

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของฟักทองญี่ปุ่นพันธุ์การค้า (*Cucurbita maxima*) ในประเทศไทย โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์

Genetic Diversity of Commercial Japanese Pumpkins (*Cucurbita maxima*) in Thailand using SSR Markers

ศิกษก แป้นห้วย¹, กนกวรรณ จันทร์เพ็ญ², เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี³, ทวีป เสนคำวงศ์¹,
สุเทพ วัชรเวชศฤงคาร¹ และแสงทอง พงษ์เจริญกิต^{2*}

Siksaka Paenhuai¹, Kanokwan Janphen², Chalerm Sri Nontaswatsri³, Thaveep Senkhamwong¹,
Suthep Watcharawetsaringkharn¹ and Saengtong Pongjaroenkit^{2*}

Received date: 10 ก.ย. 68 Revised date: 25 ธ.ค. 68 Accepted date: 23 ม.ค. 69

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2026.268972>

บทคัดย่อ

ความหลากหลายทางพันธุกรรมเป็นปัจจัยสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์พืช ปัจจุบันข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมของฟักทองญี่ปุ่น (*Cucurbita maxima*) ในประเทศไทยยังมีจำกัด ในการศึกษาครั้งนี้ วัตถุประสงค์ประเมินประสิทธิภาพของเครื่องหมายเอสเอสอาร์ เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม โครงสร้างประชากรของฟักทองญี่ปุ่นพันธุ์การค้าจำนวน 25 หมายเลข ร่วมกับการศึกษาลักษณะผล การจัดกลุ่มโดยใช้วิธี Unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) ผลการคัดเลือกเครื่องหมายเอสเอสอาร์ มี 34 เครื่องหมาย ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน จำนวน 93 แถบ จากแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 95 แถบ (97.89%) มีค่า Polymorphic information content (PIC) และ Expected heterozygosity (H_e) เฉลี่ยเท่ากับ 0.26 และ 0.29 ตามลำดับ ซึ่งเครื่องหมาย CMTp17, CMTmC43 และ CMTm11 มีค่า PIC และ H_e สูงกว่า 0.5 จึงเป็นเครื่องหมายที่มีประสิทธิภาพสูงในการจำแนกพันธุ์ โดยฟักทองญี่ปุ่นแสดงค่าดัชนีความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.57-1.00 มีค่าเฉลี่ย 0.78 การจัดกลุ่มด้วยลักษณะของผลสามารถจำแนกออกเป็น 3 กลุ่ม ตามลักษณะสีของผิวผล น้ำหนักผล และรูปร่างผล ส่วนการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ ได้ 3 กลุ่ม และเป็นกลุ่มย่อยที่มีบรรพบุรุษร่วมกัน 4 เคลด ผลการวิเคราะห์โครงสร้างประชากรจัดได้ 3 ประชากรย่อย แสดงลักษณะเป็นการผสมทางพันธุกรรม ซึ่งการจัดกลุ่มด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์มีแนวโน้มสัมพันธ์กับลักษณะรูปร่างผล จากข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าฟักทองญี่ปุ่นพันธุ์การค้าที่นำมาศึกษามีความหลากหลายทางพันธุกรรมปานกลาง อีกทั้งเครื่องหมายเอสเอสอาร์ และดัชนีความเหมือนทางพันธุกรรมจากการศึกษาครั้งนี้ สามารถใช้ในการจัดจำแนกพันธุ์ และการคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ฟักทองญี่ปุ่นต่อไป

คำสำคัญ: ฟักทอง *Cucurbita maxima* เครื่องหมายเอสเอสอาร์ ความหลากหลายทางพันธุกรรม โครงสร้างประชากร

Abstract

Genetic diversity is a fundamental component in plant breeding programs. Currently, studies on the genetic diversity of Japanese pumpkin (*Cucurbita maxima*) in Thailand using SSR (Simple Sequence Repeat) markers remain limited. Accordingly, this study aimed to evaluate the effectiveness of Simple Sequence Repeat (SSR) markers in assessing genetic diversity and population structure alongside fruit morphological characterization of 25 commercial Japanese pumpkin accessions. Cluster analysis was performed using the Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA). A total of 34 SSR markers generated 93 polymorphic bands out of 95 total bands (97.89%). The average Polymorphic Information Content (PIC) and Expected Heterozygosity (H_e) were 0.26 and 0.29, respectively. Notably, markers CMTp17, CMTmC43, and CMTm11 exhibited PIC and H_e values exceeding 0.5, indicating their high effectiveness in genetic differentiation. Genetic similarity coefficients ranged from 0.57 to 1.00, with an average of 0.78. Fruit trait-based clustering classified the accessions into three groups, primarily differentiated by skin color, fruit weight, and fruit shape.

¹ สาขาพืชผัก คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

² สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

³ สาขาพืชสวนประดับ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

¹ Division of Vegetable Technology, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290

² Division of Genetics, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290

³ Division of Ornamental Horticulture, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290

* Corresponding author: saengtong@mju.ac.th

Based on SSR marker analysis, the accessions were categorized into three clusters and further resolved into four clades. Population structure analysis identified three genetic clusters, indicating admixture among accessions. Grouping based on SSR markers tended to be associated with fruit shape traits. These findings demonstrate that the commercial Japanese pumpkin accessions studied possess moderate genetic diversity. The informative SSR markers and genetic similarity coefficients identified in this study can be effectively utilized for cultivar classification and for selecting genetically distant parental lines to support the Japanese pumpkin breeding programs.

Keywords: pumpkin, *Cucurbita maxima*, SSR marker, genetic diversity, population structure

คำนำ

ฟักทอง ($2n = 40$) เป็นพืชในวงศ์ Cucurbitaceae ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกากลาง ฟักทอง 3 ชนิด ที่นิยมปลูกอย่างแพร่หลายในเขตร้อน เจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศอบอุ่น ได้แก่ *Cucurbita pepo*, *C. moschata* และ *C. maxima* (Paris, 2016) ประเทศไทยนิยมปลูกฟักทองญี่ปุ่น (*C. maxima*) ในเขตพื้นที่สูงทางภาคเหนือ เนื่องจากมีลักษณะที่แตกต่างจากฟักทองพื้นเมืองของไทย คือ มีเนื้อแน่นเหนียว รสชาติดี และคุณค่าทางอาหารสูง จึงทำให้มีความต้องการของตลาดเพิ่มขึ้น (Theanjumol et al., 2021) พันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทยเป็นพันธุ์การค้าที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ทำให้มีลักษณะคล้ายคลึงกัน ซึ่งการตรวจสอบพันธุ์ด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวอาจไม่สามารถจำแนกได้อย่างชัดเจน จึงมีแนวคิดนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาช่วยตรวจสอบความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของฟักทองญี่ปุ่นพันธุ์การค้าในประเทศไทย เนื่องจากมีความแม่นยำ รวดเร็ว มีประสิทธิภาพ และไม่มีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง

เครื่องหมายเอสเอสอาร์ (Simple Sequence Repeat; SSR) หรือเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลต์ เป็นเครื่องหมายแบบข่มร่วม (Co-dominance) สามารถจำแนกสายพันธุ์พืชที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม โดยเฉพาะพืชที่มีฐานพันธุกรรมแคบ (Katengam, 2003) มีการนำไปประยุกต์ใช้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม การสร้างแผนที่พันธุกรรม การใช้เป็นเครื่องหมายช่วยในการคัดเลือก และการจำแนกกลุ่มผสม (Amiteye, 2021) เช่น ฝรั่ง (Sara et al., 2024) มันสำปะหลัง (Ngorian et al., 2022) Rapeseed (Chen et al., 2020) ส่วนในพืชกลุ่มฟักทองได้พัฒนาเครื่องหมายเอสเอสอาร์ สำหรับสกุล *Cucurbita* จำนวน 500 เครื่องหมายที่พัฒนาจาก *C. moschata* และ *C. pepo* (Gong et al., 2008)

