บทคัดย่อ

โครงการวิจัยการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งและการรวมยีนต้านทานในถั่วเขียวนี้ ประกอบด้วย 4 ส่วนหลัก คือ (1) การประเมินโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 (2) การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล inter-simple sequence repeat (ISSR) และ ISSR-resistance gene analog (RGA) ที่บ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว (3) การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคและให้ผลผลิตสูงจากประชากร recombinant inbred lines; RILs และ (4) การปรับปรุงสายพันธุ์ต้านทานโรคราแป้งโดยวิธีการรวมยีนต้านทานหลายยีนไว้ในสายพันธุ์เดียวกัน ซึ่งในส่วนที่ 1 พบว่ายีนที่ถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ (single major gene) ส่วนที่ 2 การทดสอบด้วยวิธี bulk segregant analysis (BSA) โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 75 ไพรเมอร์ และ ISSR-RGA จำนวน 122 คู่ไพรเมอร์ เพื่อหาความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรครา-แป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 x V4718 พบว่าได้เครื่องหมาย จำนวน 25 และ 29 เครื่องหมาย ตามลำดับ ซึ่งน่าจะเชื่อมโยงกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง และเมื่อนำไปประเมินประชากรลูกผสมรายต้น จำนวน 100 ต้น ได้ 8 เครื่องหมาย (I13306, I16274, I84267, I84416, I85420, I42PL222, I42PL229 และ I88R656) ที่มีความสัมพันธ์กับความต้านทานโรคราแป้งอย่างมีนัยสำคัญ โดยเครื่องหมาย I42PL229 และ I85420 มีตำแหน่งอยู่ 2 ด้านของยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง (*qPMC72V18-1*) และอยู่ใกล้มากที่สุด 4 และ 9 cM ตามลำดับ ซึ่งหากใช้ทั้งสองเครื่องหมายในการคัดเลือกจะให้ค่า recombination เพียง 0.72% ส่วนการประเมินความเหมาะสมในการใช้ไพรเมอร์ RGA ร่วมกับ ISSR เพื่อพัฒนาเป็นเครื่องหมายชนิดใหม่ พบว่าเครื่องหมาย ISSR-RGA จำนวน 27 เครื่องหมายเป็นเครื่องหมายใหม่ คิดเป็น 93.1% จากทั้งหมด 29 เครื่องหมาย ส่วนที่ 3 การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งและให้ผลผลิตสูงจากประชากร RILs พบว่าปี พ.ศ. 2557 การระบาดของโรคราแป้งรุนแรงกว่าปี พ.ศ. 2556 ซึ่งสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการรวมยีนต้านทานโรคราแป้งและให้ผลผลิตสูงจำนวน 4 สายพันธุ์ (13B, 14B, 24B และ 54C) และส่วนที่ 4 จากการประเมินลูกผสมกลับ BC_2F_1 จำนวน 11 ลูกผสมที่ได้จากการรวมยีนต้านทานโรคราแป้งเบื้องต้นด้วยเครื่องหมาย I84416 พบว่าลูกผสม SUT15BC2-25, SUT15BC2-31 และ SUT15BC2-34 มีแถบดีเอ็นเอขนาด 416 bp เช่นเดียวกับ V4718 จึงคัดเลือกไว้เพื่อนำไปผสมกลับต่อไป ผลการทดลองเหล่านี้แสดงว่าการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวนี้เป็นประโยชน์และสามารถนำไปใช้คัดเลือกลูกผสมที่มีความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Abstract

The development of molecular markers linked to powdery mildew resistance and pyramiding multiple resistance genes in mungbean research project consists of 4 major parts (1) Evaluation of powdery mildew in the CN72 x V4718 cross. (2) development of inter-simple sequence repeat (ISSR) and ISSR-resistance gene analog (RGA) molecular markers linked to powdery mildew resistance in mungbean (3) selection of the potential mungbean lines with disease resistance and high yield from recombinant inbred lines (RILs) and (4) breeding for powdery mildew resistant lines by pyramiding multiple resistance genes. It was found that (1) powdery mildew resistant response in the CN72 x V4718 cross was controlled by a single major gene. (2) The bulk segregant analysis (BSA) was performed with 75 ISSR primers and 122 ISSR-RGA primer pairs to find possible linkage of ISSR and ISSR-RGA markers with powdery mildew resistance in the CN72 x V4718 cross. Twenty five ISSR and 29 ISSR-RGA markers putatively linked to the gene controlling powdery mildew resistance were identified. When these markers were used for evaluation of the 100 individual RIL population, eight markers (I13306, I16274, I84267, I84416, I85420, I42PL222, I42PL229 and I88R656) were found to be significantly associated with powdery mildew resistance. Two of the eight markers, I42PL229 and I85420, flanked and were closest to the gene encoding powdery mildew resistance (*qPMC72V18-1*) with the distance of 4 and 9 cM, respectively. Only 0.72% recombination was achieved if both markers were used for selection. For the evaluation of using RGA primers in combination with ISSR primers to develop new marker types, new 27 ISSR-RGA markers from the total of 29 markers (93.1%) were found. (3) Selection of the potential mungbean lines with powdery mildew resistance and high yield from RILs in 2013 and 2014 showed that powdery mildew in 2014 was more virulent than 2013. Four promising mungbean lines were selected to be used as parents including 13B, 14B, 24B and 54C. Finally, (4) the preliminary evaluation of 11 BC_2F_1 progenies from pyramiding of the powdery mildew resistance genes with I84416 marker showed that SUT15BC2-25, SUT15BC2-31 and SUT15BC2-34 possessed a 416 bp DNA band similar to V4718. Therefore, they were selected for further backcrossing. These results suggested that the development of these molecular markers were useful and can be effectively used for selection of powdery mildew resistance in mungbean.