บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

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

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะต่าง ๆ ของถั่วฝักยาวภายหลังการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่าง ๆ กันในชั่วที่ 1 พบว่ารังสีสามารถก่อให้เกิดผลกระทบโดยตรงต่อลักษณะต่างๆ ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ความงอก จำนวนต้นที่รอดชีวิต ระยะเวลาในการออกดอก ลักษณะผิดปกติต่าง ๆ ที่ปรากฏ ได้แก่ ลักษณะลำต้นแบน ลักษณะการเป็นหมัน และความผิดปกติของรูปร่างใบและสีใบ เปอร์เซ็นต์ความงอกและจำนวนต้นที่รอดชีวิตลดลงอย่างมากตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะเปอร์เซ็นต์ความงอก จะเห็นได้ว่าถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ได้รับรังสี 25, 35, 45 และ 50 Krad มีความงอก 77.50 50.00 7.50 และ 7.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ในขณะที่ ชุดควบคุม มีความงอกถึง 99.00 เปอร์เซ็นต์ การที่เปอร์เซ็นต์ความงอกของถั่วฝักยาวที่ได้รับรังสี 45 และ 50 Krad ลดลงอย่างมาก อาจเนื่องจากว่าปริมาณรังสีที่ใช้สูงเกินไป มีผลไปทำลายเนื้อเยื่อเจริญหรือส่วนต้นอ่อนภายในเมล็ดโดยตรง เมล็ดบางส่วนจึงสูญเสียความมีชีวิต เมื่อพิจารณาถึงจำนวนต้นที่รอดชีวิตพบว่า ต้นถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ในทุกระดับรอดชีวิตในปริมาณน้อย ทั้งนี้เป็นผลสืบเนื่องมาจากการฉายรังสีทำให้ต้นกล้าอ่อนแอ โดยปกติการใช้ปริมาณรังสีต้องพิจารณาจากค่า LD_{50} เป็นเบื้องต้น ค่าดังกล่าวบอกถึงระดับของรังสีที่ทำให้มีจำนวนต้นรอดชีวิต 50 % ในกรณีของถั่วฝักยาว สุรเชษฐ และคณะ (2548) รายงานว่าค่า LD_{50} มีค่าอยู่ในช่วง 38 – 42 Krad ดังนั้นปริมาณรังสีที่สูงเกินกว่าค่า LD_{50} จึงทำให้เกิดอันตรายต่อต้นอ่อนภายในเมล็ด รวมถึงต้นกล้าที่แม้จะเจริญเติบโตได้แต่จะไม่แข็งแรง อย่างไรก็ตามหากต้นพืชสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้และเจริญเติบโตได้ตามปกติ โอกาสที่จะมีการกลายพันธุ์เป็นไปได้สูง ส่วนระยะเวลาในการออกดอกของต้นถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านการฉายรังสีแกมมา ในทุกระดับอยู่ในช่วง 31 – 77 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลาออกดอกที่เร็ว และช้ากว่าต้นควบคุมที่มีระยะเวลาการบานของดอกใกล้เคียงกัน

(42 – 55 วัน) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า การฉายรังสีแกมมากับถั่วฝักยาวมีแนวโน้มที่จะทำให้ต้นถั่วฝักยาวในชั่วที่ 1 มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะไปในทางที่ดีขึ้น และลดลงควบคู่กันไป เพราะการฉายรังสีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างสุ่มที่ไม่สามารถควบคุมได้ รวมไปถึงความแตกต่างที่เกิดจากปริมาณรังสีที่ได้รับ แม้ให้ปริมาณเท่ากันแต่ผลของรังสีที่เกิดขึ้นอาจแตกต่างกัน ดังนั้นต้นที่ได้รับรังสีจึงแสดงผลที่แตกต่างกันไป ทำให้การคัดเลือกจึงต้องคัดเลือกรายต้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Shaikh และคณะ (1981) ที่ศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์ถั่วโดยเทคนิคทางปรมาณู

จากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงของลักษณะต่าง ๆ ซึ่งปรากฏในถั่วฝักยาวที่ได้รับรังสีทุกต้น แต่ไม่ปรากฏในชุดควบคุม ได้แก่ลักษณะการเป็นหมัน ลักษณะต้นแคระ ลักษณะใบด่างขาว ลักษณะใบแฉก และลักษณะลำต้นแบน ซึ่งลักษณะการเป็นหมัน พบว่าเป็นผลกระทบต่อผลผลิตของถั่วฝักยาวโดยตรง เพราะจะทำให้ไม่มีการติดฝักในกรณีที่เกิดการเป็นหมันอย่างสมบูรณ์ หรือติดฝักน้อยมากในกรณีที่เกิดการเป็นหมันไม่สมบูรณ์ สำหรับการเป็นหมันที่เกิดขึ้นในการทดลองครั้งนี้มีหลายแบบ เช่น เป็นหมันเพราะไม่สามารถสร้างดอกได้ หรือเป็นหมันเนื่องจากการทำงานของละอองเกสรผิดปกติ แม้จะสามารถติดฝักได้ แต่เมล็ดที่ได้ไม่สามารถนำไปปลูกต่อได้เพราะเมล็ดลีบ และไม่มีชีวิต ซึ่งต้นที่ได้รับรังสีที่มีลักษณะเป็นหมัน ทำให้เป็นอุปสรรคในการปรับปรุงพันธุ์อย่างแน่นอน โดยเฉพาะถั่วฝักยาวซึ่งเป็นพืชที่โดยปกติจะขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดเท่านั้น อย่างไรก็ตามในพืชบางชนิดลักษณะการเป็นหมันเป็นลักษณะที่ต้องการ ตัวอย่างเช่น มีการใช้รังสีแกมมาชักนำการเป็นหมันใน Niger (*Guizotia abyssinica* Cass) โดยใช้ปริมาณรังสี 200 – 1000 Gy (20 – 100 Krad) (Sujatha, 2001) นอกจากนี้ยังพบลักษณะผิดปกติ เช่น ต้นแคระ ใบด่างขาว ใบแฉก และลักษณะลำต้นแบน เป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาอันเป็นผลโดยตรงจากรังสี ลักษณะดังกล่าวนี้อาจเป็นความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับยีนหรือไม่ ต้องดูว่าพบลักษณะเหล่านี้ในลูกชั่วต่อไปหรือไม่ มีรายงานการพบลักษณะผิดปกติคล้ายต้นที่พบในการศึกษาครั้งนี้ในการฉายรังสีให้กับพืชหลายชนิด เช่น เบญจมาศ (Mandal *et al.*, 2000) และสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (ศิริลักษณ์ และพงเทพศ์, 2536) เป็นต้น

สำหรับการเปลี่ยนแปลงของจำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝักในชั่ว M_1 ของถั่วฝักยาวที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาเกือบทุกต้น มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะไปในทางที่ลดลงมากกว่าในทางที่เพิ่มขึ้น เพราะจำนวนฝักต่อต้นของทุกต้นมีน้อยกว่าชุดควบคุม แต่ในลักษณะความยาวฝักมีบางต้นที่มีความยาวฝักมากกว่าชุดควบคุม ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการใช้รังสีกับถั่วฝักยาวมีแนวโน้มที่จะทำให้ต้นถั่วฝักยาวในชั่ว M_1 มีการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต ทั้งในทางบวกและทางลบ ซึ่งสอดคล้องกับการใช้รังสีในถั่วเหลือง และ

ถั่วเขียวที่ทำให้ต้นถั่วเหลือง และถั่วเขียวมีผลผลิตลดต่ำลง (ณรงค์, 2520; ธีระ, 2525 และ Williams and Hanway, 1961)