เครื่องหมายเอสเอสอาร์เหล่านี้ได้ถูกนำไปศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของฟักทองจำนวนมาก เช่น การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของต้นตอ *Cucurbita* ของฟักทองพันธุ์การค้า จำนวน 25 พันธุ์ และสายพันธุ์แท้ จำนวน 10 พันธุ์ พบว่าพันธุ์ต้นตอส่วนใหญ่ เป็นลูกผสมระหว่าง *C. maxima* × *C. moschata* ลูกผสมเหล่านี้มีพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกัน นอกจากนี้ยังพบว่า *C. moschata* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง (Kong et al., 2014) การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *Cucurbita* จำนวน 612 หมายเลข จากธนาคารเชื้อพันธุกรรมของประเทศญี่ปุ่นด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ พบว่าเชื้อพันธุกรรม *C. moschata*, *C. maxima* และ *C. pepo* ของประเทศญี่ปุ่นมีความหลากหลายทางพันธุกรรมน้อยกว่าเชื้อพันธุกรรมที่มาจากต่างประเทศ (Chen et al., 2021) การนำเครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 23 เครื่องหมาย ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *C. maxima* จำนวน 85 หมายเลข สามารถแบ่ง *C. maxima* ออกเป็น 2 กลุ่มหลัก กลุ่มที่ 1 ส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดในเอเชีย สหรัฐอเมริกา และโปแลนด์ กลุ่มที่ 2 เป็นพันธุ์พื้นเมืองที่มาจากยุโรปกลาง พันธุ์จากสหรัฐอเมริกาและยุโรปตะวันออก (Kaźmińska et al., 2017) การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมในพันธุ์ฟักทอง *C. pepo* จำนวน 47 จีโนไทป์ ด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 16 เครื่องหมาย ได้แถบดีเอ็นเอ 29 แถบ จาก 49 แถบที่มีลักษณะเป็นพอลิมอร์ฟิก สามารถจัดกลุ่มได้ 6 กลุ่ม ซึ่งมีค่าความเหมือนอยู่ระหว่าง 0.68 ถึง 1.00 (Coşkun, 2022) การศึกษาความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมฟักทอง *C. maxima* และ *C. pepo* พบว่าลักษณะสัณฐานวิทยาที่เกี่ยวข้องกับลักษณะผลมีความแปรปรวนสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับเครื่องหมายเอสเอสอาร์ที่ใช้แสดงแถบพอลิมอร์ฟิก 85.89 เปอร์เซ็นต์ (Liu et al., 2013) การวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ของฟักทอง *C. maxima* ในประเทศตุรกี พบความแปรปรวนอย่างกว้างของลักษณะลำต้น ดอก ผล และใบ และวิเคราะห์โครงสร้างทางพันธุกรรมค่าที่เหมาะสมที่ได้ $K = 3$ (Bulut et al., 2022)

การศึกษความหลากหลายทางพันธุกรรมของฟักทองญี่ปุ่น ในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ ปัจจุบันยังไม่มีมาก งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ประเมินประสิทธิภาพของเครื่องหมายเอสเอสอาร์ เพื่อนำมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมโครงสร้างประชากรของฟักทองญี่ปุ่นพันธุ์การค้า ร่วมกับการศึกษาลักษณะผล ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้จากการศึกษานี้คาดว่า จะสามารถ

นำไปใช้ในการจำแนกพันธุ์ และสนับสนุนการคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์ฟักทองญี่ปุ่นต่อไปในอนาคต

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างฟักทอง

ฟักทองที่ใช้ทั้งหมด จำนวน 29 หมายเลข (Accessions) อยู่ในกลุ่ม *C. maxima* จำนวน 25 หมายเลข เป็นฟักทองญี่ปุ่น พันธุ์การค้าจำหน่ายในประเทศไทย Squash; SQ ได้แก่ SQ01-SQ25 โดยมี *C. pepo* จำนวน 1 หมายเลข ได้แก่ ฟักทองฮาโลวีน (Halloween pumpkin/Common field pumpkin; HP01) และ *C. moschata* จำนวน 3 หมายเลข Pumpkin; PK และ Butternut; BT ได้แก่ PK01, BT01 และ BT02 เป็นตัวเปรียบเทียบกับ (Outgroup) (Table 1)

การปลูก และการเก็บข้อมูลลักษณะของผล โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCBD) ในแต่ละบล็อกปลูกทุกหมายเลข จำนวนละ 5 ต้น จำนวน 3 บล็อก ระยะปลูก 50 เซนติเมตร แบบขึ้นค้ำ หลังจากเพาะกล้าจะทำการย้ายปลูกเมื่อต้นกล้ามีใบจริง 1-2 ใบ ในช่วงเดือนมกราคม 2567 ณ จังหวัดเชียงใหม่ ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังดอกบานประมาณ 5-6 สัปดาห์ จากนั้นทำการเก็บข้อมูลลักษณะผล ได้แก่ ลักษณะสีของผิวผล (Fruit skin color) น้ำหนักผล (Fruit weight) ความยาวของผล (Fruit length) และความกว้างของผล (Fruit width) โดยนำน้ำหนักผลมาจัดกลุ่มเป็นขนาดของผล (Size) ใช้เกณฑ์จากข้อมูลขนาดผลของเมล็ดพันธุ์ที่จำหน่าย ดังนี้ น้ำหนักน้อยกว่า 1.00 กิโลกรัม เป็นขนาดเล็ก (S) น้ำหนัก 1.01-2.00 กิโลกรัม เป็นขนาดกลาง (M) น้ำหนัก 2.01-3.00 กิโลกรัม เป็นขนาดใหญ่ (L) และน้ำหนักมากกว่า 3.00 กิโลกรัม เป็นขนาดใหญ่มาก (XL) นำอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของผล (Length : width ratio) มาจัดจำแนกรูปร่างผล โดยหากมีค่าน้อยกว่า 0.65 จัดเป็นรูปร่างผลแบน (Flattened/Oblate) หากมีค่า 0.65-1.00 จัดเป็นรูปร่างผลกลม (Globular) และมากกว่า 1.00 มีรูปร่างผลลูกแพร์ (Pyriform) (Ferriol et al., 2004; Lee et al., 2023)

การจัดกลุ่มด้วยลักษณะผล

นำข้อมูลลักษณะสีของผิวผล น้ำหนักผล ความยาวของผล ความกว้างของผล และอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของผล โดยให้คะแนนลักษณะสีของผิวผล ได้แก่ สีเขียว สีส้ม สีครีมขาว และสีครีมเหลือง เป็น 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ นำข้อมูลทั้ง 5 ลักษณะปรับเป็นค่ามาตรฐาน (Standardization) แล้วนำไปวิเคราะห์จัดกลุ่ม ด้วยโปรแกรม Past 4.17 ใช้วิธีการจัดกลุ่มแบบ Classical clustering/Unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) และ Similarity index แบบ Euclidean (Kurnianingsih et al., 2025)

การสกัดดีเอ็นเอและการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

นำใบต้นกล้าอายุ 14 วัน จำนวน 1 ต้น มาสกัดดีเอ็นเอ โดยวิธี CTAB ประยุกต์ (Hwang and Kim, 2000) ตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอด้วยการทำ 1% Agarose gel electrophoresis จากนั้นทำการปรับความเข้มข้นของดีเอ็นเอเป็น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร และเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ปฏิบัติการประกอบด้วย ดีเอ็นเอประมาณ 10 นาโนกรัม บัฟเฟอร์สำเร็จรูป 1 เท่า exTEN PCR Master Mix (1st BASE, Singapore) เครื่องหมายความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 ไมโครโมลาร์ สภาวะที่ใช้ 95 องศาเซลเซียส 3 นาที ตามด้วย 40 รอบ ของ 95 องศาเซลเซียส 15 วินาที 50-58 องศาเซลเซียส (ขึ้นอยู่กับเครื่องหมาย) 15 วินาที และ 72 องศาเซลเซียส 15 วินาที สุดท้าย 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที เครื่องหมายที่ใช้ในการทดสอบคือ เครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 40 เครื่องหมาย (Gong et al., 2008) ตรวจสอบผลการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วย 4% Agarose gel electrophoresis

