เกตุวลี ศิวพิทักษ์พงศ์ : การรวมยีนต้านทานโรคใบจุดและราแป้งในถั่วเขียวพันธุ์ KING และสายพันธุ์ H3 ที่ให้ผลผลิตสูง ด้วยวิธีการผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือก (PYRAMIDING CERCOSPORA LEAF SPOT AND POWDERY MILDEW RESISTANCE GENES INTO HIGH YIELDING MUNGBEAN VARIETY KING AND LINE H3 BY MARKER-ASSISTED BACKCROSS BREEDING) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา อลิฌาณ์ ตันตสวัสดิ์, 84 หน้า.

การรวมยีน/การใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการผสมกลับ/*Vigna radiata* (L.) Wilczek

การพัฒนาพันธุ์ถั่วเขียวให้มีความต้านทานแบบกว้างต่อโรคใบจุดและราแป้งเป็นสิ่งจำเป็น ซึ่งสามารถทำได้โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยรวมยีนต้านทาน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ประเมินปริมาณจีโนมที่เหมือนกับพันธุ์รับในคู่ผสมระหว่าง KING และ SUPER5 และ H3 และ SUPER5 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล simple sequence repeat (SSR) และ expressed sequence tag-simple sequence repeat (EST-SSR) 2) รวมยีนต้านทานโรคใบจุดและราแป้งเข้าสู่พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงพันธุ์/สายพันธุ์ KING และ H3 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกในการผสมกลับ (marker-assisted backcrossing; MABC) และ 3) ประเมินความต้านทานต่อโรคใบจุดและราแป้งในลูกผสมกลับ เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อ-แม่และพันธุ์เปรียบเทียบชัยนาท72 (CN72) การทดลองที่ 1 ค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ-แม่ โดยใช้เครื่องหมาย SSR และ EST-SSR จำนวน 160 เครื่องหมาย ซึ่งครอบคลุมทั้ง 11 โครโมโซมของถั่วเขียว โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่ให้ความแตกต่างในการคัดเลือกลูกผสมกลับที่มีจีโนมเหมือนพันธุ์รับสูง ในจำนวนนี้มี 6 เครื่องหมายโมเลกุลที่ให้ความแตกต่างและเชื่อมโยงกับลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการเพาะปลูก จากการทดลอง พบเครื่องหมายโมเลกุล SSR และ EST-SSR ที่แสดงความแตกต่าง 27 (16.9%) และ 23 (14.4%) เครื่องหมาย ในคู่ผสมระหว่าง KING และ SUPER5 และ H3 และ SUPER5 ตามลำดับ นำ 4 ลูกผสม-กลับ ในชั่วที่ 2 ของแต่ละประชากรที่มีจีโนมเหมือนพันธุ์รับสูง ในช่วง 87.2-97.8% ไปใช้ในการผลิตเมล็ดลูกผสมกลับในชั่วที่ 3 ต่อไป ในการทดลองที่ 2 ใช้เครื่องหมายโมเลกุล 6 เครื่องหมาย ที่เชื่อมโยงกับยีนต้านทานโรคใบจุดและราแป้ง ในการคัดเลือกแบบ foreground เพื่อถ่ายยีนต้านทานจำนวน 3 ยีน (ยีนต้านทานโรคใบจุด 1 ยีนและยีนต้านทานโรคราแป้ง 2 ยีน) เข้าสู่พันธุ์รับ KING และ H3 ในขณะที่ใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่ให้ความแตกต่าง 27 และ 23 เครื่องหมายในประชากร KING และ SUPER5 และ H3 และ SUPER5 ตามลำดับ จากการทดลองที่ 1 ในการคัดเลือกแบบ background เมื่อทำการประเมินความต้านทานโรคใบจุดด้วยวิธีใบตัดในลูกผสมกลับชั่วที่ 2 ของทั้งสองประชากร พบว่า ลูกผสมกลับที่มียีนต้านทานทั้งหมดแสดงความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคใบจุดทุกไอโซเลต คัดเลือกลูกผสมกลับชั่วที่ 2 ที่มีความต้านทานและมีจีโนมเหมือนพันธุ์รับสูง ได้แก่ ลูกผสมกลับ K9-10 (94.7%), K171-448 (88.4%), K147-335 (87.5%) และ K9-17 (87.2%) ในคู่ผสมระหว่าง KING และ SUPER5 และลูกผสมกลับ H207-519 (97.8%), H210-533 (97.8%), H218-536 (93.3%) และ H218-537 (92.1%) ในคู่ผสมระหว่าง H3 และ SUPER5 เพื่อนำไปใช้ใน

