

# การตรวจสอบเอนไซม์เพอรอกซิเดสที่เยื่อหุ้มเมล็ดและยูริเอส ในเมล็ดเพื่อจำแนกพันธุ์ถั่วเหลือง

## Use of Seed Coat Peroxidase Test and Seed Urease Test for Varietal Identification in Soybean

วันชัย จันทร์ประเสริฐ<sup>1</sup> เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์<sup>2</sup> และ วรณฤดี ศรีบุตรโรจน์<sup>1</sup>  
Wanchai Chanprasert, Permpong Sriprasertsak and Wanruedee Sributroj

### ABSTRACT

Several varietal tests for characterising 18 soybean lines described by Wagner and McDonald (1982) which include seed coat peroxidase test, electrophoresis of urease in the unimbibed seed, hilum colour and hypocotyl colour were used in this study. These tests separated the 18 lines into 13 groups. Ten of these groups were exclusively isolated, i.e. SK1, 8122-7, KUSL20004, CM60, KUSL10008, KUSL10002, KUSL20010, KUSL20018, KUSL10009 and KUSL10001. Two to three lines remained in anyone of 3 groups. The use of these laboratory tests was found more effective than field plot test which separated only 10 groups. The soybean lines which were not separated by the tests used in this study were SJ4 and CM001-1, and KUSL20043 and KUSL 20050.

**Key words :** soybean, *Glycine max*, varietal identification

### บทคัดย่อ

จากการตรวจสอบจำแนกพันธุ์ถั่วเหลือง 18 สายพันธุ์ ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีทางชีวเคมีร่วมกับวิธีทางสัณฐานวิทยาตามวิธีของ Wagner and McDonald (1982) โดยตรวจสอบเอนไซม์ peroxidase ที่เยื่อหุ้มเมล็ด และ urease ในเมล็ด ร่วมกับการจำแนกสีของตามเมล็ด และสีของลำต้นได้ไปเลี้ยงต้นกล้าพบว่าสามารถจำแนกถั่วเหลืองทั้ง 18 สายพันธุ์ออกได้เป็น 13 กลุ่ม ดีกว่าวิธีการตรวจ

สอบในแปลง (field plot test) ซึ่งจำแนกได้เพียง 10 กลุ่ม โดยที่ใน 13 กลุ่มนั้น มีอยู่ 10 สายพันธุ์ที่สามารถจำแนกออกได้อย่างอิสระได้แก่สายพันธุ์ SK1 8122-7 KUSL20004 CM60 KUSL10008 KUSL10002 KUSL20010 KUSL20018 KUSL10009 และ KUSL10001 ส่วน 8 สายพันธุ์ที่เหลือ แยกได้เป็น 3 กลุ่มๆ ละ 2 ถึง 3 สายพันธุ์ๆ ที่ไม่สามารถจำแนกได้ ไม่ว่าจะใช้เทคนิควิธีในห้องปฏิบัติการและวิธีตรวจสอบในแปลง คือพันธุ์ศจ. 4 กับสายพันธุ์ CM001-1 และสายพันธุ์ KUSL20043 กับ KUSL20050

1 ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dept. of Agronomy, Fac. of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

2 หน่วยชีวเคมี ศูนย์ปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

Biochemistry Unit, Central Laboratory and Greenhouse Complex, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Thailand.

## คำนำ

พันธุ์ถั่วเหลืองที่ใช้ปลูก รวมทั้งสายพันธุ์ใหม่ที่ได้จากการผสมพันธุ์ และคัดเลือกพันธุ์มีเพิ่มมากขึ้นทุกปี ดังนั้นการศึกษาและพัฒนาเทคนิควิธีตรวจสอบพันธุ์ถั่วเหลืองจึงมีความสำคัญมาก ซึ่งนอกจากจะเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในการตรวจสอบการปนพันธุ์แล้ว ยังมีประโยชน์ต่อนักปรับปรุงพันธุ์ที่ทำให้ทราบฐานพันธุกรรมของพันธุ์ที่ปรับปรุงขึ้นมาใหม่อีกด้วย

