05 ของกลุ่มผสมพันธุ์กัก – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (กัก – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



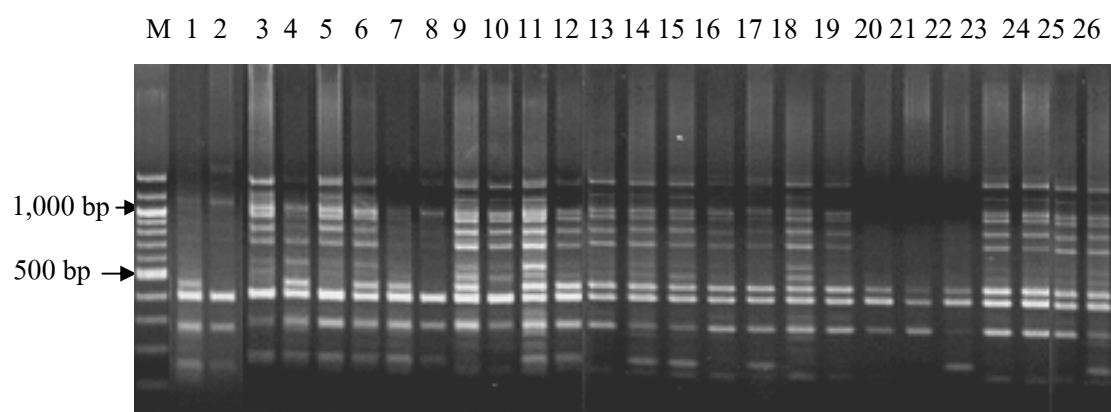
รูปที่ 17 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี จากไพรเมอร์ OPC – 13 ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (คัด – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



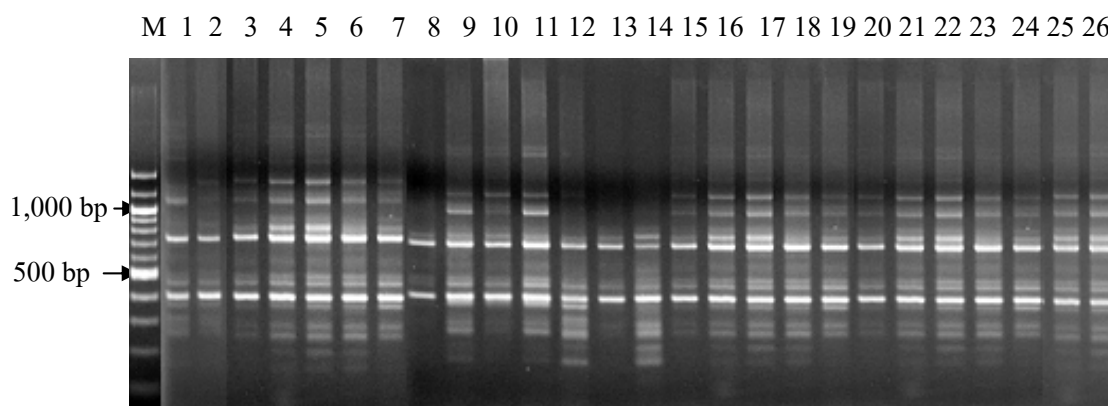
รูปที่ 18 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี จากไพรเมอร์ OPZ – 03 ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (คัด – ม.อ.) lane 1 – 2, พันธุ์พ่อ (IT82E – 16) lane 3 – 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 – 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 – 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 – 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 – 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 – 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 – 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน) lane 21 – 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



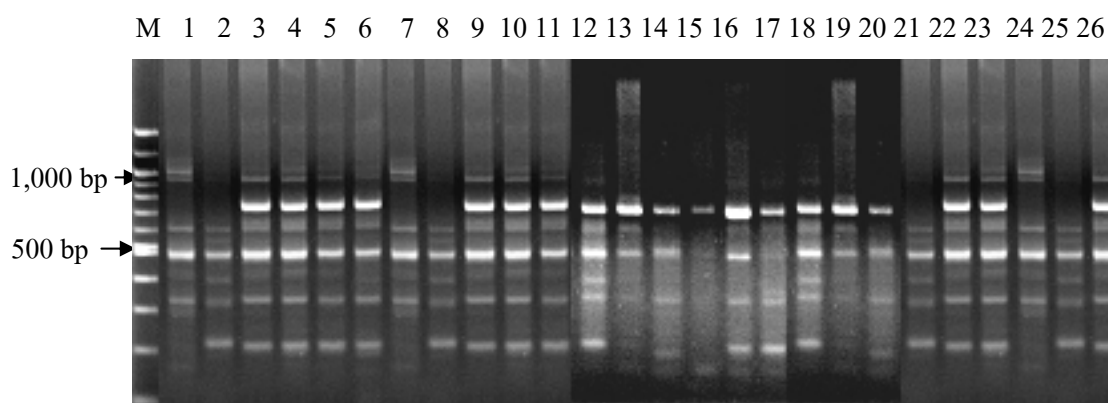
รูปที่ 19 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี จากไพรเมอร์ OPZ - 04 ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x IT82E - 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (คัด - ม.อ.) lane 1 - 2, พันธุ์พ่อ (IT82E - 16) lane 3 - 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 - 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 - 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 - 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 - 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 - 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 - 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน) lane 21 - 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 20 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี จากไพรเมอร์ OPZ - 08 ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x IT82E - 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (คัด - ม.อ.) lane 1 - 2, พันธุ์พ่อ (IT82E - 16) lane 3 - 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 - 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 - 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 - 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 - 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 - 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 - 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน) lane 21 - 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



รูปที่ 21 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี จากไพรเมอร์ OPZ - 13 ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x IT82E - 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (คัด - ม.อ.) lane 1 - 2, พันธุ์พ่อ (IT82E - 16) lane 3 - 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 - 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 - 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 - 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 - 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 - 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 - 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน) lane 21 - 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส



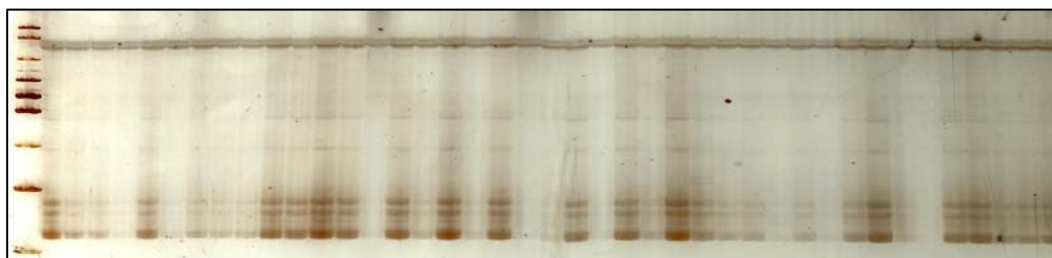
รูปที่ 22 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี จากไพรเมอร์ OPAD - 05 ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x IT82E - 16 ประกอบด้วยพันธุ์แม่ (คัด - ม.อ.) lane 1 - 2, พันธุ์พ่อ (IT82E - 16) lane 3 - 4, (ลูกผสมชั่วที่ 1) lane 5 - 6, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ) lane 7 - 8, (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน) lane 9 - 10, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ) lane 11 - 12, (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน) lane 13 - 14, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ) lane 15 - 20, (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน) lane 21 - 26, M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

8.3 การคัดเลือก และทดสอบไพรมอร์โดยเทคนิคเอสเอสอาร์

ทำการตรวจสอบไพรมอร์ 4 ไพรมอร์ ประกอบด้วย VM22, VM27, VM37 และ VM70 ซึ่งเป็นไพรมอร์จากการรายงานของ Li และคณะ (2001) และ Phansak และคณะ (2005) โดยนำมาทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของกลุ่มประชากรพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ เพื่อหาไพรมอร์ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในกลุ่มระหว่างถั่วฝักยาวพันธุ์คัด - ม.อ. และถั่วพุ่มพันธุ์ IT82E - 16 โดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์หรือไมโครแซเทลไลท์ แบบ denature จากการทดสอบพบว่า ไพรมอร์ทั้ง 4 ไพรมอร์ สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตัวอย่างโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้

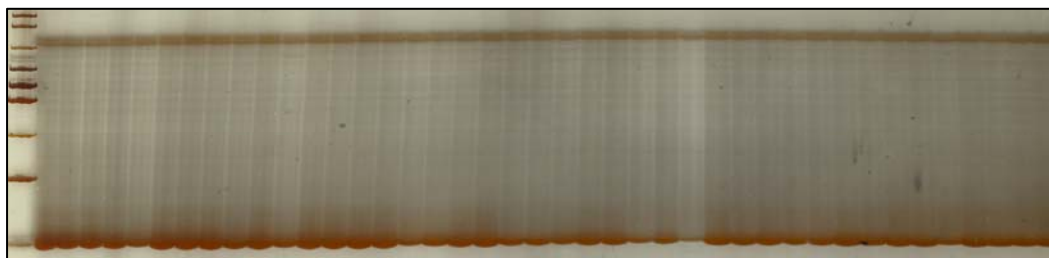
ผลการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่ได้จากการตรวจสอบด้วยเทคนิคเอสเอสอาร์จำนวน 4 ไพรมอร์ พบว่า แถบดีเอ็นเอมีขนาดแตกต่างกัน โดยไพรมอร์ VM22 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 220 – 875 คู่เบส (รูปที่ 23) ไพรมอร์ VM27 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 200 – 850 คู่เบส (รูปที่ 24) ไพรมอร์ VM37 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 280 – 1,100 คู่เบส (รูปที่ 25) และไพรมอร์ VM70 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 275 – 1,000 คู่เบส (รูปที่ 26) และเมื่อตรวจสอบความแตกต่างของประชากรกลุ่มต่างๆ พบว่า มีเพียงไพรมอร์ VM37 เท่านั้นที่สามารถแยกถั่วกลุ่มต้านทานและกลุ่มอ่อนแอออกจากกันได้ โดยพบว่า ถั่วกลุ่มต้านทานต่อเพลี้ยอ่อนจะมีแถบดีเอ็นเอขนาด 1,080 คู่เบส ซึ่งไม่พบในถั่วกลุ่มอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนในทุกกลุ่มประชากรที่ทำการศึกษา (รูปที่ 25)

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41



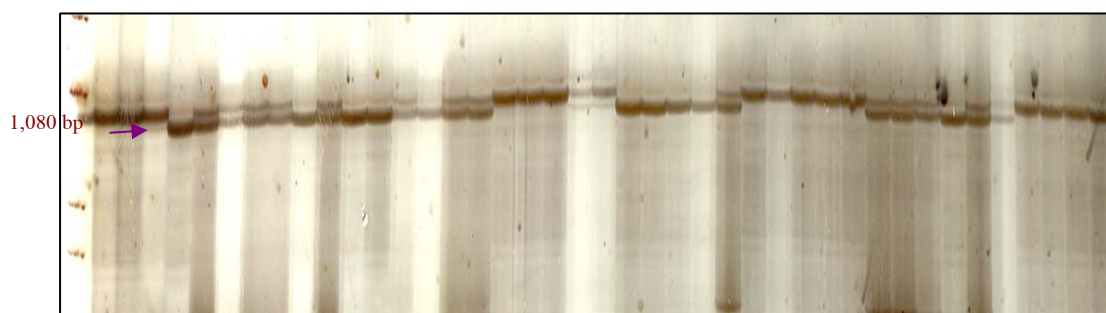
รูปที่ 23 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์จากไพรเมอร์ VM22 ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 โดย lane 1 – 3 (พันธุ์แม่), lane 4 – 6 (พันธุ์พ่อ), lane 7 – 9 (ลูกผสมชั่วที่ 1), lane 10 – 16 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน), lane 17 – 21 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ), lane 22 – 26 ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน, lane 27 – 31 (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ), lane 32 – 37 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน), lane 38 – 41 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ), M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41



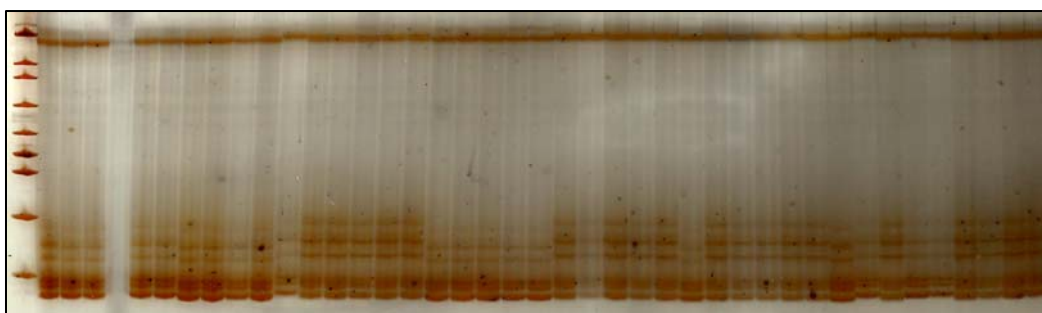
รูปที่ 24 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์จากไพรเมอร์ VM27 ของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 โดย lane 1 – 3 (พันธุ์แม่), lane 4 – 6 (พันธุ์พ่อ), lane 7 – 9 (ลูกผสมชั่วที่ 1), lane 10 – 16 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน), lane 17 – 21 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ), lane 22 – 26 ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน, lane 27 – 31 (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ), lane 32 – 37 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน), lane 38 – 41 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ), M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41