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

นำแถบดีเอ็นเอ มาให้คะแนน คือ ปรากฏแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 1 และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอเท่ากับ 0 แล้วนำไปวิเคราะห์ค่า Polymorphic information content (PIC) และค่า Expected heterozygosity (H_e) ด้วยโปรแกรม MolMarker version 1.0 (Jahnke et al., 2022) พร้อมทั้งคำนวณค่าดัชนีความเหมือน (Similarity coefficient) ด้วยวิธี Jaccard ใช้วิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA ด้วยโปรแกรม FreeTree version 0.9.1.50 (Pavlicek et al., 1999) และแสดงแผนภาพ Dendrogram ด้วยโปรแกรม FigTree version 1.4.4 (Rambaut, 2018)

การวิเคราะห์โครงสร้างประชากร

นำคะแนนการปรากฏ หรือไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของฟักทองญี่ปุ่น ทั้งหมด 25 หมายเลข วิเคราะห์โครงสร้างประชากร ด้วยโปรแกรม Structure version 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) โดยตั้งค่า Parameter set กำหนดจำนวนกลุ่ม (K) อยู่ในช่วง 1-10 ทำซ้ำ 5 ครั้ง ใช้ Burn in Period จำนวน 100,000 ครั้ง และ Markov Chain Monte Carlo (MCMC) จำนวน 100,000

ครั้ง (Kaźmińska et al., 2017) ผลลัพธ์จาก Structure แสดงด้วย Structure Selector (Li and Liu, 2018) แล้ววิเคราะห์ ad hoc statistic ΔK (Evanno et al., 2005) เพื่อเลือกค่าจำนวนกลุ่มประชากรย่อย (K) ที่เหมาะสมที่สุด

โดยกำหนดให้ตัวอย่างที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความเป็นสมาชิก (Q-value) มากกว่า 0.77 เป็นตัวอย่างที่มีพันธุกรรมบริสุทธิ์ในกลุ่มประชากรย่อยนั้น (Pure accession) และตัวอย่างที่มีค่า Q น้อยกว่า 0.77 เป็นตัวอย่างพันธุกรรมผสม (Admixed accession) (Kaźmińska et al., 2017)

Table 1 Fruit characters of *C. maxima*, *C. pepo*, and *C. moschata* accessions, including fruit skin color, fruit weight, size, fruit length, fruit width, length: width ratio, and fruit shape

No.	Accessions	Fruit skin color	Fruit weight (kg)	Size	Fruit length (cm)	Fruit width (cm)	Length: width ratio	Fruit shape
1	SQ01	Green	0.58±0.06	S	6.49±0.25	12.23±0.82	0.53±0.05	Flattened
2	SQ02	Green	0.76±0.01	S	7.81±0.48	12.37±0.30	0.63±0.04	Flattened
3	SQ03	Green	0.65±0.03	S	6.42±0.13	12.43±0.30	0.52±0.02	Flattened
4	SQ04	Green	1.57±0.10	M	9.73±0.60	16.91±0.54	0.58±0.02	Flattened
5	SQ05	Orange	1.77±0.57	M	11.54±1.93	16.97±2.15	0.68±0.03	Globular
6	SQ06	Green	1.02±0.20	M	7.49±0.41	14.22±0.76	0.53±0.02	Flattened
7	SQ07	Green	0.78±0.04	S	6.34±0.12	13.29±0.37	0.48±0.02	Flattened
8	SQ08	Green	1.76±0.13	M	11.56±0.49	16.75±0.14	0.69±0.03	Globular
9	SQ09	Green	0.60±0.05	S	6.61±0.27	12.04±0.90	0.55±0.06	Flattened
10	SQ10	Orange	1.48±0.25	M	12.72±1.17	15.29±0.99	0.83±0.04	Globular
11	SQ11	White cream	2.40±0.47	L	12.33±1.43	18.37±1.13	0.67±0.04	Globular
12	SQ12	Green	1.87±0.34	M	13.08±1.06	17.09±1.40	0.77±0.03	Globular
13	SQ13	Orange	2.09±0.28	L	13.76±1.24	16.89±0.85	0.81±0.04	Globular
14	SQ14	Green	1.60±0.22	M	9.81±0.37	17.37±1.19	0.57±0.03	Flattened
15	SQ15	Orange	1.76±0.19	M	11.43±0.43	17.04±1.09	0.67±0.06	Globular
16	SQ16	Green	0.66±0.10	S	7.42±0.23	12.37±0.35	0.60±0.02	Flattened
17	SQ17	Green	1.83±0.30	M	11.58±0.39	17.45±1.23	0.66±0.03	Globular
18	SQ18	Green	2.15±0.13	L	11.33±0.23	19.00±0.50	0.60±0.02	Flattened
19	SQ19	Green	0.74±0.16	S	7.76±0.71	12.66±1.02	0.61±0.04	Flattened
20	SQ20	Orange	1.43±0.33	M	13.03±1.56	14.68±0.89	0.89±0.06	Globular
21	SQ21	Green	1.26±0.13	M	12.09±0.83	14.41±0.76	0.84±0.04	Globular
22	SQ22	Green	1.44±0.32	M	10.67±0.59	15.47±1.62	0.69±0.06	Globular
23	SQ23	Green	1.64±0.45	M	10.68±0.57	16.81±2.42	0.64±0.08	Flattened
24	SQ24	Orange	2.66±0.45	L	16.96±4.48	18.80±1.47	0.91±0.28	Globular
25	SQ25	Orange	2.04±0.35	L	12.83±1.22	17.15±1.05	0.75±0.05	Globular
26	HP01	Orange	5.00±1.64	XL	23.03±3.09	23.03±2.68	1.00±0.12	Globular
27	PK01	Green	2.32±0.29	L	12.14±0.98	18.52±0.60	0.65±0.03	Globular
28	BT01	Green	0.82±0.07	S	13.40±1.12	10.33±0.77	1.30±0.14	Pyriform
29	BT02	Yellow cream	0.69±0.13	S	16.81±0.46	9.43±0.50	1.78±0.08	Pyriform

Abbreviations: SQ=squash, HP=Halloween pumpkin, PK=pumpkin, BT=butternut. Fruit size: S (<1.00 kg), M (1.01-2.00 kg), L (2.01-3.00 kg), XL (>3.00 kg). Fruit shape (length: width ratio): Flattened (<0.65), Globular (0.65-1.00), Pyriform (>1.00).

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การจัดกลุ่มด้วยลักษณะผล

ลักษณะสีของผิวผล น้ำหนักผล ความยาวของผล ความกว้างของผล และอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของผล (รูปร่างผล) ของฟักทอง 29 หมายเลข (Table 1) พบว่าลักษณะสีของผิวผล ส่วนใหญ่มีสีของผิวผลสีเขียว จำนวน 19 หมายเลข (65.52%) สีของผิวผลสีส้ม จำนวน 8 หมายเลข (27.58%) สีของผิวผลสีครีมขาว จำนวน 1 หมายเลข (3.45%) และสีของผิวผลสีครีมเหลือง จำนวน 1 หมายเลข (3.45%) น้ำหนักผล อยู่ในช่วง 0.58-5.00 กิโลกรัม มีค่าเฉลี่ย 1.63 กิโลกรัม จัดเป็นผลขนาดเล็ก (S) จำนวน 9 หมายเลข (31.03%) ผลขนาดกลาง (M) จำนวน 13 หมายเลข (44.83%) ผลขนาดใหญ่ (L) จำนวน 6 หมายเลข (20.69%) และผลขนาดใหญ่มาก (XL) จำนวน 1 หมายเลข (3.45%) ความยาวของผล อยู่ในช่วง 6.34-23.03 เซนติเมตร มีค่าเฉลี่ย 11.58 เซนติเมตร ความกว้างของผล อยู่ในช่วง 9.43-23.03 เซนติเมตร มีค่าเฉลี่ย 15.73 เซนติเมตร และอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างของผล อยู่ในช่วง 0.48-1.78 มีค่าเฉลี่ย 0.75 จัดเป็นกลุ่มรูปร่างผลแป้น จำนวน 12 หมายเลข (41.38%) รูปร่างผลกลม จำนวน 15 หมายเลข (51.72%) และรูปร่างผลลูกแพร์ จำนวน 2 หมายเลข (6.90%) (Figure 1)

