



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

พืชไร่นา

พืชไร่นา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง อัตราพันธุกรรมของความทนทานแล้งและร้อนในถั่วเขียว

Heritability of Drought and Heat Tolerance in Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek)

นามผู้วิจัย นางสาวนวลมณี พรหมนิล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ยวีทิตร์ ใจอารีย์, Dr.rer.agr.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์สนธิชัย จันทน์เปรม, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

อัตราพันธุกรรมของความทนทานแล้งและร้อนในถั่วเขียว

Heritability of Drought and Heat Tolerance in Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilezek)

โดย

นางสาวนวลมณี พรหมนิล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นวลมณี พรหมนิล 2553: อัตราพันธุกรรมของความทนทานแล้งและร้อนในถั่วเขียว
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชไร่ นา ภาควิชาพืชไร่ นา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์วิจิตร ใจอารีย์, Dr.rer.agr. 83 หน้า

ความแห้งแล้งและสภาพอากาศร้อนเป็นปัจจัยสำคัญที่จำกัดผลผลิตถั่วเขียวในประเทศไทย การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้ทนทานต่อความแห้งแล้งและอากาศที่ร้อนจึงมีความสำคัญ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราพันธุกรรมและวิธีการคัดเลือกพันธุ์พืชทนร้อนและแล้งจากการประเมินคุณสมบัติลักษณะทางสรีรวิทยาของความทนทานแล้งและร้อนในถั่วเขียว 1 คู่ผสม ที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างถั่วเขียวพันธุ์ทนทานแล้งและร้อน (V1595, P₁) และถั่วเขียวพันธุ์อ่อนแอแล้งและร้อน (V3131, P₂) และประเมินความเป็นเอกภาพความแปรปรวนของถั่วเขียวสายพันธุ์พ่อแม่ (P₁, P₂) ลูกผสมชั่วที่ 1 (F₁) ลูกผสมชั่วที่ 2 (F₂) ลูกผสมกลับ BC₁P₁ และ BC₁P₂ ในระยะออกดอกในแปลงปลูก และในห้องปฏิบัติการ ของการปลูก 2 ฤดูกาลในสภาพการขาดน้ำ และได้รับน้ำตลอดฤดูปลูกโดยลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการ ได้แก่ การประเมินค่าประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้รับแสง (Φ_{PSII}) ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (Fv/Fm) เสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (CMT) ปฏิกริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ (TTC) ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบพืช (RWC) ความสูง น้ำหนักเมล็ด จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ผลการทดลองพบว่าลักษณะที่ประเมินมีความเป็นเอกภาพได้แก่ *in situ* Φ_{PSII} , *in situ* Fv/Fm, *in vivo* Φ_{PSII} , PEG- Φ_{PSII} , Heat- Φ_{PSII} , *in vivo* Fv/Fm, PEG-Fv/Fm, Heat-Fv/Fm, PEG, CMT, PEG-TTC, Heat-TTC, TTC, RWC ความสูง ผลผลิตต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ทั้งในสภาพขาดน้ำและได้รับน้ำในระยะออกดอก อัตราพันธุกรรมภายใต้สภาพการขาดน้ำอยู่ระหว่าง 0.02-0.99 โดยที่ลักษณะที่มีอัตราพันธุกรรมสูงสุด คือ PEG-TTC_{Stressed} (0.99) *in situ* Fv/Fm_{Stressed} (0.90) TTC_{Stressed} (0.89) PEG_{Stressed} (0.76) และ CMT_{Stressed} (0.74) ตามลำดับ และในสภาพได้รับน้ำปกติได้น้ำปกติมีค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.01-0.88 พารามิเตอร์ที่มีค่าอัตราพันธุกรรมสูง คือ PEG-TTC_{Control} (0.88) *in vivo* Fv/Fm_{Control} (0.85) PEG_{Control} (0.82) CMT_{Control} (0.82) และ Heat-Fv/Fm_{Control} (0.71) ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ค่าอัตราพันธุกรรมและพารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่นำมาใช้ทั้งในสภาพแปลงปลูกและห้องปฏิบัติการ สามารถนำไปใช้ได้ในการคัดแยกพืชในสภาวะแห้งแล้งและร้อนของถั่วเขียว

Nuanmanee Phromnil 2010: Heritability of Drought and Heat Tolerance in Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Master of Science (Agriculture), Major Field: Agronomy, Department of Agronomy. Thesis Advisor: Mr. Vititr Chairaree, Dr.rer.agr. 83 pages.

Drought and heat stresses are two major factors limiting mungbean yield in Thailand. Therefore, breeding new mungbean genotypes, which are able tolerance drought and heat is important. The objectives of this study were to estimate heritability and proper screening method using some physiological traits in relate to drouht and heat tolerance of drought and heat tolerance in a cross of mungbean derived from a tolerance mungbean line (V1595, P₂) and a susceptible mungbean line (V3131, P₁) and also evaluated the homogeneity of variances from two parents. P₁, P₂, F₁, F₂, BC₁P₁ and BC₁P₂ were evaluated at the reproductive stage under field and laboratory conditions during flowering period. Assay of drought and heat tolerance were light quantum yield (Φ_{PSII}), maximum quantum yield (Fv/Fm), cell membrane thermostability (CMT), triphenyl tetrazolium chloride (TTC), relative water content (RWC), height, seed dry weight, pod number per plant, 100 seed weight and seed number per plant. Homogeneity of variances of parents was homogeneous of populations were *in situ* Φ_{PSII} , *in situ* Fv/Fm, *in vivo* Φ_{PSII} , PEG- Φ_{PSII} , Heat- Φ_{PSII} , *in vivo* Fv/Fm, PEG-Fv/Fm, Heat-Fv/Fm, PEG, CMT, PEG-TTC, Heat-TTC, TTC, RWC, height dry weight per plant, pods per plant and seed numbers per pod which can to combine of seasons were the same heritability. Heritability ranged from 0.02-0.99 under stress conditions. The hight heritabilities were observed for PEG-TTC_{Stressed} (0.99) *in situ* Fv/Fm_{Stressed} (0.90). TTC_{Stressed} (0.89) PEG_{Stressed} (0.76) and CMT_{Stressed} (0.74). Heritabilities of the control ranged from 0.01-0.88 of which high heritabilities were obtained from PEG-TTC_{Control} (0.88) *in vivo* Fv/Fm_{Control} (0.85) PEG_{Control} (0.82) CMT_{Control} (0.82) and Heat-Fv/Fm_{Control} (0.71). The results of the study state that the parameters which have high heritability and appropriate could be used for selection for drought and heat tolerance in mungbean.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร. วิทิตร์ ใจอารีย์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษา แนะนำ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการทดลอง ขอขอบคุณพี่สิรินรี บุกบุญ พิ้ววิทย์ โสรัง จาภินันท์ พี่สนั่น ที่ให้ความช่วยเหลือให้คำปรึกษาในทุกๆด้าน รวมถึงพี่ๆ น้องๆ ที่ทำงานภายในศูนย์วิจัย

ขอขอบพระคุณ คุณพ่ออานันท์ พรหมนิล คุณแม่ลาวัลย์ พรหมนิล ที่เป็นแรงใจสนับสนุนในทุกๆ ด้าน ขอขอบคุณ พี่นงๆ พี่ๆ ในภาควิชาพืชไร่ทุกคนที่ช่วยเหลือที่ได้ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจ จนทำให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดี

นวลมณี พรหมนิล

มิถุนายน 2553

สารบัญ

หน้า

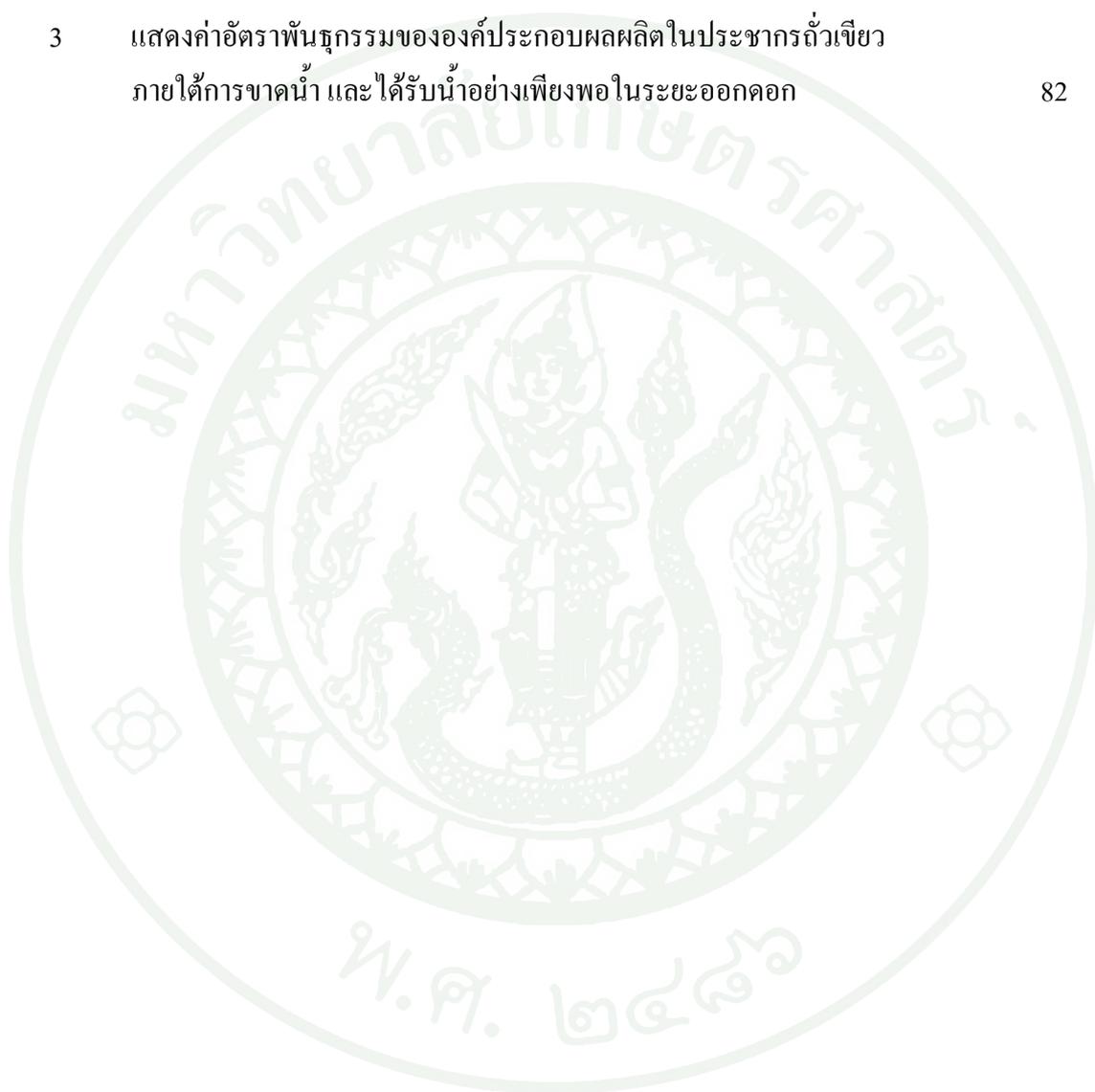
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
สัญลักษณ์และคำย่อ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	18
อุปกรณ์	20
วิธีการ	21
ผลและวิจารณ์	34
สรุปและข้อเสนอแนะ	66
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	67
ภาคผนวก	78
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	83

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงค่าความเป็นเอกภาพของพารามิเตอร์ของความทนทานแล้ง โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	36
2	แสดงค่าความเป็นเอกภาพของพารามิเตอร์ของความทนทานร้อน โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	38
3	แสดงค่าความเป็นเอกภาพขององค์ประกอบผลผลิต ในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	39
4	แสดงค่าอัตราพันธุกรรมของพารามิเตอร์ของความทนทานแล้ง โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	40
5	แสดงค่าอัตราพันธุกรรมของพารามิเตอร์ของความทนทานร้อน โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	41
6	แสดงค่าอัตราพันธุกรรมขององค์ประกอบผลผลิตในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	41
ตารางผนวกที่		
1	แสดงค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ของความทนทานแล้ง โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	79
2	แสดงค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ของความทนทานร้อน โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	81

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3	แสดงค่าอัตราพันธุกรรมขององค์ประกอบผลผลิตในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	82



สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง (<i>in situ</i> $\Phi_{PSIIStressed}$) ของ ประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	45
2	ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (<i>in situ</i> $Fv/Fm_{Stressed}$) ของ ประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	46
3	ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($\Phi_{PSIIStressed}$) ของ <i>in vivo</i> $Fv/Fm_{Stressed}$ PEG- $Fv/Fm_{Stressed}$ และ Heat- $Fv/Fm_{Stressed}$ ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	47
4	ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด ($Fv/Fm_{Stressed}$) ของ <i>in vivo</i> $Fv/Fm_{Stressed}$ PEG- $Fv/Fm_{Stressed}$ และ กลุ่ม Heat- $Fv/Fm_{Stressed}$ ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	48
5	ค่าเฉลี่ยของเสถียรภาพของ เซลล์เมมเบรน ($PEG_{Stressed}$) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	49
6	ค่าเฉลี่ยของเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน ($CMT_{Stressed}$) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	50
7	ค่าเฉลี่ยของปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ ($PEG-TTC_{Stressed}$) ของ ประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	50
8	ค่าเฉลี่ยของปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ ($Heat-TTC_{Stressed}$) ของ ประชากรเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	51
9	ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ในใบพืช ($RWC_{Stressed}$) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	52
10	ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($TTC_{Stressed}$) ของประชากร ถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	52
11	ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (<i>in situ</i> $\Phi_{PSIIControl}$) ของประชากร ถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ให้น้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	53

สารบัญภาพ (ต่อ)

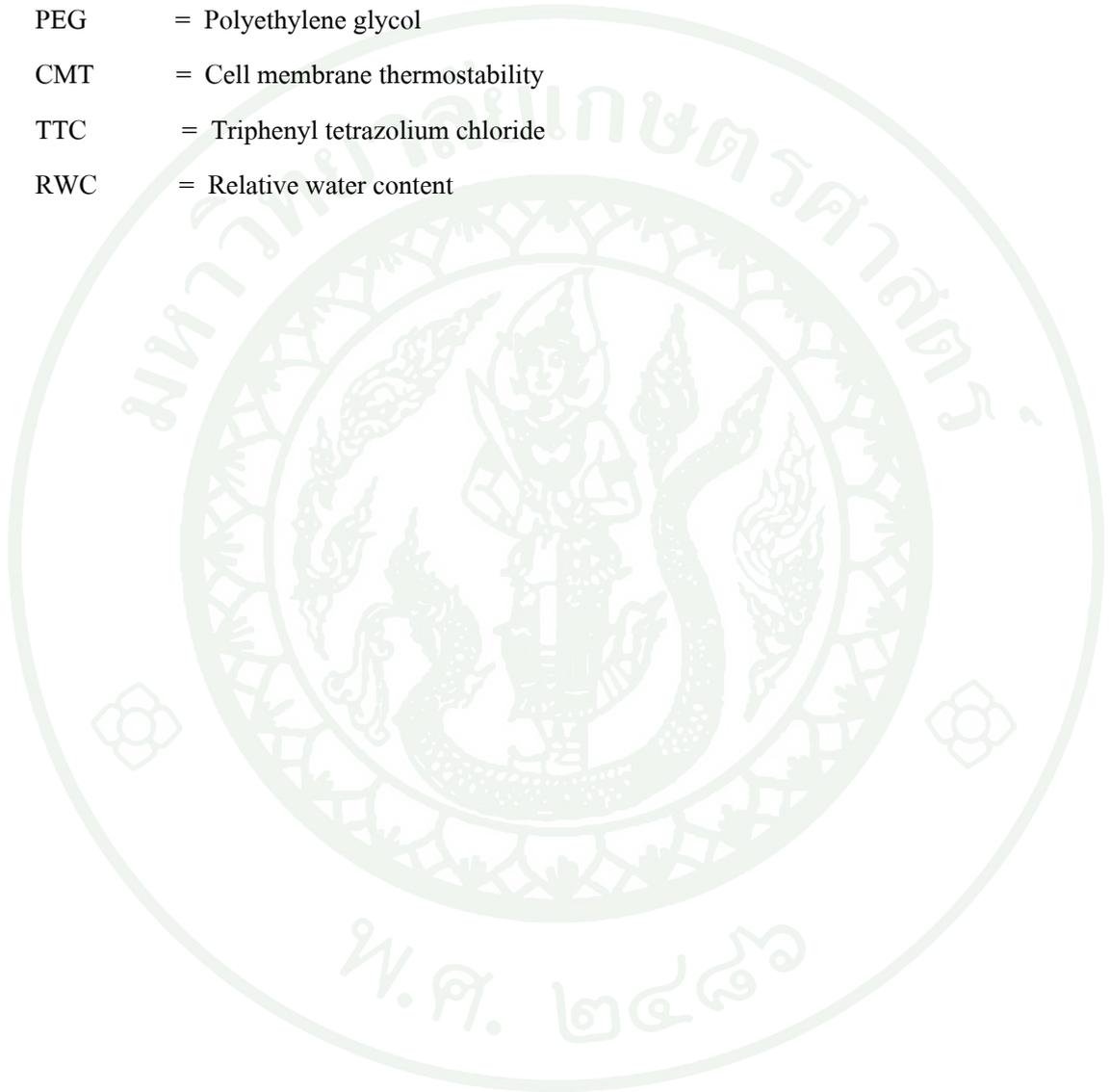
ภาพที่		หน้า
12	ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (<i>in situ</i> Fv/Fm _{Control}) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	54
13	ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($\Phi_{PSIIControl}$) ของ <i>in vivo</i> $\Phi_{PSIIControl}$ กลุ่ม PEG $\Phi_{PSIIControl}$ และ Heat- $\Phi_{PSIIControl}$ ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	55
14	ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (Fv/Fm _{Control}) ของ <i>in vivo</i> Fv/Fm _{Control} PEG-Fv/Fm _{Control} และ Heat-Fv/Fm _{Control} ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	56
15	ค่าเฉลี่ยของเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (PEG _{Control}) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	57
16	ค่าเฉลี่ยของเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (CMT _{Control}) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	57
17	ค่าเฉลี่ยของปฏิกิริยาของเตตราไซคลีมคลอไรด์ (PEG-TTC _{Control}) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	58
18	ค่าเฉลี่ยของปฏิกิริยาของเตตราไซคลีมคลอไรด์ (Heat-TTC _{Control}) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	59
19	ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ในใบพืช (RWC _{Control}) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	59
20	ค่าเฉลี่ยของความสูงของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	60
21	ค่าเฉลี่ยของผลผลิตต่อต้นของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	61
22	ค่าเฉลี่ยของจำนวนฝักต่อต้นของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำ ในระยะออกดอก	61

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 100 เมล็ด ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำ ในระยะออกดอก	62
24	ค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อฝักของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก	62
25	ค่าเฉลี่ยของความสูงของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	63
26	ค่าเฉลี่ยของผลผลิตต่อต้นของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	64
27	ค่าเฉลี่ยของจำนวนฝักต่อต้นของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	64
28	ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 100 เมล็ด ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	65
29	ค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อฝักของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก	65

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

Φ_{PSII}	= ประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง (effective quantum yield)
Fv/Fm	= ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (maximum quantum yield)
PEG	= Polyethylene glycol
CMT	= Cell membrane thermostability
TTC	= Triphenyl tetrazolium chloride
RWC	= Relative water content



อัตรารพันธุกรรมของความทนทานแล้งและร้อนในถั่วเขียว

Heritability of Drought and Heat Tolerance in Mungbean

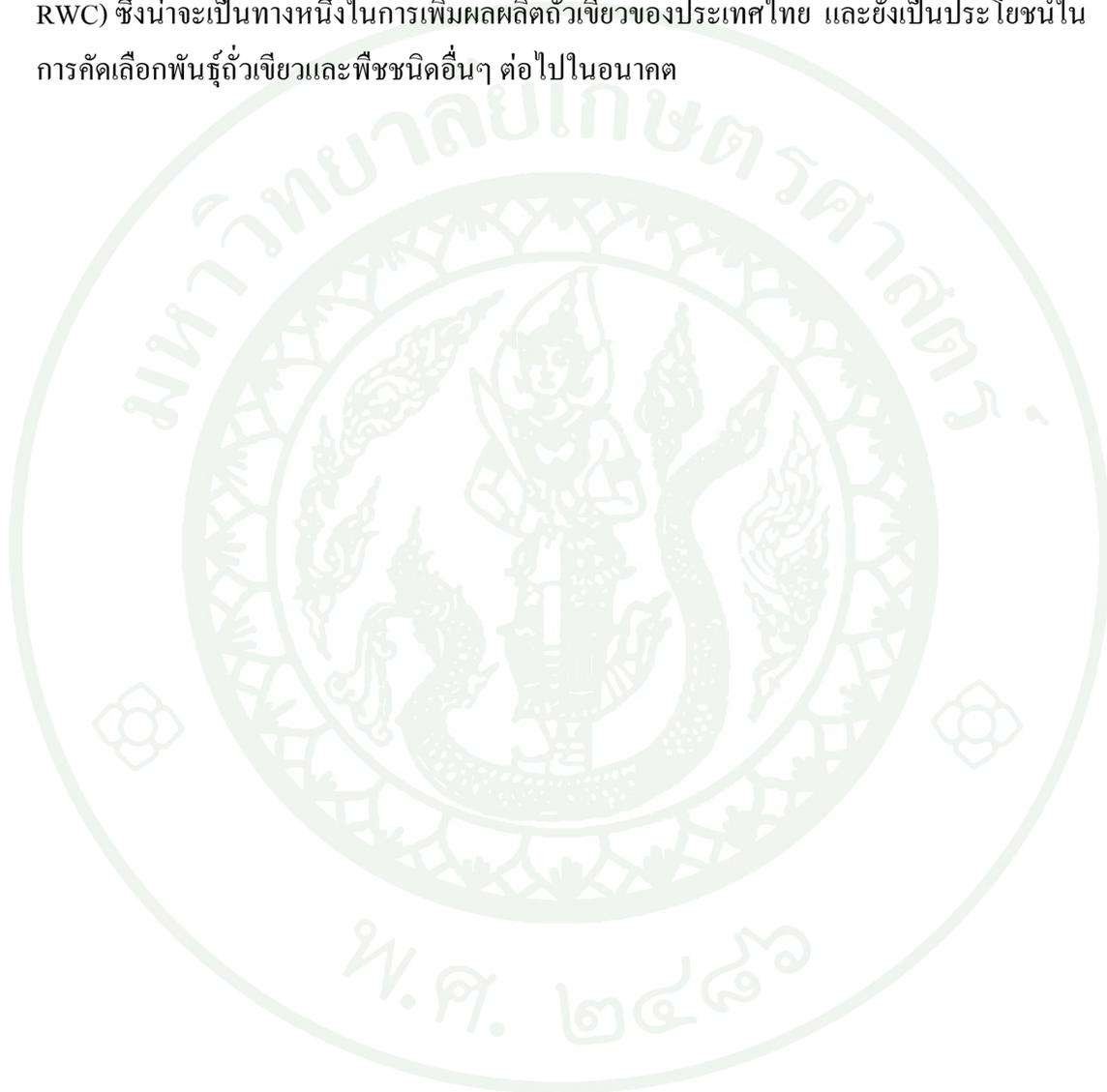
(*Vigna radiata* (L.) Wilczek)

คำนำ

ถั่วเขียวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดีย ประเทศที่ปลูกถั่วเขียวกันมากได้แก่ประเทศ อินเดีย สาธารณรัฐประชาชนจีน ไทย พม่า และเวียดนาม และการปลูกในประเทศไทย จะแยกเป็นถั่วเขียวผิวดำและผิวก้อน และนิยมปลูกถั่วเขียวสลับกับการปลูกพืชชนิดอื่น เนื่องจากถั่วเขียวเป็นพืชอายุสั้น สามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้โดยใช้น้ำหรือความชื้นที่มีอยู่ในดินอย่างจำกัด โดยอาศัยความชื้นที่มีอยู่หลังการปลูกพืชหลักเช่น หลังการปลูกข้าวในนา ข้าวโพด หรือบางครั้งปลูกก่อนพืชหลัก แต่บางครั้งถั่วเขียวที่ปลูกในประเทศไทยก็ประสบความแห้งแล้ง เนื่องจากขาดความชื้นในดินและอากาศ อากาศมีอุณหภูมิสูง ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตถั่วเขียวของประเทศไทยยังคงอยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำ (110-120 กก/ไร่) (ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย, 2550) ตามปกติแล้วถั่วเขียวมีการใช้น้ำต่อฤดูปลูกประมาณ 400-700 ลูกบาศก์เมตรต่อไร่ (เชิงอินทร์นิวัฒน์, 2552)

จากการที่ผลผลิตถั่วเขียวในประเทศลดลงจากสภาวะอากาศไม่เอื้ออำนวย และพื้นที่ปลูกลดลง จากการที่เกษตรกรหันไปปลูกพืชอื่นทดแทน ทำให้ประเทศไทยต้องนำเข้าเมล็ดถั่วเขียวทั้งถั่วเขียวผิวก้อนและผิวดำรวมทั้งผลิตภัณฑ์ ในบางปีที่ปริมาณถั่วเขียวไม่เพียงพอกับความต้องการ ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีพันธุ์ที่สามารถทนแล้ง และทนอากาศร้อนได้ และถั่วเขียวยังเป็นพืชที่มีศักยภาพในอนาคต มีความต้องการใช้ถั่วเขียวเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมเป็นจำนวนมาก (ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย, 2550) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาแนวทางที่จะแก้ปัญหา โดยเริ่มตั้งแต่การพัฒนาพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์ โดยการศึกษาครั้งนี้ทำการผสมข้ามถั่วเขียวกลุ่มสายพันธุ์ที่ทนทานแล้งและร้อน (tolerance) และสายพันธุ์อ่อนแอแล้งและร้อน (susceptible) เพื่อให้มีการกระจายตัวของในชั่วที่ 2 และประเมินอัตรารพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะความทนแล้งและร้อนของถั่วเขียว โดยใช้วิธีการคัดแยก (screening) โดยอาศัยคุณสมบัติของเซลล์เมมเบรน จากการวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโทรไลต์ที่รั่วไหลออกมาจากเซลล์ (electrolyte leakage conductivity, EC) ซึ่งจะนำไปคำนวณหา

เสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (cell membrane thermostability, CMT) ตรวจสอบการมีชีวิตของเซลล์จากปฏิกิริยาของ triphenyl tetrazolium chloride (TTC) การให้ความร้อน หาประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยการวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (chlorophyll fluorescence) และหาปริมาณน้ำใบพืชโดยการวัดค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (relative water content, RWC) ซึ่งน่าจะเป็นทางหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตถั่วเขียวของประเทศไทย และยังเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวและพืชชนิดอื่นๆ ต่อไปในอนาคต



วัตถุประสงค์

1. ศึกษาอัตราพันธุกรรมของลักษณะความทนทานแล้งและทนร้อนของถั่วเขียว
2. ศึกษาวิธีการคัดเลือกพันธุ์พืชทนร้อนและแล้งจากการประเมินคุณสมบัติลักษณะทางสรีรวิทยาของถั่วเขียว



การตรวจเอกสาร

ความแห้งแล้ง เป็นปัจจัยสำคัญต่อผลผลิตของพืชที่ปลูกในเขตร้อนชื้น พืชตระกูลถั่วเป็นพืชไร่ที่ได้รับผลกระทบอย่างมาก พืชตระกูลถั่วที่ปลูกก่อนฤดูทำนาข้าว มักประสบปัญหาของสภาวะแล้งในช่วงที่มีการเจริญทางต้นและใบ และพืชตระกูลถั่วที่ปลูกหลังฤดูทำนาข้าว ภายใต้อากาศที่พืชมีการใช้น้ำอย่างรวดเร็ว ทำให้พืชเกิดการขาดน้ำในช่วงเจริญพันธุ์ เนื่องจากการเจริญเติบโตของพืชอาศัยเพียงความชื้นที่สะสมอยู่ในดินเท่านั้น ถั่วเขียวผิวมัน ถั่วเขียวผิวดำ ถั่วลิสง ถั่วเหลือง และถั่วพุ่ม มักประสบปัญหาจากสภาวะแล้งที่ทำให้ผลผลิตตกต่ำ เนื่องจากความแปรปรวนของปริมาณ และการกระจายตัวของฝนที่ไม่แน่นอน (สายพันธ์, 2537)