รูปที่ 25 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์จากไพรเมอร์ VM37 ของคู่ผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x IT82E - 16 โดย lane 1 - 3 (พันธุ์แม่), lane 4 - 6 (พันธุ์พ่อ), lane 7 - 9 (ลูกผสมชั่วที่ 1), lane 10 - 16 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน), lane 17 - 21 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ), lane 22 - 26 ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน, lane 27 - 31 (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ), lane 32 - 37 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน), lane 38 - 41 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ), M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41



รูปที่ 26 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่เกิดจากการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคเอสเอสอาร์จากไพรเมอร์ VM70 ของคู่ผสมพันธุ์คัด - ม.อ. x IT82E - 16 โดย lane 1 - 3 (พันธุ์แม่), lane 4 - 6 (พันธุ์พ่อ), lane 7 - 9 (ลูกผสมชั่วที่ 1), lane 10 - 16 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มต้านทาน), lane 17 - 21 (ลูกผสมกลับแม่กลุ่มอ่อนแอ), lane 22 - 26 ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มต้านทาน, lane 27 - 31 (ลูกผสมกลับพ่อกลุ่มอ่อนแอ), lane 32 - 37 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มต้านทาน), lane 38 - 41 (ลูกผสมชั่วที่ 2 กลุ่มอ่อนแอ), M คือ DNA Ladder ขนาด 100 คู่เบส

บทที่ 4

วิจารณ์

1. การประเมินลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในสายพันธุ์ถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม

การประเมินการต้านทานแมลงในพืช สามารถประเมินได้จากความเสียหายของต้นพืชที่เกิดจากการเข้าทำลาย หรือการตอบสนองของแมลงต่อต้นพืช (Smith *et al.*, 1994) สำหรับการทดลองครั้งนี้ใช้วิธีการประเมินจากความเสียหายของต้นพืชที่ถูกทำลายโดยแมลง ซึ่งทดลอง 2 วิธี คือ การประเมินในสภาพแปลงปลูกธรรมชาติ และการประเมินในสภาพโรงเรือนตาข่ายปิด โดยการศึกษาภายใต้สภาพแปลงปลูก ทำการทดลองในช่วงเวลาที่มีการระบาดของเพลี้ยอ่อนถั่วในธรรมชาติ พบว่า จาก 24 สายพันธุ์ของถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม มีเพียง 4 สายพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว คือสายพันธุ์ IT82E – 16 SR₀₀ – 863 เขาคินซ้อน และสุรนารี 1

อย่างไรก็ตามการประเมินครั้งนี้เป็นการประเมินภายใต้สภาพการระบาดจริง โดยไม่มีการปล่อยแมลงแต่ปล่อยให้เพลี้ยอ่อนถั่วเข้าทำลายตามความชอบซึ่งอาจมีข้อจำกัด เนื่องจากการประเมินจะมีประสิทธิภาพสูงก็ต่อเมื่อมีการระบาดของแมลงจริง และมีความสม่ำเสมอทั้งแปลง (Davis, 1984) วิธีการหนึ่งที่สามารถทำให้เกิดความสม่ำเสมอของการระบาดของแมลงได้คือการปลูกพืชสายพันธุ์ที่ทราบแน่ชัดว่ามีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของแมลงเป็น border row ในแปลงปลูก นอกจากนี้การทดสอบการต้านทานแมลงบางชนิดต้องทำในสภาวะแวดล้อมที่มีความจำเพาะ หรือแม้แต่ระยะการเจริญเติบโตของต้นพืชเองก็มีผลต่อการคัดเลือก (Farrell, 1977; Mariam and Suwanketnikom, 2004) เช่น การปลูกถั่วพุ่มเพื่อคัดเลือกให้ต้านทานเพลี้ยไฟต้องปลูกหรือทดสอบในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง แต่ความชื้นต่ำ ไม่เช่นนั้นอาจได้พันธุ์ถั่วพุ่มที่ไม่มีความต้านทานแท้จริง (Salifu *et al.*, 1988a) หรือการตรวจสอบข้าวเพื่อคัดเลือกให้ต้านทานต่อ *Nephotettix virescens* ต้องใช้ต้นกล้าข้าวอายุ 20 วันเท่านั้น (Cheng and Pathak, 1972) ส่วนการวัดการต้านทานโรคราสนิมในแปลงถั่วลิสง พบว่า ถั่วลิสงต้องมีอายุ 70 – 80 วันหลังปลูก (วิสิทธิ์, 2539) อย่างไรก็ตาม การประเมินการต้านทานโรค และแมลง นอกจากสภาพแวดล้อม และฤดูปลูกแล้วยังขึ้นอยู่กับมาตรฐาน และความชำนาญของผู้ประเมินอีกด้วย (Srikanth and Lakkundi, 1988; วิทยา, 2527; สุนทรีย์ และคณะ, 2547) ดังนั้นเพื่อให้เกิดความมั่นใจในผลการทดลองจึงจำเป็นต้องยืนยันผลอีกครั้ง โดยนำเมล็ดถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มทั้ง 24 สายพันธุ์ปลูกทดสอบในโรงเรือนตาข่าย

ปิด และทำการปล่อยเพลี้ยอ่อนตัวบนต้นพืชแต่ละต้นในจำนวนเท่ากัน ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการปลูกในสภาพธรรมชาติ คือถั่ว 4 สายพันธุ์ที่กล่าวมาแล้วข้างต้นมีคะแนนการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวต่ำที่สุด สอดคล้องกับงานทดลองของ กนกอร และคณะ (2550) ที่นำถั่วพุ่มและถั่วฝักยาวทั้ง 4 สายพันธุ์รวมทั้งถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – ม.อ. ไปศึกษา และพบว่าเพลี้ยอ่อนถั่วใช้เวลาในการดูดกินน้ำเลี้ยงจากพันธุ์คัด – ม.อ. ยาวนานที่สุดคือ 61.29 นาที ในขณะที่ใช้เวลาเพียง 32.95 และ 28.12 นาที ในการดูดกินน้ำเลี้ยงจากพันธุ์สุรนารี 1 และพันธุ์ IT82E – 16 ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงความชอบและไม่ชอบของแมลงต่อพันธุ์พืช ซึ่งเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีผลทำให้พืชต้านทานแมลง

อย่างไรก็ตาม Bata และคณะ (1987) รายงานว่าถั่วพุ่มสายพันธุ์ IT82E – 16 เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว ซึ่งผลที่ได้ตรงข้ามกับรายงานครั้งนี้ เช่นเดียวกับการรายงานของ Jayappa และ Lingappa (1988b) ที่รายงานถั่วพุ่มพันธุ์ P – 1473 มีลักษณะค่อนข้างต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว ในขณะที่ Dhanorkar และ Daware (1980) ทำการศึกษาอีกริธี และรายงานถั่วพุ่มพันธุ์ P – 1473 อยู่ในกลุ่มต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว หรือถั่วพุ่มสายพันธุ์ TVU – 3232 มีรายงานว่าต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว แต่ Jayappa และ Lingappa (1988b) พบถั่วพุ่มพันธุ์ดังกล่าวมีลักษณะอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว ผลการทดลองที่แตกต่างเหล่านี้ อาจเกิดจากช่วงเวลาในการปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว วิธีการประเมิน หรือสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน รวมไปถึงไบโอไทป์ที่ต่างกันของเพลี้ยอ่อนถั่ว จากการศึกษาในประเทศแถบแอฟริกาตะวันออก พบว่า *A. craccivora* มี 3 ไบโอไทป์ คือไบโอไทป์ A B และ K โดยพบไบโอไทป์ A และ B ในประเทศไนจีเรีย และ ไบโอไทป์ K พบบริเวณตอนเหนือของเมืองวอลตา ประเทศกานา (Ombakho *et al.*, 1987) เช่นเดียวกับการศึกษาเพลี้ยอ่อนข้าวสาลี (*Diuraphis noxia* M.) สามารถแยกได้เป็น 5 ไบโอไทป์ คือ RWA1, RWA2, RWA3, RWA4 และ RWA5 (Gary *et al.*, 2007) ในขณะที่ greenbug มีถึง 8 ไบโอไทป์ คือ A, B, C, D, E, F, G และ H (Ogecha *et al.*, 1992) เป็นต้น

จากการทดลองครั้งนี้เมื่อประเมินการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 24 สายพันธุ์ภายใต้สภาพโรงเรือนตาข่ายปิด คะแนนการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วสูงกว่าการประเมินในแปลงปลูกมาก โดยพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทาน 4 สายพันธุ์ คือพันธุ์ SR₀₀ – 863 IT82E – 16 สุรนารี 1 และเขาคินซ็อน เมื่อประเมินในแปลงปลูกมีคะแนนการเข้าทำลายเท่ากับ 0.33 0.40 0.54 และ 0.61 คะแนน ตามลำดับ แต่คะแนนการเข้าทำลายภายใต้สภาพโรงเรือนตาข่ายมีค่าเท่ากับ 3.00 2.00 2.00 และ 3.00 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการตอบสนองของพืชต่อการเข้าทำลายของแมลง ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยดังกล่าวมาแล้วข้างต้น ส่วนปัจจัยสภาพแวดล้อมบางอย่างก็มีความสำคัญเช่นกัน เช่น Karner และ Manglitz (1985) รายงานว่าถั่วอัลฟาฟาต้านทานเพลี้ยอ่อนน้อยลง เมื่อปลูกในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 – 15 องศาฟาเรนไฮต์ หรือในมะเขือเทศการเพิ่ม

ปริมาณแสงจะช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านทานต่อหนอนมะเขือเทศ (*tobacco hornworm*) ได้ (Kennedy *et al.*, 1981) เป็นต้น

2. การประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์คัด – ม.อ. IT82E – 16 SR₀₀ – 863 เขาคินซ้อน และสุรนารี 1

สำหรับการสร้างลูกผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่างถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – ม.อ. กับพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว 4 สายพันธุ์ประกอบด้วยพันธุ์ IT82E – 16 SR₀₀ – 863 เขาคินซ้อน และสุรนารี 1 พบว่า ความสำเร็จของการผสมติดอยู่ในช่วง 18.25 – 26.43 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้อาจเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงในช่วงผสมเกสรทำให้กระบวนการถ่ายละอองเกสรเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ (แอนนา และพีระศักดิ์, 2529; นิตยศรี, 2541) ส่วนสภาวะฝนตกหนักในช่วงก่อน หรือหลังตอนเกสรทำให้ดอกได้รับการกระทบกระเทือน ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การผสมติดเช่นกัน (กฤษณา, 2519; ไพศาล, 2527)

เมื่อนำลูกผสมกลุ่มต่างๆ ไปปลูกเปรียบเทียบการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วพบว่า มีค่าแตกต่างกัน สอดคล้องกับ Atiri และ Thottappilly (1985) และ Alabi (2003) เปรียบเทียบการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วพุ่มระหว่างพันธุ์อ่อนแอ (aphid – susceptible) และพันธุ์ต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว (aphid – resistant) พบว่า ถั่วพุ่มพันธุ์อ่อนแอมีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วต่อต้นสูงกว่าพันธุ์ต้านทานอย่างชัดเจน ส่วนความรุนแรงของการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว ให้ผลในลักษณะเดียวกัน คือพันธุ์อ่อนแอมีระดับความรุนแรงสูงกว่าพันธุ์ต้านทาน (Jayappa and Lingappa, 1988a)

จากผลการประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในลูกผสมชั่วที่ 1 เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ โดยประเมินจาก 2 ลักษณะ คือ จำนวนเพลี้ยอ่อน และความเสียหายจากการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วต่อต้น พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 มีแนวโน้มต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว โดยมีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว และคะแนนการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วใกล้เคียงกับพันธุ์พ่อซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทาน แสดงว่าลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วน่าจะเป็นลักษณะเด่น อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วนับได้ว่ามีผลต่อความเสียหายที่เกิดขึ้นด้วย ในการประเมินครั้งนี้ทำการปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วที่ต้นพืชอายุ 5 สัปดาห์หลังปลูก พบว่า แม้จะมีการเข้าทำลายให้พืชเสียหาย แต่ต้นพืชส่วนใหญ่ยังสามารถให้ผลผลิตได้ แม้ผลผลิตอาจต่ำก็ตาม Benchasri และ Nualsri (2008) ทดสอบเปรียบเทียบความเสียหายของต้นถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มเมื่อมีการปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วในช่วง 3 และ 5 สัปดาห์หลังปลูก พบว่า การปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วที่ระยะ 3 สัปดาห์หลังปลูก ต้นถั่วจะถูกเพลี้ยอ่อนถั่วเข้าทำลายอย่างรวดเร็ว และไม่สามารถให้ผลผลิตได้ ส่วนการปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่วที่ 5