ปัจจุบันการตรวจสอบพันธุ์ ส่วนใหญ่ยังคงใช้วิธีศึกษาและบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของต้นพืชที่ปลูกในแปลง (field plot test) ซึ่งกินเวลานานตลอดอายุพืชและยังมีข้อเสียหลายประการเช่น ต้องปลูกทดสอบในแหล่งปลูกและฤดูปลูกที่พืชชนิดนั้นๆ ปรับตัวได้ดี ผู้ตรวจสอบต้องมีประสบการณ์และคุ้นเคยกับพืชชนิดนั้นมาเป็นเวลานาน เป็นวิธีที่ใช้พื้นที่ แรงงาน และค่าใช้จ่ายสูง และลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยาหลายลักษณะอาจไม่สามารถใช้จำแนกพันธุ์ที่มีอยู่ทั้งหมดได้ ด้วยเหตุผลดังกล่าว จึงได้มีการพัฒนาวิธีการที่จะตรวจสอบพันธุ์ เพื่อใช้ในห้วงปฏิบัติการขึ้นมาหลายวิธีสำหรับในถั่วเหลืองนั้น Payne (1979) ได้รวบรวมวิธีต่างๆ ที่ใช้ทดสอบพันธุ์ไว้ 13 วิธี ทั้งวิธีทางสัณฐานวิทยาและวิธีทางชีวเคมี ซึ่งสามารถแยกพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีปลูกอยู่ในสหรัฐอเมริกา 60 พันธุ์ ได้ถึง 52 พันธุ์ การใช้วิธีทางชีวเคมีในการตรวจสอบพันธุ์ถั่วเหลือง ได้มีการศึกษาและพัฒนาโดยลำดับ (Orf *et al.*, 1980; Wagner and McDonald, 1982 และ Buehler *et al.*, 1989) จนปัจจุบันก็ยังมีศึกษากับอย่างกว้างขวางเพื่อที่จะหาวิธีที่ง่ายและมีประสิทธิภาพมาใช้ในการตรวจสอบพันธุ์ตามสถานตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ต่างๆ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะนำวิธีตรวจสอบพันธุ์ถั่วเหลืองของ Wagner and McDonald (1982) มาทดลองใช้ตรวจสอบพันธุ์ถั่วเหลืองบางพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย และสายพันธุ์ที่กำลังปรับปรุงและคัดเลือกโดยศูนย์วิจัยพืชผักแห่งเอเชีย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาเขตกำแพงแสน

## อุปกรณ์และวิธีการ

นำถั่วเหลือง 18 สายพันธุ์/พันธุ์ จากศูนย์วิจัยพืชผักแห่งเอเชีย (TOP-AVRDC) มาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยดู สีของดา (hilum colour) และสีต้นกล้า และการตรวจสอบทางชีวเคมีโดยวิธีตรวจสอบเอนไซม์เพอรอกซิเดสในเยื่อหุ้มเมล็ด ตรวจสอบเอนไซม์ยูรีเอสในเมล็ด เปรียบเทียบผลการตรวจสอบกับวิธีการตรวจสอบในแปลง

### การตรวจสอบเอนไซม์เพอรอกซิเดสในเยื่อหุ้มเมล็ด

ใช้เยื่อหุ้มเมล็ดถั่วเหลืองอย่างน้อย 10 เมล็ดจากแต่ละสายพันธุ์ใส่ในขวดแก้วขนาดเล็กหยดสารละลาย 0.5% guaiacol 10 หยดต่อขวดต่อสายพันธุ์ ทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นหยดสารละลาย 0.1% hydrogen peroxide 1 หยดต่อขวดต่อสายพันธุ์ ผลการจำแนกแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือพวกที่สารละลายมีสีน้ำตาลแดงเป็นเพอรอกซิเดส+ และพวกที่สีไม่เปลี่ยนเป็นเพอรอกซิเดส -

