การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Vigna* บางชนิด ด้วยการวิเคราะห์แบบคลัสเตอร์

นางสาวธนาทิพย์ ศิลปวัฒนกุล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544
ISBN 974-17-0768-1
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

GENETIC RELATIONSHIP EVALUATION OF SOME *VIGNA* SPECIES USING CLUSTER ANALYSES

Miss Tanatip Silapawatanakul

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Genetics

Department of Botany

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2001

ISBN 974-17-0768-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Vigna* บางชนิดด้วยการวิเคราะห์แบบคลัสเตอร์
โดย	นางสาว ธนาทิพย์ ศิลปวัฒนกุล
สาขาวิชา	พันธุศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ วราลักษณ์ ตันติบรรพกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... รองคณบดีฝ่ายบริหาร
(รองศาสตราจารย์ ดร.พิพัฒน์ การเที่ยง) รักษาราชการแทนคณบดีคณะวิทยาศาสตร์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ วราลักษณ์ ตันติบรรพกุล)

..... กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ธนาทิพย์ ศิลปวัฒนกุล : การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Vigna* บางชนิด ด้วยการวิเคราะห์แบบคลัสเตอร์ (GENETIC RELATIONSHIP EVALUATION OF SOME *VIGNA* SPECIES USING CLUSTER ANALYSES) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. สุมิตรา คงชื่นสิน, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : อาจารย์ วราลักษณ์ ตันติบรรพกุล, 96 หน้า. ISBN 974-17-0768-1

การประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ ด้วยการวิเคราะห์แบบคลัสเตอร์ วิธี UPGMA โดยใช้ข้อมูลจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา 30 ลักษณะ ใน 5 ระยะการเจริญเติบโต คือ ระยะใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง ระยะใบที่เกิดจากข้อที่ 4 แผ่กว้าง ระยะเริ่มออกดอก ระยะเริ่มสุกแก่ และระยะเก็บเกี่ยว พบว่า สามารถจัดกลุ่มพืชได้เพียง 19 สายพันธุ์ เนื่องจากอีก 5 สายพันธุ์ ไม่สามารถบันทึกผลได้ครบทุกระยะการเจริญเติบโต โดยแบ่งกลุ่มพืชได้เป็น 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* 4 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ *V. mungo* 2 สายพันธุ์ และ *V. radiata* 2 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 3 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 18 51 54 และ 55 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 74 และกลุ่มที่ 5 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 และ *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 ซึ่งแตกต่างจากการจัดกลุ่มด้วยรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ 6 ระบบ คือ EST PER MDH SDH GOT และ 6PGDH พบว่า สามารถจัดกลุ่มพืชทั้ง 24 สายพันธุ์ได้ 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* 4 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์17 18 51 และ 54 กลุ่มที่ 3 ได้แก่ *V. mungo* 2 สายพันธุ์ และ *V. radiata* 2 สายพันธุ์ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 55 *V. trinervia* สายพันธุ์ 47 และ 74 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* 3 สายพันธุ์ *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 44 *V. angularis* สายพันธุ์ 40 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 และเมื่อจัดกลุ่มด้วยข้อมูลจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับรูปแบบไอโซไซม์ พบว่า สามารถจัดกลุ่มพืชได้เช่นเดียวกับข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา……..พฤกษศาสตร์…… ลายมือชื่อนิสิต……..……

สาขาวิชา…….พันธุศาสตร์…….. ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา……..……

ปีการศึกษา….2544……. ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม……..…….

##4172305523 : MAJOR GENETICS

KEY WORD : *VIGNA* / ISOZYME / CLUSTER / MULTIVARIATE

TANATIP SILAPAWATANAKUL : GENETIC RELATIONSHIP EVALUATION OF SOME *VIGNA* SPECIES USING CLUSTER ANALYSES. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUMITRA KONGCHUENSIN, THESIS COADVISOR : WARALUK TUNTIBANPAKUL, 96 pp. ISBN 974-17-0768-1

Genetic relationship among 24 lines of 9 *Vigna* species were determined using cluster analyses by UPGMA of 30 morphological characters, covering 5 growth stages. They were the first two true leaf stage, the fully expanded fourth leaf stage, the flowering stage, the mature stage and the harvest stage. Nineteen lines were finally clustered into 5 groups. The first group comprised 4 lines of *V. mungo* var. *silvestris*. The second group comprised two lines each of *V. mungo* and *V. radiata*. The third group comprised *V. umbellata* accession number 17, 18, 51, 54 and 55. The fourth group comprised *V. reflexo-pilosa* accession number 26, *V. trinervia* accession number 44, 47 and 74. The fifth group comprised *V. umbellata* accession number 43 and *V. glabrescens* accession number V1160. However, using band of 6 isozyme systems that included EST, PER, MDH, SDH, GOT and 6PGDH, all 24 lines were finally clustered into 4 groups. The first group were 4 lines of *V. mungo* var. *silvestris*. The second group were *V. umbellata* accession number 17, 18, 51 and 54. The third group were two lines each of *V. mungo* and *V. radiata* *V. umbellata* accession number 43 and 55, *V. trinervia* accession number 47 and 74. The fourth group were 3 lines of *V. reflexo-pilosa*, *V. trinervia* accession number 17 and 44, *V. angularis* accession number 40 and *V. aconitifolia* accession number 83. Evaluation based on comparative morphology and isozyme band resulted in the same clustering as of morphology.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department of…..Botany…… Student's signature…..……..…..……..

Field of study…...Genetics…… Advisor's signature……..……

Academic year….2001…….. Co-advisor's signature…….…….…….…

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ สุมิตรา คงชื่นสิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือต่างๆ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ วราลักษณ์ ตันติบรรพกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่กรุณาให้คำแนะนำ ตลอดจนช่วยเหลือดูแลเป็นอย่างดี และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ศาสตราจารย์ ดร.พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณหัวหน้าศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์

ขอขอบพระคุณ ผศ. ประเสริฐ ฉัตรวชิระวงษ์ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์มัลติวาเรียต แบบคลัสเตอร์

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้ และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย รหัสโครงการ BRT 543018 และบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา	13
บทที่ 4 ผลการศึกษา	22
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา	50
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา	58
รายการอ้างอิง	60
ภาคผนวก	65
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	96

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา	13
บทที่ 4 ผลการศึกษา	22
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา	50
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา	58
รายการอ้างอิง	60
ภาคผนวก	65
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	96

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สกุลย่อยและพื้นที่ปลูกของพืชสกุล *Vigna*	4
2	ชนิดพืชในสกุลย่อย *Ceratotropis*	6
3	อัตราส่วนการเตรียมดพลิอะคริลาไมด์ เจล ขนาด 10 x10 เซนติเมตร ที่ความเข้มข้น 8.5%.....	17
4	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ในระยะใบจริงคู่แรกแผ่กว้างของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	24
5	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆในระยะใบที่เกิดจากข้อที่ 4 แผ่กว้างของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	26
6	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ในระยะเริ่มออกดอกของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	28
7	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ในระยะเริ่มสุกแก่ของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	30
8	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆในระยะเก็บเกี่ยวของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	35

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะการชูช่อฝักกับก้านช่อดอก.....	32
2	ลักษณะการเจริญเติบโต.....	33
3	แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะ ไซโมแกรมของเอนไซม์ esterase ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	38
4	รูปแบบแถบของเอนไซม์ esterase ที่สกัดจากต้นในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	39
5	แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะไซโมแกรมของเอนไซม์ peroxidase ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	42
6	แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะไซโมแกรมของเอนไซม์ malate dehydrogenase ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	43
7	แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะ ไซโมแกรม ของเอนไซม์ glutamate-oxaloacetate amino peptidase ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์..	43
8	รูปแบบแถบของเอนไซม์ glutamate oxaloacetate amino peptidase ที่สกัดจากเมล็ดในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	44
9	แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะไซโมแกรม ของเอนไซม์ shikimate dehydrogenase ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์.....	45
10	แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะไซโมแกรมของเอนไซม์ 6-phospho gluconate dehydrogenase ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์..	46
11	การรวมกลุ่มของพืชสกุล *Vigna* 7 ชนิด 19 สายพันธุ์ ด้วยการจัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ วิธี UPGMA จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	48
12	การรวมกลุ่มของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด 24 สายพันธุ์ ด้วยการจัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ วิธี UPGMAจากรูปแบบไอโซไซม์.....	48
13	การรวมกลุ่มของพืชสกุล *Vigna* 7 ชนิด 19 สายพันธุ์ ด้วยการจัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ วิธี UPGMAจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและรูปแบบไอโซไซม์	49

บทที่ 1

บทนำ

พืชตระกูลถั่วจัดได้ว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญและปลูกกันมากในหลายประเทศ ที่นิยมปลูกในประเทศไทย ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง และถั่วเขียว เป็นต้น โดยเฉพาะถั่วเขียวสามารถปลูกได้หลายพื้นที่ และหลายครั้งต่อปี เนื่องจากถั่วเขียวเป็นพืชอายุสั้น ต้องการน้ำน้อยกว่าพืชไร่หลายชนิด และให้คุณค่าทางอาหารสูง เมล็ดถั่วเขียวมีโปรตีนร้อยละ 25-28 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 62-65 ซึ่งให้แป้งปริมาณสูงกว่าถั่วชนิดอื่น นอกจากนี้ยังประกอบด้วยวิตามิน และเกลือแร่อีกมาก จึงเหมาะสำหรับเป็นอาหารของคนและสัตว์ โดยสามารถแปรรูปถั่วเขียวให้เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆได้มากมาย เช่น วุ้นเส้น และแป้งผง เพื่อใช้ทำอาหารหรือขนมในอุตสาหกรรมอาหาร (สุมนา งามผ่องใส , 2540)

ปัจจุบันถึงแม้จะมีถั่วเขียวพันธุ์ต่างๆอยู่มากมาย แต่ก็ยังไม่เพียงพอและเหมาะกับความต้องการของตลาด ด้วยเหตุนี้การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อให้ได้ผลผลิตมากขึ้น และมีลักษณะที่ตรงกับความต้องการของผู้บริโภคจึงมีความสำคัญยิ่ง วิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว คือ การผสมพันธุ์ข้ามชนิด (Interspecific hybridization) เพื่อให้เกิดการกระจายตัวทางพันธุกรรมในลักษณะต่างๆของลูกผสม เป็นการเพิ่มการแปรผันทางพันธุกรรม ซึ่งการเลือกใช้พืชพันธุ์ใดเป็นพ่อแม่สำหรับการผสมพันธุ์เพื่อให้ลูกผสมตรงตามวัตถุประสงค์ จำเป็นต้องหาแหล่งพันธุกรรมที่สามารถถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมที่มีอยู่ในพ่อแม่ไปยังลูกผสม เช่นการนำพืชป่าที่มีความต้านทานโรคและแมลงมาผสมพันธุ์กับพืชปลูก เพื่อเพิ่มความต้านทานบางลักษณะเข้าไปในพืชปลูกเพราะในพืชป่าจะมียีนต้านทานบางลักษณะที่พืชปลูกไม่มี (Chen และคณะ, 1989) แต่มักประสบปัญหาการผสมไม่ติด เนื่องจากความห่างไกลทางพันธุกรรมของพ่อแม่ที่นำมาผสม ซึ่งหากได้มีการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพ่อแม่ที่จะนำมาผสมพันธุ์กันก่อนก็จะช่วยลดปัญหาข้างต้นได้

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างพืชแต่ละชนิด นิยมใช้วิธีการศึกษาการแปรผันทางสัณฐานวิทยา นอกจากนี้ยังสามารถใช้วิธีการทางชีวเคมีเข้ามาช่วยให้ได้ผลรวดเร็ว และชัดเจนยิ่งขึ้น ซึ่งวิธีหนึ่งที่นิยมนำมาศึกษาคือ การวิเคราะห์รูปแบบของไอโซไซม์จากเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส เนื่องจากไอโซไซม์เป็นโปรตีนซึ่งเป็นผลผลิตเบื้องต้นของยีน ดังนั้นเมื่อพืชมียีนแตกต่างกันก็จะมีไอโซไซม์แตกต่างกันด้วย

ถั่วเขียวจัดอยู่ในสกุล *Vigna* ซึ่งพืชในสกุลนี้มีทั้งพืชปลูกและพืชป่าอีกหลายชนิดที่ยังไม่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ดังนั้นหากมีการศึกษาดังกล่าวในพืชกลุ่มนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว โดยการผสมพันธุ์ข้ามชนิด ทั้งยังเป็นการศึกษาวิวัฒนาการ รวมทั้งสามารถนำความรู้ที่ได้นี้ไปประยุกต์ในงานอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมต่อไปได้

ในการศึกษาครั้งนี้ จะทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชในสกุล *Vigna* บางชนิด ทั้งพืชปลูก และพืชป่า จากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับข้อมูลจากการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ และจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยวิธีมัลติวาเรียต แบบคลัสเตอร์ ซึ่งเป็นเทคนิคทางสถิติโดยคำนวณหาความคล้ายคลึงกัน หรือความต่างกันระหว่างหน่วยหรือตัวแปรที่ศึกษา (สุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์ และกรรณิการ์ สุขเกษม, 2533) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมนำมาเพื่อจัดกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการแสดงออกของลักษณะที่เหมือนกันไว้รวมกัน เพื่อใช้เป็นแนวทางในการตัดสินใจว่า ควรเลือกใช้พันธุ์ใดเป็นพ่อแม่พันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ตามต้องการ

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา และรูปแบบไอโซไซม์ในพืชสกุล *Vigna* บางชนิด
2. จัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในพืชสกุล *Vigna* บางชนิด ด้วยวิธีมัลติวาเรียต แบบคลัสเตอร์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวโดยการผสมข้ามชนิด
2. ใช้เป็นข้อมูลประกอบในการจัดจำแนกชนิดของพืชสกุล *Vigna* ได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชในสกุล *Vigna* และการปรับปรุงพันธุ์

พืชในสกุล *Vigna* จัดว่ามีความสำคัญมาก เพราะให้แป้งปริมาณสูงกว่าถั่วชนิดอื่น โดยเฉพาะถั่วเขียว (mungbean) ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *V. radiata* (L.) Wilczek เดิมจัดอยู่ในสกุล *Phaseolus* ชื่อ *Phaseolus aureus* Roxb. ต่อมานักพฤกษศาสตร์พบว่ามีบางลักษณะที่ควรจัดอยู่ในสกุล *Vigna* (Verdcourt , 1970) ใน sub-tribe Phaseoliinae ของ tribe Phaseoleae ซึ่งอยู่ใน sub-family Fabaceae ใน family Leguminosae (Tomooka และคณะ, 1991)

พืชในสกุลนี้ประกอบด้วย 7 สกุลย่อย โดยปลูกกันแพร่หลายในหลายประเทศ ดังแสดงใน ตารางที่ 1 โดยถั่วเขียวจัดอยู่ในสกุลย่อย *Ceratotropis* ซึ่งพืชในสกุลย่อยนี้มีถิ่นกำเนิดและปลูกกันมากในทวีปเอเชีย โดยแบ่งเป็นพืชปลูก 5 ชนิด คือ ถั่วเขียวผิวมัน (mungbean หรือ *V. radiata* (L.) Wilczek) ถั่วเขียวผิวดำ (black gram หรือ *V. mungo* (L.) Hepper) ถั่วนิ้วนางแดง (rice bean หรือ *V. umbellata* (Thunb.) Ohwi and Ohashi) ถั่วอะซูกิ (azuki bean หรือ *V. angularis* (Willd.) Ohwi and Ohashi) และ ถั่วมอธ (moth bean หรือ *V. aconitifolia* (Jacg.) Marechal) สำหรับพืชป่าในสกุลย่อยนี้มีประมาณ 17 ชนิด โดยทั่วไปมีจำนวนโครโมโซมเป็น 2n = 2x = 22 ยกเว้น *V. glabrescense* และ *V. reflexo-pilosa* ซึ่งเป็นถั่วป่าที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 2n = 4x = 44 (Egawa, Chotechuen and Tomooka, 1996)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชในสกุลย่อย *Cerototropis* โดยทั่วไปจะแสดงลักษณะดังนี้ (1) มีหูใบตรงตำแหน่งใบที่มีก้านใบ (2) ลักษณะกลีบดอกแต่ละกลีบมีรูปร่างและขนาดไม่เท่ากัน (3) ปลายกลีบดอกชั้นในสุด(keel)ที่ม้วนติดกันเป็นหลอด และปลายของก้านชูเกสรตัวเมียจะโค้งขึ้นมาทางซ้ายเล็กน้อย (4) กลีบดอกโดยมากมีสีเหลือง (5) ด้านซ้ายของกลีบดอกชั้นในสุดจะมีโหนกยื่นออกมาคล้ายเขาเรียกว่า pocket ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้สามารถใช้ในการจำแนกความแตกต่างจากพืชสกุลย่อยอื่นได้ (Tateishi และ Ohashi, 1990)

ตารางที่ 1 สกุลย่อยและพื้นที่ปลูกของพืชสกุล *Vigna* (Marechal, Mascherpa และ Stainier, 1978)

สกุลย่อย	พื้นที่ที่ปลูกมาก
Vigna	แอฟริกา
Haydenia	แอฟริกา
Plectrotropis	แอฟริกา และ เอเชีย
Macrorhyncha	แอฟริกา และ เอเชีย
Ceatotropis	เอเชีย
Lasiospron	อเมริกา
Sigmoidotropis	อเมริกา

ส่วนลักษณะทางสัณฐานวิทยาของถั่วเขียวนั้น สมยศ พิชิตพร (2532) รายงานว่าถั่วเขียวเป็นพืชล้มลุกต้นเป็นพุ่มตรง ถึงพุ่มเลื้อย สูง 30 ถึง 120 เซนติเมตร ลำต้นค่อนข้างกลม มีสีเขียวถึงสีม่วงเข้ม อาจมีขนหรือไม่มีขนก็ได้ ใบจริงใบแรกเป็นใบเดี่ยว ใบต่อไปเป็นใบประกอบมี 3 ใบย่อย มีก้านใบยาว ขอบใบเรียบ แต่พบขอบใบหยักในบางพันธุ์ มีช่อดอกแบบ receme มีก้านช่อดอกยาว แต่ละช่อดอกมีดอกประมาณ 10 ถึง 25 ดอก แต่ติดฝักไม่เกิน 8 ฝัก ดอกมีสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม กลีบดอกมี 3 ชั้น ชั้นนอกสุดเรียกว่า standard ชั้นถัดไปมี 2 กลีบ เรียกว่า wing และชั้นในสุดมี 2 กลีบม้วนติดกันเป็นหลอด เรียกว่า keel เกสรตัวผู้มี 10 อัน มีโคนติดกันอยู่ 9 อัน อีก 1 อันแยกเป็นอิสระ ฝักมีสีดำ สีน้ำตาลหรือสีฟางข้าว มีขนสั้นๆที่ฝัก แต่บางพันธุ์อาจไม่มีขน ผิวเมล็ดมีทั้งเมล็ดมัน และด้าน ตาเมล็ดมีสีขาวและเรียบ

สำหรับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาในพืชสกุลย่อย *Cerototropis* ได้มีการศึกษาจากลักษณะอื่นหลายลักษณะ ซึ่งลักษณะบางลักษณะก็สามารถนำมาใช้เพื่อจำแนกความแตกต่างของพืชที่ศึกษาได้

Maekawa (1955) รายงานว่า สามารถแบ่งพืชในสกุลย่อย *Cerototropis* โดยจำแนกจากความแตกต่างของต้นกล้า และลักษณะของก้านใบจริงใบแรกของต้นกล้าได้เป็น 2 กลุ่ม (1) rudua หรือ mungbean group ประกอบด้วย mungbean black gram และ moth bean ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีการงอกแบบ epigeal germination โดยมีใบเลี้ยงขึ้นมาอยู่เหนือดิน มีลำต้นใต้ใบเลี้ยงยืดยาวขึ้นเหนือดิน และไม่มีก้านใบจริงใบแรก (2) กลุ่ม azuki ประกอบด้วย azuki bean และ rice bean ซึ่ง

เป็นกลุ่มที่มีการงอกแบบ hypogeal germination โดยมีใบเลี้ยงอยู่ใต้ดิน มีลำต้นใต้ใบเลี้ยงไม่ยืดยาว และใบจริงใบแรกมีก้าน แต่จากการศึกษาของ Baudet (1974) และ Tateishi (1996) พบว่า ต้นกล้าของ *V. aconitifolia* (moth bean) มีการงอกแบบ epigeal germination แต่ใบจริงใบแรกมีก้าน ซึ่งเป็นลักษณะระหว่างกลุ่ม rudua และกลุ่ม azuki จึงได้จัดแยกออกมา ทำให้สามารถแบ่งพืชได้เป็น 3 กลุ่ม คือ azuki rudua และ aconitifoliae ดังแสดงในตารางที่ 2

Tateishi (1996) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฝัก เมล็ด และการงอกในพืชสกุลย่อย *Ceratotropis* ดังนี้

1 ปริมาณขนที่ฝัก พบว่า *V. mungo* *V. trinervia* และ *V. trilobata* ส่วนใหญ่มีขนยาวปกคลุมฝัก แตกต่างจาก *V. radiata* *V. grandiflora* และ *V. khandalensis* ซึ่งมีขนสั้น ๆ ปกคลุมฝัก ส่วน *V. angularis* และ *V. umbellata* ไม่มีขนที่ฝัก หรือมีน้อยมากจากลักษณะของขนที่ฝักนี้ ทำให้แยกความแตกต่างของ *V. angularis* และ *V. umbellata* ออกจาก *V. radiata* และ *V. mungo* ได้ชัดเจน

2 ลักษณะตาเมล็ด (hilum) พบว่า ตาเมล็ดของพืชกลุ่มนี้ปกคลุมด้วยชั้นเนื้อเยื่อสีขาว (aril) โดยพบว่าใน *V. mungo* *V. minima* *V. umbellata* และ *V. trilobata* ส่วนใหญ่มีชั้นเนื้อเยื่อสีขาวนูนขึ้น และขรุขระ ส่วนใน *V. angularis* และ *V. hirtella* มีชั้นเนื้อเยื่อสีขาวนูนเรียบ แต่ใน *V. radiata* ไม่มีชั้นเนื้อเยื่อสีขาว ส่วน *V. aconitifolia* *V. khandalensis* *V. reflexo-pilosa* *V. trinervia* และ *V. subramaniana* มีขอบของชั้นเนื้อเยื่อสีขาวบาง ๆ

3 ลักษณะการงอก พบว่า *V. angularis* และ *V. umbellata* จัดอยู่ในกลุ่ม azuki เพราะมี hypogeous cotyledon และมีก้านใบจริงใบแรก ส่วน *V. mungo* และ *V. radiata* จัดอยู่ในกลุ่ม rudua เพราะมี epigeous cotyledon และไม่มีก้านใบที่ใบจริงใบแรก แต่ *V. aconitifolia* มีลักษณะตำแหน่งใบเลี้ยงเหมือนกลุ่ม rudua แต่มีก้านใบจริงใบแรก เหมือนกลุ่ม azuki

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 ชนิดพืชในสกุลย่อย *Ceratotropis* (Tateishi, 1996)

กลุ่ม	ชนิด	**ประเภท**	**พื้นที่ปลูก**
Angulares	*V. angularis* var. *angularis*	พันธุ์ปลูก	ญี่ปุ่น เกาหลี จีน
	V. angularis var. nipponensis	พันธุ์ป่า	เนปาล
	V. dalzelliana	-	อินเดีย ศรีลังกา
	V. exilis	-	ไทย
	V. hirtella	-	อินเดียตอนเหนือ เอเชีย
	V. nepalensis	-	เนปาล อินเดีย
	V. reflexo-pilosa var. *glabra*	พันธุ์ปลูก	อินเดีย เวียดนาม
	V.reflexo-pilosa var. reflexo-pilosa	พันธุ์ป่า	ญี่ปุ่น จีน ออสเตรเลีย เอเชีย
	V. trinervia var. *trinervia*	-	ศรีลังกา อินโดนีเซีย ไทย มาเลเซีย
	V. trinervia var. *bourneae*	-	อินเดีย
	V. umbellata var. *umbellata*	-	เอเชีย
	V. umbellata var. *gracilis*	พันธุ์ป่า	ไทย พม่า อินเดีย
	V. minima	-	เอเชียตะวันออกเฉียงใต้
	V. nakashimae	-	เกาหลี ญี่ปุ่น
	V. riukiuensis	-	ญี่ปุ่น ไต้หวัน
Radiatae	*V. grandiflora*	-	พม่า ไทย
	V. mungo var. *mungo*	พันธุ์ปลูก	เอเชียใต้
	V. mungo var. *silvestris*	พันธุ์ป่า	อินเดีย
	V. radiata var. *radiata*	พันธุ์ปลูก	เอเชีย แอฟริกา ออสเตรเลีย
	V. radiata var. *sublobata*	พันธุ์ป่า	เอเชีย แอฟริกา ออสเตรเลีย
	V. subramaniana	-	อินเดีย
	V. aconitifloia	พันธุ์ปลูก	เอเชียใต้
Aconitifloiae	*V. stipulacea*	-	อินเดีย ศรีลังกา อินโดนีเซีย
	V. trilobata	-	ศรีลังกา อินเดีย

หมายเหตุ - คือ ยังไม่สามารถระบุได้

นอกจากนี้ Tateishi (1996) ยังได้จัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ศึกษา พบว่า *V. dalzelliana* *V. exilis* *V. hirtella* *V. nepalensis* *V. reflexo-pilosa* *V. trinervia* *V. umbellata* *V. minima* *V. angularis* และ *V.glabrescens* มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน และจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ส่วน *V. aconitifolia* *V. stipulacea* และ *V. khandalensis* แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายกันจึงจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน แต่จะมีลักษณะโดยมากแตกต่างจากพืชชนิดอื่น จึงจัดกลุ่มแยกออกจากพืชกลุ่มอื่นอย่างชัดเจน

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ในพืชสกุลย่อยเดียวกับถั่วเขียว นับว่าเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว ซึ่งเป็นพืชผสมตัวเอง จุดประสงค์หลักของการผสมพันธุ์พันธุ์ คือเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม ดังนั้นการศึกษาลักษณะเด่นของพันธุ์ต่างๆ จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งที่ช่วยให้นักปรับปรุงพันธุ์ได้พืชที่มีลักษณะตรงกับความต้องการ ซึ่งพืชปลูก และพืชป่าแต่ละชนิดในพืชสกุลย่อย *Cerototropis* นี้มีลักษณะเด่นแตกต่างกัน เช่น *V. mungo* มีลักษณะอายุเก็บเกี่ยวสั้น ต้นแข็งแรง ต้านทานโรคและแมลงบางชนิด และทนทานต่อสภาพดินฟ้าอากาศ *V. umbellata* มีลักษณะต้านทานต่อโรค azuki bean mosaic virus(AMV) สูง *V. glabrescens* มีลักษณะต้านทานต่อโรค cucumber mosaic virus และแมลง bean fly สูง ส่วน *V. aconitifolia* มีความอดทนต่อสภาวะแห้งแล้งได้ดี (Sen และ Ghosh, 1960 ; AVRDC, 1979)

ปัญหาของการปรับปรุงพันธุ์ข้ามชนิดโดยมากเกิดจากการผสมไม่ติด เนื่องจากความห่างไกลทางพันธุกรรมของพ่อแม่ที่นำมาผสมพันธุ์ ซึ่ง AVRDC (1979, 1982) Smartt (1985) และสุมนา งามผ่องใส (2540) รายงานว่า ประสบความสำเร็จในการผสมพันธุ์ข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวกับ *V. mungo* และสามารถถ่ายทอดลักษณะบางลักษณะจาก *V. mungo* ไปยังถั่วเขียวได้สำเร็จ เนื่องจากพืชทั้งสองชนิดนี้มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกันสูง ส่วน Dana (1966) ได้ผสมพันธุ์ข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวกับ *V. glabrescens* โดยใช้ถั่วเขียวเป็นพันธุ์พ่อ สามารถเก็บฝักได้ แต่เมล็ดเหี่ยวและไม่มีชีวิต สาเหตุที่ทำให้เมล็ดลูกผสมไม่สามารถพัฒนาจนสุกแก่ได้เนื่องจากความแตกต่างของจำนวนโครโมโซม และชุดจีโนม ซึ่งถ้าได้มีการวางแผนโดยเลือกพ่อแม่ที่จะนำมาผสมพันธุ์ให้เป็นพืชที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกัน จะช่วยให้การปรับปรุงพันธุ์นั้นประสบความสำเร็จยิ่งขึ้น

2. การใช้รูปแบบไอโซไซม์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

Mckee (1973) อ้างถึง Larsen (1969) ซึ่งกล่าวว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืชและสายพันธุ์นั้น และสารประกอบทางชีวเคมีก็มีความแตกต่างกันไปด้วย ในขณะเดียวกันลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชที่ไม่แตกต่างกัน สารประกอบทางชีวเคมีก็มีความแตกต่างกันได้ ดังนั้นหากได้มีการศึกษาลักษณะทางชีวเคมี ร่วมกับ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาก็จะช่วยให้ผลชัดเจน และรวดเร็วยิ่งขึ้น ซึ่งวิธีการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีที่นิยมวิธีหนึ่งคือ การศึกษาจากรูปแบบไอโซไซม์

Shanon (1968) และ Stebbins (1989) ได้กล่าวว่าไอโซไซม์ หรือบางครั้งเรียกว่าอัลโลไซม์ (allozyme) พบโดย Hunter และMarkert ในปี 1957 ให้คำจำกัดความของไอโซไซม์ว่า หมายถึง เอนไซม์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลหลายรูปแบบ แต่เร่งปฏิกิริยาเคมีเดียวกันในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน โดยรูปแบบนี้จะแตกต่างกันในลำดับของกรดอะมิโน หรือลำดับเบสบนยีน และอาจมีพันธะโควาเลนท์บางอย่าง เช่น หมู่ hydroxyl ตลอดจนโครงสร้างแตกต่างกันจึงทำให้ไอโซไซม์เป็นเอนไซม์ที่มีโมเลกุลหลายขนาด และหลายรูปร่าง การศึกษาไอโซไซม์มีหลายวิธี เช่น การใช้เทคนิคอิเลคโตรโฟ รีซิส เป็นต้น (จริงแท้ ศิริพานิช, 2531)

เทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส หมายถึง การเคลื่อนย้ายอนุภาคที่อยู่ในสารละลายด้วยกระแสไฟฟ้า โดยอาศัยคุณสมบัติของอนุภาคที่มีประจุไฟฟ้าบวก หรือลบ ซึ่งจะเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าด้วยอัตราการเคลื่อนที่และทิศทางต่างกันไปตามแต่ชนิดของประจุบนอนุภาคนั้นๆ (อาภัสสรา ชมิดท์, 2537) เมื่อนำไอโซไซม์มาศึกษาด้วยเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส จึงให้ผลการศึกษาที่แสดงความแตกต่างของโมเลกุลของเอนไซม์ได้ เนื่องจากไอโซไซม์เป็นโปรตีนที่มีประจุซึ่งเกิดจากหมู่ อะมิโน และหมู่ คาร์บอกซิล แม้ว่าโมเลกุลจะมีประจุสุทธิใกล้เคียงกัน แต่เพราะความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล และอัตราส่วนของประจุต่อมวล เป็นพื้นฐานสำคัญที่ทำให้ไอออนต่างๆ เคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าด้วยความเร็วไม่เท่ากัน (ธนิต ผิวนิ่ม, 2528) สำหรับการตรวจสอบไอโซไซม์ที่ถูกแยกด้วยไฟฟ้าแล้ว สามารถทำได้โดยการนำซับสเตรท มาทำปฏิกิริยาเฉพาะกับเอนไซม์ ทำให้เกิดการตกตะกอนเป็นแถบของไอโซไซม์ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะ และแสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่ศึกษาได้ ซึ่ง Hunter และ Markert (1957) เป็นผู้เสนอให้ใช้คำว่า zymogram เพื่อแสดงแถบของเอนไซม์ที่ปรากฏ ซึ่งแสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่ศึกษาได้ (สุจิตรา จางตระกูล, 2535)

