

วราภา สีหลักษณ์ : ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ Asian *Vigna* วิเคราะห์โดยใช้
เครื่องหมายโมเลกุล AFLP และ SSR และการผสมข้ามชนิดระหว่าง *Vigna radiata*
และ *Vigna* spp. (GENETIC DIVERSITY OF ASIAN *Vigna* ANALYZED BY AFLP
AND SSR MOLECULAR MARKERS AND INTERSPECIFIC HYBRIDIZATION
BETWEEN *Vigna radiata* AND *Vigna* spp.) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์
ดร.ปิยะดา ทิพย์ผ่อง, 160 หน้า. ISBN 974-553-540-1

จากการสำรวจในอดีตพบว่า ประเทศไทยเป็นแหล่งหนึ่งของ Asian *Vigna* การศึกษานี้มี
วัตถุประสงค์เพื่อ (1) ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของ Asian *Vigna* จากประเทศไทย
และประเทศใกล้เคียงโดยใช้เทคนิค AFLP (2) สำรวจและเก็บรวบรวม Asian *Vigna* ในจังหวัด
เชียงใหม่และแม่ฮ่องสอน (3) วิเคราะห์ตัวอย่างที่เก็บมาโดยใช้เทคนิค SSR เพื่อตรวจสอบระดับ
heterozygosity ในประชากรและหาความสัมพันธ์ระหว่างพืชแต่ละชนิด และ (4) ประเมินอัตรา
การผสมคิดในการผสมข้ามชนิดระหว่าง *V. radiata* และ *Vigna* spp. การทดลองแบ่งเป็น 4
ส่วนตามวัตถุประสงค์ของการทดลอง การทดลองในส่วนแรกแสดงให้เห็นว่า ภาคเหนือของไทย
และรัฐ Mandalay ของพม่า อาจจะเป็นแหล่งที่มีการนำเอา *V. umbellata* ปามาเพาะปลูก *V.*
hirtella ที่วิเคราะห์แบ่งเป็น 2 กลุ่มที่มีความแตกต่างกันมาก แสดงว่าทั้ง 2 กลุ่มนี้อาจจะเป็นคนละ
ชนิด ทั้งนี้จะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่มนี้ต่อไป ส่วน *V. mungo* ที่มี
อยู่ในธรรมชาติในภาคเหนือของประเทศไทยนั้น เป็นพันธุ์ป่าของไทย ไม่ได้เกิดจากการปนเปื้อน
มากับพันธุ์ปลูกที่ไทยนำเข้ามาจากประเทศอินเดีย จากการสำรวจในส่วนที่ 2 นั้น พบ Asian
Vigna ทั้งหมด 4 ชนิด คือ *V. hirtella*, *V. minima*, *V. tenuicaulis* และ *V. umbellata* แต่ละ
ชนิดพบในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน คือ *V. minima* ส่วนใหญ่พบบริเวณที่ร่มในป่าผลัดใบ *V.*
tenuicaulis และ *V. umbellata* พบในที่ที่ได้รับแสงมาก ส่วน *V. hirtella* พบในที่แสงรำไร
อย่างไรก็ตาม ในบางประชากรพบพืชเหล่านี้หลายชนิดขึ้นอยู่ใกล้เคียงกัน การทดลองในส่วนที่ 3
ซึ่งตรวจสอบ heterozygosity ในประชากรนั้น พบว่าค่า heterozygous loci ต่อต้นมีระดับต่ำ
โดยที่ *V. hirtella* มีค่านี้สูงสุด และตัวอย่างที่เก็บมา มีต้นหนึ่งที่มีอัลลีล ของ *V. hirtella* ร่วมกับ
V. minima แสดงให้เห็นถึงการผสมข้ามโดยธรรมชาติระหว่างพืช 2 ชนิดนี้ จากการทดลองสาม
ส่วนแรกนี้ แสดงให้เห็นว่าประเทศไทยมีศักยภาพในการเป็นแหล่งของความหลากหลายของ
Asian *Vigna* ที่อยู่ใน subgenus *Angulares* รวมถึงแนวโน้มในการเกิดพันธุกรรมใหม่จากการ
ผสมข้ามชนิดที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ซึ่งอาจนำไปสู่การเกิดสปีชีส์ใหม่ ส่วนการทดลองสุดท้ายซึ่ง
เป็นการผสมข้ามชนิดนั้น การผสมสำเร็จเฉพาะกลุ่มผสมระหว่างถั่วเขียวพันธุ์ปลูก (*Vigna radiata*)

