วิทยาศาสตร์เกษตรและการจัดการ 8 (2) : 5-18 (2568)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเขียวฉายรังสี ชั่วที่ 5

Genetic Variation of the M_5 Generation Irradiation of Mung Beans

ธีรวุฒิ วงศ์วรัตน์[1*] อัจฉรา จอมสง่าวงศ์[2] จุฑารัตน์ ช้างแก้วมณี[2] และยิ่งยศ พาลุกา[1]

Theerawut Wongwarat[1*], Achara Jomsangawong[2], Jutarat Changkaewmanee[2] and Yingyod Paluka[1]

Received: October 19, 2023
Revised: March 1, 2024
Accepted: March 12, 2024

Abstract: Yield evaluation of the M5 generation of electron beam irradiated mungbean, Chai Nat 84-1 and Chai Nat 3, was performed. The study was designed with RCB with 3 replications. Statistically significant differences were observed ($p \leq 0.5$). Higher yields (98.25-105.50 kilogram/rai) were observed in the Chai Nat 84-1 M_5 generations compared to the initial cultivars (84.90 Kilogram/rai). The yields of the Chai Nat 3 M_5 generations were greater than those of the initial lines (70.20 Kilogram/rai). The environment might influence the higher yield. The genetic diversity study of the M_5 generation varieties and initial cultivars using 9 SSR markers could divide the high yield M_5 generation from the initial cultivars that they were real mutant lines. Confirmation of the mutation-induced M_5 generation of mungbeans caused by mutation. These mutant lines will be the preliminary yield trials.

Keywords: mutation, genetic diversity, SSR markers

บทคัดย่อ: การประเมินผลผลิตของถั่วเขียวฉายรังสีอิเล็กตรอนชั่วที่ 5 (M5) จากถั่วเขียวพันธุ์ตั้งต้น ได้แก่ พันธุ์ Chai Nat 84-1 และ Chai Nat 3 ศึกษาด้วยการวางแผนการทดลอง RCB 3 ซ้ำ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.5$) ถั่วเขียวฉายรังสี M5 Chai Nat 84-1 มีผลผลิต 98.25-105.50 กิโลกรัมต่อไร่ สูงกว่าพันธุ์ตั้งต้น (84.90 กิโลกรัมต่อไร่) ถั่วเขียวฉายรังสี M_5 Chai Nat 3 มีผลผลิต 70.65-127.00 กิโลกรัมต่อไร่ สูงกว่าพันธุ์ตั้งต้น (70.20 กิโลกรัมต่อไร่) ผลผลิตที่สูงขึ้นอาจเป็นผลจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม และเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเขียวฉายรังสี M_5 และพันธุ์ตั้งต้น ด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ 9 เครื่องหมาย พบว่าสามารถแยกถั่วเขียวฉายรังสี M_5 ที่มีผลผลิตสูงออกจากพันธุ์ตั้งต้นได้ จึงยืนยันว่าเป็นสายพันธุ์กลายจริง และนำเข้าขั้นตอนการเปรียบเทียบผลผลิตเบื้องต้นต่อไป

คำสำคัญ: กลายพันธุ์, ความหลากหลายทางพันธุกรรม, เครื่องหมายเอสเอสอาร์

[1] ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน จ. ขอนแก่น 40000

[1] Khon Kaen Field Crops Research Center, Field and Renewable Energy Crops Research Institute, Khon Kaen 40000

[2] ศูนย์วิจัยพืชไร่นา สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน จ. ชัยนาท 17150

[2] Chai Nat Field Crops Research Center, Field and Renewable Energy Crops Research Institute, Chai Nat 17150