ในการจำแนกพันธุ์พืชบางชนิดที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกันนั้น ค่อนข้างเป็นปัญหาอย่างยิ่ง เพราะไม่สามารถจำแนกความแตกต่างได้ชัดเจนนักแต่เมื่อใช้การศึกษาไอโซไซม์ร่วมด้วย ก็จะสามารถจำแนกความแตกต่างของพืชได้ชัดเจนขึ้น เช่น Driedger และคณะ (1994) พบว่า การจำแนกพันธุ์ black bean ที่เป็นพันธุ์ใกล้ชิดกันโดยอาศัยความแตกต่างทางสัณฐานวิทยานั้นไม่สามารถจำแนกได้อย่างชัดเจน แต่จากการศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ acid phosphatase (ACP) peroxidase (PER) และ esterase (EST) ช่วยให้จำแนกได้ง่าย และชัดเจนขึ้น ส่วน DeWald, Mooreและ Sherman (1992) รายงานว่าการจำแนกพืชในสกุล *Ananas* (สับปะรด) ในเชิงอนุกรมวิธานโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบ ดอก และผลนั้น ไม่สามารถจำแนกได้ชัดเจนนัก แต่เมื่อศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ PER และ phosphoglucomutase (PGM) พบว่ามีประโยชน์อย่างมากในการช่วยจัดจำแนก เช่นเดียวกับ Parfitt, Arulsekar และ Ramming (1985) ศึกษาการจำแนกลูกผสมระหว่างชนิดที่เกิดจากต้นพลัม และท้อ ในขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์นั้นทำได้ยาก เนื่องจากขาดลักษณะเด่นทางสัณฐานวิทยาในระยะที่เป็นต้นกล้า ซึ่งการศึกษาไอโซไซม์สามารถช่วยแก้ปัญหา ดังกล่าวได้ โดย Yanofsky และ Lawrence (1960) ให้เหตุผลว่ามีความสัมพันธ์โดยตรงระหว่างยีน กับไอโซไซม์ โดยในสิ่งมีชีวิตมียีนจำนวนมากซึ่งยีนแต่ละตัวจะถอดรหัสให้ไอโซไซม์ 1 หน่วยย่อย ดังนั้นเมื่อยีนแตกต่างกันไอโซไซม์จะแตกต่างกันด้วย

รูปแบบของไอโซไซม์มีความแตกต่างกันระหว่างชนิดพืช ระหว่างเนื้อเยื่อ และระหว่างระยะของการพัฒนา เช่น ระหว่างระยะโตเต็มวัย และระหว่างระยะต้นอ่อน ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม และฤดูกาล โดยความแตกต่างนี้เป็นไปทั้งในด้านของชนิดไอโซไซม์ และปริมาณของไอโซไซม์ เนื่องจากไอโซไซม์เป็นโปรตีนซึ่งถือว่าเป็นผลผลิตที่เกิดจากกิจกรรมของยีน ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่อยู่ในพืชและทำหน้าที่ควบคุมการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม เช่น การต้านทานโรค การทนทานต่อสภาวะแวดล้อมไปสู่รุ่นถัดไป (ดวงพร วรสุนทโรสถ, 2534)

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชด้วยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ เป็นการศึกษาความสัมพันธ์โดยตรงระหว่างยีนกับเอนไซม์ จึงใช้เป็นตัววัดความเหมือนหรือความแตกต่างของยีนได้ (Werner, 1992) เช่น Egawa และคณะ (1996) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากการศึกษา รูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGDH) glutamate-oxalo acetate amino peptidase (GOT) shikimate dehydrogenase (SDH) และ leucine amino peptidase (LAP) พบว่า *V. reflexo-pilosa* แสดงตำแหน่งของแถบเหมือนกับ *V. glabrescens* โดยมีตำแหน่งของแถบของ *V. trinervia* 1 แถบ และตำแหน่งแถบของ *V. minima* 1 แถบ ซึ่งแสดงว่า *V. reflexo-pilosa* *V. glabrescens* *V. trinervia* และ *V. minima* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกัน

อย่างใกล้ชิด และในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมนั้น นิยมรายงานผลโดยการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยการวิเคราะห์ระดับมัลติวาเรียต แบบคลัสเตอร์ ซึ่งจะรวมพืชที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันไว้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน และแยกพืชที่มีความห่างไกลทางพันธุกรรมออกเป็นอีกกลุ่ม เพื่อความชัดเจนและเข้าใจง่ายขึ้น

3. การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยการวิเคราะห์ระดับมัลติวาเรียต แบบคลัสเตอร์

Harris (1975) ได้กำหนดนิยามของการวิเคราะห์ระดับมัลติวาเรียตว่า หมายถึง การจัดกลุ่มเทคนิควิธีการทางสถิติ ซึ่งได้รับการพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในสถานการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์กลุ่มตัวแปร โดยไม่จำกัดว่ากลุ่มตัวแปรดังกล่าวจะเป็นกลุ่มตัวแปรอิสระ หรือตัวแปรตาม ส่วน Finn และ Mattsson (1978) กล่าวว่า เมื่อใดก็ตามที่การวิเคราะห์เกี่ยวข้องกับตัวแปรตามเกินกว่าหนึ่งตัวแปร เมื่อนั้นถือว่า การวิเคราะห์นั้นเป็นระดับมัลติวาเรียต

การวิเคราะห์จัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ (Cluster analysis) เป็นเทคนิคทางสถิติที่ใช้ในการรวมกลุ่ม หรือรวมตัวแปรต่างๆ เข้าด้วยกันอย่างมีระบบโดยอาศัยความคล้ายคลึงกัน หรือความแตกต่างกันระหว่างหน่วยหรือระหว่างตัวแปรเป็นหลัก ในการคำนวณหาความห่างหรือความคล้ายคลึงกันนั้นมีหลายวิธี แต่ละวิธีจะให้ผลไม่เหมือนกัน เมื่อคำนวณหาความห่าง หรือความคล้ายกันได้แล้วก็จะนำค่าสถิติดังกล่าวมาใช้เป็นหลักในการรวม หรือการสร้างกลุ่ม ซึ่งมีหลายวิธี เช่นเดียวกัน โดยจะต้องเลือกให้เหมาะสมกับข้อมูลที่จะศึกษา ซึ่งการสรุปการรวมกลุ่มสามารถสรุปเป็นแผนภาพ เรียกว่า เด็นโดรแกรม (dendrogram) โดยอาศัยการโยงเส้นระหว่างรายที่รวมกลุ่มกันพร้อมทั้งบอกระยะทางความห่างของกลุ่มต่างๆ ที่รวมกัน โดยกลุ่มที่ใกล้กันรวมกันจะเห็นได้ชัดเจนกว่ากลุ่มที่ห่างกันและมารวมกัน และมีความใกล้ชิดกันมากกว่ากลุ่มที่ห่างกัน (สุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์ และกรรณิการ์ สุขเกษม, 2533) แต่ผลลัพธ์ของเทคนิคการวิเคราะห์จัดกลุ่มนี้ไม่ได้ให้ค่าสถิติ หรือผลการทดสอบสมมติฐานเพื่อให้ตัดสินใจหาจำนวนกลุ่มที่เหมาะสม ดังนั้นจะต้องพิจารณาความเหมาะสมเองโดยอาจใช้ระยะความห่าง หรือความคล้ายคลึงกันโดยใช้เด็นโดรแกรม ซึ่งจะสามารถพิจารณาจำนวนกลุ่มโดยการกำหนดตัวเลขระยะห่าง หรือความคล้ายคลึงเป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจ (กัลยา วานิชย์บัญชา, 2544)

การจัดกลุ่มพืชด้วยมัลติวาเรียต แบบคลัสเตอร์ เพื่อรายงานผลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในพืชสกุล *Vigna* พบว่าส่วนมากจะทำการศึกษากันในพืชสกุลย่อยอื่น โดยการศึกษาในพืชสกุลย่อย *Ceratotropis* นั้นยังมีไม่มากนัก เช่น Vaillancourt และ Weeden (1993) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใน *V. unguiculata V. luteola V. suvterranea V. oblongifolia V.*

reticulata *V. comosa* *V. frutescens* *V. vexillata* var. *angustifolia* *V. vexillata* var. *vexillata* และ *V. angularis* ด้วยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์ แล้วใช้เทคนิคการวิเคราะห์จัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ ประเมินความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างชนิดต่าง ๆ โดยสามารถจัดกลุ่มพืชที่ศึกษาได้ 3 กลุ่ม ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สามารถนำมาใช้คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ในการผสมข้ามชนิดต่อไปได้ ส่วน Pasquet, Schwedes และ Gepts (1999) ศึกษาความหลากหลายของรูปแบบไอโซไซม์ใน *V. subterranea* (L.) Verdc. ซึ่งเป็นพืชปลูกที่สำคัญในหลายประเทศของทวีปแอฟริกา เปรียบเทียบกับพืชป่า โดยศึกษาจากพืชปลูก 29 ตัวอย่างและพืชป่า 21 ตัวอย่าง โดยศึกษาจากเอนไซม์ 23 ระบบ พบว่า พืชป่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่าพืชปลูก และจากข้อมูลนี้พบว่า พืชป่าน่าจะเป็นบรรพบุรุษของพืชปลูกที่นำมาศึกษา ส่วน Garba และ Pasquet (1998) ศึกษาความหลากหลายของรูปแบบไอโซไซม์ด้วยเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิสใน *V. vexillata* 122 ตัวอย่าง และ *V. lobatifolia* 3 ตัวอย่าง จากผลของรูปแบบไอโซไซม์ และการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยคลัสเตอร์พบว่า *V. vexillata* มีความสัมพันธ์ทาง พันธุกรรมใกล้ชิดกับ *V. lobatifolia* ส่วน Spinosa Pignone และ Sonnante (1998) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *V. vexillata* ที่เก็บจากแอฟริกา และอเมริกาเหนือ ด้วยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ และจัดกลุ่มด้วยคลัสเตอร์วิธี Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average (UPGMA) พบว่าสามารถจัดกลุ่มพืชใน *V. vexillata* ได้ 2 กลุ่ม โดยตัวอย่างพืชจากเขต แอฟริกา จะแยกกลุ่มอย่างชัดเจนจากตัวอย่างพืชที่เก็บจากอเมริกาเหนือ นอกจากนี้ Sonnante และคณะ (1996) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ *V. unguiculata* กับพืชชนิดอื่นคือ *V. luteala* *V. racemosa* *V. vexillata* และ *V. heterophylla* ด้วยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ และจากการนำข้อมูลความถี่อัลลีลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสถิติ พบว่า *V. unguiculata* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้ชิดกับ *V. vexillata* มากที่สุด นอกจากการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ และการจัดกลุ่มด้วยคลัสเตอร์ในพืชสกุล *Vigna* แล้วยังพบว่าได้มีการศึกษาในพืชชนิดอื่นด้วย เช่น เสริมศิริ เมธีวรกุล (2536) ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ PER และ EST ในอ้อยพันธุ์ปลูก 50 พันธุ์ พบความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 2 ชนิด ในระหว่างพันธุ์ที่ต่างกัน และสามารถจัดกลุ่มจากรูปแบบของไอโซไซม์ที่คล้ายกันในไอโซไซม์ PER เป็น 14 กลุ่ม ส่วนไอโซไซม์ EST สามารถจัดกลุ่มได้ 18 กลุ่ม และรูปแบบของ PER และ EST ที่สกัดจากอ้อยที่มีอายุแตกต่างกัน หรือลำดับใบอ้อยแตกต่างกันไม่พบความแตกต่างของรูปแบบไอโซไซม์ทั้ง 2 ชนิด

นอกจากการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ไอโซไซม์เพียงอย่างเดียวแล้ว ยังพบว่า มีการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ ร่วมกับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยมีการศึกษาในพืชชนิดอื่นหลายชนิด เช่น Krutoyskii และ Bergmann (1995) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ *Picea abies* จากประเทศนอร์เวย์ และ *P.*

obovata จากประเทศไซบีเรีย โดยการวิเคราะห์รูปแบบไอโซไซม์เปรียบเทียบกับการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยวิธีมัลติวาเรียต พบว่า พืชทั้ง 2 ชนิดมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกัน ถึงแม้ว่าพืชทั้ง 2 ชนิดจะมาจากสถานที่ต่างกัน และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันก็ตาม อาจเพราะเกิดจากมีการย้ายถิ่นเกิดขึ้น และเมื่ออยู่ในสถานที่ที่ต่างกัน จึงมีปัจจัยของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แสดงออกมาแตกต่างกันได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวไม่สามารถบอกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมได้ ส่วน Matus, Gonzales และ Pozo (1999) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะต่างๆในกระเทียมของประเทศชิลี และประเมินผลด้วยวิธีมัลติวาเรียตซึ่งลักษณะที่ศึกษา เช่น วันที่งอก วันออกดอก ความสูงของต้น น้ำหนักหัว ลักษณะหัว เป็นต้น แล้วใช้การวิเคราะห์จัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ เพื่อศึกษาและจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะต่างๆได้ 5 กลุ่ม ทำให้ทราบความสัมพันธ์ระหว่างแต่ละพันธุ์ของกระเทียมที่เก็บมาจากสถานที่ต่างๆได้ ซึ่งเป็นข้อมูลช่วยให้นักปรับปรุงพันธุ์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป และ Karihaloo และ Gottlieb (1995) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของมะเขือปลูก (*Solanum melongena*) 27 ตัวอย่าง มะเขือป่า 2 ตัวอย่าง และมะเขือที่เป็นวัชพืช 33 ตัวอย่าง พบว่า มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน แต่จากการศึกษาด้วยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ และจัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ พบว่ามีความถี่อัลลีลของทุกตัวอย่างคล้ายคลึงกัน แสดงว่าน่าจะมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างตัวอย่างที่ศึกษา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีดำเนินการศึกษา

อุปกรณ์การศึกษา

1. พืชในสุกล *Vigna* จำนวน 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ ได้แก่

1. *V. mungo* var. *silvestris*	สายพันธุ์ TC2208
2. *V. mungo* var. *silvestris*	สายพันธุ์ TC2209
3. *V. mungo* var. *silvestris*	สายพันธุ์ TC2210
4. *V. mungo* var. *silvestris*	สายพันธุ์ TC2211
5. *V. umbellata*	สายพันธุ์ 17
6. *V. umbellata*	สายพันธุ์ 18
7. *V. umbellata*	สายพันธุ์ 43
8. *V. umbellata*	สายพันธุ์ 51
9. *V. umbellata*	สายพันธุ์ 54
10. *V. umbellata*	สายพันธุ์ 55
11. *V. reflexo-pilosa*	สายพันธุ์ 24
12. *V. reflexo-pilosa*	สายพันธุ์ 26
13. *V. reflexo-pilosa*	สายพันธุ์ 51
14. *V. trinervia*	สายพันธุ์ 17
15. *V. trinervia*	สายพันธุ์ 44
16. *V. trinervia*	สายพันธุ์ 47
17. *V. trinervia*	สายพันธุ์ 74
18. *V. glabrescens*	สายพันธุ์ V1160
19. *V. angularis*	สายพันธุ์ 40
20. *V. aconitifolia*	สายพันธุ์ 83
21. *V. radiata*	พันธุ์กำแพงแสน 1
22. *V. radiata*	พันธุ์กำแพงแสน 2
23. *V. mungo*	พันธุ์พิษณุโลก 2
24. *V. mungo*	พันธุ์อู่ทอง 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกพืชทดลอง

2.1 กระถางขนาด 16 นิ้ว

2.2 ป้ายชื่อพันธุ์

3. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา ไอโซไซม์ด้วยเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส ได้แก่

3.1 เครื่องอิเลคโตรโฟรีซิส รุ่น BIO-RAD Power pac 3000

3.2 เครื่องจ่ายไฟฟ้ากระแสตรง

3.3 Microsyring ขนาด 25 μl

3.4 Micropipette

3.5 pH meter

3.6 Pipette ขนาด 1 ml, 5 ml และ 10 ml.

3.7 กล่องพลาสติกขนาด 4 x 4 นิ้ว

3.8 เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์

3.9 เครื่องชั่ง

3.10 Magnetic stirrer

3.11 ช้อนตักสาร

4. เครื่องมือที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์

4.1 โกร่งบด

4.2 เครื่องปั่นเหวี่ยง

4.3 Appendrop ขนาด 1.5 ml.

4.4 Microtube

วิธีดำเนินการศึกษา

1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ปลูกพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ ในแปลงทดลอง โดยปลูกสายพันธุ์ละ 2 ต้น จำนวน 2 รอบ โดยมีระยะห่างระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ทำการศึกษาในแต่ละรอบใช้ระยะเวลานาน 6 เดือน คือรอบที่ 1 เริ่มศึกษาตั้งแต่เดือนกันยายน 2542 ถึงเดือนกุมภาพันธุ์ 2543 และรอบที่ 2 เริ่มศึกษาตั้งแต่เดือนมีนาคม 2543 ถึงเดือนสิงหาคม 2543 โดยบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามหลักเกณฑ์ที่ปรากฏใน descriptors for *V. radiata* and *V. mungo* (IBPGR , 1985) ดังนี้

1.1 ระยะใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง

- ลักษณะการงอก บันทึกเมื่อใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง
- สีของไฮโปคอทิล บันทึกที่ระยะ 10 วัน หลังงอก
- ความยาวและความกว้างของใบจริง บันทึกเมื่อใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง โดยวัดจาก 2 ต้น แล้วหาค่าเฉลี่ย
- รูปร่างของใบจริง บันทึกรูปร่างของใบจริง เมื่อใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง

1.2 ระยะใบที่เกิดจากข้อที่4 แผ่กว้าง

- รูปร่างของใบประกอบข้อที่ 4 บันทึกรูปร่างใบย่อยตรงปลายของใบประกอบข้อที่ 4
- ความยาว และความกว้างของใบย่อยตรงปลาย วัดจากใบตรงปลายของใบประกอบข้อที่ 4 โดยวัดจาก 2 ต้น แล้วหาค่าเฉลี่ย
- ความยาวของก้านใบข้อที่ 4 วัดจากส่วนที่ติดกับลำต้นถึงส่วนที่แยกเป็นใบประกอบของข้อที่ 4 โดยวัดจาก 2 ต้น แล้วหาค่าเฉลี่ย
- ปริมาณขนบนใบ โดยวัดจาก 2 ต้น ต้นละ 1 ใบแล้วให้คะแนนเป็น 3 ระดับ คือ ปริมาณขนมาก ปริมาณขนปานกลาง และปริมาณขนน้อย
- สีของก้านใบ บันทึกสีของก้านใบของข้อที่ 4
- สีของลำต้น บันทึกสีของลำต้น เมื่อใบของข้อที่4 แผ่กว้าง

1.3. ระยะเริ่มออกดอก

- อายุวันดอกแรกบาน นับจากวันที่เมล็ดได้รับน้ำ โดยวัดจาก 2 ต้น แล้วหาค่าเฉลี่ย
- สีของใบ บันทึกเมื่อออกดอก 50%
- ความทึบของทรงพุ่ม บันทึกเมื่อออกดอก 50% แล้วให้คะแนนเป็น 3 ระดับคือ โปร่งเห็นลำต้นชัดเจน ปานกลาง และทึบไม่เห็นลำต้น

1.4. ระยะเริ่มสุกแก่

- สีฝักอ่อน เมื่อฝักแรกเปลี่ยนสี โดยสุ่มบันทึกต้นละ 10 ฝัก
- สีรอยต่อที่ท้องของฝักอ่อน เมื่อฝักแรกเปลี่ยนสี โดยสุ่มบันทึกต้นละ 10 ฝัก
- ปริมาณขนบนฝัก เมื่อฝักแรกเริ่มเปลี่ยนสี โดยสุ่มวัดต้นละ 10 ฝักแล้วให้คะแนนเป็น 3 ระดับ คือ ปริมาณขนมาก ปริมาณขนปานกลาง และปริมาณขนน้อยถึงไม่มีขน
- อายุวันฝักแรกแก่ นับจากวันที่เมล็ดได้รับน้ำ โดยวัดจาก 2 ต้น แล้วหาค่าเฉลี่ย

1.5. ระยะเก็บเกี่ยว

- ลักษณะการติดฝักกับก้านช่อดอก เมื่อฝักเจริญเต็มที่ โดยสุ่มบันทึกต้นละ 10 ช่อดอก
- สีของฝักแก่ เมื่อฝักเจริญเต็มที่ โดยสุ่มบันทึกต้นละ 10 ฝัก
- ความยาวฝักแก่ โดยสุ่มวัดต้นละ 10 ฝักแล้วหาค่าเฉลี่ย
- จำนวนเมล็ด ต่อ ฝัก โดยสุ่มวัดต้นละ 10 ฝักแล้วหาค่าเฉลี่ย
- ลักษณะการเจริญเติบโต เมื่อฝักแรกเปลี่ยนสี
- สีของเมล็ด โดยสุ่มบันทึกต้นละ 10 เมล็ด
- รูปร่างเมล็ด โดยสุ่มบันทึกต้นละ 10 เมล็ด
- ความเป็นประกายของผิวเมล็ด โดยสุ่มบันทึกต้นละ 10 เมล็ด
- ลักษณะการคอดเว้าของไฮลัม โดยสุ่มบันทึกต้นละ 10 เมล็ด
- ขนาดเมล็ด โดยสุ่มวัดความยาว และความกว้างต้นละ 10 เมล็ด แล้วหาค่าเฉลี่ย

2. การศึกษาไอโซไซม์ ด้วยเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส แบบโพลิอะคริลาไมค์ เจล

2.1 การสกัดเอนไซม์เพื่อศึกษาในเอนไซม์ EST และ PER

นำต้นกล้าที่เพาะไว้ 8 วัน นับจากวันที่งอก มาบดในโกร่งบดที่แช่เย็นมาแล้ว โดยแยกชิ้นส่วนพืชที่จะสกัดออกเป็นราก ต้น และใบ โดยบดร่วมกับบัฟเฟอร์ที่ใช้สกัดเอนไซม์ที่ประกอบด้วย Tris-HCl 0.1M (pH8.2) Phosphate buffer 0.1M (pH7.5) polyvinylpyriolidone k 30. (PVP) ชนิดละลายน้ำ 5% 2-mercaptoethanol 14 mM (2%) Triton x – 100 (0.5%) และsucrose 20% ในอัตราส่วนของน้ำหนักพืชต่อสารสกัดเอนไซม์เป็น 1:1 (w/v) จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm เป็นเวลานาน 15 นาที ดูดเอาเฉพาะส่วนใสไว้ แล้วเติมสารละลาย bromphenol blue ประมาณ 1-2 หยด เก็บไว้ในที่ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทำการศึกษาต่อไป

2.2 การสกัดเอนไซม์เพื่อศึกษาในเอนไซม์ MDH GOT SDH และ 6PGDH

นำเมล็ดพืชที่เพาะไว้ 3 วัน มาบดในโกร่งบดที่แช่เย็นมาแล้ว โดยบดร่วมกับบัฟเฟอร์ที่ใช้สกัดเอนไซม์ ที่ประกอบด้วย Tris-HCl 0.02 M (pH 8.0) และ sucrose 5% (w/v) ในอัตราส่วนน้ำหนักพืช ต่อสารสกัดเอนไซม์เป็น 1:1 (w/v) จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm เป็นเวลานาน 15 นาที ดูดเอาเฉพาะส่วนใสไว้ แล้วเติมสารละลาย bromphenol blue ประมาณ 1-2 หยด เก็บไว้ในที่ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทำการศึกษาต่อไป

2.3 เทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส

2.3.1 ประกบแผ่นกระจก 2 แผ่น เข้าด้วยกัน แล้วตรึงแผ่นกระจกเข้ากับขาตั้ง

2.3.2 เตรียมเจลบัฟเฟอร์ ซึ่งประกอบด้วย Sol^n B C D และ E ดังแสดงในภาคผนวก

2.3.3 เตรียมสารละลายเจลชั้นล่างโดยใช้ความเข้มข้นของเจล 8.5% ซึ่งแสดงอัตราส่วนการเตรียมเจลดังแสดงในตารางที่ 3

2.3.4 เติมสารละลายเจลชั้นล่างลงในช่องว่างระหว่างกระจก โดยให้ห่างจากขอบกระจกประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วปรับผิวหน้าเจลให้เรียบด้วยน้ำกลั่นเหนือสารละลายจนถึงขอบกระจก ตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เจลแข็งประมาณ 1 ชั่วโมงครึ่ง

2.3.5 เตรียมสารละลายเจลชั้นบน ตามอัตราส่วน ดังแสดงในตารางที่ 3

2.3.6 เทน้ำกลั่นที่ปรับผิวหน้าเจลชั้นล่างทิ้ง

2.3.7 เติมสารละลายเจลชั้นบนลงในช่องว่างระหว่างกระจกเหนือสารละลายเจลชั้นล่างจนเหลือ อีกประมาณ 0.5 ซม. ถึงขอบกระจก

ตารางที่ 3 อัตราส่วนการเตรียมโพลิอะคริลาไมด์เจล ขนาด 10 x 10 เซนติเมตร ที่ความเข้มข้น 8.5% (ชวนพิศ อรุณรังสิกุล และคณะ, 2539)

เจลชั้นล่าง				เจลชั้นบน			
Sol^n B	Sol^n D	H_2O	Sol^n E	Sol^n C	Sol^n D	H_2O	Sol^n E
1.87 ml	4.55 ml	8.57 ml	75 μl	0.72 ml	1.25 ml	4.20 ml	28 μl

2.3.8 นำเอาหวีเสียบมาเสียบระหว่างกระจกเหนือสารละลาย โดยใส่ทิ้งไว้ และรอให้เจลแข็งประมาณ 1 ชั่วโมง

2.3.9 ดึงเอาหวีเสียบออก

2.3.10 ล้างช่องที่เกิดบนเจลชั้นบน ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ปรับ pH (electrod buffer) (ดังแสดงวิธีการเตรียมในภาคผนวก)

2.3.11 นำโพลิอะคริละไมด์เจลที่เตรียมในแผ่นกระจก ประกอบกับอุปกรณ์ขั้วไฟฟ้า แล้วใส่ลงในอ่างบัฟเฟอร์ เติมสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ปรับ pH ซึ่งแช่เย็นไว้ลงในอ่างบัฟเฟอร์ทั้งบนและล่าง

2.3.12 นำสารสกัดเอนไซม์ที่เตรียมได้ในข้อ 2.1 หรือ 2.2 จำนวน 5 μl ใส่ลงในช่องเจล โดยใส่สายพันธุ์ละ 1 ช่อง

2.3.13 ต่อขั้วกระแสไฟฟ้าให้ครบวงจร แล้วเปิดเครื่องป้อนกระแสไฟฟ้า กระแสตรง โดยใช้ค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า 200 โวลต์ ทิ้งไว้จนสารสกัดเอนไซม์เคลื่อนที่มาถึงปลายล่างของแผ่นเจล โดยห่างจากขอบกระจกด้านล่าง 1 ซม. (ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมงครึ่ง)

2.4. ขั้นตอนการย้อมสีเอนไซม์

2.4.1 เตรียมสารละลายสีย้อมเอนไซม์ต่างๆ (ดังแสดงวิธีการเตรียมในภาคผนวก)

2.4.2 นำเจลออกจากแผ่นกระจก ตัดส่วนเจลชั้นบนออก และตัดขอบเจลด้านล่างเล็กน้อย เพื่อแสดงตำแหน่งของช่องที่ 1

2.4.3 นำเจลใส่กล่องที่มีสีย้อมเอนไซม์ ทำการย้อมในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-4 ชม. หรือจนกว่าจะปรากฏแถบชัดเจน โดยคอยเขย่าเป็นครั้งคราว

2.4.4 เทสารละลายสีย้อมออกแล้วล้างเจลด้วยน้ำประปา 2-3 รอบ

2.4.5 แช่เจลไว้ใน acetic acid 7% เพื่อล้างสีที่เกินออก

2.4.6 บันทึกไซโมแกรมที่ได้ด้วยการถ่ายรูป พร้อมทั้งวาดแถบที่ปรากฏ

2.5. การวิเคราะห์ไซโมแกรม

นำไซโมแกรมที่ได้มาคำนวณหาค่า Rf (Relative fraction) ซึ่งเป็นค่าคงที่เฉพาะแถบไอโซไซม์ของแต่ละชนิด ตามสูตรดังนี้

$$Rf = \frac{\text{ระยะทางเคลื่อนที่ของไอโซไซม์}}{\text{ระยะทางทั้งหมดที่สารสกัดเคลื่อนที่}}$$

จากนั้นนำค่า Rf ที่ได้บันทึกลงในแถบไซโมแกรม เพื่อนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละสายพันธุ์

3. การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธีมัลติวาเรียต แบบคลัสเตอร์ (กัลยา วานิชย์บัญชา, 2544)

3.1 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา

3.1.1 การคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ความห่างในลักษณะทางปริมาณ

นำข้อมูลจากลักษณะปริมาณมาคำนวณหาค่าความห่างแบบ Square Euclidean distance ($D_{ii'}$) ด้วยการใช้คอมพิวเตอร์ โปรแกรม SPSS จากสูตร

$$\text{Distance } (D_{ii'}) = \sum_{j=1}^{n_j} (x_{ij} - x_{i'j})^2$$

โดย x_{ij} คือ ค่าสังเกตของพันธุ์ที่ i ลักษณะที่ j

$x_{i'j}$ คือ ค่าสังเกตของพันธุ์ที่ i′ ลักษณะที่ j

n_j คือ จำนวนลักษณะที่ศึกษา

3.1.2 การคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ความห่างจากลักษณะทางคุณภาพ

นำข้อมูลที่ได้มาให้ค่าคะแนนเป็น 1 ในลักษณะที่พบหรือพบมาก และ 0 ในลักษณะที่ไม่พบหรือพบน้อย และคำนวณหาค่าความคล้ายคลึงแบบ Simple matching ด้วยการใช้คอมพิวเตอร์โปรแกรม SPSS จากสูตรข้างล่างนี้ แล้วแปลงค่าความคล้ายคลึงที่ได้ให้เป็นค่าความห่างด้วยการคูณด้วย (-1)

$$\text{Distance } (X_{ii'}) = \left(\frac{a+d}{a+b+c+d}\right) x \ (-1)$$

โดย a = จำนวนลักษณะที่ให้คะแนนของพันธุ์ i เป็น 1 และพันธุ์ i' เป็น 1

b = จำนวนลักษณะที่ให้คะแนนของพันธุ์ i เป็น 1 และพันธุ์ i' เป็น 0

c = จำนวนลักษณะที่ให้คะแนนของพันธุ์ i เป็น 0 และพันธุ์ i' เป็น 1

d = จำนวนลักษณะที่ให้คะแนนของพันธุ์ i เป็น 0 และพันธุ์ i' เป็น 0

3.1.3 การคำนวณเพื่อแปลงข้อมูลที่ได้ให้อยู่ในรูปมาตรฐาน (standardized form)

