บทคัดย่อ

การวิจัยเพื่อจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของถั่วฝักยาวไร้ค้าง ถั่วฝักยาว ถั่วเขียว และถั่วเหลือง ซึ่งดำเนินการในช่วงปี 2545 – 2549 เพื่อประเมินความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของถั่วเหลือง ถั่วเขียวผิวมัน ถั่วเขียวผิวดำ ถั่วฝักยาว และถั่วฝักยาวไร้ค้าง มีดังต่อไปนี้ **(1) การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วเหลืองในประเทศไทยด้วยเครื่องหมาย SSR** นำเครื่องหมาย SSR มาใช้ประเมินความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) 25 จีโนไทป์ในประเทศไทย สัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างทุกจีโนไทป์โดยเปรียบเทียบทีละคู่มีค่าตั้งแต่ 0.73 ถึง 1.00 ค่าเฉลี่ย 0.88 แสดงว่าถั่วเหลืองในประเทศไทยมีฐานพันธุกรรมแคบ ซึ่งอาจเป็นข้อจำกัดของความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ เครื่องหมาย SSR จำนวน 11 จาก 12 เครื่องหมายสามารถจำแนกถั่วเหลืองจำนวน 23 จาก 25 จีโนไทป์ได้สำเร็จ ยกเว้นเฉพาะสายพันธุ์ปรับปรุง 2 สายพันธุ์ที่มีพันธุกรรมใกล้เคียงกันมากจากคู่ผสมเดียวกัน นอกจากนี้พบว่าเครื่องหมาย SSR ที่มีความหลากหลายสูงสุดเพียง 5 เครื่องหมายสามารถบ่งบอกเอกลักษณ์ของถั่วเหลืองพันธุ์การค้าทั้ง 15 พันธุ์ได้ และมีประโยชน์ต่อการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของจีโนไทป์ส่วนใหญ่สอดคล้องกับประวัติพันธุ์ ผลการทดลองนี้แสดงว่าเครื่องหมาย SSR มีประสิทธิภาพในการตรวจวัดความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเช่นเดียวกับการกำหนดเอกลักษณ์พันธุ์ของถั่วเหลืองในประเทศไทย **(2) การกำหนดเอกลักษณ์พันธุ์และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของถั่วเขียวผิวมันและผิวดำในประเทศไทย โดยการวิเคราะห์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมาย ISSR** นำลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมาย ISSR มาใช้ประเมินความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของถั่วเขียวผิวมัน (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) 17 จีโนไทป์และถั่วเขียวผิวดำ (*Vigna mungo* (L.) Hepper) 5 จีโนไทป์ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพืชไร่ของถั่วเขียว 22 จีโนไทป์ส่วนใหญ่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การวิเคราะห์ ISSR สำหรับถั่ว *Vigna* สองสปีชีส์ โดยใช้ไพรเมอร์ 18 ไพรเมอร์ได้แถบ ISSR ทั้งหมด 341 แถบ สัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างทุกจีโนไทป์โดยเปรียบเทียบทีละคู่วิเคราะห์โดยใช้ ISSR มีค่าตั้งแต่ 0.70 ถึง 0.99 ค่าเฉลี่ย 0.86 แสดงการมีฐานพันธุกรรมแคบ การวิเคราะห์ Unweighted pair-group arithmetic average (UPGMA) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ ISSR ให้รูปแบบการจัดกลุ่มจีโนไทป์ที่ต่างกัน ผลการทดลองแสดงชัดเจนว่า ISSR มีประสิทธิภาพในการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ แต่ไม่สามารถจำแนกในระดับสับสปีชีส์ได้ชัดเจน การใช้ไพรเมอร์ ISSR เพียง 6 ไพรเมอร์สามารถจำแนกถั่วเขียวทั้ง 22 จีโนไทป์ได้ ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการกำหนดเอกลักษณ์พันธุ์ **(3) การกำหนดเอกลักษณ์พันธุ์และการเปรียบเทียบการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เครื่องหมาย SSR และ ISSR ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทาง**