ความทนทานต่อสภาวะแห้งแล้ง (drought tolerance)

ภาวะเครียดในพืชที่เกิดจากความแห้งแล้ง อาจมาจากหลายสาเหตุ เช่น ปริมาณน้ำในดินน้อยเกินไป อัตราการระเหยของน้ำสูง สภาพอากาศที่แห้ง ปริมาณน้ำฝนน้อย สภาพดินเค็ม หรือน้ำในดินกลายเป็นน้ำแข็งซึ่งเป็นสภาพการณ์ที่เกิดขึ้นในเขตหนาว ซึ่งล้วนแล้วแต่ทำให้พืชอยู่ในภาวะที่ขาดน้ำทั้งสิ้น โดยทั่วไปสาเหตุของความแห้งแล้งมักจะเกิดจากปริมาณน้ำฝนที่น้อยเกินไป ร่วมกับการเกิดอัตราการระเหยของน้ำที่สูง ดังนั้น ในสภาวะที่พืชขาดน้ำย่อมมีความผิดปกติต่างๆ เกิดขึ้น เช่น แรงดันเต่งภายในเซลล์ลดลง ทำให้เกิดปรากฏการณ์ plasmolysis ขึ้น และพืชจะแสดงอาการเหี่ยว ในทางสรีรวิทยาพบว่า ขณะที่เกิดภาวะขาดน้ำ เมื่อแรงดันเต่งลดลง พืชจะพยายามหาทางรักษาภาวะสมดุลเอาไว้ และการทนแล้ง (drought tolerance) ก็เป็นความสามารถของพืชที่จะมีชีวิตรอดอยู่ได้เมื่อประสบกับสภาพแล้ง โดยการลดศักย์ของน้ำ (water potential) เช่น การปรับระดับของสารละลายในเซลล์โดยวิธีการปรับแรงดันออสโมซิส (osmotic adjustment) เพื่อให้เซลล์เต่ง การยืดหยุ่นของผนังเซลล์ (cell wall elasticity) การลดขนาดของเซลล์ หรือลดสภาวะระดับน้ำวิกฤตที่จะทำให้พืชตาย กลไกอย่างหนึ่งที่เกิดขึ้นคือ การสร้างสารประกอบไนโตรเจนและคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้เพิ่มมากขึ้นในเซลล์ มีการเปลี่ยนแปลงให้เป็นน้ำตาลเพื่อลดค่าศักย์ภายในเซลล์ และทำให้เกิดการออสโมซิสของน้ำกลับเข้ามาในเซลล์ให้มากขึ้น เพื่อชะลอการไม่ให้แรงดันเต่งลดลง ทำให้เซลล์รักษาสภาพเอาไว้ได้

ความทนทานต่อสภาวะร้อน (heat tolerance)

อุณหภูมิที่สูงมากเกินกว่าปกติ จะมีผลกระทบโดยตรงต่อพลังงานอิสระของโมเลกุลของสารต่างๆ พลังงานที่เกิดขึ้นระหว่างพันธะของโมเลกุล รวมไปถึงลักษณะโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ และความต้องการพลังงานที่จะนำไปใช้ในกระบวนการทางชีวเคมีต่างๆ ย่อมจะเปลี่ยนแปลงไปด้วย พืชแต่ละชนิดจะมีระดับความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่แตกต่างกัน การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิหากเกิดอย่างค่อยเป็นค่อยไป พืชอาจมีกลไกที่สามารถปรับให้เซลล์หรือโครงสร้างหรืออวัยวะต่างๆ อยู่ในภาวะสมดุลหรือไม่เกิดอันตราย แต่หากการเปลี่ยนแปลงนั้นเกิดอย่างเฉียบพลันหรือเกิดขึ้นมากในระดับที่เกินกว่าที่พืชจะสามารถรักษาสมดุลไว้ได้ โครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์จะค่อยๆ เสีย หรือถูกทำลาย จนกระทั่งเซลล์ตายในที่สุด

ในแต่ละถิ่นอาศัย โดยเฉพาะในเขตร้อน (tropic) ของโลก อุณหภูมิที่สูงขึ้นนอกจากจะเกิดจากแสงอาทิตย์ที่พืชได้รับแล้ว ยังอาจเกิดจากกระแสลมร้อน (hot air current) ที่พัดผ่านมา ไฟป่า รวมไปถึงพลังงานความร้อนจากใต้พิภพ เช่น จากภูเขาไฟ อุณหภูมิที่สูงขึ้นเพียงเล็กน้อยอาจมีผลกระทบอย่างมากต่อระบบการสืบพันธุ์ของพืชหลายชนิด เช่น ข้าวโพด ข้าว มะเขือเทศ บร็อคโคลี่ คენห่า กะหล่ำ กวางตุ้ง และถั่วต่างๆ (Takeda *et al.*, 1999) มีการศึกษาพบว่าหากพืชได้รับความร้อนหรืออุณหภูมิที่สูงขึ้นมาก ในช่วงระยะที่พืชเริ่มสร้างดอกหรือกำลังติดผล มักจะส่งผลกระทบต่อออองเรณู (pollen) เป็นหมัน หรือมีผลผลิตที่ต่ำลงตามลำดับ Konsens *et al.* (1991) รายงานว่าอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นจาก 17 องศาเซลเซียส ไปเป็น 27 องศาเซลเซียสมีผลทำให้ผลผลิต ขนาดฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝักของถั่ว snap bean ลดต่ำลง ซึ่งอุณหภูมิที่ทำความเสียหายต่อพืช จะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดและพันธุ์พืช หรือขึ้นอยู่กับชนิดของเนื้อเยื่อพืชที่ได้รับอุณหภูมิสูงนั้นๆ โดยตรง ในพืชเมืองหนาว อุณหภูมิในช่วง 23-25 องศาเซลเซียสถือว่าเป็นอุณหภูมิที่อาจเป็นอันตราย (killing temperature) ของพืช และอาจทำให้พืชแสดงอาการผิดปกติได้ (ลิลลี่, 2546)

Aggarwal and Poehlman (1977) รายงานว่า ระดับอุณหภูมิสูงกว่า 28 องศาเซลเซียส จะทำให้ถั่วเขียวหายใจเพิ่มขึ้น ลดกระบวนการสังเคราะห์แสง ส่งผลให้มีการเจริญเติบโตช้าลง ถั่วเขียวที่ได้รับอุณหภูมิเฉลี่ยเพิ่มขึ้นจะออกดอกเร็ว แต่อาจทำให้ดอกร่วงได้ถ้าสภาพอื่นๆ ไม่เหมาะสม เช่น สภาพที่บรรยากาศมีความชื้นต่ำ

Dickson (1993) รายงานว่า อุณหภูมิสูงจะทำความเสียหายให้กับบรีอคโคลิ ในช่วง 3-4 สัปดาห์ก่อนถึงระยะเก็บเกี่ยว ส่วนพันธุ์ลูกผสมสามารถทนทานต่ออุณหภูมิสูงได้ และคุณภาพของผลผลิตไม่ลดลง แต่จะไม่ทนต่อการสุกแก่ที่เร็ว

ระดับอุณหภูมิที่สูงเกินไปจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์และโครงสร้างของโปรตีน และเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ ในคลอโรพลาสต์นั้นก็เป็นโครงสร้างที่ไวต่อภาวะความเครียดที่เกิดจากอุณหภูมิที่สูงมาก และมักจะเสียหายไปทำให้ในภาวะที่อุณหภูมิสูงผิดปกติ กระบวนการสังเคราะห์แสงจะไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยระบบแสงสอง (photosystem II) ในปฏิกิริยาแสง (light reaction) จะหยุดทำงาน (Petkova *et al.*, 2007) ซึ่งจะส่งผลให้ปฏิกิริยาตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในวัฏจักรคัลวินเสียสมดุล เช่นเดียวกัน อุณหภูมิสูงในช่วงที่ใกล้จะเป็นอันตรายต่อพืช (sub-lethal temperature) มีผลต่อการลดปริมาณของแป้งและโปรตีนที่พืชสะสมไว้ ดังนั้นการเติบโตและการพัฒนาการของพืชซึ่งขึ้นอยู่กับอาหารเหล่านี้จึงชะงักลง อุณหภูมิดังกล่าวนี้จะทำให้พืชสูญเสียเสียน้ำและเกิดสภาวะขาดน้ำ ดังนั้นกลไกความต้านทานต่อการขาดน้ำจึงมักมีผลทำให้เกิดความต้านทานหรือทนทานต่ออุณหภูมิสูงได้ด้วยเช่นกัน (ลิลลี่, 2546) การที่อุณหภูมิสูงไปมีผลโดยตรงต่อการสูญเสียโครงสร้างและการตกตะกอนของโปรตีนเช่นเดียวกันกับการขาดน้ำ ฉะนั้นพืชที่มีคุณสมบัติทนทานต่ออุณหภูมิสูงได้จึงน่าจะมีกลไกที่สามารถสร้าง โปรตีนหรือเอ็นไซม์ที่คงตัว (stable) หรือสร้างได้ทันกับส่วนที่สูญเสียไป (ลิลลี่, 2546)

Weaver *et al.* (1985) รายงานว่า การให้อุณหภูมิสูงกับละอองเกสรในดอก สามารถจำแนกสายพันธุ์ที่อ่อนแอ และทนทานต่อสภาพร้อนได้

Hall (1990) พบว่า ความทนทานต่อสภาพร้อนในระยะการพัฒนาดอกของพืชสกุล *Vigna* ถูกควบคุมด้วยยีนด้อย (recessive gene) และในระยะการพัฒนาละอองเกสรเพศผู้ (anther) ถูกควบคุมด้วยยีนเด่น (dominant gene)

การคัดเลือกพืชทนแล้งและร้อนจากเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (cell membrane stability, CMT)

เซลล์เมมเบรนประกอบด้วยสองส่วนที่สำคัญ คือ ไขมันและโปรตีน ทำหน้าที่ ควบคุมการเข้าออกของสารละลายหรือไอออนต่างๆ การทดสอบโดยวิธีการนำไฟฟ้า เป็นการวัดปริมาณ

สารที่รั่วไหลออกมาจากเซลล์พืช (electrolyte leakage conductivity) (Martineau *et al.*, 1979) เมื่อเซลล์เมมเบรนเสียหายจากการขาดน้ำหรือได้รับอุณหภูมิสูง เซลล์เมมเบรนจะสูญเสียสภาพการกักเก็บสารต่างๆ ส่งผลให้สารอิเล็กโทรไลต์เหล่านั้น เช่น กรดอะมิโน น้ำตาล โปรตีน และสารอินทรีย์อื่นๆ รั่วไหลออกมาจากเซลล์ เมื่อเมล็ดพืชได้ดูดซับน้ำจากการที่นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-24 ชั่วโมงแล้วนั้น น้ำที่ผ่านการแช่เมล็ดพืช ที่เสื่อมสภาพจะมีค่าการนำไฟฟ้าสูง (จงจันทร์, 2522)

เสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน ถูกนำมาใช้ในการประเมินความทนทานแล้งและความทนทานต่ออุณหภูมิ (Sullivan, 1972; Martineau *et al.*, 1979; Blum and Ebercon, 1981; Sadalla *et al.*, 1990; Reynolds *et al.*, 1994; Fokar *et al.*, 1998; Kocheva *et al.*, 2004) โดยจะประเมินหนึ่งในองค์ประกอบของลักษณะของพืชนั้น ซึ่งจะประเมินการลดลงของแรงดันออสโมติก โดยใช้ PEG เช่นในข้าวฟ่าง (Sullivan, 1972) ข้าวสาลี (Blum and Ebercon, 1981; Premachandra and Shimada, 1987a;) หลู่ (Premachandra and Shimada, 1987b) ข้าวโพด (Premachandra *et al.*, 1989) และข้าวบาร์เลย์ (Kocheva *et al.*, 2004) เป็นต้น

Beweley (1979) ได้รายงานถึงความสำคัญของเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (cell membrane stability) เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะการขาดน้ำ ว่าเป็นกลไกที่สำคัญของการทนทานความแห้งแล้ง (drought tolerance) โดยพบว่า อัตราของความเสียหายหรือการเสียหายของเซลล์เมมเบรน วัดได้จากความสามารถในการนำไฟฟ้าด้วย electrical conductivity meter

Blum and Ebercon (1981) ใช้วิธีการนี้ในการแยกความทนทานต่อสภาพความแห้งแล้งในข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์ เนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่อเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (cell membrane thermostability) และยังสามารถใช้ในการแยกความแตกต่างทางพันธุกรรม ในลักษณะทนทานต่อความร้อนและแล้งได้ในพืช cowpea และถั่วลิสง (Hall, 1992)

Abdelbagi and Anthony (1999) ได้ศึกษาวิธีการคัดแยกหา (screening) ลักษณะความทนร้อน (heat tolerance) จากอุณหภูมิที่มีผลต่อเสถียรภาพของเมมเบรน (membrane thermostability) ในการเจริญเติบโตของถั่วพุ่มในระยะเจริญพันธุ์ (reproductive stage) 2 ระยะ คือ ในระยะก่อนออกดอก (early flowering stage) และในระยะติดฝัก (pot setting) โดยเสถียรภาพของเมมเบรน วัดได้จากความสามารถในการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ ที่รั่วไหลออกมาจากเซลล์ เนื่องจากการ

เสถียรภาพของเมมเบรนเมื่อได้รับความร้อน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที ด้วยเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity meter) โดยจัดกลุ่มของความสามารถในการทนร้อน (heat tolerance) ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ สายพันธุ์ที่ทนร้อนในระยะก่อนออกดอกและในระยะติดฝัก สายพันธุ์ที่ทนร้อนในระยะก่อนออกดอก แต่ไม่ทนร้อนในระยะติดฝัก สุดท้ายสายพันธุ์ที่อ่อนแอเมื่อได้รับความร้อนทั้งในระยะออกดอกและติดฝัก พบว่า ในกลุ่มแรก คือสายพันธุ์ที่ทนร้อนในระยะก่อนออกดอก และในระยะติดฝัก มีเปอร์เซ็นต์ของสารอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ ที่รั่วไหล (เปอร์เซ็นต์ electrolyte leakage ; เปอร์เซ็นต์ EC) ออกมาต่ำ คือ 31-53 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าอีก 2 กลุ่ม คือในกลุ่มที่สายพันธุ์ที่ทนร้อนในระยะก่อนออกดอก แต่ไม่ทนร้อน (heat susceptible) ในระยะติดฝัก กับสายพันธุ์ที่อ่อนแอเมื่อได้รับความร้อนทั้งในระยะออกดอกและติดฝัก ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ EC ถึง 62-87.5 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองดังกล่าว เปอร์เซ็นต์ EC สามารถแยกลักษณะของความทนทานและอ่อนแอต่อความร้อนได้

Amir *et al.* (2001) ศึกษาพันธุกรรมควบคุมความทนทานร้อนในข้าวสาลี 6 พันธุ์ โดยการวิเคราะห์การผสมแบบพบกันหมด ประเมินความเสียหายจากเสถียรภาพของเมมเบรนของ ลูกผสมชั่วที่ 1 วัดจากความสามารถในการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโทรไลต์ต่างๆ ที่รั่วไหลออกมานอกเซลล์ที่อายุกล้าได้ 12 วัน และทดสอบความสามารถในการรวมตัวทั่วไป และในการรวมตัวเฉพาะ พบว่า มีอิทธิพลของฝ่ายแม่ 67 เปอร์เซ็นต์ ของการผสมแบบสลับ และสามารถนำความทนทานร้อนมาทดสอบเสถียรภาพของเมมเบรน ในการปรับปรุงเชื้อพันธุกรรมที่มีอยู่ได้

เทคนิคการคัดเลือกพืชทนแล้งโดยใช้ polyethylene glycol (PEG)

การทดสอบและคัดเลือกพันธุ์พืชทนแล้ง สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้สารละลาย PEG เป็นตัวควบคุมให้พืชอยู่ในสภาวะเครียดในระดับต่างๆ ตามที่ต้องการได้ PEG มีชื่อทางการค้าว่า Carbowaxes มีสูตร โครงสร้าง $\text{HOCH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$ มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ กัน ตั้งแต่ 300-20,000 เป็นสารที่มีพิษต่อคนและสัตว์น้อยมาก (Smyth *et al.*, 1955) การที่พืชได้รับสภาวะเครียดด้วยสารละลาย PEG ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 6000 มีผลทำให้แรงดันออสโมติกลดลง จากที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีแรงดันออสโมติกที่ -0.5 MPa และที่ 45 เปอร์เซ็นต์มีค่าลดลงถึง -1.76 MPa (Michel and Kaufmann, 1973) PEG สามารถชักนำให้พืชเกิดการขาดน้ำ (water deficit) และการใช้ประโยชน์จาก PEG นี้เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการทดสอบและคัดเลือกพืชทนแล้งในห้องปฏิบัติการเช่น มะเขือเทศ (Jacomini *et al.*, 1988) ข้าวโพด

(Ratanadilok and Hussain, 1980) ข้าวสาลี (Blum *et al.*, 1980) และข้าวบาร์เลย์ (Kocheva *et al.*, 2004)

การคัดเลือกพันธุ์พืชทนแล้ง สามารถทำได้โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ หรือกลุ่มเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยงที่เติมสาร osmoticum บางชนิดเช่น polyethylene glycol (PEG) manitol และ glucose เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้จะทำหน้าที่ลด osmotic potential ของสารละลายอาหารที่อยู่รอบๆ เซลล์ หรือกลุ่มเซลล์ ทำให้เซลล์อยู่ในสภาพที่ขาดน้ำ (Bressan *et al.*, 1981)

Masyhudi and Ambarwati (1993) คัดเลือกพันธุ์ข้าวทนแล้งโดยใช้ PEG เป็น selective agent และได้คัดเลือกโดยใช้ข้าว indica พันธุ์ IR36 IR64 Kapuas Sentain และข้าว javanica พันธุ์ Pandanwangi และ Rojolele มาเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดแคลลัส (LS medium) ที่เติม 2,4-D ปริมาณ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinitin 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อได้แคลลัสแล้วนำมาคัดเลือกการทนแล้งในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยย้ายลงอาหารชักนำให้เกิดต้นสูตร LS medium ที่เติม BAP จำนวน 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ PEG ที่ระดับ 0, 10, 20, 40 และ 80 กรัมต่อลิตร พบว่า พันธุ์ Sentain เป็นพันธุ์ที่สามารถทนต่อ PEG ได้สูงสุด

ประภา (2538) ได้ทำการคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนทานต่อสภาพแล้งโดยใช้สารเคมี polyethylene glycol (PEG) พบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม PEG ปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิต (70.1 เปอร์เซ็นต์) สูงกว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม PEG (67.9 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อความเข้มข้นของ PEG มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ อัตราการรอดชีวิตจะลดลง และตายหมดเมื่อความเข้มข้น PEG เพิ่มขึ้นเป็น 40 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากคัดเลือกแคลลัสที่รอดชีวิตแล้ว ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม PEG ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการพัฒนาไปเป็นต้นต่ำเพียง 1.3 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น ส่วนแคลลัสที่คัดเลือกบนอาหารที่เติม PEG ความเข้มข้นมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้

Blum *et al.* (1980) ได้ศึกษาวิธีการคัดเลือกพันธุ์ข้าวสาลีทนแล้งในระยะกล้าด้วยสารละลาย PEG 6000 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่าข้าวสาลีสายพันธุ์ต่างๆ มีความสามารถในการงอกได้แตกต่างกันที่ระดับความเข้มข้นของสารละลาย PEG ในระดับเดียวกัน และในข้าวสาลีสายพันธุ์เดียวกัน เมื่อนำมาทดสอบความแห้งแล้งในระดับความเข้มข้นของสารละลาย PEG ที่

ต่างก็แสดงความสามารถในการเจริญเติบโต และการมีชีวิตอยู่รอดได้แตกต่างกัน ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าในระดับความเข้มข้นระดับเดียวกันนี้ สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้ ซึ่งในสายพันธุ์ที่อ่อนแอจะแสดงอาการเหี่ยวแห้ง หรือตาย แสดงว่าการชักนำให้เกิดสภาวะเครียดในระดับดังกล่าว สามารถใช้ทำการทดสอบและคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่ทนแล้งได้

การคัดเลือกพืชทนแล้งและร้อนจากการปฏิกิริยาของ Triphenyl tetrazolium chloride (TTC)

สารเตตราโซเลียม ($C_{19}H_{15}N_4Cl$) มีชื่อทางเคมีว่า 2,3,5 - triphenyl tetrazolium chloride (TTC) เป็นสารเคมีผงสีขาว มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) 334.81 การทดสอบนี้อาศัยหลักการพื้นฐานทางชีวเคมีจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ dehydrogenase ซึ่งมีอยู่ในเซลล์ที่มีชีวิต เอนไซม์นี้จะเกี่ยวข้องกับการหายใจและปลดปล่อย H^+ ออกมา เมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายเกลือเตตราโซเลียม ซึ่งเป็นสารละลายที่ไม่มีสีและแพร่กระจายได้ จะเปลี่ยนรูปเป็นสารใหม่คือ ฟอรัมาแซน (formazan) ที่มีสีแดงและไม่แพร่กระจาย (Towill and Mazur, 1974) ดังนั้นเซลล์ที่มีชีวิตหลังการแช่สารละลายนี้จะติดสีแดง ในขณะที่เซลล์ที่ไม่มีชีวิตหรือเซลล์ที่ตายแล้ว จะยังคงเป็น สีเดิมหรือไม่ติดสี และสีที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถวัดได้โดยสกัดจากใบพืชด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เซลล์ที่มีชีวิตจะได้สีแดง ส่วนเซลล์ที่ไม่มีชีวิตจะได้สีเขียวของคลอโรฟิลล์ ซึ่งสามารถประเมินความทนทานร้อนได้ในพืช เช่น ข้าวสาลี (Porter *et al.*, 1995; Fokar *et al.*, 1998)

คลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (chlorophyll fluorescence)

การดูดกลืนแสงของโมเลกุลของสารใด ๆ นั้น จะขึ้นอยู่กับระดับพลังงานหรือช่วงคลื่นของแสงแต่ละชนิด แสงในช่วงที่ตามองเห็นจะมีความยาวช่วงคลื่นประมาณ 380-760 นาโนเมตร เมื่อโมเลกุลของสารดูดแสงช่วงคลื่นนี้จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของโมเลกุลทำให้มีอิเล็กตรอนอยู่ในสภาพเร่งเร็ว (exciting state) ในสภาพปกติก่อนที่โมเลกุลจะดูดพลังงานแสง โมเลกุลอยู่ในสภาพเสถียรหรือคงตัว (ground state) พลังงานของอิเล็กตรอนหรือโมเลกุลที่สูงขึ้นจากระดับปกติและอยู่ในสภาพเร่งเร็วนี้เรียกว่า พลังงานเร่งเร็ว (excitation energy) ซึ่งเป็นพลังงานที่ไม่คงตัวและเกิดในสภาพสั้นมากเพียงเสี้ยววินาที ถ้าต้องการใช้พลังงานนี้ให้เป็นประโยชน์จะต้องส่งถ่ายอิเล็กตรอนหรือพลังงานผ่านโมเลกุลของรงควัตถุที่อยู่ติดกันเป็นทอดๆ โดยต่อเนื่องกันจนถึงศูนย์กลางของปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสง ถ้าพลังงานเร่งเร็วนี้ไม่สามารถส่งถ่ายอิเล็กตรอนไปยังสารอื่นได้ภายในระยะเวลา 10^{-9} วินาที พลังงานเร่งเร็วนี้จะต้องจัดออกไปจาก

ระบบในรูปของความร้อน หรือเปลี่ยนเป็นแสงที่มีความยาวคลื่นมากกว่าเดิมหรือเกิดการเรืองแสงที่เรียกว่า ฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) (สมบุญ, 2536; Fracheboud, 2001)

สำหรับพืชโดยทั่วไปแล้วพลังงานแสงจะถูกดูดกลืนด้วยโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เพื่อนำไปใช้ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์แสง อย่างไรก็ตามจะมีพลังงานอีกส่วนหนึ่งที่ไม่ได้ใช้ในปฏิกิริยานี้ พืชจึงมีกลไกในการปลดปล่อยพลังงานนี้ออกมาในลักษณะต่างๆ เช่นการสะท้อนกลับของรังสีและการเปล่งรังสีฟลูออเรสเซนซ์ (Hall *et al.*, 1993) ซึ่งจำนวนของคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์จะเป็นตัวชี้วัดความคงตัวของไทลาคอยด์เมมเบรน และประสิทธิภาพความสัมพันธ์ของการส่งถ่ายอิเล็กตรอนจาก Photosystem II (PSII) ไปยัง Photosystem I (PSI) (Schreiber and Armond, 1978; Smillie, 1979; Krause and Weis, 1984)

ในสภาพปกติเมื่อใบพืชได้รับความมืดประมาณ 30 นาที พบว่าส่วนของตัวรับอิเล็กตรอน (electron acceptor) ใน Photosystem II (PSII) จะอยู่ในสภาพ ground state และสามารถเปิดรับพลังงานจากรังสีดวงอาทิตย์ได้สูงสุด แต่อย่างไรก็ตามในสภาพนี้คลอโรฟิลล์ก็สามารถเปล่งฟลูออเรสเซนซ์ออกมาได้ต่ำสุดเรียกว่า F_0 (minimum fluorescence) ในทันทีที่พืชได้รับรังสีดวงอาทิตย์ electron acceptor เปลี่ยนไปอยู่ในสภาพ excited state และการเปล่งรังสีฟลูออเรสเซนซ์จากคลอโรฟิลล์ก็จะเพิ่มไปสู่สภาพสูงสุดเรียกว่า F_m (maximum fluorescence) จากนั้นค่านี้ก็จะลดลงสู่ระดับ F_0 อีกครั้งเมื่อพลังงานถูกส่งต่อไปยัง Photosystem I (PSI) ส่วนของ electron acceptor ก็จะสามารถรับพลังงานจากรังสีดวงอาทิตย์ได้อีกต่อไป ความแตกต่างระหว่างค่า F_m และ F_0 เรียกว่า variable fluorescence (F_v) อัตราส่วนของ F_v/F_m แสดงถึงความสามารถของ PSII ในคลอโรฟิลล์ของพืชในการรับพลังงานจากรังสีดวงอาทิตย์ และถ่ายทอดไปสู่ PSI (Maxwell and Johnson, 2000; Fracheboud, 2001) ซึ่งเรียกว่า Maximum quantum yield of PSII มีสูตรดังนี้

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

ค่านี้มีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพของปฏิกิริยาเคมีของการใช้แสงในกระบวนการสังเคราะห์แสงที่เรียกว่า quantum yield (Björkman and Demming, 1987; Krause and Weis, 1991; Kocheva *et al.*, 2004)

ดังนั้นการวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถบ่งบอกถึง

ประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์แสง ปัจจุบันได้มีการปรับปรุงเทคนิคนี้เพื่อมาใช้เป็นเครื่องมือศึกษาการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชต่อสภาวะเครียดของสิ่งแวดล้อมภายนอก (Sayed, 1992; Flagella *et al.*, 1994; Bilger *et al.*, 1995; Maxwell and Johnson, 2000; Strasser *et al.*, 2000; Fracheboud, 2001) ซึ่งผลของสภาวะเครียดที่มีต่อการทำงานของ PSII ของพืชนั้น จะมีผลนำไปสู่การลดลงของค่า Fv/Fm (Krause and Weis, 1984) และถ้ากระบวนการสังเคราะห์แสงได้รับความเสียหาย อันเนื่องมาจากอนุมูลอิสระ ค่า Fo จะเพิ่มสูงขึ้น โดยการวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์สามารถใช้ได้กับพืชทุกสปีชีส์ (Wilson and Greaves, 1993) เช่น ข้าวบาร์เลย์ (Kocheva *et al.*, 2004) มันฝรั่ง (Smillie and Hetherington, 1990) เป็นต้น

Nogues *et al.* (1994) มีการใช้เทคนิคคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ในการคัดแยกความทนทานแล้งในจีโนไทป์ข้าวบาร์เลย์ และประเมินการแลกเปลี่ยน คาร์บอนไดออกไซด์ และ water potential ในใบ และมีการศึกษากับความทนทานร้อนในข้าวบาร์เลย์ ต่ออนุมูล 60 องศาเซลเซียส โดยเทคนิคคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ ในการตรวจสอบความเสียหายในระดับไทลาคอยด์เมมเบรน (Ilik *et al.*, 2000)