### การตรวจสอบเอนไซม์ยูรีเอส โดยวิธี electrophoresis

สกัดเอนไซม์ยูรีเอส โดยใช้เมล็ด 3 เมล็ดที่แกะเยื่อหุ้มเมล็ดออกแล้ว จากแต่ละสายพันธุ์ นำมาบดในโกร่งแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80°C บดตัวอย่างให้ละเอียด คล้ายแป้ง เติมสารละลาย sucrose (10% w/v) 3 มิลลิลิตร เทใส่ในหลอด centrifuge ที่อุณหภูมิ 5°C ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เตรียมตัวอย่างแล้วใช้ทันที

สำหรับการเตรียมเจล (gel) การแยกเอนไซม์โดยวิธี vertical cylindrical rod gel electrophoresis และการย้อมสี ทำตามวิธีใน Sriprasertsak (1988)

### การตรวจสอบในแปลง

ปลูกถั่วเหลือง 1 แถวต่อ 1 สายพันธุ์ แถวยาว 5 เมตร ระยะปลูก 50 x 20 เซนติเมตร ให้น้ำทุกสัปดาห์ บันทึกข้อมูลทางสัณฐานวิทยาดังแต่ระยะกล้าจนถึงระยะ

ติดฝัก โดยบันทึกสี hypocotyl ของต้นกล้า สีขนของ  
ลำต้นและฝัก รูปร่างใบ ระยะเวลาทำการทดลองตั้งแต่  
มิถุนายน 2532 ถึง กันยายน 2532

## ผลและวิจารณ์

### การตรวจสอบเอนไซม์เพอรอกซิเดส

การทดสอบเอนไซม์เพอรอกซิเดสของเชื้อหุ้ม  
เมล็ดถั่วเหลือง 18 สายพันธุ์ จำแนกได้ 2 กลุ่มๆ แรก  
เป็นเพอรอกซิเดส + ได้แก่ สายพันธุ์ KUSL10001  
KUSL10006 KUSL10009 KUSL30006 LN14 สายพันธุ์  
SJ4 SJ5 CM60 สายพันธุ์ CM001-1 และ 8122-7  
KUSL20010 KUSL20043 และ KUSL20050 กลุ่มที่ 2  
เป็นเพอรอกซิเดส - ได้แก่สายพันธุ์ KUSL10002  
KUSL10008 KUSL20004 และพันธุ์ SK1 (Table 1)

### การตรวจสอบโดยวิธี electrophoresis

ผลการแยกเอนไซม์ยูริเอส จากเมล็ดถั่วเหลือง 18  
สายพันธุ์ โดยวิธี electrophoresis แท่งเจลแยกยูริเอส  
ออกเป็นแถบสีม่วงแดงอย่างชัดเจน แบ่งกลุ่มถั่วเหลืองได้  
2 กลุ่ม ก็คือกลุ่มที่แสดงแถบสีเพียงแถบเดียว พบว่ามีทั้ง  
หมด 11 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ KUSL10001  
KUSL10002 KUSL10006 KUSL20004 LN14 พันธุ์ SJ5  
SK1 CM60 สายพันธุ์ KUSL20018 KUSL20043 และ  
KUSL20050 ส่วนกลุ่มที่มีแถบสี 2 แถบ มีทั้งหมด 6  
สายพันธุ์ ได้แก่ KUSL10008 KUSL10009 KUSL30006  
พันธุ์ SJ4 สายพันธุ์ CM001-1 และ 8122-7 (Table 1)

### ผลการจำแนกโดยวิธีการทดสอบร่วมสำนักงานวิทยาและ ชีวเคมี

จากการทดสอบถั่วเหลือง 18 สายพันธุ์ โดยใช้

Table 1 Varietal identification of 18 soybean lines using morphological and biochemical methods.