*Corresponding author: theerawut6949@gmail.com

คำนำ

ถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 84-1 ได้รับการรับรองพันธุ์เมื่อวันที่ 15 มิถุนายน 2555 ส่วนถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 3 ได้รับการรับรองพันธุ์เมื่อวันที่ 1 มีนาคม 2562 โดยกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์กรณ์ ถั่วเขียวทั้งสองพันธุ์นี้เป็นถั่วเขียวประเภทผิวมัน นำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมวุ้นเส้น และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ซึ่งมีแนวโน้มความต้องการผลผลิตถั่วเขียวเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่พื้นที่ปลูกถั่วเขียวลดลง ดังนั้นนักปรับปรุงพันธุ์จึงมุ่งเน้นพัฒนาพันธุ์ถั่วเขียวที่ปลูกเพื่อการค้าให้มีลักษณะทางการเกษตร โดยเฉพาะให้ได้ถั่วเขียวที่มีผลผลิตสูงขึ้นการพัฒนาพันธุ์ด้วยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยการฉายรังสีอิเล็กตรอน (electron beam) เป็นทางเลือกหนึ่งของนักปรับปรุงพันธุ์ ที่ต้องการสร้างประชากรให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรม และสามารถนำสายพันธุ์ที่ได้ไปใช้ประโยชน์ต่อได้รังสีอิเล็กตรอนคือกระแสของอนุภาคอิเล็กตรอนที่ผลิตจากเครื่องเร่งอนุภาค (accelerator) จนเกิดเป็นรังสีอิเล็กตรอน มีความเข้มข้นของรังสีสูงกว่ารังสีแกมมา รังสีอิเล็กตรอนที่ได้เกิดเป็นช่วง (pulse) ในขณะที่รังสีแกมมาเกิดต่อเนื่อง (continuous) อัตราการดูดซึมรังสีมีอิทธิอย่างมากต่อผลทางชีววิทยาสัมพัทธ์ (relative biologic effective; RBE) และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของชิ้นดีเอ็นเอ (Houglund *et al*., 2000) มีรายงานการชักนำให้ถั่วเขียวผิวดำกลายพันธุ์ด้วยฉายรังสีอิเล็กตรอนเปรียบเทียบกับรังสีแกมมา พบว่าอัตราการกลายพันธุ์ของประชากรชั่วที่ 2 ของถั่วเขียวผิวดำที่ถูกชักนำให้กลายพันธุ์ด้วยฉายรังสีอิเล็กตรอนสูงกว่าการฉายรังสีแกมมา (Souframanien *et al*., 2016) การชักนำให้ถั่วเขียวกลายพันธุ์ให้มีลักษณะผลผลิตสูงขึ้น เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าการปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐาน ทำให้นำไปสู่ความมั่นคงทางอาหารของโลก (Mounika, 2020) มีรายงานการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเขียวรุ่นชั่วที่ 2 และ 3 ที่มาจากการชักนำให้กลายพันธุ์ พบว่าถั่วเขียวชั่วที่ 3 มีลักษณะทางการเกษตร ได้แก่ การแตกกิ่ง จำนวนฝักและจำนวนเมล็ดต่อต้น มีความสัมพันธ์ทิศทางบวกกับความแปรปรวนทางพันธุกรรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Khan, 1990) การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีจีโนมิก เทคโนโลยีชีวภาพ มาใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ด้วยเทคโนโลยีระดับชีวโมเลกุล เป็นเครื่องมือที่ช่วยทำให้ได้ถั่วเขียวสายพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะผลผลิตสูง ต้านทานโรค และคุณค่าทางโภชนาการสูง (Huppert *et al*., 2013) มีรายงานการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเขียวพันธุ์ป่า และเชื้อพันธุกรรมของถั่วเขียวโดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ พบว่าสามารถคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวที่มีลักษณะเด่นเฉพาะทาง และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการปรับปรุงพันธุ์ต่อได้ (Sangiri *et al*., 2007) วัตถุประสงค์ของวิจัยนี้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเขียวพันธุ์ตั้งต้น และสายพันธุ์ฉายรังสีชั่วที่ 5 เพื่อยืนยันว่าเป็นถั่วเขียวพันธุ์กลายจากการฉายรังสีอิเล็กตรอนจริง ซึ่งจะช่วยนักปรับปรุงพันธุ์ในการตัดสินใจคัดเลือกสายพันธุ์ตรงตามเป้าหมาย นำเข้าสู่ขั้นตอนของการปรับปรุงพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ถั่วเขียวสายพันธุ์กลายจากพันธุ์ตั้งต้นที่ถูกชักนำให้กลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีอิเล็กตรอน

ปลูกถั่วเขียวฉายรังสี ชั่วที่ 5 (M_5) ที่ได้มาจากการฉายรังสีอิเล็กตรอนพันธุ์ตั้งต้น ได้แก่ พันธุ์ Chai Nat 84-1 และ Chai Nat 3 ที่คัดเลือกได้จากขั้นตอนการปลูกและคัดเลือกสายพันธุ์ชั่วรุ่นที่ 1-ชั่วที่ 4 (M1-M4) จำนวน 22 สายพันธุ์ และ 25 สายพันธุ์ ตามลำดับ โดยใช้พันธุ์ชัยนาท 84-1 และชัยนาท 3 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ โดยปลูกตามแบบแผนการทดลอง Randomized Complete Block (RCB) 3 ซ้ำ ขนาดแปลงทดลองย่อย 1x6 เมตร พื้นที่เก็บเกี่ยว 1x4 เมตร มีระยะห่างระหว่างแถว 50 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างต้น 20 เซนติเมตร จำนวน 3 ต้นต่อหลุม แล้วถอนแยกให้เหลือ 2 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยเคมี 12-24-12 รองพื้น อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ พ่นสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชตามความจำเป็น กำจัดวัชพืช 2 ครั้ง ดังนี้ เมื่อถั่วเขียวอายุ 15 วัน และ 30 วัน บันทึกข้อมูลลักษณะทางการเกษตร ความสูงต้น จำนวนข้อต่อต้น จำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น

ความยาวฝัก จำนวนเมล็ดต่อฝัก น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และผลผลิต