Wilson and Greaves (1993) ใช้ค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ในการจำแนกประชากรที่ทนทานต่อสภาพร้อนในข้าวโพด 6 สายพันธุ์ หลังจากที่ได้รับอนุมูล 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่า ค่า Fv/Fm ลดลง สามารถจำแนกความแตกต่างของพันธุ์ที่ทนทานต่อสภาพร้อนได้ และยังได้ทดลองกับทานตะวัน 6 คู่ผสม พบว่า ค่า Fv/Fm ไม่เปลี่ยนแปลง และสามารถประเมินความแตกต่างของพันธุ์ได้ในช่วงที่ได้รับอนุมูล 35-40 องศาเซลเซียส เนื่องจากทานตะวันมีกลไกในการหลีกเลี่ยงต่อสภาพร้อนได้ดี

Flagell *et al.* (1994) ได้ศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ในข้าวสาลี พบว่า ข้าวสาลีที่เจริญในสภาพน้ำมากจะให้ค่า Fv/Fm สูงและให้ผลผลิตสูงกว่าข้าวสาลีที่เจริญในสภาพน้ำน้อย และ Selmani and Wassom (1993) รายงานว่า ในการทดลองวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ของข้าวสาลีในสภาพที่มีน้ำมากจะมีค่า Fv/Fm สูงกว่าในสภาพที่มีน้ำน้อย

Hidekaza *et al.* (1994) ศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ในใบแตงกวา พบว่า ค่า Fv/Fm มีความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงกับค่า quantum yield ของการสังเคราะห์แสง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์สามารถใช้อธิบายถึงประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงของพืชได้

Srinivasan *et al.* (1996) ศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์และเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรนในการประเมินความทนทานร้อนในพืชตระกูลถั่ว ได้แก่ *Cicer arietinum* (L.), *Arachis hypogaea* (L.), *Cajanus cajan* (L.), and *Glycine max* (L.) ซึ่งพบว่า มีการเพิ่มขึ้นของสารอิเล็กโตรไลต์ และประสิทธิภาพของ PSII ทำงานลดลง และมีการฟื้นตัวของถั่วลิสงมากกว่าถั่วชนิดอื่นๆ และความเสียหายของเมมเบรน มีความสัมพันธ์ทางลบกับน้ำหนักใบในถั่วลิสง ($r = -0.69 **$) และถั่วเหลือง ($r = -0.56 **$) แต่ไม่พบในเมล็ดถั่ว

Rong-hua *et al.* (2006) ศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ ในการประเมินความทนทานแล้งในข้าวบาร์เลย์ 4 พันธุ์ พบว่า มีความสัมพันธ์ทางลบของลักษณะทางการเกษตรกับความทนทานแล้ง และมีความแตกต่างของระดับความเครียดต่อสภาพแล้ง และสามารถแยกความเสียหายทั้ง 4 พันธุ์ได้ ซึ่งพบว่าพันธุ์ที่ทนทานจะมีค่า F_0 , F_v/F_0 และ F_v/F_m แตกต่างกันมากกว่าค่าที่พบในพันธุ์ที่อ่อนแอ

Petkova *et al.* (2007) ศึกษาการคัดแยกความทนทานร้อน โดยการประเมินค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ ใน *Phaseolus vulgaris* (L.) 12 พันธุ์ ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส ในตอนเช้า และ 40 องศาเซลเซียส ในตอนกลางวัน ซึ่งพบว่า อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจาก 26 เป็น 42 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ ค่า F_0 , F_m และ F_v/F_0 มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพบว่ามี 2 พันธุ์ ที่ทนทานต่อสภาพร้อน และมีค่า F_0 , F_v และ F_v/F_0 ไม่เปลี่ยนแปลง และเหมาะที่จะเป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

เทคนิคนี้เมื่อนำมาใช้ร่วมกับคอมพิวเตอร์จะสามารถวัดได้ง่าย รวดเร็ว ไม่รบกวนต้นพืช (Sellmani and Wassom, 1993) ทั้งยังสามารถใช้ได้ทั้งภาคสนามและห้องปฏิบัติการ (Olaf and Snel, 1990)

ศักย์ของน้ำ (water potential)

Water potential (Ψ) คือ พลังงานของน้ำ ซึ่งใช้อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างดิน พืช และบรรยากาศ ซึ่งหมายถึงความแตกต่างของศักย์ทางเคมีต่อหน่วยปริมาตรระหว่างน้ำที่ต้องการศึกษากับน้ำอิสระบริสุทธิ์ (pure water) ที่อุณหภูมิเดียวกัน หน่วยศักย์ของน้ำที่นิยมใช้ คือ bar (1 bar = 0.1 J/กรัม = 0.987 atm = 0.1 MPa) ซึ่งศักย์ของน้ำในเซลล์พืช แสดงความสัมพันธ์ได้จากสมการ

$$\Psi = \pi + P$$

water potential ของน้ำบริสุทธิ์จะมีค่าสูงสุดเท่ากับศูนย์ ส่วนน้ำที่มีสารเจือปนมีค่า water potential น้อยกว่าศูนย์คือมีค่าลบ ในการเคลื่อนที่ของน้ำ น้ำจะไปไหลจากที่มี water potential สูง ไปยังที่มี water potential ต่ำเสมอ ในสภาวะปกติ water potential ของเซลล์ใบไม้ทั่วไปมีค่าประมาณ -4 ถึง -15 บาร์ ในขณะที่พืชซึ่งขึ้นในทะเลทรายมีค่า water potential ประมาณ -40 บาร์ สำหรับพืชน้ำจะมีค่า water potential สูงคือประมาณ -1 บาร์ ในบรรยากาศถ้าความชื้นของอากาศลดลงเหลือเพียง 50 เปอร์เซ็นต์ ค่า water potential จะลดลงถึง -1000 บาร์ (สมบุญ, 2544; สายัณห์, 2549)

ธงชัย (2539) รายงานว่า ในสภาพที่ให้น้ำชลประทานอย่างเพียงพอ (well-watered) ค่าศักย์ของน้ำในใบ จะอยู่ในช่วง -0.5 ถึง -0.7 MPa ในขณะที่สภาพอาศัยน้ำฝน (rainfed) ค่าศักย์ของน้ำในใบจะอยู่ระหว่าง -1.3 ถึง -1.7 MPa แสดงให้เห็นว่า ได้เกิดสภาวะแห้งแล้งขึ้นในแปลงอาศัยน้ำฝน เนื่องจากค่าศักย์ของน้ำในใบต่ำกว่า -1.5 MPa

Souza *et al.* (2004) รายงานว่า ในใบถั่ว (cowpea) มีค่า water potential ของใบ -1.27 MPa ในช่วงที่ได้รับสภาวะเครียดจากการขาดน้ำ และมีค่า Fv/Fm 0.838

การหาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (relative water content)

วิธีการนี้ใช้หาปริมาณน้ำในพืช ซึ่งสามารถที่จะบอกถึงสถานะขาดน้ำของเซลล์พืชได้ในพืชทั่วไปที่ได้รับน้ำอย่างเพียงพอจะมีค่าเปอร์เซ็นต์ RWC ประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพืชที่แสดงการขาดน้ำสังเกตได้จากใบพืชจะแสดงอาการเหี่ยวเฉา (wilting) ซึ่งจะมีเปอร์เซ็นต์ RWC ประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ ในการวัดปริมาณน้ำในพืช ค่าที่เหมาะสมในการเปรียบเทียบ คือน้ำหนักที่พืชเต่งตัวเต็มที่ (fully turgid weight; TW) เปรียบเทียบกับค่าน้ำหนักสด (fresh weight; FW) และน้ำหนักแห้ง (dry weight; DW) ของใบพืช (Barrs and Weatherley, 1962)

การปรับค่าออสโมติก (osmotic adjustment)

การลดลงของความดันเต่งในเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโต การควบแน่นในพืชจะถูกขัดขวางโดยความแตกต่างของ water potential จากรากไปสู่ส่วนเนื้อเยื่อที่เจริญเติบโตอื่นๆ water potential จะสูงสุดที่ราก (ส่วนเนื้อเยื่อเจริญจะมี water potential ต่ำที่สุด) น้ำเข้าไปสู่เซลล์ที่กำลังเจริญเติบโต ทำให้เซลล์เกิดแรงดันเต่ง มีผลให้ผนังเซลล์ขยายขนาด เมื่อเกิดความเครียดจากการขาดน้ำก็จะเพิ่มความแตกต่างของ water potential ที่เนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโต และแหล่งที่ส่งน้ำมา ในท้ายที่สุดจะถึงระดับหนึ่ง ซึ่งไม่เพียงพอที่จะรักษาการเจริญเติบโตไว้ได้ พืชต้องการน้ำมาก แหล่งน้ำน้อยลงทำให้น้ำไม่เพียงพอ พืชสามารถจัดการกับการขาดน้ำของเนื้อเยื่อ โดยการปรับค่าออสโมติกในแต่ละจุด ซึ่งกระบวนการนี้เกิดจากการสะสมสารละลายในเซลล์ ซึ่งจะทำให้ค่าออสโมติกต่ำ และช่วยรักษาความเต่งของทั้งยอดและราก ในขณะที่เกิดการขาดน้ำ (Ludlow and Muchow, 1990)

การปรับค่าออสโมติก เป็นกลไกสำคัญของการรักษาความเต่งของเซลล์ (Ludlow, 1980; Turner, 1986) การปรับค่าออสโมติก เป็นผลเนื่องมาจากการสะสมสารละลายภายในเซลล์จนมีความเข้มข้นสูงขึ้นทำให้ค่าศักย์ออสโมติกลดต่ำลง ซึ่งจะช่วยให้พืชรักษาความเต่งของเซลล์ส่วนต้นและเซลล์ส่วนรากไว้ได้เมื่อพืชประสบกับภาวะความเครียดน้ำ (Morgan, 1984) Ludlow and Muchow (1990) กล่าวว่า การปรับแรงดันออสโมติก เกิดจากการสะสมสารต่างๆ ภายในเซลล์ ทำให้แรงดันออสโมติกต่ำลง ช่วยรักษาความเต่งของเซลล์ราก และยอดพืชที่ประสบภาวะขาดน้ำ ซึ่งการปรับแรงดันออสโมติกนี้จะทำให้เกิดกระบวนการต่างๆ เช่น การปิดเปิดของปากใบ และการยืดยาวของยอด ฯลฯ ลักษณะของการปรับแรงดันออสโมติก ไม่สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ แต่ลักษณะความจุของการปรับแรงดันออสโมติก (capacity to adjust) เมื่อพืชอยู่ในภาวะขาดน้ำสามารถถ่ายทอดได้ (Ludlow and Muchow, 1990)

Turner (1986) กล่าวว่า การปรับค่าออสโมติกที่เกิดขึ้นในพืชปลูกเป็นผลเนื่องจากการขาดน้ำขึ้นอย่างช้าๆ ดังนั้นระดับของการปรับค่าออสโมติกจะขึ้นอยู่กับความเร็วของการเกิดสภาวะขาดน้ำ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับภาวะขาดน้ำที่เกิดขึ้นมาก่อนล่วงหน้า เพราะสภาพเช่นนี้ทำให้ระดับของการปรับค่าออสโมติกเกิดขึ้นมากกว่าปกติ คือมีการสะสมสารละลายมากขึ้น ตัวถูกละลายที่สะสมในเซลล์ของเนื้อเยื่อที่โตเต็มที่แล้วและกำลังเติบโตประกอบด้วยสารอนินทรีย์ไอออน (inorganic ions) เช่น K^+ , Cl^- และ NO_3^- สารอินทรีย์แอนไอออน (organic anions) สารละลายคาร์โบไฮเดรต (soluble carbohydrates) กรดอะมิโน (amino acid) และสารประกอบแอมโมเนียม

McCree (1986) กล่าวเพิ่มเติมว่า เมื่อพืชขาดน้ำจะมีการสังเคราะห์สารอินทรีย์ เช่น proline หรือ betaine เพื่อช่วยเสริมการปรับค่าออสโมติก Koehler *et al.* (1982) กล่าวว่า เมื่ออ้อยขาดน้ำ ปริมาณของ reducing sugar ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และฟรุคโตส (fructose) จะเพิ่มขึ้น มากกว่า 2 เท่าตัว ส่วนน้ำตาลซูโครส ไม่เปลี่ยนแปลงมากนักแต่มีแนวโน้มที่จะลดลง

มีการค้นพบยีนที่ควบคุมลักษณะการปรับแรงดันออสโมติกในพืชต่างๆ มากมาย เช่น ข้าว สาลี ข้าวฟ่าง ฝ้าย ข้าว ฯลฯ ในข้าวสาลีมีการค้นพบว่ามียีนด้อยเพียง 1 คู่ หรือน้อยคู่ที่ควบคุม ลักษณะการปรับแรงดันออสโมติกอยู่ (Ladlow and Muchow, 1990) ส่วนในข้าว พบว่า การปรับ แรงดันออสโมติกถูกควบคุมด้วยยีนน้อยคู่ (oligogenic) (Fukai and Cooper, 1994)

ความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรม (heritability)

อัตราพันธุกรรม (heritability) คือ อัตราส่วนของความแปรปรวน ซึ่งเป็นส่วนที่สืบเนื่องมาจากยีน อัตราพันธุกรรมเป็นตัวบ่งบอกให้เห็นว่า ลักษณะบางลักษณะเกิดจากผลของยีนเท่าใดและสภาพแวดล้อมเท่าใด นอกจากนั้น ยังเป็นตัวที่จะบอกว่าลักษณะที่ปรากฏนั้นสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานในอัตราส่วนเท่าใด คือ มีลูกหลานกี่เปอร์เซ็นต์ที่มีลักษณะเหมือนพ่อแม่ ลักษณะใดมีอัตราพันธุกรรมต่ำก็แสดงว่ายีนมีอิทธิพลต่อลักษณะนั้นน้อยมาก และความแปรปรวนที่สังเกตได้จะเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมเป็นส่วนใหญ่ (ไพศาล, 2535)

ในการปรับปรุงพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการคัดเลือก จะได้ผลดีถ้าการแสดงออกของพืช ส่วนใหญ่เป็นผลมาจากความแตกต่างหรือความแปรปรวนทางพันธุกรรม และส่วนน้อยเป็นผลมาจากอิทธิพลของปัจจัยสภาพแวดล้อม ทั้งนี้เพราะการแสดงออกอันเนื่องมาจากพันธุกรรมเท่านั้นที่จะสามารถถ่ายทอดจากชั่วหนึ่งไปยังอีกชั่วหนึ่งได้ ส่วนการแสดงออกที่เกิดจากอิทธิพลของสภาพแวดล้อมนั้นไม่สามารถถ่ายทอดไปได้ ซึ่งคำนี้จะบอกให้ทราบถึงปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรม ที่เกิดขึ้นในแต่ละประชากร และช่วยในการตัดสินใจคัดเลือกพืช ว่าจะมีโอกาส

การแสดงออกของพืชไม่ว่าจะเป็นลักษณะใดจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบที่สำคัญ 3 ประการ ซึ่งได้แก่

1. ลักษณะทางพันธุกรรมของพืชนั้น (genotype, G)
2. อิทธิพลของปัจจัยสภาพแวดล้อม (environment, E)
3. ปฏิกริยาระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม (genotype x environment, GxE)

ความสัมพันธ์ดังกล่าว สามารถเขียนเป็นสมการได้ คือ

$$P = G + E + GxE$$

การวัดความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรม หรือค่าอัตราการถ่ายทอดทางพันธุกรรม เขียนเป็นสมการความสัมพันธ์ได้เป็นอัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genotypic variance, σ_G^2) กับความแปรปรวนทั้งหมดที่พืชแสดงออกมา (phenotypic variance, σ_P^2)

นั่นคือ

$$\text{Heritability (H)} = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_P^2}$$

ค่าความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรม (heritability) จะเป็นค่าที่บอกให้ทราบความแปรปรวนทางพันธุกรรมมีปริมาณมากหรือน้อยเท่าใดเมื่อเปรียบเทียบกับความแปรปรวนทั้งหมดที่เกิดจากปฏิกริยาการทำงานของยีนที่ควบคุมลักษณะนั้นๆ ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ ปฏิกริยาแบบผลบวก (additive gene action) และแบบไม่เป็นผลบวก (non-additive gene action) ซึ่งยังสามารถแบ่งย่อยได้เป็น ปฏิกริยาแบบข่ม (dominance gene action) และปฏิกริยาของยีนต่างตำแหน่งกัน (epistasis)

ค่าอัตราพันธุกรรม (h^2) ที่ประมาณได้จะขึ้นอยู่กับบทบาทการทำงานของยีน ถ้าหากอิทธิพลของยีนแบบผลบวกมีมาก ค่า h^2 จะมีค่าสูง ซึ่งมีประโยชน์อย่างมากในการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของที่เกี่ยวข้อกับความก้าวหน้าในการคัดเลือก (selection gain) (รังสฤษฎี, 2539)

Chen *et al.* (1982) แนะนำว่า CMS และ TTC สามารถใช้ประเมินความทนทานร้อนในพืชได้ ซึ่งทั้ง 2 วิธี ให้ผลเหมือนกัน และ TTC ถูกนำมาไปตรวจสอบความแตกต่างของจีโนไทป์ในสภาพร้อนได้ เช่น ข้าวสาลี (Krishnan *et al.*, 1989)

Ottaviano *et al.* (1991) รายงานว่า ค่าอัตราพันธุกรรมของ CMS ของความทนทานร้อนในข้าวโพดมีประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์

Amir *et al.* (2001) โดยศึกษาอัตราพันธุกรรมของความทนทานร้อนใน winter และ spring wheat 14 สายพันธุ์ ในอเมริกา โดยวิธี CMT โดยให้พืชได้รับอุณหภูมิ 49 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.27-0.47

Dickson (1993) ศึกษาอัตราพันธุกรรมของผลผลิตฝักต่อต้นของถั่ว common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ในสภาพร้อนเมื่อให้อุณหภูมิ 22-35 องศาเซลเซียส และ 27-35 องศาเซลเซียสในระยะออกดอก พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (broad sense heritability) อยู่ในช่วง 49-79 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบ (narrow sense heritability) อยู่ในช่วง 10-30 เปอร์เซ็นต์

Kazemi (1977) ศึกษาอัตราพันธุกรรมความทนทานแล้งของข้าวโพด พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบของจำนวนใบ 55 เปอร์เซ็นต์ และน้ำหนักราก 80 เปอร์เซ็นต์

Sammons (1978) ศึกษาอัตราพันธุกรรมความทนทานแล้งของถั่วเหลือง 4 ประชากร พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้างของผลผลิตต่อต้นต่อต้นอยู่ในช่วง 0.46-0.76

Ekanayake *et al.* (1985) ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความทนทานต่อการดึงราก (root pulling resistance) ของข้าว 3 กลุ่มผสมในสภาพแล้ง พบว่า มีการแสดงออกของยีนทั้งแบบผลบวกและแบบข่ม และมีค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 39-47 เปอร์เซ็นต์

Marsh *et al.* (1985) พบว่า ลักษณะ CMT ถูกควบคุมด้วยยีน 1-3 คู่ ใน common bean

Sadalla *et al.* (1990) ศึกษาผลของพันธุกรรมของความทนทานร้อนของข้าวสาลี 90 สายพันธุ์ ใน F_2 โดยวิธี CMT พบว่า ยังมีการกระจายตัวอยู่ และไม่ง่ายในการถ่ายทอดลักษณะนี้

Amir *et al.* (2001) ศึกษาอัตราพันธุกรรมของความทนทานร้อนใน winter wheat และ spring wheat 14 สายพันธุ์ ในอเมริกา โดยวิธี TTC โดยให้พืชได้รับอุณหภูมิ 49 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.5-0.65

Blum *et al.* (2001) ศึกษาอัตราพันธุกรรมภายใต้สภาวะ heat stress ของข้าวสาลี 2 พันธุ์ ในอิสราเอล พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมของผลผลิตในฤดูหนาว 0.71 และ ในฤดูร้อน 0.67 และข้าวสาลีที่เป็น 98 RILs มีค่าอัตราพันธุกรรมของ CMT โดยให้ได้รับอุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่ามีค่าสูงสุด 0.74

Marfo and Hall (1992) ศึกษาอัตราพันธุกรรมของจำนวนฝักต่อกิ่งภายใต้สภาวะ heat stress ของ Cowpea ของ 2 กลุ่มผสม พบว่า มีค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.09-0.42 และ 0.06-0.39 ตามลำดับ

Dhanda and Munjal (2006) ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรนในข้าวสาลี โดยพบว่าลักษณะทางพันธุกรรมต่างๆ มีค่าดัชนีการตอบสนองต่อความร้อน และ TTC สูง ซึ่งจะมีผลผลิตสูงด้วย และมีเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรนที่ดีกว่า

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลง

1.1 เมล็ดพันธุ์ถั่วในสกุล *Vigna* จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ถั่วเขียวผิวมัน (*Vigna radiata* (L.) Wilzeck. ; Mungbean) สายพันธุ์ทนทานแล้งและร้อน (V1595) และสายพันธุ์อ่อนแอแล้งและร้อน (V3131)

1.2 ดินผสม

1.3 กระจกพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว

1.4 ปุ๋ยคอก ปุ๋ยเคมี

1.5 ปากคืบ อัลกอฮอลล์ ป้ายกระดาษ

1.6 สารเคมีกำจัดโรคและแมลง

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

2.1 ตัวอย่างใบถั่วเขียว (leaf discs)

2.2 เหล็กเจาะ (punch) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มม

2.3 บีกเกอร์ (beaker)

2.4 หลอดทดลอง (test tube)

2.5 ขวดขนาด 2 ออนซ์

2.6 ขาตั้ง (lacker)

2.7 น้ำกลั่น (de-ionized water)

2.8 สาร polyethylene glycol 6000 (PEG 6000)

2.9 สาร 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC)

2.10 Water bath

2.11 Spectrophotometer

2.12 PAM-2100 Portable Chlorophyll Fluorometer

วิธีการ

1. ขั้นตอนการดำเนินการ

1.1 การปลูกและดูแลถั่วเขียว

ในการศึกษาการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของลักษณะสีรีวิทยาในด้านความทนทาน แล้งและร้อนของถั่วเขียว ได้ดำเนินการทดลองโดยปลูกถั่วเขียวในกระถาง (pot experiment) โดยมีการจัดสิ่งทดลองแบบ Split plot ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design สิ่งทดลองประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ การให้น้ำปกติ และขาดน้ำในระยะออกดอกเป็นเวลา 7 วัน จำนวน 4 ซ้ำ 2 ฤดูกาลคือเดือน พฤษภาคม-มิถุนายน และกรกฎาคม-สิงหาคม ปลูกถั่วเขียว สายพันธุ์พ่อแม่ จำนวน 2 สายพันธุ์ (V1595 และ V3131) ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2), พันธุ์ผสมกลับชั่วที่ 1 ของทั้ง 2 สายพันธุ์ พ่อแม่ (BC_1P_1) และ (BC_1P_2) ปลูกลูกผสมและสายพันธุ์ดังกล่าวในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว (หรือมีขนาดบรรจุดิน 3 กิโลกรัม/กระถาง) ดินที่นำมาใช้ในการปลูกถั่วเขียวเป็นดินผสมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในแต่ละกระถางจะหยอดเมล็ด 2-3 เมล็ด ดูแลให้น้ำอย่างสม่ำเสมอในช่วงแรกของระยะการเจริญเติบโต และมีการใส่ปุ๋ยยูเรีย หลังจากเมล็ดงอกได้ 15 วัน และใช้ปุ๋ยสูตร 8-24-24 เมื่อถั่วเขียวอายุได้ประมาณ 1 เดือน เมื่อถั่วเขียวเริ่มออกดอกโดยสังเกตจากดอกแรกบาน งดให้น้ำถั่วเขียวในระยะนี้เป็นเวลา 7 วัน และสิ่งทดลองต่างๆ ถูกนำไปทดสอบลักษณะการทนร้อนและแล้งในด้านสีรีวิทยาที่จะกล่าวต่อไป

1.2 การสร้างประชากร

การสร้างประชากรในการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมในด้านสีรีวิทยา ตามวิธีการของ Burton (1951) ซึ่งใช้ประชากรที่เป็น F_1 , F_2 , BC_1P_1 , BC_1P_2 , P_1 และ P_2 โดยเลือกสายพันธุ์พ่อแม่จากการทดสอบคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งและร้อนของ สิริรินรี (2551) จากจำนวนถั่วเขียว จำนวน 100 สายพันธุ์/พันธุ์ จากการทดลองพบว่า ถั่วเขียวสายพันธุ์ V1595 มีความทนทานต่อสภาพความแห้งแล้งและร้อน และ V3131 เป็นสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อสภาพแล้งและร้อน ดังนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ทั้ง 2 เป็นพ่อแม่ เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาลักษณะความทนทานแล้งและร้อนทางด้านสีรีวิทยา โดยทำการผสมสายพันธุ์ทั้ง 2 ได้ลูกผสมชั่วแรก (F_1) จากนั้นปลูกลูกผสมชั่วที่ 1 ผสมตัวเองได้ลูกผสมชั่วที่สอง (F_2) นำลูกผสม F_1 ผสมกลับไปหาสายพันธุ์พ่อแม่ ได้เป็นลูกผสม

1.3 การผสมข้ามถั่วเขียว (intercrossing of parents)

การผสมข้ามพันธุ์ถั่วเขียว ปลุกถั่วเขียวพันธุ์ที่ทนทานแล้งและร้อนที่เป็นพันธุ์แม่ V1595 และพันธุ์อ่อนแอแล้งและร้อนเป็นพันธุ์พ่อ V3131 และดูแลรักษาตามวิธีการดังกล่าวข้างต้น เมื่อถั่วเขียวออกดอก ทำการผสมข้าม ซึ่งจะทำให้การตอนดอกพันธุ์แม่ในเวลาเย็น โดยใช้ปากคีบดึงเกสรตัวผู้่ออกให้หมด แล้วในตอนเช้าเวลา 7.00-9.00 น. นำเกสรตัวผู้ของพันธุ์พ่อมาผสมไปยังดอกพันธุ์แม่ ที่ได้ทำการตอนไว้ในตอนเย็น แล้วดูแลรักษาสม่ำเสมอ และหยุดให้น้ำเมื่อถั่วเขียวเจริญเติบโตถึงระยะฝักแรกเปลี่ยนเป็นสีดำ จะได้เมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 และฤดูต่อมาทำการผสมตัวเองของจะได้ลูกชั่วที่ 2 (F_2) และผสมกลับจากไปยังแม่พันธุ์แม่และพันธุ์พ่อ ซึ่งจะทำให้การตอนดอก F_1 ในเวลาเย็นโดยใช้ปากคีบดึงเอาเกสรตัวผู้่ออกให้หมดและในตอนเช้าวันต่อมา นำเกสรตัวผู้ของพันธุ์ V1595 มาผสมข้ามจะได้ลูกผสมกลับ BC_1P_1 และนำเกสรเพศผู้ของพันธุ์ V3131 ผสมกลับข้ามจะได้เมล็ดลูกผสมกลับ BC_1P_2 เมื่อฝักแก่เก็บเมล็ดแยกต้นไว้

1.4 การตรวจสอบความทนทานแล้งและร้อนโดยวิธีการทางสรีรวิทยาที่คัดเลือกมาใช้ประกอบด้วย

1.4.1 การประเมินเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (cell membrane thermostability)

1.4.2 การวัดความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (Dehydrogenase activity test) โดยใช้ 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride

1.4.3 การประเมินความทนทานแล้งในห้องปฏิบัติการ (laboratory drought measurement) โดยใช้สารละลาย Polyethylene glycol

1.4.4 การวัดประสิทธิภาพการสังเคราะห์จากตัวแปรของ Chlorophyll fluorescence (determination of chlorophyll fluorescence parameters)

1.4.5 ประเมินค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบพืช (determination of leaf water content)

1.4.6 องค์ประกอบผลผลิต (determination of yield component)