| Group No. | Line      | Hilum colour    | Hypocotyl colour | Peroxidase <sup>1</sup> test | Urease <sup>2</sup> test |
|-----------|-----------|-----------------|------------------|------------------------------|--------------------------|
| 1         | SK1       | Clear           | Purple           | -                            | 1                        |
| 2         | 8122-7    | Buff            | Green            | +                            | 2                        |
| 3         | KUSL20004 | Buff            | Purple           | -                            | 1                        |
| 4         | CM60      | Brown           | Green            | +                            | 2                        |
| 5         | KUSL30006 | Brown           | Purple           | +                            | 2                        |
|           | SJ4       | Brown           | Purple           | +                            | 2                        |
|           | CM001-1   | Brown           | Purple           | +                            | 2                        |
| 6         | KUSL10006 | Brown           | Purple           | +                            | 1                        |
|           | LN14      | Brown           | Purple           | +                            | 1                        |
|           | SJ5       | Brown           | Purple           | +                            | 1                        |
| 7         | KUSL10008 | Brown           | Purple           | -                            | 2                        |
| 8         | KUSL10002 | Brown           | Purple           | -                            | 1                        |
| 9         | KUSL20010 | Imperfect black | Purple           | +                            | 1                        |
| 10        | KUSL20018 | Imperfect black | Purple           | -                            | 1                        |
| 11        | KUSL20043 | Black           | Green            | +                            | 2                        |
|           | KUSL20050 | Black           | Green            | +                            | 2                        |
| 12        | KUSL10009 | Black           | Purple           | +                            | 2                        |
| 13        | KUSL10001 | Black           | Purple           | +                            | 1                        |

1 Positive or negative response

2 Number of bands

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาพร้อมกับวิธีทางชีวเคมีโดยดูสีของตา สีของลำต้นใต้ใบเลี้ยงของต้นกล้า ร่วมกับการตรวจสอบเอนไซม์เพอรอกซิเดส และยูริเอส พบว่าสามารถจำแนกพันธุ์ถั่วเหลืองที่ศึกษาออกเป็น 13 กลุ่ม (Table 1) ซึ่งมีอยู่ 10 พันธุ์ที่แยกออกได้เป็นพันธุ์เดี่ยวๆ ไม่ซ้ำกัน ได้แก่พันธุ์ SK1 สายพันธุ์ 8122-7 KUSL20004 พันธุ์ CM60 สายพันธุ์ KUSL10008 KUSL10002 KUSL20010 KUSL20018 KUSL10009 และ KUSL10001 สำหรับสายพันธุ์ KUSL30006 CM001-1 และ SJ4 อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ในกลุ่มที่ 5 ใน Table 1 สายพันธุ์ KUSL10006 LN14 และ SJ5 อยู่ในกลุ่มที่ 6 และ สายพันธุ์ KUSL20043 และ KUSL20050 อยู่ในกลุ่มที่ 11 (Table 1)

สำหรับการจำแนกโดยวิธีการตรวจสอบในแปลง โดยดูสีของต้นกล้า รูปร่างใบ สีขนของลำต้นและฝัก ร่วมกับสีตามเมล็ด พบว่าจำแนกได้เพียง 10 กลุ่ม โดยจำแนกได้เดี่ยวๆ เพียง 5 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ SK1 CM60 สายพันธุ์ 8122-7 KUSL20004 และ LN14 สำหรับอีก 13 สายพันธุ์ แบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม คือ พันธุ์ SJ4 สายพันธุ์

