

พิชชากร พาพันธ์ : การรวมยีนต้านทาน โรคใบจุดและราแป้งในถั่วเขียวพันธุ์ มทส1 และคิง โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือก (PYRAMIDING MULTIPLE CERCOSPORA LEAF SPOT AND POWDERY MILDEW RESISTANCE GENES IN SUT1 AND KING MUNGBEAN VARIETIES USING MARKER-ASSISTED SELECTION) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา อธิมานน์ ต้นตวสวัสดิ์, 179 หน้า.

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้มีความต้านทานต่อโรคและแมลงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการผลิตถั่วเขียว การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) บ่งชี้ยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคใบจุดในกลุ่มผสมระหว่างพันธุ์ชัชนาท72 (CN72) และ V4718 2) รวมยีนต้านทานโรคใบจุดและราแป้งเข้าสู่พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง ได้แก่ พันธุ์มทส1 (SUT1) และคิง (KING) โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกในการผสมกลับ (marker-assisted backcrossing; MABC) 3) ประเมินความต้านทานโรคใบจุดและราแป้ง และลักษณะทางพืชไร่ของสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับ (backcross; BC) ในสภาพแปลงทดลอง และ 4) ยืนยันความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับ และสายพันธุ์พ่อแม่ โดยใช้ลักษณะทางพืชไร่และการสังเคราะห์ด้วยแสง การทดลองที่ 1 ใช้เครื่องหมายที่คาดว่าจะมีความสัมพันธ์กับความต้านทานโรคใบจุดที่พบในการศึกษาครั้งนี้จำนวน 5 เครื่องหมาย ร่วมกับเครื่องหมายที่มีการรายงานมาก่อนหน้านี้ คือเครื่องหมาย VR393 และ CEDG084 เพื่อหาตำแหน่ง QTL ของยีนควบคุมความต้านทานโรคใบจุด ผลการทดลอง พบ QTL 1 ตำแหน่ง (*qCLSC72V18-1*) ซึ่งสามารถอธิบายความแปรปรวนของคะแนนความรุนแรงของการเกิดโรคใบจุดได้ 32.86 ถึง 41.56% ขึ้นอยู่กับปีและอยู่ระหว่างเครื่องหมาย I16274 และ VrTAF5\_Indel ซึ่งห่างจากตำแหน่ง QTL 4.0 และ 5.0 cM ตามลำดับ ในการทดลองที่ 2 ทำการถ่ายยีนต้านทานโรคใบจุดและราแป้งเข้าสู่พันธุ์รับมทส1 และคิง ในกลุ่มผสมที่ใช้พันธุ์รับมทส1 ใช้เครื่องหมายที่เชื่อมโยงกับยีนต้านทานโรคใบจุดและราแป้งจำนวน 4 เครื่องหมาย สำหรับการคัดเลือกแบบ foreground ในขณะที่การคัดเลือกแบบ background ใช้เครื่องหมายที่สามารถแยกความแตกต่าง จำนวน 72 ตำแหน่ง จากการทดลอง ได้พัฒนาสายพันธุ์ถั่วเขียวที่ได้จากการผสมกลับเพื่อรวมยีนชั่วที่ 4 (BC<sub>4</sub>) จากพันธุ์รับมทส1 จำนวน 6 สายพันธุ์ (A1, B1, B2, D2, D5 และ G1) ที่มีจีโนมเหมือนพันธุ์รับมทส1 98.8-100.0% และมีตำแหน่งของเครื่องหมายที่เชื่อมโยงกับยีนต้านทานในรูปแบบ homozygosity ทุกตำแหน่ง ในกลุ่มผสมที่ใช้พันธุ์รับคิง ใช้เครื่องหมายที่เชื่อมโยงกับยีนต้านทาน สำหรับการคัดเลือกแบบ foreground จำนวน 5 เครื่องหมาย และเครื่องหมายที่ให้ความแตกต่างจำนวน 49 ตำแหน่ง สำหรับการคัดเลือกแบบ background เช่นเดียวกัน จากผลการทดลอง พบว่า สายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับเพื่อรวมยีนชั่วที่ 4 จากพันธุ์รับคิง จำนวน 2 สายพันธุ์ (H3 และ H4) มีเครื่องหมายคัดเลือกแบบ