2. การวิเคราะห์สถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยหาค่าความแปรปรวน ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่บันทึกได้ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

3. การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

เก็บใบอ่อนถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 84-1, Chai Nat 3 และถั่วเขียวฉายรังสี ชั่วที่ 5 ทุกสายพันธุ์ มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งน้ำหนักให้ได้ 100 กรัม นำใส่ลงในโกร่งที่มีไนโตรเจนเหลว บดใบอ่อนให้เป็นผงละเอียด จากนั้นเติมสารสกัดดีเอ็นดีตามขั้นตอนของชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (TIANGEN, China) สารสกัดดีเอ็นเอที่ได้ถูกนำมาใช้เป็นสารพันธุกรรมต้นแบบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 28 เครื่องหมาย (ไม่ได้แสดงข้อมูลเครื่องหมาย) มีส่วนผสมของการทำปฏิกิริยา ดังนี้ ต้นแบบดีเอ็นเอความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตร 3 ไมโครลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 10x ปริมาตร 1.5 ไมโครลิตรสารละลาย dNTP ความเข้มข้น 0.4 มิลลิโมล ปริมาตร 1.2 ไมโครลิตร แมกนีเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 25 มิลลิโมล ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ forward และ reverse ความเข้มข้นไพรเมอร์ละ 0.5 ไมโครโมล ปริมาตร 0.7 ไมโครลิตร และเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอร์เรสความเข้มข้น 5 ยูนิตไมโครลิตร ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร (Thermo Scientific, USA) เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อจุลินทรีย์และอาร์เอ็นเอให้ได้ปริมาตรสุทธิ 15 ไมโครลิตร จากนั้นนำหลอดพีซีอาร์บรรจุลงในเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยควบคุมอุณหภูมิ ดังนี้ ให้ความร้อนก่อนการแยกสายดีเอ็นเอ (pre-denaturation) ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ตามด้วยอุณหภูมิ ที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยการแยกสายดีเอ็นเอ (denaturation) ที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที, จับคู่ของไพรเมอร์กับสายดีเอ็นเอ (annealing) ที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที, ต่อสายดีเอ็นเอ (extension) ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ทำซ้ำจำนวน 35 รอบ และการต่อสายสุดท้าย (final extension) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที แยกขนาดของชิ้นดีเอ็นเอด้วยร้อยละ 5 ของอะกาโรสอิเล็กโตรโฟรีซีส บันทึกแถบดีเอ็นเอที่ได้ แล้วนำข้อมูลมาเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด แล้วหาค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม (similarity coefficient) จากนั้นจัดกลุ่มด้วยวิธี unweighted pair group method with arithmetic means (UPGMA) และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธีของ SAHN โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc 2.01 (Jaccard, 1908)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ลักษณะทางการเกษตรของถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 84-1 และสายพันธุ์ถั่วเขียว Chai Nat 84-1 ฉายรังสี

ถั่วเขียวพันธุ์ Cahi Nat 84-1 ใช้เป็นพันธุ์ตั้งต้นในการชักนำให้ถั่วเขียวกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีอิเล็กตรอน ดำเนินการปลูก เมื่อปี พ.ศ. 2560 ปลูกและคัดเลือกลักษณะเด่นจนถึง ปี พ.ศ. 2566 ได้ถั่วเขียวฉายรังสี ชั่วที่ 5 (M_5) จำนวน 22 สายพันธุ์ โดยใช้ถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 84-1 เป็นตัวเปรียบเทียบ ผลของการเก็บข้อมูลลักษณะทางเกษตร (Table 1) พบว่ามีเพียงความยาวฝัก และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด เท่านั้นที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ความยาวฝักของพันธุ์ Chai Nat 84-1 เท่ากับ 10.5 เซนติเมตร ในขณะที่ถั่วเขียวฉายรังสีสายพันธุ์ CN84-1-100-01 มีค่าความยาวฝักยาวมากที่สุด เท่ากับ 10.9 เซนติเมตร สายพันธุ์ CN84-1-600-04 มีค่าความยาวฝักสั้นที่สุด เท่ากับ 9.8 เซนติเมตร ทั้ง 2 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์เปรียบเทียบ

น้ำหนัก 1,000 เมล็ดของพันธุ์ Chai Nat 84-1 เท่ากับ 70.8 กรัม ในขณะที่ถั่วเขียวฉายรังสีสายพันธุ์ CN84-1-400-04 มีน้ำหนักมากที่สุด เท่ากับ 77.0 กรัม และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์เปรียบเทียบ ส่วนสายพันธุ์ CN84-1-400-04 มีน้ำหนักน้อยที่สุด 67.5 กรัม และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์เปรียบเทียบ

Table 1 Agronomic character of Chai Nat 84-1 and the 22 mutant varieties from Chai Nat 84-1 by electron beam irradiation.