CM001-1 KUSL10006 KUSL10008 และ KUSL10002 อยู่ในกลุ่มเดียวกัน คือกลุ่มที่ 5 ใน Table 2 สายพันธุ์ KUSL30006 และ พันธุ์ SJ5 อยู่ในกลุ่มที่ 7 สายพันธุ์ KUSL20010 และ KUSL20018 อยู่ในกลุ่มที่ 8 สายพันธุ์ KUSL20043 และ KUSL20050 อยู่ในกลุ่มที่ 9 และ สายพันธุ์ KUSL10009 และ KUSL10001 อยู่ในกลุ่มที่ 10 (Table 2)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการจำแนกพันธุ์โดยวิธีทางชีวเคมีโดยการตรวจสอบเอนไซม์เพอรอกซิเดส และยูริเอส ร่วมกับวิธีทางสัณฐานวิทยาที่สามารถตรวจสอบได้ในห้องปฏิบัติการ คือ การจำแนก สีของตามเมล็ด และสีของต้นกล้านั้น สามารถจำแนก พันธุ์ถั่วเหลืองที่ศึกษา 18 สายพันธุ์ออกได้มากกว่า เมื่อเทียบกับวิธีการตรวจสอบในแปลง ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับงานของ Wagner and McDonald (1982) ซึ่งพบว่าการใช้วิธีที่ตรวจสอบได้ในห้องปฏิบัติการ โดยตรวจสอบสีของตา และสีของต้นกล้า ประกอบกับการตรวจสอบเอนไซม์เพอรอกซิเดส บีตาอไมเลส และ ยูริเอส สามารถแยก ถั่วเหลือง 36 พันธุ์ ออกได้เป็น 22 กลุ่มโดยแยกได้อย่าง

**Table 2** Varietal identification of 18 soybean lines by field plot test.

| Group No. | Line      | Hilum colour    | Hypocotyl colour | Leaflet shape | Pubescence colour |
|-----------|-----------|-----------------|------------------|---------------|-------------------|
| 1         | SK1       | Clear           | Purple           | Lanceolate    | Gray              |
| 2         | 8122-7    | Buff            | Green            | Ovate         | Gray              |
| 3         | KUSL20004 | Buff            | Purple           | ovate         | Gray              |
| 4         | CM60      | Brown           | Green            | Ovate         | Brown             |
| 5         | SJ4       | Brown           | Purple           | Ovate         | Brown             |
|           | CM001-1   | Brown           | Purple           | Ovate         | Brown             |
|           | KUSL10006 | Brown           | Purple           | Ovate         | Brown             |
|           | KUSL10008 | Brown           | Purple           | Ovate         | Brown             |
|           | KUSL10002 | Brown           | Purple           | Ovate         | Brown             |
| 6         | LN14      | Brown           | Purple           | Lanceolate    | Gray              |
| 7         | KUSL30006 | Brown           | Purple           | Ovate         | Gray              |
|           | SJ5       | Brown           | Purple           | Ovate         | Gray              |
| 8         | KUSL20010 | Imperfect black | Purple           | Ovate         | Gray              |
|           | KUSL20018 | Imperfect black | Purple           | Ovate         | Gray              |
| 9         | KUSL20043 | Black           | Green            | Ovate         | Brown             |
|           | KUSL20050 | Black           | Green            | Ovate         | Brown             |
| 10        | KUSL10009 | Black           | Purple           | Ovate         | Brown             |
|           | KUSL10001 | Black           | Purple           | Ovate         | Brown             |

อิสระ 16 พันธุ์ ส่วนที่เหลือ 20 พันธุ์แยกได้เป็น 6 กลุ่มๆ ละ 2 ถึง 6 พันธุ์ ซึ่งแสดงถึงการพัฒนาวิธีการจำแนกที่ดีขึ้น และวิธีการตรวจสอบที่ใช้ในการศึกษานี้มีประสิทธิภาพในการจำแนกที่ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจสอบในแปลงที่แยกได้เพียง 13 กลุ่ม