สัปดาห์หลังปลูก มีการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วน้อยกว่า และต้นยังสามารถให้ผลผลิตได้แม้จะน้อยก็ตาม สอดคล้องกับ Ofuya (1989) ที่รายงานว่าหากมีการปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว (*A. craccivora*) ในระยะกล้าจะทำให้ต้นกล้าแคระแกร็น และมักจะตายในที่สุด แต่หากแมลงเข้าทำลายในระยะหลัง ออกดอกจะมีผลทำให้ผลผลิตฝักสด และเมล็ดลดลง การเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วจึงมีผลโดยตรงต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของถั่วพุ่ม และถั่วฝักยาว ทำให้การเจริญเติบโต และผลผลิตลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากมีการเข้าทำลายในระยะเวลาที่นานกว่า 10 วัน จะทำให้การเจริญเติบโตและกระบวนการหายใจของพืชลดลง (Hawkin *et al.*, 1986) นอกจากนี้โอกาสที่จะชักนำโรคที่เกิดจากไวรัสที่มีเพลี้ยอ่อนถั่วเป็นพาหะยิ่งมากขึ้น

3. การศึกษาพันธุกรรมของลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว

จากการศึกษาจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว และระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วในประชากรกลุ่มต่างๆ จากถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม 4 คู่ผสม พบว่า แต่ละคู่ผสมมีการเพิ่มขึ้นของเพลี้ยอ่อนถั่ว และระดับความรุนแรงการทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว ตั้งแต่ 1 ถึง 4 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนในทิศทางเดียวกัน คือ พันธุ์คัด - ม.อ. ซึ่งอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว มีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว และความเสียหายสูงกว่าพันธุ์พ่อ ส่วนลูกผสมทุกกลุ่มประชากรมีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่ว และความเสียหายจากการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วใกล้เคียงกับพันธุ์พ่อ ดังนั้นยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนน่าจะเป็นยีนเด่น

สำหรับการศึกษายีนควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วพุ่ม Bata และคณะ (1987) พบว่า เป็นยีนคู่เดียว และให้สัญลักษณ์ของยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วคือ *Rac* ในขณะที่ Pathak (1988) ศึกษาถั่วพุ่มพันธุ์ Tvu310, IVC10, IVC11 และ IVC12 พบว่า ยีนต้านทานในพันธุ์ Tvu310 และ IVC10 เป็นยีนเดียวกันคือ *Rac 1* และมีความแตกต่างจากพันธุ์ IVC11 และ IVC12 (ยีน *Rac 2*) โดยยีนทั้งสองเป็นอิสระต่อกัน แต่ Ombakho และคณะ (1987) ให้สัญลักษณ์ยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วพุ่มพันธุ์ IVC11 และ Tvu310 เป็นยีน *Ac1* และยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วพันธุ์ IVC11 เป็นยีน *Ac2* Githiri และคณะ (1996) ศึกษาการถ่ายทอดพันธุกรรมของการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ โดยผสมข้ามระหว่างถั่วพุ่มพันธุ์ TVU946 ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว กับพันธุ์ต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว 8 สายพันธุ์ และพบอัตราส่วนระหว่างยีนต้านทานต่อยีนอ่อนแอในลูกผสมชั่วที่ 2 และ ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ (อ่อนแอ) มีค่าเท่ากับ 3 : 1 และ 1 : 1 ตามลำดับ จึงสรุปว่ายีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วมีเพียงคู่เดียวและเป็นยีนเด่น นอกจากนี้แล้วยังมีผู้ศึกษาลักษณะการต้านทาน

เพลี้ยอ่อนตัวในถั่วพุ่ม และรายงานว่าเป็นทั้งแบบ antixenosis และ antibiosis (Ofuya, 1988) กนกอร (2551) ศึกษากลไกการต้านทานเพลี้ยอ่อนตัวในถั่ว 4 สายพันธุ์เดียวกัน และรายงานการต้านทานเป็นแบบ antixenosis เช่น ลักษณะการมีขนในพันธุ์ IT82E – 16 และสุรนารี 1 ที่อาจเป็นอุปสรรคในการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัว หรือไบสียิวเข้มในพันธุ์ IT82E – 16 ที่ไม่ดึงดูดเพลี้ยอ่อนตัวเท่ากับไบสียิวอ่อนของพันธุ์พืชที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลาย (คัด – ม.อ.) เป็นต้น

4. การแสดงออกของยีน และอัตราพันธุกรรมการต้านทานเพลี้ยอ่อนตัว

จากการทดสอบไคสแควร์ และจำนวนคู่ของยีนในลูกชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่จากถั่ว 4 คู่ผสม พบว่า มีเพียงคู่ผสมเดียว คือคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 เท่านั้นที่ให้อัตราส่วนระหว่างต้นต้านทาน : ต้นอ่อนแอ เท่ากับ 3 : 1 และ 1 : 1 ตามลำดับ ในขณะที่คู่ผสมอื่นๆ ไม่เป็นไปตามอัตราส่วนนี้ แสดงว่ายีนต้านทานในพันธุ์ IT82E – 16 เป็นยีนคู่เดียว และเป็นยีนเด่น สอดคล้องกับที่มีผู้รายงานมาก่อนหน้านี้ แต่ไม่ทราบแน่ชัดว่าจะเป็นยีนตัวเดียวกับยีนต้านทานในถั่วพุ่มพันธุ์อื่นๆ หรือไม่ ส่วนคู่ผสมอื่นๆ พันธุกรรมของยีนอาจมีความซับซ้อนมากกว่า หรืออาจเป็นไปได้ว่าพันธุ์ที่เหลืออีก 3 สายพันธุ์ คือพันธุ์SR₀₀ – 863 เขาหินซ้อน และสุรนารี 1 อาจเป็นเพียงพันธุ์ที่อยู่ในระดับทนทานไม่ได้มีความต้านทานแท้จริง

สำหรับการศึกษาการแสดงออกของยีนที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนตัว พบว่า มีถั่วเพียงคู่ผสมเดียวที่แสดงลักษณะของยีนแบบบวก และปฏิกิริยาสัมพันธระหว่างยีนต่างตำแหน่งแบบผลบวกกับแบบผลบวกของลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนตัว คือ คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 ซึ่งผลการศึกษานี้ให้ผลการทดลองในลักษณะคล้ายคลึงกับการศึกษาในแมลงชนิดอื่นๆ เช่น โกสลด และพีระศักดิ์ (2530) ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมการต้านทานต่อหนอนเจาะฝักในถั่วเหลือง 11 คู่ผสม พบว่า มีเพียง 3 คู่ผสมเท่านั้นที่แสดงลักษณะของยีนแบบบวก และปฏิกิริยาสัมพันธระหว่างยีนต่างตำแหน่งแบบผลบวกกับแบบผลบวก จึงแนะนำผลจากการแสดงออกของยีนในลักษณะนี้ ให้มีการปรับปรุงพันธุ์โดยการคัดเลือกแบบหมู่ (mass selection) แบบบันทึกประวัติ (pedigree method of selection) หรือแบบหนึ่งเมล็ดต่อต้น (single seed descent) (พีระศักดิ์, 2526) ส่วนคู่ผสมที่ไม่แสดงลักษณะของยีนแบบบวก หรือไม่มีปฏิกิริยาสัมพันธระหว่างยีนต่างตำแหน่งแบบผลบวกกับแบบผลบวก ไม่สามารถนำมาคัดเลือกเพื่อเพิ่มความต้านทานแมลงได้ เพราะไม่พบความแปรปรวนทางพันธุกรรมระหว่างชั่วต่างๆ หรือความแปรปรวนเกิดจากยีนแบบไม่เป็นผลบวก (Distabanjong and Srinives, 1985) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษารายทอดทางพันธุกรรมแบบกว้าง เพราะหากมีความแปรปรวนอันเนื่องมาจากสิ่งแวดล้อมสูง ส่งผลต่อการ

ถ่ายทอดทางพันธุกรรมที่ค่อนข้างต่ำ เมื่อพิจารณาอัตราพันธุกรรมพบว่า คู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 มีอัตราพันธุกรรมสูงที่สุด คือ 55.94 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่พันธุ์อื่นๆ มีอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 22.21 – 36.73 เปอร์เซ็นต์ แต่การทดสอบครั้งนี้กระทำภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน ความแปรปรวนเนื่องมาจากสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลต่อการแสดงออกในแต่ละลักษณะจึงเท่ากัน ดังนั้นค่าการถ่ายทอดทางพันธุกรรมที่วัดได้ ในคู่ผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 มีค่าสูงกว่าคู่ผสมอื่นๆ แสดงว่ามีความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมดีกว่า (ปราโมทย์ และคณะ, 2547)

5. การศึกษายีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

เครื่องหมายโมเลกุลนับว่าเป็นเครื่องหมายที่มีประสิทธิภาพสูงในการศึกษาการแสดงออกของยีนหรือพันธุกรรมพืช เนื่องจากไม่มีอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อมเข้าเกี่ยวข้อง สามารถตรวจสอบกับพืชทุกชนิด ตรวจสอบได้ทุกส่วนของพืช และเป็นการวิเคราะห์จากจีโนมโดยตรง ปัจจุบันเครื่องหมายโมเลกุลมีหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมีวิธีการ และวัตถุประสงค์แตกต่างกัน (กุลยา, 2550) สำหรับการหาตำแหน่งของยีน (gene tagging) หรือใช้เป็นเครื่องหมายในการคัดเลือกลักษณะสำคัญต่างๆ เทคนิคอาร์เอพีดี เป็นเทคนิคหนึ่งที่ได้รับคามนิยม และมีตัวอย่างความสำเร็จในการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีศึกษายีนต้านทานแมลง เช่น การคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้ไพรเมอร์ 140 ไพรเมอร์ พบว่า ไพรเมอร์ OPD – 07 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างลักษณะต้านทาน และลักษณะอ่อนแอได้ (Jeon *et al.*, 1999) สุนทรีย์ และคณะ (2547) พบว่า ไพรเมอร์ OPO – 11 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างถั่วลิสงพันธุ์ต้านทาน (Nc Ac 17090) และพันธุ์อ่อนแอต่อโรคราสนิม (มข.1 และไทนาน 9) ได้ ส่วน Fritz และคณะ (1999) ใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบอาร์เอพีดี จำนวน 500 ไพรเมอร์ เพื่อศึกษายีนต้านทานเพลี้ยอ่อนในข้าวสาลี (russian wheat aphid) พบว่า ไพรเมอร์ OPM – 09 ขนาด 220 คู่เบส มีความใกล้ชิดกับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อน จึงใช้แถบดีเอ็นเอดังกล่าวนี้แยกต้นต้านทาน และต้นอ่อนแอออกจากกันได้

สำหรับการศึกษานี้ผลจากการใช้เทคนิคอาร์เอพีดีด้วยไพรเมอร์จำนวน 190 ไพรเมอร์ เพื่อศึกษาและหาแถบดีเอ็นเอที่มีความใกล้ชิดกับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วพุ่มพันธุ์ IT82E – 16 ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะเจาะจงกับลักษณะดังกล่าว ทั้งนี้อาจเนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดสอบมีจำนวนน้อยเกินไปจึงอาจต้องเพิ่มจำนวนไพรเมอร์ให้มากขึ้น นอกจากเทคนิคอาร์เอพีดีแล้ว ยังได้ทำการศึกษาโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลอีกชนิดหนึ่งคือเทคนิคเอสเอสอาร์ด้วย สำหรับไพรเมอร์ที่เลือกใช้มีเพียง 4 ไพรเมอร์ ซึ่งไพรเมอร์ดังกล่าวได้มาจากงานทดลองของ Li และคณะ (2001) และ Phansak และคณะ (2005) ที่ออกแบบไพรเมอร์สำหรับเทคนิค