นำค่าความห่างที่ได้จากลักษณะปริมาณ และลักษณะทางคุณภาพ มาคำนวณเพื่อแปลงข้อมูลให้เป็นค่ามาตรฐาน (standardized) จากสูตร

$$Z_{ii'} = \frac{(D_{ii'} - \overline{D})}{S}$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum (D_{ii'} - \overline{D})^2}{N-1}}$$

$$Z'_{ii'} = \frac{X_{ii'} - \overline{X}}{s'}$$

$$S' = \sqrt{\frac{\sum (X_{ii'} - \overline{X})^2}{N-1}}$$

โดย $Z_{ii'}$ คือ ค่ามาตรฐานของลักษณะปริมาณพันธุ์ที่ i กับพันธุ์ที่ i'

S คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความห่างของลักษณะปริมาณ

$D_{ii'}$ คือ ค่าความห่างของลักษณะปริมาณในพันธุ์ที่ i กับพันธุ์ที่ i'

$\overline{D}$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่าความห่างของลักษณะปริมาณ

$Z'_{ii'}$ คือ ค่ามาตรฐานของลักษณะคุณภาพพันธุ์ที่ i กับพันธุ์ที่ i'

S' คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความห่างของลักษณะคุณภาพ

$X_{ii'}$ คือ ค่าความห่างของลักษณะคุณภาพในพันธุ์ที่ i กับพันธุ์ที่ i'

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

$\overline{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่าความห่างของลักษณะคุณภาพ

N คือ จำนวนการเข้าคู่ของค่าความห่างของการเปรียบเทียบ

3.1.4 การคำนวณเพื่อรวมสัมประสิทธิ์ความห่าง

นำข้อมูลมาตรฐานที่ได้จากลักษณะปริมาณ และลักษณะทางคุณภาพ มารวมสัมประสิทธิ์ความห่างแบบ Weighted จากสูตร

$$\text{Weighted } (W_{ii'}) = (Z_{ii'} W_1) + (Z'_{ii'} W_2)$$

โดย $Z_{ii'}$ คือ ค่ามาตรฐานของลักษณะปริมาณของพันธุ์ที่ i กับพันธุ์ที่ i'

$Z'_{ii'}$ คือ ค่ามาตรฐานของลักษณะคุณภาพของพันธุ์ที่ i กับพันธุ์ที่ i'

W_1 คือ $\frac{\text{จำนวนลักษณะทางปริมาณ}}{\text{จำนวนลักษณะที่ศึกษาทั้งหมด}}$

W_2 คือ $\frac{\text{จำนวนลักษณะทางคุณภาพ}}{\text{จำนวนลักษณะที่ศึกษาทั้งหมด}}$

จากนั้นแปลงค่าผลรวมสัมประสิทธิ์ความห่างให้เป็นจำนวนเต็มบวก ($D'_{ii'}$) ด้วยการนำค่าที่คำนวณได้มาบวกด้วยจำนวนเต็มค่าหนึ่ง เพื่อทำค่าที่ติดลบสูงสุดให้เป็น 0 โดยบวกจำนวนเต็มเดียวกันนี้กับทุกค่า

3.1.5 การคำนวณเพื่อจัดกลุ่มพืชที่ศึกษา และหาสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยง

นำสัมประสิทธิ์ความห่างที่ได้ในข้อ 3.1.4 มาจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยการรวมกลุ่มพืชที่มีค่าความห่างน้อยที่สุดไว้รวมกัน ด้วยวิธี UPGMA จากสูตรดังนี้

$$D_{(c1)(c2)} = \frac{1}{n_1 n_2} \sum_{r \varepsilon c1} \sum_{s \varepsilon c2} D_{rs}$$

โดย n_1 คือ จำนวนพันธุ์ใน c1

n_2 คือ จำนวนพันธุ์ใน c2

D_{rs} คือ ค่าความห่างของสายพันธุ์ r ในกลุ่ม c1 กับสายพันธุ์ s ในกลุ่ม c2

c1 และ c2 คือ กลุ่มของสายพันธุ์ที่เกิดจากการรวมค่าความห่างที่น้อยที่สุด

จากนั้นคำนวณหาสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยง โดยพิจารณาจากค่าความห่างของเส้นเชื่อมโยง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.6 การคำนวณเพื่อหาความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความห่าง กับสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยง จากสูตรดังนี้

$$r_{xy} = \frac{\sum xy - \frac{1}{n}(\sum x)(\sum y)}{\sqrt{\left[\sum x^2 - \frac{1}{n}(\sum x)^2\right]\left[\sum y^2 - \frac{1}{n}(\sum y)^2\right]}}$$

โดย x คือ ค่าสัมประสิทธิ์ความห่าง (D'_{ii},)

y คือ ค่าสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยง

n คือ จำนวนค่าสัมประสิทธิ์ความห่าง หรือค่าสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยง

3.2 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากรูปแบบไอโซไซม์

3.2.1 การคำนวณหาค่าความคล้ายคลึงจากรูปแบบไอโซไซม์

พิจารณาในตำแหน่งแถบเดียวกันแล้วให้คะแนนเป็น 1 ในตำแหน่งที่ปรากฏแถบสี และให้คะแนนเป็น 0 เมื่อไม่ปรากฏแถบสี จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าความคล้ายคลึงแบบ Simple matching ด้วยคอมพิวเตอร์โปรแกรม SPSS

3.2.2 การคำนวณเพื่อจัดกลุ่มพืชที่ศึกษา

นำค่าความคล้ายคลึงที่ได้ในข้อ 3.2.1 มาจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยวิธี UPGMA เช่นเดียวกับข้อ 3.1.5

3.2.3 การคำนวณหาค่าความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความเหมือน กับสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยง (r_{xy}) เช่นเดียวกับข้อ 3.1.6

3.3 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับรูปแบบไอโซไซม์

3.3.1 การคำนวณหาค่าความห่างจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา และรูปแบบไอโซไซม์

แปลงค่าความคล้ายคลึงที่คำนวณได้ในข้อ 3.2.1 ให้เป็นค่าความห่าง แล้วนำค่าที่แปลงได้ และค่าที่คำนวณได้ในข้อ 3.1.4 มาคำนวณให้อยู่ในรูปมาตราฐาน

3.3.2 การคำนวณเพื่อรวมสัมประสิทธิ์ความห่างระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา และรูปแบบไอโซไซม์ โดยนำค่ามาตรฐานที่ได้ในข้อ 3.3.1 มารวมสัมประสิทธิ์ความห่าง ใช้วิธีเดียวกับในข้อ 3.1.4

3.3.3 การคำนวณเพื่อจัดกลุ่มพืชที่ศึกษา นำสัมประสิทธิ์ความห่างที่ได้ข้างต้นมาจัดกลุ่มความสัมพันธ์ด้วยวิธีเดียวกับข้อ 3.1.5 จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ ความห่าง กับ สัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงโดยวิธีเดียวกับในข้อ 3.1.6

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด 24 สายพันธุ์ ใน 5 ระยะการเจริญเติบโต คือ ระยะใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง ระยะใบที่เกิดจากข้อที่ 4 แผ่กว้าง ระยะเริ่มออกดอก ระยะเริ่มสุกแก่ และระยะเก็บเกี่ยว รวมทั้งหมด 30 ลักษณะ ได้ผลการศึกษาดังนี้

1.1 การศึกษาระยะใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง ดังแสดงในตารางที่ 4

1.1.1 ลักษณะการงอก พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* *V. radiata* *V. mungo* และ *V. aconitifolia* มีลักษณะการงอกแบบ epigeal ส่วนพืชชนิดต่าง ๆ ที่เหลือมีลักษณะการงอกแบบ hypogeal

1.1.2 สีไฮโปคอทิล พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีสีก้านใบ 2 สี คือ สีเขียวม่วงและสีม่วง *V. mungo* มีก้านใบสีม่วง *V. aconitifolia* และ *V. radiata* มีสีก้านใบสีเขียว ส่วนพืชที่เหลือไม่สามารถบันทึกสีไฮโปคอทิลได้ เนื่องจากลำต้นใต้ใบเลี้ยงไม่เจริญขึ้นมาเหนือดิน

1.1.3 ขนาดใบจริง เมื่อใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง

1.1.3.1 ความยาวใบจริงของใบจริงคู่แรก พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 1.8-2.4 ซม. ซึ่งใกล้เคียงกับพืชชนิด *V. glabrescens* *V. aconitifolia* และ *V. angularis* ที่มีความยาวใบโดยเฉลี่ยเป็น 2.1 2.2 และ 2.5 ซม. ตามลำดับ *V. umbellata* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 2.3-4.0 ซม. *V. reflexo-pilosa* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 1.3-1.4 ซม. *V. trinervia* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 0.5-1.3 ซม. *V. radiata* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 1.4-3.6 ซม. ส่วน *V. mungo* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 1.0-3.7 ซม.

1.1.3.2 ความกว้างใบจริงของใบจริงคู่แรก พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีความกว้างใบอยู่ระหว่าง 0.9-1.2 ซม. *V. umbellata* มีความกว้างของใบอยู่ระหว่าง 0.8-1.1 ซม. *V.*

reflexo-pilosa มีความกว้างของใบอยู่ระหว่าง 1.0-1.6 ซม. *V. trinervia* มีความกว้างของใบอยู่ระหว่าง 0.2-1.1 ซม. *V. aconitifolia* มีความกว้างของใบโดยเฉลี่ยเป็น 0.5 ซม. *V. glabrescens* มีความกว้างใบโดยเฉลี่ยเป็น 1.7 ซม. *V. angularis* มีความกว้างใบโดยเฉลี่ยเป็น 2.6 ซม. *V. radiata* มีความกว้างของใบอยู่ระหว่าง 1.4-2.0 ซม. และใกล้เคียงกับ *V. mungo* ที่มีความกว้างใบอยู่ระหว่าง 1.4-2.5 ซม.

1.1.4 รูปร่างใบจริง พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีลักษณะรูปร่างเช่นเดียวกับ *V. mungo* และ *V. radiata* คือ มีรูปร่างใบจริงแบบ ovate - lanceolate ส่วน *V. reflexo - pilosa* มีลักษณะรูปร่างใบเช่นเดียวกับ*V. trinervia V. glabrescens* และ *V. angularis* โดยมีรูปร่างใบจริงแบบ ovate ส่วน *V. aconitifolia* มีรูปร่างใบจริงแบบ lanceolate สำหรับ *V. umbellata* มีรูปร่างใบจริงได้ 3 แบบ คือ lanceolate ovate-lanceolate และ ovate โดยพบว่า มีรูปร่างแบบ lanceolate มากที่สุด

1.2 การศึกษาระยะใบที่เกิดจากข้อที่ 4 แผ่กว้าง ดังแสดงในตารางที่ 5

1.2.1 รูปร่างใบย่อยตรงปลายใบประกอบข้อที่ 4 พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* และ *V. reflexo-pilosa* มีรูปร่างใบ 2 แบบ คือ ovate-lanceolate และ rhomboid *V. umbellata* มีรูปร่างใบ 3 แบบ คือ ovate-lanceolate ovate และ rhomboid *V. glabrescens V. angularis V. radiata* และ *V. mungo* มีรูปร่างใบแบบ ovate *V. aconitifolia* มีรูปร่างใบแบบ rhomboid และ *V. trinervia* มีรูปร่างใบ 2 แบบ คือ ovate-lanceolate และ ovate

1.2.2 ขนาดใบย่อยตรงปลายใบประกอบข้อที่ 4

1.2.2.1 ความยาวใบย่อย พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 2.8-3.6 ซม. *V. umbellata* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 2.2-6.5 ซม. *V. reflexo-pilosa* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 3.3-5.2 ซม. *V. trinervia* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 1.3-3.5 ซม.*V. glabrescens* มีความยาวใบโดยเฉลี่ยใกล้เคียงกับ *V. angularis* คือ 2.5 และ 2.3 ซม. *V. mungo* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 3.0-3.2 ซม.โดยใกล้เคียงกับ *V. aconitifolia* คือ 3.1 ซม.และ *V. radiata* มีความยาวใบอยู่ระหว่าง 5.6-6.3 ซม.

ตารางที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในระยะใบจริงคู่แรกแผ่กว้างของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์

สายพันธุ์ที่	การงอก	สีไฮโปคอทิล	ใบเฉลี่ย ยาว/กว้าง (ซม.)	รูปร่างใบจริง
1. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2208)	epigeal	green-purple	1.8/1.2	ovate-lanceolate
2. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2209)	epigeal	purple	2.4/1.2	ovate-lanceolate
3. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2210)	epigeal	green-purple	2.1/0.9	ovate-lanceolate
4. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2211)	epigeal	purple	2.2/1.0	ovate-lanceolate
5. *V. umbellata* (17)	hypogeal	-	3.0/1.1	lanceolate
6. *V. umbellata* (18)	hypogeal	-	4.0/1.1	ovate-lanceolate
7. *V. umbellata* (43)	hypogeal	-	3.0/1.0	ovate-lanceolate
8. *V. umbellata* (51)	hypogeal	-	2.3/1.0	lanceolate
9. *V. umbellata* (54)	hypogeal	-	3.0/1.0	lanceolate
10. *V. umbellata* (55)	hypogeal	-	2.5/0.8	ovate
11. *V. reflexo-pilosa* (24)	hypogeal	-	1.4/1.0	ovate
12. *V. reflexo-pilosa* (26)	hypogeal	-	1.4/1.1	ovate
13. *V. reflexo-pilosa* (51)	hypogeal	-	1.3/1.6	ovate
14. *V. trinervia* (17)	hypogeal	-	1.3/1.1	ovate
15. *V. trinervia* (44)	hypogeal	-	0.5/0.2	ovate
16. *V. trinervia* (47)	hypogeal	-	0.6/0.3	ovate
17. *V. trinervia* (74)	hypogeal	-	0.8/0.5	ovate
18. *V. glabrescens* (V1160)	hypogeal	-	2.1/1.7	ovate
19. *V. angularis* (40)	hypogeal	-	2.5/2.6	ovate
20. *V. aconitifolia* (83)	epigeal	green	2.2/0.5	lanceolate
21. *V. radiata* (กพส.1)	epigeal	green	1.4/2.0	ovate-lanceolate
22. *V. radiata* (กพส.2)	epigeal	green	3.6/1.4	ovate-lanceolate
23. *V. mungo* (พิษณุโลก2)	epigeal	purple	1.0/2.5	ovate-lanceolate
24. *V. mungo* (อู่ทอง 2)	epigeal	purple	3.7/1.4	ovate-lanceolate

1.2.2.2 ความกว้างใบย่อย พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีความกว้างใบอยู่ระหว่าง 1.5-1.8 ซม. *V. umbellata* มีความกว้างใบอยู่ระหว่าง 1.1-3.6 ซม. *V. reflexo-pilosa* มีความกว้างใบอยู่ระหว่าง 1.7-4.0 ซม. *V. trinervia* มีความกว้างใบอยู่ระหว่าง 0.7-2.0 ซม. *V. glabrescens* มีความกว้างใบโดยเฉลี่ยใกล้เคียงกับ *V. angularis* คือ 2.2 และ 2.0 ซม. *V. aconitifolia* มีความกว้างใบโดยเฉลี่ยเป็น 0.8 ซม. *V. mungo* มีความกว้างใบอยู่ระหว่าง 2.0-2.1ซม. และ *V. radiata* มีความกว้างใบอยู่ระหว่าง 6.8-7.6 ซม.

1.2.3 ความยาวก้านใบข้อที่ 4 พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีความยาวอยู่ระหว่าง 3.8-4.5 ซม. *V. umbellata* มีความยาวอยู่ระหว่าง 2.4-5.2 ซม *V. reflexo-pilosa* มีความยาวอยู่ระหว่าง 3.2-7.0 ซม. *V. trinervia* มีความยาวอยู่ระหว่าง 1.8-3.2 ซม. *V. glabrescens* มีความยาวโดยเฉลี่ย 2.2 ซม. ใกล้เคียงกับ *V. angularis* และ *V. aconitifolia* มีความยาวโดยเฉลี่ย คือ 2.0 และ 1.8 ซม.ตามลำดับ *V. mungo* มีความยาวอยู่ระหว่าง 4.5 ซม. และ *V. radiata* มีความยาวอยู่ระหว่าง 7.1-10.6 ซม.

1.2.4 ปริมาณขนบนใบข้อที่ 4 พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีปริมาณขนบนใบน้อยเช่นเดียวกับ *V. aconitifolia* สำหรับ *V. umbellata* พบความหลากหลายของปริมาณขนบนใบทั้ง 3 ลักษณะ คือ มีปริมาณขนมาก มีปริมาณขนปานกลาง และปริมาณขนน้อย ส่วน *V. trinervia* *V. angularis* *V. mungo* และ *V. radiata* มีปริมาณขนบนใบปานกลาง แตกต่างจาก *V. glabrescens* ที่มีปริมาณขนบนใบมาก และ *V. reflexo - pilosa* พบความหลากหลายของปริมาณขนบนใบเพียง 2 ลักษณะ คือ มีปริมาณขนปานกลาง และปริมาณขนน้อย

1.2.5 สีก้านใบ เมื่อใบข้อที่ 4 แผ่กว้าง พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีสีก้านใบสีม่วง และม่วงเข้ม *V. umbellata* มีสีก้านใบสีม่วง และเขียว *V. reflexo-pilosa* มีสีก้านใบสีม่วงเข้ม *V. trinervia* มีสีก้านใบ สีม่วง สีเขียว และสีม่วงเข้ม *V. glabrescens* มีสีก้านใบสีม่วง ส่วนพืชชนิดอื่นที่เหลือมีสีก้านใบสีเขียว

1.2.6 สีลำต้นเมื่อใบข้อที่ 4 แผ่กว้าง พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีสีลำต้นสีม่วงและม่วงเข้ม *V. umbellata* มีความหลากหลายของสีลำต้นมากที่สุด คือ สีม่วง ม่วงเข้ม เขียว และเขียวม่วง *V. reflexo-pilosa* มีสีลำต้นสีม่วงเข้มและเขียวปนม่วง *V.trinervia* มีสีลำต้นสีม่วงเข้มและเขียว *V. glabrescens* และ *V. mungo* มีสีลำต้นสีม่วง ส่วนพืชชนิดที่เหลือนั้นมีสีลำต้นสีเขียว

ตารางที่ 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆในระยะใบที่เกิดจากข้อที่4 แผ่กว้างในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์

สายพันธุ์ที่	รูปร่างใบประกอบข้อที่4	ใบยาว/กว้างโดยเฉลี่ย (ซม.)	ก้านใบยาวโดยเฉลี่ย (ซม.)	ปริมาณขนบนใบ	สีก้านใบ	สีลำต้น
1. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2208)	ovate-lanceolate	3.6/1.6	4.5	sparsely	purple	purple
2. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2209)	ovate-lanceolate	2.9/1.8	4.0	sparsely	purple	purple
3. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2210)	ovate-lanceolate	2.8/1.5	4.0	sparsely	purple	purple
4. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2211)	rhomboid	3.5/1.5	3.8	sparsely	dark purple	dark purple
5. *V. umbellata* (17)	ovate-lanceolate	4.0/2.2	2.8	densely	purple	purple
6. *V. umbellata* (18)	ovate-lanceolate	2.2/1.4	2.4	densely	purple	purple
7. *V. umbellata* (43)	ovate	4.2/2.5	5.2	moderately	purple	green purple
8. *V. umbellata* (51)	ovate-lanceolate	4.5/2.9	3.0	sparsely	purple	dark purple
9. *V. umbellata* (54)	rhomboid	6.5/3.6	2.8	densely	purple	dark purple
10. *V. umbellata* (55)	ovate-lanceolate	2.5/1.1	2.7	sparsely	green	green
11. *V. reflexo-pilosa* (24)	ovate-lanceolate	5.2/4.0	5.5	sparsely	dark purple	green purple
12. *V. reflexo-pilosa* (26)	rhomboid	3.3/1.7	3.2	moderately	dark purple	dark purple
13. *V. reflexo-pilosa* (51)	rhomboid	5.0/4.0	7.0	sparsely	dark purple	dark purple
14. *V. trinervia* (17)	ovate-lanceolate	3.0/1.7	2.6	moderately	green	green
15. *V. trinervia* (44)	ovate-lanceolate	3.5/2.0	3.2	moderately	purple	dark purple
16. *V. trinervia* (47)	ovate-lanceolate	2.8/1.7	2.5	moderately	purple	dark purple
17. *V. trinervia* (74)	ovate	1.3/0.7	1.8	moderately	dark purple	dark purple
18. *V. glabrescens* (V1160)	ovate	2.5/2.2	2.2	densely	purple	purple
19. *V. angularis* (40)	ovate	2.3/2.0	2.0	moderately	green	green
20. *V. aconitifolia* (83)	rhomboid	3.1/0.8	1.8	sparsely	green	green
21. *V. radiata* (กพส.1)	ovate	6.3/7.6	10.6	moderately	green	green
22. *V. radiata* (กพส. 2)	ovate	5.6/6.8	7.1	moderately	green	green
23. *V. mungo* (พิษณุโลก2)	ovate	3.0/2.0	4.5	moderately	green	purple
24. *V. mungo* (อู่ทอง 2)	ovate	3.2/2.1	4.5	moderately	green	purple

1.3 การศึกษาระยะเริ่มออกดอก ดังแสดงในตารางที่ 6

1.3.1 อายุดอกแรกบาน พบว่า *V. radiata* มีอายุดอกแรกบานอยู่ระหว่าง 35-37 วัน ซึ่งใกล้เคียงกับ *V. mungo* และ *V. mungo* var. *silvestris* ที่มีอายุดอกแรกบานอยู่ระหว่าง35-39 วัน *V. umbellata* มีอายุดอกแรกบานอยู่ระหว่าง 60-105 วัน *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 มีอายุดอกแรกบานโดยเฉลี่ยเป็น 82 วัน *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 มีอายุดอกแรกบานอยู่ระหว่าง 78-84 วัน *V. glabrescens* มีอายุดอกแรกบานโดยเฉลี่ย 115 วัน ส่วนพืชที่เหลือไม่สามารถบันทึกอายุดอกแรกบานได้

1.3.2 สีใบเมื่อออกดอก 50% พบว่า *V.mungo* var.*silvestris* มีสีใบทั้งสีเขียว และเขียวเข้ม *V. umbellata* มีสีใบสีเขียวอ่อน เขียว และเขียวเข้ม *V. reflex-pilosa* สายพันธุ์ 26 มีสีใบสีเขียวอ่อน *V. radiata* *V. mungo* และ *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 มีสีใบเป็นสีเขียว *V. glabrescens* มีสีใบสีเขียวเข้ม ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

1.3.3 ความทึบของทรงพุ่มเมื่อออกดอก 50% พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีลักษณะความทึบของทรงพุ่มปานกลาง *V. umbellata* และ *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 มีลักษณะทรงพุ่มปานกลาง และทึบ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 และ *V. glabrescens* มีลักษณะของทรงพุ่มทึบ ซึ่งแตกต่างจาก *V. mungo* และ *V. radiata* ที่มีลักษณะทรงพุ่มโปร่งมองเห็นลำต้นได้ชัดเจน ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

1.4 การศึกษาในระยะเริ่มสุกแก่ ดังแสดงในตารางที่ 7

1.4.1 สีฝักอ่อน พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีสีฝักอ่อนสีเขียวเข้ม และเขียวอ่อน *V. umbellata* มีสีฝักอ่อนสีเขียว และเขียวเข้ม *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 และ *V. glabrescens* มีสีฝักอ่อนสีเขียวเข้ม *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 มีสีฝักอ่อนสีเขียว เขียวอ่อน และเขียวเข้ม *V. radiata* *V. mungo* มีสีฝักอ่อนสีเขียว ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

1.4.2 สีรอยต่อที่ท้องฝักอ่อน บันทึกเมื่อฝักแรกเปลี่ยนสี พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 *V. mungo* *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 *V. glabrescens* มีสีเขียวเข้ม *V. radiata* มีสีเขียว *V. umbellata* มีสีเขียวเข้ม น้ำตาล และดำ ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

ตารางที่ 6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆในระยะเริ่มออกดอกของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์

สายพันธุ์ที่	อายุดอกแรกบาน โดยเฉลี่ย (วัน)	สีใบเมื่อดอกบาน 50 %	ความทึบทรงพุ่ม
1. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2208)	36	green	ปานกลาง
2. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2209)	37	green	ปานกลาง
3. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2210)	39	green	ปานกลาง
4. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2211)	35	dark green	ปานกลาง
5. *V. umbellata* (17)	78	light green	ปานกลาง
6. *V. umbellata* (18)	60	dark green	ปานกลาง
7. *V. umbellata* (43)	105	dark green	ทึบ
8. *V. umbellata* (51)	63	green	ปานกลาง
9. *V. umbellata* (54)	73	dark green	ปานกลาง
10. *V. umbellata* (55)	75	green	ปานกลาง
11. *V. reflexo-pilosa* (24)	-	-	-
12. *V. reflexo-pilosa* (26)	82	light green	ทึบ
13. *V. reflexo-pilosa* (51)	-	-	-
14. *V. rinervia* (17)	-	-	-
15. *V. trinervia* (44)	80	green	ปานกลาง
16. *V. trinervia* (47)	84	green	ทึบ
17. *V. trinervia* (74)	78	green	ทึบ
18. *V. glabrescens* (V1160)	115	dark green	ทึบ
19. *V. angularis* (40)	-	-	-
20. *V. aconitifolia* (83)	-	-	-
21. *V. radiata* (กพส.1)	37	green	โปร่ง
22. *V. radiata* (กพส. 2)	35	green	โปร่ง
23. *V. mungo* (พิษณุโลก 2)	35	green	โปร่ง
24. *V. mungo* (อู่ทอง 2)	39	green	โปร่ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.4.3 ปริมาณขนบนฝัก บันทึกเมื่อฝักแรกเริ่มเปลี่ยนสี พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* และ*V. mungo* มีปริมาณขนที่ฝักหนาแน่นมาก แตกต่างจาก *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 และ *V. glabrescens* ซึ่งไม่มีขนที่ฝัก *V. umbellata* มีปริมาณขนที่ฝักหนาแน่นปานกลาง และไม่มีขน ส่วน *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 มีปริมาณขนมาก และไม่มีขน *V. radiata* มีปริมาณขนปานกลาง ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

1.4.4 อายุฝักแรกแก่ พบว่า *V. radiata* มีอายุวันใกล้เคียงกับ *V. mungo* var. *silvestris* คืออยู่ระหว่าง 53-55 และ 51-60 วัน ตามลำดับ *V. mungo* มีอายุวันอยู่ระหว่าง 70-75 วัน *V. umbellata* มีอายุวันอยู่ระหว่าง 84-138 วัน *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 มีอายุวันโดยเฉลี่ย 100 วัน *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 มีอายุวันอยู่ระหว่าง 98-118 วัน *V. glabrescens* มีอายุวันโดยเฉลี่ย 140 วัน ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

1.5 การศึกษาในระยะเก็บเกี่ยว ดังแสดงในตารางที่ 8

1.5.1 การติดฝักกับก้านช่อดอก พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* *V. mungo* *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 และ *V. glabrescens* มีลักษณะการติดฝักกับก้านช่อดอกแบบกึ่งตั้งตรง ซึ่งแตกต่างจาก *V. radiata* ที่มีลักษณะการติดฝักกับก้านช่อดอกแบบห้อยลง แต่ *V. umbellata* มีลักษณะการติดฝักกับก้านช่อดอกแบบห้อยลง และกึ่งตั้งตรง ดังแสดงในภาพที่ 1 ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

1.5.2 สีฝักแก่ พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีสีฝักแก่สีหญ้าแห้ง *V. mungo* และ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 มีสีฝักแก่สีดำ *V. glabrescens* มีสีฝักแก่สีน้ำตาล *V. umbellata* และ *V. radiata* มีสีฝักแก่สีดำ และสีน้ำตาล *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 มีสีฝักแก่สีหญ้าแห้ง และดำ ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

1.5.3 ความยาวฝักที่เจริญเต็มที่ พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีความยาวอยู่ระหว่าง 2.5-3.0 เซนติเมตร *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 มีความยาวอยู่ระหว่าง 4.9-6.0 ซม. *V. glabrescens* มีความยาวโดยเฉลี่ย 5.8 ซม. *V. umbellata* มีความยาวอยู่ระหว่าง 5.2-8.0 ซม. *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 มีความยาวโดยเฉลี่ย 6.0 ซม. *V. mungo* มีความยาวอยู่ระหว่าง 4.0-4.3 ซม. *V. radiata* มีความยาวฝักอยู่ระหว่าง 9.5-10.0 ซม. ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

ตารางที่ 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆในระยะเริ่มสุกแก่ของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์

สายพันธุ์ที่	สีฝักอ่อน	สีรอยต่อที่ท้องฝักอ่อน	ปริมาณขนที่ฝัก	อายุฝักแรกแก่โดยเฉลี่ย(วัน)
1. *V. mungo* var.*silvestris* (TC2208)	dark green	dark green	densely	51
2. *V. mungo* var.*silvestris* (TC2209)	dark green	dark green	densely	51
3. *V. mungo* var.*silvestris* (TC2210)	dark green	dark green	densely	53
4. *V. mungo* var.*silvestris* (TC2211)	light green	dark green	densely	60
5. *V. umbellata* (17)	dark green	dark green	glabrous	93
6. *V. umbellata* (18)	dark green	dark green	puberulent	85
7. *V. umbellata* (43)	green	dark green	glabrous	138
8. *V. umbellata* (51)	dark green	black	glabrous	84
9. *V. umbellata* (54)	dark green	brown	glabrous	95
10. *V. umbellata* (55)	green	dark green	glabrous	93
11. *V. reflexo-pilosa* (24)	-	-	-	-
12. *V. reflexo-pilosa* (26)	dark green	dark green	glabrous	100
13. *V. reflexo-pilosa* (51)	-	-	-	-
14. *V. trinervia* (17)	-	-	-	-
15. *V. trinervia* (44)	green	dark green	glabrous	98
16. *V. trinervia* (47)	light green	dark green	densely	118
17. *V. trinervia* (74)	dark green	dark green	glabrous	105
18. *V. glabrescens* (V1160)	dark green	dark green	glabrous	140
19. *V. angularis* (40)	-	-	-	-
20. *V. aconitifolia* (83)	-	-	-	-
21. *V. radiata* (กพส.1)	green	green	puberulent	55
22. *V. radiata* (กพส. 2)	green	green	puberulent	53
23. *V. mungo* (พิษณุโลก 2)	green	dark green	densely	70
24. *V. mungo* (อู่ทอง 2)	green	dark green	densely	75

1.5.4 จำนวนเมล็ดต่อฝัก พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีจำนวนเมล็ดใกล้เคียงกับ *V. mungo* คือ 4-5 และ 5 เมล็ด *V. radiata* และ *V. umbellata* ที่มีจำนวนเมล็ดต่อฝักอยู่ระหว่าง 6-8 เมล็ด *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 และ *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 มีจำนวนเมล็ดต่อฝักอยู่ระหว่าง 10 และ 8-12 เมล็ด *V. glabrescens* มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ย 8 เมล็ด ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