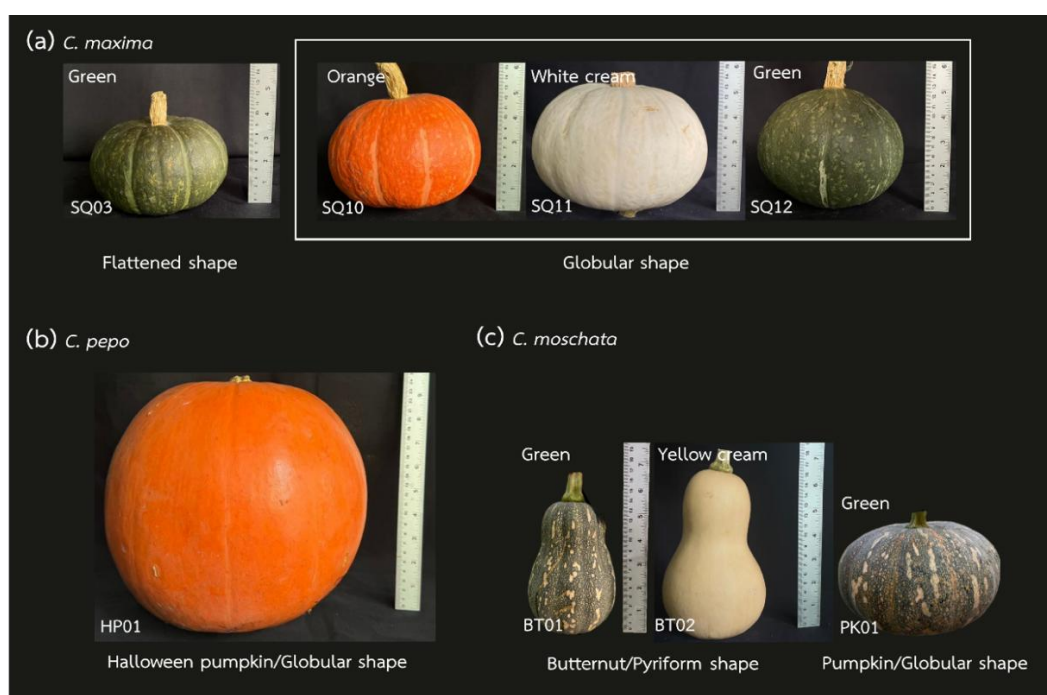


Figure 1 Fruit characters of the studied accessions. (a) *C. maxima* fruit shape with various skin colors (white cream, green and orange). (b) *C. pepo*. (c) *C. moschata*.

การจัดกลุ่มด้วยลักษณะผล จำนวน 5 ลักษณะ สามารถแยกตัวอย่าง *C. moschata* กลุ่ม Butternut และ *C. pepo* ได้ ในขณะที่ตัวอย่าง PK01 ยังอยู่ในกลุ่มเดียวกับฟักทองญี่ปุ่น อาจเนื่องมาจากกลุ่ม Butternut มีรูปร่างของผลที่แตกต่างจากตัวอย่างอื่น ส่วนฟักทองฮาโลวีน มีผลขนาดใหญ่กว่าฟักทองญี่ปุ่น

ฟักทองญี่ปุ่นจัดเป็น 3 กลุ่มใหญ่ (Figure 2) ได้แก่ กลุ่มที่ 1 จำนวน 2 หมายเลข เป็นกลุ่มผลขนาดใหญ่ กลุ่มที่ 2 จำนวน 15 หมายเลข แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย กลุ่มที่ 2.1 จำนวน 9 หมายเลข สีของผิวผลสีเขียว ผลขนาดกลาง กลุ่มที่ 2.2 จำนวน 6 หมายเลข สีของผิวผลสีส้ม ผลขนาดกลาง และกลุ่มที่ 3 จำนวน 8 หมายเลข สีของผิวผลสีเขียว ผลขนาดเล็ก และรูปร่างแป้น

การจัดกลุ่มฟักทองญี่ปุ่นด้วยลักษณะผลมีแนวโน้มการจัดกลุ่มตามลักษณะสีของผิวผล น้ำหนักผล และรูปร่างผล ซึ่งบ่งชี้ว่า ความยาวของผล ความกว้างของผล และน้ำหนักผล มีอิทธิพลต่อการจัดกลุ่มฟักทอง เช่นเดียวกับการจัดกลุ่มด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาของฟักทอง *C. maxima* ในประเทศสเปน (Ferriol et al., 2004) อีกทั้งการศึกษาสัณฐานวิทยาของฟักทอง *C. maxima* ในประเทศจีน พบลักษณะความยาวของผล ความกว้างของผล และน้ำหนักผล มีความหลากหลายสูง (Zhao et al., 2017) ซึ่งตรงกับการจัดกลุ่มในการศึกษานี้ ซึ่งลักษณะผลดังกล่าวจะสามารถนำไปใช้ในการจัดกลุ่มฟักทองได้ต่อไป

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของฟักทอง จำนวน 29 หมายเลข ด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 40 เครื่องหมาย พบ 34 เครื่องหมาย ที่ให้แถบดีเอ็นเอจำนวน 95 แถบ มีขนาดประมาณ 60-210 คู่เบส เป็นแถบดีเอ็นเอพอลิมอร์ฟิก ที่แสดงความแตกต่างระหว่างหมายเลข (Polymorphic DNA band) จำนวน 93 แถบ (97.89%) และเป็นแถบดีเอ็นเอที่ไม่แสดงความแตกต่าง (Monomorphic DNA band) จำนวน 2 แถบ (2.11%) จำนวนแถบดีเอ็นเอเฉลี่ยต่อเครื่องหมาย 2.79 แถบ โดยเครื่องหมายที่ให้แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างทั้งในกลุ่ม *C. maxima*, *C. pepo* และ *C. moschata* จำนวน 22 เครื่องหมาย ได้แก่ CMTp17, CMTmC43, CMTm11, CMTm239, CMTp114, CMTm247, CMTm48, CMTm192, CMTm7, CMTm229, CMTm155, CMTm113, CMTp201, CMTm222, CMTm29, CMTm232, CMTm134, CMTm230, CMTm35, CMTm190, CMTm252 และ CMTp223

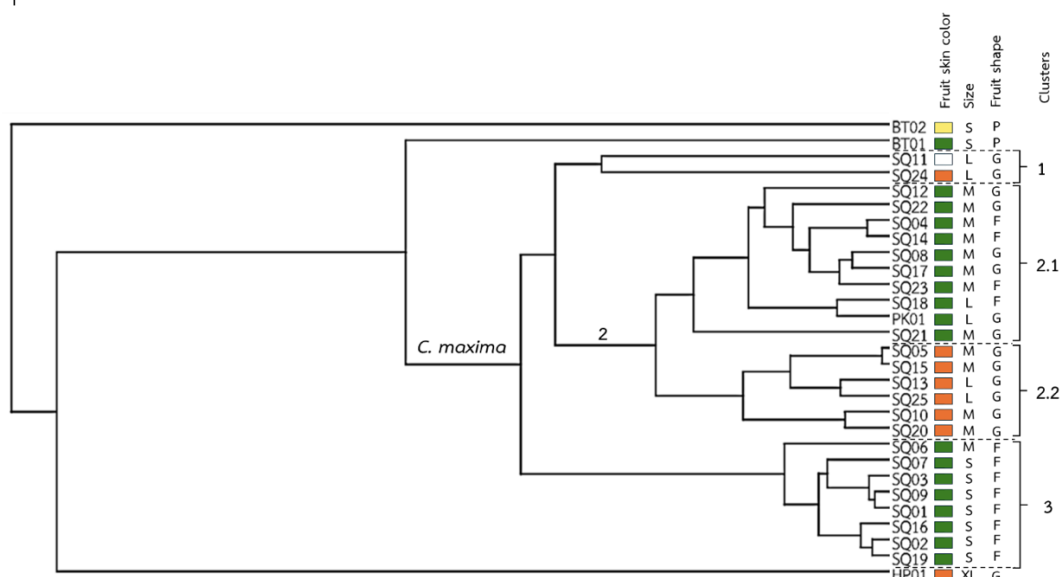


Figure 2 Dendrogram of 29 pumpkin accessions generated by UPGMA clustering using fruit characters. Abbreviations: P=Pyriiform, G=Globular, F=Flattened.