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

การเปลี่ยนแปลงของลักษณะอื่น ๆ ก็เช่นเดียวกัน พบว่าในแต่ละระดับรังสีมีความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยค่อนข้างสูง ลักษณะที่เกิดการแปรปรวนได้แก่ ระยะเวลาการออกดอก จำนวนฝักต่อต้น ความยาวฝัก ให้ผลในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Odeigah และคณะ (2004) ที่ศึกษาการชักนำการกลายพันธุ์ในถั่วพุ่ม พบว่า ค่าเฉลี่ยของลักษณะฝักต่อต้น และระยะดอกบาน 50 % มีการเปลี่ยนแปลงในทางที่ดีขึ้น และลดลง จากการทดลองครั้งนี้ลักษณะที่น่าสนใจคือ วันออกดอก โดยต้น M_2 ของระดับรังสี 45 และ 50 Krad มีต้นที่มีระยะเวลาในการออกดอกเร็วกว่า ชุดควบคุม ส่วนจำนวนฝักต่อต้นกลับพบว่าในทุก ๆ ระดับรังสีมีค่าเฉลี่ยของจำนวนฝักต่อต้นน้อยกว่าชุดควบคุม แต่ค่าเฉลี่ยความยาวฝักในทุก ๆ ระดับรังสีกลับมีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยของชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนต้นในชั่ว M_2 มีลักษณะเป็นหมันมากกว่าในชั่ว M_1 คือไม่มีการพัฒนาของช่อดอกมีจำนวน 539 ต้น คิดเป็น 73.68 % การเป็นหมันเนื่องจากมีการออกดอกแต่ไม่ติดฝักมีจำนวน 118 ต้น คิดเป็น 16.34 % และการเป็นหมันเนื่องจากฝักไม่ติดเมล็ดมีจำนวน 25 ต้น คิดเป็น 3.46 % การเป็นหมันที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของยีนหรือโครโมโซมที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการพัฒนาของ gamete (Gaul, 1964) ทำให้ละอองเกสรไม่มีชีวิต หรือเกิดการตายก่อน (abortion) ซึ่งลักษณะดังกล่าวสามารถถ่ายทอดจากชั่ว M_1 มายังชั่ว M_2 เพราะเมล็ดที่นำมาปลูกในชั่ว M_2 ได้จากต้น M_1 ที่ปกติ แต่ไม่มีการแสดงออกในชั่ว M_1 เพราะอาจเป็นยีนด้อยจึงถูกข่มไว้ เมื่อปล่อยให้ต้น M_1 ผสมตัวเองได้เป็นเมล็ด M_2 จึงเกิดการแสดงออกของยีนเหล่านั้น นอกจากนี้ยังคงพบลักษณะต้นแคระ ซึ่งต่างจากที่พบในชั่ว M_1 ที่มีลักษณะต้นคล้ายต้นปกติ เพียงแต่มีขนาดเล็กกว่า

เท่านั้น แต่ต้นแคระในชั่ว M_2 มีลักษณะข้อสั้น ใบหนาแข็ง ใบค่อนข้างกลม และเจริญเติบโตช้ามาก (รูปที่ 13) และต้นเหล่านี้ไม่มีการสร้างดอก คือเป็นหมันอย่างสมบูรณ์ เมื่อพิจารณาอัตราการกลายพันธุ์ของถั่วฝักยาวในชั่ว M_2 ในลักษณะต้นแคระพบว่า จะปรากฏเฉพาะในถั่วฝักยาวที่ได้รับรังสี 50 Krad เท่านั้นโดยมีอัตราการกลายพันธุ์ 0.28 % ไม่พบความผิดปกติของลักษณะอื่น ๆ ในชั่ว M_2 ดังนั้นลักษณะผิดปกติที่พบในชั่ว M_1 ได้แก่ ใบแฉก ใบลักษณะกลม ใบด่าง ใบเรียวยาว และขนาดใบผิดปกติ เป็นความเสียหายทางสรีรวิทยา ที่เกิดจากผลกระทบโดยตรงจากปริมาณรังสี ไม่ได้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ควบคุมลักษณะเหล่านั้น จึงไม่สามารถถ่ายทอดไปสู่ชั่วถัดไปได้