และ พันธุ์ป่า (*V. radiata* var. *sublobata*) ไม่ว่าจะใช้ถั่วเขียวพันธุ์ปลูกเป็นพ่อหรือแม่ก็ตาม ลูกผสมที่ได้มีลักษณะผสมระหว่างพ่อแม่และไม่เป็นหมัน ซึ่งได้รับการยืนยันจากการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค ISSR ว่า ลูกผสมนี้เกิดจากการผสมข้ามจริง นอกจากนี้ยังได้ลูกผสม 2 ต้นของ *V. mungo* x *V. stipulacea* จากการเพาะเลี้ยงคัพภะ แต่ลูกผสมตายหลังจากที่ย้ายจากอาหารเพาะเลี้ยงไปยังเวอร์มิคูไลต์ จึงไม่ได้ต้นลูกผสมที่สมบูรณ์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่อนักศึกษา ชวรา สันลักษณ์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา สุพร

WORAPA SEEHALAK : GENETIC DIVERSITY OF ASIAN *Vigna*
ANALYZED BY AFLP AND SSR MOLECULAR MARKERS AND
INTERSPECIFIC HYBRIDIZATION BETWEEN *Vigna radiata* AND
Vigna spp. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PIYADA THIPYAPONG,
Ph. D. 160 PP. ISBN 974-553-540-1

AFLP/ASIAN *Vigna*/ DIVERSITY/ INTERSPECIFIC HYBRIDIZATION/ SSR/
THAILAND/ *Vigna radiata*

Based on the previous exploration, Thailand appeared to be a center of Asian *Vigna*. Therefore, the objectives of this study were to (1) determine genetic diversity of Asian *Vigna* species in Thailand and neighboring regions using AFLP techniques, (2) explore and collect Asian *Vigna* in Chiang Mai and Mae Hong Son provinces, (3) analyze individuals from collection sites by using SSR to gain an insight into the level of heterozygosity in populations and to determine the relationships among species, and (4) evaluate cross compatibility between *V. radiata* and *Vigna* spp. According to the objectives, this study was divided into four parts. The first part suggested that northern Thailand and neighboring Mandalay state of Myanmar were the probable centers of domestication for *V. umbellata*. While *V. hirtella* consisted of two well differentiated subgroups, suggesting that taxonomic revision may be necessary. Naturally growing *V. mungo* populations in northern Thailand appeared to be true wild species not contaminated from the Indian cultigens introduced to Thailand. From the exploration of Asian *Vigna* species in the second part, four *Vigna* species were found including *V. hirtella*, *V. minima*, *V. tenuicaulis*, and *V. umbellata*. These

species grew in different habitats. *V. minima* generally grew in shaded areas in the under-story of dry deciduous forests. *V. tenuicaulis* and *V. umbellata* were found in open area whereas *V. hirtella* grew in semi-shaded area. However, more than one species were found growing in close proximity at some sites. The third part of study showed low level of heterozygous loci per plant. The maximum number of heterozygous loci per plant was found in *V. hirtella*. One accession of *V. hirtella* showed high heterozygosity sharing alleles between *V. hirtella* and *V. minima*, suggesting that natural outcrossing might occur. The first three experiments show that Thailand has the potential to be a center of diversity for section *Angulares* of Asian *Vigna* as well as the tendency for new genetic recombination from natural interspecific hybridization to occur that could lead to speciation. Only the cross between *V. radiata* and its wild relative (*V. radiata* var. *sublobata*) was successful when using *V. radiata* either as paternal or maternal parent. The hybrids were fertile and showed intermediate morphology between their parents. These hybrids were confirmed by ISSR analysis that they were true hybrids. Two hybrid plants from *V. mungo* x *V. stipulacea* were obtained from embryo culture. However, they died soon after transferring from the media to vermiculite.

School of Crop Production

Academic Year 2005

Student's Signature Norapa Seehak

Advisor's Signature Rudo Thipung