Lines/varieties	Plant height (cm)	Nodes per plant	Branches per plant	Pods per plant	Pod length[1] (cm)	Seeds per pod	1000 seeds weight[1] (g)	Pod yield (kg/plant)
CN84-1-100-01	55.2	10.5	1.3	17.2	10.9 a	12.7	68.5 ef	22.5
CN84-1-100-02	64.1	11.0	1.3	21.9	10.7 a-d	12.8	68.8 ef	29.1
CN84-1-100-03	55.5	10.2	1.0	17.7	10.9 ab	12.4	74.8 abc	23.6
CN84-1-100-04	61.2	10.5	1.8	21.7	10.6 a-e	12.2	69.0 def	28.4
CN84-1-100-08	63.1	11.5	1.6	21.7	10.9 a	12.9	73.0 a-e	30.1
CN84-1-100-09	58	9.9	0.5	17.6	10.7 ad	12.9	73.5 a-e	24.6
CN84-1-100-10	55.4	10.5	1.2	17.6	10.7 ad	12.3	71.0 b-f	23.0
CN84-1-100-12	46.4	9.6	1.3	12.7	10.5 a-e	12.0	75.3 ab	16.6
CN84-1-100-14	52.9	10.1	1.0	17.4	10.6 a-e	12.6	74.3 a-d	24.0
CN84-1-100-16	58.9	10.4	1.5	19.7	10.8 abc	12.4	71.5 b-f	26.9
CN84-1-200-02	58.0	10.6	1.6	19.8	10.7 a-d	12.7	69.8 c-f	29.5
CN84-1-200-04	56.0	9.9	1.3	17.4	10.5 a-e	12.4	73.3 a-e	23.9
CN84-1-200-11	55.4	10.2	1.3	17.1	10.3 a-e	12.4	72.3 a-f	23.9
CN84-1-200-12	54.4	10.0	0.5	16.8	9.8 e	11.9	68.8 ef	19.0
CN84-1-300-06	48.2	9.3	1.5	14.5	10.7 a-d	12.3	75.8 ab	19.6
CN84-1-400-01	51.4	9.9	1.0	16.5	10.3 a-e	12.4	77.0 a	25.5
CN84-1-400-04	50.9	10.2	1.4	17.9	9.9 de	12.7	67.5 f	23.6
CN84-1-500-04	50.5	9.6	0.5	15.2	10.1 b-e	12.2	72.5 a-f	20.6
CN84-1-500-05	50.4	9.4	1.1	16.6	10.5 a-e	11.4	73.0 a-e	20.5
CN84-1-600-03	49.0	9.6	0.5	16.2	10.4 a-e	12.3	72.0 a-f	20.6
CN84-1-600-04	45.8	9.5	1.0	16.3	9.8 e	12.5	72.8 a-f	19.5
CN84-1-600-05	58.4	10.1	1.3	16.4	10.0 cde	11.1	73.5 a-e	18.6
Chai Nat 84-1	57.4	10.3	1.5	20.7	10.5 a-e	13.0	70.8 b-f	27.5
MEAN	54.6	10.1	1.2	17.7	10.5	12.3	72.1	23.5
C.V. (%)	2.5	6.7	35.7	15.9	3.2	4.8	3.1	16.5
F-test	NS	NS	NS	NS	*	NS	*	NS

[1] Mean within the same column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$) according to DMRT.
NS = non significant different. * Significantly different ($p \leq 0.05$).

ลักษณะทางการเกษตรของถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 3 และสายพันธุ์ถั่วเขียว Chai Nat 3 ฉายรังสี

ถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 3 ใช้เป็นพันธุ์ตั้งต้นในการชักนำให้ถั่วเขียวกลายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีอิเล็กตรอน ดำเนินการปลูก เมื่อปี พ.ศ. 2560 นำปลูกและคัดเลือกลักษณะเด่นจนถึง ปี พ.ศ. 2566 ได้ถั่วเขียวฉายรังสีชั่วที่ 5 (M_5) จำนวน 25 สายพันธุ์ โดยใช้ถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 3 เป็นตัวเปรียบเทียบ ผลของการเก็บข้อมูลลักษณะทางเกษตร (Table 2) พบว่ามีเพียงความยาวฝัก และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด เท่านั้นที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ความยาวฝักของพันธุ์ Chai Nat 3 เท่ากับ 9.4 เซนติเมตร ถั่วเขียวการฉายรังสีสายพันธุ์ CN3-100-12 มีความยาวฝักยาวมากที่สุด เท่ากับ 9.9 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์เปรียบเทียบ ส่วนสายพันธุ์ CN3-500-02 มีความยาวฝักสั้นที่สุด เท่ากับ 8.1 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับพันธุ์เปรียบเทียบ

น้ำหนักของเมล็ด 1,000 เมล็ดของพันธุ์ Chai Nat 3 เท่ากับ 72.8 กรัม ถั่วเขียวการฉายรังสีสายพันธุ์ CN3-200-08 มีน้ำหนักของเมล็ด 1,000 เมล็ด มากที่สุด เท่ากับ 75.5 กรัม แต่ไม่แตกต่างอย่างไม่นัยสำคัญกับพันธุ์เปรียบเทียบ ในขณะที่สายพันธุ์ CN3-500-02 มีน้ำหนักของเมล็ด 1,000 เมล็ด น้อยที่สุด เท่ากับ 61.0 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับพันธุ์เปรียบเทียบ

Table 2 Agronomic character of Chai Nat 3 and the 25 mutant varieties from Chai Nat 3 by electron beam irradiation.