การเปลี่ยนแปลงของต้นถั่วฝักยาวในชั่วที่ 3 (M_3) จากการศึกษาระยะเวลาการออกดอกของต้นถั่วฝักยาวชั่วที่ 3 พบว่ามีเฉพาะต้นถั่วฝักยาวที่เมล็ดผ่านการฉายรังสีระดับ 35 และ 50 Krad เท่านั้นที่มีการติดดอก ซึ่งค่าเฉลี่ยระยะเวลาของการออกดอกเร็วกว่าชุดควบคุม โดยต้นที่ติดดอกเร็วที่สุดใช้เวลา 26 วัน ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ย 46 วัน จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยของระยะเวลาการออกดอกของทั้ง 2 กลุ่มเร็วขึ้นกว่าชั่ว M_2 และถ้าพิจารณาระยะเวลาของการออกดอกของแต่ละต้นพบว่ามีความแปรปรวนสูง (26 – 68 วัน) วันออกดอกเป็นลักษณะหนึ่งที่นับว่าสำคัญเพราะเป็นตัวบ่งบอกวันเก็บเกี่ยว ถ้าวันออกดอกเร็วก็สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เร็วขึ้น อย่างไรก็ตามลักษณะนี้ค่อนข้างจะตอบสนองต่อสภาพแวดล้อม เช่น สภาพอากาศ อุณหภูมิ แสง และความชื้นสัมพัทธ์ ดังจะเห็นได้จากถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ซึ่งเป็นชุดควบคุม ในชั่ว M_2 ใช้เวลาออกดอกเฉลี่ย 63 วัน (ปลูกในช่วงเดือนมกราคม 2548 ถึงเดือนเมษายน 2548) แต่ในชั่ว M_3 ใช้เวลาออกดอก 46 วัน (ปลูกในช่วงเดือนกันยายน 2548 ถึงเดือนธันวาคม 2548) ซึ่งห่างกันถึง 17 วัน ทั้ง ๆ ที่เป็นพันธุ์เดียวกัน เพียงแต่ปลูกคนละช่วงเวลา นอกจากนี้แม้จะปลูกในช่วงเวลาเดียวกัน และสถานที่เดียวกัน ระยะเวลาออกดอกก็แตกต่างกันในแต่ละต้น มีรายงานความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นลงอย่างเช่น การศึกษาของ Ravikesavan และคณะ (2001) ในถั่วมะแฮะ (*Cajanus cajan* L. Huth) โดยใช้รังสีแกมมาในปริมาณต่าง ๆ กัน พบว่าที่ปริมาณรังสี 100 Gy (10 Krad) สามารถคัดเลือกพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวได้เร็วโดยมีอายุออกดอก 47.2 วัน เทียบกับต้นแม่เดิม 58.6 วัน ส่วนจำนวนฝักต่อต้นในชั่ว M_3 มีความแปรปรวนสูงเช่นกัน โดยจำนวนฝักต่อต้นมีค่าอยู่ในช่วง 1 – 91 ฝักต่อต้น ขณะที่ชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยจำนวนฝักต่อต้นเท่ากับ 25 ฝัก ความยาวของฝักเป็นอีกลักษณะที่มีความแปรปรวนสูง โดยความยาวฝักที่ระดับรังสี 35 Krad มีค่า 52.2 เซนติเมตร ส่วนระดับรังสี 50 Krad มีค่า 60.6 เซนติเมตร และมีผลไปในลักษณะเดียวกับระยะเวลาการออกดอก และจำนวนฝักต่อต้น

ลักษณะผิดปกติของถั่วฝักยาวชั่ว M_3 พบว่ามีลักษณะต้นแคระจำนวน 22 ต้น ซึ่งมาจากชั่ว M_2 จำนวน 3 สายต้น แต่ทั้ง 3 สายต้นในชั่ว M_2 มาจากชั่ว M_1 ต้นเดียวกัน ดังนั้นจึง

สามารถกล่าวได้ว่าสายต้นของ PSU50 – 001 มียีนที่ทำให้เกิดลักษณะต้นแคระที่เกิดจากการกลายพันธุ์โดยรังสีแกมมา 50 Krad ลักษณะนี้สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ ส่วนลักษณะการเป็นหมันยังคงพบในลักษณะคล้ายกับที่พบในชั่ว M_2 นอกจากนี้ ยังพบต้นที่มีลักษณะผิดปกติของฝัก คือลักษณะฝักเรียวเล็ก ที่เรียกว่าหางหนู ซึ่งลักษณะหางหนูอาจเกิดขึ้นจากความไม่สมบูรณ์ของต้น การผสมเกสร การเข้าทำลายของแมลง หรืออาจเกิดขึ้นจากการผิดปกติของยีนภายในต้น ถ้าเป็นลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นจากยีนจะมีการถ่ายทอดไปยังชั่วต่อไปได้ การคัดเลือกในชั่วที่ 3 (M_3) สามารถคัดเลือกต้นที่มีระยะเวลาในการบานของดอกเร็วกว่า ชุดควบคุม 7 – 17 วัน และมีผลผลิตต่อต้นสูงกว่าชุดควบคุมด้วย เมื่อพิจารณาถึงลักษณะจำนวนฝักต่อต้น ความยาวฝัก และลักษณะผิดปกติ จากการทดสอบในชั่วM_3 สามารถเก็บเกี่ยวต้นที่ผ่านการคัดเลือกได้ 49 ต้น แต่ในชั่วที่ 3 ตั้งเป้าในการคัดเลือกไว้ 15 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงคัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีที่สุดจากกลุ่มที่ผ่านการคัดเลือกมา 39 ต้น โดยแต่ละต้นแยกเก็บเกี่ยวรายต้น ซึ่งต้นที่ผ่านการคัดเลือกเป็นสายต้นจากชั่วที่ 2 จำนวน 11 สายต้น ซึ่งมาจากชั่วที่ 1 จำนวน 5 สายต้น ประกอบด้วย PSU50 – 001, PSU50 – 002, PSU50 – 003, PSU50 – 005 และ PSU35 – 032 ทั้งหมดนี้มีการปลูกในชั่วถัดไป (M_4) เพื่อเปรียบเทียบในแต่ละกลุ่มที่ผ่านการคัดเลือก เพื่อสร้างสายต้นใหม่ต่อไป