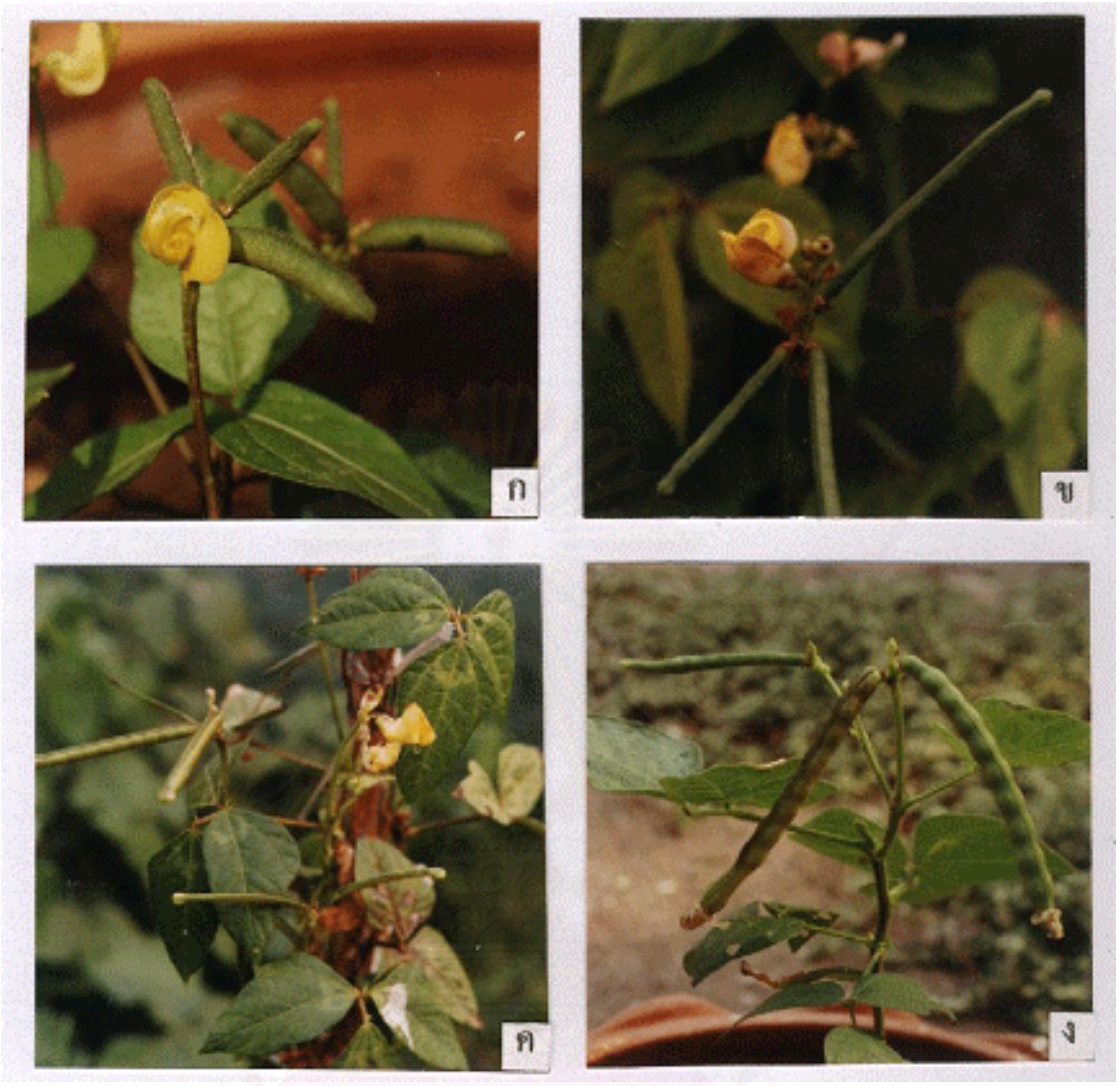
1.5.5 ลักษณะการเจริญเติบโต พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* และ *V. glabrescens* มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบกึ่งตั้งตรง *V. umbellata* มีลักษณะการเจริญแบบเลื้อยและกึ่งตั้งตรง *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 และ *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบเลื้อย ซึ่งแตกต่างจาก *V. radiata* ดังแสดงในภาพที่ 2 และ *V. mungo* ที่มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบตั้งตรง ส่วนพืชชนิดที่เหลือไม่สามารถบันทึกผลในระยะนี้ได้

1.5.6 สีเมล็ด พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* และ *V. glabrescens* มีเมล็ดสีน้ำตาล *V. umbellata* มีเมล็ดสีเขียวอ่อน ลายจุด ดำ และแดง *V.reflexo-pilosa* มีลักษณะเมล็ดสีน้ำตาล ดำ และเขียวปนน้ำตาล *V. trinervia* มีเมล็ดสีน้ำตาล และเขียวปนน้ำตาล *V. angularis* มีลักษณะเมล็ดสีแดง *V. aconitifolia* มีลักษณะเมล็ดสีเขียวอ่อน *V. radiata* มีลักษณะเมล็ดสีเขียว และ *V. mungo* มีลักษณะเมล็ดสีดำ

1.5.7 รูปร่างเมล็ด พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* *V. reflexo-pilosa* และ *V. trinervia* มีลักษณะรูปร่างเมล็ดแบบทรงกระบอก *V. radiata* *V. umbellata* *V. glabrescens* และ *V. angularis* มีลักษณะรูปร่างเมล็ดแบบทรงกระบอกโดยด้านปลายมนเป็นรูปไข่ *V. aconitifolia* มีลักษณะรูปร่างเมล็ดแบบรูปไข่ และ *V. mungo* มีลักษณะรูปร่างเมล็ดแบบรูปไข่โดยด้านปลายกลม

1.5.8 ความเป็นประกายของผิวเมล็ด พบว่า *V. mungo* และ *V. mungo* var. *silvestris* มีลักษณะไม่เป็นประกายที่ผิวเมล็ด ส่วน *V. trinervia* มีลักษณะทั้งไม่เป็นประกาย และเป็นประกายที่ผิวเมล็ด และพืชชนิดที่เหลือพบว่ามีลักษณะเป็นประกายที่ผิวเมล็ด

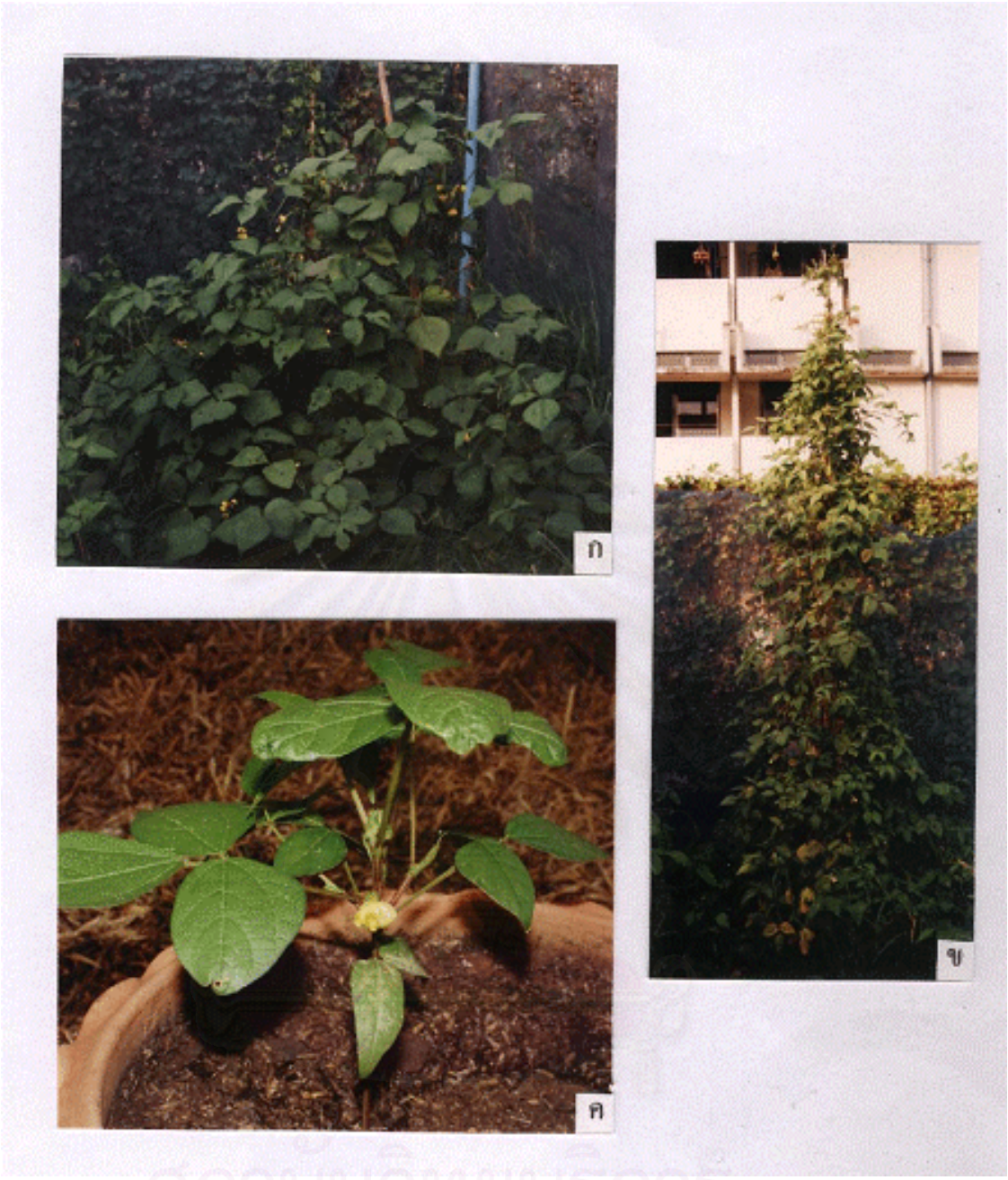
1.5.9 ลักษณะการคอดเว้าของไฮลัม พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีลักษณะคอดเว้า *V.umbellata* ส่วนใหญ่มีลักษณะการคอดเว้ายกเว้นตัวอย่าง 43 ที่ไม่มีการคอดเว้า ส่วนพืชชนิดที่เหลือพบว่าไม่มีลักษณะการคอดเว้า



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 1 ลักษณะการติดฝักกับก้านช่อดอก

ก) *V. mungo* var. *silvestris*	สายพันธุ์ TC2011	แบบกึ่งตั้งตรง
ข) *V. reflexo-pilosa*	สายพันธุ์ 26	แบบกึ่งตั้งตรง
ค) *V. trinervia*	สายพันธุ์ 44	แบบกึ่งตั้งตรง
ง) *V. radiata*	พันธุ์กำแพงแสน 2	แบบห้อยลง



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 2 ลักษณะการเจริญเติบโต

ก) *V. glabrescens*	สายพันธุ์ V1160	แบบกึ่งตั้งตรง
ข) *V. umbellata*	สายพันธุ์ 54	แบบเลื้อย
ค) *V. radiata*	พันธุ์ กำแพงแสน 2	แบบตั้งตรง

1.5.10 ขนาดเมล็ด

1.5.10.1 ความยาวของเมล็ด พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีความยาวของเมล็ดอยู่ระหว่าง 2.5-3.3 มม. *V. umbellata* มีความยาวของเมล็ดอยู่ระหว่าง 5.0-7.5 มม. *V. reflexo-pilosa* มีความยาวของเมล็ดอยู่ระหว่าง 3.0-5.0 มม. ซึ่งใกล้เคียงกับ *V. trinervia* ที่มีความยาวของเมล็ดอยู่ระหว่าง 3.0-4.0 มม. *V. glabrescens* มีความยาวของเมล็ดเฉลี่ย 4.5 มม. ใกล้เคียงกับ *V. mungo* และ *V. aconitifolia* ที่มีความยาวของเมล็ดอยู่ระหว่าง 4.5-5.0 และ 5.0 มม. และ *V. angularis* มีความยาวของเมล็ดเฉลี่ย 7.0 มม. *V. radiata* มีความยาวของเมล็ดอยู่ระหว่าง 4.8-5.8 มม.

1.5.10.2 ความกว้างของเมล็ด พบว่า *V.mungo* var. *silvestris* มีความกว้างอยู่ระหว่าง 2.5-3.3 มม. *V. umbellata* มีความกว้างอยู่ระหว่าง 2.7-4.5 มม. *V. reflexo-pilosa* มีความกว้างอยู่ระหว่าง 2.0-3.0 มม. *V. aconitifolia* มีความกว้างเฉลี่ย 2.0 มม. *V. glabrescens* มีความกว้างเฉลี่ย 3.0 มม. ใกล้เคียงกับ *V. trinervia* มีความกว้างอยู่ระหว่าง 2.8-3.0 มม. *V. angularis* มีความกว้าง 5.0 มม. *V. radiata* มีความกว้างอยู่ระหว่าง 3.8-4.0 มม. *V. mungo* มีความกว้างอยู่ระหว่าง 3.6-4.0 มม.

2 การศึกษาไอโซไซม์ ด้วยเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส แบบโพลิอะคริลาไมด์ เจล

จากการศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ในพืชสกุล *Vigna* 24 สายพันธุ์ ด้วยเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส โดยศึกษาจากเอนไซม์ 6 ระบบ คือ EST PER MDH GOT SDH และ 6PGDH ได้ผลการศึกษาดังนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆในระยะเก็บเกี่ยวของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์

สายพันธุ์ที่	การติดฝักกับก้านช่อดอก	สีฝักแก่	ความยาวฝักโดยเฉลี่ย (ซม.)	เมล็ดต่อฝักโดยเฉลี่ย	ลักษณะการเจริญเติบโต
1. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2208)	sub erect	straw	2.5	4	semi-erect
2. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2209)	sub erect	brown	3.0	5	semi-erect
3. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2210)	sub erect	straw	2.9	5	semi-erect
4. *V. mungo* var. *silvestris* (TC2211)	sub erect	straw	2.9	4	semi-erect
5. *V. umbellata* (17)	pendant	black	6.9	8	spreading
6. *V. umbellata* (18)	pendant	brown	6.5	8	spreading
7. *V. umbellata* (43)	sub erect	brown	8.0	8	semi-erect
8. *V. umbellata* (51)	pendant	brown	5.2	7	spreading
9. *V. umbellata* (54)	pendant	brown	5.5	6	spreading
10. *V. umbellata* (55)	pendant	brown	5.7	6	spreading
11. *V. reflexo-pilosa* (24)	-	-	-	-	-
12. *V. reflexo-pilosa* (26)	sub-erect	black	6.0	10	spreading
13. *V. reflexo-pilosa* (51)	-	-	-	-	-
14. *V. trinervia* (17)	-	-	-	-	-
15. *V. trinervia* (44)	sub-erect	straw	4.9	8	spreading
16. *V. trinervia* (47)	sub-erect	black	6.0	12	spreading
17. *V. trinervia* (74)	sub-erect	black	5.5	10	spreading
18. *V. glabrescens* (V1160)	sub-erect	brown	5.8	8	semi-erect
19. *V. angularis* (40)	-	-	-	-	-
20. *V. aconitifolia* (83)	-	-	-	-	-
21. *V. radiata* (กพส.1)	pendant	black	10	8	erect
22. *V. radiata* (กพส. 2)	pendant	brown	9.5	6	erect
23. *V. mungo* (พิษณุโลก 2)	sub erect	black	4.3	5	erect
24. *V. mungo* (อู่ทอง 2)	sub erect	black	4.0	5	erect

ตารางที่ 8 (ต่อ)

สายพันธุ์ที่	สีเมล็ด	รูปร่างเมล็ด	ประกายของผิวเมล็ด	การคอดเว้าของไฮลัม	เมล็ดเฉลี่ยยาว/กว้าง (มม.)
1. *V. mungo* var.*silvestris* (TC2208)	brown	drum	dull	concave	3.3/2.5
2. *V. mungo* var.*silvestris* (TC2209)	brown	drum	dull	concave	2.5/2.7
3. *V. mungo* var.*silvestris* (TC2210)	brown	drum	dull	concave	2.8/3.3
4. *V. mungo* var.*silvestris* (TC2211)	brown	drum	dull	concave	2.8/2.5
5. *V. umbellata* (17)	light-green	ovoid-drum	shiny	concave	6.0/3.5
6. *V. umbellata* (18)	mottle	ovoid-drum	shiny	concave	5.2/2.7
7. *V. umbellata* (43)	red	ovoid-drum	shiny	non-concave	7.5/4.5
8. *V. umbellata* (51)	black	ovoid-drum	shiny	concave	5.0/3.5
9. *V. umbellata* (54)	black	ovoid-drum	shiny	concave	6.3/4.0
10. *V. umbellata* (55)	light-green	ovoid-drum	shiny	concave	6.5/4.0
11. *V. reflexo-pilosa* (24)	brown	drum	shiny	non-concave	3.0/2.0
12. *V. reflexo-pilosa* (26)	green-brown	drum	shiny	non-concave	3.5/2.7
13. *V. reflexo-pilosa* (51)	black	drum	shiny	non-concave	5.0/3.0
14. *V. trinervia* (17)	brown	drum	dull	non-concave	3.0/3.0
15. *V. trinervia* (44)	brown	drum	dull	non-concave	3.5/2.8
16. *V. trinervia* (47)	brown	drum	dull	non-concave	4.0/3.0
17. *V. trinervia* (74)	green-brown	drum	shiny	non-concave	3.5/2.8
18. *V. glabrescens* (V1160)	brown	ovoid-drum	shiny	non-concave	4.5/3.0
19. *V. angularis* (40)	red	ovoid-drum	shiny	non-concave	7.0/5.0
20. *V. aconitifolia* (83)	light-green	ovoid	shiny	non-concave	5.0/2.0
21. *V. radiata* (กพส.1)	green	ovoid-drum	shiny	non-concave	4.8/3.8
22. *V. radiata* (กพส. 2)	green	ovoid-drum	shiny	non-concave	5.8/4.0
23. *V. mungo* (พิษณุโลก 2)	black	ovoid-globose	dull	concave	5.0/3.6
24. *V. mungo* (อู่ทอง 2)	black	ovoid-globose	dull	concave	4.5/4.0

2.1 การศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ EST ที่สกัดจากใบ ต้น และราก ดังแสดงในภาพที่ 3

2.1.1 การศึกษาเอนไซม์ EST ที่สกัดจากใบ พบว่า ส่วนมากเกิดแถบชัดเจนดี โดยเกิดแถบทั้งหมด 10 แถบ ยกเว้น *V. trinervia* สายพันธุ์ 47 ที่ไม่เกิดแถบ และจากแถบที่ปรากฏสามารถแบ่งพืชสกุล *Vigna* 23 สายพันธุ์ได้ 8 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีค่า Rf เป็น 0.27 0.30 และ 0.70 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* สายพันธุ์ TC 2208 กลุ่มที่ 2 มีค่า Rf เป็น 0.27 0.30 0.38 0.42 0.51 และ 0.70 ได้แก่ *V. mun*go var. *silvestris* ที่เหลือทั้ง 3 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 3 มีค่า Rf เป็น 0.27 0.30 และ 0.62 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 18 51 และ 54 กลุ่มที่ 4 มีค่า Rf เป็น 0.27 และ 0.33 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 55 และ *V. trinervia* สายพันธุ์ 74 กลุ่มที่ 5 มีค่า Rf เป็น 0.24 และ 0.30 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* ทั้ง 3 สายพันธุ์ *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 44 *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 กลุ่มที่ 6 มีค่า Rf เป็น 0.24 0.30 0.46 0.62 และ 0.70 ได้แก่ *V. angularis* สายพันธุ์ 40 กลุ่มที่ 7 มีค่า Rf เป็น 0.24 และ 0.27 ได้แก่ *V. radiata* ทั้ง 2 สายพันธุ์ และกลุ่มที่ 8 มีค่า Rf เป็น 0.24 0.27 และ 0.33 ได้แก่ *V. mungo* ทั้ง 2 สายพันธุ์

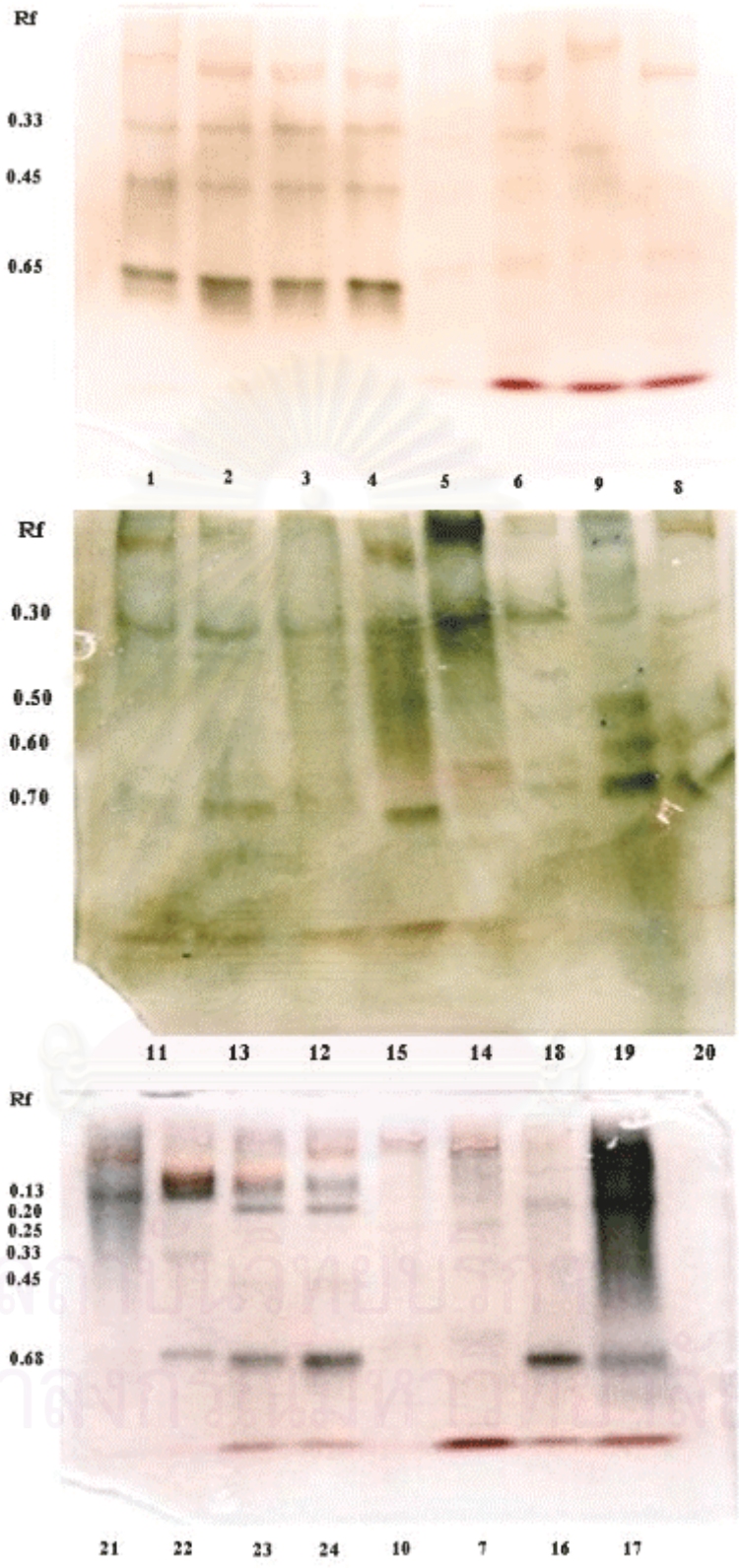
2.1.2 การศึกษาเอนไซม์ EST ที่สกัดจากต้น ดังแสดงในภาพที่ 4 พบว่า เกิดแถบในทุกสายพันธุ์ โดยเกิดแถบทั้งหมด 11 แถบ และจากแถบที่ปรากฏสามารถแบ่งพืชสกุล *Vigna* ทั้ง 24 สายพันธุ์ ได้ 9 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีค่า Rf เป็น 0.33 0.45 และ 0.65 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ทั้ง 4 สายพันธุ์ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 18 51 และ 54 กลุ่มที่ 2 มีค่า Rf เป็น 0.20 0.25 และ 0.68 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 และ 55 กลุ่มที่ 3 มีค่า Rf เป็น 0.3 และ 0.70 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 24 26 51 *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 กลุ่มที่ 4 มีค่า Rf เป็น 0.30 0.60 และ 0.70 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 กลุ่มที่ 5 มีค่า Rf เป็น 0.20 และ 0.68 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 47 74 กลุ่มที่ 6 มีค่า Rf เป็น 0.30 0.50 0.60 และ 0.70 ได้แก่ *V. angularis* สายพันธุ์ 40 กลุ่มที่ 7 มีค่า Rf เป็น 0.13 และ 0.33 ได้แก่ *V. radiata* พันธุ์กำแพงแสน 1 กลุ่มที่ 8 มีค่า Rf เป็น 0.13 0.33 และ 0.68 ได้แก่ *V. radiata* พันธุ์กำแพงแสน 2 และกลุ่มที่ 9 มีค่า Rf เป็น 0.13 0.20 0.45 0.68 ได้แก่ *V. mungo* พันธุ์พิษณุโลก 2 และพันธุ์อู่ทอง 2

2.1.3 การศึกษาเอนไซม์ EST ที่สกัดจากราก พบว่า ส่วนมากไม่ปรากฏแถบ โดยมีเพียง 8 สายพันธุ์ที่เกิดแถบเท่านั้น ซึ่งเกิดแถบทั้งหมด 5 แถบ และจากแถบที่ปรากฏสามารถแบ่งพืช 8 สายพันธุ์ที่เกิดแถบได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีค่า Rf เป็น 0.20 และ 0.66 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 24 26 51 *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 44 และ *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160

กลุ่มที่ 2 มีค่า Rf เป็น 0.20 0.42 และ 0.58 ได้แก่ *V. angularis* สายพันธุ์ 40 และกลุ่มที่ 3 มีค่า Rf เป็น 0.20 0.46 และ 0.66 ได้แก่ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83

ชนิดของเอนไซม์	ค่า Rf	ไซโมแกรมของพืชสกุล *Vigna* / สายพันธุ์ที่																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
EST (ใบ)	0.24											--	--	--	--	--			--	--	--	--	--	--	--
	0.27	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--							--				--	--	--	--
	0.30	--	--	--	--	--	--		--	--		--	--	--	--	--			--	--	--				
	0.33							--			--							--						--	--
	0.38		--	--	--																				
	0.42		--	--	--																				
	0.46																			--					
	0.51		--	--	--																				
	0.62					--	--		--	--										--					
	0.70	--	--	--	--															--	--				
EST (ต้น)	0.13																					--	--	--	--
	0.20							--			--						--	--						--	--
	0.25							--			--														
	0.30											--	--	--	--	--			--	--	--				
	0.33	--	--	--	--	--	--		--	--												--	--		
	0.45	--	--	--	--	--	--		--	--														--	--
	0.50																			--					
	0.60														--				--	--	--				
	0.65	--	--	--	--	--	--		--	--															
	0.68							--			--						--	--					--	--	--
	0.70											--	--	--	--	--			--	--	--				
EST (ราก)	0.20											--	--	--	--	--			--	--	--				
	0.42																			--					
	0.46																				--				
	0.58																			--					
	0.66											--	--	--	--	--			--		--				

ภาพที่ 3 แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะไซโมแกรมของเอนไซม์ esteraseในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ โดยหมายเลขสายพันธุ์อ้างตามตารางที่ 4



ภาพที่ 4 รูปแบบแถบของเอนไซม์ esteraseที่สกัดจากต้นในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์โดยหมายเลขสายพันธุ์อ้างตามตารางที่ 4

2.2 การศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ PER ที่สกัดจากใบ ต้น และราก ดังแสดงใน ภาพที่ 5

2.2.1 การศึกษาเอนไซม์ PER ที่สกัดจากใบ พบว่า ส่วนมากเกิดแถบชัดเจนดี โดยเกิดแถบทั้งหมด 8 แถบ ยกเว้น *V. trinervia* สายพันธุ์ 47 ที่ไม่เกิดแถบ และจากแถบที่ปรากฏ สามารถแบ่งพืชสกุล *Vigna* 23 สายพันธุ์ได้ 9 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1 มีค่า Rf เป็น 0.18 0.27 0.60 และ 0.69 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ทั้ง 4 สายพันธุ์ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 18 51 และ 54 กลุ่มที่ 2 มีค่า Rf เป็น 0.22 0.54 และ 0.64 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 และ 55 กลุ่มที่ 3 มีค่า Rf เป็น 0.22 0.64 และ 0.69 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 24 51 และ *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 กลุ่มที่ 4 มีค่า Rf เป็น 0.22 0.60 และ 0.64 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 กลุ่มที่ 5 มีค่า Rf เป็น 0.22 และ 0.64 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 74 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 กลุ่มที่ 6 มีค่า Rf เป็น 0.22 0.64 และ 0.76 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 กลุ่มที่ 7 มีค่า Rf เป็น 0.22 0.60 และ 0.76 ได้แก่ *V. angularis* สายพันธุ์ 40 กลุ่มที่ 8 มีค่า Rf เป็น 0.54 ได้แก่ *V. radiata* พันธุ์กำแพงแสน 1 และ กลุ่มที่ 9 มีค่า Rf เป็น 0.64 ได้แก่ *V. radiata* พันธุ์กำแพงแสน 2 และ *V. mungo* ทั้ง 2 พันธุ์

2.2.2 การศึกษาเอนไซม์ PER ที่สกัดจากต้น พบว่า ส่วนมากเกิดแถบชัดเจนดี โดยเกิดแถบทั้งหมด 11 แถบ ยกเว้น *V. trinervia* สายพันธุ์ 47 ที่ไม่เกิดแถบ และจากแถบที่ปรากฏ สามารถแบ่งพืชได้ 15 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีค่า Rf เป็น 0.20 0.48 0.54 0.58 0.62 และ 0.74 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* สายพันธุ์ TC 2208 กลุ่มที่ 2 มีค่า Rf เป็น 0.20 0.48 0.54 0.58 และ 0.74 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ที่เหลือทั้ง 3 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 3 มีค่า Rf เป็น 0.10 0.48 และ 0.62 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 18 51 และ 54 กลุ่มที่ 4 มีค่า Rf เป็น 0.44 0.54 และ 0.67 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 55 และ *V. mungo* พันธุ์อู่ทอง 2 กลุ่มที่ 5 มีค่า Rf เป็น 0.70 และ 0.88 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 24 และ 51 กลุ่มที่ 6 มีค่า Rf เป็น 0.70 0.76 0.88 และ 0.98 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 กลุ่มที่ 7 มีค่า Rf เป็น 0.20 0.50 0.70 0.76 และ 0.98 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 กลุ่มที่ 8 มีค่า Rf เป็น 0.20 0.50 0.62 0.70 0.76 0.82 และ 0.98 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 กลุ่มที่ 9 มีค่า Rf เป็น 0.44 0.54 และ 0.76 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 74 กลุ่มที่ 10 มีค่า Rf เป็น 0.56 0.70 0.76 0.88 และ 0.98 ได้แก่ *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 กลุ่มที่ 11 มีค่า Rf เป็น 0.62 0.70 0.88 ได้แก่ *V. angularis* สายพันธุ์ 40 กลุ่มที่ 12 มีค่า Rf เป็น 0.56 และ 0.76 ได้แก่ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 กลุ่มที่ 13 มีค่า Rf เป็น 0.62 ได้แก่ *V. radiata* พันธุ์กำแพงแสน 1 กลุ่มที่ 14 มีค่า Rf เป็น 0.58 ได้แก่ *V. radiata* พันธุ์กำแพงแสน 2 และ กลุ่มที่ 15มีค่า Rf เป็น 0.44 และ 0.54 ได้แก่ *V. mungo* พันธุ์พิษณุโลก 2