Lines/varieties	Plant height (cm)	Nodes per plant	Branches per plant	Pods per plant	Pod length[1] (cm)	Seeds per pod	1000 seeds weight[2] (g)	Pod yield (kg/plant)
CN3-100-01	51.8	11.7	1.3	21.1	9.5 a-d	12.1	70.0 bcd	24.4
CN3-100-02	51.4	11.7	1.3	19.3	9.4 a-d	12.5	71.8 a-d	24.1
CN3-100-04	57.6	12.3	1.6	25.6	9.5 a-d	12.7	70.5 a-d	28.7
CN3-100-05	54.0	12.0	1.3	21.3	9.4 a-d	12.1	71.8 a-d	25.4
CN3-100-06	57.0	12.7	1.5	21.8	9.2 bcd	12.4	72.3 a-d	27.7
CN3-100-07	53.8	12.5	1.0	23.0	9.3 a-d	12.2	68.3 d	25.4
CN3-100-12	54.2	12.1	1.4	20.8	9.9 a	12.3	73.0 a-d	26.0
CN3-100-13	52.1	11.8	1.2	18.5	9.3 a-d	12.1	74.0 ab	22.0
CN3-200-02	48.8	11.7	1.2	18.8	9.1 cd	12.4	73.0 a-d	22.9
CN3-200-03	44.3	10.5	1.0	17.5	9.2 a-d	12.2	74.5 ab	20.8
CN3-200-05	44.1	10.7	0.7	19.1	9.1 cd	11.7	71.8 a-d	22.1
CN3-200-08	44.7	10.6	0.7	16.0	8.9 d	11.8	75.5 a	19.9
CN3-200-09	49.2	11.1	0.7	19.6	9.0 d	11.6	74.8 ab	24.0
CN3-200-10	50.2	11.1	1.7	18.5	9.8 ab	12.4	74.3 ab	23.7
CN3-200-11	53.3	12.0	1.5	18.7	9.4 a-d	11.9	73.8 abc	25.7
CN3-300-03	50.8	11.5	1.1	17.5	9.1 bcd	12.1	73.8 abc	22.6
CN3-300-04	47.6	10.3	0.5	16.2	9.7 abc	12.8	72.8 a-d	19.7
CN3-300-06	47.7	11.3	1.3	16.4	9.2 bcd	12.2	70.0 bcd	19.2
CN3-300-07	54.3	11.6	0.9	18.6	9.4 a-d	10.7	72.3 a-d	23.6
CN3-300-09	55.0	11.0	1.0	18.5	9.4 a-d	11.5	71.5 a-d	21.1
CN3-400-03	50.2	10.9	1.2	19.0	9.3 a-d	11.5	72.8 a-d	21.1
CN3-400-04	50.3	10.9	1.2	19.4	8.9 d	11.4	67.8 d	20.3
CN3-500-02	48.9	10.7	0.7	18.3	8.1 e	11.7	61.0 e	17.6
CN3-500-03	49.2	11.3	1.2	21.2	9.1 cd	11.6	68.5 cd	21.3
CN3-500-04	46.9	11.2	1.0	18.2	9.1 cd	11.5	68.5 cd	21.2

Agricultural Science and Management J. 8 (2) : 106-114 (2025)

Table 2 (continued).

Lines/varieties	Plant height (cm)	Nodes per plant	Branches per plant	Pods per plant	Pod length[1] (cm)	Seeds per pod	1000 seeds weight[2] (g)	Pod yield (kg/plant)
Chai Nat 3	52.9	11.7	1.4	19.8	9.4 a-d	12.0	72.8 a-d	25.0
MEAN	50.8	7.8	1.1	19.3	9.2	12.0	71.6	22.9
C.V.(%)	9.8	6.9	41.6	19.2	3.0	5.0	3.0	18.3
F-test	NS	NS	NS	NS	*	NS	**	NS

[1] Mean within the same column with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$) according to DMRT.
[2] Mean within the same column with different letters are significantly different ($p \leq 0.01$) according to DMRT.
NS = non significant different. * Significantly different ($p \leq 0.05$). ** Significantly different ($p \leq 0.01$).