ส่วนเครื่องหมายที่ให้แถบดีเอ็นเอเฉพาะกลุ่ม *C. moschata* จำนวน 10 เครื่องหมาย ได้แก่ CMTm83, CMTmC60, CMTm68, CMTm118, CMTm183, CMTm20, CMTm209, CMTm54, CMTmC62 และ CMTm132 ซึ่งเครื่องหมายเหล่านี้แสดงแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะกับ *C. moschata* จึงสามารถนำไปใช้แยกฟักทองกลุ่มนี้ออกจากอีก 2 กลุ่ม เช่นเดียวกับการศึกษา *C. maxima* ที่พบเครื่องหมายเอสเอสอาร์จำเพาะกับสปีชีส์ (Kaźmińska et al., 2017) ส่วนเครื่องหมาย CMTm19 ให้แถบดีเอ็นเอกลุ่ม *C. maxima* ต่างจาก *C. pepo* และ *C. moschata* ซึ่งเครื่องหมาย CMTm207 แสดงแถบดีเอ็นเอเฉพาะ PK01

โดยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ 34 เครื่องหมาย มีค่า PIC ในช่วง 0.03-0.62 แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายในการศึกษานี้มีความสามารถจำแนกจีโนไทป์ที่แตกต่างกันในระดับต่ำถึงสูง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.26 ส่วนค่า H_e ในช่วง 0.03-0.68 แสดงว่าประชากรที่ได้จากแต่ละเครื่องหมายมีความหลากหลายทางพันธุกรรมแตกต่างกันระดับต่ำถึงสูง เฉลี่ยเท่ากับ 0.29 เครื่องหมายที่มีค่า PIC และ H_e สูงสุด คือ เครื่องหมาย CMTp17 มีค่าเท่ากับ 0.62 และ 0.68 ตามลำดับ (Table 2) ส่วนเครื่องหมาย CMTp17, CMTmC43 และ CMTm11 มีค่า PIC สูงกว่า 0.5 ถือว่ามีประสิทธิภาพสูงในการจำแนกพันธุกรรม เช่นเดียวกับการศึกษาเครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 23 เครื่องหมาย ในฟักทอง *C. maxima* จำนวน 85 หมายเลข (Kaźmińska et al., 2017)

ส่วนค่าเฉลี่ยของ PIC เท่ากับ 0.26 ที่ได้จากการศึกษานี้ มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของฟักทอง *C. maxima* ด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 30 เครื่องหมาย (PIC=0.22; Chen et al., 2021) แต่มีค่าต่ำกว่าการศึกษา *C. maxima* จำนวน 85 หมายเลข ที่ใช้จำนวนตัวอย่างมากกว่า (PIC=0.51; Kaźmińska et al., 2017) และการศึกษาฟักทอง *Cucurbita* spp จำนวน 60 ตัวอย่าง จากภาคตะวันตกของประเทศเคนยา ด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 5 เครื่องหมาย (PIC=0.53; Nyabera et al., 2021) อาจเนื่องมาจากการศึกษานี้ใช้ฟักทองพันธุ์การค้าในประเทศไทย ในขณะที่การศึกษาลำดับนั้นใช้จำนวนตัวอย่างมากกว่า และยังเป็นพันธุ์พื้นเมืองร่วมกับสายพันธุ์ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์

Table 2 Polymorphic DNA bands, PIC and H_e of 34 SSR markers in 29 *C. maxima*, *C. pepo*, and *C. moschata* accessions

No.	SSR Markers	Total DNA bands	Polymorphic bands	Size (bp)	PIC	H_e
1	CMTp17	4	4	60-180	0.62	0.68
2	CMTmC43	4	4	140-170	0.56	0.63
3	CMTm11	4	4	90-150	0.54	0.61
4	CMTm239	3	3	180-200	0.47	0.52
5	CMTp114	3	3	100-120	0.42	0.47
6	CMTm247	3	3	110-150	0.40	0.46
7	CMTm48	3	3	100-130	0.39	0.43
8	CMTm192	4	4	90-120	0.39	0.42
9	CMTm7	3	3	130-180	0.37	0.41
10	CMTm229	3	3	130-170	0.35	0.39
11	CMTm155	4	4	130-160	0.35	0.38
12	CMTm113	3	3	140-160	0.32	0.35
13	CMTp201	3	3	80-120	0.28	0.30
14	CMTm222	3	3	140-180	0.23	0.24
15	CMTm19	2	2	100-120	0.21	0.24
16	CMTm29	2	2	90-100	0.21	0.24
17	CMTm232	4	4	170-210	0.21	0.22
18	CMTm134	4	4	150-180	0.21	0.22
19	CMTm230	3	3	170-190	0.20	0.22
20	CMTm35	2	2	140-150	0.19	0.21
21	CMTm83	3	3	90-120	0.18	0.19
22	CMTmC60	3	3	150-190	0.18	0.19
23	CMTm68	3	3	90-120	0.18	0.19
24	CMTm118	2	2	120-140	0.17	0.19
25	CMTm183	2	2	110-120	0.17	0.19
26	CMTm190	2	2	80-90	0.17	0.19
27	CMTm20	2	2	100-140	0.17	0.19
28	CMTm209	2	2	150-160	0.17	0.19
29	CMTm252	2	2	90-100	0.17	0.19
30	CMTm54	2	2	140-150	0.17	0.19
31	CMTmC62	2	2	140-160	0.17	0.19
32	CMTm132	2	2	100-110	0.12	0.13
33	CMTm207	2	1	100-120	0.03	0.03
34	CMTp223	2	1	170-180	0.03	0.03
Total		95	93	Mean	0.26	0.29

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของผักทอง จำนวน 29 หมายเลข จากเครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 34 เครื่องหมาย นำแถบดีเอ็นเอทั้งหมด มาคำนวณค่าดัชนีความเหมือน โดยกลุ่ม *C. moschata* มีค่าดัชนีความเหมือน เทียบกับกลุ่ม *C. maxima* อยู่ระหว่าง 0.08-0.15 ส่วน *C. pepo* มีค่าดัชนีความเหมือน เทียบกับกลุ่ม *C. maxima* อยู่ระหว่าง 0.47-0.57

ตัวอย่างที่มีค่าดัชนีความเหมือนสูงสุด คือ หมายเลข SQ01 กับ SQ03 มีค่าเท่ากับ 1.00 ซึ่งเป็นเมตริกซ์จากบริษัทเดียวกัน ข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า ทั้ง 2 หมายเลข มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมสูงมาก หากต้องการแยกออกจากกันอาจต้องเพิ่มเครื่องหมายในการทดสอบ อีกทั้ง 2 หมายเลขนี้ยังมีลักษณะสีของผิวผล รูปร่างผลเหมือนกัน และน้ำหนักผลใกล้เคียงกัน ซึ่งลักษณะผลจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ร่วมกับ SQ09 แต่ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม SQ09 มีค่าดัชนีความเหมือนกับ SQ01 และ SQ03 เพียง 0.77 ส่วนหมายเลข SQ13 มีค่าดัชนีความเหมือนเปรียบเทียบกับ SQ11 ต่ำสุด เท่ากับ 0.57 (Figure 3) แสดงว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมมากที่สุด โดย SQ13 สีของผิวผลสีเขียว ในขณะที่ SQ11 สีของผิวผลสีครีมขาว