วิธีการตรวจสอบลักษณะทางสรีรวิทยาต้นมีรายละเอียดและขั้นตอนในการวัดดังต่อไปนี้

1.4.1 Cell membrane thermostability

วิธีการนี้เป็นวิธีตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์เมมเบรนในการกักเก็บสารต่างๆ ให้กับเซลล์พืช โดยการนำตัวอย่างใบถั่วเขียวมาเจาะแผ่นใบเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 8 มิลลิเมตรด้วยน้ำ deionized water เพื่อล้างสิ่งสกปรกที่อาจติดมาออกไป ใส่ลงในหลอดทดลองจำนวน 3 ชิ้น แล้วนำไปใส่ใน Water bath ที่อุณหภูมิ 54 °C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อเป็นการจำลองสภาพความร้อนให้แก่พืช ตามวิธีการของ Sullivan (1972) นำออกจาก Water bath แล้วเติมน้ำกลั่นลงในหลอดทดลอง 30 มล ในส่วนของแผ่นใบควบคุม (control) นำตัวอย่างใบใส่ลงในหลอดทดลอง 3 ชิ้น เติมน้ำกลั่นลงไป 30 มล จากนั้นนำตัวอย่างใบที่ได้รับความร้อน และ Control เก็บในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C เป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง เพื่อให้สารละลายภายในเซลล์รั่วไหลออกมาให้มากที่สุด จากนั้นนำออกมาวัดค่าการนำไฟฟ้า (electrolyte leakage conductivity; EC) ด้วยเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย Electrical conductivity meter ของบริษัท ที่ อุณหภูมิ 25 °C จะได้ค่า EC1 ของ T1 (ค่าการนำไฟฟ้าของใบที่ได้รับความร้อนก่อนอบ) และ C1 (ค่าการนำไฟฟ้าของ Control ก่อนอบ) จากนั้นทำลายสภาพใบโดยการนำไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว แล้วนำออกมาวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายภายในเซลล์ที่รั่วไหลออกมา (electrolyte leakage conductivity; EC) ด้วยเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย ที่ อุณหภูมิ 25 °C จะได้ค่า EC1 ของ T2 (ค่าการนำไฟฟ้าของใบที่ได้รับความร้อนหลังอบ) และ C2 (ค่าการนำไฟฟ้าของ Control หลังอบ)

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (Cell Membrane Thermostability; CMT) ของถั่วเขียวในแต่ละสายพันธุ์เมื่อได้รับสภาพแล้งและร้อน ตามวิธีการของ Sullivan (1972) จากสูตร

$$\text{CMT (\%)} = \left(\frac{1-(T1/T2)}{1-(C1/C2)} \right) \times 100$$

1.4.2 Dehydrogenase activity ใช้ 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride

วิธีการนี้เป็นการตรวจสอบคุณสมบัติความมีชีวิตอาศัยหลักการพื้นฐานทางชีวเคมีจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ dehydrogenase ซึ่งมีอยู่ในเซลล์ที่มีชีวิต เมื่อทำปฏิกิริยาของสารละลาย 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) ซึ่งไม่มีสี จะเปลี่ยนรูปเป็นสารใหม่คือ ฟอร์มาเซน (formazan) ที่มีสีแดง การเตรียมสารละลาย TTC 0.4% จะละลายใน 0.05 M Na₂HPO₄ ปรับ pH 7.4 จากนั้นนำตัวอย่างใบถั่วเขียวเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มม ใส่งในหลอดๆ ละ 3 ชิ้น และเติมสารละลาย TTC 0.4% หลอดละ 3 มล ลงไปในหลอด แล้วนำตัวอย่างใบ เก็บในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C เป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง ในที่มีดเพื่อให้สารละลาย TTC ทำปฏิกิริยากับใบพืชที่ไม่ถูกทำลาย เมื่อทำปฏิกิริยากับ TTC จะมีสีแดง ในส่วนที่ถูกทำลายหรือส่วนที่ไม่มีชีวิตจะไม่มีสี จากนั้นนำตัวอย่างใบทั้งหมดล้างสารละลาย TTC ออก ด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วเติมแอลกอฮอล์ 95% ลงไป 4 มล นำไปเก็บในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C เป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง จากนั้นนำเฉพาะสารละลายได้จากตัวอย่างใบพืช มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร วัดปฏิกิริยาของ TTC ตามวิธีการของ Steponkus and Lanphear (1967) จากสูตร

$$\text{TTC (\%)} = \left[1 - \frac{\text{ODt}}{\text{ODc}} \right] \times 100$$

โดยที่

ODt = ค่าการดูดกลืนแสงของ Treatment

ODc = ค่าการดูดกลืนแสงของ Control

1.4.3 Relative water content (in leaves)

วิธีการวัดปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบพืช โดยเก็บตัวอย่างใบถั่วเขียวตอนเช้าเวลา 13.00 น. แล้วนำใบถั่วเขียว (trifoliate leaves) มาชั่งบันทึกน้ำหนักสด (fresh weight; FW) บันทึกข้อมูล จากนั้นนำไปที่ซั้งแล้ว วางลงบนกระดาษกรองที่ชุ่มน้ำในถาดแบน แล้วปิดทับด้วยกระดาษกรองอีกชั้นหนึ่งลดน้ำให้ชุ่ม และปิดด้วยพลาสติกบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาชั่งน้ำหนักใบที่อิมด้วยน้ำ (fully turgid weight; TW) บันทึกข้อมูล แล้วนำตัวอย่างฆ่าเชื้อ ไปอบที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบน้ำหนักแห้ง (dry weight; DW) บันทึกข้อมูล แล้วคำนวณหาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในพืชตามวิธีการของ Turner (1986) จากสูตร

$$\text{RWC (\%)} = \left(\frac{\text{FW} - \text{DW}}{\text{TW} - \text{DW}} \right) \times 100$$

1.4.4 Chlorophyll Fluorescence

การประเมินประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของใบถั่วเขียวทำได้โดยวัดค่าตัวแปรของ Chlorophyll Fluorescence โดยใช้เครื่องมือ PAM-2100 Portable Chlorophyll Fluorometer ของบริษัท Walz ค่าตัวแปรที่นำมาใช้ในที่นี้คือ maximum quantum yield (Fv/Fm) และ effective quantum yield (Φ_{PSII}) ซึ่งทำการวัดทั้งในสภาพแปลงปลูกและในห้องทดลอง โดยการวัดค่าตัวแปร maximum quantum yield นั้นจะดำเนินการวัดในช่วงเวลากลางคืนเวลาประมาณ 20.00 น และค่าตัวแปร effective quantum yield จะวัดในช่วงเช้าเวลาประมาณ 7.00 น. ค่าตัวแปรทั้งสองทำการวัดอยู่เป็นเวลา 3 วัน วันเว้นวัน

1.4.5 Artificial drought (PEG)

วิธีการนี้ทำโดยนำใบถั่วเขียวมาเจาะเป็นแผ่นใบเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Polyethylene glycol 6000 (PEG 6000) ความเข้มข้น 40% จำนวน 2 มิลลิลิตรเพื่อเป็นการจำลองสภาพแล้งเป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วล้างสารละลาย PEG ออกด้วยน้ำกลั่นไม่มีประจุ (deionized water) 3 ครั้ง แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปหลอดๆ ละ 30 มิลลิลิตร จากนั้นเก็บในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C เป็นเวลา 16-20 ชั่วโมง แล้วนำออกมาวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโทรไลต์ที่รั่วไหลออกมา (electrolyte leakage conductivity; EC) ด้วยเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย (electrical conductivity meter) ที่อุณหภูมิ 25 °C จะได้ค่า EC1 ของ T1 (ค่าการนำไฟฟ้าของใบที่ได้รับความร้อนก่อนอบ) และ C1 (ค่าการนำไฟฟ้าของ Control ก่อนอบ) จากนั้นทำลายสภาพใบโดยการนำไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว แล้วนำออกมาวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายภายในเซลล์ที่รั่วไหลออกมา (electrolyte leakage conductivity; EC) ด้วยเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายที่อุณหภูมิ 25 °C จะได้ค่า EC1 ของ T2 (ค่าการนำไฟฟ้าของใบที่ได้รับความร้อนหลังอบ) และ C2 (ค่าการนำไฟฟ้าของ Control หลังอบ)

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (Cell Membrane Thermotability; CMT) ของถั่วเขียวในแต่ละสายพันธุ์เมื่อได้รับสภาพแล้งและร้อน ตามวิธีการของ Sullivan (1972) จากสูตร

$$\text{CMT (\%)} = \left(\frac{1-(T1/T2)}{1-(C1/C2)} \right) \times 100$$

1.4.6 Yield components

ข้อมูลองค์ประกอบผลผลิตได้จากค่าเฉลี่ยในการสุ่มตัวอย่างจากสายพันธุ์ของ ประชากรถั่วเขียว (V1595(P₁) V3131(P₂) F₁ F₂ BC₁P₁ และ BC₁P₂) พ่อ 10 ต้น แม่ 10 ลูกผสมชั่ว ที่หนึ่ง 10 ต้น ลูกผสมชั่วที่สอง 100 ลูกผสมกลับไปยังแม่ 24 ต้น และ ลูกผสมกลับไปยังพ่อ 24 ต้น โดยเก็บข้อมูล 5 ลักษณะ (กรมวิชาการเกษตร, 2547) คือ ความสูง ผลผลิตต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ด (100 เมล็ด) จำนวนเมล็ดต่อฝัก

วิธีการประเมินความทนทานแล้งของถั่วเขียว

1. วิธีการจำลองสภาพแห้งแล้งในห้องปฏิบัติการ โดยใช้สารละลาย PEG (Artificial drought) (PEG)

แผ่นใบถั่วเขียวที่ได้จากต้นที่ได้รับน้ำปกติและขาดน้ำนำมาดำเนินการตามขั้นตอนและวิธีการในข้อ 1.4.5 โดยตัวอย่างและข้อมูลที่ได้จะมีสัญลักษณ์ดังนี้

1.1 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ PEG_{Stressed}

1.2 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ PEG_{Control}

2. วิธี Dehydrogenase activity ใช้ 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride

แผ่นใบถั่วเขียวที่ได้จากต้นที่ได้รับน้ำปกติและขาดน้ำนำมาดำเนินการตามขั้นตอนและวิธีการในข้อ 1.4.2 โดยตัวอย่างและข้อมูลที่ได้จะมีสัญลักษณ์ดังนี้

2.3 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ TTC_{Stressed}

2.4 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ $TTC_{Control}$

3. วิธี PEG- TTC-test

วิธีการนี้ทำเพื่อทดสอบสภาพของเซลล์เมมเบรน ภายหลังจากที่ได้ผ่านการจำลองสภาพความแห้งแล้ง และตรวจสอบความมีชีวิตต่อเนื่องกันของใบถั่วเขียวทั้งที่ได้รับน้ำปกติและขาดน้ำ ซึ่งการดำเนินการทดลองหรือตรวจทำตามขั้นตอนและวิธีการที่กล่าวไว้ในข้อ 1.4.5 และ 1.4.1 โดยตัวอย่างและข้อมูลที่ได้จะมีสัญลักษณ์ดังนี้

2.1 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ $PEG-TTC_{Stressed}$

2.2 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ $PEG-TTC_{Control}$

4. วิธี Chlorophyll Fluorescence

ค่าตัวแปรของ Chlorophyll Fluorescence ในแปลงทดลอง ดำเนินการตามวิธีการในข้อ 1.4.4 โดยตัวอย่างและข้อมูลที่ได้จะมีสัญลักษณ์ดังนี้

4.1 $CF_{in situ}$

4.1.1 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ $in situ \Phi_{PSII Stressed}$

4.1.2 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ $in situ \Phi_{PSII Control}$

4.1.3 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ $in situ Fv/Fm_{Stressed}$

4.1.4 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ $in situ Fv/Fm_{Control}$

แผ่นใบถั่วเขียวที่ได้จากต้นที่ได้รับน้ำปกติและขาดน้ำนำมาดำเนินการตามขั้นตอนและวิธีการในข้อ 1.4.5 แล้วดำเนินการวัดค่าตัวแปรของ Chlorophyll Fluorescence ในห้องทดลองตามวิธีการในข้อ 1.4.4 โดยตัวอย่างและข้อมูลที่ได้จะมีสัญลักษณ์ดังนี้

4.2 CF_{in vivo}

- 4.2.1 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ PEGΦ_{PSII Stressed}
- 4.2.2 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ PEGΦ_{PSII Control}
- 4.2.3 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ PEG-Fv/Fm_{Stressed}
- 4.2.4 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ PEG-Fv/Fm_{Control}
- 4.2.5 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ *in vivo* Φ_{PSIIstressed}
- 4.2.6 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ *in vivo* Φ_{PSIIControl}
- 4.2.7 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ *in vivo* Fv/Fm_{Stressed}
- 4.2.8 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ *in vivo* Fv/Fm_{Control}

5. วิธี Leaf relative water content

วิธีการนี้ใช้หาปริมาณน้ำในพืช ซึ่งสามารถที่จะบอกถึงสภาวะขาดน้ำของเซลล์พืชได้ในพืชทั่วไป ดำเนินการตามวิธีการในข้อ 1.4.3 แยกได้ดังนี้ คือ

- 5.1 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ RWC_{Stressed}
- 5.2 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ RWC_{Control}

6. Yield components

องค์ประกอบผลผลิต ได้จากการรวบรวมข้อมูลจากพืชในแปลงปลูกซึ่งประกอบด้วย

- 6.1 ความสูง (เซ็นติเมตร)
- 6.2 ผลผลิตต่อต้น (กรัม)
- 6.3 จำนวนฝักต่อต้น
- 6.4 น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)
- 6.5 จำนวนเมล็ดต่อฝัก

วิธีการประเมินความทนทานร้อนของถั่วเขียว

1. Cell Membrane Thermotability

วิธีการนี้เป็นวิธีวัดความเสียหายของเซลล์เมมเบรนจากความร้อน โดยวัดจากค่าการนำไฟฟ้า (electrolyte leakage conductivity; EC) แยกได้ดังนี้ คือ

- 2.1 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ $CMT_{Stressed}$
- 2.2 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ $CMT_{Control}$

2. วิธี Dehydrogenase activity ใช้ 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride

วิธีการนี้นำใบถั่วเขียวจากสิ่งทดลองต่างๆ มาผ่านความร้อนใน Water bath ที่อุณหภูมิ 54 °C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อเป็นการจำลองสภาพความร้อนให้แก่พืช ตามวิธีการของ Sullivan (1972) แล้วดำเนินการวัดค่าตัวแปรของ Chlorophyll Fluorescence ในห้องทดลองตามวิธีการในข้อ 1.4.2 โดยตัวอย่างและข้อมูลที่ได้จะมีสัญลักษณ์ดังนี้

- 2.1 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ Heat-TTC_{Stressed}
- 2.2 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ ให้สัญลักษณ์ Heat-TTC_{Control}

3. วิธี Chlorophyll Fluorescence

วิธีการนี้จะนำใบถั่วเขียวจากสิ่งทดลองต่างๆ มาผ่านความร้อนใน Water bath ที่อุณหภูมิ 54 °C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อเป็นการจำลองสภาพความร้อนให้แก่พืช ตามวิธีการของ Sullivan (1972) แล้วดำเนินการวัดค่าตัวแปรของ Chlorophyll Fluorescence ในห้องทดลองตามวิธีการในข้อ 1.4.4 โดยตัวอย่างและข้อมูลที่ได้จะมีสัญลักษณ์ดังนี้

- 3.1 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ Heat- Φ_{PSII} Stressed
- 3.2 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ สัญลักษณ์ Heat- Φ_{PSII} Control
- 3.3 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่งดน้ำ ให้สัญลักษณ์ Heat-Fv/Fm_{Stressed}

3.4 ตัวอย่างที่ได้จากสิ่งทดลองที่ให้น้ำปกติ สัญลักษณ์ Heat-Fv/Fm_{Control}

หมายเหตุ

เนื่องด้วยการทดลองมีทั้งถั่วเขียวที่ได้รับน้ำปกติและขาดน้ำในการตรวจสอบความทนทาน แล้งและร้อนของถั่วเขียวในหลายลักษณะ ได้แก่ การตรวจสอบ Cell membrane thermostability การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ dehydrogenase รวมทั้งการทดลองที่เป็นอนุกรมที่เกี่ยวข้องกับเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน ในการคำนวณเพื่อเป็นการอำนวยความสะดวกในการแปลผลใบควบคุม (แผ่นใบควบคุม) หรือค่าของใบควบคุม (control) จะได้จากตัวอย่างใบที่มาจากถั่วเขียวที่ได้รับน้ำปกติ

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ทดสอบความเป็นเอกภาพ (test for homogeneity)

การทดสอบประชากรที่ศึกษาว่ามีความเหมือนกัน (similarity) หรือ มีเอกภาพ (homogeneity) ของตัวแปรตัวหนึ่งที่ศึกษาหรือไม่จากของความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพ่อแม่ ลูกชั่วที่ 1 ลูกชั่วที่ 2 ลูกผสมกลับไปยังแม่พันธุ์ (BC₁P₁) และพ่อพันธุ์ (BC₁P₂) โดยวิธีของ Gomez and Gomez (1984) ซึ่งเริ่มต้นใช้สูตรกับแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา ได้แก่ *in situ* Φ_{PSII}, *in situ* Fv/Fm, *in vivo* Φ_{PSII}, PEG-Φ_{PSII}, Heat-Φ_{PSII}, *in vivo* Fv/Fm, PEG-Fv/Fm, Heat-Fv/Fm, PEG, CMT, PEG-TTC, Heat-TTC, TTC และ RWC องค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ ความสูง ผลผลิตต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ดังนี้

$$s_p^2 = \frac{\sum_{i=1}^k s_i^2}{k}$$

$$\chi^2 = \frac{(2.3026)(f) [k \log s_p^2 - \sum_{i=1}^k \log s_i^2]}{1+[(k+1)/3kf]}$$

- s_p^2 คือ ค่าความแปรปรวนของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
 $k \log s_p^2$ คือ \log ของ s_p^2 ของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
 $\sum s_i^2$ คือ ผลรวมของความแปรปรวนแต่ละพารามิเตอร์ที่เปรียบเทียบกันของ 2 ฤดูกาล
 k คือ จำนวนสิ่งที่เปรียบเทียบ คือ 2 ฤดูกาล ของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
 $\sum \log s_p^2$ คือ ผลรวมของ \log ของความแปรปรวนแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
 f คือ ค่าความเป็นอิสระของเหตุการณ์ (degree of freedom) คือ 2 ฤดูกาล ลบด้วย 1

และกรณี df ไม่เท่ากันใช้สูตรดังนี้

$$s_p^2 = \frac{\sum_{i=1}^k (f_i)(s_i^2)}{k}$$

$$\chi^2 = \frac{2.3026 \left[\sum_{i=1}^k f_i (k \log s_p^2) - \sum_{i=1}^k (f_i)(\log s_i^2) \right]}{1 + \frac{1}{3(k-1)} \left(\sum_{i=1}^k \frac{1}{f_i} - \frac{1}{\sum_{i=1}^k f_i} \right)}$$

- $\sum f_i$ คือ ผลรวมของ df ของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
 $\sum (f_i)(\log s_i^2)$ คือ ผลรวมของ df ที่คูณกับ $\log s_i^2$ ของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
 $\sum 1/f$ คือ ผลรวมของ 1 หาร df ของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
 $\sum (f_i)(s_i^2)$ คือ ผลรวมของ df ที่คูณ s^2 ของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา

2. ค่าอัตราพันธุกรรมจากค่าความแปรปรวน ของพ่อ แม่ ลูกชั่วที่ 1 และลูกชั่วที่ 2 โดยวิธีของ Burton (1951)

ลักษณะควอนติเททีฟนั้นอาจเกิดจากผลของยีนและสภาพแวดล้อม จึงอาจเขียนได้ว่า $P = G + E$ เมื่อ P หมายถึง ฟีนไทป์ ส่วน G และ E หมายถึง ส่วนของลักษณะที่เกิดจากอิทธิพลของยีนและสภาพแวดล้อมตามลำดับ ดังนั้น ความแตกต่างระหว่างค่าสังเกตและค่าเฉลี่ยที่สังเกตได้ก็เนื่องมาจากผลของยีนและสภาพแวดล้อมรวมกัน นั่นคือ แบ่ง วาเรียนซ์ของฟีนไทป์ (σ_p^2) ออกเป็นส่วนย่อย ๆ ได้ 2 ส่วน ส่วนแรก คือ Genotypic variance (σ_G^2) อันเป็นวาเรียนซ์ที่เกิดจากความแตกต่างเนื่องจากอิทธิพลของยีน และส่วนที่สอง คือ Environmental variance (σ_E^2) ซึ่งเป็นวาเรียนซ์ที่เกิดจากความแตกต่างอันเนื่องมาจากผลของสภาพแวดล้อมผลของยีนและสภาพแวดล้อมเป็นอิสระแก่กัน

$$\text{เขียนได้ว่า } \sigma_p^2 = \sigma_G^2 + \sigma_E^2 \text{ ดังนั้น } \sigma_{F_2}^2 = \sigma_p^2 = \sigma_G^2 + \sigma_E^2$$

$\sigma_{F_2}^2$ จะมีขนาดใหญ่กว่าวาเรียนซ์อื่นๆ วาเรียนซ์นี้มีส่วนย่อยเป็น σ_G^2 และ σ_E^2 ทั้งนี้เพราะพืชในชั่ว F_2 นั้น นอกจากจะปลูกในสภาพแวดล้อมเหมือนกับ P_1 , P_2 และ F_1 แล้ว ยังประกอบด้วย จีโนไทป์หลาย ๆ ชนิดด้วย

$$\sigma_E^2 = \frac{(\sigma_{P_1}^2 + \sigma_{P_2}^2 + \sigma_{F_1}^2)}{3} \text{ เป็นอิทธิพลของปัจจัยสภาพแวดล้อม}$$

$$h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \sigma_E^2} = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_p^2}$$

เป็นอัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genotypic variance, σ_G^2) กับความแปรปรวนทั้งหมดที่พืชแสดงออกมา (phenotypic variance, σ_p^2) การคำนวณอัตราพันธุกรรม ใช้สูตรดังนี้

$$h^2 = \frac{\sigma_{F_2}^2 - 1/3(\sigma_{P_1}^2 + \sigma_{P_2}^2 + \sigma_{F_1}^2)}{\sigma_{F_2}^2}$$

- h^2 คือ อัตราพันธุกรรมของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
- σ^2_P คือ ความแปรปรวนของลักษณะที่ปรากฏของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
- σ^2_E คือ ความแปรปรวนของสภาพแวดล้อมของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
- σ^2_G คือ ความแปรปรวนของพันธุกรรมของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
- σ^2_{P1} คือ ความแปรปรวนของแม่ ของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
- σ^2_{P2} คือ ความแปรปรวนของพ่อ ของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
- σ^2_{F1} คือ ความแปรปรวนของลูกผสมชั่วที่ 1 ของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา
- σ^2_{F2} คือ ความแปรปรวนของลูกผสมชั่วที่ 2 ของแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา

ผลและวิจารณ์

1. ความเป็นเอกภาพ

การทดสอบความเป็นเอกภาพของความทนทานแล้งและร้อนในประชากรถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 (ตารางที่ 1, 2 และ 3) พบว่าทั้ง 2 ฤดูกาล มีความเหมือนกันทางสถิติ แต่ F_2 ไม่พบความเหมือนกันทางสถิติ เนื่องจากการกระจายตัวของลักษณะความทนทานแล้งและร้อน จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าข้อมูลมีความเป็นเอกภาพ (homogeneity) ได้แก่ พบว่า *in situ* Φ_{PSII} , *in situ* Fv/Fm, *in vivo* Φ_{PSII} , PEG- Φ_{PSII} , Heat- Φ_{PSII} , *in vivo* Fv/Fm, PEG-Fv/Fm, Heat-Fv/Fm, PEG, CMT, PEG-TTC, Heat-TTC, TTC, RWC ความสูง ผลผลิตต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด และ จำนวนเมล็ดต่อฝัก

V1595 ฤดูกาลที่ 1 และ ฤดูกาลที่ 2 ภายใต้การขาดน้ำ มีความเหมือนกันทางสถิติตามลำดับ ยกเว้น น้ำหนัก 100 เมล็ด เนื่องจากระหว่างช่วงที่ทำการทดลองเป็นช่วงฤดูฝน ทำให้มีรากเกิดขึ้นที่เมล็ด ทำให้เมล็ดได้รับความเสียหาย น้ำหนักของเมล็ดแต่ละต้นจึงต่างไปจากน้ำหนักที่ควรจะเป็น ทำให้มีความแตกต่างกันทางสถิติ และการได้รับน้ำอย่างเพียงพอ พบว่ามีความเหมือนกันทางสถิติตามลำดับ

V3131 ฤดูกาลที่ 1 และ ฤดูกาลที่ 2 ภายใต้การขาดน้ำ และการได้รับน้ำอย่างเพียงพอ มีความเหมือนกันทางสถิติตามลำดับ

F_1 ฤดูกาลที่ 1 และ ฤดูกาลที่ 2 ภายใต้การขาดน้ำ และการได้รับน้ำอย่างเพียงพอ มีความเหมือนกันทางสถิติตามลำดับ

F_2 ฤดูกาลที่ 1 และ ฤดูกาลที่ 2 ภายใต้การขาดน้ำ พบว่าไม่มีความเหมือนกันทางสถิติตามลำดับ และการได้รับน้ำอย่างเพียงพอ พบว่า ไม่มีความเหมือนกันทางสถิติ ตามลำดับ ยกเว้น ผลผลิตต่อต้น (กรัม) จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม) และ จำนวนเมล็ดต่อฝัก มีความเหมือนกันทางสถิติ ต่างไปจากความเป็นจริงที่ F_2 ควรมีความแตกต่างกันทางสถิติ เพราะเนื่องจากได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง ระหว่างที่ทดลองในแปลงช่วงฤดูฝน

BC₁P₁ ฤดูกาลที่ 1 และ ฤดูกาลที่ 2 ภายใต้การขาดน้ำ มีความเหมือนกันทางสถิติตามลำดับ ยกเว้น น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม) และ จำนวนเมล็ดต่อฝัก และการได้รับน้ำอย่างเพียงพอ พบว่า มีความเหมือนกันทางสถิติตามลำดับ ยกเว้น น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม) ที่ได้รับความเสียหายในช่วง ฤดูฝนเช่นเดียวกัน

BC₁P₂ ฤดูกาลที่ 1 และ ฤดูกาลที่ 2 ภายใต้การขาดน้ำ มีความเหมือนกันทางสถิติตามลำดับ ยกเว้น น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม) และในกลุ่มที่ให้น้ำปกติ พบว่า มีความเหมือนกันทางสถิติตามลำดับ ยกเว้น PEG และ CMT เนื่องจากระหว่างทำการทดลองน้ำมีน้ำหกออกจากหลอดทดลอง จึงทำให้ต่างไปจากที่ควรจะเป็น ทำให้มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งทำให้วิเคราะห์ได้ว่าวิธีการนี้มีความ Sensitive ค่อนข้างมาก และน้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม) ที่ได้รับความเสียหายในช่วงฤดูฝนเช่นเดียวกัน

การทดลองแสดงให้เห็นว่าข้อมูลที่มีความเป็นเอกภาพ (homogeneity) จึงสามารถใช้ค่าเฉลี่ยของทั้ง 2 การทดลอง (ฤดูกาล) เพื่อนำมาคำนวณค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะทาง สรีรวิทยาที่ใช้ในการทดลองนี้ตามวิธีการของ Burton (1951) (ตารางที่ 4,5 และ 6)

ตารางที่ 1 แสดงค่าความเป็นเอกภาพของพารามิเตอร์ของความทนทานแล้ง โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

พารามิเตอร์	χ^2 (crop1/2)											
	<i>in situ</i> Φ_{PSII}		<i>in situ</i> Fv/Fm		PEG- Φ_{PSII}		PEG-Fv/Fm		PEG		PEG-TTC	
	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control
V1595(P ₁)	0.01 ^{ns}	0.04 ^{ns}	ns	ns	0.12 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.02 ^{ns}	ns	ns	ns	ns
V3131(P ₂)	ns	0.01 ^{ns}	ns	ns	0.08 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.04 ^{ns}	ns	ns	ns	ns
F ₁	0.05	0.01 ^{ns}	ns	ns	0.01 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.03 ^{ns}	ns	ns	ns	ns
F ₂	12.01**	3.34 ^{ns}	165.08**	3.67**	2.72 ^{ns}	0.26 ^{ns}	31.16**	5.27**	15.25**	27.77**	37.45**	59.82**
BC ₁ P ₁	0.08 ^{ns}	0.04 ^{ns}	ns	ns	0.48 ^{ns}	0.31 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.13 ^{ns}	ns	ns	ns	ns
BC ₁ P ₂	0.05 ^{ns}	0.04 ^{ns}	ns	ns	0.45 ^{ns}	ns	ns	ns	ns	38.03**	ns	ns

ตารางที่ 1 (ต่อ)

พารามิเตอร์	$\chi^2(\text{crop1/2})$							
	TTC		RWC		<i>in vivo</i> Φ_{PSII}		<i>in vivo</i> Φ_{PSII}	
	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control
V1595(P ₁)	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
V3131(P ₂)	ns	-	ns	ns	0.01 ^{ns}	ns	ns	ns
F ₁	ns	-	ns	ns	0.01 ^{ns}	ns	ns	ns
F ₂	48.42**	-	3.69 ^{ns}	0.05 ^{ns}	23.35**	7**	75.09**	184.74**
BC ₁ P ₁	ns	-	ns	ns	0.04 ^{ns}	ns	ns	ns
BC ₁ P ₂	ns	-	ns	ns	ns	0.01 ^{ns}	ns	ns

ns, not significant, * significant at $p < 0.05$., ** significant at $p < 0.01$.

