

Abstract

Zombi pea (*Vigna vexillata*) is an underutilized legume species that has potential to be gene sources for biotic and abiotic stress resistance in crop improvement. In this study, I report (i) screening for resistance/tolerance to salt stress, bruchids (seed weevils; azuki bean weevil and cowpea weevils) and waterlogging in zombi pea, (ii) quantitative trait locus (QTL)/gene mapping for salt stress resistance and bruchid resistance in zombi pea and (iii) genetic diversity and structure of zombi pea. The screening revealed some germplasm are tolerant to salt stress, many germplasm are resistant to azuki bean weevil (*Callosobruchus chinensis*) and cowpea weevil (*C. maculatus*), and some germplasm are tolerant to 1-month waterlogging. QTL analysis for salt resistance (250 mM NaCl) in zombi pea F₂ population of the cross JP235908 (tolerant) x TVNu240 (susceptible) revealed two QTLs, named *qSaltol1.1*- on linkage 1 and *qSaltol2.1*- on linkage group 2, conferring the salt resistance. Comparative genome analysis revealed that *qSaltol1.1*- is possibly the same locus with major QTL *Saltol1.1*- conferring salt resistance in beach cowpea (*Vigna marina*), a halophytic species, and that two genes encoding for plasma membrane proton-ATPase and a gene coding for cation/proton exchanger are candidates for the salinity resistance in zombi pea and beach cowpea. QTL analysis for resistance to *C. chinensis* and *C. maculatus* in zombi pea F₂ population of the cross TVNu240 (resistant) x TVNu1623 (susceptible) revealed one major and three minor QTLs for *C. chinensis* resistance and one major and one minor QTLs for *C. maculatus* resistance. The major QTLs on linkage group 6 for the resistance to *C. chinensis* and for *C. maculatus* appeared to be the same locus, named *qBr6.1*. Comparative genome analysis suggested that a gene coding alpha-amylase inhibitor is candidate gene for the bruchid resistance in zombi pea. Genetic diversity analysis of 422 accessions of zombi pea from diverse origins using 20 simple sequence repeat (SSR) markers showed that (i) zombi pea from Africa possess highest genetic diversity, (ii) zombi pea accessions were clustered into three major groups, viz. America, Africa and Asia, and Australia. American and Australian accessions are originated from East African zombi pea, and (iii) the cultivated accessions from Africa and Asia were genetically distinct, while those from America were clustered with some cultivated accessions from Africa. The results suggest that Africa is the center of origin and diversity of zombi pea, and that domestication of this pea took place more than once in different regions. The results in these study provide knowledge and tools for gene mining in zombi pea for genetic improvement of future crops.