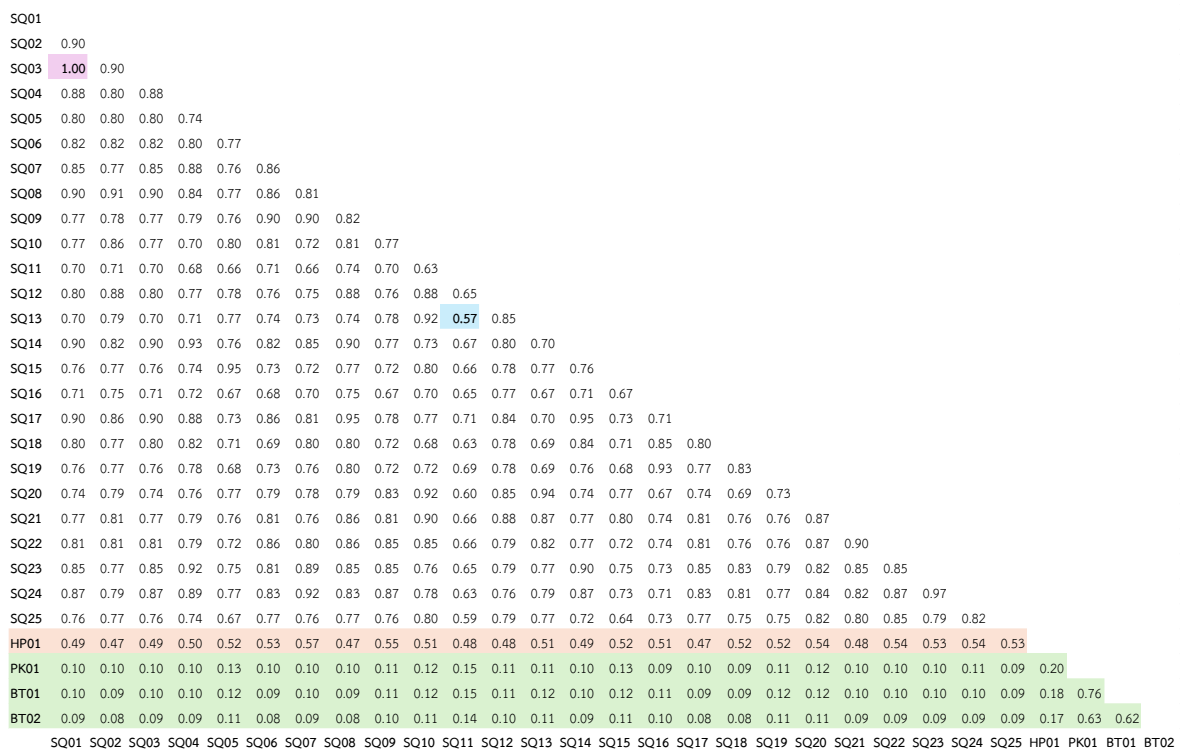


Figure 3 Genetic similarity coefficient of 29 pumpkin accessions using 34 SSR markers.

นอกจากนี้ยังพบตัวอย่าง SQ11 แยกออกจากกลุ่ม (Outlier) ที่สีของผิวผลสีครีมขาว แตกต่างจากตัวอย่างทั้งหมด ผลการจัดกลุ่มตามข้อมูลความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อพันธุ์ที่เลือกมาจากกลุ่มที่แตกต่างกัน ซึ่งจะช่วยเพิ่มโอกาสในการสร้างลูกผสมที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง และมีศักยภาพในการคัดเลือกลักษณะเด่นได้มากขึ้น

ความหลากหลายทางพันธุกรรมฟักทองญี่ปุ่น ด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ มีดัชนีความเหมือน 0.57-1.00 มีความหลากหลายทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *C. maxima* จำนวน 44 หมายเลข ด้วยเครื่องหมาย RAPD ที่มีค่าดัชนีความเหมือน อยู่ในช่วง 0.40-0.98 (Zhao et al., 2017) และดัชนีความเหมือนมีค่าเฉลี่ย (0.78) สูงกว่าการศึกษาในฟักทอง *C. maxima* โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ ที่มีค่าเป็น 0.44 (Kaźmińska et al., 2016) ส่วนการจัดกลุ่ม

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างฟักทอง *C. maxima* สามารถแยกออกจาก *C. pepo* และ *C. moschata* สอดคล้องในการจัดกลุ่ม *C. maxima* ที่มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับกลุ่ม *C. ficifolia* มากกว่า *C. pepo* และ *C. moschata* (Ferriol et al., 2003)

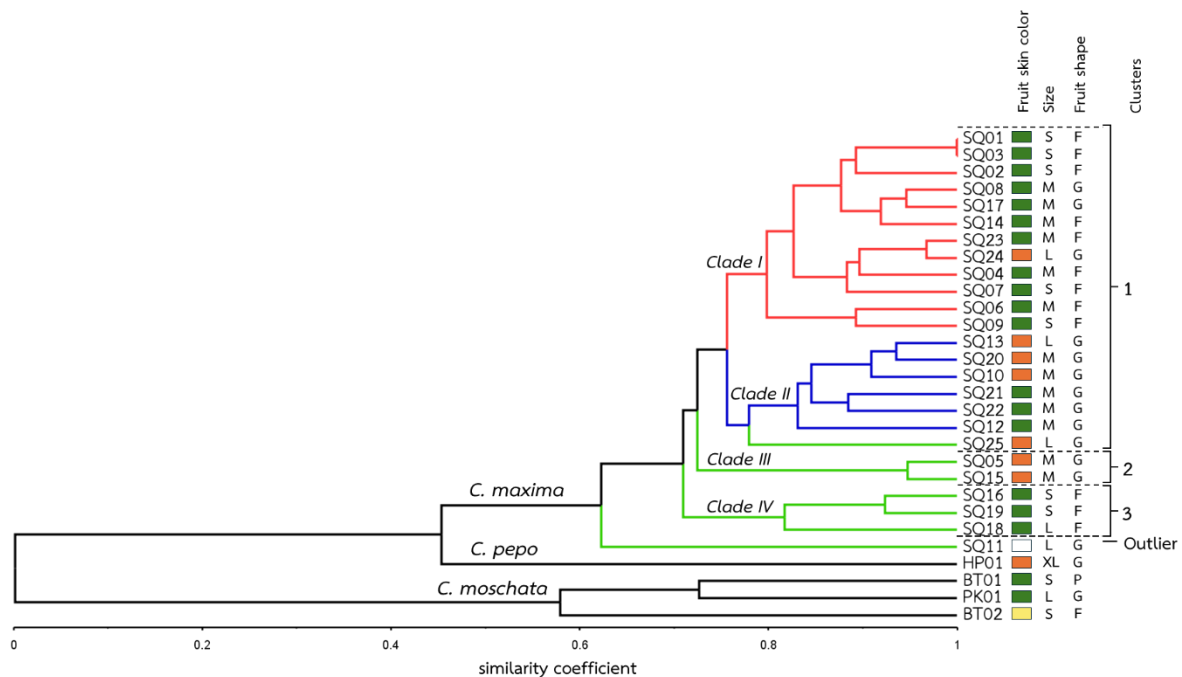


Figure 4 Dendrogram of 29 pumpkin accessions generated by UPGMA clustering using 34 SSR markers.

การวิเคราะห์โครงสร้างประชากร

การจัดกลุ่มโครงสร้างประชากรของฟักทองญี่ปุ่น พบค่า ΔK สูงสุด คือ $K=3$ (56.81) (Figure 5a) ตัวอย่างที่นำมาศึกษาสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มพันธุกรรมหลักได้ 3 ประชากรย่อย (G1-G3) เช่นเดียวกับการศึกษาฟักทอง *C. maxima* ในประเทศตุรกี (Bulut et al., 2022) จากการศึกษา *C. moschata* ของประเทศเปรู จำนวน 100 หมายเลข ร่วมกับ *C. pepo* และ *C. maxima* จำนวน 10 หมายเลข พบจำนวนประชากร $K=5$ สามารถแยก *C. pepo* และ *C. maxima* ได้อย่างละ 1 กลุ่ม ในส่วน *C. moschata* สามารถจัดได้เป็น จำนวน 3 กลุ่ม ตามภูมิภาคของตัวอย่าง (Arbizu et al., 2022)

จากแผนภาพ Structure bar plot ฟักทองญี่ปุ่นทุกตัวอย่างมีการผสมทางพันธุกรรมระหว่าง 3 ประชากรย่อย ในอัตราส่วนเล็กน้อยแตกต่างกันไป (Figure 5b) โดยเป็นประชากรย่อย G1 (สีแดง) ประชากรย่อย G2 (สีเขียว) และประชากรย่อย G3 (สีน้ำเงิน) ซึ่ง G1 ประกอบด้วย 12 หมายเลข ที่ส่วนใหญ่สีของผิวผลสีเขียว และรูปร่างผลแบน G2 ประกอบด้วย 7 หมายเลข ที่มีความแตกต่างของลักษณะผล และ G3 ประกอบด้วย 6 หมายเลข ที่มีรูปร่างผลกลม ส่วนใหญ่ผลขนาดกลาง ผลการจัดกลุ่มโครงสร้างประชากรมีแนวโน้มสัมพันธ์กับรูปร่างผลมากที่สุด

นอกจากนี้ยังพบตัวอย่าง จำนวน 9 หมายเลข ได้แก่ SQ02, SQ05, SQ06, SQ08, SQ09, SQ12, SQ018, SQ22 และ SQ25 เป็นตัวอย่างพันธุกรรมผสม เนื่องจากมีค่า Q น้อยกว่า 0.77 ซึ่งแสดงถึงการได้รับการถ่ายทอดทางพันธุกรรมมาจากหลายกลุ่มประชากร อาจเนื่องมาจากตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาได้มาจากการปรับปรุงพันธุ์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ *C. maxima* พันธุ์พื้นเมือง ที่พบว่าบางส่วนเป็นพันธุ์ผสมทางพันธุกรรมเช่นเดียวกัน (Reddy et al., 2022) ซึ่งความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ปรากฏใน Dendrogram สอดคล้องการจัดกลุ่มโครงสร้างประชากร โดยเคลด I จัดอยู่ในประชากรย่อย G1 เคลด II จัดอยู่ในประชากรย่อย G3 ยกเว้น SQ25 และเคลด III, เคลด IV และ Outlier จัดอยู่ในประชากรย่อย G2 โดยที่ SQ25 แสดงการการจัดกลุ่ม Dendrogram ไม่สอดคล้องกับการจัดกลุ่มโครงสร้างประชากร เนื่องจากเป็นตัวอย่างพันธุกรรมผสม มีค่า Q ในประชากรย่อย G2 เป็น 0.46 และ มีค่า Q ในประชากรย่อย G3 เป็น 0.42 จึงจัดเป็นประชากรย่อยในกลุ่ม G2 อีกทั้งการวิเคราะห์โครงสร้างประชากรแสดงผลในภาพรวม ในขณะที่ Dendrogram วิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรม (Pairwise distance) จึงทำให้มีผลการจัดกลุ่มที่แตกต่างกัน อีกทั้งการศึกษา *C. maxima* จำนวน 85 หมายเลข พบว่าตัวอย่าง Outliers จาก Dendrogram จัดอยู่ในประชากรย่อย (K1) เช่นเดียวกับการศึกษานี้ (Kazmińska et al., 2017)

ตัวอย่าง SQ01, SQ03 และ SQ09 จัดในกลุ่มเดียวกันทั้ง Dendrogram และโครงสร้างประชากร โดยที่ SQ01 กับ SQ03 มีค่า Q ในประชากรย่อย G1 เป็น 0.92 ในขณะที่ SQ09 มีค่า Q ในประชากรย่อย G1 เป็น 0.50 แสดงว่า SQ01 และ SQ03 เป็นตัวอย่างที่มีพันธุกรรมบริสุทธิ์ ในขณะที่ SQ09 เป็นตัวอย่างพันธุกรรมผสม

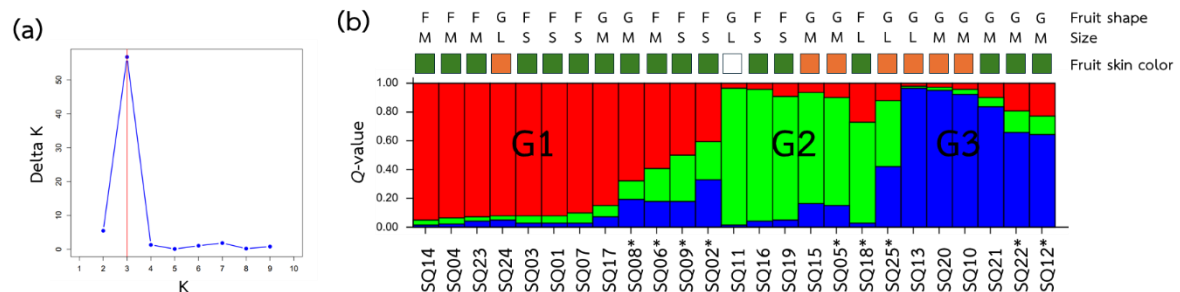


Figure 5 Population structure analysis. (a) Delta K (ΔK) values indicate the most appropriate number of population clusters, with K=3 representing the optimal value. (b) Structure bar plot of 25 *C. maxima* cultivars from Structure analysis.

*=Admixed accession

สรุปผลการศึกษา

การคัดเลือกเครื่องหมายเอสเอสอาร์ ที่พัฒนาจาก *C. moschata* และ *C. pepo* พบเครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา จำนวน 34 เครื่องหมาย โดยเครื่องหมาย CMTp17, CMTmC43 และ CMTm11 เป็นเครื่องหมายที่มีประสิทธิภาพสูงในการจำแนกพันธุกรรม เมื่อนำเครื่องหมายแสดงความแตกต่างมาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของฟักทองญี่ปุ่น ทั้ง 25 หมายเลข มีค่าดัชนีความเหมือนระหว่าง 0.57-1.00 มีค่าเฉลี่ย 0.78 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้มีฐานพันธุกรรมกว้าง โดยตัวอย่าง SQ11 ที่มีสีของผิวผลเป็นสีขาวมีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากตัวอย่างอื่นมากที่สุด ส่วนการจัดกลุ่มด้วยลักษณะผล สามารถจัดกลุ่มตามลักษณะสีของผิวผล น้ำหนักผล และรูปร่างผล การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ได้ 3 กลุ่ม และเป็นกลุ่มย่อยที่มีบรรพบุรุษร่วมกัน 4 เคลด และการวิเคราะห์โครงสร้างประชากรสามารถจัดได้ 3 ประชากรย่อย แสดงลักษณะเป็นการผสมทางพันธุกรรม ซึ่งการจัดกลุ่มด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์มีแนวโน้มสัมพันธ์กับลักษณะรูปร่าง ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าฟักทองญี่ปุ่นพันธุ์การค้าในประเทศไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมปานกลาง และมีลักษณะเป็นการผสมทางพันธุกรรม ซึ่งข้อมูลเครื่องหมายเอสเอสอาร์ และความหลากหลายทางพันธุกรรมเหล่านี้ จะช่วยการจำแนกพันธุ์และสนับสนุนการคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์ฟักทองญี่ปุ่นในอนาคต

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ความคิดริเริ่ม และสมมุติฐาน: ศึกษก แป้นห้วย, สุเทพ วัชรเวชศฤงคาร, แสงทอง พงษ์เจริญกิต. การปฏิบัติการวิจัย การมีส่วนร่วมในการออกแบบ การทดลอง การทดสอบ เครื่องมือวัด วิธีการเก็บข้อมูล และ criteria: ศึกษก แป้นห้วย, กนกวรรณ จันทร์เพ็ญ, สุเทพ วัชรเวชศฤงคาร, แสงทอง พงษ์เจริญกิต. การจัดเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผล: ศึกษก แป้นห้วย, กนกวรรณ จันทร์เพ็ญ, สุเทพ วัชรเวชศฤงคาร, แสงทอง พงษ์เจริญกิต. การวิพากษ์วิจารณ์ผล การแสดง การเปรียบเทียบกับข้อสรุป หรือองค์ความรู้ หรือทฤษฎีเดิม: ศึกษก แป้นห้วย, เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี, ทวีป เสนอคำวงศ์, สุเทพ วัชรเวชศฤงคาร, แสงทอง พงษ์เจริญกิต. การมีส่วนร่วมในการเขียนต้นฉบับบทความ: ศึกษก แป้นห้วย, สุเทพ วัชรเวชศฤงคาร, แสงทอง พงษ์เจริญกิต.