ตารางที่ 2 แสดงค่าความเป็นเอกภาพของพารามิเตอร์ของความทนทานร้อน โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

พารามิเตอร์	$\chi^2(\text{crop}1/2)$							
	Heat- Φ_{PSII}		Heat-Fv/Fm		CMT		Heat-TTC	
	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control
V1595(P ₁)	0.04 ^{ns}	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
V3131(P ₂)	0.01 ^{ns}	ns	0.02 ^{ns}	ns	ns	ns	ns	ns
F ₁	0.01 ^{ns}	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F ₂	0.59 ^{ns}	19.58**	ns	391.8**	88.30**	2.53 ^{ns}	46.85**	17.58**
BC ₁ P ₁	0.04 ^{ns}	ns	0.03	ns	ns	ns	ns	ns
BC ₁ P ₂	ns	ns	ns	ns	ns	40.38**	ns	ns

ns, not significant, * significant at $p < 0.05$., ** significant at $p < 0.01$.

ตารางที่ 3 แสดงค่าความเป็นเอกภาพขององค์ประกอบผลผลิตในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำและได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

องค์ประกอบ ผลผลิต	χ^2 (crop1/2)									
	ความสูง		ผลผลิตต่อต้น		จำนวนฝักต่อต้น		น้ำหนัก 100 เมล็ด		จำนวนเมล็ดต่อฝัก	
	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control
V1595(P ₁)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	7.96**	0.72 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.02 ^{ns}
V3131(P ₂)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	1.12 ^{ns}	1.37 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.04 ^{ns}
F ₁	ns	ns	ns	ns	ns	ns	1.91 ^{ns}	1.60 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.03 ^{ns}
F ₂	5.41*	11.39**	11.96**	ns	23.48**	ns	118.89**	ns	31.6**	5.27*
BC ₁ P ₁	ns	ns	ns	ns	ns	ns	20.80**	11.56**	151.47**	0.05 ^{ns}
BC ₁ P ₂	ns	ns	ns	ns	ns	ns	21.54**	8.56**	ns	ns

ns, not significant, * significant at $p < 0.05$, ** significant at $p < 0.01$.

ตารางที่ 4 แสดงค่าอัตราพันธุกรรมของพารามิเตอร์ของความทนทานแล้ง โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

พารามิเตอร์	ค่าอัตราพันธุกรรม
<i>in situ</i> Φ_{PSII} Stressed	0.07
<i>in situ</i> Fv/Fm Stressed	0.90
<i>in situ</i> Fv/Fm _{Control}	0.21
PEG Φ_{PSII} Stressed	0.41
PEG Φ_{PSII} Control	0.05
PEG-Fv/Fm Stressed	0.13
PEG-Fv/Fm Control	0.08
PEG Stressed	0.76
PEG Control	0.82
PEG-TTC Stressed	0.99
PEG-TTC Control	0.88
TTC Stressed	0.89
RWC Stressed	0.46
RWC Control	0.02

ตารางที่ 5 แสดงค่าอัตราพันธุกรรมของพารามิเตอร์ของความทนทานร้อน โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

พารามิเตอร์	ค่าอัตราพันธุกรรม
Heat- Φ_{PSII} Stressed	0.34
Heat- Φ_{PSII} Control	0.01
Heat-Fv/Fm _{Stressed}	0.61
Heat-Fv/Fm _{Control}	0.71
CMT _{Stressed}	0.74
CMT _{Control}	0.82
Heat-TTC _{Control}	0.20
<i>in vivo</i> Φ_{PSII} Stressed	0.14
<i>in vivo</i> Φ_{PSII} Control	0.08
<i>in vivo</i> Fv/Fm _{Control}	0.85

ตารางที่ 6 แสดงค่าอัตราพันธุกรรมขององค์ประกอบผลผลิตในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

องค์ประกอบผลผลิต	ค่าอัตราพันธุกรรม
ความสูง _{Stressed}	0.65
ความสูง _{Control}	0.41
จำนวนฝักต่อต้น _{Control}	0.02

2. อัตราพันธุกรรม และการศึกษาวิธีการคัดเลือกพันธุ์พืชทนร้อนและแล้งจากการประเมินคุณสมบัติลักษณะทางสรีรวิทยาของถั่วเขียว

การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมของความทนทานแล้งและร้อน พบว่า ภายใต้การขาดน้ำ ค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.02-0.99 (ตารางที่ 4, 5 และ 6) ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมสูง ($h^2 \geq 0.70$) ได้แก่ PEG-TTC_{Stressed} (0.99) *in situ* Fv/Fm_{Stressed} (0.90) TTC_{Stressed} (0.89) PEG_{Stressed} (0.76)

และ $CMT_{Stressed}$ (0.74) สอดคล้องกับ Blum *et al.* (2001) ศึกษาอัตราพันธุกรรมภายใต้สภาวะ Heat stress ของข้าวสาลี 2 พันธุ์ ในอิสราเอล พบว่า มีค่าอัตราพันธุกรรมของผลผลิตในฤดูหนาว 0.71 และ ในฤดูร้อน 0.67 และข้าวสาลีที่เป็น 98 RILs มีค่าอัตราพันธุกรรมของ CMT โดยให้ได้รับ อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า มีค่าสูงสุด 0.74 และ Ottaviano *et al.* (1991) รายงานว่า ค่าอัตราพันธุกรรมของ CMT ของความทนทานร้อนในข้าวโพดมีประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้จะมีค่าอัตราพันธุกรรมที่สูง

แต่วิธีการดังกล่าวก็มีข้อจำกัด ดังเช่นวิธี PEG-TTC_{Stressed} และ TTC_{Stressed} ที่ใช้เวลานานถึง 3 วัน ทำให้ใช้เวลานานขึ้นในการทดลอง และเป็นวิธีที่มีหลายขั้นตอน ไม่สะดวก และวิธีต่อมา PEG_{Stressed} และ CMT_{Stressed} ใช้เวลาทดลองอย่างน้อย 2 วัน และเป็นวิธีที่ผิดพลาดได้ง่าย เนื่องจากมีหลายขั้นตอน และแนะนำว่าไม่ควรทดลองกับตัวอย่างที่มากเกินไป ซึ่งจะทำให้ความถูกต้อง แม่นยำลดลง และวิธีการที่ได้กล่าวมา ยังสิ้นเปลืองในการซื้อสารเคมีเพิ่มด้วย และจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีผู้ช่วยจึงจะสามารถทำการทดลองเสร็จทัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจำนวนตัวอย่างว่ามากหรือน้อย และวิธีที่เหมาะสมที่สุดภายใต้การขาดน้ำ คือ *in situ* Fv/Fm_{Stressed} เมื่อพืชขาดน้ำจะเห็นความแตกต่างชัดเจนในแต่ละต้น เมื่อนำเครื่องมือไปวัด จะสามารถคัดเลือกได้แม่นยำกว่า แต่มีข้อจำกัดคือ ถ้าสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมก็ไม่สามารถทำได้ จึงควรพิจารณาวิธีการที่เหมาะสมรองลงมา ซึ่งขึ้นอยู่กับความสะดวกรวดเร็ว ค่าใช้จ่าย และจำนวนตัวอย่างที่ใช้ของแต่ละการทดลอง

ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมปานกลาง ($0.40 \leq h^2 < 0.70$) ได้แก่ ความสูง (0.65) Heat-Fv/Fm_{Stressed} (0.61) RWC_{Stressed} (0.46) และ PEG- Φ_{PSII} _{Stressed} (0.41) สอดคล้องกับ James *et al.* (2008) ศึกษาอัตราพันธุกรรมใน Drought stress ของถั่วเหลือง 10 ประชากร ในแปลงที่ขาดน้ำ และประเมินโดยวิธี RWC พบว่า มีค่าอัตราพันธุกรรม อยู่ในช่วง 0.40-0.70 Painawadee *et al.* (2009) ที่ศึกษาอัตราพันธุกรรมของ Drought resistance ของถั่วลิสง 1 คู่ผสม ของ F₂ และ F₃ พบว่า มี RWC อยู่ในช่วง 0.04-0.46

ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมต่ำ ($h^2 < 0.40$) ได้แก่ Heat- Φ_{PSII} _{Stressed} (0.34) *in vivo* Φ_{PSII} _{Stressed} (0.14) PEG-Fv/Fm_{Stressed} (0.13) *in situ* Φ_{PSII} _{Stressed} (0.07) และจำนวนฝักต่อต้น (0.02)

และการได้รับน้ำอย่างเพียงพอ ค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0.01-0.88 (ตารางที่ 4, 5 และ 6) ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมสูง ($h^2 \geq 0.70$) ได้แก่ PEG-TTC_{Control} (0.88) *in vivo* Fv/Fm_{Control}

(0.85) PEG_{Control} (0.82) CMT_{Control} (0.82) Heat-Fv/Fm_{Control} (0.71) สอดคล้องใกล้เคียงกับ Fokar *et al.* (1998) ที่ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความทนทานร้อนโดยการวิเคราะห์ TTC ในข้าวสาลี พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรม 0.89 ซึ่งสามารถที่จะประสบความสำเร็จในการคัดเลือก ถึงแม้จะมีค่าอัตราพันธุกรรมที่สูง แต่วิธีการดังกล่าวก็มีข้อจำกัด ดังเช่นวิธี PEG-TTC_{Control} ซึ่งจะใช้เวลา 3 วัน ในการทดลองจนครบทุกตัวอย่าง ส่วนวิธี *in vivo* Fv/Fm_{Control} ไม่มีข้อจำกัดด้านสภาพแวดล้อม ถ้ามีเครื่องมืออยู่ ก็สามารถนำมาวัดค่าได้ แต่ต้องมีความระมัดระวังในการใช้เครื่องมือนี้เพราะมีราคาสูง วิธีสามารถวัดค่าได้ถึงแม้จะเป็นฤดูฝน ไม่ต้องนำเครื่องมือไปวัดข้างนอก เพราะทำได้ในห้องปกติ แต่ต้องมีการควบคุมแสงก่อนทำการวัดค่า ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก และรวดเร็วกว่าวิธีการอื่นๆ แต่ถ้าไม่มีเครื่องมือ ก็พิจารณาวิธีการที่เหมาะสมรองลงไป

ต่อมาวิธี PEG_{Control} และ CMT_{Control} เป็นวิธีที่ผิดพลาดในระหว่างการทดลองได้ง่าย ซึ่งจะมีผลต่อการคัดเลือกพืช จึงไม่แนะนำให้ใช้วิธีการทั้งสอง อาจทำให้ค่าที่ได้ต่างไปจากที่ควรจะเป็น และยังเป็นวิธีที่ไม่สะดวก มีหลายขั้นตอน และใช้เวลานานอย่างน้อย 2 วัน และสุดท้ายวิธี Heat-Fv/Fm_{Control} คล้ายกับวิธี *in vivo* Fv/Fm_{Control} แต่ต่างกันตรงที่ นำพืชไปให้ได้รับความร้อนก่อนนำมาวัดค่า ซึ่งจะเพิ่มขั้นตอนในการทดลอง ทำให้ใช้เวลามากขึ้น ดังนั้นในการได้รับน้ำอย่างเพียงพอ วิธีการที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปใช้ในการคัดเลือก คือ *in vivo* Fv/Fm_{Control}

ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมปานกลาง ($0.40 \leq h^2 < 0.70$) ได้แก่ ความสูง (0.41) ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมต่ำ ($h^2 < 0.40$) ได้แก่ *in situ* Fv/Fm_{Control} (0.21) Heat-TTC_{Control} (0.20) PEG-Fv/Fm_{Control} (0.08) *in vivo* Φ_{PSII} Control (0.08) PEG Φ_{PSII} Control (0.05) RWC_{Control} (0.02) Heat- Φ_{PSII} Control (0.01)

จากตารางที่ 4,5 และ 6 ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมของความทนทานแล้งและร้อนสูง มีแนวโน้มถูกควบคุมด้วยอิทธิพลของพันธุกรรมค่อนข้างสูง จึงสามารถถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมจากพ่อแม่ไปยังรุ่นลูกได้สูงกว่า และแสดงถึงโอกาสที่จะประสบความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์มากกว่า ลักษณะที่มีค่าอัตราพันธุกรรมที่ต่ำ เนื่องมาจากสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกค่อนข้างสูง

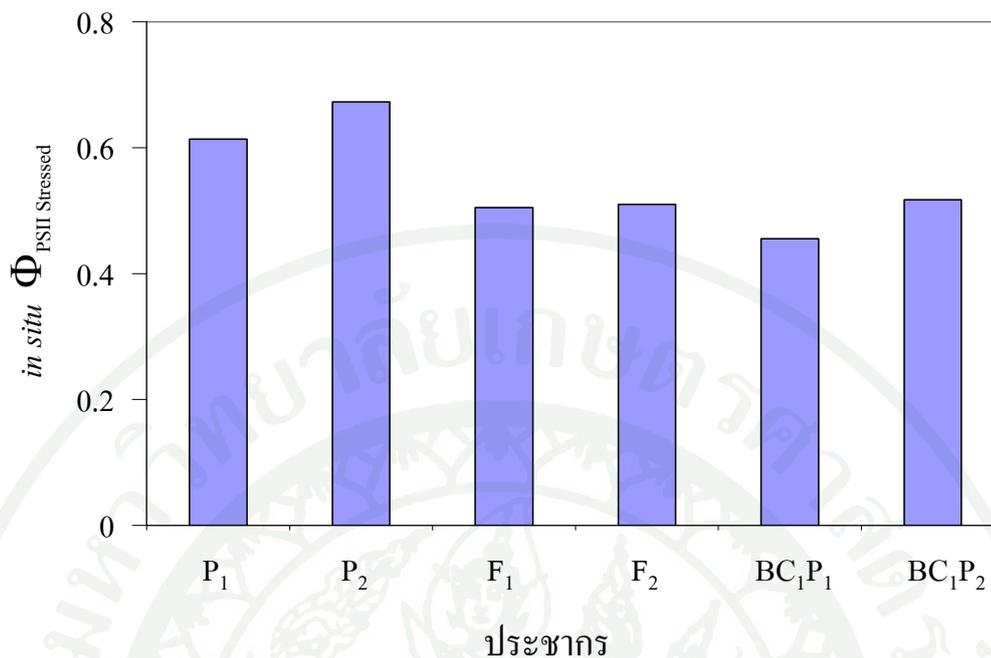
ค่าอัตราพันธุกรรมมักแสดงผลเป็นเปอร์เซ็นต์โดยคูณด้วย 100 ถ้ามีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าความแปรปรวนทั้งหมดเกิดจากความแตกต่างเนื่องมาจากยีนเพียงอย่างเดียว แต่

ถ้ามีค่าเท่ากับ 0 แสดงว่าความแตกต่างมิได้เกิดจากผลของยีนแต่อย่างใด แต่เกิดจากสภาพแวดล้อมเท่านั้น (ไพศาล, 2535)

อัตราพันธุกรรมจัดเป็นข้อมูลที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ เป็นค่าที่ห้ามองได้ว่าการปรับปรุงพันธุ์นั้นมีความยากง่ายมากน้อยเพียงใด และยังเกี่ยวข้องกับธรรมชาติของอัตราพันธุกรรมก็คือ ลักษณะต่างๆ ของพืชให้ค่านี้แตกต่างกัน ผลผลิต เปอร์เซ็นต์โปรตีน และเปอร์เซ็นต์น้ำมัน มักให้ค่าอัตราพันธุกรรมที่ต่ำมาก และอัตราพันธุกรรมมักแปรปรวนได้ง่าย ถ้าสิ่งเหล่านี้ต่างกัน คือวิธีการคำนวณ พันธุ์ที่ใช้ ฤดูปลูก วิธีการปลูก ระยะปลูก สถานที่ปลูก ฯลฯ ก็อาจทำให้อัตราพันธุกรรมต่างกันด้วย (ไพศาล, 2535)

อย่างไรก็ตาม ค่าอัตราพันธุกรรมสามารถหาได้อีกหลายวิธี และค่อนข้างซับซ้อน ใช้กับประชากรในแบบอื่น ๆ และอาจกำหนดวิธีการผสมโดยเฉพาะ (ไพศาล, 2535) และเป็นคุณสมบัติเฉพาะของลักษณะหนึ่งในประชากรหนึ่งภายใต้สภาพแวดล้อมหนึ่งเท่านั้น ดังนั้น ถ้าจะนำค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะนั้นในประชากรหนึ่งไปใช้กับอีกประชากรหนึ่ง จะต้องพิจารณาความคล้ายคลึงระหว่างประชากรทั้งสอง และสภาพแวดล้อมด้วย (ประดิษฐ์, 2550)

นอกจากนี้ค่าอัตราพันธุกรรมสามารถใช้ประเมินความก้าวหน้าในการคัดเลือกลักษณะนั้นว่าจะปรับปรุงได้มากน้อยเพียงไร และใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกวิธีการคัดเลือกแบบต่างๆ ซึ่งวิธีที่ดีที่สุดคือวิธีที่เสียค่าใช้จ่ายน้อยและให้ความก้าวหน้าในการคัดเลือกสูงสุด ถ้าค่าอัตราพันธุกรรมสูง อาจใช้วิธีการคัดเลือกแบบง่ายๆ เช่น การคัดเลือกแบบรวม (mass selection) แต่ถ้าค่าอัตราพันธุกรรมมีค่าต่ำ การคัดเลือกจะทำได้ยาก เพราะอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะสูง อาจต้องใช้วิธีทดสอบลูก (progeny test) ร่วมด้วย (พีระศักดิ์, 2525; Falconer and Mackay, 1996)



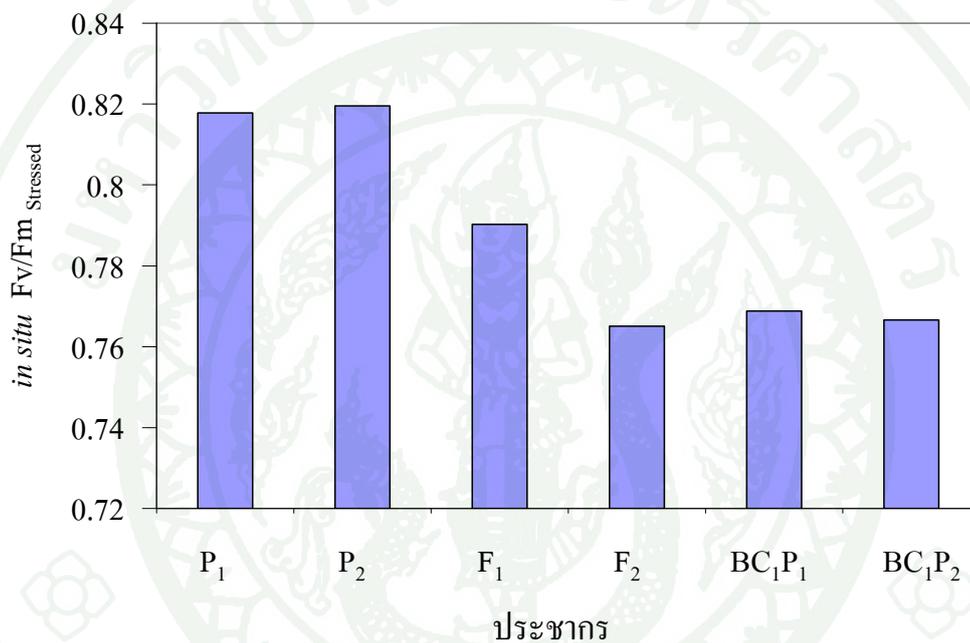
ภาพที่ 1 ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($\Phi_{\text{PSII Stressed}}$) ในสภาพแปลงของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก

3. ค่าเฉลี่ย

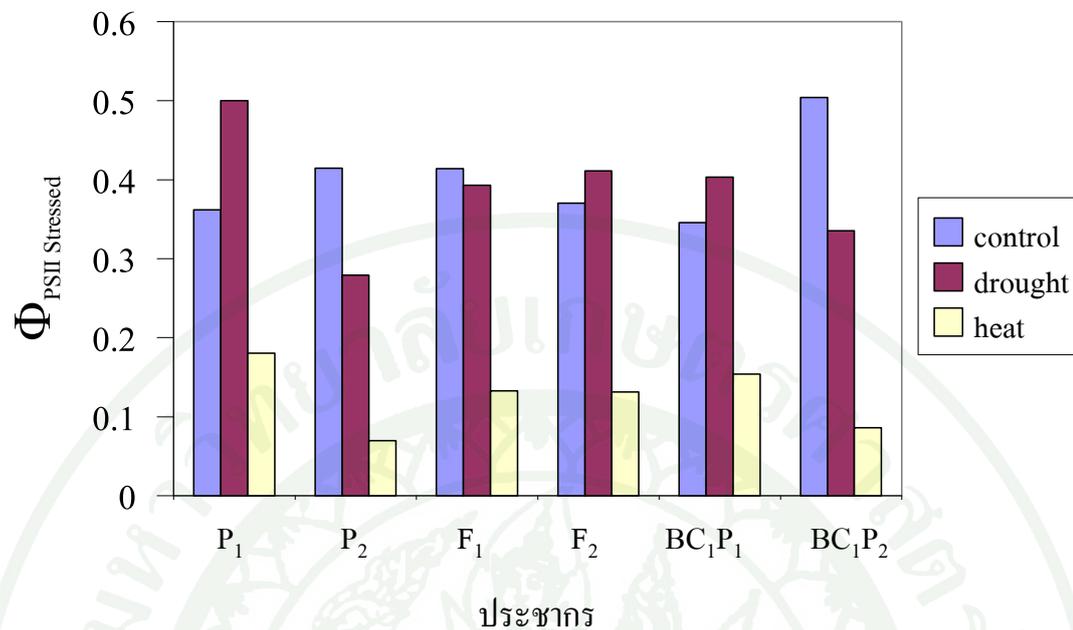
จากการทดสอบความทนทานแล้งและร้อนของถั่วเขียว ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ในระยะออกดอก โดยวิธีการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($\Phi_{\text{PSII Stressed}}$) พบว่า P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, BC₁P₂, F₂, F₁ และ BC₁P₁ ตามลำดับ (ภาพที่ 1)
 1) วิธีการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด ($\Phi_{\text{Fv/Fm Stressed}}$) พบว่า P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, F₁, BC₁P₁, BC₁P₂ และ F₂ ตามลำดับ (ภาพที่ 2)

โดยค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($\Phi_{\text{PSII Stressed}}$) พบว่า ของ *in vivo* $\Phi_{\text{PSII Stressed}}$ กับ PEG $\Phi_{\text{PSII Stressed}}$ ที่มีค่าใกล้เคียงกัน เนื่องจากพืชได้รับความเครียด จากการขาดน้ำในแปลงก่อนที่จะนำมาทำการทดลองในห้องปฏิบัติการจึงทำให้ค่าเฉลี่ยไม่เปลี่ยนแปลงมาก หรือลดลงไม่แตกต่างกันมาก แต่ค่าเฉลี่ยของ Heat-PEG $\Phi_{\text{PSII Stressed}}$ จะมีค่าที่ต่ำสุด และค่าเฉลี่ยของการใช้แสงในสภาพได้แสง ($\Phi_{\text{PSII Control}}$) ของประชากร พบว่า *in vivo* $\Phi_{\text{PSII Control}}$ มีค่าสูงสุด รองลงมา คือ

และค่าเฉลี่ยของการใช้แสงสูงสุด ($F_v/F_{m_{Control}}$) ของประชากร พบว่า *in vivo* $F_v/F_{m_{Control}}$ มีค่าสูงสุด เพราะไม่ได้รับกับสภาวะเครียด รongลงมา คือ PEG- $F_v/F_{m_{Control}}$ และ Heat- $F_v/F_{m_{Control}}$ ที่ได้รับความเครียดสูงสุดทำให้ค่าที่ได้ต่ำกว่า 2 กลุ่มแรก



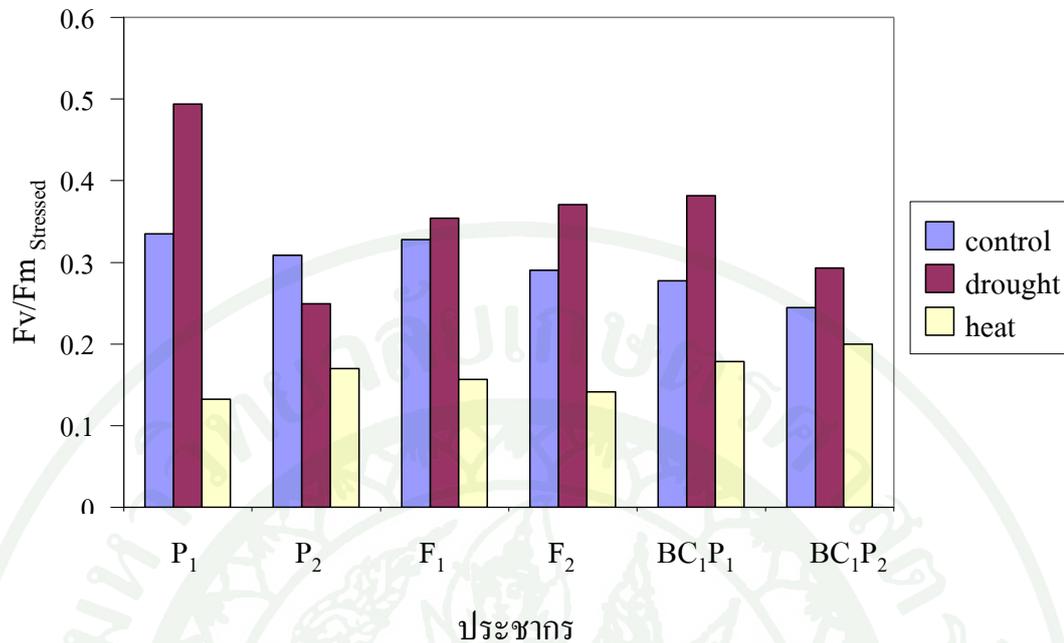
ภาพที่ 2 ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด (*in situ* $F_v/F_{m_{Stressed}}$) ในสภาพแปลงของประชากรถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก



ภาพที่ 3 ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($\Phi_{PSII\text{Stressed}}$) ของ

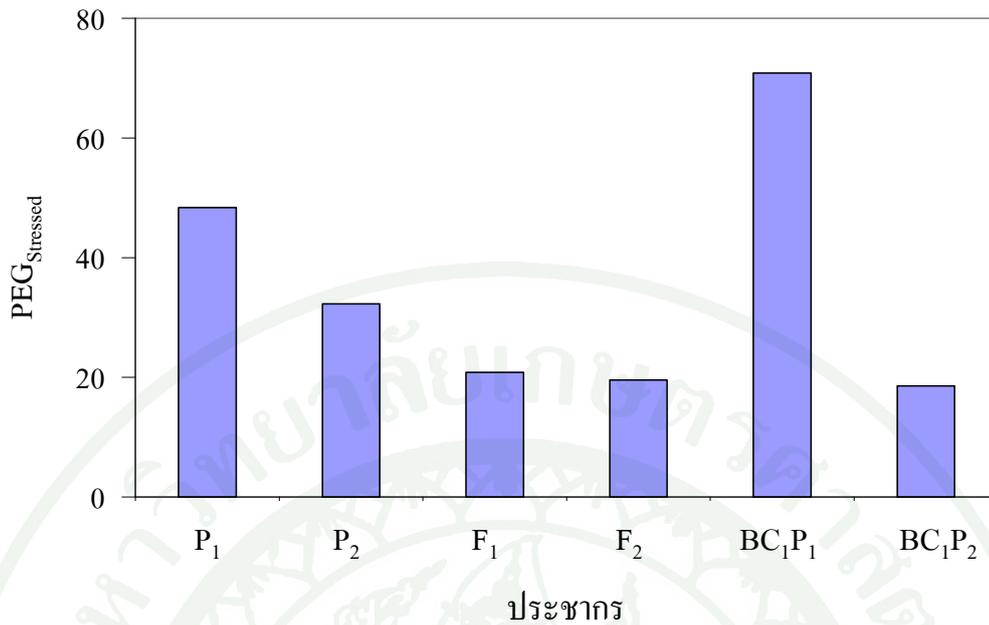
in vivo $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ PEG- $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ และ Heat- $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ ของประชากร
ถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก

วิธีการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($\Phi_{PSII\text{Stressed}}$) โดย *in vivo* F_v/F_m_{Control}
กลุ่ม PEG และ กลุ่ม Heat พบว่า *in vivo* $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ BC₁P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₂, F₁, P₁
และ BC₁P₁ ตามลำดับ ใน PEG- $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ F₂, BC₁P₁, F₁, BC₁P₂
และ V3131(P₂) ตามลำดับ และ Heat- $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₁, F₁, F₂,
BC₁P₂ และ P₂ ตามลำดับ (ภาพที่ 3)



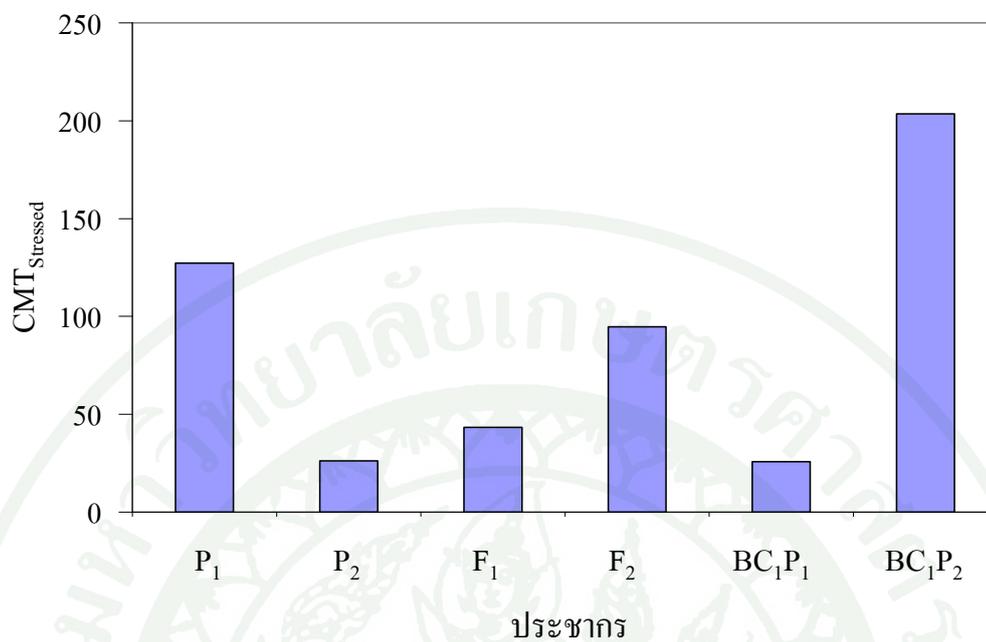
ภาพที่ 4 ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด ($F_v/F_m_{\text{Stressed}}$) ของ *in vivo* $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ PEG- $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ และ กลุ่ม Heat- $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ ของประชากรถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก

วิธีการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด ($F_v/F_m_{\text{Stressed}}$) คือ *in vivo* $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ PEG- $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ และ กลุ่ม Heat- $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ พบว่า *in vivo* $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ F₁, P₂, F₂, BC₁P₁, F₁, BC₁P₂ ตามลำดับ ใน PEG- $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₁, F₂, F₁, BC₁P₂ และ P₂ ตามลำดับ ใน Heat- $F_v/F_m_{\text{Stressed}}$ BC₁P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₁, P₂, F₁, F₂ และ P₁ ตามลำดับ (ภาพที่ 4)

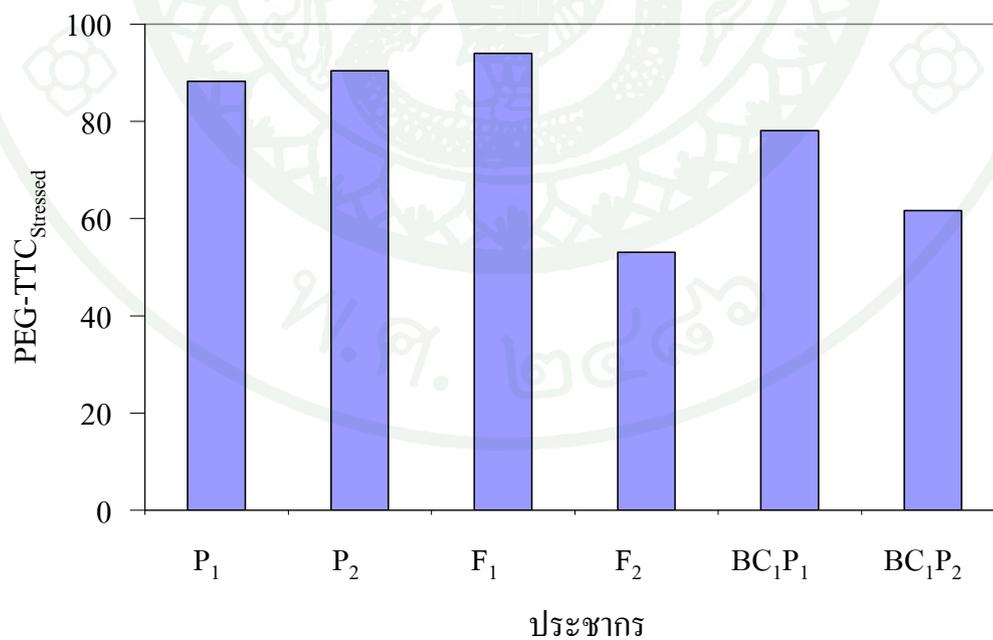


ภาพที่ 5 ค่าเฉลี่ยของเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (PEG_{Stressed}) ของประชากรถั่วเขียวคู่ผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก

วิธีการวัดเสถียรภาพของ เซลล์เมมเบรน (PEG_{Stressed}) พบว่า BC₁P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, P₂, F₁, F₂ และ BC₁P₂ ตามลำดับ (ภาพที่ 5) วิธีการวัดเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (CMT_{Stressed}) พบว่า BC₁P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, F₂, F₁, BC₁P₁ และ P₂ ตามลำดับ (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ค่าเฉลี่ยของเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (CMT_{Stressed}) ของประชากรถั่วเขียว
คู่ผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก

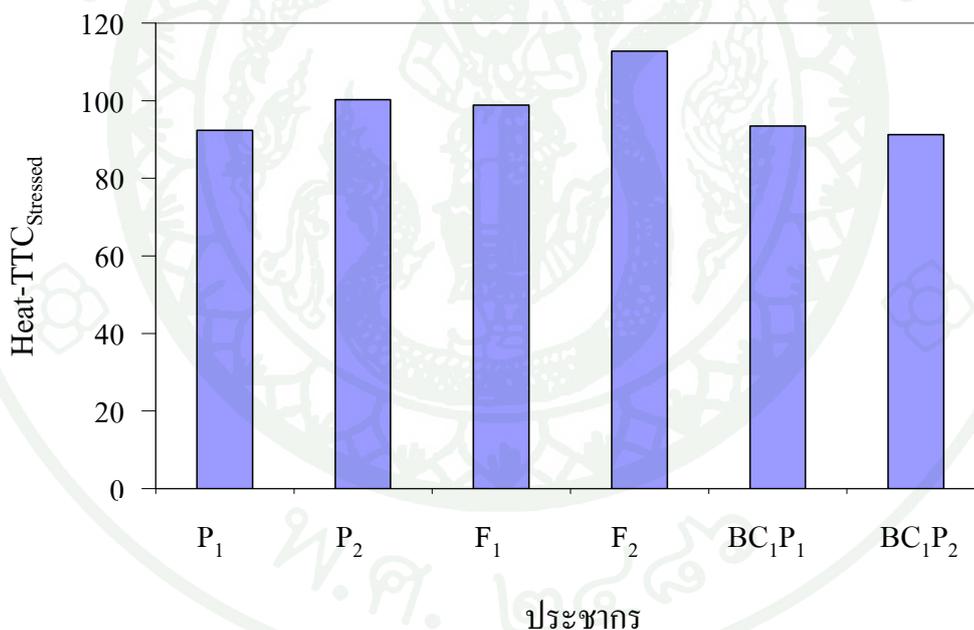


ภาพที่ 7 ค่าเฉลี่ยของปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ (PEG-TTC_{Stressed}) ของประชากร
ถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก

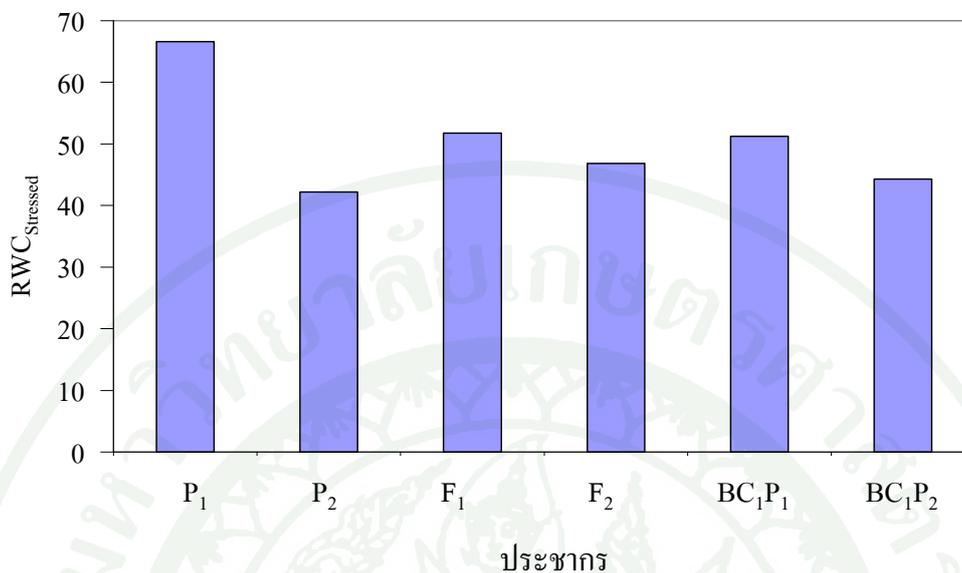
วิธีการวัดปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ (PEG-TTC_{Stressed}) พบว่า F₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₂, P₁, BC₁P₁, BC₁P₂, และ F₂ (ภาพที่ 7)

วิธีการวัดปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ (Heat-TTC_{Stressed}) พบว่า F₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₂, F₁, P₁, BC₁P₁ และ BC₁P₂ ตามลำดับ (ภาพที่ 8)

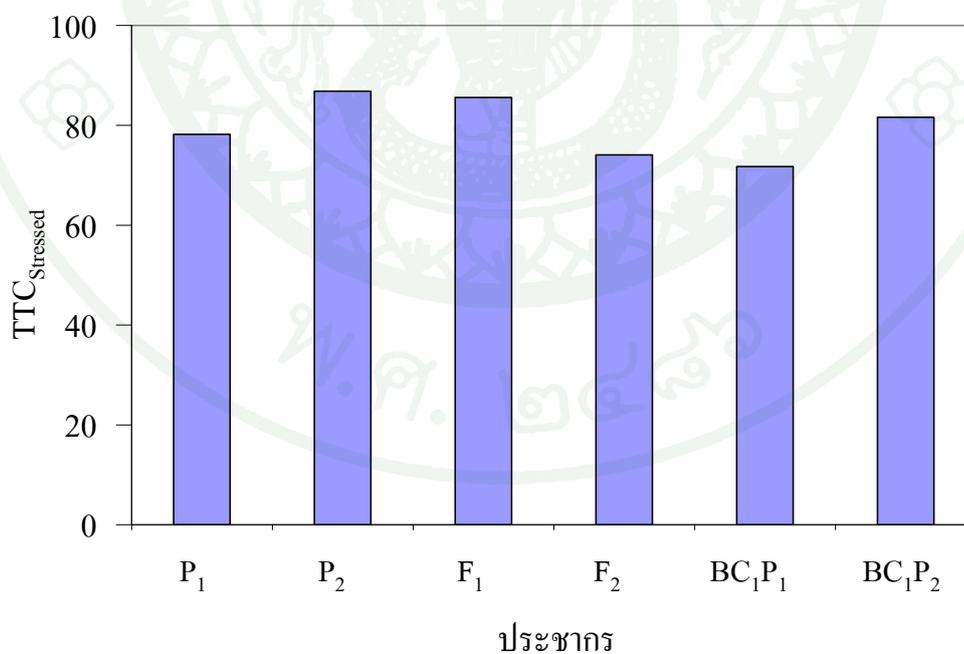
วิธีการวัดปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบพืช (RWC_{Stressed}) พบว่า P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ F₁, BC₁P₁, F₂, BC₁P₂ และ P₂ ตามลำดับ (ภาพที่ 9) ส่วนค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบพืช (RWC) ของประชากรที่ได้รับน้ำอย่างเพียงพอ มีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่งดน้ำ เนื่องจากพืชไม่ได้รับความเครียดจากการขาดน้ำ ทำให้ค่าที่ได้สูงกว่าการขาดน้ำ



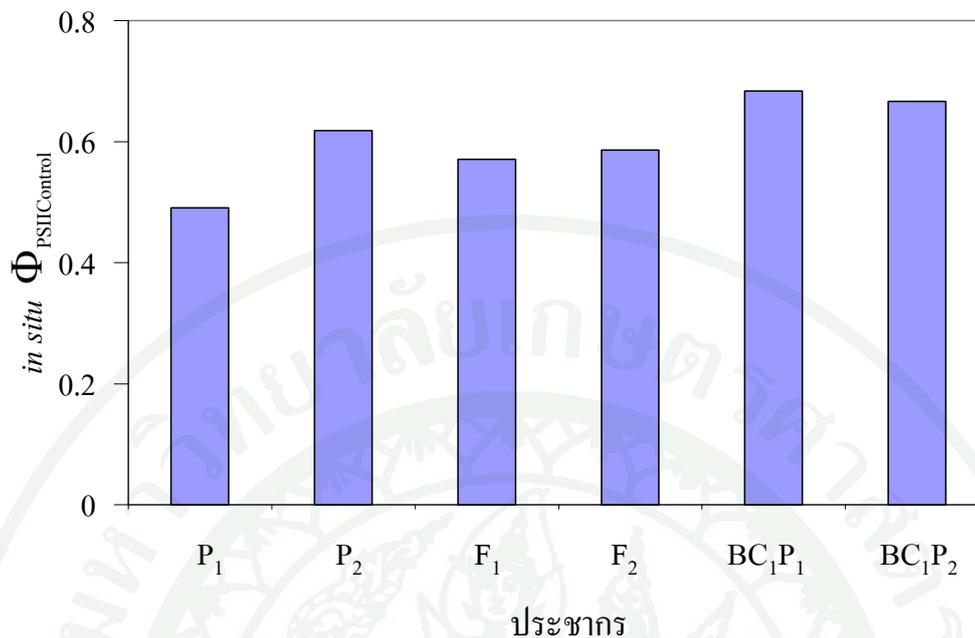
ภาพที่ 8 ค่าเฉลี่ยของปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ (Heat-TTC_{Stressed}) ของประชากร ถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก



ภาพที่ 9 ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ในใบพืช ($RWC_{Stressed}$) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก



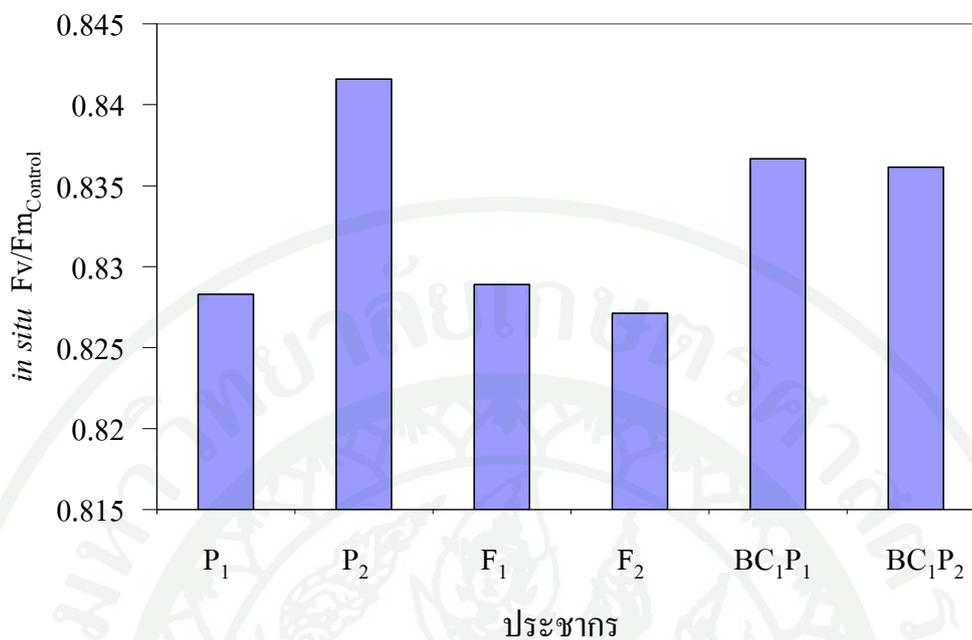
ภาพที่ 10 ค่าเฉลี่ยของปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ ($TTC_{Stressed}$) ของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก



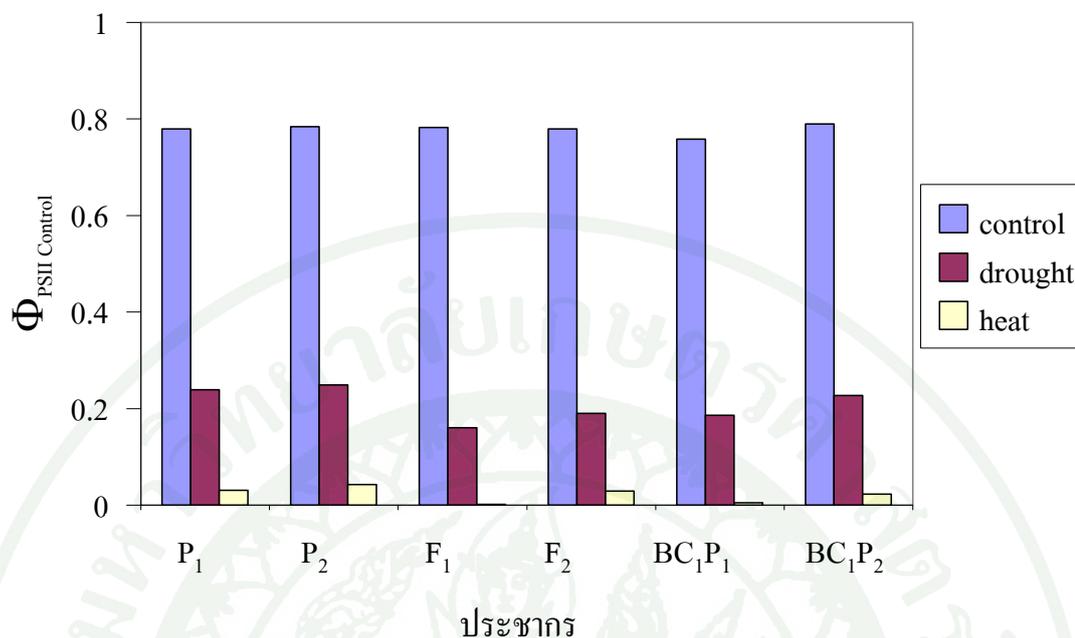
ภาพที่ 11 ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($in\ situ\ \Phi_{PSIIControl}$) ของประชากร ถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

จากการทดสอบความทนทานแล้งและร้อนของถั่วเขียวของประชากรถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก โดยวิธีการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($in\ situ\ \Phi_{PSIIControl}$) พบว่า BC₁P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₂, P₂, F₂, F₁ และ P₁ ตามลำดับ (ภาพที่ 11)

วิธีการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด ($in\ situ\ F_v/F_m_{Control}$) พบว่า P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₁, BC₁P₂, F₁, P₁ และ F₂ ตามลำดับ (ภาพที่ 12)

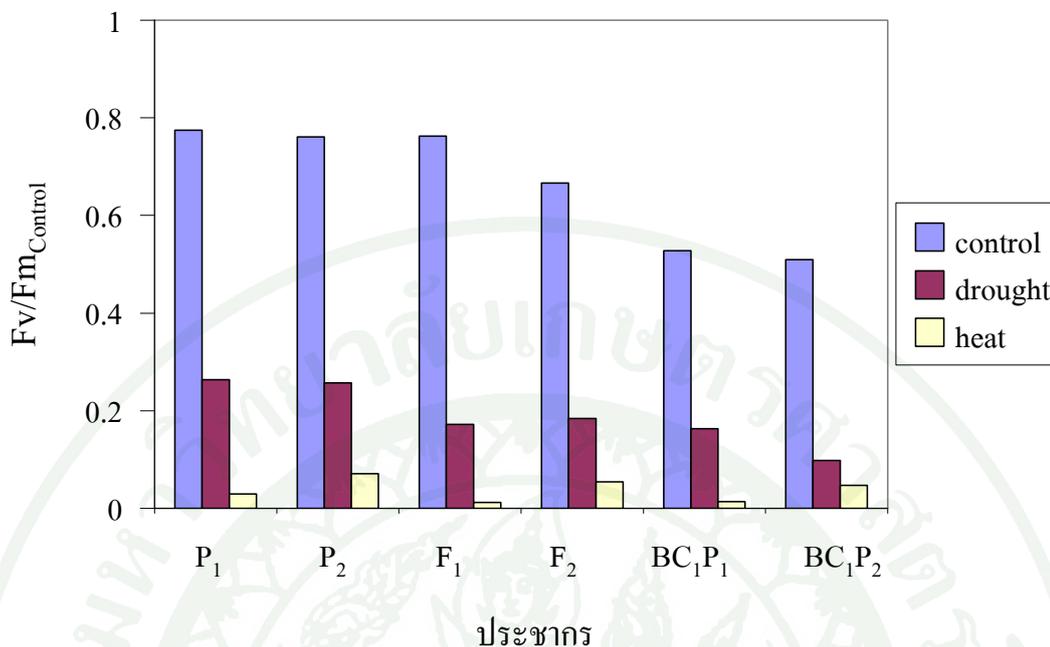


ภาพที่ 12 ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด ($in\ situ\ Fv/Fm_{Control}$) ของประชากรถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก



ภาพที่ 13 ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($\Phi_{\text{PSII Control}}$) ของ *in vivo* $\Phi_{\text{PSII Control}}$ กลุ่ม PEG- $\Phi_{\text{PSII Control}}$ และ Heat- $\Phi_{\text{PSII Control}}$ ของประชากรถั่วเขียวกลุ่มผสม V1595 x V3131 ให้น้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

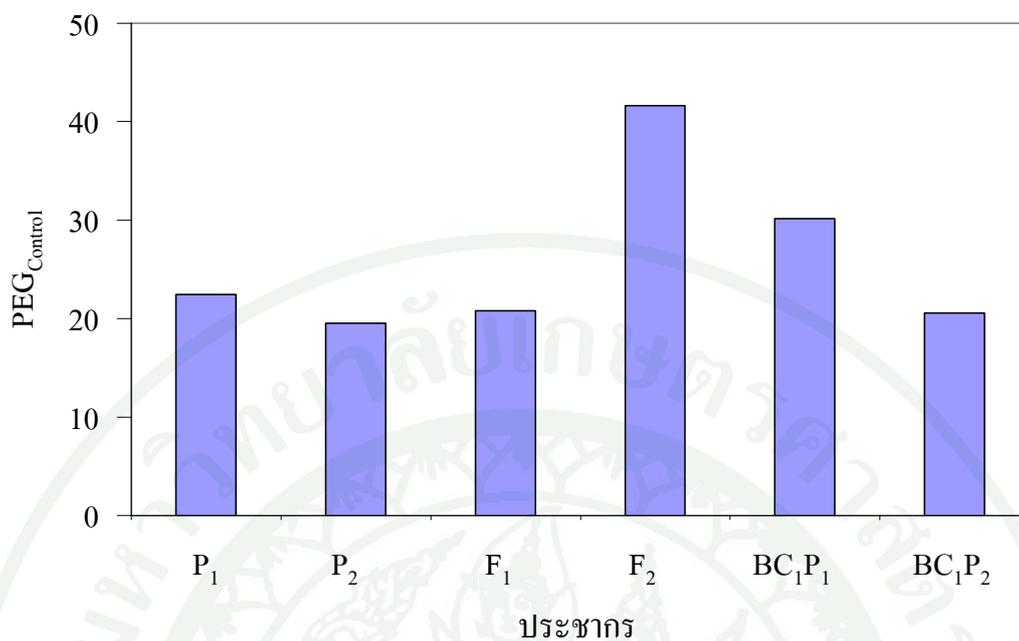
วิธีการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงในสภาพได้แสง ($\Phi_{\text{PSII Control}}$) คือ *in vivo* $\Phi_{\text{PSII Control}}$ กลุ่ม PEG- $\Phi_{\text{PSII Control}}$ และ กลุ่ม Heat- $\Phi_{\text{PSII Control}}$ พบว่า *in vivo* $\Phi_{\text{PSII Control}}$ BC₁P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₂, F₁, F₂, P₁ และ BC₁P₁ ตามลำดับ ของ PEG- $\Phi_{\text{PSII Control}}$ P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, BC₁P₂, F₂, BC₁P₁ และ F₁ ตามลำดับ ของ Heat- $\Phi_{\text{PSII Control}}$ P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, F₂, BC₁P₂, BC₁P₁ และ F₁ ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยของประชากร *in vivo* $\Phi_{\text{PSII Control}}$ กับ PEG- $\Phi_{\text{PSII Control}}$ มีค่าใกล้เคียงกัน แต่ค่าเฉลี่ยของ Heat- $\Phi_{\text{PSII Control}}$ มีค่าที่ต่ำสุด เนื่องจากพืชได้รับความเครียดสูงสุดจึงทำให้ค่าที่ได้ต่ำกว่า 2 กลุ่มแรก (ภาพที่ 13)



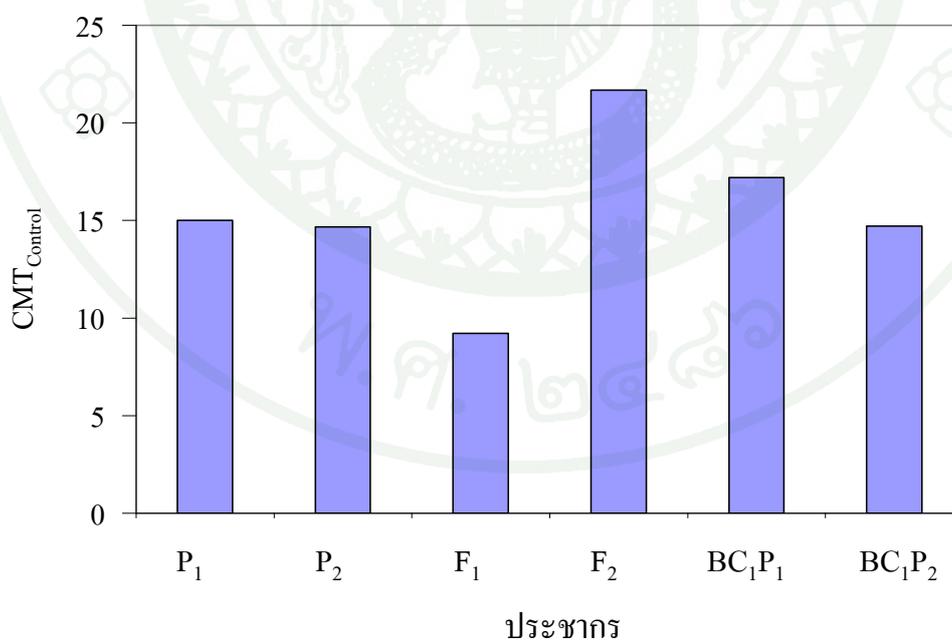
ภาพที่ 14 ค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด ($F_v/F_{m_{Control}}$) ของ *in vivo* $F_v/F_{m_{Control}}$ PEG- $F_v/F_{m_{Control}}$ และ Heat- $F_v/F_{m_{Control}}$ ของประชากรถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ใ้ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

วิธีการวัดประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด ประสิทธิภาพการใช้แสงสูงสุด ($F_v/F_{m_{Control}}$) *in vivo* $F_v/F_{m_{Control}}$ PEG- $F_v/F_{m_{Control}}$ และ Heat- $F_v/F_{m_{Control}}$ พบว่า *in vivo* $F_v/F_{m_{Control}}$ P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ F₁, P₂, F₂, BC₁P₁ และ BC₁P₂ ตามลำดับ ของ PEG- $F_v/F_{m_{Control}}$ P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₂, F₂, F₁, BC₁P₁ และ BC₁P₂ ตามลำดับ ของ Heat- $F_v/F_{m_{Control}}$ P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ F₂, BC₁P₂, P₁, BC₁P₁ และ F₁ ตามลำดับ (ภาพที่ 14)

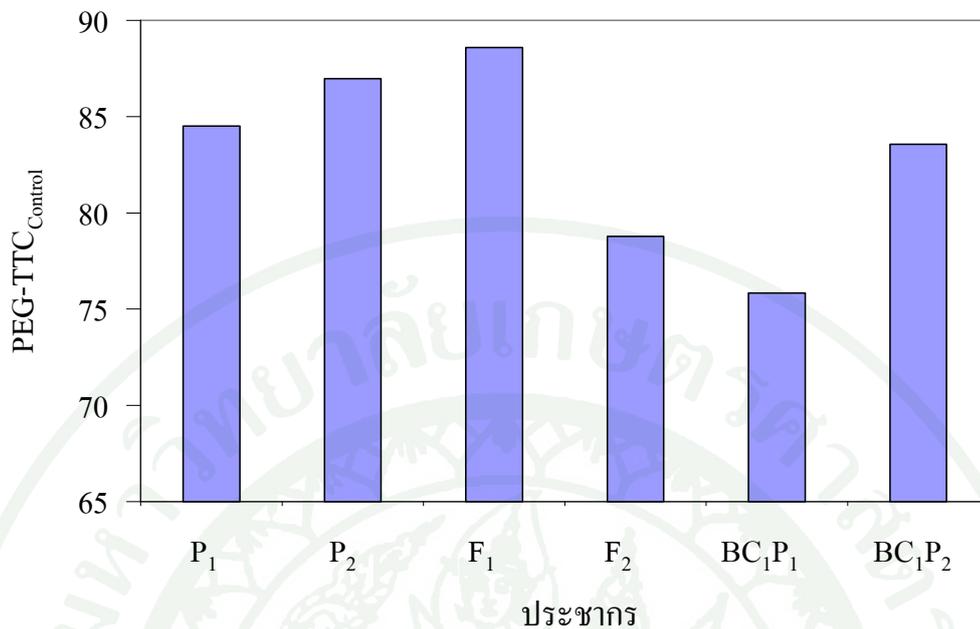
วิธีการวัดเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (PEG_{Control}) พบว่า F₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₁, P₁, BC₁P₂, F₁ และ P₂ ตามลำดับ (ภาพที่ 15) วิธีการวัดเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (CMT_{Control}) พบว่า F₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, BC₁P₁, P₂ และ F₁ ตามลำดับ (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 15 ค่าเฉลี่ยของเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (PEG_{Control}) ของประชากรถั่วเขียวคู่ผสม V1595 x V3131 ให้น้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก



ภาพที่ 16 ค่าเฉลี่ยของเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน (CMT_{Control}) ของประชากรถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ให้น้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

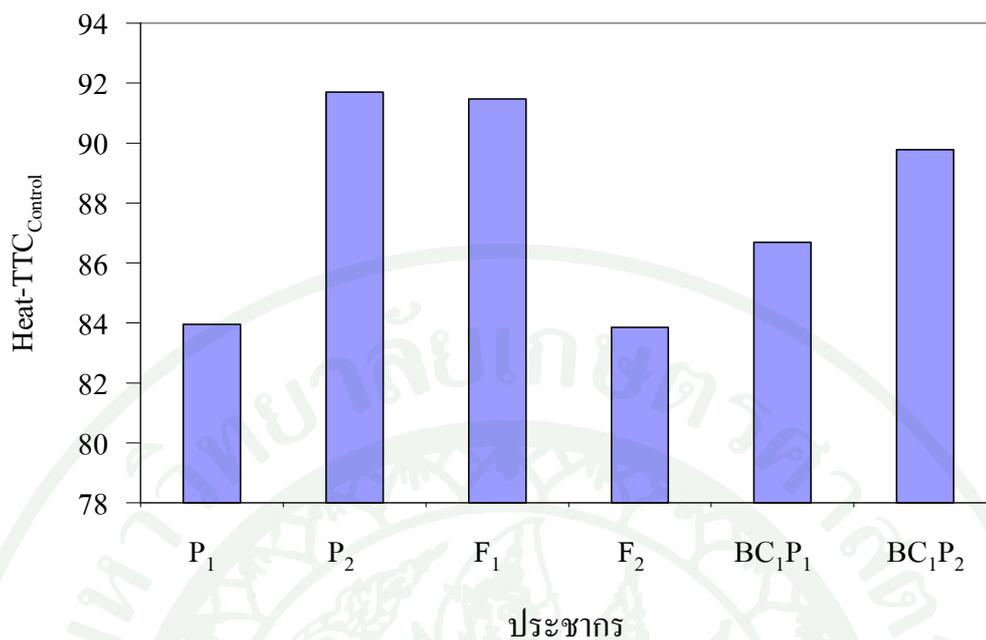


ภาพที่ 17 ค่าเฉลี่ยของปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ (PEG-TTC_{Control}) ของประชากร ถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

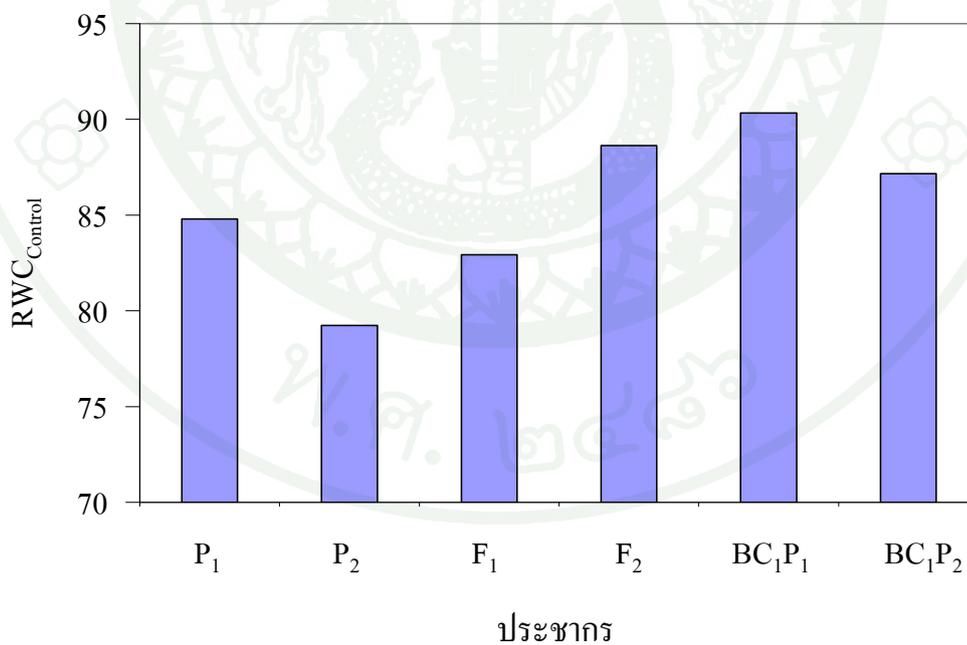
วิธีการวัดปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ PEG-TTC_{Control} พบว่า F₁ ค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₂, P₁, BC₁P₂, F₂ และ BC₁P₁ ตามลำดับ (ภาพที่ 17) วิธีการวัดปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ Heat-TTC_{Control} พบว่า P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ F₁, BC₁P₂, BC₁P₁, P₁ และ F₂ ตามลำดับ (ภาพที่ 18)

วิธีการวัดปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ในใบพืช RWC_{Control} พบว่า BC₁P₁ ค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ F₂, BC₁P₂, P₁, F₁ และ P₂ ตามลำดับ (ภาพที่ 19)

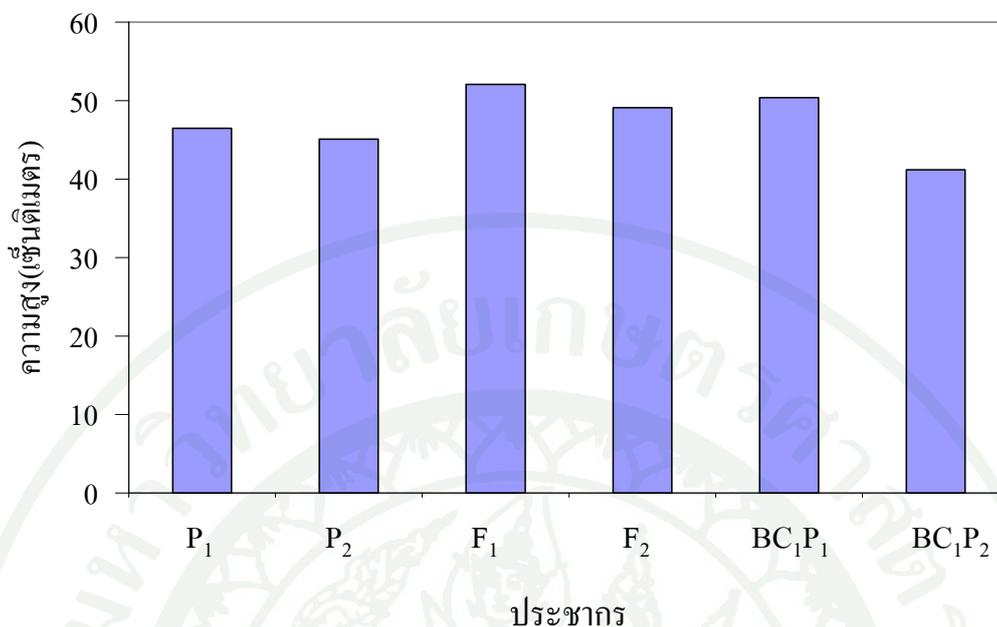
ค่าเฉลี่ยของ PEG และ CMT ของประชากรในการขาดน้ำ มีค่าสูงกว่าการได้รับน้ำอย่างเพียงพอซึ่งบอกให้ทราบว่าพืชได้รับความเครียด ทำให้ค่าที่ได้มีเปอร์เซ็นต์สูง และการที่ 2 ค่านี้นี้ต่ำ แสดงว่าพืชไม่ได้รับความเครียดจากการขาดน้ำ เนื่องจากมีสารอเล็กโตรไลต์ต่างๆ รั่วไหลออกมา นอกเซลล์ต่ำ เมื่อเมมเบรนเสียหายจากการได้รับความร้อน (จวงจันท์, 2522)



ภาพที่ 18 ค่าเฉลี่ยของปฏิกิริยาของเตตราโซเลียมคลอไรด์ (Heat-TTC_{Control}) ของประชากร ถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก



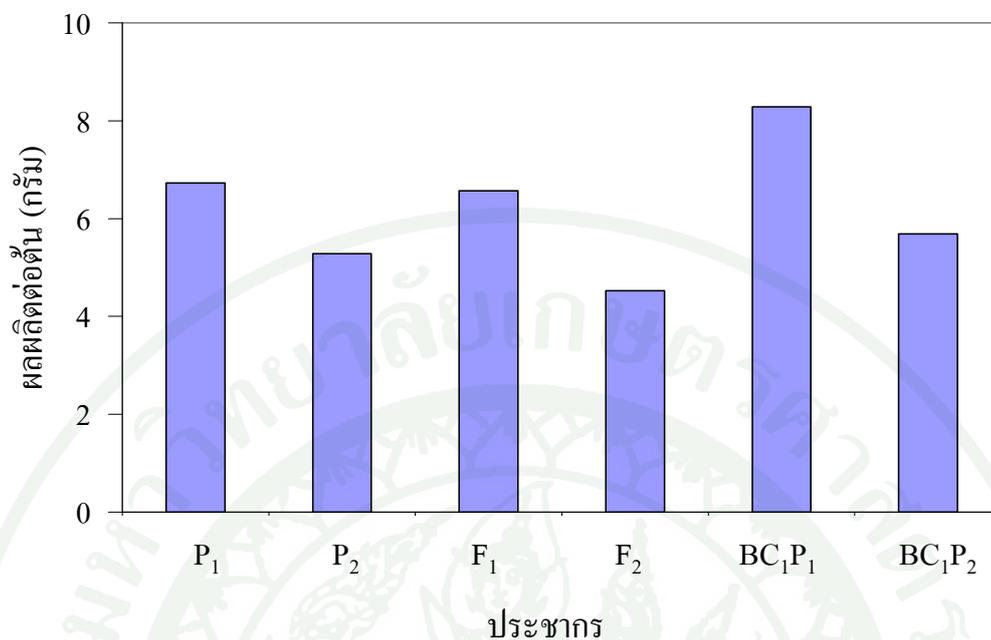
ภาพที่ 19 ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบพืช (RWC_{Control}) ของประชากรถั่วเขียวคู่ผสม V1595 x V3131 ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก



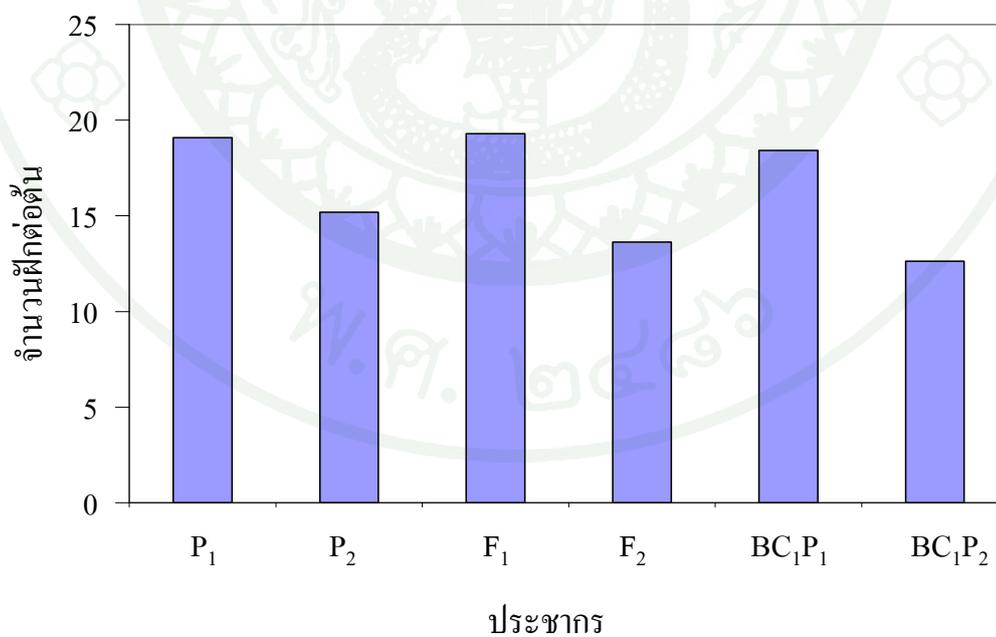
ภาพที่ 20 ค่าเฉลี่ยของความสูงของประชากรถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำใน ระยะออกดอก

การทดสอบความทนทานแล้งของถั่วเขียว โดยวิธีการวัดความสูง ภายใต้การขาดน้ำ พบว่า F₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₁, F₂, P₁, P₂ และ BC₁P₂ (ภาพที่ 20) ค่าเฉลี่ยของผลผลิต พบว่า BC₁P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, F₁, BC₁P₁, P₂ และ F₂ (ภาพที่ 21) จำนวนฝักต่อต้น พบว่า F₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, BC₁P₁, P₂, F₂ และ BC₁P₂ (ภาพที่ 22) ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 100 เมล็ด พบว่า BC₁P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, P₂, BC₁P₁, F₂ และ F₁ (ภาพที่ 23) จำนวนเมล็ดต่อฝัก F₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₁, F₂, P₁, P₂ และ BC₁P₂ (ภาพที่ 24)

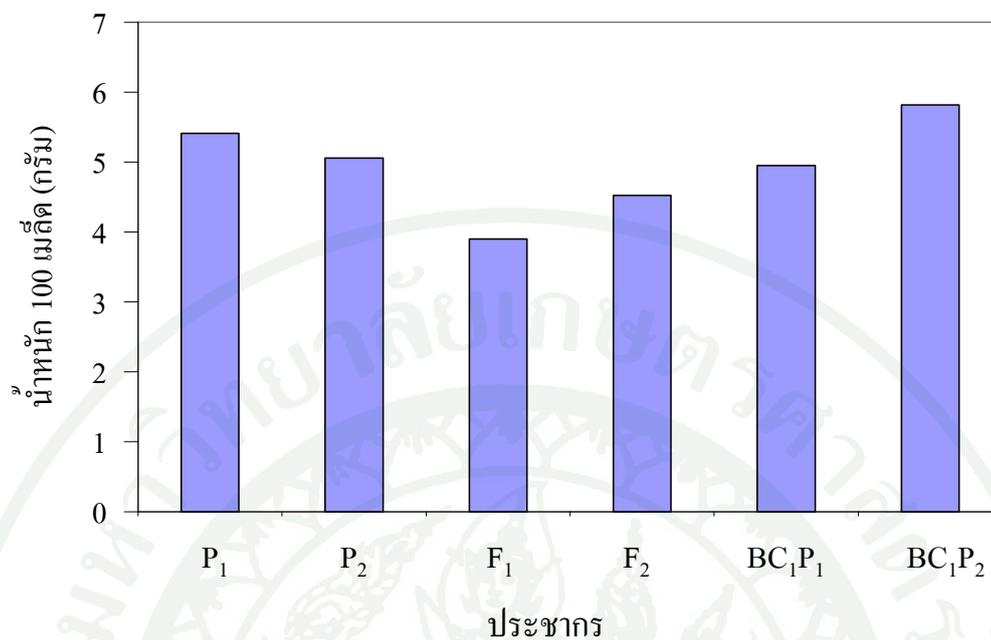
การทดสอบความทนทานแล้งและร้อนของถั่วเขียว โดยวิธีการวัดความสูง ผลผลิตต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ของประชากรถั่วเขียว พบว่า ค่าเฉลี่ยของประชากรของ ที่ได้รับน้ำอย่างเพียงพอมีค่าสูงกว่า ประชากรที่การขาดน้ำเนื่องจากพืชไม่ได้รับความเครียดจากการ งดน้ำ ยกเว้น น้ำหนัก 100 เมล็ด



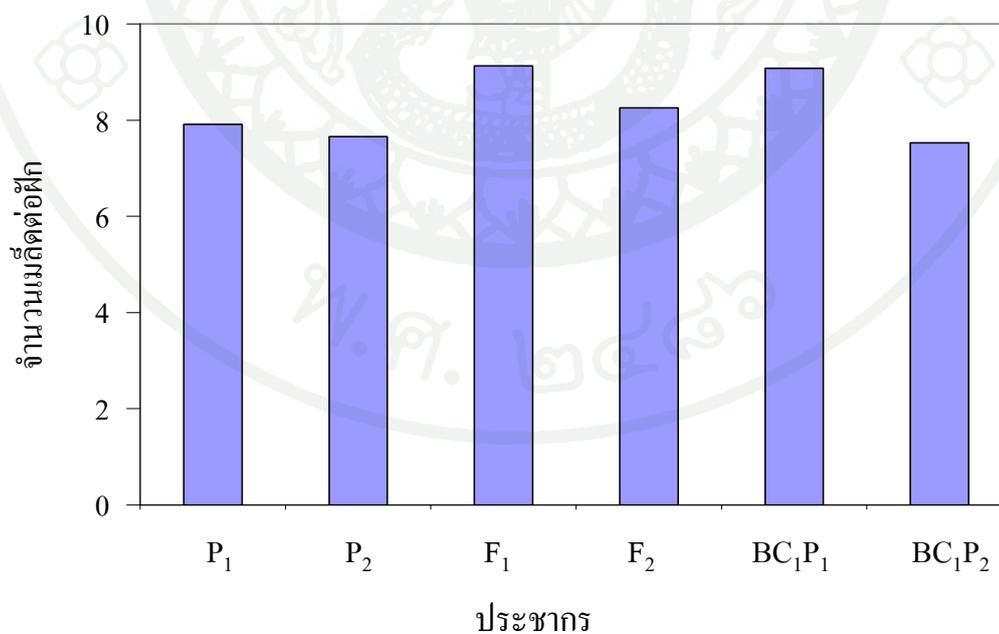
ภาพที่ 21 ค่าเฉลี่ยของผลผลิตของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำ ในระยะออกดอก



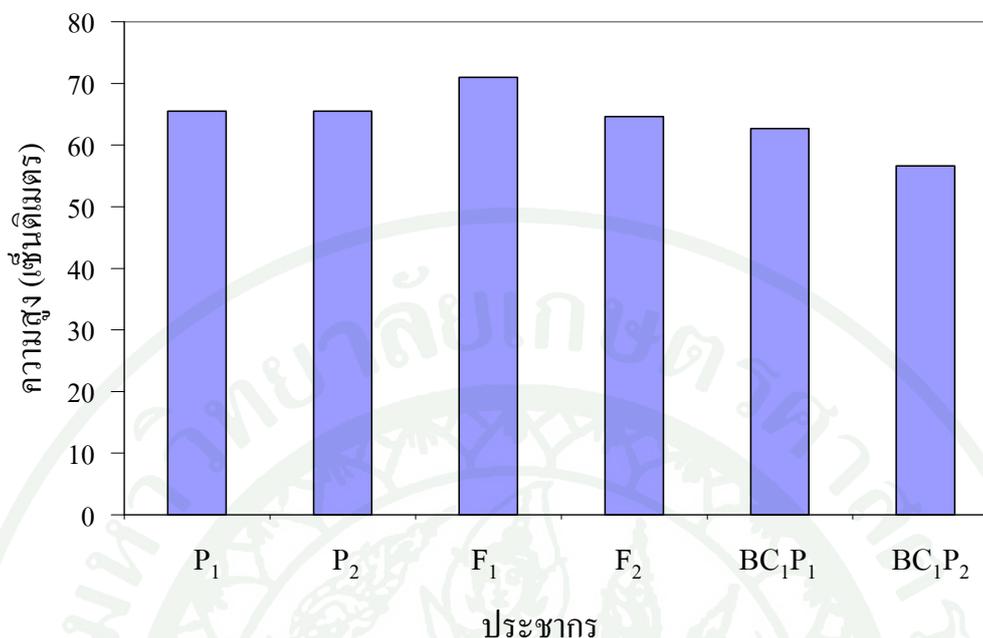
ภาพที่ 22 ค่าเฉลี่ยของจำนวนฝักต่อต้นของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก



ภาพที่ 23 ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 100 เมล็ดของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำ ในระยะออกดอก



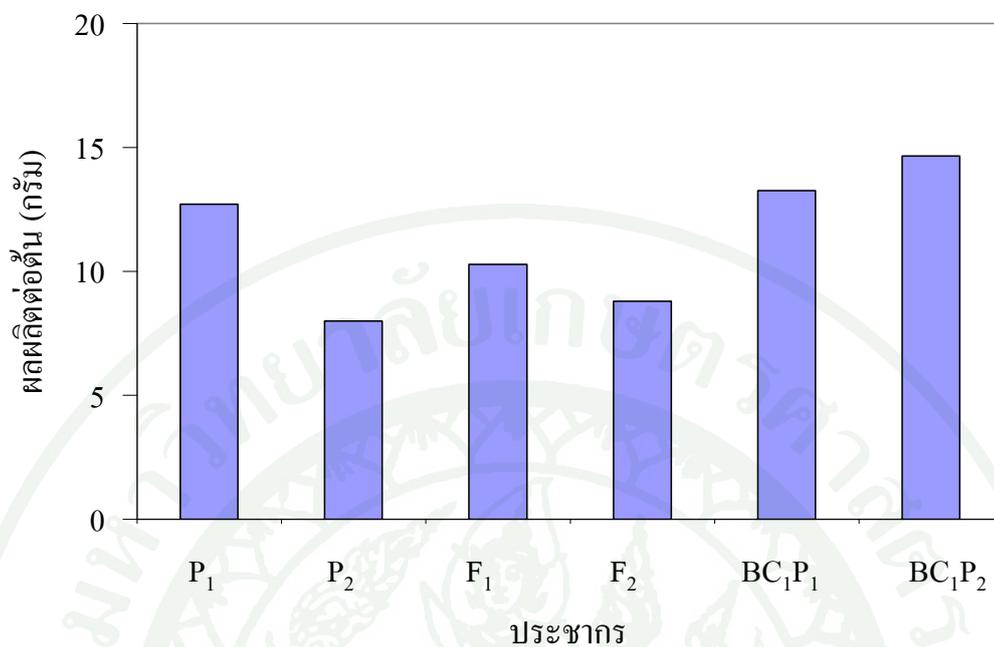
ภาพที่ 24 ค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อฝักของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131 ภายใต้การขาดน้ำในระยะออกดอก



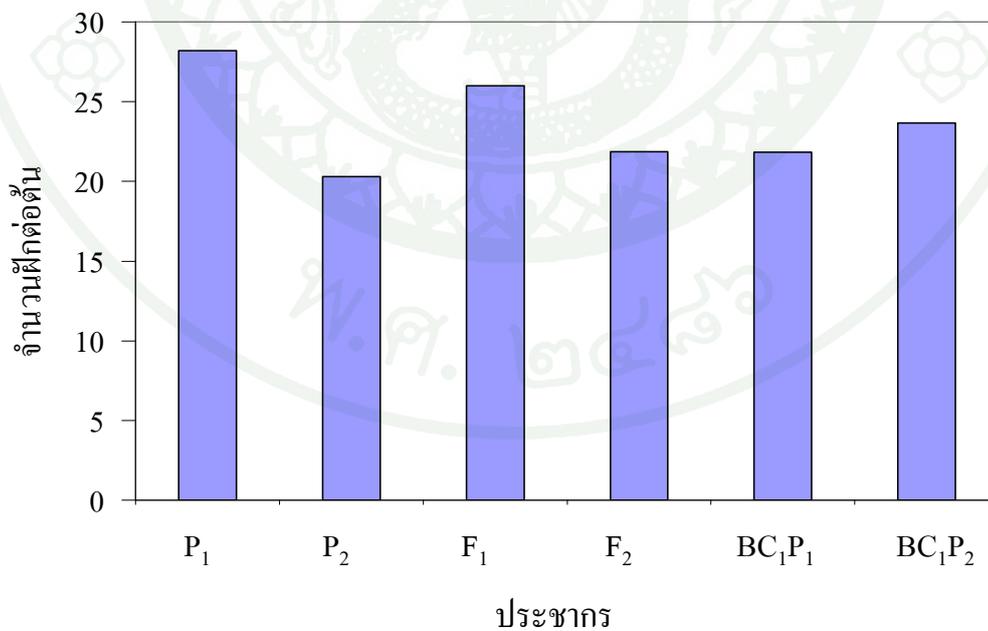
ภาพที่ 25 ค่าเฉลี่ยของความสูงของประชากรถั่วเขียว กลุ่มผสม V1595 x V3131
ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

การทดสอบความทนทานแล้งของถั่วเขียว โดยวิธีการวัดความสูงในการได้รับน้ำอย่างเพียงพอ พบว่า F₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ P₁, P₂, F₁, F₂, BC₁P₁, และ BC₁P₂ (ภาพที่ 25) ผลผลิตต่อต้น พบว่า BC₁P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₁, P₁, F₁, F₂ และ P₂ (ภาพที่ 26) จำนวนฝักต่อต้น พบว่า P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ F₁, BC₁P₂, F₂, BC₁P₁ และ P₂ (ภาพที่ 27) น้ำหนัก 100 เมล็ด พบว่า BC₁P₂ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₁, P₂, F₂, F₁ และ BC₁P₁ (ภาพที่ 28) จำนวนเมล็ดต่อฝัก พบว่า P₁ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ BC₁P₁, F₁, F₂, BC₁P₂ และ P₂ (ภาพที่ 29)