พันธุกรรมของถั่วฝักยาว นำลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมาย SSR และ ISSR มาใช้ประเมินความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculata* spp. *sesquipedalis*) 23 จีโนไทป์และลูกผสมระหว่างถั่วพุ่ม (*V. unguiculata* spp. *unguiculata*) และถั่วฝักยาว (ถั่วฝักยาวไร้ค้าง) 7 จีโนไทป์ในประเทศไทย นอกจากนี้ยังใช้ถั่วเขียวผิวมัน และถั่วเขียวผิวดำชนิดละ 2 จีโนไทป์เป็น outgroup species ในการวิเคราะห์เชิงโมเลกุลด้วย จีโนไทป์ส่วนใหญ่มีความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยา 5 ลักษณะ อย่างไรก็ตามการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวไม่สามารถจำแนกจีโนไทป์ 5 กลุ่ม (กลุ่มละ 2-3 จีโนไทป์) ได้ เครื่องหมาย SSR จำนวน 10 จาก 16 เครื่องหมายสามารถจำแนกถั่วฝักยาวและถั่วฝักยาวไร้ค้างจำนวน 28 จีโนไทป์ได้สำเร็จ จากการใช้ไพรเมอร์ ISSR 16 ไพรเมอร์เพิ่มปริมาณแถบ ISSR จากถั่ว *Vigna* สามสปีชีส์ ได้ทั้งหมด 312 แถบ สัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างทุกจีโนไทป์โดยเปรียบเทียบทีละคู่วิเคราะห์โดยใช้ SSR มีค่าตั้งแต่ 0.667 ถึง 1.00 ค่าเฉลี่ย 0.841 และวิเคราะห์โดยใช้ ISSR มีค่าตั้งแต่ 0.613 ถึง 0.976 ค่าเฉลี่ย 0.843 แสดงการมีฐานพันธุกรรมแคบ ISSR มีประสิทธิภาพสูงกว่าเนื่องจากมีค่า effective multiplex ratio, marker index และ Mantel's test cophenetic correlation coefficient สูงกว่า SSR Dendrograms จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา SSR และ ISSR มีการจัดกลุ่มจีโนไทป์ภายในกลุ่มแตกต่างกัน พบว่า ISSR มีประสิทธิภาพสูงสุดในการกำหนดความแปรปรวนและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างจีโนไทป์ของถั่วฝักยาวและถั่วฝักยาวไร้ค้าง และในการแยกความแตกต่างระหว่างถั่ว *Vigna* สามสปีชีส์ นอกจากนี้ ISSR ยังเป็นประโยชน์สูงสุดในการกำหนดเอกลักษณ์พันธุ์ ทั้งนี้เนื่องจากสามารถจำแนกถั่วฝักยาวและถั่วฝักยาวไร้ค้างทั้ง 30 จีโนไทป์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR เพียง 4 ไพรเมอร์

ABSTRACT

The followings are the research conducted during 2002 to 2006 to assess the genetic diversity and relatedness of soybean, mungbean, blackgram, yardlong bean and dwarf yardlong bean. **(i) SSR analysis of soybean genetic diversity in Thailand.** Simple sequence repeat (SSR) analysis was used to determine the genetic diversity and relatedness among 25 soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) genotypes in Thailand. Pairwise coefficients of genetic similarity between all genotypes ranged from 0.73 to 1.00 with an average of 0.88, suggesting quite narrow genetic base of soybean in Thailand that might limit continued breeding success. Eleven of twelve SSR markers successfully distinguished 23 of the 25 soybean genotypes with the exception of a pair of closely related breeding lines from the same cross. In addition, only five most polymorphic SSR markers were able to clearly identify all 15 commercial varieties and are very useful for DNA fingerprinting. The genetic relationships among genotypes generally agreed with known pedigrees. These results suggest that SSR marker is efficient for measuring genetic diversity and relatedness as well as identifying varieties of soybean in Thailand. **(ii) Variety identification and genetic relationships of mungbean and blackgram in Thailand based on morphological characters and ISSR analysis.** Genetic diversity and relatedness were measured in 17 mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) and 5 blackgram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) genotypes by means of inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis and morphological characters. Most morpho-agronomic characters varied significantly among the 22 genotypes. In total, 341 ISSR fragments were amplified for the two *Vigna* species by ISSR analysis using 18 ISSR primers. Pairwise coefficients of ISSR-based genetic similarity between all genotypes ranged from 0.70 to 0.99 with an average of 0.86, suggesting quite narrow genetic base. Unweighted pair-group arithmetic average (UPGMA) analysis based on morphological characters and ISSR exhibited different patterns of genotype clustering. It appeared that ISSR was more effective for classification at the species level although no clear separation at the subspecies level was found. All 22 mungbean and blackgram genotypes can be effectively distinguished by only 6 ISSR primers, suggesting the applicability of ISSR analysis for variety identification. **(iii) Variety identification and comparative analysis of genetic diversity in yardlong bean using morphological characters, SSR and ISSR analysis.** Genetic diversity of 23 yardlong bean (*Vigna unguiculata* spp. *sesquipedalis*) genotypes and 7 genotypes of hybrid between cowpea (*V. unguiculata* spp. *unguiculata*) and yardlong bean (dwarf

yardlong bean) in Thailand were estimated using morphological characters, simple sequence repeat (SSR) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. In addition, 2 mungbean and 2 blackgram genotypes were also used as outgroup species for molecular analysis. Five morphological characters were diverse among most genotypes. However, five groups of 2-3 genotypes could not be distinguished from one another based on these morphological characters alone. Ten of the sixteen SSR primers successfully distinguished 28 yardlong bean and dwarf yardlong bean genotypes. Among the 16 ISSR primers used, a total of 312 ISSR fragments were amplified for these three *Vigna* species. Pairwise coefficients of genetic similarity between all genotypes ranged from 0.667 to 1.00 with an average of 0.841 with SSR and 0.613 to 0.976 with an average of 0.843 with ISSR, suggesting quite narrow genetic base. The higher values of effective multiplex ratio, marker index and Mantel's test cophenetic correlation coefficient of ISSR compared to those of SSR indicated higher efficiency of ISSR. Clustering of genotypes within groups was not similar when morphological, SSR and ISSR derived dendrograms were compared. It appeared that ISSR was most effective in determining the genetic variability and relationships among yardlong bean and dwarf yardlong bean genotypes and differentiating among three *Vigna* species. ISSR was also most useful for variety identification since all 30 yardlong bean and dwarf yardlong bean genotypes can be effectively distinguished by only 4 ISSR primers.