เอกสารอ้างอิง

- Amiteye, S. (2021). Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. *Heliyon*, 7(10), e08093. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08093>.
- Arbizu, C. I., Blas, R. H., & Ugás, R. (2022). Genetic Diversity and population structure assessed by SSR in a Peruvian germplasm collection of loche squash (*Cucurbita moschata*, Cucurbitaceae). *Biology and Life Sciences Forum*, 15(1), 6. <https://doi.org/10.3390/IECD2022-12420>.
- Bulut, H., Öztürk, H., Donderalp, V., Korkut, R., & Dursun, A. (2022). Investigation of genetic diversity of squash (*Cucurbita maxima* Duchesne) genotypes collected from Erzincan in Turkey. *Taiwania*, 67(4), 469-478. <https://doi.org/10.6165/tai.2022.67.469>.
- Chen, R., Shimono, A., Aono, M., Nakajima, N., Ohsawa, R., & Yoshioka, Y. (2020). Genetic diversity and population structure of feral rapeseed (*Brassica napus* L.) in Japan. *PLoS ONE*, 15(1), e0227990. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227990>.
- Chen, R., Takamura, K., Sugiyama, K., Kami, D., Shimomura, K., & Yoshioka, Y. (2021). Genetic diversity assessment of *Cucurbita* genetic resources in Japan by nuclear and organelle dna markers. *The Horticulture Journal*, 90(4), 382-392. <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-292>.
- Coşkun, Ö. (2022). Determination of genetic diversity in some pumpkin genotypes using SSR marker technique. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 15(3), 942-952. <https://doi.org/10.18185/erzifbed.1113553>.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611-2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>.
- Ferriol, M., Picó, M. B., & Nuez, F. (2003). Genetic diversity of some accessions of *Cucurbita maxima* from Spain using RAPD and SBAP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50(3), 227-238.
- Ferriol, M., Picó, B., & Nuez, F. (2004). Morphological and molecular diversity of a collection of *Cucurbita maxima* landraces. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(1), 60-69.
- Gong, L., Stift, G., Kofler, R., Pachner, M., & Lelley, T. (2008). Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 117(1), 37-48. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0750-2>.
- Hwang, S. K., & Kim, Y. M. (2000). A simple and reliable method for preparation of cross-contamination-free plant genomic DNA for PCR-based detection of transgenes. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 33(6), 537-540.
- Jahnke, G., Smidla, J., & Pocza, P. (2022). MolMarker: A simple tool for DNA fingerprinting studies and polymorphic information content calculation. *Diversity*, 14(6), 497. <https://doi.org/10.3390/d14060497>.
- Katengam, S. (2003). DNA markers in plant breeding. *Journal of Ubon Ratchathani University*, 5(2), 37-59. (in Thai).
- Kaźmińska, K., Sobieszek, K., Targońska-Karasek, M., Korzeniewska, A., Niemirowicz-Szczytt, K., & Bartoszewski, G. (2016). Genetic diversity analysis of winter squash (*Cucurbita maxima* Duchesne) accessions using SSR markers. In *Proceedings of Cucurbitaceae 2016: the XIth Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics & Breeding, July 24–28, 2016*, pp. 210-213. Sigma.
- Kaźmińska, K., Sobieszek, K., Targońska-Karasek, M., Korzeniewska, A., Niemirowicz-Szczytt, K., & Bartoszewski, G. (2017). Genetic diversity assessment of a winter squash and pumpkin (*Cucurbita maxima* Duchesne) germplasm collection based on genomic *Cucurbita*-conserved SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 219(1), 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.035>.
- Kong, Q., Chen, J., Liu, Y., Ma, Y., Liu, P., Wu, S., Huang, Y., & Bie, Z. (2014). Genetic diversity of *Cucurbita* rootstock germplasm as assessed using simple sequence repeat markers. *Scientia Horticulturae*, 175(1), 150-155. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.06.009>.
- Kurnianingsih, R., Mastuti, R., Nikmatullah, A., & Arumingtyas, E. (2025). Morphological characterization of the banana indigenous cultivar 'Haji'(Musa x paradisiaca) for germplasm development in Indonesia. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 57(2), 668-682. <http://doi.org/10.54910/sabrao2025.57.2.24>.
- Lee, C. Y., Wang, J. F., Chang, C. H., & Tung, C. W. (2023). Analyzing genomic variation in cultivated pumpkins and identification of candidate genes controlling seed traits. *Plant Genome*, 16(4), e20393. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20393>.
- Li, Y. L., & Liu, J. X. (2018). StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources*, 18(1), 176-177. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12719>.
- Liu, C., Ge, Y., Wang, D. J., Li, X., Yang, X. X., Cui, C. S., & Qu, S. P. (2013). Morphological and molecular diversity in a germplasm collection of seed pumpkin. *Scientia Horticulturae*, 154(1), 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.02.015>.
- Ngorian, S., Kansup, J., Chanroj, V., Amawan, S., & Wongtiem, P. (2022). Genetic diversity and DNA fingerprint of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) using SSR markers. *Thai Agricultural Research Journal*, 40(3), 251-264. (in Thai). <https://doi.org/10.14456/thaidoa-agres.2022.21>.

- Nyabera, L. A., Nzuki, I. W., Runo, S. M., & Amwayi, P. W. (2021). Assessment of genetic diversity of pumpkins (*Cucurbita* spp.) from western Kenya using SSR molecular markers. **Molecular Biology Reports**, 48(3), 2253-2260.
- Paris, H. S. (2016). **Genetic Resources of Pumpkins and Squash, *Cucurbita* spp.** Springer.
- Pavlicek, A., Hrdá, S., & Flegr, J. (1999). Free-Tree--freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. **Folia Biologica**, 45(3), 97-99.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, 155(2), 945-959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>.
- Rambaut, A. (2018). **FigTree--Tree Figure Drawing Tool Version v.1.4.4**. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh. Retrieved from: <https://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Reddy, U. K., Natarajan, P., Abburi, V. L., Tomason, Y., Levi, A., & Nimmakayala, P. (2022). What makes a giant fruit? Assembling a genomic toolkit underlying various fruit traits of the mammoth group of *Cucurbita maxima*. **Frontiers in Genetics**, 13(1), 1005158. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1005158>.
- Sara, J., Janphen, K., Samat, J., Jaroenkit, T., Lithanatudom, S., Lanumteang, K., & Pongjaroenkit, S. (2024). Assessment of genetic diversity of guava (*Psidium guajava* L.) using SSR marker for application in guava breeding program. **Khon Kaen Agriculture Journal**, 52(1), 52-74. (in Thai).
- Theanjumpol, P., Chitworakool, S., & Muenmanee, N. (2021). Quality changes of Japanese pumpkin during harvesting. **Postharvest Newsletter**, 20(3), 1-6. (in Thai).
- Zhao, D., Wen, L., Bi, H., Zhu, Z., Liu, J., Zhang, J., Shi, Q., You, H., Dong, D., & Liu, Q. (2017). Genetic diversity of *Cucurbita maxima* assessed using morphological characteristics and random-amplified polymorphic DNA markers in China. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science**, 67(2), 155-163. <https://doi.org/10.1080/09064710.2016.1236981>.