การเปลี่ยนแปลงของต้นถั่วฝักยาวในชั่วที่ 4 (M_4) จากการศึกษาระยะเวลาการออกดอกของต้นถั่วฝักยาวชั่วที่ 4 พบว่ามีการกระจายตัวของระยะเวลาดอกแรกบาน มีทั้งต้นที่ออกดอกเร็วกว่า และช้ากว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์คัด – มอ. ระยะเวลาของต้นที่ผ่านการคัดเลือกอยู่ในช่วง 47 – 52 วันหลังปลูก ส่วนค่าเฉลี่ยความยาวฝักในทุกสายต้นที่ผ่านการคัดเลือกจากถั่วฝักยาวชั่วที่ 3 มีค่าเฉลี่ยความยาวฝักมากกว่าพันธุ์คัด – มอ. ยกเว้นสายต้น PSU50 – 001 – 009 – 029 ที่มีค่าเฉลี่ยของความยาวฝักน้อยกว่าพันธุ์คัด – มอ. เมื่อพิจารณาในต้นที่ผ่านการคัดเลือกค่าเฉลี่ยความยาวฝักมีค่าอยู่ในช่วง 50.3 – 61.0 เซนติเมตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ยความยาวฝักของพันธุ์คัด – มอ. และในลักษณะจำนวนฝักต่อต้นมีความแปรปรวนสูง คือมีจำนวนฝักต่อต้นอยู่ในช่วง 2 – 9 ฝักต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนฝักต่อต้นในชั่วที่ 3 พบว่าจำนวนฝักต่อต้นมีการปรับลดลง ซึ่งการปรับลดลงในชั่วที่ 4 นี้เกิดขึ้นจากการปลูกทดสอบต่างของสภาพแวดล้อม และการเข้าทำลายของแมลง เนื่องจากชั่วที่ 3 ปลูกทดสอบในฤดูฝน และมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชในระหว่างการปลูกทดสอบ ส่วนในชั่วที่ 4 ทำการปลูกทดสอบในฤดูร้อน และมีการปล่อยให้มีการเข้าทำลายของแมลงอย่างอิสระ ทำให้มีการลดลงของผลผลิตในทุก ๆ สายต้นที่ทำการปลูกทดสอบ และในการคัดเลือกทำการคัดเลือกสายต้นที่มีจำนวนฝักมากกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์คัด – มอ. แล้วคัดเลือกต้นที่จำนวนฝักต่อต้นมากกว่าพันธุ์คัด – มอ. ที่อยู่ในสายต้นอีกครั้งหนึ่ง ต้นที่ผ่านการคัดเลือกมีจำนวนฝักต่อต้นอยู่ระหว่าง 6 – 27 ฝัก

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

จากต้นที่ผ่านการคัดเลือกเหล่านี้ จะต้องมีการคัดเลือกเป็นรายต้น โดยการปลูกแบบต้น/แถวในชั่วถัดไป คัดเลือกลักษณะต่าง ๆ ตามเกณฑ์ที่วางไว้ จนแน่นใจว่าพันธุ์มีความสม่ำเสมอ หลังจากนั้นต้องมีการทดสอบผลผลิตในหลายสานที่ หลายฤดู เพื่อให้มีความมั่นใจว่าเป็นสายพันธุ์ใหม่ที่ดีกว่าสายพันธุ์เดิม