2.2.3 การศึกษาเอนไซม์ PER ที่สกัดจากราก พบว่า เกิดแถบในทุกสายพันธุ์ โดยเกิดแถบทั้งหมด 14 แถบ และจากแถบที่ปรากฏสามารถแบ่งพืชสกุล *Vigna* 24 สายพันธุ์ได้ 15 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีค่า Rf เป็น 0.36 0.66 และ 0.70 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ทั้ง 4 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 มีค่า Rf เป็น 0.28 0.66 0.76 และ 0.84 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 และ 18 กลุ่มที่ 3 มีค่า Rf เป็น 0.28 0.48 0.66 0.76 และ 0.84 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 51 และ 54 กลุ่มที่ 4 มีค่า Rf เป็น 0.13 0.50 0.63 และ 0.76 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 และ 55 กลุ่มที่ 5 มีค่า Rf เป็น 0.26 0.48 0.60 และ 0.66 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 24 *V. angularis* สายพันธุ์ 40 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 กลุ่มที่ 6 มีค่า Rf เป็น 0.26 0.48 0.60 0.66 และ 0.76 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 และ 51 กลุ่มที่ 7 มีค่า Rf เป็น 0.26 0.48 0.66 และ 0.76 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 กลุ่มที่ 8 มีค่า Rf เป็น 0.66 และ 0.76 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 กลุ่มที่ 9 มีค่า Rf เป็น 0.13 และ 0.88 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 47 กลุ่มที่ 10 มีค่า Rf เป็น 0.13 0.50 0.58 0.76 และ 0.88 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 74 กลุ่มที่ 11 มีค่า Rf เป็น 0.26 0.48 0.58 0.66 และ 0.76 ได้แก่ *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 กลุ่มที่ 12 มีค่า Rf เป็น 0.63 ได้แก่ *V. radiata* พันธุ์กำแพงแสน 1 กลุ่มที่ 13 มีค่า Rf เป็น 0.50 ได้แก่ *V. radiata* พันธุ์กำแพงแสน 2 กลุ่มที่ 14 มีค่า Rf เป็น 0.26 และ0.50 ได้แก่ *V. mungo* พันธุ์พิษณุโลก 2 และกลุ่มที่ 15 มีค่า Rf เป็น 0.26 0.50 0.58 และ 0.63 ได้แก่ *V. mungo* พันธุ์อู่ทอง 2

2.3 การศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ MDH ที่สกัดจากเมล็ด ดังแสดงในภาพที่ 6 พบว่า เกิดแถบในทุกสายพันธุ์ โดยมีจำนวนแถบทั้งหมด 7 แถบ และจากแถบที่ปรากฏสามารถแบ่งพืชสกุล *Vigna* 24 สายพันธุ์ได้ 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีค่า Rf เป็น 0.44 0.66 และ 0.72 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ทั้ง 4 สายพันธุ์ *V. radiata* ทั้ง 2 สายพันธุ์ และ *V. mungo* ทั้ง 2 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 มีค่า Rf เป็น 0.42 และ 0.60 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 18 *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 24 51 *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 44 *V. angularis* สายพันธุ์ 40 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 กลุ่มที่ 3 มีค่า Rf เป็น 0.48 และ 0.70 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 54 *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 *V. trinervia* สายพันธุ์ 74 และ *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 กลุ่มที่ 4 มีค่า Rf เป็น 0.48 ได้แก่ *V. umbellata* ทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่เหลือ และกลุ่มที่ 5 มีค่า Rf เป็น 0.70 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 47

ชนิดของ	ค่า	ไซโมแกรมของพืชสกุล *Vigna* / สายพันธุ์ที่																						
เอนไซม์	Rf	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
PER	0.18	--	--	--	--	--	--		--	--															
(ใบ)	0.22							--			--	--	--	--	--	--		--	--	--	--				
	0.27	--	--	--	--	--	--		--	--															
	0.54							--			--											--			
	0.60	--	--	--	--	--	--		--	--			--							--					
	0.64							--			--	--	--	--	--	--		--	--		--		--	--	--
	0.69	--	--	--	--	--	--		--	--		--		--					--						
	0.76														--					--					
PER	0.10					--	--		--	--															
(ต้น)	0.20	--	--	--	--										--	--									
	0.44							--			--							--						--	--
	0.48	--	--	--	--	--	--		--	--															
	0.50														--	--									
	0.54	--	--	--	--			--			--							--						--	--
	0.56																		--		--				
	0.58	--	--	--	--																		--		
	0.62	--				--	--		--	--						--				--		--			
	0.67							--			--														--
	0.70											--	--	--	--	--			--	--					
	0.74	--	--	--	--																				
	0.76												--		--	--		--	--		--				
	0.82															--									
	0.88											--	--	--					--	--					
	0.98												--		--	--			--						
PER	0.13							--			--						--	--							
(ราก)	0.26											--	--	--	--				--	--	--			--	--
	0.28					--	--		--	--															
	0.36	--	--	--	--																				
	0.48								--	--		--	--	--	--					--	--	--			
	0.50							--			--							--					--	--	--
	0.58																	--	--						--
	0.60											--	--	--						--	--				
	0.63							--			--											--			--
	0.66	--	--	--	--	--	--		--	--		--	--	--	--	--			--	--	--				
	0.70	--	--	--	--																				
	0.76					--	--	--	--	--	--		--	--	--	--		--	--						
	0.84					--	--		--	--															
	0.88																--	--							

ภาพที่ 5 แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะไซโมแกรมของเอนไซม์ peroxidase ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ โดยหมายเลขสายพันธุ์อ้างตามตารางที่ 4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

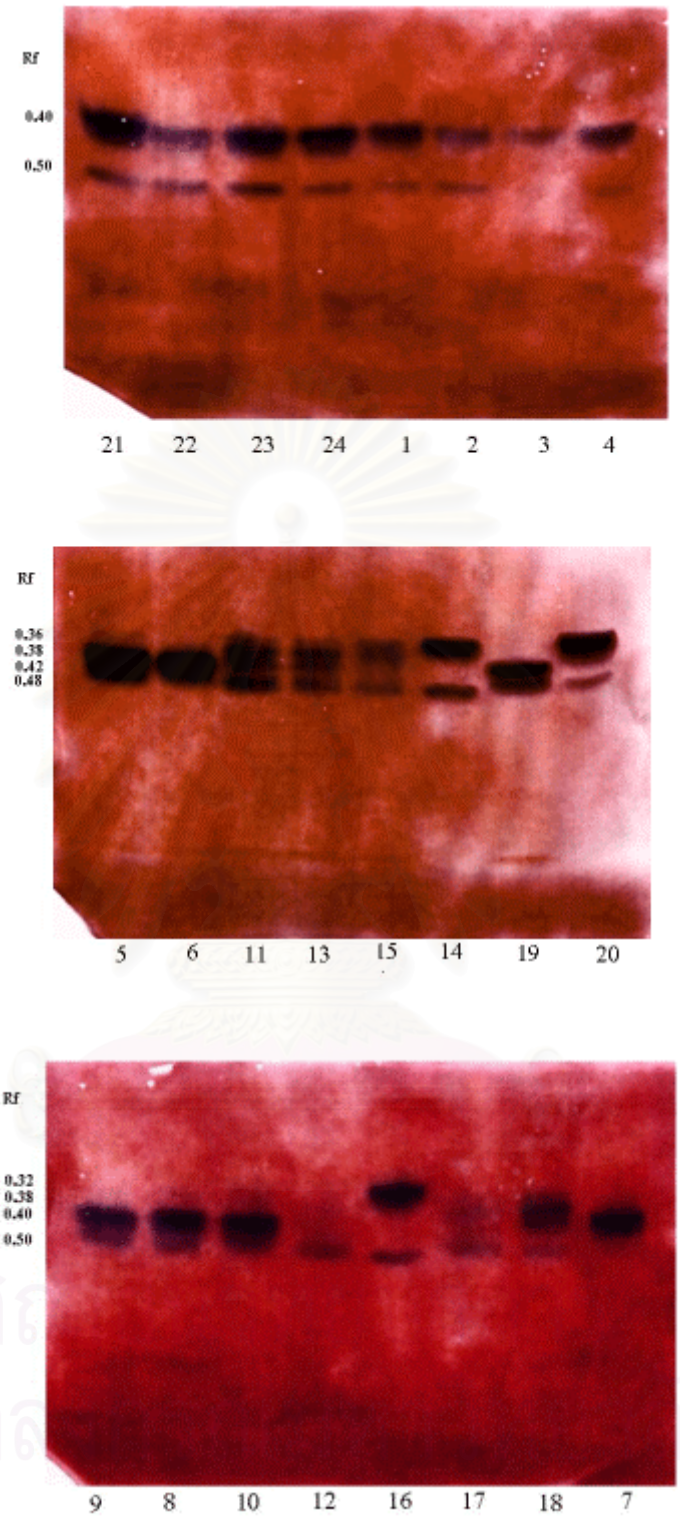
ชนิดของเอนไซม์	ค่า Rf	ไซโมแกรมของพืชสกุล *Vigna* / สายพันธุ์ที่																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
MDH	0.42					--	--					--		--	--	--				--	--				
(เมล็ด)	0.44	--	--	--	--																	--	--	--	--
	0.48							--	--	--	--		--					--	--						
	0.6					--	--					--		--	--	--				--	--				
	0.66	--	--	--	--																	--	--	--	--
	0.7									--			--				--	--	--						
	0.72	--	--	--	--																	--	--	--	--

ภาพที่ 6 แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะไซโมแกรมของเอนไซม์ malate dehydrogenase ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ โดยหมายเลขสายพันธุ์อ้างตามตารางที่ 4

2.4 การศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ GOT ที่สกัดจากเมล็ด ดังแสดงในภาพที่ 7 และ 8 พบว่าเกิดแถบชัดเจนดีในทุกสายพันธุ์โดยเกิดแถบทั้งหมด 7 แถบ และจากแถบที่ปรากฏสามารถแบ่งพืชสกุล *Vigna* 24 สายพันธุ์ได้ 8 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีค่า Rf เป็น 0.40 และ 0.50 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ทั้ง 4 สายพันธุ์ *V. radiata* ทั้ง 2 สายพันธุ์ และ *V. mungo* ทั้ง 2 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 มีค่า Rf เป็น 0.42 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 18 และ *V. angularis* สายพันธุ์ 40 กลุ่มที่ 3 มีค่า Rf เป็น 0.40 ได้แก่ *V. umbellata* ทั้ง 4 สายพันธุ์ที่เหลือ กลุ่มที่ 4 มีค่า Rf เป็น 0.36 0.38 และ 0.48 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 24 51 และ *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 กลุ่มที่ 5 มีค่า Rf เป็น 0.50 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 และ *V. trinervia* สายพันธุ์ 74 กลุ่มที่ 6 มีค่า Rf เป็น 0.36 และ 0.48 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 กลุ่มที่ 7 มีค่า Rf เป็น 0.32 และ 0.50 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 47 และ กลุ่มที่ 8 มีค่า Rf เป็น 0.38 และ0.50 ได้แก่ *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160

ชนิดของเอนไซม์	ค่า Rf	ไซโมแกรมของพืชสกุล *Vigna* / สายพันธุ์ที่																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
GOT	0.32																--								
(เมล็ด)	0.36											--		--	--	--					--				
	0.38											--		--		--			--						
	0.4	--	--	--	--			--	--	--	--											--	--	--	--
	0.42					--	--													--						
	0.48											--		--	--	--					--				
	0.5	--	--	--	--								--				--	--	--			--	--	--	--

ภาพที่ 7 แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะไซโมแกรมของเอนไซม์ glutamate-oxaloacetate amino peptidaseในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์



ภาพที่ 8 รูปแบบแถบของเอนไซม์ glutamate-oxaloacetate amino peptidase ที่สกัดจากเมล็ด ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ โดยหมายเลขสายพันธุ์อ้างตามตารางที่ 4

2.5 การศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ SDH ที่สกัดจากเมล็ด ดังแสดงในภาพที่ 9 พบว่า ส่วนมากเกิดแถบ ยกเว้น *V. umbellata* สายพันธุ์ 18 ที่ไม่เกิดแถบ โดยเกิดแถบทั้งหมด 7 แถบ และจากแถบที่ปรากฏสามารถแบ่งพืชสกุล *Vigna* 23 สายพันธุ์ได้ 8 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีค่า Rf เป็น 0.42 และ 0.44 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ทั้ง 4 สายพันธุ์ *V. radiata* พันธุ์กำแพงแสน 2 และ *V. mungo* ทั้ง 2 พันธุ์ กลุ่มที่ 2 มีค่า Rf เป็น 0.50 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 55 และ *V. angularis* สายพันธุ์ 40 กลุ่มที่ 3 มีค่า Rf เป็น 0.40 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 54 กลุ่มที่ 4 มีค่า Rf เป็น 0.48 และ 0.50 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 51 และ *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 กลุ่มที่ 5 มีค่า Rf เป็น 0.40 และ 0.44 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* ทั้ง 3 สายพันธุ์ *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 44 และ 47 กลุ่มที่ 6 มีค่า Rf เป็น 0.48 และ 0.52 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 74 กลุ่มที่ 7 มีค่า Rf เป็น 0.38 และ 0.40 ได้แก่ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 และกลุ่มที่ 8 มีค่า Rf เป็น 0.44 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 และ *V. radiata* พันธุ์กำแพงแสน 1

ชนิดของเอนไซม์	**ค่า Rf**	**ไซโมแกรมของพืชสกุล *Vigna* / สายพันธุ์ที่**																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
SDH (เมล็ด)	0.38																				--				
	0.4									--		--	--	--	--	--	--				--				
	0.42	--	--	--	--																		--	--	--
	0.44	--	--	--	--			--				--	--	--	--	--	--					--	--	--	--
	0.48								--									--	--						
	0.5					--			--		--								--	--					
	0.52																	--							

ภาพที่ 9 แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะไซโมแกรมของเอนไซม์ shikimate dehydrogenase ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ โดยหมายเลขสายพันธุ์อ้างตามตารางที่ 4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.6 การศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ 6 PGDH ที่สกัดจากเมล็ด ดังแสดงในภาพที่ 10 พบว่าส่วนมากเกิดแถบ ยกเว้น *V. trinervia* สายพันธุ์ 74 ที่ไม่เกิดแถบ โดยเกิดแถบทั้งหมด 4 แถบ และจากแถบที่ปรากฏสามารถแบ่งพืชสกุล *Vigna* 23 สายพันธุ์ ได้ 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 มีค่า Rf เป็น 0.40 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ทั้ง 4 สายพันธุ์ *V. trinervia* สายพันธุ์ 47 *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 *V. radiata* ทั้ง 2 สายพันธุ์ และ *V. mungo* ทั้ง 2 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 มีค่า Rf เป็น 0.42 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 และ 18 กลุ่มที่ 3 มีค่า Rf เป็น 0.32 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 51 54 55 และ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 กลุ่มที่ 4 มีค่า Rf เป็น 0.42 และ 0.45 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 24 51 และ *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 และกลุ่มที่ 5 มีค่า Rf เป็น 0.45 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 *V. angularis* สายพันธุ์ 40 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83

ชนิดของเอนไซม์	ค่า Rf	ไซโมแกรมของพืชสกุล *Vigna* / สายพันธุ์ที่																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
6PGDH (เมล็ด)	0.32								--	--	--		--												
	0.4	--	--	--	--			--									--		--			--	--	--	--
	0.42					--	--					--		--		--									
	0.45											--		--	--	--				--	--				

ภาพที่ 10 แผนภาพการเปรียบเทียบลักษณะไซโมแกรมของเอนไซม์ 6-phosphogluconate dehydro genase ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ โดยหมายเลขสายพันธุ์อ้างตามตารางที่ 4

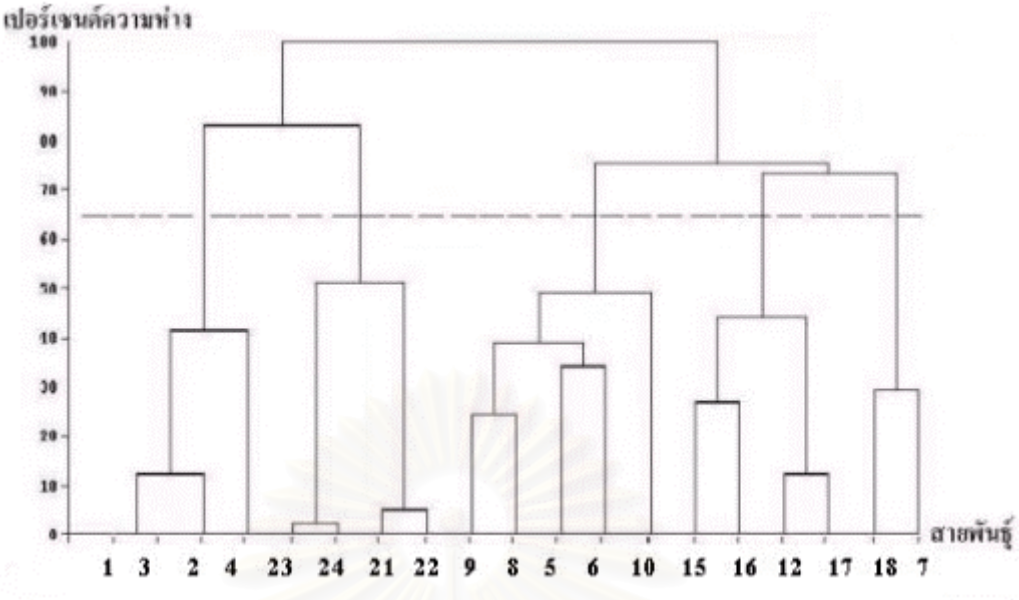
3. การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยมัลติวาเรียต วิธีคลัสเตอร์

3.1 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังแสดงในภาพที่ 11 พบว่า มี 5 สายพันธุ์ คือ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 24 51 *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 *V. angularis* สายพันธุ์ 40 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 ที่ไม่สามารถบันทึกผลได้ครบทุกระยะการเจริญเติบโต ดังนั้นในการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจึงสามารถจัดกลุ่มพืชในสกุล *Vigna* ที่ศึกษาได้ 19 สายพันธุ์ที่สามารถบันทึกผลได้ครบทุกระยะการเจริญเติบโตเท่านั้น โดยสามารถแบ่งกลุ่มได้ 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ทั้ง 4 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ *V. mungo* ทั้ง 2 สายพันธุ์ และ *V. radiata* ทั้ง 2 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 3 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 18 51 54 และ 55 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 74 และ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 และ กลุ่มที่ 5 ได้แก่ *V. glabrescens* สายพันธุ์ V 1160 และ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 โดยมีค่าความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความห่างกับสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงเป็น 0.92 (ดังแสดงการคำนวณในภาคผนวก)

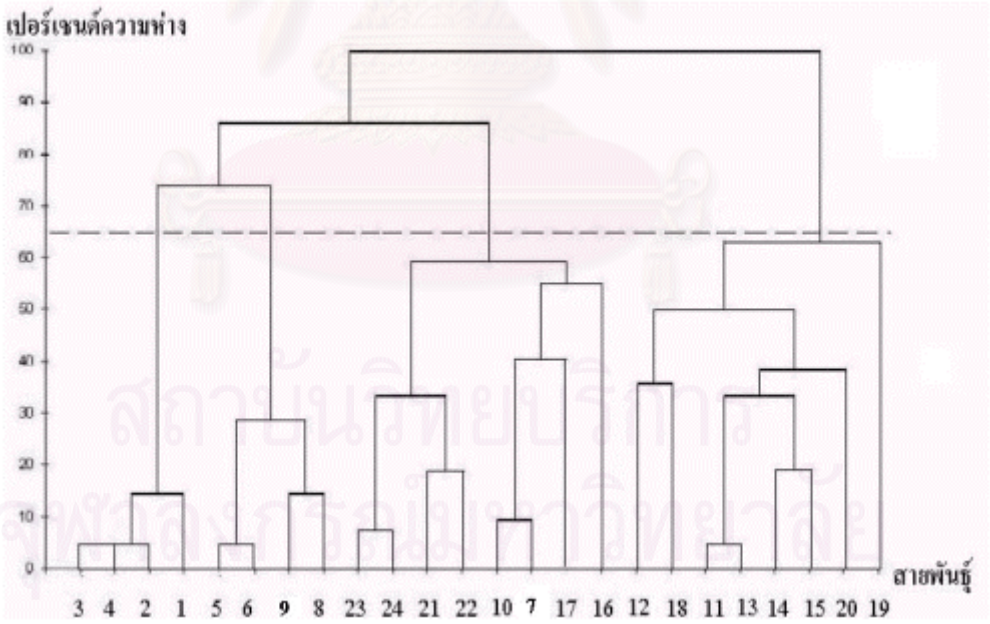
3.2 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ 6 ระบบ ดังแสดงในภาพที่ 12 พบว่าสามารถจัดกลุ่มพืชที่ศึกษาทั้ง 24 สายพันธุ์ได้เป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ทั้ง 4 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 18 51 และ 54 กลุ่มที่ 3 ได้แก่ *V. mungo* ทั้ง 2 สายพันธุ์ *V. radiata* ทั้ง 2 สายพันธุ์ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 55 *V. trinervia* สายพันธุ์ 47 และ 74 และกลุ่มที่ 4 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* ทั้ง 3 สายพันธุ์ *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 44 *V. angularis* สายพันธุ์ 40 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 โดยมีค่าความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความห่างกับสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงเป็น 0.85 (ดังแสดงการคำนวณในภาคผนวก)

3.3 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับรูปแบบไอโซไซม์ ดังแสดงในภาพที่ 13 จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า มีพืชสกุล *Vigna* 19 สายพันธุ์เท่านั้นที่สามารถบันทึกผลได้ครบทุกระยะการเจริญเติบโต ดังนั้นในการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมร่วมกับรูปแบบของแถบไอโซไซม์จึงสามารถจัดกลุ่มพืชสกุล *Vigna* ได้เพียง 19 สายพันธุ์ โดยสามารถจัดกลุ่มได้ 5 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* ทั้ง 4 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ *V. mungo* ทั้ง 2 สายพันธุ์ และ *V. radiata* ทั้ง 2 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 3 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 17 18 51 54 และ 55 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 26 *V. trinervia* สายพันธุ์ 44 47 และ 74 และกลุ่มที่ 5 ได้แก่ *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 และ *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 โดยมีค่าความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความห่างกับสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงเป็น 0.89 (ดังแสดงการคำนวณในภาคผนวก)

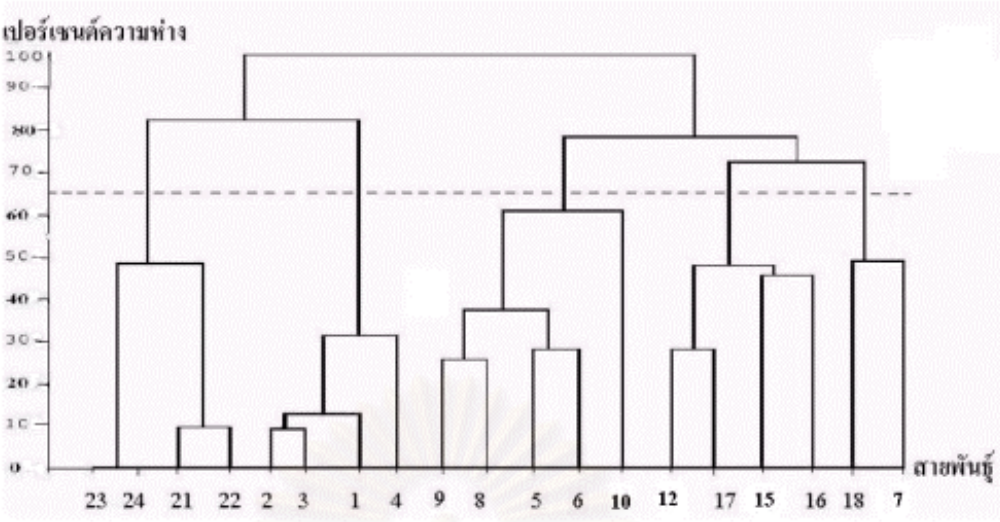
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 11 การรวมกลุ่มของพืชสกุล *Vigna* 7 ชนิด รวม 19 สายพันธุ์ ด้วยการจัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ วิธี UPGMA จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยหมายเลขสายพันธุ์อ้างตามตารางที่ 4



ภาพที่ 12 การรวมกลุ่มของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ ด้วยการจัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ วิธี UPGMA จากรูปแบบไอโซไซม์ โดยหมายเลขสายพันธุ์อ้างตามตารางที่ 4



ภาพที่ 13 การรวมกลุ่มของพืชสกุล *Vigna* 7 ชนิด รวม 19 สายพันธุ์ ด้วยการจัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ วิธี UPGMA จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา และรูปแบบไอโซโซม์ โดยหมายเลขสายพันธุ์อ้างตามตารางที่ 4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิดรวม 24 สายพันธุ์ โดยเป็น *V. mungo* var. *silvestris* 4 สายพันธุ์ *V. umbellata* 6 สายพันธุ์ *V. reflexo-plosa* 3 สายพันธุ์ *V. trinervia* 4 สายพันธุ์ *V. angularis* 1 สายพันธุ์ *V. glabrescens* 1 สายพันธุ์ *V. aconitifolia* 1 สายพันธุ์ *V. radiata* 2 สายพันธุ์ และ *V. mungo* 2 สายพันธุ์ โดยศึกษาใน 5 ระยะการเจริญเติบโต คือ ระยะใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง 5 ลักษณะ ระยะใบที่เกิดจากข้อที่ 4 แผ่กว้าง 7 ลักษณะ ระยะเริ่มออกดอก 3 ลักษณะ ระยะเริ่มสุกแก่ 4 ลักษณะ และระยะเก็บเกี่ยว 11 ลักษณะ รวมทั้งหมด 30 ลักษณะ พบว่า มี 5 สายพันธุ์ คือ *V. reflexo-pilosa* สายพันธุ์ 24 51 *V. trinervia* สายพันธุ์ 17 *V. angularis* สายพันธุ์ 40 และ *V. aconitifolia* สายพันธุ์ 83 ที่ไม่สามารถบันทึกผลได้ครบทุกระยะการเจริญเติบโต เนื่องจากในระหว่างการปลูกพืชดังกล่าวตายก่อนที่จะถึงระยะเริ่มออกดอก และในการบันทึกผลของลักษณะทางสัณฐานวิทยานี้ต้องการบันทึกผลของลักษณะต่างๆของพืชทุกสายพันธุ์ในช่วงเวลาการปลูกเดียวกัน เพื่อให้ปัจจัยของสิ่งแวดล้อมที่มาเกี่ยวข้อง เช่น ระยะเวลาการได้รับแสง ปริมาณน้ำ อุณหภูมิ เป็นต้น ที่พืชทุกสายพันธุ์ได้รับเหมือนกัน เนื่องจากปัจจัยของสิ่งแวดล้อมมีผลทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แสดงออกมาแตกต่างกันได้ (Krutoyskii และ Bergmann, 1995) ดังนั้นจึงรอปลูกพืชทุกสายพันธุ์ซ้ำพร้อมกัน และเมื่อปลูกซ้ำได้ระยะหนึ่ง พบว่าเกิดปัญหาฝนตกหนักจนเกิดน้ำท่วมแปลงปลูกทำให้พืชทั้ง 5 สายพันธุ์ดังกล่าวตายก่อนที่จะถึงระยะเริ่มออกดอกเช่นเดิม จึงไม่สามารถบันทึกผลได้ครบทุกระยะการเจริญเติบโตได้

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า ลักษณะการงอกเป็นลักษณะที่ใช้ในการจำแนกพันธุ์ได้ โดยแบ่งพืชที่ศึกษาได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* *V. mungo* *V. radiata* และ *V. aconitifolia* ซึ่งมีลักษณะการงอกแบบ epigeal และกลุ่มที่ 2 ได้แก่ *V. umbellata* *V. reflexo-pilosa* *V. trinervia* *V. glabrescens* และ *V. angularis* ซึ่งมีลักษณะการงอกแบบ hypogeal เช่นเดียวกับการศึกษาของ Meakawa (1955) และ Tateishi (1996) แต่การจัดจำแนกจากลักษณะการงอกนี้เป็นเพียงการจำแนกเบื้องต้นที่สะดวกเท่านั้น สำหรับการศึกษาใน *V. mungo* var. *silvestris* สายพันธุ์ TC2211 พบว่ามีลักษณะการงอกแบบ epigeal สีไฮโปคอทิลสีม่วง รูปร่างใบจริงแบบ ovate-lanceolate อายุวันดอกแรกบาน 35 วัน และการศึกษาใน *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 พบว่ามีลักษณะการงอกแบบ hypogeal รูปร่างใบจริงแบบ ovate สอดคล้องกับการ

ศึกษาของสุมนา งามผ่องใส (2540) แต่การศึกษาใน *V. glabrescens* สายพันธุ์ V1160 พบว่ามีรูปร่างใบย่อยของใบประกอบข้อที่ 4 แบบ ovate อายุวันดอกแรกบาน 115 วัน และเมล็ดสีน้ำตาล แตกต่างจากสุมนา งามผ่องใส (2540) ที่รายงานว่า รูปร่างใบย่อยของใบประกอบข้อที่ 4 เป็นแบบ cuneate อายุดอกแรกบาน 106 วัน และเมล็ดสีดำ ส่วนการศึกษาใน *V. radiata* ทั้ง 2 พันธุ์ พบว่า มีสีไฮโปคอทิลสีเขียว รูปร่างใบย่อยของใบประกอบข้อที่ 4 แบบ ovate ในระยะใบประกอบข้อที่ 4 แผ่กว้างมีสีลำต้นสีเขียว ก้านใบสีเขียว และติดฝักกับก้านช่อดอกแบบห้อยลง สอดคล้องกับการศึกษาของธีระพล ศิลกุล (2536) ซึ่งวิไลวรรณ ทองศรี จรัสพร ถาวรสุข และ นิรัตน์ วานิชวัฒนรำลึก (2528) รายงานว่าสามารถใช้สีก้านใบเป็นลักษณะที่ใช้ในการจำแนกพันธุ์ได้

การศึกษาปริมาณขนที่ฝักพบว่า *V. mungo* var. *silvestris* และ *V. mungo* มีขนยาวปกคลุมฝักอย่างหนาแน่น ซึ่งแตกต่างจาก *V. radiata* ที่มีขนสั้น และมีปริมาณขนที่ปกคลุมฝักปานกลาง และ *V. umbellata* ที่ไม่มีขนที่ฝักหรือมีขนสั้น ๆ โดยปริมาณขนที่ปกคลุมฝักปานกลาง จึงทำให้สามารถใช้ลักษณะปริมาณขนที่ฝักนี้ในการจำแนกพืชทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Tateishi (1996)

ในการจำแนกพันธุ์ควรใช้ลักษณะทางคุณภาพ เพราะสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะเหล่านี้น้อย เช่นสีไฮโปคอทิล และสีก้านใบ เนื่องจากการแสดงออกเกิดจากอิทธิพลของพันธุกรรมเป็นส่วนใหญ่ (Sen และ Ghosh, 1960) อย่างไรก็ตามยังมีลักษณะทางปริมาณบางลักษณะที่สังเกตได้เด่นชัด เช่น อายุวันดอกแรกบาน อายุวันฝักแรกแก่ ที่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกได้ซึ่งธีระพล ศิลกุล (2536) รายงานว่าลักษณะที่สามารถใช้เป็นลักษณะประจำพันธ์ได้ คือ สีของข้อแรก สีของไฮโปคอทิล สีก้านใบ สีกลีบเลี้ยง รูปร่างของใบประกอบ อายุวันออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์ อายุวันฝักแรกแก่ ลักษณะการชูช่อฝัก ลักษณะการติดฝักกับก้านช่อดอก รูปร่างของฝัก ลักษณะด้านตัดขวางของฝัก น้ำหนักเมล็ด ความสูงเมื่ออายุ 7 วัน และเมื่อเก็บเกี่ยว