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nai 84-1 และถั่วเขียวฉายรังสีชั่วที่ 5

เมื่อนำสารสกัดดีเอ็นเอที่ได้จากถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 84-1 และถั่วเขียวสายพันธุ์ Chai Nat 84-1 ฉายรังสีอิเล็กตรอน เป็นสารพันธุกรรมต้นแบบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 28 เครื่องหมาย (ไม่ได้แสดงข้อมูลเครื่องหมาย) พบว่ามีเครื่องหมายที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน จำนวน 7 เครื่องหมาย ได้แก่ CEDC05, CEDG232, CEDG0282, MB-SSR238, VrCSSTS1, VrCSSTS2, และ SSR10 (Table 3) มีแถบดีเอ็นเอปรากฏ จำนวน 5 2 2 2 2 10 และ 2 แถบ ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดเป็นแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันที่ตำแหน่งเดียวกัน รวมเป็น 25 แถบ เมื่อนำมาข้อมูลแถบดีเอ็นเอมาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าที่ค่าสัมประสิทธิ์ 0.66 สามารถแบ่งกลุ่มได้เป็น 4 กลุ่ม (Figure 1) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยถั่วเขียวฉายรังสี จำนวน 1 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ CN84-1-100-02

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย ถั่วเขียวฉายรังสี จำนวน 15 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ CN84-1-100-01, CN84-1-100-03, CN84-1-100-04, CN84-1-100-09, CN84-1-100-10, CN84-1-100-12, CN84-1-100-14, CN84-1-100-16, CN84-1-200-02, CN84-1-200-04, CN84-1-200-11, CN84-1-400-01, CN84-1-500-04, CN84-1-600-03 และ CN84-1-600-05,

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย ถั่วเขียวฉายรังสี จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ CN84-1-100-08, CN84-1-200-12, CN84-1-300-06, CN84-1-400-04 และ CN84-1-600-04

กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย พันธุ์ Chai Nat 84-1 และถั่วเขียวฉายรังสี จำนวน 1 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ CN84-1-500-05

จากการแบ่งกลุ่มที่ได้แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเขียวตั้งต้นและถั่วเขียวฉายรังสีด้วยการฉายรังสีอิเล็กตรอน จึงยืนยันได้ว่าการฉายรังสีอิเล็กตรอนมีผลทำให้ถั่วเขียวสายพันธุ์ Chai Nat 84-1การกลายพันธุ์ อย่างไรก็ตามมีสายพันธุ์ที่มีความใกล้ชิดกันมากหรือไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมในกลุ่มที่ 2 สายพันธุ์ CN84-1-300-06 กับ CN84-1-500-04, CN84-1-200-11 กับ CN84-1-200-04, CN84-1-400-01 กับ CN84-1-200-02 และ CN84-1-100-10 กับ CN84-1-100-03

เมื่อพิจารณาร่วมกันระหว่างลักษณะทางการเกษตรกับแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่า ถั่วเขียวฉายรังสีสายพันธ์ CN84-1-400-04 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีน้ำหนัก 1,000 เมล็ด มากกว่าถั่วเขียวสายพันธุ์ 84-1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และถูกแยกออกจากกลุ่มของพันธุ์ Chai Nat 84-1 อย่างชัดเจน

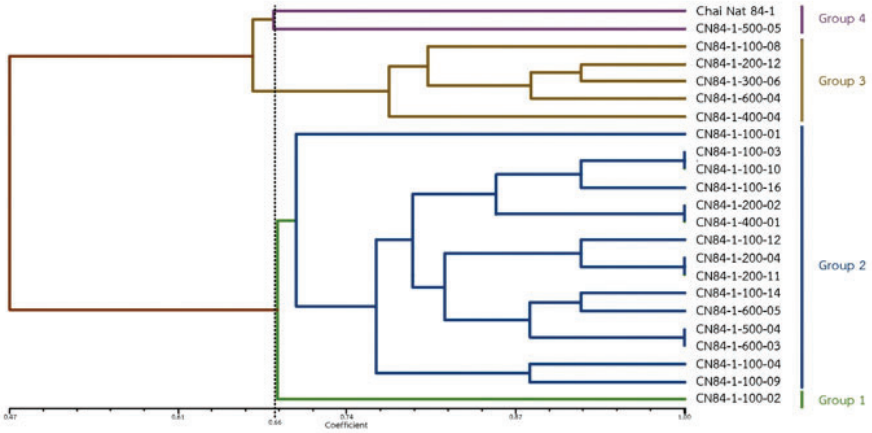

Figure 1 Dendrogram demonstrating genetic variability among Chai Nat 84-1 lines and the 22 mutants varieties based on UPGMA.

ความหลากกลายทางพันธุกรรมของถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 3 และถั่วเขียวฉายรังสีชั่วที่ 5

เมื่อนำสารสกัดดีเอ็นเอที่ได้จากถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 3 และถั่วเขียวพันธุ์ Chai Nat 3 ฉายรังสีอิเล็กตรอน เป็นสารพันธุกรรมต้นแบบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 28 เครื่องหมาย (ไม่ได้แสดงข้อมูลเครื่องหมาย) พบว่ามีเครื่องหมายที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกัน จำนวน 4 เครื่องหมายได้แก่ CEDG305, CEDG191 CEDG0282 และ SSR10 (Table 3) มีแถบดีเอ็นเอปรากฏ จำนวน 3 3 2 และ 4 แถบ ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดเป็นแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันที่ตำแหน่งเดียวกัน รวมเป็น 12 แถบ เมื่อนำมาข้อมูลแถบดีเอ็นเอมาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าที่ค่าสัมประสิทธิ์ 0.66 สามารถแบ่งกลุ่มได้เป็น 3 กลุ่ม (Figure 2) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย ถั่วเขียวฉายรังสี จำนวน 9 สายพันธุ์

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย ถั่วเขียวฉายรังสี จำนวน 7 สายพันธุ์

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย พันธุ์ Chai Nat 3 และถั่วเขียวฉายรังสี จำนวน 9 สายพันธุ์

เมื่อพิจารณาร่วมกันระหว่างลักษณะทางการเกษตรกับแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่าถั่วเขียวสายพันธุ์ Chai Nat 3 ฉายด้วยรังสีอิเล็กตรอนมีความแปรปรวนทางพันธุกรรม ทำให้ลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างจากถั่วเขียวสายพันธุ์ Chai Nat 3 ตั้งต้น แต่ไม่มีผลทำให้ลักษณะทางการเกษตรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

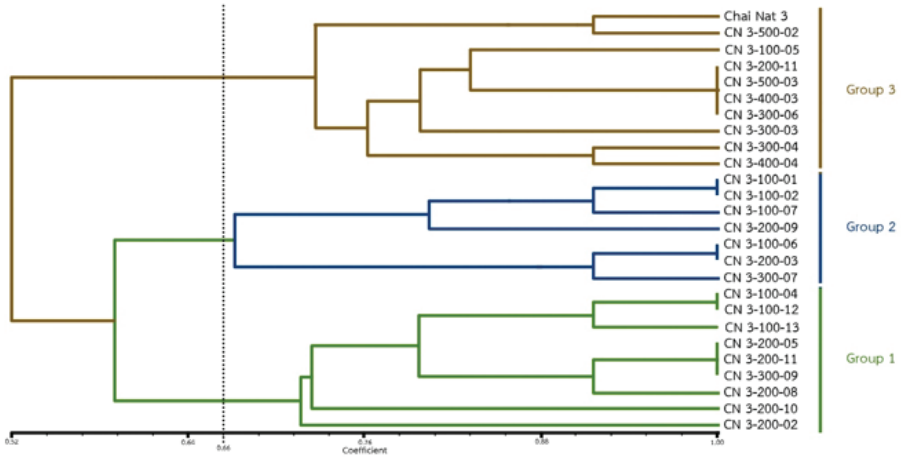

Figure 2 Dendrogram demonstrating genetic variability among Chai Nat 3 lines and the 25 mutants varieties based on UPGM.

มีรายงานวิจัยพบว่าถั่วเขียวผิวดำที่ชักนำให้กลายพันธุ์ด้วยฉายรังสีอิเล็กตรอน มีอัตราการกลายพันธุ์ทางสัณฐานวิทยาร้อยละ 0.7 (Souframanien n *et al*., 2016) การพัฒนาคุณภาพของพันธุ์ด้วยการชักนำให้กลายพันธุ์นั้นความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางการเกษตรโดยเฉพาะผลผลิตเป็นปัจจัยที่มีความจำเป็นในการบ่งชี้การกลายพันธุ์ (Baojiang *et al*., 1989) เพื่อให้มีการกระจายตัวทางพันธุกรรมอย่างสม่ำเสมอจึงต้องปลูกและคัดเลือกสายพันธุ์กลายอย่างน้อยชั่วที่ 3 หรือ ชั่วที่ 4 ขึ้นไป (Oladosu *et al*., 2016) ในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของสายพันธุ์กลายที่ชักนำให้กลายพันธุ์นั้นจำเป็นต้องตรวจสอบทั้งทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางการเกษตร และระดับชีวโมเลกุล เพื่อยืนยันได้ว่าความแตกต่างของสายพันธุ์เกิดขึ้นจากการฉายรังสี (Arumingtyas and Ahyar, 2022)

Table 3 List of SSR markers used in the present, DNA band size and number of DNA bands.