บทคัดย่อ

ถั่วซอมบี้ (*Vigna vexillata*) เป็นพืชตระกูลถั่วที่มีการใช้ประโยชน์น้อย แต่มีศักยภาพที่จะใช้เป็นแหล่งของยีนสำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และต่อโรคและแมลง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) คัดกรองหาเชื้อพันธุกรรมถั่วซอมบี้ที่ต้านทานต่อด้วงเจาะเมล็ดถั่ว ความเค็ม และน้ำท่วมขัง (2) ค้นหาตำแหน่งยีน (quantitative trait locus; QTL) หรือที่ควบคุมความต้านทานต่อความเค็มในถั่วซอมบี้ และ (3) ค้นหาตำแหน่งของ QTL ที่ควบคุมความต้านทานต่อด้วงเจาะเมล็ดถั่วเหลือง (*Callosobruchus chinensis*) และด้วงเจาะเมล็ดถั่วเขียว (*Callosobruchus maculatus*) ความเค็ม (100 mM NaCl) ในถั่วซอมบี้ การคัดกรอง พบว่า (1) ถั่วซอมบี้ส่วนใหญ่พันธุ์ (accession) มีความต้านทานต่อด้วงถั่วทั้งสองชนิด (2) ถั่วซอมบี้บางพันธุ์มีความเค็ม และ (3) ถั่วซอมบี้ส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อน้ำท่วมขังนาน 1 เดือน การค้นหาตำแหน่ง QTL ที่ควบคุมความต้านทานต่อความเค็ม (250 mM) ในประชากรถั่วซอมบี้ F₂ จากคู่ผสม JP235908 (ต้านทาน) x TVNu240 (อ่อนแอ) เผยให้เห็นว่า มี QTL 2 ตำแหน่ง คือ *qSaltol1.1*- บนกลุ่มลิงค์เกจ 1 และ *qSaltol2.1*- บนกลุ่มลิงค์เกจ ที่ควบคุมความต้านทานต่อความเค็ม การวิเคราะห์จีโนมเปรียบเทียบแสดงให้เห็นว่า *qSaltol1.1*- นั้นอาจจะเป็นตำแหน่งเดียวกันกับ *Saltol1.1*- ซึ่งเป็น QTL หลักที่ควบคุมความต้านทานต่อความเค็มในถั่ว beach cowpea (*Vigna marina*) ซึ่งเป็นพืชชายหาด (halophyte) และแสดงให้เห็นว่ายีนที่สร้าง plasma membrane proton-ATPase และยีนที่สร้าง cation/proton exchanger อาจเป็นยีนที่ทำให้เกิดความต้านทานต่อความเค็มในถั่วซอมบี้และ beach cowpea การค้นหาตำแหน่ง QTL ที่ควบคุมความต้านทานต่อด้วงเจาะเมล็ดถั่ว ในประชากรถั่วซอมบี้ F₂ จากคู่ผสม TVNu240 (ต้านทาน) x TVNu1623 (อ่อนแอ) เผยให้เห็นว่า มี QTL 4 ตำแหน่งที่ควบคุมความต้านทานต่อด้วงถั่วเหลือง และมี QTL 2 ตำแหน่งที่ควบคุมความต้านทานต่อด้วงถั่วเขียว QTL หลักที่ควบคุมความต้านทานต่อด้วงทั้งสองชนิดอยู่บนกลุ่มลิงค์เกจที่ 6 และอาจเป็นตำแหน่งเดียวกันและให้ชื่อว่า *qBr6.1* การวิเคราะห์จีโนมเปรียบเทียบแสดงให้เห็นว่ายีนที่สร้าง alpha-amylase inhibitor อาจเป็นยีนที่ทำให้เกิดความต้านทานต่อด้วงเจาะเมล็ดถั่วในถั่วซอมบี้ การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อพันธุกรรมถั่วซอมบี้จำนวน 422 พันธุ์ จากแหล่งต่างๆ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ simple sequence repeat (SSR) จำนวน 20 เครื่องหมาย เผยให้เห็นว่า (1) ถั่วซอมบี้จากทวีปแอฟริกามีความหลากหลายมากที่สุด (2) ถั่วซอมบี้แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ทวีปอเมริกา ทวีปแอฟริกา กับ เอเชีย และทวีปออสเตรเลีย และถั่วซอมบี้จากทวีปอเมริกากับออสเตรเลียนั้นมีที่มาจากถั่วซอมบี้จากทวีปแอฟริกาตะวันออก และ (3) ถั่วซอมบี้พันธุ์ปลูกจากทวีปแอฟริกาและจากทวีปเอเชียมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมอย่างชัดเจน ในขณะที่พันธุ์ปลูกจากทวีปอเมริกามีพันธุกรรมเหมือนกับพันธุ์ปลูกจากทวีปแอฟริกา ผลการทดลองเหล่านี้ชี้ว่า ทวีปแอฟริกาเป็นแหล่งกำเนิดและศูนย์กลางความหลากหลายทางพันธุกรรมของถั่วซอมบี้ ผลการศึกษาทั้งหมดนี้เป็นประโยชน์ต่อการค้นหายีนที่เป็นประโยชน์ในถั่วซอมบี้เพื่อใช้ปรับปรุงพันธุ์พืชในอนาคต