เมื่อพิจารณาการจำแนกร่วมกัน ทั้ง Table 1 และ 2 พบว่าสายพันธุ์ KUSL20043 และ KUSL20050 ไม่สามารถจำแนกออกจากกันได้ ไม่ว่าจะใช้วิธีการตรวจสอบในแปลงหรือวิธีทางชีวเคมี ซึ่งจากการสืบประวัติพบว่าทั้ง 2 สายพันธุ์นี้ ถัดเลือกจากพ่อแม่เดียวกัน นอกจากนี้ยังพบว่าพันธุ์ SJ4 และ CM001-1 ก็ไม่สามารถจำแนกได้ด้วยวิธีการที่ใช้ทั้ง 2 วิธี ซึ่งพันธุ์ SJ4 และ CM001-1 นี้ มีผลการตรวจสอบทางชีวเคมีเหมือนกับ สายพันธุ์ KUSL30006 ทั้งๆ ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ต่างกัน แสดงให้เห็นว่ามีพื้นฐานทางพันธุกรรมที่เหมือนกัน ซึ่งอาจจะมีการพัฒนาทางสายพันธุ์ที่มีพ่อแม่ร่วมกันก็เป็นได้ สำหรับผลการทดลองซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของวิธีการจำแนกทางชีวเคมี คือการจำแนกกลุ่มสายพันธุ์ในกลุ่มที่ 5 ของ Table 2 ซึ่งมีอยู่ถึง 5 สายพันธุ์ที่ไม่สามารถจำแนกได้ด้วยวิธีการตรวจสอบในแปลง แต่การใช้วิธีทางชีวเคมีสามารถจำแนกพันธุ์ดังกล่าวออกได้เป็น 4 กลุ่มคือสายพันธุ์ KUSL10006 KUSL10008 และ KUSL10002 ซึ่งจำแนกได้เป็นอิสระ และ พันธุ์ สจ4 กับ สายพันธุ์ CM001-1 ซึ่งไม่สามารถจำแนกได้ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการจำแนกพันธุ์โดยวิธีการทางชีวเคมี สามารถแยกสายพันธุ์ทางพันธุกรรมและจำแนกพันธุ์ได้ดีกว่าวิธีการตรวจสอบในแปลง

## สรุป

จากการจำแนกพันธุ์ด้วยกล้องในห้องปฏิบัติการ โดยตรวจสอบเอนไซม์เพอรอกซิเดสในเนื้อหุ้มเมล็ด เอนไซม์ยูริเอสในเมล็ด ประกอบกับการจำแนกสีตาของเมล็ดและสีของต้นกล้า พบว่าสามารถจำแนกพันธุ์ด้วยกล้อง

ทั้ง 18 สายพันธุ์ออกได้เป็น 13 กลุ่ม มี 10 สายพันธุ์ที่แยกได้เป็นอิสระ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีตรวจสอบในแปลงแล้ว การตรวจสอบโดยวิธีที่ชีวเคมีจำแนกได้ดีกว่า และมีประสิทธิภาพมากกว่า

ปัจจุบันมีจำนวนพันธุ์พืชมากขึ้นและอาจมีความซ้ำซ้อนทางพันธุกรรมเกิดขึ้นได้ วิธีการตรวจสอบในแปลงอาจใช้ไม่ได้หรือมีข้อจำกัดมากกว่า จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาและพัฒนาการตรวจสอบด้วยวิธีทางชีวเคมี ให้สามารถใช้ตรวจสอบจำแนกพันธุ์ในห้องปฏิบัติการได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

- Buchler, R. E., M.B. McDonald, Jr, T.T. Van Toai and S.K. St. Martin. 1989. Soybean cultivar identification using high performance liquid chromatography of seed proteins. *Crop Sci.* 29: 32-37.
- Orf, J.H., N. Kaizuma and T. Hymowitz. 1980. Six soybean seed protein electrophoretic variants. *Seed Sci. & Technol.* 8: 401-406.
- Payne, R. C. 1979. Some new tests and procedures for determining variety (soybeans). *J. Seed Technol.* 3(2): 61-77.
- Sriprasertsak, P. 1988. Identification of soybean (*Glycine max*) cultivars by seed coat peroxidase test and electrophoresis. In 'Electrophoresis Techniques for Plant Identification' pp. 105-116. Central Laboratory and Greenhouse Complex, KURDI, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom.
- Wagner, C.K. and M.B. McDonald. 1982. Rapid laboratory tests useful for differentiation of soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *Seed Sci. & Technol.* 10:431-449.