เอสเอสอาร์ เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วพุ่ม เมื่อนำมาทดสอบกับกลุ่มประชากรของกลุ่มผสมพันธุ์คัด – ม.อ. x IT82E – 16 จาก 4 ไพรเมอร์ ที่ทดสอบ มีเพียง 1 ไพรเมอร์ที่น่าสนใจคือ ไพรเมอร์ VM37 ที่พบแถบดีเอ็นเอขนาด 1,080 คู่เบส ซึ่งจะพบเฉพาะในประชากร IT82E – 16 ลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้งหมด ลูกผสมชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่เฉพาะต้นที่ด้านทานเท่านั้น จึงเป็นไปได้ว่าแถบดีเอ็นเอดังกล่าวอาจมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับยีนด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว อย่างไรก็ตาม เนื่องจากจำนวนประชากรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนไม่มากนัก อาจไม่เพียงพอที่จะยืนยันได้แน่ชัด จะต้องมีการนำไพรเมอร์ดังกล่าวนี้มาทดสอบกับประชากรในปริมาณที่มากขึ้น ซึ่งต้องทำการศึกษาเพื่อยืนยันอีกครั้ง รวมทั้งต้องศึกษาไพรเมอร์อื่นๆ เพิ่มเติมด้วย เพื่อความสมบูรณ์ของงานวิจัยก่อนที่จะนำเครื่องหมายดีเอ็นเอดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกลักษณะด้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วต่อไป

บทที่ 5

สรุป

1. การประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว

การประเมินการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาว และถั่วพุ่มจำนวน 24 พันธุ์ ภายใต้สภาพแปลงปลูกธรรมชาติ และโรงเรือนตาข่ายปิด พบว่า สายพันธุ์ต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว ประกอบด้วยพันธุ์ IT82E – 16 SR₀₀ – 863 เขาคินซ้อน และสุรนารี 1

2. การศึกษาพันธุกรรมของลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว

ทำการผสมข้ามระหว่างพันธุ์คัด – มอ. ซึ่งอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่ว และพันธุ์ต้านทาน 4 สายพันธุ์ เพื่อสร้างประชากรลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ และพันธุ์พ่อ และทดสอบการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วภายใต้สภาพโรงเรือนตาข่ายปิด พบว่า ช่วงเวลา 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนถั่ว เป็นช่วงที่มีการเพิ่มจำนวนของเพลี้ยอ่อนถั่ว และระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วอย่างรวดเร็วในทุกกลุ่มผสม โดยพันธุ์คัด – มอ. ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยอ่อนถั่วมีจำนวนเพลี้ยอ่อนถั่วต่อต้นสูงกว่าพันธุ์พ่อ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่ และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์พ่อทุกกลุ่มผสม

จากการตรวจสอบไค – สแควร์ เพื่อศึกษาจำนวนยีนที่ควบคุมการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในประชากรทั้ง 4 กลุ่มผสม พบว่า มีเพียงกลุ่มผสมพันธุ์คัด – มอ. x IT82E – 16 เท่านั้น ที่มีจำนวนต้นต้านทาน และต้นอ่อนแอในลูกผสมชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับไปยังพันธุ์แม่มีอัตราส่วน 3 : 1 และ 1 : 1 ตามลำดับ แสดงว่ายีนควบคุมการต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในพันธุ์ IT82E – 16 เป็นยีนคู่เดียว และเป็นยีนเด่น

3. การศึกษาการแสดงผลของยีน และอัตราพันธุกรรม

การศึกษาการทำงานและการแสดงผลของยีน โดยการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยชั่วรุ่นพบว่า อิทธิพลของยีนแบบบวกมีบทบาทสำคัญในการควบคุมความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะจำนวนเพลี้ยอ่อนตัว และระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัวที่อายุ 3 สัปดาห์ หลังจากปล่อยเพลี้ยอ่อน เฉพาะในกลุ่มผสมพันธุ์คัด – มอ. x IT82E – 16

สำหรับการศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบกว้างของการต้านทานเพลี้ยอ่อนตัว พบว่า มีค่าระหว่าง 22.21 – 55.94 เปอร์เซ็นต์ โดยกลุ่มผสมพันธุ์คัด – มอ. x IT82E – 16 มีอัตราพันธุกรรมสูงสุด (55.94 เปอร์เซ็นต์)

4. การศึกษาเบื้องต้นในการหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนตัว

จากการใช้เครื่องหมายโมเลกุล 2 ชนิด คือเครื่องหมายอาร์เอพีดี และเอสเอสอาร์ เพื่อวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่มีความใกล้ชิดกับยีนต้านทานเพลี้ยอ่อนในกลุ่มผสมระหว่างพันธุ์คัด – มอ. x IT82E – 16 พบว่า การใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีโดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 190 ไพรเมอร์ ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะกับลักษณะต้านทานหรืออ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนตัว ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะจำนวนไพรเมอร์ที่ใช้น้อยเกินไป ส่วนการตรวจสอบโดยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ พบว่า แถบดีเอ็นเอขนาด 1,080 คู่เบส จากไพรเมอร์ VM 37 อาจมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดการต้านทานเพลี้ยอ่อนตัว เนื่องจากจะปรากฏเฉพาะในพันธุ์ต้านทานเท่านั้น ดังนั้นควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อความชัดเจนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กนกอร วุฒิวงศ์. 2551. Antixenosis กับ การต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora* Kock) ใน ถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม (*Vigna unguiculata*). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- กนกอร วุฒิวงศ์ สุรไกร เพิ่มคำ อธิญ งามพ่องใส และจรัสศรี นวลศรี. 2550. ความสามารถในการ เพิ่มปริมาณและพฤติกรรมของเพลี้ยอ่อนถั่วบนถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มบางสายพันธุ์. การ ประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8 วันที่ 20 – 22 พฤศจิกายน 2550 ณ โรงแรม อมรินทร์ลาگون อ. เมือง จ. พิษณุโลก. หน้า 32 – 46.
- กรกช นาคคนอง. 2550. การวิเคราะห์พันธุกรรมของยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) พันธุ์ ดั้งเดิมและพันธุ์แนะนำ โดยใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีและไมโครแซทเทลไลท์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2550. เอกสารรายงานสถิติการผลิตการเกษตรตามชนิดพืชเลือกตามกลุ่ม พืชผักปีเพาะปลูก 2548/2549 ทั้งประเทศ. กรุงเทพมหานคร : กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- กรุง สีตะธนี. 2520. การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กฤษฎา จาตุรัส และปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์. 2549. แสตนขจีถั่วฝักยาวประเภทเนื้อที่ทนทานต่อโรค ราสนิมสายพันธุ์ใหม่. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 37 : 263 – 266.
- กฤษฎา สัมพันธรักษ์. 2519. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กฤษฎา สัมพันธรักษ์. 2528. ปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิชจำกัด.

กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2544. ปรับปรุงพันธุ์พืช : ความหลากหลายของความคิด. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กองบรรณาธิการฐานเกษตรกรรม. 2541. รวมเรื่องผัก. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม.

กอบเกียรติ บันสิทธิ์ และวีรวิทย์ วิฑารักษ์. 2531. การศึกษาความสูญเสียของถั่วฝักยาวโดยการตัดดอก. การประชุมสัมมนาทางวิชาการกลุ่มพืชผักและเห็ด วันที่ 11 – 16 มีนาคม 2531 ณ โรงแรมอมรินทร์ลาгуน กรุงเทพมหานคร.

กาญจนา สาส์ดีด. 2541. พฤกษศาสตร์ทั่วไป. กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์.

กฤษยา สุวรรณรัตน์. 2550. ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสะตอ (*Parkia speciosa* Hassk.) และความสัมพันธ์ของพืชสกุล *Pakia* โดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เกรียงไกร จำเริญมา. 2544. บริโภคพืชผักและผลไม้อย่างไรให้ปลอดภัยจากสารเคมี. วารสารกสิกรรมและสัตววิทยา 23 : 182 – 184.

เกรียงไกร จำเริญมา. 2545. มาตรฐานการทดสอบสารฆ่าแมลง. วารสารกสิกรรมและสัตววิทยา 24 : 48 – 54.

โกศล ชัยมณี และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2530. การถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อหนอนเจาะฝัก (*Heliothis armigera*) ในถั่วเหลือง. วารสารวิชาการเกษตร 5 : 32 – 37.

ขวัญจิตร สันติประชา และวัลลภ สันติประชา. 2537. การทดสอบพันธุ์ถั่วฝักยาวในฤดูแล้งและฤดูฝนแรกในจังหวัดสงขลา. วารสารสงขลานครินทร์ 16 : 17 – 23.

จรัสศรี นวลศรี. 2548. เอกสารคำสอนการปรับปรุงพันธุ์พืชสวน. สงขลา : ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

จารุวรรณ ศุภเสถียร. 2529. อิทธิพลของขนาดเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora*) ที่มีผลต่อขนาดระยะเวลาการพัฒนาอัตราส่วนทางเพศของตัวเบียนและจำนวนตัวเบียน (*Aphidius colemani*) ที่เกิดจากเพลี้ยอ่อน. วารสารวิชาการเกษตร 4 : 138 – 142.

ชาญณรงค์ ดวงสอด. 2549. การจัดการแมลงศัตรูพืช. เชียงใหม่ : ห้างหุ้นส่วนจำกัดดิพรินทร์.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ และวัชรินทร์ ชื่นสุวรรณ. 2543. เอกสารคำสอนหลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. สงขลา : ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นพพร สายัมพล. 2543. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิศย์ศรี แสงเดือน. 2541. พันธุศาสตร์พืช. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญหงษ์ จงคิด. 2548. หลักและเทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

ปราโมทย์ พรสุริยา. 2537. การเปรียบเทียบและถ่ายทอดลักษณะคุณภาพฝักในการผสมระหว่างถั่วฝักยาวกับถั่วพุ่ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์ อัญมณี อาวุชานนท์ กฤษณา จาตุรัส และทศพล เปรมแดง. 2547. อัตราพันธุกรรมและการกระจายตัวของลักษณะผลผลิตและคุณภาพผลผลิตที่สำคัญในถั่วฝักยาวชั่วที่ 2. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 35 : 255 – 258.

ปริญญา ชีโนรส. 2530. พืชต้านทานแมลง. วารสาร گیฏและสัตววิทยา 9 : 51 – 57.

ปวทร เดชาธีระวงศ์. 2546. พฤติกรรมการบริโภคผักของผู้บริโภคในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา. ภาควิชาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

- พนิดา ไชยยันต์บุรณ์ ชีรพล อุ๋นจิตต์วรรณะ และจินตนา ภู่มงกฤษชัย. 2545. การหาชนิดและปริมาณสารพิษตกค้างในพืชผักชนิดต่างๆ. รายงานการประชุมวิชาการ กองวัดภูมิพิษการเกษตร ครั้งที่ 4 ณ จังหวัดกระบี่ ระหว่างวันที่ 22 – 25 กรกฎาคม 2545 หน้า 264 – 270.
- พัชนี ชัยวัฒน์. 2545. มุมมองเรื่องปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืช แมลงศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ. วารสารวิชาการเกษตร 2 : 175 – 180.
- พิสุทธิ เอกอำนาจ. 2550. โรคและแมลงของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ. เชียงใหม่ : สายธุรกิจโรงพิมพ์.
- พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2526. พันธุศาสตร์ปริมาณที่เกี่ยวข้องกับการปรับปรุงพันธุ์พืช. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 16 : 409 – 422.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2525. พันธุศาสตร์. กรุงเทพมหานคร : บริษัทสำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2527. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. สงขลา : โรงพิมพ์ไทรโยค.
- ร่วมจิตร นกเขา. 2551. การผลิตเมล็ดพันธุ์และฝักสดถั่วฝักยาวภายใต้ระบบเกษตรอินทรีย์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรปริญญาคุษุภบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- รัตนา สันทัตพานิช. 2530. การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมบางลักษณะในถั่วฝักยาว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วิทยา บัวเจริญ. 2527. หลักการผสมและปรับปรุงพันธุ์พืช. กรุงเทพมหานคร : กรุงเทพมหานครการพิมพ์.
- วิทัศน์ ภูมิไท. 2541. ปลูกผักกินเองปลอดภัยไร้สารพิษ. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์แสงแดด.
- วิสิทธิ์ ตริสุวรรณวัฒน์. 2539. พันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานต่อโรคราสนิมและลักษณะทางเกษตรของถั่วลิสง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี. 2543. ถั่วพุ่ม. กรุงเทพมหานคร : จุลสารสถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ศูนย์ศึกษาค้นคว้าและพัฒนาเกษตรกรรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. 2537. ถั่วพุ่ม (Cowpea).
 ขอนแก่น : ศูนย์ศึกษาค้นคว้าและพัฒนาเกษตรกรรม ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.

สถานีวิจัยตรวจอากาศคอหงส์. 2550. รายงานอุตุนิยมวิทยาประจำปี 2546 – 2550. สงขลา : สถานีตรวจอากาศเกษตรคอหงส์ กรมอุตุนิยมวิทยา กระทรวงคมนาคม.

สมใจ ไควสุรัตน์. 2546. ถั่วพุ่มเมล็ดดำพันธุ์อุบลราชธานี กสิกร 76 : 95 – 97.

สมใจ ไควสุรัตน์ ประหยัด พลโลก ศรีภูมิ กองอินทร์ สรศักดิ์ มณีขาว และธำรง เชื้อกิตติศักดิ์.
 2549. ถั่วพุ่มเมล็ดดำพันธุ์อุบลราชธานี. วารสารวิชาการเกษตร 24 : 52 – 66.