Primer name	Forward	Reverse	DNA band size (bp)	Number of DNA bands
CEDC0500[1]	TCCCACTTCTCCATTACCTCCAC	GAGATTATCTTCTGGGCAGCAAGG	100-300	5
CEDG232[1]	GATGACCAAGGTAACGTG	GGACAGATCCAAAACGTG	100-300	2
CEDG305[1]	GCAGCTTCACATGCATAGTAC	GAACTTAACTTGGGTTGTCTGC	100-300	3
CEDG191[2]	CAATAAGCAATCTGTGGAGAG	CTGCAGGAAACTTGGAATTGC	100-150	3
CEDG0282[2]	CAGCAACAAGACATGGAGTG	CAGCAACAAGACATGGAGTG	100-150	2
MB-SSR238	AGCTATTGGTGCATAGGTTC	GATATGATGAGTATGGTGTAG	200-300	2
VrCSSTS1[2]	ATTACTTGAGGTGGGGATAAT	AATAGACCACTTTTTCCGT	200-300	2
VrCSSTS2[2]	ATTTGATGACGATGTATTTAA	TAAAGATAATGCTGAGGG	200-500	10
SSR10[3]	CATCAGTCACTTGTGAACTTGTT	AAAGCATCTCCCCTAGGACTCT	100-300	4

[1] Primers follow from Kitiya, (2019), [2] Primers follow from Pavithra *et al*., (2021), [3] Primer follows from Kumer *et al*. (2012)

สรุป

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเขียวฉายรังสีชั่วที่ 5 และพันธุ์ตั้งต้น ด้วยการใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 9 เครื่องหมาย พบว่าถั่วเขียวฉายรังสีชั่วที่ 5 มีความหลากหลายทางพันธุกรรมจากการกลายพันธุ์ไปจากพันธุ์ตั้งต้น จึงยืนยันได้ว่าถั่วเขียวฉายรังสีชั่วที่ 5 ในงานวิจัยนี้เกิดการกลายพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตาม มีเพียงถั่วเขียวฉายรังสีสายพันธุ์ CN84-1-400-04 เท่านั้น ที่มีน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับถั่วเขียวพันธุ์ตั้งต้น ซึ่งจะถูกใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกถั่วเขียวสายพันธุ์ดีเด่น เพื่อเข้าสู่ขั้นตอนการเปรียบเทียบผลผลิตเบื้องต้นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิต คุณภาพ และเสริมสร้างความมั่นคงทางอาหาร กรมวิชาการเกษตร โดยได้รับการสนับสนุนงบวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.)

เอกสารอ้างอิง

Arumingtyas, E.L. and A.N. Ahyar. 2022. Genetic diversity of chili pepper mutant (*Capsicum frutescens* L.) resulted from gamma-ray radiation. IOP Conference Series: Earth and

Environmental Science 1097.012059. Doi: 10/1088/1755-1315/1097/1-012059.

Baojiang G., P. Qishen and A. Kolman. 1989. Cytogenetic effects of electron-beam radiation on dry seed storage. Heriditas 110: 113-115.

Houglund, E., E. Blomquist, J. Carlsson and B. Stenerlow. 2000. DNA damage induced by radiation of different linear energy transfer: initial fragmentation. International Journal of Radiation Biology 76: 539-547.

Huppertz, M., L. Manasa, D. Kachhap, A. Dalai, N. Yadav, M.A. Khan, P. Bauer and K.C.S. Panigrahi. 2013. Review: Exploring the potential of mung bean: sustainability and genomics in a changing

Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches surl la distribution florale. Bulletin de la Societe vaudoise des sciences naturelles 44: 223-270.

Khan, S. 1990. Studies on chemical mutagenesis in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Ph.D. Thesis, Aligarh Muslim University.

Kitiya, A. 2019. ISSR and SSR markers linked to powdery mildew and cercospora leaf spot resistance in mungbean. Ph.D. Thesis, Suranaree University of Technology.

Kumer, V., H.K. Dikshit, N. Jain, J. Kumari, D. Singh, A. Singh, R. Tak and T.R. Sharma. 2012. Genetic diversity in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] and related *Vigna* spp. Detected by ISSR, URP and markers. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 72 (3): 318-324.

Mounika, Y. 2020. Effects of mutagens on various traits in mungbean (*Vigna radiata* L. *Wilczek*). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 11: 394-402.

Oladosu, Y., M.Y. Rafii, N. Abdullah, G. Hussin, A. Ramli, H.A. Rahim, G. Miah and M. Usman. 2016.Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. Biotechnology and Biotechnological Equipment 30 (1): 1-16. Doi:10.1080/13102818.2015.1087333.

Pavithra, B.S., L. Behera and K.C. Samal. 2021. Genetic diversity analysis and validation of microsatellite markers linked with tolerance to powdery mildew disease in mungbean [Vigna radiata (L.) Wilczek]. Legume Research 1-10. Doi: 10.18805/LR-4472.

Sangiri, C. A. Kaga, N. Tomooka, D. Vaughan and P. Srinives. 2007. Genetic diversity of the mungbean (*Vigna radiata,* Leguminosae) genepool on the basis of microsatellite analysis. Australian Journal of Botany 837-847.

Souframanien, J., K.S. Reddy, V.C. Petwal and J. Dwivedi. 2016. Comparative effectiveness and efficiency of electron beam and ^{60}Co γ- rays in induction of mutations in black gram [*Vigna mungo* (L.) Hepper]. Journal of Food Legumes 29 (1): 1-6.