การผลิตเมล็ดลูกผสมกลับในชั่วที่ 3 ต่อไป เมื่อประเมินความต้านทานต่อโรคราแป้งในสภาพแปลง พบว่า ลูกผสมกลับที่มียีนต้านทานสามารถต้านทานต่อโรคราแป้งได้มากกว่าเมื่อเทียบกับพันธุ์รับและพันธุ์เปรียบเทียบชัยนาท 72 ในประชากรคู่ผสมระหว่าง KING (พันธุ์รับ) และ SUPER5 (พันธุ์ให้) ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 ที่มีการรวมกันของเครื่องหมายโมเลกุลที่เชื่อมโยงกับยีนต้านทานโรคราแป้งทั้ง 2 ยีน ซึ่งได้แก่เครื่องหมายโมเลกุล I85420 + I42PL222 และ เครื่องหมายโมเลกุล I27R565 มีความต้านทานต่อโรคราแป้งมากกว่าพันธุ์รับ KING และพันธุ์เปรียบเทียบชัยนาท 72 นอกจากนี้ ลูกผสมกลับส่วนใหญ่ยังให้ผลผลิตต่อต้นมากกว่าพันธุ์รับ KING เนื่องจากมีจำนวนฝักต่อต้น ช่อดอกต่อต้น และกิ่งต่อต้นที่มากกว่า การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกเพื่อเร่งการผสมกลับและลูกผสมกลับที่เกิดจากการรวมยีนมีศักยภาพในการที่จะพัฒนาสู่พันธุ์ต้านทานโรคใบจุดและราแป้งโดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการผสมกลับ หรืออาจนำไปใช้เป็นแหล่งต้านทานต่อโรคใบจุดและราแป้งในโครงการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนักศึกษา เกตุวลี ศิวพิทักษ์พงศ์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

KETWALEE SIWAPITHAKPONG : PYRAMIDING CERCOSPORA LEAF SPOT AND POWDERY MILDEW RESISTANCE GENES INTO HIGH YIELDING MUNGBEAN VARIETY KING AND LINE H3 BY MARKER-ASSISTED BACKCROSS BREEDING. THESIS ADVISOR : PROF. PIYADA ALISHA TANTASAWAT, Ph.D., 84 PP.

Gene pyramiding/Marker-assisted backcross breeding (MABB)/ *Vigna radiata* (L.) Wilczek

The development of mungbean for broad spectrum resistance to Cercospora leaf spot (CLS) and powdery mildew (PM) is necessary and can be achieved using the marker-assisted gene pyramiding method. The objectives of this study were to 1) quantify the recurrent parent genome (RPG) recovery in crosses between KING and SUPER5, and between H3 and SUPER5, using simple sequence repeat (SSR) and expressed sequence tag-simple sequence repeat (EST-SSR) markers, 2) pyramid CLS and PM resistance genes into high yielding mungbean variety/line KING and H3 through marker-assisted backcrossing (MABC), and 3) evaluate backcross progenies for CLS and PM resistance and compare them with their parents and check cv. CN72. The first experiment was carried out to identify the polymorphic markers between parents using 160 SSR and EST-SSR markers, which covered 11 mungbean chromosomes. The polymorphic markers were used to select backcross progenies with high RPG recovery. Among these, six polymorphic markers were linked to domestication related traits. As a result, 27 (16.9%) and 23 (14.4%) SSR and EST-SSR markers were found to be polymorphic between KING and SUPER5, and H3 and SUPER5, respectively. Four pyramided BC_2F_1 progenies of each population with high RPG recovery ranging from 87.2-97.8% were further used to produce BC_3F_1 seeds. In the second experiment, six markers associated with CLS and PM resistance genes were used for foreground selection to transfer the triple resistance genes (one CLS resistance gene and 2 PM resistance genes) into the recurrent parents KING and H3. While 27 and 23 polymorphic markers in KING and SUPER5, and H3 and SUPER5 populations, respectively, from the first experiment were used for background selection. When CLS resistance was evaluated using detached leaf assay, the BC_2F_1 progenies of the two populations possessing all resistance genes showed the resistant response against all isolates of CLS. The resistant BC_2F_1 progenies with high RPG recovery, K9-10 (94.7%), K171-448 (88.4%), K147-335 (87.5%), and K9-17 (87.2%) in the KING and SUPER5 population, and H207-519 (97.8%), H210-533 (97.8%), H218-536 (93.3%), and H218-537 (92.1%) in the H3 and SUPER5 population, were further used to produce BC_3F_1 seeds. When assessed

for PM resistance under field conditions, we found that backcross progenies with resistance genes could withstand PM more when compared with their recurrent parents and check cv. CN72. In a cross of KING (recurrent parent) and SUPER5 (donor parent), the pyramided BC_2F_1 progenies with marker combinations linked to both PM resistance genes including I85420 + I42PL222, and I27R565 were more resistant to PM than KING and check cv. CN72. Moreover, most of the pyramided progenies produced higher yield per plant than KING because of their superior pods per plant, clusters per plant, and branches per plant. This study revealed the usefulness of marker-assisted selection (MAS) to accelerate backcrossing, and the pyramided BC progenies had a potential to be developed into new CLS and PM resistant varieties via marker-assisted backcross breeding or be used as potential CLS and PM resistance sources in mungbean breeding programs.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Crop Production Technology
Academic Year 2022

Student's Signature ketwalee Siwapithakpong
Advisor's Signature Pisoda Alisha Tantimi