การนำข้อมูลของการทดลองในครั้งนี้ไปใช้ในการจำแนกพืชสกุล *Vigna* ทั้ง 24 สายพันธุ์นี้ ควรใช้หลายลักษณะที่สังเกตได้ร่วมกัน และควรคำนึงถึงสภาพแวดล้อม เนื่องจากการแสดงออกของลักษณะต่างๆ อาจผันแปรเนื่องจากสิ่งแวดล้อม หรือปฏิกิริยาระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อม ความผันแปรนี้ทำให้ข้อมูลต่างๆที่ได้จากสภาพแวดล้อมหนึ่งไม่สามารถที่จะนำมาใช้ยังสิ่งแวดล้อมอีกที่หนึ่งได้ การลดความผันแปรอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาระหว่างพันธุกรรม และสิ่งแวดล้อมทำได้โดยนำข้อมูลที่ได้ไปใช้กับสิ่งแวดล้อมที่คล้ายๆกับสิ่งแวดล้อมที่ทดลอง

2. การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ด้วยเทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิส แบบโพลิอะคริลาไมด์ เจล

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ 6 ระบบ ในพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ พบว่า แต่ละไอโซไซม์ให้แถบชัดเจน โดยมีความเข้มของแถบสีแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งเอนไซม์ที่เกิดแถบชัดเจนในทุกสายพันธุ์ และสามารถใช้จำแนกความแตกต่างของพืชที่ศึกษาได้ คือ เอนไซม์ PER ที่สกัดจากราก ต้น ใบ เอนไซม์ EST ที่สกัดจากใบ ต้น เอนไซม์ SDH ที่สกัดจากเมล็ด เอนไซม์ MDH ที่สกัดจากเมล็ด เอนไซม์ 6PGDH ที่สกัดจากเมล็ด และเอนไซม์ GOT ที่สกัดจากเมล็ด ซึ่งในการศึกษานี้ เอนไซม์ PER ให้แถบชัดเจนที่สุด เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในเซลล์พืชทั้งในไซโตพลาสซึม และผนังเซลล์ เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเคมี และกระบวนการทางเคมีหลายอย่างภายในเซลล์ (เสริมศิริ เมธีวรกุล, 2536) และจากการศึกษาเอนไซม์ EST ที่สกัดจากราก พบว่ามีเพียง 8 สายพันธุ์เท่านั้นที่เกิดแถบ อาจเนื่องจากที่รากที่อายุ 8 วันนับจากวันที่งอกนั้นมีปริมาณเอนไซม์ EST น้อยไม่เพียงพอจึงไม่สามารถตรวจสอบได้ หรือเอนไซม์เสื่อมสลายไประหว่างการสกัดจึงตรวจสอบไม่พบ ดังนั้นอาจต้องมีการเปลี่ยนเนื้อเยื่อที่นำมาสกัดเอนไซม์เพื่อให้เกิดแถบชัดเจนขึ้น ซึ่งจากการศึกษาของธีระพล ศิลกุล (2536) พบว่า รูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ EST ในถั่วเขียวพันธุ์ส่งเสริมที่สกัดจากใบเลี้ยง ให้แถบชัดเจนดี นอกจากนี้ยังพบว่า การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ EST และ PER ที่สกัดจากราก ต้น และใบ ในสายพันธุ์เดียวกันเกิดแถบไม่เหมือนกัน เมื่อศึกษาจากเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน ซึ่งดวงพร วรสุนทโรสถ (2534) รายงานว่า รูปแบบไอโซไซม์มีความแตกต่างกันได้ขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อ ระยะการพัฒนา ชนิดพืช เป็นต้น เช่นเดียวกับพรทิพย์ วงศ์แก้ว (2533) รายงานว่า เอนไซม์ PER มีหน้าที่แตกต่างกันในขบวนการเมตะโบลิซึมของเซลล์ ขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่อยู่ภายในเซลล์ สอดคล้องกับการศึกษาของชวนพิศ อรุณรังสิกุล และคณะ (2539) ที่ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ในถั่วเขียว รายงานว่าแต่ละชิ้นส่วนพืชที่ใช้สกัดเพื่อหาปฏิกิริยาของเอนไซม์ให้ผลความคมชัด และตำแหน่งของแถบแตกต่างกัน และอายุของชิ้นส่วนพืชมีผลต่อความชัดเจนของแถบในแต่ละเอนไซม์ โดยในชิ้นส่วนต้นที่อายุ 10 วัน ราก 8 วัน และ10 วัน ใบจริง 8 วัน และใบเลี้ยง 8 วัน เกิดแถบชัดเจนเมื่อศึกษาในเอนไซม์ PER แต่ไม่ชัดเจนเมื่อศึกษาในเอนไซม์ EST และ GOT

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ 6 ระบบ พบว่า พืชในชนิดเดียวกันโดยมากจะมีตำแหน่งของแถบเหมือนกัน แต่มีบางเอนไซม์ที่พืชชนิดเดียวกันแสดงตำแหน่งแถบต่างกัน ซึ่งรูปแบบไอโซไซม์สามารถแสดงความแตกต่างในระหว่างสายพันธุ์ได้ โดยไม่จำเป็นว่าพืชต่างสายพันธุ์นั้นจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แสดงออกมาแตกต่างกันหรือไม่ เนื่องจากความแตกต่างทางเคมีมีมากกว่าความแตกต่างทางสัณฐานวิทยา (เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์, 2531) เช่นการศึกษาใน *V. umbellata* พบว่า โดยมากแสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกัน ยกเว้นสายพันธุ์ 43

ที่แสดงลักษณะที่แตกต่างออกไปอย่างชัดเจน แต่ในสายพันธุ์ที่แสดงลักษณะคล้ายกันนั้น เมื่อศึกษาจากรูปแบบไอโซไซม์ พบว่า มีบางสายพันธุ์เกิดแถบแตกต่างออกไป

นอกจากนี้ยังพบว่าภายในชนิดเดียวกัน ในแต่ละสายพันธุ์อาจมีความเข้มของแถบสีแตกต่างกัน ความเข้มของแถบสีนี้เป็นความแปรผันทางปริมาณ ซึ่งขึ้นอยู่กับเนื้อเยื่อที่ใช้สกัด ทำให้ปริมาณที่ได้แตกต่างกัน ดังนั้นไม่ควรใช้ความเข้มของแถบสี แต่ควรใช้จำนวนแถบสี (ปนัดดา แย้มเกตุ, 2530) และตำแหน่งของแถบสีในการจำแนกมากกว่า (Tomooka และคณะ, 1991) เพราะว่าจำนวนและตำแหน่งของแถบสีเป็นลักษณะทางคุณภาพ มีความคงตัวในสิ่งแวดล้อมมากกว่าความเข้มของแถบสี และการแปลผลจากบริเวณที่มีแถบสีชัดเจน และเป็นแถบสีหลักจะช่วยให้สังเกตได้ง่าย และลดความผิดพลาดลงได้ เช่น การแปลผลในเอนไซม์ LAP ในพืชสกุล *Vigna* จะพิจารณาเป็นบริเวณ โดยเรียกบริเวณที่พิจารณาเป็น บริเวณ A เปรียบเทียบกัน ซึ่งจะมีแถบเพียงไม่กี่แถบ (Egawa และคณะ, 1996) แต่ในการศึกษาในครั้งนี้จะพิจารณาทุกตำแหน่งที่เกิดแถบ เนื่องจากถ้าพิจารณาเพียงบริเวณ พบว่าที่บริเวณเดียวกัน อาจไม่มีแถบเกิดในทุกสายพันธุ์ ซึ่งจะเปรียบเทียบไม่ได้

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ และการแบ่งกลุ่มพืชตามตำแหน่งของแถบในเอนไซม์ EST ที่สกัดจากราก ต้น และใบ เอนไซม์ 6 PGDH SDH GOT และ MDH ที่สกัดจากเมล็ด พบว่า พืชบางสายพันธุ์ในชนิด *V. reflexo-pilosa* และ *V. trinervia* แสดงตำแหน่งของแถบเหมือนกัน โดยการศึกษาในเอนไซม์ EST ที่สกัดจากต้น และเอนไซม์ 6PGDH ที่สกัดจากเมล็ดพบว่าพืชบางสายพันธุ์ในชนิด *V. trinervia* แสดงตำแหน่งของแถบเหมือนกับ *V. glabrescens* การศึกษาในเอนไซม์ PER ที่สกัดจากใบพบว่า พืชบางสายพันธุ์ในชนิด *V. reflexo-pilosa* แสดงตำแหน่งของแถบเหมือนกับ *V. glabrescens* และการศึกษาในเอนไซม์ EST ที่สกัดจากราก และใบ และเอนไซม์ MDH ที่สกัดจากเมล็ด พบว่า พืชบางสายพันธุ์ในชนิด *V. reflexo-pilosa* *V. trinervia* และ *V.glabrescens* แสดงตำแหน่งของแถบเหมือนกัน ซึ่ง Egawa และคณะ (1996) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ 6PGDH GOT และ SDH ได้รายงานว่า *V. reflexo-pilosa* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกันอย่างใกล้ชิดกับ *V. glabrescens* นอกจากนี้ยังพบว่า *V. trinervia* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม azuki (Tateishi, 1996) แต่ก็แสดงแถบเหมือนพืชกลุ่ม mungbean แสดงว่า *V. trinervia* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมอยู่ระหว่างกลุ่ม azuki และกลุ่ม mungbean และสามารถใช้ *V. trinervia* เป็นตัวเชื่อม (bridge species) ระหว่างพืชทั้ง 2 กลุ่มนี้ได้

จากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ และการแบ่งกลุ่มพืชตามตำแหน่งของแถบในเอนไซม์ 6 PGDH GOT และ MDH ที่สกัดจากเมล็ด พบว่า *V. radiata* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีตำแหน่งแถบเหมือน

กับ *V. mungo* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ AVRDC (1982) ที่ศึกษาเกี่ยวกับการผสมข้ามชนิดของ ถั่วเขียวและรายงานว่าถั่วเขียวมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับถั่วเขียวผิวดำ

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ และการแบ่งกลุ่มพืชตามตำแหน่งของแถบในเอนไซม์ 6 PGDH SDH GOT และ MDH ที่สกัดจากเมล็ด พบว่า *V. mungo* var. *silvestris* ซึ่งเป็นพืชป่า มีตำแหน่งของแถบ เหมือนกับ *V. mungo* ที่เป็นพืชปลูกซึ่งแสดงว่ามีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกัน สอดคล้องกับรายงานของ Tomooka และคณะ (1995) ศึกษาการจัดจำแนกพืชป่าที่อยู่ในสกุล *Vigna* ด้วยการวิเคราะห์ RAPD รายงานว่า *V. mungo* var. *silvestris* มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับ *V. mungo*

จากการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ สามารถใช้รูปแบบไอโซไซม์ที่ได้บอกถึงลักษณะประจำพันธุ์ของพืชสกุล *Vigna* ได้เพียงบางสายพันธุ์เท่านั้น ในกรณีที่ไม่สามารถพิจรณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกได้ก็สามารถนำการศึกษาไอโซไซม์นี้มาช่วยได้ การที่สามารถใช้ไอโซไซม์มาช่วยได้เนื่องจากลักษณะที่แสดงออกของพืชทั้งทางด้านสัณฐานวิทยา และชีวเคมีภายในพืชถูกควบคุมโดยยีน หรือสารพันธุกรรม ซึ่งไอโซไซม์ถือว่าเป็นลักษณะทางชีวเคมีของพืช ถึงแม้ว่าลักษณะภายนอกที่ปรากฏไม่แตกต่างกัน แต่ในพืชต่างสายพันธุ์ก็ย่อมมีลักษณะทางชีวเคมีต่างกัน ดังนั้นจึงสามารถนำรูปแบบไอโซไซม์ที่มีลักษณะเฉพาะตัวใช้ในการจำแนกพันธุ์พืชได้(Thom และ Maretzki, 1970 ; เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์, 2531)

3. การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยมัลติวาเรียต วิธีคลัสเตอร์

3.1 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา 30 ลักษณะ ใน *V.mungo* var. *silvestris* 4 สายพันธุ์ *V. umbellata* 6 สายพันธุ์ *V. reflexo-pilosa* 1 สายพันธุ์ *V. trinervia* 3 สายพันธุ์ *V. glabrescens* 1 สายพันธุ์ *V. radiata* 2 สายพันธุ์ *V. mungo* 2 สายพันธุ์ ด้วยการจัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์วิธี UPGMA พบว่า สามารถแบ่งกลุ่มพืชที่ศึกษาได้ 5 กลุ่ม และค่าความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความห่างกับสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงเป็น 0.92 ซึ่งแสดงว่าวิธีการสร้างกลุ่มวิธี UPGMA เป็นวิธีที่เหมาะสมในการจัดกลุ่ม

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม พบว่า *V. radiata* อยู่ในกลุ่มเดียวกับ *V. mungo* ซึ่งพืชทั้ง 2 ชนิดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกันมากที่สุด จึงจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน และมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกันสูง ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวด้วยการผสมข้ามชนิด

ด้วย *V. mungo* จะประสบผลสำเร็จสูง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sen และ Ghosh (1960) และ AVRDC (1979)

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่า พืชในกลุ่มของ *V. radiata* และ *V. mungo* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับพืชกลุ่มที่ 1 มากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ 4 และกลุ่มที่ 5 ตามลำดับ ซึ่งการถ่ายยีนจากแหล่งพันธุกรรมของพืชคนละชนิด โดยใช้พืชป่า ที่มีความสัมพันธ์กับพืชปลูกเพื่อเพิ่มแหล่งพันธุกรรมของลักษณะที่ต้องการต่าง ๆ เช่น ความต้านทานโรคและแมลง การอดทนต่อสภาพแวดล้อม ให้กับพืชปลูกจะช่วยให้ประสบผลสำเร็จสูงขึ้น โดยความสำเร็จในการผสมระหว่างชนิดขึ้นอยู่กับความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกัน ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวด้วยการผสมพันธุ์ข้ามชนิดควรเลือกคู่ผสมที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกัน

Tateishi (1996) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาในพืชสกุล *Vigna* 13 ลักษณะ เช่น ลักษณะ keel-pocket ลักษณะขนที่ฝัก ลักษณะการงอก ลักษณะก้านใบที่ใบแรก และใบที่ 2 เป็นต้น พบว่า *V. radiata* มีความใกล้ชิดกับ *V. trinervia* และ *V. mungo* ตามลำดับ ส่วน *V. glabrescens* จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *V. reflexo-pilosa* ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว สามารถใช้ *V. trinervia* เป็นพืชเชื่อมระหว่างกลุ่ม mungbean และ azuki ได้ เนื่องจาก *V. trinervia* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับพืชทั้ง 2 กลุ่ม

การจัดกลุ่มจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยจัดกลุ่มพืชที่ศึกษาให้เป็นหมวดหมู่ สามารถใช้ข้อมูลนี้เป็นส่วนหนึ่งในการจัดคู่ผสมพันธุ์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ได้ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ควรทดลองซ้ำ เพื่อยืนยันผลการทดลองในสภาพแปลงทดลองที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และเพิ่มจำนวนพืชที่ศึกษาก็จะได้ผลการทดลองที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

3.2 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากรูปแบบไอโซไซม์

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากรูปแบบไอโซไซม์ ด้วยการจัดกลุ่มแบบคลัสเตอร์ วิธี UPGMA พบว่า สามารถแบ่งกลุ่มพืชที่ศึกษาได้ 4 กลุ่ม และค่าความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความห่างกับสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงเป็น 0.85 ซึ่งแสดงว่าการสร้างกลุ่มวิธี UPGMA เป็นวิธีที่เหมาะสมในการจัดกลุ่ม แต่จำนวนกลุ่มที่ได้น้อย และไม่สามารถแบ่งกลุ่มพืชที่ศึกษาออกเป็นกลุ่มย่อยๆได้ ดังนั้นการนำข้อมูลจากรูปแบบไอโซไซม์มาจัดกลุ่มอาจเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสมนัก อาจต้องเพิ่มจำนวนเอนไซม์ที่ใช้ศึกษา หรือนำเทคนิคอื่นมาวิเคราะห์เพิ่ม

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากรูปแบบไอโซไซม์ พบว่า *V. radiata* มีความใกล้ชิดและอยู่ในกลุ่มเดียวกับ *V. mungo* *V. trinervia* สายพันธุ์ 47 74 *V. umbellata* สายพันธุ์ 43 และ 55 ตามลำดับ และมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับพืชในกลุ่มที่ 2 มากที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 4 ตามลำดับ ซึ่ง Egawa และคณะ (1996) ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในพืชสกุลย่อย *Ceratotropis* โดยการวิเคราะห์ไอโซไซม์พบว่าพืชในกลุ่มเดียวกันจะมีรูปแบบแถบเหมือนกัน คือเมื่อศึกษาจากเอนไซม์ 6PGDH พบว่าพืชในกลุ่ม mungbean ทุกชนิด แสดงรูปแบบแถบเหมือนกันเป็นแบบ a type ในขณะที่พืชในกลุ่ม azuki bean ที่เป็น diploid ยกเว้น *V. angularis* และ *V. trinervia* จะแสดงรูปแบบแถบเหมือนกันเป็นแบบ c type สำหรับเอนไซม์ GOT พบว่า พืชในกลุ่ม mungbean แสดงรูปแบบแถบเหมือนกันแบบ a type ขณะที่พืชที่เป็น diploid ในกลุ่ม azuki bean group ยกเว้น *V. trinervia* จะแสดงแถบแบบ c type ส่วน *V. trinervia* แสดงแถบเหมือนพืชในกลุ่ม mungbean คือ แสดงแถบแบบ a type ส่วนการศึกษาจากเอนไซม์ 6PGDH และ GOT ใน *V. reflexo-pilosa* และ *V. glabrescens* จะแสดงแถบแบบ b type ซึ่งเป็นรูปแบบระหว่าง a type และ c type

สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในพืชสกุลย่อย *Ceratotropis* โดยการวิเคราะห์ ไอโซไซม์ (Jaaska และ Jaaska, 1990) RAPD (Kaga และคณะ., 1996) และ RFLP (Kaga, 1996) ได้ผลการศึกษาและสามารถจัดกลุ่มพืชได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่กลุ่ม azuki bean ประกอบด้วย *V. angularis* *V. umbellata* *V. umbellata* var. *gracilis* *V. reflexo-pilosa* *V. nakashimae* *V. riukiuensis* กลุ่มที่ 2 ได้แก่กลุ่ม mungbean ประกอบด้วย *V. radiata* *V. radiata* var. *sublobata* *V. mungo* *V. mungo* var. *silvestris* และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ กลุ่ม V. aconitifolia group ประกอบด้วย *V. aconitifolia* นอกจากนี้ Kaga (1996) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยการวิเคราะห์ RFLP สามารถแบ่งพืชกลุ่มใหญ่ 3 กลุ่มได้เป็นกลุ่มย่อยได้อีก คือ กลุ่ม azuki สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มย่อยได้แก่ กลุ่มย่อยที่ 1 ได้แก่ *V. angularis* *V. umbellata* *V. hirtella* *V. nepalensis* กลุ่มย่อยที่ 2 ได้แก่ *V. minima* *V. riukiuensis* *V. nakashimae* และกลุ่มย่อยที่ 3 ได้แก่ *V. hirtella* *V. trinervia* *V. reflexo-pilosa* กลุ่ม mungbean สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มย่อยที่ 1 ได้แก่ *V. radiata* *V. radiata* var. *sublobata* *V. grandiflora* และ *V. subramaniana* และกลุ่มย่อยที่ 2 ได้แก่ *V. mungo* var. *silvestris* และ *V. mungo* ส่วนกลุ่ม V. aconitifolia มีเพียงกลุ่มเดียว คือ *V. aconitifolia* และ *V. stipulacea*

3.3 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับรูปแบบไอโซไซม์

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา 30 ลักษณะ จาก 5 ระยะการเจริญเติบโต และการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ 6 ระบบด้วยการจัดกลุ่มแบบ UPGMA สามารถจัดกลุ่มพืชได้ 5 กลุ่ม และค่าความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความห่างกับสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงเป็น 0.89 ซึ่งแสดงว่าการสร้างกลุ่มวิธี UPGMA เป็นวิธีที่เหมาะสมในการจัดกลุ่ม

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับรูปแบบไอโซไซม์ พบว่า สามารถแบ่งกลุ่มพืชได้สอดคล้องกับการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา แสดงว่าการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาก็น่าจะเพียงพอต่อการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม แต่เนื่องจากในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยานั้นใช้จำนวนพืชน้อยจึงยังไม่เหมาะสมที่จะนำข้อมูลเหล่านี้มาจัดกลุ่มเพียงอย่างเดียว จึงได้ใช้ข้อมูลจากรูปแบบของไอโซไซม์มาช่วย เพื่อให้ผลถูกต้องยิ่งขึ้น แต่ก็สามารถจัดกลุ่มพืชที่ศึกษาได้เพียงในระดับชนิดเท่านั้น ยังไม่สามารถจัดกลุ่มเพื่อแยกพืชในระดับสายพันธุ์ให้ออกจากกันได้ อาจต้องนำเทคนิควิธีอื่นเข้ามาช่วยเพิ่มเติมในการจัดกลุ่ม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 6

สรุปผลผลการศึกษา

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และจัดกลุ่มพืชสกุล *Vigna* 9 ชนิด รวม 24 สายพันธุ์ ด้วยการวิเคราะห์แบบคลัสเตอร์ โดยประเมินจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำนวน 30 ลักษณะ ใน 5 ระยะการเจริญเติบโตได้แก่ ระยะใบจริงคู่แรกแผ่กว้าง 5 ลักษณะ ระยะใบที่เกิดจากข้อที่ 4 แผ่กว้าง 7 ลักษณะ ระยะเริ่มออกดอก 3 ลักษณะ ระยะเริ่มสุกแก่ 4 ลักษณะ และระยะเก็บเกี่ยว 11 ลักษณะ และรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ EST PER MDH GOT SDH และ 6PGDH โดยสามารถสรุปผลการวิจัยได้ดังนี้

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งหมดที่ศึกษา เป็นประโยชน์ต่อการจัดกลุ่ม และจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ โดยแบ่งเป็นลักษณะทางคุณภาพ 19 ลักษณะ และลักษณะทางปริมาณ 11 ลักษณะ

2. จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถใช้ลักษณะในระยะการเจริญเติบโตเดียวเพื่อจำแนกสายพันธุ์ได้

3. จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยามีเพียง 19 สายพันธุ์เท่านั้น ที่สามารถบันทึกผลได้ครบทุกระยะ และเมื่อนำสายพันธุ์ดังกล่าวนี้มาจัดกลุ่มด้วยวิธีคลัสเตอร์ แบบ UPGMA สามารถแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม

4. การนำรูปแบบไอโซไซม์มาช่วยในการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม สามารถใช้เอนไซม์ EST PER SDH 6PGDH และ GOT เพื่อระบุความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ได้

5. จากการนำข้อมูลของรูปแบบไอโซไซม์มาจัดกลุ่มด้วยวิธีคลัสเตอร์ แบบ UPGMA สามารถจัดกลุ่มทั้ง 24 สายพันธุ์ได้ 4 กลุ่ม

6. วิธีการจัดกลุ่มพืชด้วยคลัสเตอร์ แบบ UPGMA เพื่อรวมกลุ่มพืชที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมไว้รวมกัน ควรใช้ข้อมูลจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับรูปแบบไอโซไซม์ ซึ่งแบ่งพืช 19 สายพันธุ์ที่บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาครบทุกระยะได้ 5 กลุ่ม แต่การรวมกลุ่มเป็นการรวมพืชชนิดเดียวกันไว้ด้วยกัน ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ได้

ปัญหาและอุปสรรค

1. ในการเก็บข้อมูลในแปลงทดลอง ต้องพบปัญหาปริมาณน้ำฝนมากจนทำให้พืชบางสายพันธุ์ตายไป ตลอดจนปริมาณน้ำฝนที่มากเกินไปนี้ ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แสดงออกมาคลาดเคลื่อนไป

2. การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ บางตัวอย่างได้สารสกัดเอนไซม์ในปริมาณน้อย ทำให้แถบไม่ชัดเจน

ข้อเสนอแนะ

1. ควรเพิ่มการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และจำนวนพืชที่ศึกษาให้มากขึ้น เพื่อยืนยันผลให้ชัดเจน

2. ควรเพิ่มจำนวนเอนไซม์ที่ศึกษามากขึ้น เพื่อการเปรียบเทียบ และยืนยันผลให้ชัดเจน

3. ควรทดลองโดยใช้เทคนิคอื่น นอกจากการศึกษาไอโซไซม์ เพื่อให้ได้ marker ที่เหมาะสมกับการใช้งานอย่างแท้จริง และสามารถแบ่งพืชได้เป็นกลุ่มย่อย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กัลยา วานิชย์บัญชา. 2544. **การวิเคราะห์ตัวแปรหลายตัวด้วย SPSS for Windows**. คณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โรงพิมพ์แห่งจุฬาฯ.

ชวนพิศ อรุณรังสิกุล, พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, เรวัติ เลิศฤทัยโยธิน, ศิริพร ชุมแสงโชติสกุล และพรศิริ แซ่เอี้ยว. 2539. **แบบแผนไอโซไซม์ในพันธุกรรมของไม้ไทย : ถั่วเขียว.** แบบรายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัย เพื่อสนันสนุนโครงการอนุรักษ์อันเนื่องมาจากพระราชดำริ กรุงเทพฯ.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2531. เอนไซม์และโปรตีนในพืช, น 14-16 ใน **เทคนิคทางอิเลคโตรโฟรีซิส ในการจำแนกพันธุ์พืช**. เอกสารประกอบการฝึกอบรมชมทางวิชาการ. ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ดวงพร วรสุนทโรสถ. 2534. เอนไซม์ในพืช กับการศึกษาและตรวจสอบสายพันธุ์, น 25-39. ใน **เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่อง ชีวเคมีทางเกษตร**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ปนัดดา แย้มเกตุ. 2530. **การศึกษาความแตกต่างระหว่าง peroxidase isozyme ของสายพันธุ์ถั่วเขียวที่คัดจาก VC1973A**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ธนิต ผิวนิ่ม. 2528. อิเลคโตรโฟรีซิส และไอโซอิเลคตริคโฟกัสซิง. น. 65-89 ใน **เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่อง การแยกสารทางชีวเคมี**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร กรุงเทพฯ.

ธีระพล ศิลกุล. 2536. **สัณฐานวิทยา ลักษณะทางพืชไร่ และผลการวิเคราะห์โดยอิเลคโตรโฟรีซิสของถั่วเขียวพันธุ์ส่งเสริม และสายพันธุ์เด่น.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรทิพย์ วงศ์แก้ว. 2533. **โรคพืชวิทยาชั้นสูง**. ภาควิชาโรคพืชวิทยา, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์. 2531.เทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิสในการจำแนกพันธุ์พืช, น. 17-33. ใน **เทคนิคอิเลคโตรโฟรีซิสในการจำแนกพันธุ์พืช.** เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการศูนย์ปฏิบัติการเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

วิไลวรรณ ทองศรี, จรัสพร ถาวรสุข และนิรัตน์ วานิชวัฒนรำลึก. 2528. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางการเกษตรของถั่วเขียวพันธุ์ต่าง ๆ ใน **รายงานผลงานวิจัย**

ปี 2528 (ฤดูแล้ง) ถั่วเขียว ถั่วเขียวผิวดำ. พืชไร่ในเขตชลประทาน ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, ชัยนาท.

สมยศ พิชิตพร. 2532. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว, น. 29-42. ใน **เอกสารประกอบการฝึกอบรมเรื่องการใช้เทคโนโลยีเพื่อเพิ่มผลผลิตถั่วเขียว, 5-9 มิถุนายน 2532**. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท , ชัยนาท.

สุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์ และกรรณิการ์ สุขเกษม. 2533. **การวิเคราะห์ปัจจัย และการวิเคราะห์จัดกลุ่ม**. โรงพิมพ์การพิมพ์กรุงเทพฯ. กรุงเทพฯ.

สุจิตรา จางตระกูล. 2535. หลักการและเทคนิคพื้นฐานในการศึกษาไอโซไซม์ เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ไม้ ใน **เอกสารประกอบการบรรยาย การฝึกอบรมการปรับปรุงพันธุ์ป่าไม้.** กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ.

สุมนา งามผ่องใส. 2540. **การผสมข้ามชนิดระหว่างถั่วเขียวกับถั่วในสกุล *Vigna* ร่วมกับการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

เสริมศิริ เมธีวรกุล. 2536. **ความสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์ peroxidase และ esterase กับลักษณะความต้านทานต่อโรคที่สำคัญบางชนิดของอ้อย**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

อาภัสสรา ชมิดท์. 2537. **เทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส**. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ภาษาอังกฤษ

AVRDC. 1979. Progress Report for 1978. **Asian Vegetable Research and Development Center**, Shanhua, Taiwan.

AVRDC. 1982. AVRDC Progress Report 1981. **Asian Vegetable Research and Development Center**, Shanhua, Taiwan.

Baudet, J.C. 1974. Significantion taxonomique des caractress blastoge niques dans la tribudes *Papilionaceae - Phaseoleae*. **Bull. Jard. Bot. Nat. Belg**. 44 : 259-293.

Chen, H. K., M. K. Mok., S. Shanmugasundaram, and D. W. S. Mok. 1989. Interspecific hybridization between *Vigna.radiata* and *V.glabrescens*. **Theor. Appl. Genet**. 78 : 641-647.

Dana, S. 1966. Cross between *Phaseolus aurous* and *P. mungo*. **Genetics.** 37 : 259-274.

DeWald, M.G., G.A. Moore, and W.B. Sherman. 1992. Isozymes in Ananns (pineapple) : genetics and usefulness in taxonomy. **J. Amer. Soc. Hort. Sci**. 117 (3) : 491-496.

Driedger, D.R., B.M. Watts., A. Hussain, and L.G. Elias. 1994. Isozyme and Cotyledon protein variation for identification of black bean (*Phaseolus valgaris* L.) with similar seed morphology. **Euphytica**. 74 : 27-34.

Egawa, Y., S. Chotechuen, and N. Tomooka. 1996. Mungbean germplasm research under the cooperative research program between DOA, Thailand and JIRCAS, Japan. In **Proceedings of the Nation Mungbean Workshop**. Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand.

Finn, J.D, and J. Mattsson. 1978. **Multivariate Analysis in Educational Research Applications of the Multivariance Program**. Chicago: National Educational Resources.

Garba, M, and R.S. Pasquet. 1998. Isozyme diversity in *Vigna vexillata* (L.) A. Rich (Fabaceae) complex. **South-African-Journal-of-Botany**. 64 (3) : 163-175.

Harris, R.J. 1975. **A primer of multivariate statistics**. New York : Academic press.

Hunter, R.L, and C.L. Markert. 1957. **Histochemical demonstration of enzyme separated by zone electrophoresis in starch gel**. Cited by D.E. McMillin. **Plant isozymes : a historical perspective**, PP. 3-13 *In* S.D. Tanklye and T.J. Orton (eds.). Isozyme in Plant Genetics and Breeding, Part A. Elsevier Science Publ. B.V., Amsterdam.

IBPGR. 1985. Descriptors for *Vigna mungo* and *V. radiata* (Revised). **International Board for Plant Genetic Resource**, Rome.

Jaaska, V, and V. Jaaska. 1990. Isoenzyme variation in Asian beans. **Botanica Acta**. 103 : 281-390.

Kaga, A. 1996. **Construction and application of linkage maps for azuki bean** (*Vigna angularis*) PhD. Thesis Kobe University.

Kaga, A., N. Tomooka., Y. Egawa., K. Hosaka, and O. Kamijima. 1996. Species relationships in the subgenus *Ceratotropis* (genus *Vigna*) as revealed by RAPD analysis. **Euphytica**. 88 : 17-24.

Karihaloo, J. L, and L. D. Gottlieb. 1995. Allozyme variation in eggplant, *Solanum melongena* (Solanaceae). **Theor Appl. Genet**. 90 : 578-583.