foreground ครบทั้ง 5 ตำแหน่ง และทั้งสองสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับเพื่อรวมยีนชั่วที่ 4 มีจีโนมเหมือนพันธุ์รับคิง เท่ากับ 94.4-100.0% ต่อจากนั้น ทำการประเมินความต้านทานต่อโรคใบจุดและราแป้ง รวมถึงลักษณะทางพีชไร์ ของสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับชั่วที่ 4 จากทั้ง 2 คู่ผสม เพื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์เปรียบเทียบในหลายฤดูกาล ปี และสถานที่ ในระหว่างการประเมินในสภาพแปลงทดลอง พบว่า สายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับเพื่อรวมยีนชั่วที่ 4 ทุกสายพันธุ์มีความต้านทานต่อโรคราแป้งในระดับปานกลางถึงสูง เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์รับมทส1 และคิง บางสายพันธุ์ (H3, H4 และ B2) มีความต้านทานต่อโรคใบจุดในระดับปานกลางหรือระดับสูงเช่นกัน สิ่งที่น่าสนใจคือ เมื่อมีการระบาดของโรคใบจุดและราแป้ง สายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับ A1, B1, B2 และ D5 จากพันธุ์รับมทส1 และ H3 จากพันธุ์รับคิง มีลักษณะทางพีชไร์ส่วนใหญ่เหมือนหรือดีกว่าพันธุ์รับ และยังให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์รับมทส1 3.5-31.0% และสูงกว่าพันธุ์รับคิง 18.0-32.0% ตามลำดับ สายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับชั่วที่ 4 และมทส1 มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกัน โดยเฉพาะ B2 และ D2 เมื่อประเมินจากลักษณะทางพีชไร์ และการสังเคราะห์ด้วยแสง ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับเพื่อรวมยีนเหล่านี้มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นถั่วเขียวพันธุ์ต้านทานใหม่ได้ในอนาคต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช  
ปีการศึกษา 2563

ลายมือชื่อนักศึกษา ณิชนก อมรพร  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา จ.ก.ก.

PITCHAKON PAPAN : PYRAMIDING MULTIPLE CERCOSPORA LEAF SPOT AND POWDERY MILDEW RESISTANCE GENES IN SUT1 AND KING MUNGBEAN VARIETIES USING MARKER-ASSISTED SELECTION. THESIS ADVISOR : PROF. PIYADA ALISHA TANTASAWAT, Ph.D., 179 PP.

MOLECULAR MARKER/QUANTITATIVE TRAIT LOCI (QTL)/MARKER-ASSISTED BACKCROSSING/MARKER-ASSISTED GENE PYRAMIDING

The improvement of mungbean varieties for resistance to diseases and pests is required for mungbean production. The objectives of this study were to 1) identify the *Cercospora* leaf spot (CLS) resistance gene in a cross between CN72 and V4718, 2) pyramid CLS and PM resistance genes into high yielding mungbean varieties, SUT1 and KING, through marker-assisted backcrossing (MABC), 3) evaluate backcross (BC) lines for CLS and PM resistance as well as agronomic traits in the field conditions, and 4) confirm genetic relationship among BC lines and their parents based on agronomic and photosynthetic characters. The first experiment used five putative markers linked to CLS resistance discovered in this study together with markers VR393 and CEDG084 from a previous report to refine quantitative trait loci (QTL) mapping of a gene conferring CLS resistance. As a result, a major QTL (*qCLSC72V18-1*) accounted for 32.86 to 41.56% of phenotypic variation in CLS disease severity score depending on years was identified and flanked between I16274 and VrTAF5\_Indel markers at a distance of 4.0 and 5.0 cM, respectively. In the second experiment, the CLS and PM resistance genes were transferred into the recurrent parents SUT1 and KING. In the cross with the recurrent parent SUT1, four markers associated with CLS and PM



resistance genes were used for foreground selection, while 72 polymorphic marker loci were used for background selection. Six pyramided BC<sub>4</sub> lines (A1, B1, B2, D2, D5, and G1) from recurrent parent SUT1 with 98.8-100.0% recurrent parent genome (RPG) recovery that possessed all resistance gene linked marker loci in homozygosity were developed. Five markers linked to resistance genes for foreground selection and 49 polymorphic marker loci for background selection were also used in the cross with recurrent parent KING. The results revealed two pyramided BC<sub>4</sub> lines from the recurrent parent KING, carrying all five foreground marker loci, H3 and H4. The RPG recovery of these pyramided BC<sub>4</sub> lines was 94.4-100.0%. Subsequently, these pyramided BC<sub>4</sub> lines of both crosses were further evaluated for CLS and PM resistance along with agronomic traits compared to their parents and check varieties in various seasons, years and locations. During field evaluation, a moderate to high level of PM resistance was observed in all pyramided BC lines compared to the recurrent parents SUT1 and KING. Some of these lines (H3, H4, and B2) were also moderate resistant and resistant to CLS. Interestingly, A1, B1, B2, and D5 from SUT1 and H3 from KING had most agronomic traits similar or superior to the recurrent parents and their yields tended to be 3.5-31.0% higher than SUT1 and 18.0-32.0% higher than KING, respectively under CLS and PM outbreaks. The close relationship among BC<sub>4</sub> lines and SUT1 was found especially in B2 and D2 based on agronomic and photosynthetic performances. Therefore, these pyramided BC lines had potential to be developed into new resistant varieties of mungbean in the future.

School of Crop production Technology

Academic Year 2020

Student's Signature Pitchakon Papan

Advisor's Signature Pirote Alisha Teerakul