สมใจ ไควสุรัตน์ เพียว พรหมพันธุ์ใจ พรพรรณ สุทธิแย้ม นฤทัย วรสถิตย์ จำลอง กกรัมย์ ธำรง
 เชื้อกิตติศักดิ์ และสรศักดิ์ มณีขาว. 2543. ถั่วพุ่ม. อุบลราชธานี : โรงพิมพ์ศิริธรรมออฟ
 เซ็ท อุบลราชธานี.

สมบูรณ์ เตชะภิญญาวัฒน์. 2537. พฤษศาสตร์. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ริ้วเขียว.

สมพงษ์ พงษ์ประเสริฐ. 2527. การศึกษาสาเหตุของความต้านทานของพันธุ์ข้าวต่อหนอนกอแถบ
 ลายสีม่วง *Chilo polychrysus* (Meyrich). วารสารวิชาการเกษตร 2 : 157 – 163.

สมภพ ฐิตะวสันต์. 2537. หลักการผลิตผัก. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ริ้วเขียว.

สุนทรีย์ สุรสร สุวิทย์ เลาศิริวงศ์ ปรีชา ประเทพา และโสภณ วงศ์แก้ว. 2547. การใช้เครื่องหมายดี
 เอ็นเอตรวจสอบถั่วลิสงลูกผสมในงานปรับปรุงพันธุ์ด้านทานต่อโรคราสนิม. วารสาร
 สงขลานครินทร์ 26 : 139 – 152.

- สุภาพร รัตนพิทักษ์. 2535. การแปรปรวนทางพันธุกรรมของการเจริญเติบโตและลักษณะฝักในการผสมระหว่างถั่วฝักยาวกับถั่วพุ่ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2549. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่องการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุวิมล กลศึก. 2544. การศึกษาจำนวนชุดโครโมโซมและแยกความแตกต่างระหว่างลองกองกลางสาด และคูดู (*Lansium domesticum* Correa) โดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- อรัญ งามพ่องใส สุนทร พิพิธแสงจันทร์ และเจิดจรรย์ ศิริวงศ์. 2545. การใช้มุ้งตาข่ายและสารฆ่าแมลงจากพืชควบคุมแมลงและการลดพิษตกค้างของสารฆ่าแมลงในถั่วฝักยาว. รายงานผลงานวิจัย. สงขลา : ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- อร่าม คุ่มทรัพย์. 2543. พืช : เกษตรกรรมชาติเชิงธุรกิจ. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์อักษรไทย.
- อริยา คุโณทัย. 2523. การถ่ายทอดลักษณะสีเปลือกหุ้มเมล็ดในถั่วฝักยาว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรุณี วงษ์กอบรัชฎ์. 2530. การประเมินความเสียหายด้านผลผลิตและคุณภาพของยาสูบเตอร์กิชเนื่องจากเพลี้ยอ่อน. วารสารกสิกรรมและสัตววิทยา 9 : 187 – 193.
- แอนนา สายมณีรัตน์ และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2529. ความดีเด่นในถั่วเหลืองลูกผสมชั่วที่ 2. วารสารเกษตรศาสตร์ 20 : 134 – 143.

- Alabi, O. Y., Odebiyi, J. A. and Jackai, L. E. N. 2003. Field evaluation of cowpea cultivars (*Vigna unguiculata* L. Walp.) for resistance to flower bud thrips (*Megalurothrips sjostedti* Trybom) (Thysanoptera : Thripidae). Internal Journal of Pest Management 49 : 287 – 291.
- Alabi, O. Y., Odebiyi, J. A. and Tamo, M. 2004. Effect of host plant resistance in some cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivars on growth and developmental parameters of the flower bud thrips, *Megalurothrips sjostedti* (Trybom). Crop Protection 23 : 83 – 88.
- Annan, I. B., Schaefers, G. A. and Tingey, W. M. 1995. Influence of duration of infestation by cowpea aphid (Aphididae) on growth and yield of resistant and susceptible cowpeas. Crop Protection 14 : 533 – 538.
- Atiri, G. I., and Thottappilly, G. 1985. *Aphis craccivora* settling behaviour and acquisition of cowpea aphid – borne mosaic virus in aphid – resistant cowpea. Entomologia Experimentalis et Applicata 39 : 241 – 245.
- Bashir, M. and Hampton, R. O. 1996. Identification of cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars and lines immune to variants of blackeye cowpea mosaic potyvirus. Plant Pathology 45 : 984 – 989.
- Bashir, M., Ahmad, Z. and Ghafoor, A. 2002. Cowpea germplasm evaluation for virus resistance under greenhouse conditions. Asian Journal of Plant Sciences 1 : 585 – 587.
- Bata, H. D., Singh, B. B., Singh, S. R. and Ladeinde, T. A. O. 1987. Inheritance of resistance to aphid in cowpea. Crop Science 27 : 892 – 894.

- Benchasri, S and Nualsri, C. 2008. Monitoring Aphid (*Aphis craccivora* Koch) Resistance in F₁ hybrids and their parents of 4 crosses between yardlong bean and cowpeas. The 6th Regional IMT – GT UNINET Conference 2008. Penang, Malaysia, 28 – 30 August 2008. pp 196 – 200.
- Benchasri, S., Nualsri, C., Santipracha, Q. and Ngampongsai, A. 2006. Evaluation of aphid (*Aphis craccivora* Koch) resistance in 24 accessions of yardlong bean and cowpea. 1st joint PSU – UNS International Conference on BioScience: Food, Agriculture, and Environment. Songkhla, Thailand, 17 – 19 August 2006. pp. 215 – 222.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32 : 314 – 331.
- Burton, G. W. 1951. Quantitative inheritance in pearl millet (*Pennisetum glaucum*). *Agronomy Journal* 43 : 409 – 417.
- Byrne, P. and Richardson, K. 2005. Marker Assisted Selection. [online] available <http://croptech.nology.unl.edu/viewLesson.cgi?LessonID> (accessed on 24/8/2006).
- Cardona, C. and Kornegay, J. 1999. Bean germplasm resources for insect resistance. *In* Global Plant Genetic Resources for Insect – Resistant Crops (eds S. L. Clement and S. S. Quisenberry) pp. 85 – 99. Boca Raton : CRC Press.
- Changchao, S., Huqu, Z., Chunming, W., Lihing, S. and Jianmin, W. 2006. SSR mapping of brown planthopper resistance gene *Bph9* in Kaharamana, an indica rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genetica Sinica* 33 : 262 – 268.

- Che, K. P., Zhan, Q. C., Xing, Q. H., Wang, Z. P., Jin, D. M. He, D. J. and Wang, B. 2003. Tagging and mapping of rice sheath blight resistant gene. *Theoretical and Applied Genetics* 106 : 293 – 297.
- Cheng, C. and Pathak, M. D. 1972. Resistance to *Nephotettix virescens* in rice variety. *Journal of Economic Entomology* 65 : 1148 – 1153.
- Cipriani, G., Bella, R. D. and Testolin, R. 1996. Screening RAPD primer for molecular taxonomy and cultivar fingerprint in the genus *Actinidia*. *Euphytica* 113 : 245 – 249.
- Claros, M. G., Crespillo, R. M., Aguilar, L. and Canovas, F. M. 2002. DNA fingerprinting and classification of geographically related genotypes of olive – tree (*Olea europaea* L.). *Euphytica* 116 : 131 – 142.
- Coulibaly, S., Pasquet, R. S. and Gepts, P. 2002. AFLP analysis of the phenetic organization and genetic diversity of *Vigna unguiculata* L. Walp. Reveals extensive gene flow between wild and domesticated types. *Theoretical and Applied Genetics* 104 : 358 – 366.
- Davis, K. R., Lyon, G. D., Darvill, A. G. and Albersheim, P. 1984. Host – pathogen interactions XXV. Endopolygalacturonic acid lyase from *Erwinia carotovora* elicits phytoalexin accumulation by releasing plant cell wall fragments. *Plant Physiology* 74 : 52 – 60.
- Davis, D. W., Oelke, E. A., Oplinger, E. S., Doll, J. D., Hanson, C. V. and Putnam, D. H. 1991. Cowpea. *Alternative Field Crops Manual*. Minnesota : Wiley and Sons.
- Degani, C., Rowland, L. J., Saunders, J. A., Hokanson, S. C., Ogden, E. L., Goldhirsh, A. G. and Galletta, G. J. 2001. A comparison of genetic relationship measures in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) based on AFLPs, RAPDs, and pedigree data. *Euphytica* 117 : 1 – 12.

- Deseran, S. 2001. Asian Vegetables from Long Bean to Lemongrass. San Francisco : Chronicle Books.
- Dhanorkar, B. K. and Daware, D. G. 1980. Differences number of aphids found on lines of cowpea in a replicated trail. Tropical Grain Legume Bulletin 9 : 3 – 4.
- Dickson, M. K. and Eckenrode, C. J. 1975. Variation in *Brassica oleracea* resistance to cabbage looper and imported cabbage worm in the greenhouse and field. Journal of Economic Entomology 68 : 757 – 760.
- Distabanjong, K. and Srinives, P. 1985. Inheritance beanfly resistance in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). Kasetsart Journal 19 : 75 – 84.
- Dixon, A. F. G. 1973. Biology of Aphids. The Institute of Biology's Studies in Biology No. 44. London : Edward Arnold.
- Dixon, A. F. G. 1985. Aphids Ecology. Glasgow : Blackie and Son Limited.
- Dixon, A. F. G. 1987a. Parthenogenetic reproduction and the rate of increase in aphid. *In* Aphids : Their Biology, Natural Enemies and Control Volume 2A. (eds. A. K. Minks and P. Harrewijn) pp. 269 – 285. Amsterdam : Elsevier Science Publishers.
- Dixon, A. F. G. 1987b. Evaluation and adaptive significance of cyclical parthenogenesis in aphids. *In* Aphids : Their Biology, Natural Enemies and Control Volume 2A. (eds. A. K. Minks and P. Harrewijn) pp. 289 – 296. Amsterdam : Elsevier Science Publishers.
- Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12 : 13 – 15.
- Duke, J. A. 1981. Handbook of Legumes of World Economic Importance. New York : Plenum Press.

- Ehlers, J. D. and Hall, A. E. 1997. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Field Crops Research 53 : 187 – 204.
- Farrell, J. A. K. 1977. Plant resistance to insects and the selection of resistant line. The New Zealand Entomologist 6 : 244 – 254.
- Ferry, N., Edwards, M. G., Gatehouse, J. A. and Gatehouse, A. M. R. 2004. Plant – insect interactions : molecular approaches to insect resistance. Current Opinion in Biotechnology 15 : 155 – 161.
- Fritz, A. K. Caldwell, S. and Worrall, W. D. 1999. Molecular mapping of russian wheat aphid resistance form triticle accession PI 386156. Crop Science 39 : 1707 – 1710.
- Gatehouse, J. A., Hilder, V. A. and Gatehouse, A. M. R. 1991. Genetic engineering of plants for insect resistance. *In* Plant Genetic Engineering : Plant Biotechnology Vol.1 (ed. D. Grierson) pp. 105 – 135. Suffolk : St Edmundsdury Press.
- Gatehouse, J. A., Hilder, V. A. and Gatehouse, A. M. R. 1992. Plant Genetic Manipulation for Crop Protection. Wallingford : CAB International.
- Gary, P. J., John, B. D., David, P., Kevin, S., Cheryl, B., Bob, B and Carl, P. 2007. Distribution and diversity of russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotypes in North America. Journal of Economic Entomology 100 : 1679 – 1684.
- Giami, S. Y. 2005. Compositional and nutritional properties of selected newly developed lines of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). Journal of Food Composition and Analysis 18 : 665 – 673.
- Githiri, S. M., Among – Nyarko, K., Osir, E. O. and Kimani, P. M. 1996. Genetics of resistance to *Aphis craccivora* in cowpea. Euphytica 89 : 371 – 376.

- Gowda, B. S., Miller, J. L., Rubin, S. S., Sharma, D. R. and Timko, M. P. 2002. Isolation, sequence analysis and mapping of resistance – gene analogs in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) *Euphytica* 126 : 365 – 377.
- Gumedzoe, M. Y. D., Rossel, H. W., Thottappilly, G., Asselin, A. and Huguenot, C. 1998. Reaction of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) to six isolates of Blackeye Cowpea Mosaic Virus (BICMV) and Cowpea Aphid – borne Mosaic Virus (CAMV), two potyviruses infecting cowpea in Nigeria. *International Journal of Pest Management* 44 : 11 – 16.
- Gupta, P. K., Varshney, R. K. and Prasad, M. 2002. Molecular markers : principles and methodology. *In* *Molecular Techniques in Crop Improvement* (eds. S. M. Jain, D. S. Brar and B. S. Ahloowalia) pp. 9 – 54. Dordrecht : Kluwer Academic Publishers.
- Hancock, J. F. 1992. *Plant Evolution and the Origin of Crop Species*. Englewood Cliffs : Prentice – Hall.
- Hawkins, C. D. B., Whitecross, M. I. and Aston, M. J. 1986. Long-term effects on cowpea plant growth of a short-term cowpea aphid infestation. *Canadian Journal of Botany* 64 : 1727–1732.
- Hayman, B. I. 1958. The separation of epistatic from additive and dominance variation in generation mean. *Heredity* 12 : 371 – 390.
- He, G., Meng, R., Gao, H., Guo, B., Gao, G., Newman, M., Pittman, R. and Prakash, C. S. 2005. Simple sequence repeat markers for botanical varieties of cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Euphytica* 142 : 131 – 136.
- Herklots, G. A. C. 1972. *Vegetables in South – East Asia*. London : George Allen and Unwin Ltd.

- Hilder, V. A. and Boulter, D. 1992. Plant Genetic Manipulation for Crop Protection. Wallingford : CAB International.
- Horber, E. 1980. Types and classification of resistance. *In* Breeding Plant Resistance to Insects (eds. F. G. Maxwell and P. R. Jennings) pp. 15 – 22. New York : A Wiley – Interscience Publication.
- Ibbotson, A. and Kennedy, J. S. 1950. The distribution of aphid infestation in relation to leaf age. *Annals of Applied Biology* 37 : 680 – 696.
- International Institute of Tropical Agriculture (IITA). 1982. Annual Report for 1982. pp. 59 – 60. Ibadan, Nigeria.
- Jayappa, B. G. and Lingappa, S. 1988a. Causes of resistance to *Aphis craccivora* Koch. in cowpea germplasm in India. *Tropical Pest Management* 34 : 59 – 61.
- Jayappa, B. G. and Lingappa, S. 1988b. Screening of cowpea germplasm for resistance to *Aphis craccivora* Koch. in India. *Tropical Pest Management* 34 : 62 – 64.
- Jeon, Y. H., Ahn, S. N., Choi, H. C., Hahn, T. R. and Moon, H. P. 1999. Identification of RAPD marker linked to a brown planthopper resistance gene in rice. *Euphytica* 107 : 23 – 28.
- Kareem, K. T. and Taiwo, M. A. 2007. Interactions of viruses in cowpea: effects on growth and yield parameters. *Virology Journal* 4 : page number not for citation purposes.
- Karner, M. A. and Manglitz, G. R. 1985. Effects of temperature and alfalfa cultivar on pea aphid (Homoptera: Aphididae) fecundity and feeding activity of convergent lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 58 : 131.

- Karungi, J., Adipala, E., Ogenga – Latigo, M. W., Kyamanywa, S. and Oyobo, N. 2000a. Pest management in cowpea. Part 1. Influence of planting time and pest density on cowpea field pests infestation in eastern Uganda. *Crop Production* 19 : 231 – 236.
- Karungi, J., Adipala, E., Ogenga – Latigo, M. W., Kyamanywa, S., Oyobo, N. and Jackai, L. E. N. 2000b. Pest management in cowpea. Part 2. Integrating planting time, plant density and insecticide application for management of cowpea field insect pests in eastern Uganda. *Crop Production* 19 : 237 – 245.
- Kennedy, G. G., Yamamoto, R. T., Dimock, M. B., Williams, W. G. and Bordner, J. 1981. Effects of daylength and light intensity on 2 – tridecanone levels and resistance in *Lycopersicon hirsutum* Glabratum to *Manduca sexta*. *Journal of Chemical Ecology* 7: 707 – 716.
- Klingauf, F. A. 1987. Feeding, adaptation and excretion. *In* Aphids : Their Biology, Natural Enemies and Control Volume 2A. (eds. A. K. Minks and P. Harrewijn) pp. 225 – 254. Amsterdam : Elsevier Science Publishers.
- Knott, J. E. and Deanon, J. R. 1967. Vegetable Production in Southeast Asia. Laguna : University of the Philippines.
- Koona, P., Osisanya, E. O., Jackai, L., Tamo, M. and Markham, R. H. 2002. Resistance in accessions of cowpea to the Coreid Pod – Bug *Clavigralla tomentosicollis* (Hemiptera : Coreidae). *Journal of Economic Entomology* 95 : 1281 – 1288.
- Kuandun, S. S., Zhyvoloup, A. and Park, Y. G. 2000. Evaluation of genetic diversity among elite tea (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) accessions using RAPD markers. *Euphytica* 155 : 7 – 16.

- Li, C. D., Fatokun, C. A., Benjamin, U., Singh, B. B. and Scoles, G. J. 2001. Determining genetic similarities and relationships among cowpea breeding lines and cultivars by microsatellite markers. *Crop Science* 41 : 189 – 197.
- Mariam, E. G. and Suwanketnikom, R. 2004. Screening of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) varieties for resistance to branched broomrape (*Orobancha ramosa* L.). *Kasetsart Journal (Natural Science)* 38 : 434 – 439.
- Martin, F. W. 1984. Grain legumes. *In Handbook of Tropical Food Crops.* (ed. F. W. Martin) pp. 27 – 58. Boca Raton : CRC Press.
- Mather, K. and Jinks, J. L. 1977. *Introduction to Biometrical Genetics.* London : Chapman and Hall.
- Mayer, M. S., Tellu, A., Simson, C. J. Kumar, S. J., Kaiser, W. J., Kraft, J. M. and Meuhlbauer, F. J. 1997. Development of DNA marker for *Fusarium* resistance in chickpea. *Crop Science* 37 : 1625 – 1629.
- Mello, M. O. and Silva – Filho, M. C. 2002. Plant – Insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 14 : 71 – 81.
- Menendes C. M., Hall, A. E. and Gepts, P. 1997. A genetic linkage map of cowpea (*Vigna unguiculata*) developed from a cross between two inbred, domesticated lines. *Theoretical and Applied Genetics* 95 : 1210 – 1217.
- Mesfin, T., Thottappilly, G. and Singh, S. R. 1992. Feeding behaviour of *Aphis craccivora* (Koch) on cowpea cultivars with different levels of aphid resistance. *Annals of Applied Biology* 121 : 493 – 501.

- Miyazaki, M. 1997. Morphology and systematic. *In* Aphids : Their Biology, Natural Enemies and Control Volume 2A. (eds. A. K. Minks and P. Harrewijn) pp. 1 – 26. Amsterdam : Elsevier Science Publishers.
- Nakawuka, C. K. and Adipala, E. 1997. Identification of sources and inheritance of resistance to Sphaceloma scab in cowpea. *Plant Disease* 81 : 1395 – 1399.
- Namayanja, A., Buruchara, R., Mahuku, G., Rubaihayo, P., Kimani, P., Mayanja, S. and Eyedu, H. 2006. Inheritance of resistance to angular leaf spot in common bean and validation of the utility of resistance linked markers for marker assisted selection outside the mapping population. *Euphytica* 151 : 361 – 369.
- Nault, L. R. and Ammar, E. D. 1989. Leafhopper and planthopper transmission of plant virus. *Annual Review of Entomology* 34 : 503 – 529.
- Nielson, M. W. and Lehman, W. F. 1980. Breeding approaches in alfalfa. *In* Breeding Plant Resistance to Insects (eds. F. G. Maxwell and P. R. Jennings) pp. 127 – 312. New York : A Wiley – Interscience Publication.
- Norris, D. M. and Kogan, M. 1980. Biochemical and morphological bases of resistance. *In* Breeding Plant Resistance to Insects (eds. F. G. Maxwell and P. R. Jennings) pp. 23 – 62. New York : A Wiley – Interscience Publication.
- Ofuya, T. I. 1988. Varietal resistance of cowpeas to the cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae) under field and screenhouse conditions in Nigeria. *Tropical Pest Management* 34 : 445 – 447.
- Ofuya, T. I. 1989. The effect of pod growth stages in cowpea on aphid reproduction and damage by the cowpea aphid, *Aphis craccivora* (Homoptera: Aphididae). *Annals of Applied Biology* 115 : 563 – 566.

- Ofuya, T. I. 1995. Studies on the capability of *Cheilomenes lunata* (Fabricius) (Coleoptera: Coccinellidae) to prey on the cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae) in Nigeria. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 52 : 35 – 38.
- Ogecha, J., Webster, J. A. and Peters, D. C. 1992. Feeding behavior and development of biotype E, G, and H of *Schizaphis graminum* (Homoptera : Aphididae) on wintermalt and post barley. *Entomological Society of America* 85 : 1522 – 1526.
- Ohiakhe, S., Jackai, L. E. N., Makanjuola, W. A. and Hodyson, C. J. 1992. Morphology, distribution and the role of trichomes in cowpea (*Vigna unguiculata*) resistance to the legume pod borer, *Maruca testulalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Bulletin Entomology Research* 82 : 499 – 505.
- Ombakho, G. A., Tyagi, A. P. and Pathak, R. S. 1987. Inheritance of resistance to the cowpea aphid in cowpea. *Theoretical and Applied Genetics* 74 : 817 – 819.
- Omongo, C. A., Adipala, E., Ogenga – Latigo, M. W. and Kyamanywa, S. 1998. Insecticide application to reduce pest infestation and damage on cowpea in Uganda. *African Plant Protection* 4 : 91 – 100.
- Painter, R. H. 1968. *Insect Resistance in Crop Plants*. Lawrence : The University Press of Kansas.
- Panda, N. and Khush, G. S. 1995. *Host Plant Resistance to Insects*. Wallingford : CAB International.
- Pathak, M. D. 1977. Defense of the rice crop against insect pests. *Annals of the New York Academy of Science* 287 : 287 – 295.
- Pathak, R. S. 1988. Genetics of resistance to aphid in cowpea. *Crop Science* 28 : 474 – 476.

- Patil, R. B. and Shete, M. M. 1987. Heterosis in crosses of seven genotypes of cowpea. *Journal of Maharashtra Agriculture University* 12 : 51 – 54.
- Phansak, P., Taylor, P. W. J. and Mongkolporn, O. 2005. Genetic diversity in yardlong bean (*Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedalis*) and related *Vigna* species using sequence tagged microsatellite site analysis. *Scientia Horticulturae* 106 : 137 – 146.
- Powell, G and Hardie, J. 2000. Host – selection behaviour by genetically identical aphids with different plant preferences. *Physiological Entomology* 25 : 54 – 62.
- Powell, G., Tosh, C. R. and Hardie, J. 2006. Host plant selection by aphids : Behavioral, evolutionary and applied perspectives. *Annual Review of Entomology* 51 : 309 – 330.
- Purseglove, J. W. 1974. *Tropical Crops : Dicotyledons*. London : English Language Book Society and Longman.
- Robert, Y. 1987. Aphids and their environment. *In* *Aphids Their Biology, Natural Enemies and Control* Volume 2A. (eds. A. K. Minks and P. Harrewijn) pp. 299 – 313. Amsterdam : Elsevier Science Publishers.
- Roy, F. and Guste, J. R. 2001. *The Bean Book*. New York : W.W. Norton and Company.
- Rubatzky, V. E. and Yamaguchi, M. 1997. *World Vegetables : Principles, Production, and Nutritive Values*. New York : Chapman and Hall.
- Salifu, A. B., Hodgson, C. J. and Singh, S. R. 1988a. Mechanism of resistance in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotype, TVx3236, to the beanflower thrips. *Megalurothrips sjostedti* (Trybom) (Thysanoptera : Thripidae) 1. Ovipositional nonpreference. *Tropical Pest Management* 34 : 180 – 184.

- Salifu, A. B., Singh, S. R. and Hodgson, C. J. 1988b. Mechanism of resistance in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) genotype, TVx3236 to the beanflower thrips . *Megalurothrips sjostedti* (Trybom) (Thysanoptera : Thripidae) 2. Non preference and antibiosis. *Tropical Pest Management* 34 : 185 – 188.
- Saxena, R. C. and Khan, Z. R. 1984. Comparison between free choice and no – choice seedling bulk test for evaluating resistant of rice accessions to the whitebacked planthopper. *Crop Science* 24 : 1204 – 1208.
- Schillinger, J. A. 1969. Three laboratory techniques for screening small grains for resistance to the cereal leaf beetle. *Journal of Economic Entomology* 62 : 360.
- Schnorbach, H. J. 1983. Der einfluss von Besiedlungs und einstechverhalten auf begin und verluaf der nahrungsaufnahme bei blattlausgruppen an wirtspflanze und kunstlicher diat (Aphididae, Homoptera). Thesis. Faculty of Mathematics and Natural Science University of Bonn.
- Sen, N. K. and Bhowal, J. G. 1961. Genetics of *Vigna sinensis* (L.). *Genetica* 32 : 247 – 266.
- Smith, C. M., Khan, Z. R. and Pathak, M. D. 1994. Techniques for Evaluating Insect Resistance in Crop Plants. New York : Lewis Publishers.
- Splittstoesser, W. E. 1979. Vegetable Growing Handbook. West Port : AVI Publishing Company Inc.
- Srikanth, J. and Lakkundi, N. K. 1988. A method for estimating populations of *Aphis craccivora* Koch in cowpea. *Tropical Pest Management* 34 : 335 – 337.

- Suwannarat, K. and Nualsri, C. 2008. Genetic relationships between 4 *Parkia* spp. and variation in *Parkia speciosa* Hassk. based on random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Songklanakarin Journal of Science and Technology 30 : 433 – 440.
- Thormann, C. E., Ferreira, M. E., Camargo, L. E. A., Tivang, J. G. and Osbom, T. C. 1994. Comparison of RFLP and RAPD markers to estimating genetic relationship within and among cruciferous species. Theoretical and Applied Genetics 88 : 973 – 980.
- Tindall, H. D. 1983. Vegetables in the Tropics. Hong Kong : Macmillan Education Limited.
- Van Emden, H. F. 1974. Pest Control and Its Ecology. London : Edward Arnold.
- Williams, J. G. K., Kubelik, R. A., Livak, J. K., Rafalski, A. J. and Tingey, V. S. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18 : 6531 – 6535.
- Winter, P. and Kahl, G. 1995. Molecular marker technologies for plant improvement. World Journal of Microbiology & Biotechnology 11 : 438 – 448.
- Young, R. A. and Kelly, J. D. 1997. RAPD markers linked to three major anthracnose resistance genes in common bean. Crop Science 37 : 940 – 946.

ภาคผนวก

ก. ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของแต่ละกลุ่มผสม

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนของถั่วกลุ่มผสมพันธุ์คัด – มอ. x IT82E – 16

SOV	df	SS	MS
Generation	5	106.8735	21.3747
Plots/Generation	44	25.19862	0.572696
Plants/Plots/Generation	214	98.05000	0.460329
Plants/P ₁	16	4.666667	0.291667
Plants/P ₂	16	2.466667	0.154167
Plants/F ₁	12	2.000000	0.166667
Plants/F ₂	122	56.53333	0.463388
Plants/BCP ₁	24	25.58333	1.065972
Plants/BCP ₂	24	6.80000	0.295652
Total	263		

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนของถั่วกลุ่มผสมพันธุ์คัด – มอ. x SR₀₀ – 863

SOV	df	SS	MS
Generation	5	21.02232	4.204464
Plots/Generation	43	17.07964	0.397201
Plants/Plots/Generation	206	80.13333	0.388997
Plants/P ₁	12	3.333333	0.277778
Plants/P ₂	17	4.883333	0.287255
Plants/F ₁	19	7.20000	0.378947
Plants/F ₂	123	54.43333	0.442547
Plants/BCP ₁	16	6.70000	0.41875
Plants/BCP ₂	19	3.583333	0.188596
Total	254		

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนของถั่วคู่ผสมพันธุ์คัด – มอ. x เขานินช้อน

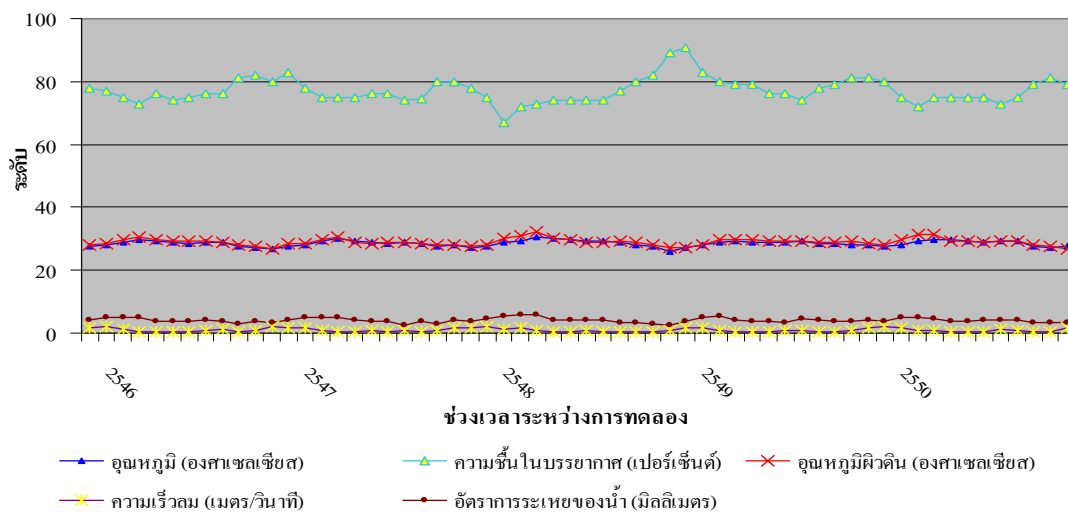
SOV	df	SS	MS
Generation	5	18.56124	3.712247
Plots/Generation	44	43.23454	0.982603
Plants/Plots/Generation	218	104.6333	0.479969
Plants/P ₁	12	6.433333	0.536111
Plants/P ₂	10	5.000000	0.500000
Plants/F ₁	16	7.100000	0.443750
Plants/F ₂	128	99.80000	0.779688
Plants/BCP ₁	23	20.13333	0.875362
Plants/BCP ₂	29	14.33333	0.494253
Total	267		

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับความรุนแรงการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนถั่วที่อายุ 3 สัปดาห์หลังปล่อยเพลี้ยอ่อนของถั่วคู่ผสมพันธุ์คัด – มอ. x สุรนารี 1

SOV	df	SS	MS
Generation	5	22.32243	4.464486
Plots/Generation	41	21.50333	0.524471
Plants/Plots/Generation	178	91.53333	0.514232
Plants/P ₁	13	9.416667	0.724359
Plants/P ₂	11	4.800000	0.436364
Plants/F ₁	16	3.583333	0.223958
Plants/F ₂	80	47.46667	0.593333
Plants/BCP ₁	30	20.16667	0.672222
Plants/BCP ₂	28	6.100000	0.217857
Total	224		

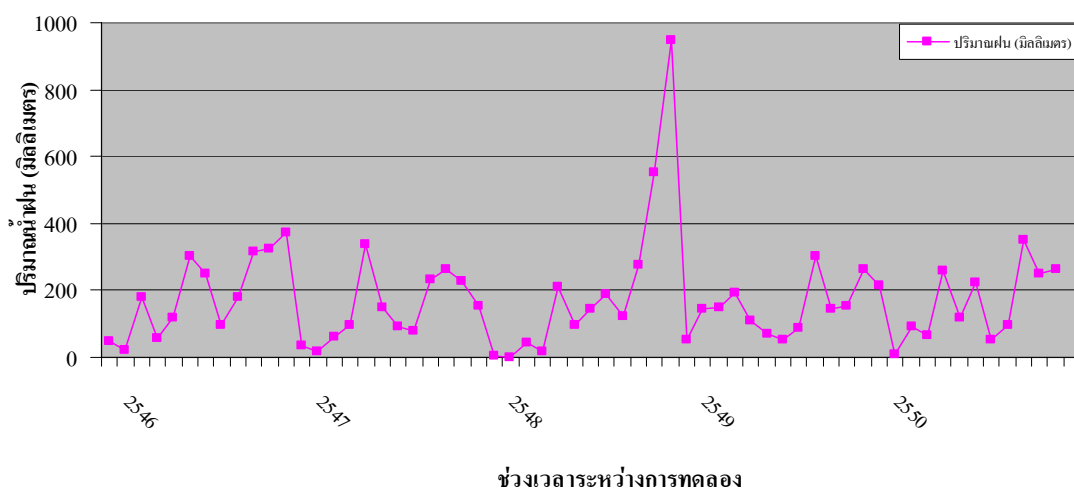
ข. สภาพอากาศระหว่างการทดลอง

ระดับอุณหภูมิ ความชื้นในบรรยากาศ อุณหภูมิผิวดิน อัตราการระเหยของน้ำ ความเร็วลม และปริมาณน้ำฝนในช่วงของการทดลอง



รูปที่ 1 ระดับอุณหภูมิ ความชื้นในบรรยากาศ อุณหภูมิผิวดิน อัตราการระเหยของน้ำ และความเร็วลม ในช่วงของการทดลอง (ปี พ.ศ. 2546 – 2550)

ที่มา : สถานีวิจัยตรวจอากาศเกษตรคองหงส์ (2546 – 2550)



รูปที่ 2 ปริมาณน้ำฝนรายเดือนในช่วงของการทดลอง (ปี พ.ศ. 2546 – 2550)

ที่มา : สถานีวิจัยตรวจอากาศเกษตรคองหงส์ (2546 – 2550)

ค. สารเคมีสำหรับการศึกษาการต้านทานเพ็ลื้ออ่อน

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ และสารละลายที่ใช้ในการทำ RAPD

1. CTAB บัฟเฟอร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

PVP – 40	1.0	กรัม
NaCl ₂	8.12	กรัม
0.5M Na ₂ EDTA (pH 8.0)	4.0	มิลลิลิตร
1.0M Tris – HCl (pH 8.0)	10.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นจึงเติม CTAB ปริมาณ 2 กรัม และบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกว่าสารละลายได้หมด ไปนึ่งฆ่าเชื้อ เติมสาร β -mercaptoethanol เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำมาใช้

2. TE บัฟเฟอร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

1.0 M Tris – HCl (pH 7.5)	500	ไมโครลิตร
0.25M Na ₂ EDTA (pH 7.0)	200	ไมโครลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

3. TAE บัฟเฟอร์ เข้มข้น 5 เท่า

Tris Base	121.1	กรัม
Acetic acid	28.5	มิลลิลิตร
0.5M Na ₂ EDTA (pH 8.0)	50.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

4. TBE บัฟเฟอร์ เข้มข้น 5 เท่า

Tris Base	216.0	กรัม
Boric acid	110.0	กรัม
0.5M Na ₂ EDTA (pH 8.0)	80.0	มิลลิลิตร

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 4 ลิตร เจือจางความเข้มข้นเป็น 1 เท่า แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

5. DNA sample buffer

Bromophenol blue	125.0	มิลลิกรัม
------------------	-------	-----------

Xylene cyanol	125.0	มิลลิกรัม
---------------	-------	-----------

Glycerol	15.0	มิลลิลิตร
----------	------	-----------

ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้

6. Ethidium bromide 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Ethidium bromide	1	กรัม
------------------	---	------

เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	100	มิลลิลิตร
---------------------------	-----	-----------

ตารางที่ 9 ไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบ ลำดับเบสของไพรเมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบ อาร์เอพีดี –
พีซีอาร์ กับดีเอ็นเอของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')	รูปแบบ
OPA – 01	CAGGCCCTTC	monomorphism
OPA – 02	TGCCGAGCTG	monomorphism
OPA – 03	AGTCAGCCAC	monomorphism
OPA – 04	AATCGGGCTG	monomorphism
OPA – 05	AGGGGTCTTG	monomorphism
OPA – 06	GGTCCCTGAC	non – amplified
OPA – 07	GAAACGGGTG	monomorphism
OPA – 08	GTGACGTAGG	monomorphism
OPA – 09	GGGTAACGCC	monomorphism
OPA – 10	GTGATCGCAG	monomorphism
OPA – 11	CAATCGCCGT	monomorphism
OPA – 12	TCGGCGATAG	non – amplified
OPA – 13	CAGCACCCAC	monomorphism
OPA – 14	TCTGTGCTGG	monomorphism
OPA – 15	TTCCGAACCC	polymorphism
OPA – 16	AGCCAGCGAA	polymorphism
OPA – 17	GACCGCTTGT	polymorphism
OPA – 18	AGGTGACCGT	monomorphism
OPA – 19	CAAACGTCGG	monomorphism
OPA – 20	GTTGCGAFCC	monomorphism
OPB – 01	GTTTCGCTCC	monomorphism
OPB – 02	TGATCCCTGG	monomorphism
OPB – 03	CATCCCCCTG	non – amplified
OPB – 04	GGACTGGAGT	polymorphism
OPB – 05	TGCGCCCTTC	monomorphism
OPB – 06	TGCTCTGCCC	monomorphism

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ไพรมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')	รูปแบบ
OPB – 07	GGTGACGCAG	monomorphism
OPB – 08	GTCCACACGG	polymorphism
OPB – 09	TGGGGGACFC	monomorphism
OPB – 10	CTGCTGGGAC	monomorphism
OPB – 11	GTAGACCCGT	monomorphism
OPB – 12	CCTTGACGCA	monomorphism
OPB – 13	TTCCCCGCT	monomorphism
OPB – 14	TCCGCTCTGG	monomorphism
OPB – 15	GGAGGGTGTT	monomorphism
OPB – 16	TTTGCCCGGA	monomorphism
OPB – 17	AGGGAACGAG	polymorphism
OPB – 18	CCACAGCAGT	monomorphism
OPB – 19	ACCCCCGAAG	not clear
OPB – 20	GGACCCTTAC	polymorphism
OPC – 01	TTCGAGCCAG	polymorphism
OPC – 02	GTGAGGCGTC	not clear
OPC – 03	GGGGGTCTTT	monomorphism
OPC – 04	CCGCATCTAC	polymorphism
OPC – 05	GATGACCGCC	polymorphism
OPC – 06	GAACGGACTC	monomorphism
OPC – 07	GTCCCGACGA	non – amplified
OPC – 08	TGGACCGGTG	monomorphism
OPC – 09	CTCACCGTCC	monomorphism
OPC – 10	TGTCTGGGTG	monomorphism
OPC – 11	AAAGCTGCGG	monomorphism
OPC – 12	TGTCATCCCC	monomorphism
OPC – 13	AAGCCTCGTC	polymorphism
OPC – 14	TGCGTGCTTG	polymorphism

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ไพรมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')	รูปแบบ
OPC – 15	GACGGATCAG	monomorphism
OPC – 16	CACACTCCAG	monomorphism
OPC – 17	TTCCCCCAG	not clear
OPC – 18	TGAGTGGGTG	monomorphism
OPC – 19	GTTGCCAGCC	monomorphism
OPC – 20	ACTTCGCCAC	polymorphism
OPD – 01	ACCGCGAAGG	monomorphism
OPD – 02	GGACCCAACC	polymorphism
OPD – 03	GTCGCCGTCA	not clear
OPD – 04	TCTGGTGAGG	monomorphism
OPD – 05	TGAGCGGACA	polymorphism
OPD – 06	ACCTGAACGG	non – amplified
OPD – 07	TTGGCACGGG	monomorphism
OPD – 08	GTGTGCCCCA	monomorphism
OPD – 09	CTCTGGAGAC	non – amplified
OPD – 10	GGTCTACACC	monomorphism
OPD – 11	AGCGCCATTG	monomorphism
OPD – 12	CACCGTATCC	monomorphism
OPD – 13	GGGGTGACGA	polymorphism
OPD – 14	CTCCCCAAG	monomorphism
OPD – 15	CATCCGTGCT	monomorphism
OPD – 16	AGGGCGTAAG	monomorphism
OPD – 17	TTCCCACGG	monomorphism
OPD – 18	GAGAGCCAAC	monomorphism
OPD – 19	CTGGGGACTT	monomorphism
OPD – 20	ACCCGGTCAC	polymorphism
OPR – 01	TGCGGGTCCT	monomorphism
OPR – 02	CACAGCTGCC	monomorphism

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ไพรมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')	รูปแบบ
OPR – 03	ACACAGAGGG	monomorphism
OPR – 04	CCCGTAGCAC	monomorphism
OPR – 05	GACCTAGTGG	monomorphism
OPR – 06	GTCTACGGCA	monomorphism
OPR – 07	ACTGGCCTGA	monomorphism
OPR – 08	CCCGTTGCCT	monomorphism
OPR – 09	TGAGCACGAG	monomorphism
OPR – 10	CCATTCCCCA	not clear
OPR – 11	GTAGCCGTCT	monomorphism
OPR – 12	ACAGGTGCGT	monomorphism
OPR – 13	GGACGACAAG	monomorphism
OPR – 14	CAGGATTCCC	monomorphism
OPR – 15	GGACAACGAG	monomorphism
OPR – 16	CTCTGCGCGT	monomorphism
OPR – 17	CCGTACGTAG	monomorphism
OPR – 18	GGCTTTGCCA	monomorphism
OPR – 19	CCTCCTCATC	monomorphism
OPR – 20	ACGGCAAGGA	monomorphism
OPT – 01	GGGCCACTCA	monomorphism
OPT – 02	GGAGAGACTC	monomorphism
OPT – 03	TCCACTCCTG	monomorphism
OPT – 04	CACAGAGGGA	monomorphism
OPT – 05	GGGTTTGCCA	monomorphism
OPT – 06	CAAGGGCAGA	not clear
OPT – 07	GGCAGGCTGT	non – amplified
OPT – 08	AACGGCGACA	monomorphism
OPT – 09	CACCCCTGAG	monomorphism
OPT – 10	CCTTCGGAAG	not clear

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ไพรมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')	รูปแบบ
OPT – 11	TTCCCCGCGA	monomorphism
OPT – 12	GGGTGTGTAG	monomorphism
OPT – 13	AGGACTGCCA	non – amplified
OPT – 14	AATGCCGCAG	non – amplified
OPT – 15	GGATGCCACT	monomorphism
OPT – 16	GGTGAACGCT	monomorphism
OPT – 17	CCAACGTCGT	non – amplified
OPT – 18	GATGCCAGAC	monomorphism
OPT – 19	GTCCGTATGG	monomorphism
OPT – 20	GACCAATGCC	monomorphism
OPZ – 01	TCTGTGCCAC	monomorphism
OPZ – 02	CCTACGGGGA	monomorphism
OPZ – 03	CAGCACCGCA	polymorphism
OPZ – 04	AGGCTGTGCT	polymorphism
OPZ – 05	TCCCATGCTG	not clear
OPZ – 06	GTGCCGTTCA	monomorphism
OPZ – 07	CCAGGAGGAC	monomorphism
OPZ – 08	GGGTGGGTAA	monomorphism
OPZ – 09	CACCCCAGTC	monomorphism
OPZ – 10	CCGACAAACC	monomorphism
OPZ – 11	CTCAGTCGCA	monomorphism
OPZ – 12	TCAACGGGAC	polymorphism
OPZ – 13	GACTAAGCCC	monomorphism
OPZ – 14	TCGGAGGTTC	monomorphism
OPZ – 15	CAGGGCTTTC	monomorphism
OPZ – 16	TCCCCATCAC	monomorphism
OPZ – 17	CCTTCCCACT	polymorphism
OPZ – 18	AGGGTCTGTG	polymorphism

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ไพรมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')	รูปแบบ
OPZ – 19	GTGCGAGCAA	not clear
OPZ – 20	ACTTTGGCGG	monomorphism
OPAA – 01	AGACGGCTCC	monomorphism
OPAA – 02	GAGACCAGAC	monomorphism
OPAA – 03	TTAGCGCCCC	non-amplified
OPAA – 04	AGGACTGCTC	monomorphism
OPAA – 05	GGCTTTAGCC	monomorphism
OPAA – 06	GTGGGTGCCA	monomorphism
OPAA – 07	CTACGCTCAC	monomorphism
OPAA – 08	TCCGCAGTAG	monomorphism
OPAA – 09	AGATGGGCAG	monomorphism
OPAA – 10	TGGTCGGGTG	monomorphism
OPAA – 11	ACCCGACCTG	not clear
OPAA – 12	GGACCTCTTG	non – amplified
OPAA – 13	GAGCGTCGCT	monomorphism
OPAA – 14	AACGGGCCAA	not clear
OPAA – 15	ACGGAAGCCC	monomorphism
OPAA – 16	GGAACCCACA	monomorphism
OPAA – 17	GAGCCCGACT	polymorphism
OPAA – 18	TGGTCCAGCC	monomorphism
OPAA – 19	TGAGGCGTGT	monomorphism
OPAA – 20	TTGCCTTCGG	monomorphism
OPAB – 01	CCGTCGGTAG	monomorphism
OPAB – 02	GGAAACCCCT	monomorphism
OPAB – 03	TGGCGCACAC	monomorphism
OPAB – 04	GGCACGCGTT	monomorphism
OPAB – 05	CCCGAAGCGA	not clear
OPAB – 06	GTGGCTTGGA	monomorphism

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')	รูปแบบ
OPAB – 07	GTAAACCGCC	monomorphism
OPAB – 08	GTTACGGACC	monomorphism
OPAB – 09	GGGCGACTAC	monomorphism
OPAB – 10	TTCCTCCCA	monomorphism
OPAB – 11	GTGCGCAATG	monomorphism
OPAB – 12	CCTGTACCGA	monomorphism
OPAB – 13	CCTACCGTGG	not clear
OPAB – 14	AAGTGCACC	monomorphism
OPAB – 15	CCTCCTTCTC	monomorphism
OPAB – 16	CCCGGATGGT	monomorphism
OPAB – 17	TCGCATCCAG	monomorphism
OPAB – 18	CTGGCGTGTC	non – amplified
OPAB – 19	ACACCGATGG	monomorphism
OPAB – 20	CTTCTCGGAC	monomorphism
OPAD – 01	CAAAGGGCGG	polymorphism
OPAD – 04	GTAGGCCTCA	monomorphism
OPAD – 05	ACCGCATGGG	polymorphism
OPAD – 06	AAGTGCACGG	polymorphism
OPAD – 08	GGCAGGAAG	monomorphism
OPAD – 09	TCGCTTCTCC	polymorphism
OPAD – 11	AAGAGGGCGT	polymorphism
OPAD – 15	TTTGCCCCGT	polymorphism
OPAN – 12	CACAGACACC	polymorphism
OPAN – 16	AAGCGACCTG	Polymorphism

ตารางที่ 10 ไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบ ลำดับเบสของไพรเมอร์ และผลที่ได้จากการทดสอบเอสเอสอาร์ กับดีเอ็นเอของถั่วฝักยาว และถั่วพุ่ม

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5' → 3')	รูปแบบ
VM22	GCGGGTAGTGTATAACAATTTG (F) GTACTGTTCCATGGAAGATCT (R)	polymorphism
VM27	GTCCAAAGCAAATGAGTCAA (F) TGAATGACAATGAGGGTGC (R)	monomorphism
VM37	TGTCCGCGTTCTATAAATCAGC (F) CGAGGATGAAGTAACAGATGATC (R)	polymorphism
VM70	AAAATCGGGGAAGGAAACC (F) GAAGGCAAAATACATGGAGTCAC (R)	polymorphism

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นายสรพงศ์ เบญจศรี
 รหัสประจำตัวนักศึกษา 4643008
 วุฒิกการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) (เกียรตินิยมอันดับ 2)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2545

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

- ทุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา ประเภทผลการเรียนดีของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปีการศึกษา 2546 – 2548
- ทุนโครงการพัฒนาอาจารย์สาขาขาดแคลนประจำปี 2548 – 2550 จากมหาวิทยาลัยทักษิณ
- ทุนการศึกษาเพื่อเดินทางไปฝึกงาน ณ มหาวิทยาลัย NoviSad ประเทศเซอร์เบีย ปี 2550

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

ตำแหน่ง อาจารย์

สถานที่ทำงาน คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

1. สรพงศ์ เบญจศรี, จรัสศรี นวลศรี, ขวัญจิตร สันติประชา และ อรัญ งามผ่องใส. 2548. การประเมินลักษณะการต้านทานเพลี้ยอ่อนและผลผลิตในถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 36 (5 – 6) : 207 – 210.
2. สรพงศ์ เบญจศรี, ราตรี ชูพันธ์ และ จรัสศรี นวลศรี. 2552. เปรียบเทียบการต้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนในพ่อแม่ และลูกผสมชั่วที่ 1 จากกลุ่มสมระหว่างถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม. วารสารเกษตร 25 (2) : 145 – 154.
3. สรพงศ์ เบญจศรี, จรัสศรี นวลศรี, ขวัญจิตร สันติประชา และ อรัญ งามผ่องใส. 2552. การวิเคราะห์ยีนต้านทาน และการกระจายตัวของลักษณะต้านทานเพลี้ยอ่อนถั่วในถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม. แก่นเกษตร (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)

4. สรพงศ์ เบญจศรี และจรัสศรี นวลศรี. 2552. การศึกษาพันธุกรรมและการแสดงออกของยีนต้านทานการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนในถั่วฝักยาวและถั่วพุ่ม. วารสารวิชาการเกษตร (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)
5. Benchasri, S., Nualsri, C., Santipracha, Q. and Ngampongsai, A. 2007. Evaluation of Aphid (*Aphis craccivora* Koch) Resistance in 24 Accessions of Yardlong Bean and Cowpea. The 1st Joint PSU – UNS International Conference on BioScience: Food, Agriculture, and the Environment. Songkhla, Thailand, 17 – 19 August 2006. pp 215 – 223.
6. Benchasri, S and Nualsri, C. 2008. Monitoring Aphid (*Aphis craccivora* Koch.) Resistance in F₁ Hybrids and Their Parents of 4 Crosses between Yardlong bean and Cowpeas. The 6th Regional IMT – GT UNINET Conference 2008. Penang, Malaysia, 28 – 30 August 2008. pp 196 – 200.
7. Nualsri, C. and Benchasri, S. 2008. Evaluation for Resistance to Aphid (*Aphis craccivora*) in F₁ and F₂ of 4 crosses between Yardlong bean and Cowpea. The 2nd Joint PSU – UNS International Conference on BioScience: Food, Agriculture, and the Environment. Novi Sad, Serbia, 22 – 24 June 2008. (In Press)