Krutoyskii, K. V, and F. Bergmann. 1995. Introgressive hybridization and phylogenetic relationship between by isozyme loci. **Heredity**. 74 (54) : 464-480.

Maekawa, F. 1955. Topo-morphological and taxonomical studies in Phaseoleae, Leguminosae. **Jap. J. Bot**. 15 : 103-116.

Marechal, R., J.M. Mascherpa, and F. Stainier. 1978. Etude taxomique d'un groupe complexe d' especes des generes phaseolus et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base de donnees morpho ligigues et pollinigues, traites par l' analyse informatique. **Boissiera**. 28: 208-217.

Matus, I., M. I. Gonzalez, and A. Pozo. 1999. Evaluation of phenotypic variation in a Chilean collection of garlic (*Allium sativum* L.) clones using multivariate analysis**. Plant Genetic Resources Newsletter.** No. 117 : 31-36.

Mckee, G.W. 1973. Chemical and biochemical techniques for varietal identification. **Seed Science and Technol**. 1 : 181 – 199.

Parfitt, D.E., S. Arulsekar, and D.W. Ramming. 1985. Identification of plum x peach hybrids by isoenzyme analysis. **Hort Science** 20 (2) : 246-248.

Pasquet, R.S., S. Schwedes, and P. Gepts. 1999. Isozyme Diversity in Bambara Groundnut. **Crop-Science.** 39 (4) : 1228-1236.

Sen, N.K, and A.K. Ghosh. 1960. Interspecific hybridization between *Phaseolus aurous* x *P. mungo*. **Bull. Bot. Soc. Belg**. 14 : 1-4.

Shannon, L.M. 1968. Plant isoenzyme. **Ann. Rev. of Plant Physiol**. 19 : 187 – 210.

Smartt, J. 1985. Evolution of grain legumes III. Pulses in the genus *Vigna.* **Exp. Agric**. 21: 87-100.

Sonnante, G., A.R. Piergiovanni., Q.N. Ng, and P. Perrino. 1996. Relationship of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. , *V. vexillata* (L.) A. Rich. and species of section *Vigna* base on isozyme variation. **Genet- Resources and Crop Evolution**. 43 (2) : 157-165.

Spinosa, A., D. Pignone, and G. Sonnante. 1998. Assessment of genenic variation in a working collection of *Vigna vexillata* (L.) A. Rich. by isozyme and RAPD anylyses. **Genetic-Resources and Crop Evolution**. 45 (4) : 347-354.

Stebbins, G.L. 1989. **Introduction**, pp. 1-4. *In* D.E. Soltis and P.S. Soltis (eds). **Isozyme in Plant Biology**. Discorides Press, Portland, Oregan.

Tateishi, Y. 1996. Systematics of the Species of *Vigna* Subgenus *Ceratotropis* pp. 9-24. *In* Srinives, P. et al (eds) **Mungbeen Germlasm : Collecttion, Evaluation and Utilization for Breeding Program JIRCAS Working Report No. 2.**, JIRCAS, Tsukuba, Japan.

Tateishi, Y, and H. Ohashi. 1990. Systematics of the Azuki bean group in the genus *Vigna*. *In* Fujii, K. et al. (eds). **Bruchids and Legumes : Economics, Ecology and Coevolution**. Kluwer Academic Publisher, Netherlands.

Thom , M, and A. Maretzki. 1970. Peroxidase and Esterase isozyme in Hawaiian sugarcance. **The Hawaiian Plant Record**. 58 : 81-94.

Tomooka, N., C. Lairungreang., P. Nakeeraks., Y. Egawa, and C. Thavarasook. 1991. Mungbean and the genetic resources, the subgenus *Ceratotropis*. **Tropical Agriculture Research Center**, Tsukuba Japan.

Tomooka, N., V.A. Ariya., A. Kaga, and Y. Egawa. 1995. Molecular taxonomic relationships among azuki group species in the genus *Vigna* base on RAPD analysis. **Breeding Science** 45 (Suppl.1) : 181. (in Japanese)

Vaillancourt, R. E, and N. R. Weeden. 1993. Lack of isozyme similarity between *Vigna unguiculate* and others species of subgenus *Vigna* (Leguminusea). **CAN. J**. 7 :4-8.

Verdcourt, B. 1970. Studies in the Leguminosae - Papilionoideae for the Flora of Tropical East. Africa, part 4, **Kew Bull**. 24 : 507-569.

Werner, D.J. 1992. Catalase polymorphism and inheritance in peach. **Hot Science.** 27 (1) : 41-43.

Yanofshy, C., and P. Lawrence. 1960 Gene action. **Annu. Rev. Microbiol**. 14 : 311 – 340.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1 การเตรียม Stock สารละลายสำหรับงานอิเลคโตรโฟรีซิส

1. Electrode buffer

Sol^{n} A	Tris buffer pH 8.3 (x10)	
	Tris(hydroxymethyl)amino methane	6.0 g
	Glycine	28.8 g
	H_2O adjust	1000 ml

2. Gel buffer

Sol^{n} B	Tris-HCl pH 8.9	
	Tris(hydroxymethyl)amino methane	36.6 g
	HCl 1 N	48 ml
	TEMED	0.23 ml
	H_2O adjust	100 ml
Sol^{n} C	Tris-HCl pH 6.7	
	Tris(hydroxymethyl)amino methane	5.98 g
	HCl 1 N	48 ml
	TEMED	0.46 ml
	H_2O adjust	100 ml
Sol^{n} D	Acrylamide stock	
	Acrylamide	28 g
	N,N-methylene bisacrylamide	0.74 g
	H_2O adjust	100 ml
Sol^{n} E	$(NH_4)_2SO_4$ Sol^{n}	
	$(NH_4)_2SO_4$	0.1 g
	H_2O	1 ml

3. Marker dye

Bromphenol blue	0.05 g
Sol^{n} C	10 ml
Glycerol	1 ml

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2 การเตรียมสีย้อมเอนไซม์ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเตรียมสีย้อมเอนไซม์ esterase(EST) peroxidase (PER) shikimate dehydrogenase (SDH) 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGDH) malate dehydrogenase (MDH) และ glutamate- oxaloacetete amino peptidase (GOT)

ชนิดของเอนไซม์	สารละลายสีย้อมเอนไซม์	ปริมาณ	แหล่งที่มา
1.) esterase (EST)	Phosphate buffer 0.1 M pH 6.0 Fast blue BB salt α-napthyl acetate	100 ml 0.15 g 1.3 ml	ชวนพิศ อรุณรังสีกุล และคณะ.(2539)
2.) peroxidase (PER)	Stock A - 3-Amino-9-ethylcarbazole - α-napthyl acid phosphate - Acetone Stock B -Tris (hydroxymethyl) amino methane -Acetic acid -H_2O Stock C -Hydrogenperoxide 30 % A : B : C = 20 : 80 : 1	 0.42 g 0.29 g 200 ml 1.89 g 2.025 ml 1,250 ml	ชวนพิศ อรุณรังสีกุล และคณะ.(2539)
3.) shikimate dehydrogenase (SDH)	Tris-HCl 0.1 M pH 5 Shikimic acid NADP NBT PMS	100 ml 0.02 g 0.005 g 0.005 g 0.002 g	Egawa และคณะ (1996)

ตารางที่ 1 (ต่อ) การเตรียมสีย้อมเอนไซม์ esterase (EST) peroxidase (PER) shikimate dehydrogenase (SDH) 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGDH) malate dehydrogenase (MDH) และ glutamate- oxaloacetete amino peptidase (GOT)

ชนิดของเอนไซม์	สารละลายสีย้อมเอนไซม์	ปริมาณ	แหล่งที่มา
4.) 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGDH)	Tris-HCl 0.1 M pH 8.0 NBT NADP 6-phosphogluconic acid PMS	100ml 0.02 g 0.02 g 0.04 g 0.003 g	Egawa และคณะ (1996)
5.) malate dehydroge nase (MDH)	Tris-HCl 0.0825 M pH 9.0 PMS 0.00326 M NAD 0.0005 M $MgCl_2 6\ H_2O$ MTT 0.0096 M DL-malic acid	40 ml 1.3 ml 5.3 ml 0.3 g 2.5 ml 60 mg	สุจิตรา จางตระกูล (2535)
6.) glutamate oxalo-acetete amino peptidase (GOT)	Tris-HCl 0.5 M pH 8.5 Aspartic acid 2-oxoglutaric pyridoxal 5 phosphate Fast Blue BB salt	100 ml 400 mg 200 mg 2 mg 400 mg	Egawa และคณะ (1996)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3 การจัดกลุ่มความสัมพันธุ์ด้วยมัลติวาเรียต วิธีคลัสเตอร์

3.1 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา

3.1.1 การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความห่างจากลักษณะทางปริมาณ ด้วยวิธี Square Euclidean Distance โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 2 มาคำนวณ ซึ่งแสดงผลการคำนวณในตารางที่ 4

เช่น Distance $(D_{1,2})$ = $(1.80-2.40)^2 + (1.20-1.20)^2 + (3.60-2.90)^2 + \ldots$

= 4.070

3.1.2 การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความห่างจากลักษณะทางคุณภาพ โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 3 มาคำนวณ ด้วยวิธี Simple matching แล้วแปลงค่าที่ได้ให้เป็นค่าความห่างด้วยการคูณ (-1) ซึ่งแสดงผลการคำนวณในตารางที่ 4

เช่น Distance $(X_{1,2})$ = $(15+38 / 15+2+2+38) \times (-1)$

= -0.929

3.1.3 การคำนวณเพื่อแปลงค่าความห่างที่ได้ให้เป็นค่ามาตรฐาน โดยนำค่าที่คำนวณได้ในข้อที่ 3.1.1 และ3.1.2 มาแปลง ซึ่งแสดงผลการคำนวณในตารางที่ 4

เช่น $S = \sqrt{\frac{(4.070 - 2921.115)^2 + (16.130 - 2921.115)^2 + (83.120 - 2921.115)^2 + \ldots}{171 - 1}}$

= 3427.213

$Z_{(1,2)}$ = $(4.070 - 2921.115) / 3427.213$

= -0.851

เช่น $S' = \sqrt{\frac{[(-0.929)\ (-0.631)]^2 + [(-1.00)\ (-0.631)]^2 + [(-0.786)\ (-0.631)]^2 + \ldots}{171 - 1}}$

= 0.110

$Z'_{(1,2)}$ = $(-0.929) - (-0.631) / 0.110$

= -2.709

3.1.4 การคำนวณเพื่อรวมสัมประสิทธิ์ความห่าง โดยใช้ข้อมูลที่คำนวณได้ในข้อ 3.1.3 ซึ่งผลการคำนวณแสดงในตารางที่ 4

โดย W1 = 11 / 30 = 0.367

W2 = 19 / 30 = 0.633

เช่น Weight $W_{1,2}$ = $[(-0.851) \times 0.367] + [(-2.709) \times 0.633]$

= -2.027

จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาแปลงให้เป็นจำนวนเต็มบวก (D') ด้วยการบวกด้วยจำนวนเต็มของค่าที่ติดลบมากที่สุด คือ บวกด้วย 2.435 กับทุกค่า ซึ่งแสดงผลการคำนวณในตารางที่ 4

3.1.5 การคำนวณเพื่อจัดกลุ่มพืช โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากข้อ 3.1.4 มาคำนวณ ซึ่งจะรวมพืชที่มีค่าความห่างน้อยที่สุดไว้ด้วยกัน

ขั้นที่ 1 รวมสายพันธุ์ที่ 1 กับ 3 ที่ระดับค่าความห่าง 0.000 เป็น $D_{(1,3)}$ ทำให้เหลือพืช 18 กลุ่ม คือ (1,3) (2) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (12) (15) (16) (17) (18) (21) (22) (23) และ (24) จากนั้นคำนวณหาค่า D(c1)(c2) ซึ่งแสดงผลการคำนวณในตารางที่ 5

เช่น $D_{(2)(1,3)} = \frac{1}{2}[D_{1,2} + D_{2,3}] = \frac{1}{2}[0.408 + 0.408] = 0.408$

ขั้นที่ 2 รวมสายพันธุ์ที่มีค่าความห่างน้อยที่สุดไว้ด้วยกัน โดยพิจารณาจากตารางที่ 5 ซึ่งรวมสายพันธุ์ที่ 23 กับ 24 ที่ระดับค่าความห่าง 0.004 เป็น $D_{(23,24)}$ ทำให้เหลือพืช 17 กลุ่ม คือ (1,3) (23,24) (2) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (12) (15) (16) (17) (18) (21) และ (22) แล้วคำนวณหาค่า D(c1)(c2) ซึ่งแสดงผลการคำนวณในตารางที่ 6

เช่น $D_{(2)(23,24)} = \frac{1}{2}[D_{2,23} + D_{2,24}] = \frac{1}{2}[1.887 + 1.909] = 1.898$

$D_{(1,3)(23,24)} = \frac{1}{4}[D_{1,23} + D_{1,24} + D_{3,23} + D_{3,24}]$

$= \frac{1}{4}[2.093 + 2.117 + 2.087 + 2.106] = 2.101$

ขั้นที่ 3 รวมสายพันธุ์ที่มีค่าความห่างน้อยที่สุดไว้ด้วยกัน โดยพิจารณาจากตารางที่ 6 ซึ่งรวมสายพันธุ์ที่ 21 กับ 22 ที่ระดับค่าความห่าง 0.210 เป็น $D_{(21,22)}$ ทำให้เหลือพืช 16 กลุ่ม คือ (1,3) (23,24) (21,22) (2) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (12) (15) (16) (17) และ (18) แล้วคำนวณหาค่า D(c1)(c2)

จากนั้นทำตามขั้นตอนดังกล่าวข้างต้น จนสามารถรวมกลุ่มพืชให้เหลือเพียง 1 กลุ่ม แล้วหาค่าสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยง โดยพิจารณาจากค่าความห่างของเส้นที่เชื่อมโยง ดังแสดงผลในตารางที่ 7

3.1.6 การคำนวณหาความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความห่าง กับ สัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา

กำหนด ให้ x เป็นสัมประสิทธิ์ความห่างที่คำนวณได้จากข้อที่ 3.1.4 (ตารางที่ 4)

ให้ y เป็นสัมประสิทธิ์การเชื่องโยง (ตารางที่ 7)

ได้ $\sum x = 416.570$ $\sum y = 416.534$ $\sum xy = 1102.003$

$\sum x^2 = 1129.350$ $\sum y^2 = 1094.012$ $n = 171$

$$r_{xy} = \frac{1102.003 - \frac{1}{171}(416.57)(416.534)}{\sqrt{[1129.35 - \frac{1}{171}(416.57)^2][1094.012 - \frac{1}{171}(416.534)^2]}}$$

$$= 0.915$$

3.2 การคำนวณเพื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากรูปแบบไอโซไซม์

3.2.1 การคำนวณหาค่าความคล้ายคลึง โดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 8 มาคำนวณ ด้วยวิธีเดียวกับข้อ 3.1.2 ซึ่งแสดงค่าการคำนวณในตารางที่ 9

3.2.2 การคำนวณเพื่อจัดกลุ่ม และหาค่าสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงโดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 9 มาคำนวณเช่นเดียวกับข้อที่ 3.1.5 ซึ่งแสดงค่าการคำนวณในตารางที่ 10

3.2.3 การคำนวณหาความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง กับสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยง

กำหนด ให้ x เป็นสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึง (ตารางที่ 9)

ให้ y เป็นสัมประสิทธิ์การเชื่องโยง (ตารางที่ 10)

ได้ $\sum x = 180.275$ $\sum x^2 = 122.97$ $\sum y = 108.076$

$\sum y^2 = 80.689$ $\sum xy = 82.547$ $N = 276$

$$r_{xy} = \frac{82.547 - \frac{1}{276}(180.275)(108.076)}{\sqrt{[122.97 - \frac{1}{276}(180.275)^2][80.689 - \frac{1}{276}(108.076)^2]}}$$

$$= 0.845$$

3.3 การการคำนวณเพื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับรูปแบบไอโซไซม์

3.3.1 การแปลงค่าให้เป็นค่ามาตรฐาน เช่นเดียวกับข้อที่ 3.1.3 โดยใช้ค่าความห่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยา ที่คำนวณได้ในข้อ 3.1.4 (ตารางที่ 4) และค่าความคล้ายคลึงของรูปแบบไอโซไซม์ (ตารางที่ 9) ที่คูณด้วย (-1) ซึ่งแสดงผลการคำนวณค่า Z_{ij} และ Z'_{ij} ในตารางที่ 11

3.3.2 การรวมค่าสัมประสิทธิ์ความห่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยา และรูปแบบไอโซไซม์ เช่นเดียวกับข้อที่ 3.1.4 ซึ่งแสดงค่าคำนวณ D' ในตารางที่ 11

3.3.3 การคำนวณเพื่อจัดกลุ่มพืช โดยใช้ข้อมูลจากข้อที่ 3.3.2 มาคำนวณเช่นเดียวกับข้อที่ 3.1.5 ซึ่งแสดงผลการคำนวณในตารางที่ 11 และแสดงค่าสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงในตารางที่ 12

3.3.4 การคำนวณหาความสัมพันธ์ของสัมประสิทธิ์ความห่าง กับ สัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงจากลักษณะ ทางสัณฐานวิทยา และรูปแบบไอโซไซม์

กำหนด ให้ x เป็นสัมประสิทธิ์ความห่างจากการคำนวณข้อที่ 3.3.2 (ตารางที่ 11)

ให้ y เป็นสัมประสิทธิ์การเชื่องโยง (ตารางที่ 12)

$\sum x = 482.452$ $\sum y = 484.959$ $\sum x^2 = 1497.369$

$\sum y^2 = 1485.812$ $\sum xy = 1477.878$ $N = 171$

$$r_{xy} = \frac{1477.878 - \frac{1}{171}(482.452)(484.959)}{\sqrt{[1497.37 - \frac{1}{171}(482.452)^2][1485.812 - \frac{1}{171}(484.959)^2]}}$$

$$= 0.894$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ที่เป็นลักษณะทางปริมาณ ของพืชสกุล *Vigna*

สายพันธุ์ที่	ความยาวใบจริง (ซม.)	ความกว้างใบจริง (ซม.)	ความยาวใบย่อยข้อที่ 4 (ซม.)	ความกว้างใบย่อยข้อที่ 4 (ซม.)	ความยาวก้านใบ (ซม.)	อายุดอกแรก (วัน)	อายุฝักแรกแก่ (วัน)	ความยาวฝัก (ซม.)	จำนวนเมล็ดต่อฝัก	ความยาวเมล็ด (มม.)	ความกว้างเมล็ด (มม.)
1	1.80	1.20	3.60	1.60	4.50	36	51	2.50	4.00	3.30	2.50
2	2.40	1.20	2.90	1.80	4.00	37	51	3.00	5.00	2.50	2.70
3	2.10	0.90	2.80	1.50	4.00	39	53	2.90	5.00	2.80	3.30
4	2.20	1.00	3.50	1.50	3.80	35	60	2.90	4.00	2.80	2.50
5	3.00	1.10	4.00	2.20	2.80	78	93	6.90	8.00	6.00	3.50
6	4.00	1.10	2.20	1.40	2.40	60	85	6.50	8.00	5.20	2.70
7	3.00	1.00	4.20	2.50	5.20	105	138	8.00	8.00	7.50	4.50
8	2.30	1.00	4.50	2.90	3.00	63	84	5.20	7.00	5.00	3.50
9	3.00	1.00	6.50	3.60	2.80	73	95	5.50	6.00	6.30	4.00
10	2.50	0.80	2.50	1.10	2.70	75	93	5.70	6.00	6.50	4.00
12	1.40	1.10	3.30	1.70	3.20	82	100	6.00	10.00	3.50	2.70
15	0.50	0.20	3.50	2.00	3.20	80	98	4.90	8.00	3.50	2.80
16	0.60	0.30	2.80	1.70	2.50	84	118	6.00	12.00	4.00	3.00
17	0.80	0.50	1.30	0.70	1.80	78	105	5.50	10.00	3.50	2.80
18	2.10	1.70	2.50	2.20	2.20	115	140	5.80	8.00	4.50	3.00
21	1.40	2.00	6.30	7.60	10.60	37	55	10.00	8.00	4.80	3.80
22	3.60	1.40	5.60	6.80	7.10	35	53	9.50	6.00	5.80	4.00
23	1.00	2.50	3.00	2.00	4.50	35	70	4.30	5.00	5.00	3.60
24	3.70	1.40	3.20	2.10	4.50	39	75	4.00	5.00	4.50	4.00

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เป็นลักษณะทางปริมาณ ของพืชในสกุล *Vigna*

ลักษณะทางคุณภาพ	สายพันธุ์ที่																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	16	17	18	21	22	23	24
1 การงอก	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
2 สีไฮโปทิล																			
-green purple	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-purple	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
-green	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
-ไม่มีไฮโปคอทิล	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
3. รูปร่างใบจริง																			
-ovate lanceolate	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
-lanceolate	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-ovate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
4. รูปร่างใบย่อย																			
-ovate lanceolate	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
-rhomboid	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
-ovate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
5. ขนบนใบ																			
-sparsely	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- densely	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
- moderately	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1
6. สีก้านใบ																			
-purple	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
-dark purple	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
-green	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1
7. สีลำต้น																			
-purple	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
-darle purple	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
-green	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
-green purple	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8. สีใบ																			
-green	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1
-dark green	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
-light green	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลักษณะทางคุณภาพ	สายพันธุ์ที่																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	16	17	18	21	22	23	24
9. ความทึบทรงพุ่ม																			
-โปร่ง	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
-ปานกลาง	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
-ทึบ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
10. สีฝักอ่อน																			
-dark green	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
-light green	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
-green	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1
11. สีรอยต่อฝักอ่อน																			
-dark green	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
-brown	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-black	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-green	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
12. ขนที่ฝัก																			
-glabrous	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
-puberulent	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
-densely	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1
13. ฝักติดก้านช่อดอก	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1
14. สีฝักแก่																			
-straw	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
-brown	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
-black	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1
15. ลักษณะการเจริญ																			
-semi erect	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
-spreading	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
-erect	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ลักษณะทางคุณภาพ	สายพันธุ์ที่																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	16	17	18	21	22	23	24
16. สีเมล็ด																			
-brown	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
-light green	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-mottle	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-black	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
-green brown	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
-red	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-green	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
17. รูปร่างเมล็ด																			
-drum	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
-ovoid drum	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0
-ovoid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-ovoid globose	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
18. ประกายผิวเมล็ด	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0
19. ไฮลัมคอดเว้า	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความห่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ii′	Dii′	Xii′	Zii′	Z′ii′	Weighted Wii′	D′
1,2	4.070	-0.929	-0.851	-2.709	-2.027	0.408
1,3	16.130	-1.000	-0.848	-3.355	-2.435	0.000
1,4	83.120	-0.786	-0.828	-1.409	-1.196	1.239
1,5	3576.510	-0.625	0.191	0.055	0.105	2.540
1,6	1778.910	-0.661	-0.333	-0.273	-0.295	2.140
1,7	12401.030	-0.554	2.766	0.700	1.458	3.893
1,8	1843.220	-0.643	- 0.315	-0.109	-0.185	2.250
1,9	3346.030	-0.536	0.124	0.864	0.592	3.027
1,10	3317.080	-0.589	0.116	0.382	0.284	2.719
1,12	4567.290	-0.518	0.480	1.027	0.826	3.261
1,15	4171.440	-0.714	0.365	-0.755	-0.344	2.091
1,16	6876.890	-0.649	1.154	-0.436	0.148	2.583
1,17	4740.010	-0.554	0.531	0.700	0.638	3.073
1,18	14197.780	-0.625	3.290	0.055	1.242	3.677
1,21	174.490	-0.500	-0.801	1.191	0.460	2.895
1,22	107.580	-0.500	-0.821	1.191	0.453	2.888
1,23	373.190	-0.643	-0.743	-0.109	-0.342	2.093
1,24	596.000	-0.643	-0.678	-0.109	-0.318	2.117
2,3	8.740	-0.929	-0.850	-2.709	-2.027	0.408
2,4	86.710	-0.786	-0.827	-1.409	-1.195	1.240
2,5	3485.280	-0.625	0.165	0.055	0.095	2.530
2,6	1719.320	-0.696	-0.351	-0.591	-0.503	1.932
2,7	12259.260	-0.589	2.725	0.382	1.242	3.677
2,8	1785.550	-0.679	-0.331	-0.436	-0.397	2.038
2,9	3273.420	-0.571	0.103	0.545	0.383	2.818
2,10	3236.460	-0.625	0.092	0.055	0.069	2.504
2,12	4462.820	-0.518	0.450	1.027	0.815	3.250
2,15	4077.270	-0.679	0.337	-0.436	-0.152	2.283
2,16	6764.660	-0.679	1.121	-0.436	0.135	2.570
2,17	4640.920	-0.554	0.502	0.700	0.627	3.062
2,18	14029.830	-0.661	3.241	-0.273	1.017	3.452
2,21	170.900	-0.500	-0.802	1.191	0.460	2.895
2,22	107.210	-0.536	-0.821	0.864	0.246	2.681
2,23	3 77.70 0	-0.679	-0.742	-0.436	-0.548	1.887
2,24	588.8 50	-0.679	-0.681	-0.436	-0.526	1.909
3,4	67.190	-0.786	-0.833	-1.409	-1.198	1.237
3,5	3160.500	-0.625	0.070	0.055	0.061	2.496
3,6	1499.660	-0.611	-0.415	-0.273	-0.325	2.110
3,7	11644.76	-0.554	2.545	0.700	1.377	3.812

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ii′	Dii′	Xii′	Zii′	Z′ii′	Weighted Wii′	D′
3,8	1557.070	-0.643	-0.398	-0.109	-0.215	2.220
3,9	2960.860	-0.536	0.012	0.864	0.551	2.986
3,10	2921.130	-0.589	0.000	0.382	0.242	2.677
3,12	4094.920	-0.518	0.342	1.027	0.776	3.211
3,15	3724.170	-0.714	0.234	-0.755	-0.392	2.043
3,16	6315.040	-0.679	0.990	-0.436	0.087	2.522
3,17	426 7.080	-0.554	0.393	0.700	0.587	3.022
3,18	13369.850	-0.625	3.049	0.055	1.154	3.589
3,21	166.380	-0.500	-0.804	1.191	0.459	2.894
3,22	118.090	-0.500	-0.818	1.191	0.454	2.889
3,23	316.200	-0.643	-0.760	-0.109	-0.348	2.087
3,24	492.170	-0.643	-0.709	-0.109	-0.329	2.106
4,5	2983.630	-0.482	0.018	1.355	0.864	3.299
4,6	1291.670	-0.554	-0.475	0.700	0.269	2.704
4,7	11056.190	-0.554	2.374	0.700	1.314	3.749
4,8	1383.740	-0.536	-0.449	0.864	0.382	2.817
4,9	2709.310	-0.571	-0.062	0.545	0.322	2.757
4,10	2719.280	-0.518	-0.059	1.027	0.628	3.063
4,12	3856.230	-0.589	0.273	0.382	0.342	2.777
4,15	3493.720	-0.643	0.167	-0.109	-0.008	2.427
4,16	5845.570	-0.643	0.853	-0.109	0.244	2.679
4,17	3929.030	-0.554	0.294	0.700	0.551	2.986
4,18	12832.100	-0.554	2.892	0.700	1.504	3.939
4,21	194.030	-0.464	-0.796	1.518	0.669	3.104
4,22	153.320	-0.464	-0.808	1.518	0.664	3.099
4,23	113.690	-0.607	-0.819	0.218	-0.163	2.272
4,24	251.700	-0.607	-0.779	0.218	-0.148	2.87
5,6	394.480	-0.821	-0.737	-1.727	-1.364	1.071
5,7	2764.360	-0.607	-0.046	0.218	0.121	2.556
5,8	312.170	-0.804	-0.761	-1.573	-1.275	1.160
5,9	43.520	-0.804	-0.840	-1.573	-1.304	1.131
5,10	18.750	-0.750	-0.847	-1.082	-0.996	1.439
5,12	80.160	-0.679	-0.829	-0.436	-0.580	1.855
5,15	47.250	-0.661	-0.839	-0.273	-0.481	1.954
5,16	690.240	-0.625	-0.651	0.055	-0.204	2.231
5,17	172.440	-0.643	-0.802	-0.109	-0.363	2.072
5,18	3585.490	-0.714	0.194	-0.755	-0.407	2.028
5,21	3234.800	-0.518	0.092	1.027	0.684	3.119
5,22	3502.710	-0.482	0.170	1.355	0.920	3.355

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ii′	Dii′	Xii′	Zii′	Z′ii′	Weighted Wii′	D′
5,23	2404.66	-0.518	-0.151	1.027	0.595	3.03
5,24	1869.030	-0.518	-0.307	1.027	0.537	2.972
6,7	4858.840	-0.679	0.565	-0.436	-0.069	2.366
6,8	24.170	-0.768	-0.845	-1.245	-1.098	1.337
6,9	301.40	-0.804	-0.764	-1.573	-1.276	1.159
6,10	299.630	-0.714	-0.765	-0.755	-0.759	1.676
6,12	724.840	-0.571	-0.641	0.545	0.110	2.545
6,15	590.210	-0.625	-0.680	0.055	-0.215	2.220
6,16	1695.440	-0.589	-0.358	0.382	0.110	2.545
6,17	744.160	-0.571	-0.635	0.545	0.112	2.547
6,18	6055.810	0.750	0.915	-1.082	-0.349	2.086
6,21	1572.680	-0.554	-0.393	0.700	0.299	2.734
6,22	1727.110	-0.589	-0.348	0.382	0.114	2.549
6,23	881.060	-0.518	-0.594	1.027	0.432	2.867
6,24	564.510	-0.518	-0.688	1.027	0.398	2.833
7,8	4701.670	-0.625	0.520	0.055	0.226	2.661
7,9	2897.200	-0.661	-0.007	-0.273	-0.175	2.260
7,10	2946.930	0.643	0.008	-0.109	-0.066	2.369
7,12	2008.260	-0.643	-0.266	-0.109	-0.167	2.268
7,15	2265.130	-0.661	-0.191	-0.273	-0.243	2.192
7,16	891.640	-0.625	-0.592	0.055	-0.182	2.253
7,17	1875.440	-0.679	-0.305	-0.436	-0.388	2.047
7,18	133.370	-0.821	-0.813	-1.727	-1.392	1.043
7,21	11587.920	-0.625	2.529	0.055	0.963	3.398
7,22	12158.970	-0.661	2.695	-0.273	0.816	3.251
7,23	9562.180	-0.589	1.938	0.382	0.953	3.388
7,24	6361.550	-0.589	1.004	0.382	0.610	3.045
8,9	229.050	-0.857	-0.785	-2.055	-1.589	0.846
8,10	236.160	-0.804	-0.783	-1.573	-1.283	1.152
8,12	633.270	-0.625	-0.668	0.055	-0.210	2.225
8,15	494.560	-0.714	-0.708	-0.755	-0.738	1.697
8,16	1631.850	-0.643	-0.376	-0.109	-0.207	2.228
8,17	696.850	-0.661	-0.649	-0.273	-0.411	2.024
8,18	5847.520	-0.661	0.854	-0.273	0.141	2.576
8,21	1626.070	-0.500	-0.378	1.191	0.615	3.050
8,22	1800.460	-0.536	-0.327	0.864	0.427	2.862
8,23	994.070	-0.500	-0.562	1.191	0.548	2.983
8,24	669.64	-0.500	-0.657	1.191	0.513	2.948
9,10	30.630	-0.696	-0.843	-0.591	-0.683	1.752