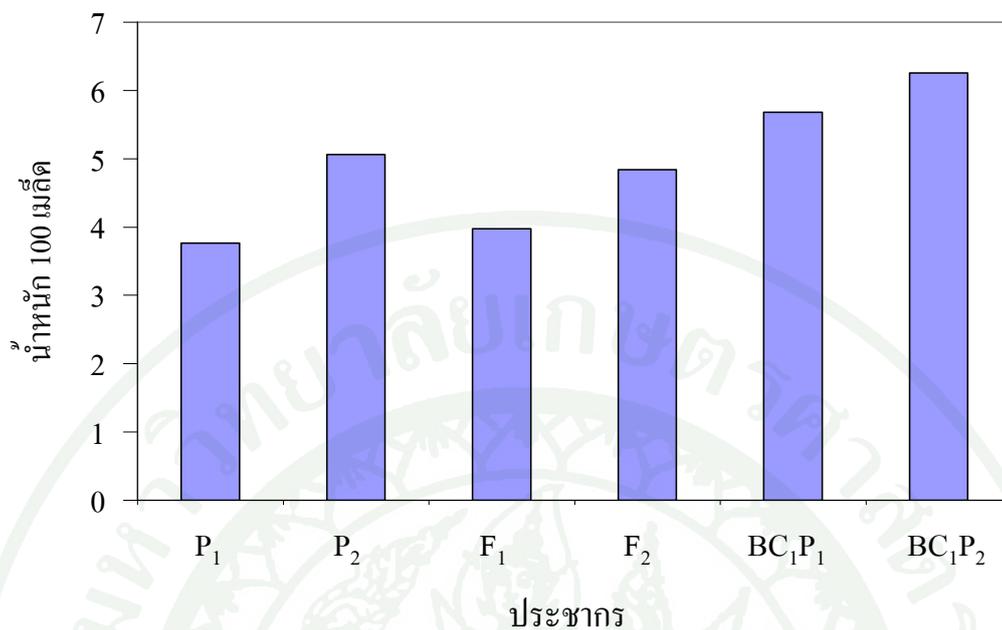
การที่น้ำหนัก 100 เมล็ด มีค่าเฉลี่ยของผลผลิตต่อต้นของ P₁ ภายใต้การขาดน้ำ มีค่าสูงกว่าการได้รับน้ำอย่างเพียงพออาจเนื่องมาจากภายใต้การขาดน้ำ มีจำนวนฝักต่อต้นน้อยกว่า ซึ่งไม่มีการแข่งขันกันมากในการดูดธาตุอาหาร จึงทำให้แต่ละเมล็ดมีขนาดใหญ่ และมีน้ำหนักมาก



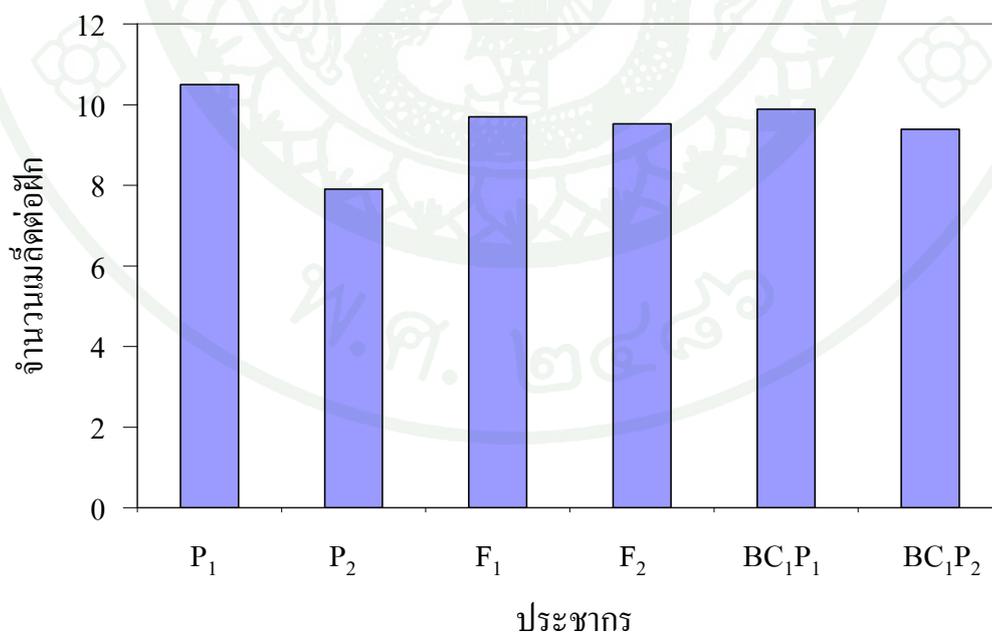
ภาพที่ 26 ค่าเฉลี่ยของผลผลิตต่อต้นของประชากรถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131
ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก



ภาพที่ 27 ค่าเฉลี่ยของจำนวนฝักต่อต้นของประชากรถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131
ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก



ภาพที่ 28 ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 100 เมล็ดของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131
ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก



ภาพที่ 29 ค่าเฉลี่ยของจำนวนเมล็ดต่อฝักของประชากรถั่วเขียว กลุ่มสม V1595 x V3131
ได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. พารามิเตอร์ของความทนทานแล้งและร้อนที่มีความเป็นเอกภาพของ 2 ฤดูกาล ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในถั่วเขียว คู่ผสม V1595 x V3131 ได้แก่ *in situ* Φ_{PSII} , *in situ* Fv/Fm, *in vivo* Φ_{PSII} , PEG- Φ_{PSII} , Heat- Φ_{PSII} , *in vivo* Fv/Fm, PEG-Fv/Fm, Heat-Fv/Fm, PEG, CMT, PEG-TTC, Heat-TTC, TTC, RWC และองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ ความสูง ผลผลิตต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝัก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพารามิเตอร์ส่วนใหญ่สามารถนำไปคัดแยกความแตกต่างระหว่างพันธุกรรมได้ในสภาพแล้งและสภาพร้อนได้

2. วิธีการประเมินทางสรีรวิทยา พารามิเตอร์ที่มีค่าอัตราพันธุกรรมสูงภายใต้การขาดน้ำ คือ PEG-TTC_{Stressed}, *in situ* Fv/Fm_{Stressed}, TTC_{Stressed}, PEG_{Stressed} และ CMT_{Stressed} และพารามิเตอร์ที่มีค่าอัตราพันธุกรรมสูง ในการได้รับน้ำอย่างเพียงพอ คือ PEG-TTC_{Control}, *in vivo* Fv/Fm_{Control}, PEG_{Control}, CMT_{Control} และ Heat-Fv/Fm_{Control}

3. ในการศึกษาวิธีการคัดเลือกพันธุ์พืชทนแล้งและร้อนจากการประเมินคุณสมบัติลักษณะทางสรีรวิทยาของถั่วเขียว วิธีที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาคัดเลือกความทนแล้งและร้อนภายใต้การขาดน้ำในถั่วเขียวคู่ผสม V1595 x V3131 คือ การใช้วิธีการวัดคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ คือ พารามิเตอร์ *in situ* Fv/Fm_{Stressed} และในการได้รับน้ำอย่างเพียงพอ คือ พารามิเตอร์ *in vivo* Fv/Fm_{Control} เนื่องจากเป็นวิธีมีค่าอัตราพันธุกรรมที่สูง ได้ข้อมูลรวดเร็ว และขั้นตอนไม่ซับซ้อน แต่มีข้อจำกัดคือเครื่องมือมีราคาสูง

ข้อเสนอแนะ

การทดลองนี้เป็นงานทดลองที่ใหม่ในการศึกษาความทนทานแล้งและร้อนในถั่วเขียว โดยการประเมินคุณสมบัติทางสรีรวิทยาบางประการ แนะนำว่าสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพืชตระกูลถั่ว และพืชชนิดอื่นได้ เพื่อให้ได้ความถูกต้องและแม่นยำยิ่งขึ้น ถ้านำหลายวิธีการมาใช้ในการประเมิน ไม่ควรใช้จำนวนตัวอย่างที่มากเกินไป อาจทำให้ผิดพลาดได้ง่าย แต่ถ้าใช้จำนวนวิธีการไม่มาก ก็สามารถใช้อัตราพันธุกรรมที่มากได้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2547. **ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช; ถั่วเขียว/ถั่วเขียวผิวดำ**. กรมวิชาการเกษตร.

ชุมนุมสหกรณ์การเกษตร แห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2522. **บทปฏิบัติการเทคโนโลยีของเมล็ดพันธุ์**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เชียงใหม่นิวส์. 2552. การให้น้ำพืชในนา. ข่าว. แหล่งที่มา ;<http://www.kaewpanya.rmutl.ac.th/2552/index.php?>, 31 ตุลาคม 2552.

ธงชัย ตั้งเปรมศรี. 2539. **ความแตกต่างกันในลักษณะ Osmotic adjustment ของอ้อยพันธุ์ต่างๆ**. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2539 ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2550. **พันธุศาสตร์ประชากร**. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประภา ศรีพิจิตร. 2538. การคัดเลือกพันธุ์ข้าว (*Oryza sativa* L.) ทนทานต่อสภาพแล้งโดยใช้สารเคมี polyethylene glycol. วารสารวิชาการเกษตร. 13(2); 117-124.

พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2525. **พันธุศาสตร์ปริมาณที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2535. **พันธุศาสตร์**. ไทยวัฒนาพานิช จำกัด, กรุงเทพฯ.

รังสฤษฎ์ กาวิต๊ะ. 2539. **การปรับปรุงพันธุ์พืชชั้นสูง 1**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิลลี่ กาวิต๊ะ. 2546. **การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและพัฒนาการของพืช**. ภาควิชาพฤกษศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย. 2550. ถั่วเขียวและผลิตภัณฑ์ ; ศักยภาพการเติบโต...ที่ไม่ควรมองข้าม. ข่าว.
แหล่งที่มา; <http://www.positioning.com/prnews/prnews.aspx?id=56999>, 24 ตุลาคม 2550.

สาขณ์ห์ สดุดี. 2537. สภาพะขาดน้ำในการผลิตพืช. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

_____. 2549. ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำกับพืช. เอกสารประกอบการสอนวิชาสรีรวิทยา
การผลิตพืช. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สิรินรี บุกบุญ. 2551. การจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมต่อการทนแล้งและร้อนของ
ถั่วเขียวจากเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2536. สรีรวิทยาการผลิตพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

_____. 2544. สรีรวิทยาการผลิตพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abdelbagi M. Ismail and A.E. Hall. 1999. Reproductive-stage heat tolerance, leaf
membrane thermostability and plant morphology in cowpea. **Crop Sci.** 39; 1762-1768.

Aggarwal, V.D. and Poehlman, J.M. 1977. Effects of photoperiod and temperature on
flowering in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Euphytica** 26; 207-219.

Amir, M, H. Ibrahim and J.S. Quick. 2001. Heritability of heat tolerance in winter and spring
wheat. **Crop Sci.** 41; 1401-1405.

Barrs, H.D. and P.E. Weatherley. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for

- estimating water deficits in leaves. **Aust. J. Biol. Sci.** 15; 413-428.
- Bewley, J. D. 1979. Physiological aspects of desiccation tolerance. **Ann. Rev. Plant Physiol.** 30; 195-238.
- Bilger, W., U. Schreiber and M. Bock. 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. **Oecologia** 102; 425-432.
- Björkman, O. and B. Demming. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origin. **Planta** 170; 489-504.
- Blum, A., B. Sinmina and O. Ziv. 1980. An evaluation of seed and seedling drought tolerance screening test in wheat. **Euphytica** 29; 727-736.
- Blum, A. and A. Ebercon. 1981. Cell membrane Stability as a measure of drought and heat Tolerance in wheat. **Crop Sci.** 21; 43-47
- Blum, A., N. Klueva and H.T. Nguyen. 2001. Wheat cellular thermotolerance is related to yield under heat stress. **Euphytica** 117; 117-123.
- Bressan, R.A., P.M. Hasegawa and A.R. Handa. 1981. Resitance of cultured higher plant cell to polyethylene glycol induced water stress. **Plant Sci. Lett.** 21; 23-30.
- Burton, C.w. 1951. Quantitative inheritance in pearl millet (*Pennisetum glaucum*). **Agron. J.** 43; 409-417.
- Chen, H.H., Z. Y. Shen and P.H. Li. 1982. Adaptability of crop plants to high temperature stress. **Crop Sci.** 22; 719-725.

- Dhanda, S.S. and R. Munjal. 2006. Inheritance of cellular thermo tolerance in bread wheat. **Plant Breeding** 125(6); 557-564.
- Dickson, M.H. 1993. Breeding for heat tolerance in green beans and broccoli, pp. 296–320. *In*; C.G. Kuo eds. **Adaptation of Food Crops to Temperature and Water Stress**. Asian Res. Dev. Center Pub
- Ekanayake, I.J., D.P. Garity, T.M. Masajo and J.C. O’Toole. 1985. Root pulling resistance in rice; inheritance and association with drought tolerance. **Euphytica** 34; 905-12.
- Falconer, D.S. and T.F.C. Mackey. 1996. **Introduction to Quantitative Genetics**. Longman, London.
- Flagella, Z., D. Pastore, R.G. Campanile and N.D. Fonzo. 1994. Photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and drought tolerance in different durum wheat (*Triticum durum*) cultivars. **Journal of Agricultural Science** 122; 183-192.
- Flower, T.J. and A.R. Yeo. 1986. Ion relations of plant under drought and salinity. **Aust. J. of Plant Physiol.** 13; 75-91.
- Fokar, M., H.T. Nguyen and A. Blum. 1998. Heat tolerance in spring wheat. I. Estimating cellular thermotolerance and its heritability. **Euphytica** 104; 1-8.
- Fracheboud, T. 2001. **Using Chlorophyll Fluorescence to Study Photosynthesis**. Institute of Plant Sciences ETH, Universitatstrasse 2, Zurich.
- Fukai, S. and M. Cooper. 1994. Stress physiology in relation to breeding for drought resistance ; A; case study of rice, pp. 123-149. *In* **Physiology of Stress Tolerance in Rice**. Proceeding of International Conference on Stress Physiology of Rice. 28 February-5 March. 1996, Luckow.

Gomez, K.A., and A.A. Gomez. 1984. **Statistical procedures for agricultural research.**

John Wiley and Sons. New York.

Hall, A.E. 1990. Breeding for heat tolerance – An approach based on wholeplant physiology.

HortScience 25; 17-19.

Hall, D.O., J.M.O. Scurlock, H.R. Bolhar-Nordenkampf, R.C. Leegood and S.P. Long. 1993.

Photosynthesis and Production in a Changing Environment “ A Field and Laboratory Manual ”. Clays Ltd., London.

Hidekaza, S., L.I. Zhijun, T. Kenkou and O.D.A. Masayuki. 1994. Factors affecting the

measurement chlorophyll a fluorescence in cucumber leaves. **Japan Agricultural Research Quarterly** 28; 242-246.

Ilik, P.,R. kouril,J. Fiala, J. Naus and F. Vacha. 2000. Spectral characterization of chlorophyll

fluorescence in barley leaves during linear heating. Analysis of high-temperature fluorescence rise around 60°C. **J. Photochem. Photobilo.** 59; 103-114.

Jacomini, E., A. Bertani and S.Mapelli. 1988. Accumulation of PEG 6000 and its effects on

water content and carbohydrate level in water-stressed tomato plants. **Can. J. Bot.** 66;970-973.

James, AT., R.J. Lawn and M. Cooper. 2008. Genotypic variation for drought stress response

traits in soybean. III. Broad-sense heritability of epidermal conductance, osmotic potential, and relative water content. **Australian Journal of Agricultural Research** 59; 679–689.

Kazemi, H. 1977. Inheritance of factors associated with drought tolerance. **Diss. Abstr. Int. B.**

38;448B

- Kocheva, K., P. Lambrev, G. Georgiev, V. Goltsev and M. Karabaliev. 2004. Evaluation of chlorophyll fluorescence and membrane injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress. **Bioelectrochemistry** 63; 121-124.
- Koehler, P.H., P.H. Moore, C.A. Jones, A.D. Cruz and A.Maretzki. 1982. Response of drip-irrigated sugarcane to drought stress. **Agron. J.** 74; 906-911.
- Konsens, I., M. Ofir and J. Kigel. 1991. The effect of temperature on the production and abscission of flowers and pods in snap beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ann. Bot.** 67; 391-399.
- Krause, G.H. and E. Weis. 1984. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals. **Photosyn. Res.** 5; 139-157.
- _____ and _____. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis; The basics. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Boil.** 42; 313-349.
- Krishan, M., H.T. Nguyen and J.J. Burke. 1989. Heat shock protein synthesis and thermal tolerance in wheat. **Plant Physiol.** 90; 140-145.
- Ludlow, M.M. 1980. Stress physiology of tropical pasture plant. **Trop. Grassl.** 14(3); 136-145.
- _____ and R.C. Muchow. 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environment. **Adv. Agron.** 43; 107-153.
- Marfo, K.O., and A.E. Hall. 1992. Inheritance of heat tolerance during podset in cowpea. **Crop Sci.** 32; 912-918.
- Marsh, L.D., K.W. Davis and P.H. Li. 1985. Selection and inheritance of heat tolerance in the common bean by use of conductivity. **J. Am. Soc. Hort. Sci.** 110; 680-683.

- Martineau, J.R., J.E. Specht, J.H. Williams, and C.Y. Sullivan. 1979. Temperature tolerance in soybeans. I. Evaluation of a technique for assessing cellular membrane thermostability. **Crop Sci.** 19; 75-78.
- McCree, K.J. 1986. Whole-plant carbon balance during osmotic adjustment to drought and salinity stress. **Aust. J. Plant Physiol.** 13; 33-43.
- Michel, B.E. and M.R. Kaufmann. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiol.** 51; 914-916.
- Morgan, J.M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plant. **Ann. Rev. Plant Physiol.** 35; 299-319.
- Masyhudi, M.F. and A.D. Ambarwati. 1993. Somaclonal variation of indica and javanica rice. **Penelitian-Pertanian (Indonesia)** 13(2); 45-51.
- Maxwell, K. and G.N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. **J. Exp. Bot.** 51; 659-668.
- Nogues, S., L. Alegre, J. Araus, L. Perez-Arand and R. Lannoye. 1994. Modulated chlorophyll fluorescence and photosynthetic gas exchange as rapid screening methods for drought tolerance in barley genotypes. **Photosynthetica** 30; 165-474.
- Olaf, V.K. and J.F.H. Snel. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. **Photosynthesis Research** 25; 147-150.
- Ottaviano, E., M.S. Gorla, E. Pe and C. Frova. 1991. Molecular markers (RFLPs and HSPs) for the genetic dissection of themotolerance in maize. **Theor. Appl. Genet.** 81; 81-173.

- Painawadee, M., S. Jogloy, T. Kesmala, C. Akkasaeng and A. Patanothai. 2009. Heritability and correlation of drought resistance traits and agronomic traits in peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Asian Journal of Plant Sciences** 8(5); 325-334.
- Petkova, V., I.D. Denev, D. Cholakov and I. Porjazov. 2007. Field screening for heat tolerant common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) by measuring of chlorophyll fluorescence induction parameters. **Scientia Horticulturae** 111; 101-106.
- Premachandra, G.S. and T. Shimada. 1987a. The measurement of cell membrane stability using polyethylene glycol as a drought tolerance test in wheat. **Jpn. J. Crop Sci.** 56; 92-98.
- Premachandra, G.S. and T. Shimada. 1987b. Measurement of drought tolerance in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). I. Polyethyleneglycol test of measuring cells membrane stability. **J. Jpn. Grassland Sci.** 33; 140-148.
- Porter, D.R., H.T. Nguyen and J.J. Burke. 1995. Genetic control of acquired thermal tolerance in wheat. **Euphytica** 83; 153-157.
- Ratanadilok, N. and S.A. Hussain. 1980. **Performance of some corn cultivars under drought condition.** Paper for Partial Fulfillment in USAID Training at Agronomy Department, Kasetsart University, Bangkok, Thailand.
- Reynolds, M.P., M. Balota, M.I.B. Delgado, I. Amani and R.A. Fischer. 1994. Physiological and morphological traits associated with spring wheat yield under hot, irrigated conditions. **Aust. J. Plant Physiol.** 21; 717-730.
- Rong-hua, L., G. Pei-guo, M. Baum, S. Grandi and S. Ceccarelli. 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. **Agricultural Sciences in China** 5(10); 751-757.

- Sadalla, M.M., J.F. Shanahan and J.S. Quick. 1990. Heat tolerance in winter wheat; I. Hardening and genetic effects on membrane thermostability. **Crop Sci.** 30; 1243-1274.
- Sadalla, M.M., J.S. Quick and J.F. Shanahan. 1990b. Heat tolerance in winter wheat; II. Membrane thermostability and field performance. **Crop Sci.** 30; 1248-1251.
- Sammons, D.J. 1978. Screening soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) for drought resistance, and preliminary studies on soybeans inheritance under drought stress. **Diss. Abstr. Int. B.** 39; 2060B.
- Schreiber, U., and P.A. Armond. 1978. Heat induced changes of chlorophyll fluorescence in isolated chloroplasts and related heat damage at the pigment level. **Biochim. Biochim. Biophys. Acta** 502; 138-151.
- Selmani, A. and C.E. Wassom. 1993. Daytime chlorophyll fluorescence measurement in field grown maize and its genetic variability under well watered and water stressed conditions. **Field Crops Research** 31; 173-184.
- Sayed, O.H. 1992. Photosynthetic acclimation to high temperature in wheat. **Acta bot. neerl.** 41; 299-304.
- Smillie, R.M. 1979. Coloured components of chloroplast membranes as intrinsic membrane probes for monitoring the development of heat injury in intact tissues. **Aust. J. Plant Physiol.** 6; 121-123.
- _____ and S.E. Hetherington. 1990. Screening for stress tolerance by chlorophyll fluorescence, pp. 229-261. *In* Y. Hashimoto, P.J. Kramer, H. Nonami and B.R. Strain eds. **Measurement techniques in plant science.** Academic Press, San Diego, USA.
- Smyth, H.F., Jr. C.P. Carpenter and C.B. Shaffer. 1955. The chronic oral toxicology of the

polyethylene glycol. **J. Am. Pharm. Assoc.** 44; 27-30.

Souza, R.P., E.C. Machado, J.A.B. Silva, A.M.M.A. Lagoa and J.A.G. Silveira. 2004.

Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery.

Environmental and Experimental Botany 51; 45-56.

Srinivasan, A., H. Takeda and T. Senboku. 1996. Heat tolerance in food legumes as evaluated by cell membrane thermostability and chlorophyll fluorescence techniques.

Euphytica 88; 35-45.

Steponkus, P.L. and Lanphear F.O. 1967. Refinement of the triphenyltetrazolium chloride method of determining cold injury. **Plant Physiol.** 42: 1423–1426.

Strasser, R., A. Srivastava and M. Tsimilli-Michael. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic sample. In P. Mohanty, M. Yunus and F. Pathre, eds. **Probing Photosynthesis; Mechanisms, Regulation and Adaptation**. Taylor and Francis Publ. Co., London

Sullivan, C.Y. 1972. Mechanisms of heat and drought resistance in grain sorghum and methods of measurement, pp. 247-246. In N.G.P. Rao and L.R. House, eds. **Sorghum in the seventies**. Oxford and IBH Publ. Co., New Delhi, India.

Takeda, H., U. Cempukdee, Y. S. Chauhan, S. Ancha, M.M. Hossain, M.H. Rashad, L. Baiquing H.S. Talwar, T. Senboku, S. Yashima, S. Yanagihara and M. Shono. 1999. Studies in Research Section from 1992 to 1996, pp. 17-19. In M. Yajima and T. Hayashi, eds. **Proceedings of Workshop on Heat Tolerance of Crops**. Japan International Research Center for Agricultura Sciences, Okinawa Subtropical Station, Japan.

Towil, L.E. and P. Mazur. 1974. Studies on the reduction of 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride

as a viability assay for plant tissue culture. **Can. J. Bot.** 53; 1097-1102.

Turner, N.C. 1986. Adaptation to water deficits ; A changing perspective. **Aust. J. of Plant Physiol.** 13; 175-179.

Weaver, M.L., H. Timm, M.J. Silbernagel and D.W. Burke. 1985. Pollen staining and high temperature tolerance of bean. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 110; 797-799.

Wilson, J.M. and J.A. Greaves. 1993. Development of fluorescence-based screening programs for temperature and water stress in crop plants, pp. 389-398. *In* C.G. Kuo, eds. **Adaptation of food crops to temperature and water stress.** Proc. Int. Symp. Taiwan, Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei.



ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ของความทนทานแล้ง โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

พารามิเตอร์	$\chi^2_{(crop1/2)}$											
	<i>in situ</i> Φ_{PSII}		<i>in situ</i> Fv/Fm		PEG- Φ_{PSII}		PEG-Fv/Fm		PEG		PEG-TTC	
	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control
V1595(P ₁)	0.61	0.49	0.81	0.52	0.50	0.23	0.49	0.26	48.35	11.78	88.21	80.15
V3131(P ₂)	0.67	0.61	0.81	0.82	0.27	0.24	0.24	0.25	32.28	8.66	90.38	86.96
F ₁	0.50	0.57	0.79	0.82	0.39	0.16	0.35	0.17	20.85	13.12	93.97	88.58
F ₂	0.50	0.58	0.76	0.82	0.41	0.19	0.37	0.18	19.53	29.86	53.05	74.92
BC ₁ P ₁	0.45	0.68	0.76	0.83	0.40	0.18	0.38	0.16	70.86	62.13	78.09	75.84
BC ₁ P ₂	0.51	0.66	0.76	0.83	0.33	0.22	0.29	0.09	18.58	12.14	61.62	83.55

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

พารามิเตอร์	$\chi^2(\text{crop1/2})$							
	TTC		RWC		<i>in vivo</i> Φ_{PSII}		<i>in vivo</i> Φ_{PSII}	
	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control
V1595(P ₁)	78.18	-	66.56	84.79	0.36	0.77	0.33	0.77
V3131(P ₂)	86.85	-	42.18	79.24	0.41	0.78	0.30	0.76
F ₁	85.58	-	51.75	82.93	0.41	0.78	0.32	0.76
F ₂	74.05	-	46.84	88.62	0.37	0.77	0.29	0.66
BC ₁ P ₁	71.78	-	51.24	90.33	0.34	0.75	0.27	0.52
BC ₁ P ₂	81.62	-	44.31	87.16	0.50	0.79	0.24	0.50

ตารางผนวกที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ของความทนทานร้อน โดยใช้ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำ และได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

พารามิเตอร์	$\chi^2(\text{crop}1/2)$							
	Heat- Φ_{PSII}		Heat-Fv/Fm		CMT		Heat-TTC	
	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control
V1595(P ₁)	0.18	0.03	0.13	0.02	127.32	9.21	92.31	70.17
V3131(P ₂)	0.06	0.04	0.17	0.07	26.26	6.71	100.29	91.69
F ₁	0.13	0.00	0.15	0.01	43.34	8.70	98.84	91.47
F ₂	0.13	0.02	0.14	0.05	94.80	12.86	112.82	79.76
BC ₁ P ₁	0.15	0.00	0.17	0.01	25.89	76.09	93.44	86.68
BC ₁ P ₂	0.08	0.02	0.20	0.04	203.47	8.14	91.27	89.77

ตารางผนวกที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบผลผลิต ในประชากรถั่วเขียว ภายใต้การขาดน้ำและได้รับน้ำอย่างเพียงพอในระยะออกดอก

องค์ประกอบ ผลผลิต	$\chi^2(\text{crop1/2})$									
	ความสูง		ผลผลิตต่อต้น		จำนวนฝักต่อต้น		น้ำหนัก 100 เมล็ด		จำนวนเมล็ดต่อฝัก	
	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control	Stressed	Control
V1595(P ₁)	46.50	65.50	6.72	12.71	19.10	28.22	5.41	3.76	7.91	10.49
V3131(P ₂)	45.10	65.50	5.82	7.98	15.20	20.30	5.05	2.05	7.65	7.90
F ₁	52.10	71.00	6.57	10.27	19.30	26.00	3.89	3.97	9.12	9.69
F ₂	49.11	64.60	4.52	8.78	13.63	21.86	1.52	4.84	8.25	9.52
BC ₁ P ₁	50.37	62.66	8.28	13.25	18.41	21.83	4.95	5.67	9.07	9.89
BC ₁ P ₂	41.16	56.62	5.68	14.65	12.62	23.66	5.81	6.25	7.53	9.38

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวนวมณี พรหมนิล
วัน เดือน ปี ที่เกิด	19 มกราคม 2526
สถานที่เกิด	ต. เมืองปัก อ. ปักธงชัย จ. นครราชสีมา
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (การผลิตพืช) มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (พ.ศ. 2547)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-