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ii′	Dii′	Xii′	Zii′	Z′ii′	Weighted Wii′	D′
9,12	148.360	-0.661	-0.809	-0.273	-0.470	1.965
9,15	90.250	-0.643	-0.826	-0.109	-0.372	2.063
9,16	716.180	-0.571	-0.643	0.545	0.109	2.544
9,17	191.820	-0.625	-0.796	0.055	-0.257	2.178
9,18	3816.950	-0.732	0.261	-0.918	-0.485	1.950
9,21	3002.980	-0.464	0.024	1.518	0.970	3.405
9,22	3254.310	-0.500	0.097	1.191	0.790	3.225
9,23	2097.240	-0.464	-0.240	1.518	0.873	3.308
9,24	1579.170	-0.464	-0.392	1.518	0.817	3.252
10,12	127.330	-0.607	-0.815	0.218	-0.161	2.274
10,15	71.500	-0.732	-0.831	-0.918	-0.886	1.549
10,16	753.690	-0.625	-0.632	0.055	-0.197	2.238
10,17	184.870	-0.643	-0.798	-0.109	-0.362	2.073
10,18	3820.440	-0.643	0.262	-0.109	0.027	2.462
10,21	3035.170	-0.625	0.033	0.055	0.047	2.482
10,22	3277.960	-0.661	0.104	-0.273	-0.135	2.300
10,23	2143.810	-0.554	-0.227	0.700	0.360	2.795
10,24	1634.420	-0.554	-0.375	0.700	0.305	2.740
12,15	14.970	-0.732	-0.848	-0.918	-0.892	1.543
12,16	334.360	-0.768	-0.755	-1.245	-1.065	1.370
12,17	48.940	-0.929	-0.838	-2.709	-2.022	0.413
12,18	2696.870	-0.679	-0.065	-0.436	-0.300	2.135
12,21	4172.280	-0.518	0.365	1.027	0.784	3.219
12,22	4504.670	-0.482	0.462	1.355	1.027	3.462
12,23	3143.940	-0.518	0.065	1.027	0.674	3.109
12,24	2512.930	-0.518	-0.199	1.027	0.606	3.041
15,16	434.590	-0.857	-0.726	-2.055	-1.567	0.868
15,17	66.030	-0.768	-0.833	-1.245	-1.094	1.341
15,18	2997.700	-0.661	0.022	-0.273	-0.165	2.270
15,21	3824.710	-0.536	0.264	0.864	0.644	3.079
15,22	4135.600	-0.536	0.354	0.864	0.677	3.112
15,23	2828.730	-0.571	-0.027	0.545	0.335	2.770
15,24	2235.720	-0.571	-0.200	0.545	0.272	2.707
16,17	213.360	-0.804	-0.790	-1.573	-1.286	1.149
16,18	1465.930	-0.661	-0.425	-0.273	-0.329	2.106
16,21	6327.480	-0.536	0.994	-0.864	0.912	3.347
16,22	6743.710	-0.500	1.115	1.191	1.163	3.598
16,23	4767.380	-0.607	0.539	0.218	0.336	2.771
16,24	3943.390	-0.607	0.298	0.218	0.247	2.682

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ii′	Dii′	Xii′	Zii′	Z′ii′	Weighted Wii′	D′
17,18	2606.110	-0.714	-0.092	-0.755	-0.512	1.923
17,21	4360.600	-0.589	0.420	0.382	0.396	2.831
17,22	4684.170	-0.554	0.514	0.700	0.632	3.067
17,23	3119.240	-0.589	0.058	0.382	0.263	2.698
17,24	2472.770	-0.589	-0.131	0.382	0.194	2.629
18,21	13442.110	-0.518	3.070	1.027	1.777	4.212
18,22	14046.50	-0.554	3.246	0.700	1.634	4.069
18,23	11319.290	-0.518	2.450	1.027	1.549	3.984
18,24	10022.68	-0.518	2.072	1.027	1.411	3.846
21,22	31.870	-0.964	-0.843	-3.027	-2.225	0.210
21,23	350.440	-0.750	-0.750	-1.082	-0.960	1.475
21,24	531.850	-0.750	-0.697	-1.082	-0.941	1.494
22,23	362.370	-0.714	-0.747	-0.755	-0.752	1.683
22,24	567.560	-0.714	-0.687	-0.755	-0.730	1.705
23,24	50.050	-1.000	-0.838	-3.355	-2.431	0.004
Mean	2921.115	-0.631	-	-	-	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA จากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชสกุล *Vigna*

สายพันธุ์	2	4	5	6	7	8	9	10	12	15	16	17	18	21	22	23	24	(1,3)
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1.240	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	2.530	3.299	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	1.932	2.704	1.071	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	3.677	3.749	2.556	2.366	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	2.038	2.817	1.160	1.337	2.661	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	2.818	2.757	1.131	1.159	2.260	0.846	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	2.504	3.063	1.439	1.676	2.369	1.152	1.752	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	3.250	2.777	1.855	2.545	2.268	2.225	1.965	2.274	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	2.283	2.427	1.954	2.220	2.192	1.697	2.063	1.549	1.543	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	2.570	2.679	2.231	2.545	2.253	2.228	2.544	2.238	1.370	0.868	-	-	-	-	-	-	-	-
17	3.062	2.986	2.072	2.547	2.047	2.024	2.178	2.078	0.413	1.341	1.149	-	-	-	-	-	-	-
18	3.452	3.939	2.028	2.086	1.043	2.576	1.950	2.462	2.135	2.270	2.106	1.923	-	-	-	-	-	-
21	2.895	3.104	3.119	2.734	3.398	3.050	3.405	2.482	3.219	3.079	3.347	2.831	4.212	-	-	-	-	-
22	2.681	3.099	3.355	2.549	3.251	2.862	3.225	2.300	3.462	3.112	3.598	3.067	4.069	0.210	-	-	-	-
23	1.887	2.727	3.030	2.867	3.388	2.983	3.308	2.795	3.109	2.770	2.771	2.698	3.984	1.475	1.683	-	-	-
24	1.909	2.287	2.972	2.833	3.045	2.948	3.252	2.740	3.041	2.770	2.682	2.629	3.846	1.494	1.705	0.004	-	-
(1,3)	0.408	1.238	2.518	2.125	3.853	2.235	3.001	2.698	3.236	2.067	2.553	3.048	3.633	2.895	2.889	2.090	2.112	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA จากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชสกุล *Vigna*

สายพันธุ์	2	4	5	6	7	8	9	10	12	15	16	17	18	21	22	(1,3)	(23,24)
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1.240	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	2.530	3.299	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	1.932	2.704	1.071	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	3.677	3.749	2.556	2.366	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	2.038	2.817	1.160	1.337	2.661	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	2.818	2.757	1.131	1.159	2.260	0.846	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	2.504	3.063	1.439	1.676	2.369	1.152	1.752	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	3.250	2.777	1.855	2.545	2.268	2.225	1.965	2.274	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	2.283	2.427	1.954	2.220	2.192	1.697	2.063	1.549	1.543	-	-	-	-	-	-	-	-
16	2.570	2.679	2.231	2.545	2.253	2.228	2.544	2.238	1.370	0.868	-	-	-	-	-	-	-
17	3.062	2.986	2.072	2.547	2.047	2.024	2.178	2.078	0.413	1.341	1.149	-	-	-	-	-	-
18	3.452	3.939	2.028	2.086	1.043	2.576	1.950	2.462	2.135	2.270	2.106	1.923	-	-	-	-	-
21	2.895	3.104	3.119	2.734	3.398	3.050	3.405	2.482	3.219	3.079	3.347	2.831	4.212	-	-	-	-
22	2.681	3.099	3.355	2.549	3.251	2.862	3.225	2.300	3.462	3.112	3.598	3.067	4.069	0.210	-	-	-
(1,3)	0.408	1.238	2.518	2.125	3.853	2.235	3.001	2.698	3.236	2.067	2.553	3.048	3.633	2.895	2.889	-	-
(23,24)	1.898	2.280	3.001	2.850	3.217	2.966	3.280	2.768	3.075	2.739	2.727	2.664	3.915	1.485	1.694	2.101	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 ค่าสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยง จากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชสกุล *Vigna*

สายพันธุ์	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	16	17	18	21	22	23	24
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0.408	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0.000	0.408	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1.239	1.239	1.239	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	2.970	2.970	2.970	2.970	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	2.970	2.970	2.970	2.970	1.071	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	2.970	2.970	2.970	2.970	2.211	2.211	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	2.970	2.970	2.970	2.970	1.197	1.197	0.846	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	2.970	2.970	2.970	2.970	1.197	1.197	2.211	0.846	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	2.970	2.970	2.970	2.970	1.505	1.505	2.211	1.505	1.505	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	2.970	2.970	2.970	2.970	2.211	2.211	2.149	2.211	2.211	2.211	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	2.970	2.970	2.970	2.970	2.211	2.211	2.149	2.211	2.211	2.211	1.351	-	-	-	-	-	-	-	-
16	2.970	2.970	2.970	2.970	2.211	2.211	2.149	2.211	2.211	2.211	1.351	0.868	-	-	-	-	-	-	-
17	2.970	2.970	2.970	2.970	2.211	2.211	2.149	2.211	2.211	2.211	0.413	1.351	1.351	-	-	-	-	-	-
18	2.970	2.970	2.970	2.970	2.211	2.211	1.043	2.211	2.211	2.211	2.149	2.149	2.149	2.149	-	-	-	-	-
21	2.970	2.506	2.506	2.506	2.970	2.970	2.970	2.970	2.790	2.970	2.970	2.970	2.970	2.970	2.970	--	-	-	-
22	2.506	2.506	2.506	2.506	2.970	2.970	2.970	2.970	2.790	2.970	2.970	2.970	2.970	2.970	2.970	0.210	-	-	-
23	2.506	2.506	2.506	2.506	2.970	2.97	2.970	2.970	2.790	2.970	2.970	2.970	2.970	2.970	2.970	1.589	1.589	-	-
24	2.506	2.506	2.506	2.506	2.970	2.970	2.970	2.970	2.790	2.970	2.970	2.970	2.970	2.970	2.970	1.589	1.589	0.004	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 การประเมินค่าจากรูปแบบไอโซไซม์ของพืชสกุล *Vigna*

ชนิดของเอนไซม์	ค่า Rf	ไซโมแกรมของพืชสกุล *Vigna* / สายพันธุ์ที่																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
EST	0.24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
(ใบ)	0.27	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1
	0.30	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
	0.33	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
	0.38	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.42	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	0.51	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.62	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	0.70	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
EST	0.13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
(ต้น)	0.20	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1
	0.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
	0.33	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	
	0.45	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
	0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	0.60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
	0.65	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.68	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1
	0.70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
EST	0.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
(ราก)	0.42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	0.46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	0.58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	0.66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0
PER	0.18	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(ใบ)	0.22	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0
	0.27	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.54	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	0.60	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	0.64	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1
	0.69	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	0.76	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

ตารางที่ 8 (ต่อ)

ชนิดของเอนไซม์	ค่า Rf	ไซโมแกรมของพืชสกุล *Vigna* / สายพันธุ์ที่																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
PER (ต้น)	0.10	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.20	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.44	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
	0.48	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.54	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
	0.56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	0.58	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	0.62	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
	0.67	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	0.70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	0.74	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.76	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
	0.82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	0.98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
PER (ราก)	0.13	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	0.26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1
	0.28	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.36	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.48	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
	0.50	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1
	0.58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1
	0.60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	0.63	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	0.66	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
	0.70	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.76	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	0.84	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.88	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
MDH (เมล็ด)	0.42	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	0.44	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
	0.48	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	0.6	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	0.66	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	0.72	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1

ตารางที่ 8 (ต่อ)

ชนิดของเอนไซม์	ค่า Rf	ไซโมแกรมของพืชสกุล *Vigna* / สายพันธุ์ที่																						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
GOT	0.32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
(เมล็ด)	0.36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	0.38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	0.4	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
	0.42	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	0.48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	0.5	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
SDH	0.38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
(เมล็ด)	0.4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	0.42	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
	0.44	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1
	0.48	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	0.5	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	0.52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
6PGDH	0.32	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(เมล็ด)	0.4	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1
	0.42	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงจากข้อมูลรูปแบบไอโซไซม์ ของพืชสกุล *Vigna*

สายพันธุ์	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0.956	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0.956	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0.956	1.000	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	0.722	0.678	0.678	0.678	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0.733	0.689	0.689	0.689	0.989	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	0.600	0.578	0.578	0.578	0.589	0.600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	0.733	0.689	0.689	0.689	0.900	0.889	0.622	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	0.733	0.689	0.689	0.689	0.878	0.889	0.622	0.956	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0.556	0.533	0.533	0.533	0.611	0.600	0.956	0.667	0.644	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	0.522	0.500	0.500	0.500	0.622	0.633	0.589	0.567	0.589	0.567	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	0.544	0.522	0.522	0.522	0.578	0.589	0.633	0.633	0.678	0.633	0.822	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	0.511	0.489	0.489	0.489	0.633	0.644	0.600	0.578	0.600	0.578	0.989	0.833	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	0.500	0.478	0.478	0.478	0.578	0.589	0.589	0.544	0.567	0.567	0.867	0.822	0.878	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	0.522	0.478	0.478	0.478	0.622	0.656	0.589	0.544	0.567	0.567	0.867	0.778	0.878	0.911	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	0.656	0.633	0.633	0.633	0.644	0.565	0.789	0.633	0.678	0.744	0.667	0.711	0.656	0.644	0.644	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	0.556	0.533	0.533	0.533	0.589	0.600	0.844	0.622	0.622	0.844	0.567	0.678	0.578	0.589	0.589	0.811	-	-	-	-	-	-	-	-
18	0.511	0.489	0.489	0.489	0.567	0.556	0.600	0.622	0.600	0.600	0.767	0.856	0.778	0.767	0.722	0.656	0.689	-	-	-	-	-	-	-
19	0.511	0.467	0.467	0.467	0.656	0.644	0.511	0.600	0.578	0.533	0.767	0.722	0.756	0.744	0.678	0.589	0.511	0.689	-	-	-	-	-	-
20	0.500	0.478	0.478	0.478	0.578	0.589	0.567	0.544	0.567	0.567	0.867	0.778	0.856	0.867	0.800	0.644	0.589	0.744	0.767	-	-	-	-	-
21	0.767	0.722	0.722	0.722	0.667	0.678	0.767	0.678	0.678	0.722	0.622	0.644	0.611	0.600	0.622	0.800	0.678	0.611	0.589	0.600	-	-	-	-
22	0.767	0.744	0.744	0.744	0.622	0.633	0.767	0.633	0.633	0.722	0.622	0.644	0.611	0.600	0.600	0.800	0.722	0.611	0.544	0.600	0.911	-	-	-
23	0.722	0.700	0.700	0.700	0.578	0.589	0.811	0.589	0.589	0.767	0600	0.622	0.589	0.578	0.556	0.778	0.767	0.589	0.522	0.578	0.844	0.911	-	-
24	0.689	0.667	0.667	0.667	0.544	0.556	0.822	0.556	0.556	0.778	0.567	0.589	0.556	0.544	0.522	0.744	0.756	0.578	0.489	0.544	0.833	0.878	0.967	-

ตารางที่ 10 ค่าสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงจากข้อมูลรูปแบบไอโซไซม์ของพืชสกุล *Vigna*

สายพันธุ์	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0.956	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0.956	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0.956	1.000	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	0.697	0.697	0.697	0.697	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0.697	0.697	0.697	0.697	0.989	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	0.697	0.697	0.697	0.697	0.889	0.889	0.632	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	0.697	0.697	0.697	0.697	0.889	0.889	0.632	0.956	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.956	0.632	0.632	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.781	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.989	0.781	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.872	0.781	0.872	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.872	0.781	0.872	0.911	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.781	0.632	0.632	0.781	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.844	0.632	0.632	0.844	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.781	-	-	-	-	-	-	-	-
18	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.781	0.856	0.781	0.781	0.781	0.000	0.000	-	-	-	-	-	-	-
19	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.732	0.732	0.732	0.732	0.732	0.000	0.000	0.732	-	-	-	-	-	-
20	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.847	0.781	0.847	0.847	0.847	0.000	0.000	0.781	0.732	-	-	-	-	-
21	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.763	0.632	0.632	0.763	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.763	0.763	0.000	0.000	0.000	-	-	-	-
22	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.763	0.632	0.632	0.763	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.763	0.763	0.000	0.000	0.000	0.911	-	-	-
23	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.763	0.632	0.632	0.763	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.763	0.763	0.000	0.000	0.000	0.867	0.867	-	-
24	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.632	0.763	0.632	0.632	0.763	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.763	0.763	0.000	0.000	0.000	0.867	0.867	0.967	-

ตารางที่ 11 การคำนวณมัลติวาเรียต แบบคลัสเตอร์ ของลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับรูปแบบไอโซไซม์

ii′	Dii′	Xii′	Zii′	Z′ii′	Weighted Wii′	D′
1,2	0.408	-0.956	-2.476	-2.287	-2.429	0.392
1,3	0.000	-0.956	-2.974	-2.287	-2.430	0.391
1,4	1.239	-0.956	-1.462	-2.287	-1.668	1.153
1,5	2.540	-0.722	0.127	-0.369	0.003	2.824
1,6	2.140	-0.733	-0.361	-0.459	-0.386	2.435
1,7	3.893	-0.600	1.779	0.631	1.492	4.313
1,8	2.250	-0.733	-0.227	-0.459	-0.285	2.536
1,9	3.027	-0.733	0.722	-0.459	0.427	3.248
1,10	2.719	-0.556	0.346	0.992	0.508	3.329
1,12	3.261	-0.544	1.007	1.090	1.028	3.849
1,15	2.091	-0.522	-0.421	1.270	0.002	2.823
1,16	2.583	-0.656	0.179	0.172	0.177	2.998
1,17	3.073	-0.556	0.778	0.992	0.832	3.653
1,18	3.677	-0.511	1.515	1.361	1.477	4.298
1,21	2.895	-0.767	0.560	-0.738	0.236	3.057
1,22	2.888	-0.767	0.552	-0.738	0.230	3.051
1,23	2.093	-0.722	-0.419	-0.369	-0.407	2.414
1,24	2.117	-0.689	-0.389	-0.098	-0.316	2.505
2,3	0.408	-1.000	-2.476	-2.648	-2.519	0.302
2,4	1.240	-1.000	-1.460	-2.648	-1.757	1.064
2,5	2.530	-0.678	0.115	-0.008	0.084	2.905
2,6	1.932	-0.689	-0.615	-0.098	-0.486	2.335
2,7	3.677	-0.578	1.515	0.811	1.339	4.160
2,8	2.038	-0.689	-0.486	-0.098	-0.389	2.432
2,9	2.818	-0.689	0.466	-0.098	0.325	3.146
2,10	2.504	-0.533	0.083	1.180	0.357	3.178
2,12	3.250	-0.522	0.994	1.270	1.063	3.884
2,15	2.283	-0.478	-0.187	1.631	0.268	3.089
2,16	2.570	-0.633	0.164	0.361	0.213	3.034
2,17	3.062	-0.533	0.764	1.180	0.868	3.689
2,18	3.452	-0.489	1.241	1.541	1.316	4.137
2,21	2.895	-0.722	0.560	-0.369	0.328	3.149
2,22	2.681	-0.744	0.299	-0.549	0.087	2.908
2,23	1.887	-0.700	-0.670	-0.189	-0.550	2.271
2,24	1.909	-0.667	-0.643	0.082	-0.462	2.359
3,4	1.237	-1.000	-1.464	-2.648	-1.760	1.061
3,5	2.496	-0.678	0.073	-0.008	0.053	2.874
3,6	2.110	-0.689	-0.398	-0.098	-0.323	2.498
3,7	3.812	-0.578	1.680	0.811	1.463	4.284

ตารางที่ 11 (ต่อ)

ii′	Dii′	Xii′	Zii′	Z′ii′	Weighted Wii′	D′
3,8	2.220	-0.689	-0.264	-0.098	-0.223	2.595
3,9	2.986	-0.689	0.672	-0.098	0.480	3.301
3,10	2.677	-0.533	0.294	1.180	0.516	3.337
3,12	3.211	-0.522	0.946	1.270	1.027	3.848
3,15	2.043	-0.478	-0.480	1.631	0.048	2.869
3,16	2.522	-0.633	0.105	0.361	0.169	2.990
3,17	3.022	-0.533	0.716	1.180	0.832	3.653
3,18	3.589	-0.489	1.408	1.541	1.441	4.262
3,21	2.894	-0.722	0.559	-0.369	0.327	3.148
3,22	2.889	-0.744	0.553	-0.549	0.278	3.099
3,23	2.087	-0.700	-0.426	-0.189	-0.367	2.454
3,24	2.106	-0.667	-0.403	0.082	-0.282	2.539
4,5	3.299	-0.678	1.054	-0.008	0.789	3.610
4,6	2.704	-0.689	0.327	-0.098	0.221	3.042
4,7	3.749	-0.578	1.603	0.811	1.405	4.226
4,8	2.817	-0.689	0.465	-0.098	0.324	3.145
4,9	2.757	-0.689	0.392	-0.098	0.270	3.091
4,10	3.063	-0.533	0.766	1.180	0.870	3.691
4,12	2.777	-0.522	0.416	1.270	0.630	3.451
4,15	2.427	-0.478	-0.011	1.631	0.400	3.221
4,16	2.679	-0.633	0.297	0.361	0.313	3.134
4,17	2.986	-0.533	0.672	1.180	0.799	3.620
4,18	3.939	-0.489	1.835	1.541	1.762	4.583
4,21	3.104	-0.722	0.816	-0.369	0.520	3.341
4,22	3.099	-0.744	0.810	-0.549	0.470	3.291
4,23	2.272	-0.700	-0.200	-0.189	-0.197	2.624
4,24	2.287	-0.667	-0.182	0.082	-0.116	2.705
5,6	1.071	-0.989	-1.667	-2.557	-1.890	0.931
5,7	2.556	-0.589	0.147	0.721	0.291	3.112
5,8	1.160	-0.900	-1.558	-1.828	-1.626	1.195
5,9	1.131	-0.878	-1.593	-1.648	-1.607	1.214
5,10	1.439	-0.611	-1.217	0.541	-0.778	2.043
5,12	1.855	-0.578	0.709	0.811	-0.329	2.492
5,15	1.954	-0.622	-0.589	0.451	-0.329	2.492
5,16	2.231	-0.644	-0.250	0.270	-0.120	2.701
5,17	2.072	-0.589	-0.444	0.721	-0.153	2.668
5,18	2.028	-0.567	-0.498	0.902	-0.148	2.673
5,20	3.119	- 0.667	0.834	0.082	0.646	3.467

ตารางที่ 11 (ต่อ)

ii′	Dii′	Xii′	Zii′	Z′ii′	Weighted Wii′	D′
5,21	3.119	-0.667	0.834	0.082	0.646	3.467
5,22	3.355	-0.622	1.122	0.451	0.954	3.775
5,23	3.030	-0.578	0.725	0.811	0.747	3.568
5,24	2.972	-0.544	0.654	1.090	0.763	3.584
6,7	2.366	-0.600	-0.085	0.631	0.094	2.915
6,8	1.337	-0.889	-1.342	-1.738	-1.441	1.380
6,9	1.159	-0.889	-1.559	-1.738	-1.604	1.217
6,10	1.676	-0.600	-0.928	0.631	-0.538	2.283
6,12	2.545	-0.589	0.133	0.721	0.280	3.101
6,15	2.220	-0.633	-0.264	0.361	-0.108	2.713
6,16	2.545	-0.656	0.133	0.172	0.143	2.964
6,17	2.547	-0.600	0.136	0.631	0.260	3.081
6,18	2.086	-0.556	-0.427	0.992	-0.072	2.749
6,21	2.734	-0.678	0.364	-0.008	0.271	3.092
6,22	2.549	-0.633	0.138	0.361	0.194	3.015
6,23	2.867	-0.589	0.526	0.721	0.575	3.396
6,24	2.833	-0.556	0.485	0.992	0.612	3.433
7,8	2.661	-0.622	0.275	0.451	0.319	3.140
7,9	2.260	-0.622	-0.215	0.451	-0.049	2.772
7,10	2.369	-0.956	-0.082	-2.287	-0.633	2.188
7,12	2.268	-0.633	-0.205	0.361	-0.064	2.757
7,15	2.192	-0.589	-0.298	0.721	-0.043	2.778
7,16	2.253	-0.789	-0.223	-0.918	-0.397	2.424
7,17	2.047	-0.844	-0.475	-1.369	-0.699	2.122
7,18	1.043	-0.600	-1.701	0.631	-1.118	1.703
7,21	3.398	-0.767	1.175	-0.738	0.697	3.518
7,22	3.251	-0.767	0.995	-0.738	0.562	3.383
7,23	3.388	-0.811	1.162	-1.098	0.597	3.418
7,24	3.045	-0.822	0.744	-1.189	0.261	3.082
8,9	0.846	-0.956	-1.941	-2.287	-2.028	0.793
8,10	1.152	-0.667	-1.568	0.082	-1.156	1.665
8,12	2.225	-0.633	-0.258	0.361	-0.103	2.718
8,15	1.697	-0.544	-0.902	1.090	-0.404	2.417
8,16	2.228	-0.633	-0.254	0.361	-0.100	2.721
8,17	2.024	-0.622	-0.503	0.451	-0.265	2.556
8,18	2.576	-0.622	0.171	0.451	0.241	3.062
8,21	3.050	-0.678	0.750	-0.008	0.561	3.382
8,22	2.862	-0.633	0.520	0.361	0.480	3.301
8,23	2.983	-0.589	0.668	0.721	0.681	3.502

ตารางที่ 11 (ต่อ)

ii′	Dii′	Xii′	Zii′	Z′ii′	Weighted Wii′	D′
8,24	2.948	-0.556	0.625	0.992	0.717	3.538
9,10	1.752	-0.644	-0.835	0.270	-0.559	2.262
9,12	1.965	-0.678	-0.575	-0.008	-0.433	2.388
9,15	2.063	-0.567	-0.455	0.902	-0.116	2.705
9,16	2.544	-0.678	0.132	-0.008	0.097	2.918
9,17	2.178	-0.622	-0.315	0.451	-0.124	2.697
9,18	1.950	-0.600	-0.593	0.631	-0.287	2.534
9,21	3 .405	-0. 678	1.183	-0.008	0.885	3.706
9,22	3.225	-0.633	0.963	0.361	0.813	3.634
9,23	3.308	-0.589	1.065	0.721	0.979	3.800
9,24	3.252	-0.556	0.996	0.992	0.995	3.816
10,12	2.274	-0.633	-0.198	0.361	-0.058	2.763
10,15	1.549	-0.567	-1.083	0.902	-0.587	2.234
10,16	2.238	-0.744	-0.242	-0.549	-0.319	2.502
10,17	2.073	-0.844	-0.443	-1.369	-0.675	2.146
10,18	2.462	-0.600	0.032	0.631	0.182	3.003
10,21	2.482	-0.722	0.056	-0.369	-0.050	2.771
10,22	2.300	-0.722	-0.166	-0.369	-0.217	2.604
10,23	2.795	-0.767	0.438	-0.738	0.144	2.965
10,24	2.740	-0.778	0.371	-0.828	0.071	2.892
12,15	1.543	-0.778	-1.090	-0.828	-1.025	1.796
12,16	1.370	-0.711	-1.302	-0.279	-1.046	1.775
12,17	0.413	-0.678	-2.470	-0.008	-1.855	0.966
12,18	2.135	-0.856	-0.368	-1.467	-0.643	2.178
12,21	3.219	-0.644	0.956	0.270	0.785	3.606
12,22	3.462	-0.644	1.253	0.270	1.007	3.828
12,23	3.109	-0.622	0822	0.451	0.729	3.550
12,24	3.041	-0.589	0.739	0.721	0.735	3.556
15,16	0.868	-0.644	-1.915	0.270	-1.369	1.452
15,17	1.341	-0.589	-1.337	0.721	-0.993	1.828
15,18	2.270	-0.722	-0.203	-0.369	-0.245	2.576
15,21	3.079	-0.622	0.785	0.451	0.702	3.523
15,22	3.112	-0.600	0.825	0.631	0.777	3.598
15,23	2.770	-0.556	0.408	0.992	0.554	3.375
15,24	2.707	-0.522	0.331	1.270	0.566	3.387
16,17	1.149	-0.811	-1.571	-1.098	-1.453	1.368
16,18	2.106	-0.656	-0.403	0.172	-0.259	2.562
16,21	3.347	-0.800	1.112	-1.008	0.582	3.403
16,22	3.598	-0.800	1.419	-1.008	0.812	3.633

ตารางที่ 11 (ต่อ)

ii′	Dii′	Xii′	Zii′	Z′ii′	Weighted Wii′	D′
16,23	2.771	-0.778	0.409	-0.828	0.100	2.921
16,24	2.682	-0.744	0.300	-0.549	0.088	2.909
17,18	1.923	-0.689	-0.626	-0.098	-0.494	2.327
17,21	2.831	-0.678	0.482	-0.008	0.360	3.181
17,22	3.067	-0.722	0.770	-0.369	0.485	3.306
17,23	2.698	-0.767	0.320	-0.738	0.056	2.877
17,24	2.629	-0.756	0.236	-0.648	0.015	2.836
18,21	4.212	-0.611	2.168	0.541	1.761	4.582
18,22	4.069	-0.611	1.994	0.541	1.631	4.452
18,23	3.984	-0.589	1.890	0.721	1.598	4.419
18,24	3.846	-0.578	1.722	0.811	1.494	4.315
21,22	0.210	-0.911	-2.718	-1.918	-2.518	0.303
21,23	1.475	-0.844	-1.173	-1.369	-1.222	1.599
21,24	1.494	-0.833	-1.150	-1.279	-1.182	1.639
22,23	1.683	-0.911	-0.919	-1.918	-1.169	1.652
22,24	1.705	-0.878	-0.893	-1.648	-1.082	1.739
23,24	0.004	-0.967	-2.969	-2.377	-2.821	0.000
Mean	2.436	.-0.677	-	-	-	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 ค่าสัมประสิทธิ์การเชื่อมโยงจากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับรูปแบบไอโซไซม์ ของพืชสกุล *Vigna*

สายพันธุ์	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	16	17	18	21	22	23	24
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0.392	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0.392	0.302	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	1.093	1.093	1.093	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	3.404	3.404	3.404	3.404	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	3.404	3.404	3.404	3.404	0.931	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	3.404	3.404	3.404	3.404	2.704	2.704	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	3.404	3.404	3.404	3.404	1.252	1.252	2.704	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	3.404	3.404	3.404	3.404	1.252	1.252	2.704	0.793	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	3.404	3.404	3.404	3.404	2.063	2.063	2.704	2.063	2.063	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	3.404	3.404	3.404	3.404	2.704	2.704	2.466	2.704	2.704	2.704	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	3.404	3.404	3.404	3.404	2.704	2.704	2.466	2.704	2.704	2.704	1.692	-	-	-	-	-	-	-	-
16	3.404	3.404	3.404	3.404	2.704	2.704	2.466	2.704	2.704	2.704	1.692	1.452	-	-	-	-	-	-	-
17	3.404	3.404	3.404	3.404	2.704	2.704	2.466	2.704	2.704	2.704	0.966	1.692	1.692	-	-	-	-	-	-
18	3.404	3.404	3.404	3.404	2.704	2.704	1.703	2.704	2.704	2.704	2.466	2.466	2.466	2.466	-	-	-	-	-
21	2.807	2.807	2.807	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	-	-	-	-
22	2.807	2.807	2.807	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	0.303	-	-	-
23	2.807	2.807	2.807	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	1.657	1.657	-	-
24	2.807	2.807	2.807	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	3.404	1.657	1.657	0.000	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว ธนาทิพย์ ศิลปวัฒนกุล เกิดวันที่ 17 มิถุนายน พ.ศ.2520 ที่จังหวัดนครนายก สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ในปีการศึกษา 2540 ในปีการศึกษา 2541 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพันธุศาสตร์ ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย