



รายงานการวิจัย

การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้ง และการรวม
ยีนต้านทานในถั่วเขียว

Development of molecular markers linked to powdery mildew
resistance and pyramiding multiple resistance genes in
mungbean



ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลการวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้ง และการรวม
ยีนต้านทานในถั่วเขียว

Development of molecular markers linked to powdery mildew
resistance and pyramiding multiple resistance genes in
mungbean

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา อลิมาณ์ ต้นตสวัสดิ์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

1. ดร.อ้อยทิพย์ พูลสวัสดิ์
2. นางสาวชิตพันธ์ คติวัฒน์
3. นางสาวกิตติยา อาซากิจ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2555-2557

ผลการวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กันยายน 2560

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยโครงการการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้ง และการรวมยีนต้านทานในถั่วเขียวนี้ สำเร็จได้ด้วยดี คณะวิจัยใคร่ขอขอบคุณ ขอบคุณศูนย์วิจัยพืชผักเขตร้อน และศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ที่เอื้อเพื่อเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวในการวิจัย ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร. ไพศาล เหล่าสุวรรณ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตติพร มะชิโกวา เป็นอย่างสูงที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ และให้คำปรึกษาด้านการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีดั้งเดิม ขอขอบคุณฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่เอื้อเพื่อสถานที่สำหรับงานวิจัย นอกจากนี้คณะวิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาการวิจัย รวมทั้งนักศึกษาบัณฑิตและผู้ช่วยวิจัยหลายท่านที่ช่วยจัดเตรียมรายงานการวิจัยฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2555-2557

ผู้วิจัย



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 เพื่อหาความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × 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*) และอยู่ไกลที่สุด 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 BC₂F₁ 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 BC₂F₁ 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.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญตารางภาคผนวก.....	ช
สารบัญภาพ.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย.....	5
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
ส่วนที่ 1 การประเมินโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718.....	6
ส่วนที่ 2 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล ISSR และ ISSR-RGA ที่บ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว.....	7
ส่วนที่ 3 การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคและให้ผลผลิตสูงจากประชากร recombinant inbred lines; RILs.....	10
ส่วนที่ 4 การปรับปรุงสายพันธุ์ต้านทานโรคราแป้ง โดยวิธีการรวมยีนต้านทานหลายยีนไว้ในสายพันธุ์เดียวกัน.....	10
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล	
ส่วนที่ 1 การประเมินโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718.....	12
ส่วนที่ 2 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล ISSR และ ISSR-RGA ที่บ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว.....	14
ส่วนที่ 3 การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคและให้ผลผลิตสูงจากประชากร recombinant inbred lines; RILs.....	43
ส่วนที่ 4 การปรับปรุงสายพันธุ์ต้านทานโรคราแป้ง โดยวิธีการรวมยีนต้านทานหลายยีนไว้ในสายพันธุ์เดียวกัน.....	53
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	56
บรรณานุกรม.....	57
ภาคผนวก.....	63
ประวัติผู้วิจัย.....	73

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 การกระจายตัวของประชากร $F_{2:7}$ และ $F_{2:8}$ ต่อการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718	13
2 ลำดับเบส ขนาดของแถบดีเอ็นเอ จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 75 ไพรเมอร์	18
3 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR และลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718.....	21
4 ไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA จำนวน 33 คู่ไพรเมอร์.....	22
5 อุณหภูมิ annealing ที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของไพรเมอร์ ISSR-RGA จำนวน 33 คู่ไพรเมอร์.....	25
6 ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA (RLK for) จำนวน 38 คู่ไพรเมอร์ ที่อุณหภูมิ annealing 50 องศาเซลเซียส	26
7 ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA (P-Loop) จำนวน 51 คู่ไพรเมอร์ ที่อุณหภูมิ annealing 50 องศาเซลเซียส.....	29
8 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR-RGA และลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718.....	33
9 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR และ ISSR-RGA ต่อลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718.....	34
10 ตำแหน่ง QTL ที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรคราแป้งในประชากร $F_{2:7}$ และ $F_{2:8}$ ของคู่ผสม CN72 × V4718 จากการวิเคราะห์ multiple interval mapping	34

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
11 ขนาดและจำนวนแถบดีเอ็นเอรูปแบบต่าง ๆ ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ที่เพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA.....	36
12 ขนาดและจำนวนแถบดีเอ็นเอรูปแบบต่าง ๆ ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ที่เพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA (RLK for).....	38
13 ขนาดและจำนวนแถบดีเอ็นเอรูปแบบต่าง ๆ ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ที่เพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA (P-Loop).....	40
14 คะแนนการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 และ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556.....	46
15 คะแนนการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 และ 65 วัน ปี พ.ศ. 2557.....	47
16 น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก ผลผลิต และระดับความต้านทานโรคราแป้งที่ 65 วันของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556.....	49
17 น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก ผลผลิต และระดับความต้านทานโรคราแป้งที่ 65 วันของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557.....	50
18 ประวัติสายพันธุ์ของลูกผสมกลับในชั่ว BC ₂ F ₁ จำนวน 11 ลูกผสม และพันธุ์พ่อแม่.....	54

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
1 คະແນນการเกิดโรคราแป้ง CN72 x V4718 ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556.....	64
2 คະແນນการเกิดโรคราแป้ง CN72 x V4718 ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2559.....	66
3 ค่าการวิเคราะห์ของคະແນນการเกิดโรคราแป้ง CN72 x V4718 ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556.....	68
4 ค่าการวิเคราะห์ของคະແນນการเกิดโรคราแป้ง CN72 x V4718 ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2559.....	68
5 ค่าการวิเคราะห์ของคະແນນการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 วัน ปี พ.ศ. 2556.....	68
6 ค่าการวิเคราะห์ของคະແນນการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556.....	68
7 ค่าการวิเคราะห์ของคະແນນการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 วัน ปี พ.ศ. 2557.....	69
8 ค่าการวิเคราะห์ของคະແນນการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2557.....	69
9 ค่าการวิเคราะห์น้ำหนัก 100 เมล็ดของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556.....	69
10 ค่าการวิเคราะห์จำนวนฝักต่อต้นของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556.....	69
11 ค่าการวิเคราะห์จำนวนเมล็ดต่อฝักของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556.....	70
12 ค่าการวิเคราะห์ผลผลิตของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556.....	70
13 ค่าการวิเคราะห์น้ำหนัก 100 เมล็ดของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557.....	70
14 ค่าการวิเคราะห์จำนวนฝักต่อต้นของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557.....	70
15 ค่าการวิเคราะห์จำนวนเมล็ดต่อฝักของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557.....	71
16 ค่าการวิเคราะห์ผลผลิตของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557.....	71

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 การกระจายตัวของประชากร RILs คู่ผสม CN72 × V4718 ต่อการเกิดโรคราแป้งที่ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556 (a) และปี พ.ศ. 2559 (b).....	13
2 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในถั่วเขียวพันธุ์ต้านทาน V4718 (1) พันธุ์อ่อนแอ CN72 (2) ลูกผสมที่ต้านทาน (3-12) และลูกผสมที่อ่อนแอ (13-22) ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ ISSR884; M = 100 bp DNA ladder.....	35
3 ตำแหน่งยีนต้านทานโรคราแป้งอยู่ระหว่างเครื่องหมาย I42PL229 กับ I85420.....	35
4 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในถั่วเขียวสายพันธุ์ V4718 (R) พันธุ์ CN72 (S) ประชากรรวมต้านทาน (RB) และประชากรรวมอ่อนแอ (SB) ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ ISSR842 และ ISSR842 ร่วมกับ P-Loop; M = 100 bp DNA ladder ลูกศรสีแดงสีน้ำเงินแสดงจำนวนแถบดีเอ็นเอที่น่าจะเชื่อมโยงกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง.....	42
5 แปลงทดสอบผลผลิตถั่วเขียวในช่วงที่มีการระบาดของโรคราแป้งที่อายุ 55 วัน ปี พ.ศ. 2557.....	52
6 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอถั่วเขียวพันธุ์อ่อนแอ (CN72) พันธุ์ต้านทาน (V4718, V4758 และ V4785) และประชากรถั่วเขียวลูกผสม BC ₂ F ₁ จำนวน 11 สายพันธุ์ ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ ISSR 884; M = 100 bp DNA ladder.....	55

บทที่ 1

บทนำ

คำนำ

การวิจัยโครงการ “การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้ง และการรวมยีนต้านทานในถั่วเขียว” นี้ ได้ดำเนินงานต่อเนื่องจากโครงการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิตในระยะที่ 2 ซึ่งได้ทำการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวโดยวิธีดั้งเดิม เพื่อผลิตประชากรถั่วเขียวลูกผสมชั่ว F_6 จำนวน 15 คู่ผสม คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงในช่วง F_6 - F_8 และทดสอบผลผลิตของสายพันธุ์คัดเลือกในช่วง F_9 ในพื้นที่ปลูกต่างกัน คือ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ จ. นครราชสีมา เพื่อประเมินศักยภาพในการให้ผลผลิต และการปรับตัวของถั่วเขียวสายพันธุ์ต่าง ๆ และคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงในทั้ง 2 พื้นที่ปลูก สำหรับนำไปใช้ปลูกทดสอบหลายฤดูกาล หลายพื้นที่ปลูก และหลายปีเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสำหรับส่งเสริมให้แก่เกษตรกรต่อไป ซึ่งงานวิจัยในโครงการการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้ง และการรวมยีนต้านทานในถั่วเขียวนี้ได้คัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียว จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ V4718, V4758 และ V4785 ซึ่งทั้งสามสายพันธุ์มีปฏิกริยาและระดับความต้านทานโรคราแป้งแตกต่างกัน ความต้านทานโรคถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ และเป็นยีนต่างตำแหน่ง (non-allelic) (Khajudparn et al., 2007) ส่วนพันธุ์อ่อนแอต่อโรคใช้พันธุ์ชยันนาท 72 (CN72) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง ต้านทานต่อหนอนแมลงวันเจาะลำต้น แต่อ่อนแอต่อโรคราแป้ง (ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี, 2553) โครงการวิจัยนี้จะใช้ประโยชน์จากการพบแหล่งของยีนต้านทานโรคราแป้งใหม่ โดยการรวมยีนต้านทานเข้ามาไว้ในพันธุ์เดียวกัน ซึ่งอาจสามารถเพิ่มระดับความต้านทานโรคให้สูงขึ้น ต้านทานเชื้อสาเหตุของโรคราแป้งได้หลายสายพันธุ์ อาจให้ความต้านทานต่อเชื้อราแป้งในหลากหลายท้องถิ่น และมีศักยภาพในการต้านทานโรคยาวนานขึ้น อีกทั้งจะทำการถ่ายทอดยีนต้านทานโรคราแป้งนี้ไปยังพันธุ์ชยันนาท 72 ซึ่งเป็นพันธุ์ส่งเสริมให้มีความต้านทานต่อโรคราแป้ง

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) เป็นพืชตระกูลถั่วที่มีความสำคัญต่อระบบเศรษฐกิจ และการเกษตร เพราะมีอายุสั้นประมาณ 85 วัน ทนแล้งและขึ้นในเขตร้อนได้ดี สามารถปลูกได้ในทุกภาคของประเทศไทย ปลูกได้ในดินทุกชนิด และปลูกได้ตลอดปี เป็นพืชบำรุงดิน ทั้งยังสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดี เกษตรกรจึงนิยมปลูกสลับกับพืชชนิดอื่นทั้งก่อนหรือหลังฤดูปลูกพืชหลักหรือปลูกร่วมกับพืชชนิดอื่น นอกจากจะมีปริมาณโปรตีนที่สูงแล้ว (21-28%) ถั่วเขียวยังมี phytoestrogen, antimicrobial และ antioxidant activities ซึ่งอาจช่วยป้องกันโรค เช่น มะเร็ง (Women's Health Letter, 2003) สำหรับสถานการณ์การผลิตถั่วเขียวในประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกในปี พ.ศ. 2558 ทั้งสิ้น 849,000 ไร่ ได้ผลผลิต 99,301 ตัน คิดเป็นผลผลิตเฉลี่ย 116.96 กิโลกรัมต่อไร่ โดยความต้องการใช้ในประเทศอยู่ที่ 84,554 ตัน (ศรีสุตา เตชะสาน, 2558) สถิติการ

ส่งออกสินค้ามาตรฐานถั่วเขียวของประเทศไทยตั้งแต่ 2555-2558 อยู่ที่ 3,286.36, 527.57, 1,436.86 และ 1,704.00 ตัน คิดเป็นมูลค่า 86.58, 15.26, 57.09 และ 69.46 ล้านบาท ตามลำดับ (สำนักงานมาตรฐานสินค้า, 2558) ปัจจัยสำคัญที่จำกัดผลผลิตของถั่วเขียว ได้แก่ การไม่ทนต่อสภาพแวดล้อม การอ่อนแอต่อโรค เช่น โรคราแป้ง (powdery mildew) เป็นโรคที่สร้างความเสียหายให้กับถั่วเขียวมากที่สุดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Tsou et al., 1979) โดยทำให้ผลผลิตลดลงถึง 40 เปอร์เซ็นต์ (Asian Vegetable Research and Development Center, 2009) เกิดจากเชื้อรา *Sphaerotheca phaseoli* ซึ่งจะพบเส้นใยของเชื้อรา ลักษณะคล้ายผงแป้งโรยอยู่บนใบล่าง ๆ สามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า การระบาดจะพบในถั่วเขียวที่ปลูกในช่วงฤดูแล้งที่มีอากาศค่อนข้างเย็น ระบาดได้ง่ายโดยอาศัยลม และเมื่อสปอร์ของเชื้อราตกลงบนผิวใบ จะอาศัยความชื้นในบรรยากาศและบนผิวใบเข้าสู่เนื้อใบ สร้างฮอสทอเรีย (haustoria) ดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์ผิวใบทำให้เซลล์ตาย ใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงและแห้งตายในที่สุด ถ้าเกิดในระยะติดฝักและเมล็ดเริ่มแตงแล้ว ความเสียหายด้านผลผลิตจะมีไม่มาก แต่หากเกิดในระยะออกดอก พบว่าถั่วเขียวจะแคระแกร็น การติดฝักไม่ดี ฝักและเมล็ดขนาดเล็ก (สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร, 2552) การลดความเสียหายของถั่วเขียวจากโรคราแป้งนั้นอาจทำได้หลายวิธี เช่น การใช้สารเคมี ได้แก่ triadimefon และ triazoles เป็นต้น (Zhang, 1999; Khunti et al., 2002) ป้องกันกำจัด หรือการใช้พันธุ์ต้านทานโรคราแป้ง

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานต่อโรคราแป้งสามารถทำได้ทั้งวิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิม (conventional breeding) และการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีกลายพันธุ์ Reddy et al. (1994) ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว พบว่าความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวถูกควบคุมด้วยยีนแบบซ่ม 2 ยีน ได้แก่ *Pm-1* และ *Pm-2* ซึ่งผลของยีนแบบซ่มและแบบซ่มมีความสำคัญต่อการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคราแป้งสู่รุ่นลูก (Gawande and Patil, 2003) นอกจากนี้ Khajudpam et al. (20) พบยีนต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว 3 สายพันธุ์ ซึ่งยีนต้านทานโรคราแป้งในทั้ง 3 สายพันธุ์เป็นยีนเดี่ยวแบบซ่มที่มีตำแหน่งต่างกันบนโครโมโซม (non-allelic) และมีการกระจายตัวเป็นอิสระต่อกัน หากสามารถนำยีนต้านทานโรคราแป้งทั้ง 3 ยีนมารวมไว้ในพันธุ์เดียวกัน (pyramiding) อาจทำให้ได้พันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคหลากหลายสายพันธุ์ (races) ขึ้น และยากต่อการเสื่อมสลายของความต้านทาน (resistance breakdown) มากขึ้น นอกจากนี้หากยีนเหล่านี้ทำงานเสริมกัน อาจทำให้ระดับความต้านทานโรคสูงขึ้นด้วย อย่างไรก็ตาม การปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิมเป็นวิธีที่ใช้เวลานาน และประสบความสำเร็จช้า จึงมีการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลขึ้นหลายชนิด และใช้กันอย่างกว้างขวางในการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในขั้นตอนต่าง ๆ ของการปรับปรุงพันธุ์ เช่น การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชและโรคพืช การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ การใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกลูกผสม โดยใช้ศึกษาทั้งลักษณะคุณภาพ (Fazio et al., 1999) และลักษณะปริมาณ (Veldboom and Lee, 1994) โดยเฉพาะการนำยีนต้านทานโรค (disease resistance genes; R genes) มาใช้ปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้ต้านทานโรค ทำให้การปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานโรคพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว

มีการนำเครื่องหมายโมเลกุลชนิดต่าง ๆ เช่น simple sequence repeat (SSR), inter-simple sequence repeat (ISSR), amplified fragment length polymorphisms (AFLP), random amplified

polymorphic DNA (RAPD) และ restriction fragment length polymorphisms (RFLP) มาใช้ศึกษาความเหมือนทางพันธุกรรม (genetic similarities) และการจำแนกพันธุ์ถั่วสกุล *Vigna* spp. หลายชนิดรวมทั้งถั่วเขียวที่ระดับดีเอ็นเอ (Fatokun et al., 1993; Fatokun et al., 1997; Mignouna et al., 1998; Yee et al., 1999; Tantasawat et al., 2010; Khajudparn et al., 2012; Singh et al., 2014) และมีการพัฒนาเครื่องหมาย AFLP และ RFLP ที่มี linkage กับยีนต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว (บุปผา ใจเที่ยง, 2545; Zhang et al., 2008) อย่างไรก็ตาม AFLP เป็นเครื่องหมายโมเลกุลแบบข่ม และแม้ว่าจะให้ผลการทดลองที่มีความแน่นอนกว่า RAPD แต่วิธีการทดลองยุ่งยากกว่า ใช้เวลานานกว่า และใช้ต้นทุนสูงกว่า RAPD, ISSR และ SSR สำหรับการวิเคราะห์ RAPD ทำได้ง่าย รวดเร็ว และใช้ต้นทุนต่ำ แต่บางตำแหน่ง (locus) อาจได้ผลที่ไม่แน่นอน ส่วน RFLP เป็นวิธีการที่ต้องใช้ดีเอ็นเอเป็นปริมาณมากกว่าวิธีอื่น และมีวิธีการทดลองยุ่งยากและใช้ค่าใช้จ่ายมากกว่าวิธีอื่น (ไพศาล เหล่าสุวรรณ และคณะ, 2546) ในขณะที่ SSR มีคุณสมบัติดีหลายประการ เช่น ให้ข้อมูลความแตกต่างสูง มีการกระจายตัวทั่วทั้งจีโนม ได้ผลที่แน่นอน เป็นเครื่องหมายโมเลกุลแบบข่มร่วม และมีวิธีการวิเคราะห์ที่ง่าย รวดเร็ว และใช้ต้นทุนไม่มาก จึงเป็นที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน แต่ข้อเสียของวิธีการนี้คือจะต้องมีการโคลนและหาลำดับเบสของ microsatellites (SSR) ก่อนจึงจะนำไปใช้ได้ (Wang et al., 1994; Cregan et al., 1999) ดังนั้นจึงมีการพัฒนา ISSR ขึ้นโดยใช้ประโยชน์จากลำดับเบสของ SSR นำมาใช้สร้างไพรเมอร์ขนาดประมาณ 20 นิวคลีโอไทด์เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่าง microsatellites โดยตรง ทำให้ไม่จำเป็นต้องมีการโคลนและหาลำดับเบสก่อน นอกจากนี้ วิธีการนี้จะเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่หลายตำแหน่งของจีโนม (multilocus) เช่นเดียวกับ RAPD จึงได้ข้อมูลมากกว่า SSR ที่มีตำแหน่งจำเพาะในจีโนม (single locus) มีการนำ ISSR มาใช้ประโยชน์ในการศึกษาความหลากหลายของพืชจีนัส *Vigna* 18 สปีชีส์ รวมทั้งถั่วเขียว (Ajibade et al., 2000; Tantasawat et al., 2010) และเนื่องจากถั่วเขียวมีการกระจายตัวของ SSR อยู่ทั่วจีโนม เช่น พบจำนวนซ้ำของนิวคลีโอไทด์ (AT)_n หรือ (ATT)_n ในทุก ๆ 34.6 kb ของจีโนมดีเอ็นเอ (Wang et al., 1994) ดังนั้นการนำเครื่องหมายชนิดนี้มาประยุกต์ใช้เพื่อบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคในถั่วเขียวจึงน่าจะมีโอกาสประสบความสำเร็จสูง นอกจากนี้ การนำ ISSR มาประยุกต์ใช้ร่วมกับไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีนต้านทานโรคเพื่อพัฒนาเป็นเครื่องหมายชนิดใหม่ ซึ่งจะเรียกว่า ISSR-resistance gene analog (RGA) อาจยิ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการ target หาเครื่องหมายที่มีลิงค์เกจ (linkage) กับยีนต้านทานโรค

การคัดเลือกประชากรที่มีการกระจายตัวของยีนต้านทานโรคด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่มีลิงค์เกจกับยีนต้านทานเป็นวิธีการที่ใช้ระยะเวลาสั้น มีประสิทธิภาพ และแม่นยำ (Sanchez et al., 2000) โดยเฉพาะในการรวมยีนต้านทานหลายยีน ซึ่งไม่สามารถคัดเลือกต้นที่มียีนต้านทานจำนวน 1 ยีน หรือหลายยีนได้โดยตรงจากการประเมินระดับความต้านทาน วิธีการนี้ประสบผลสำเร็จในการรวมยีนต้านทานในพืชหลายชนิด เช่น รวมยีนต้านทานโรคใบไหม้ (*xa5*, *xa13* และ *Xa21*) ในข้าว จำนวน 3 ยีน (Sanchez et al., 2000) รวมยีนต้านทานโรคใบไหม้ (*ral1* และ *AbR1*) และแอนแทรคโนสใน lentil จำนวน 3 ยีน และรวมยีนต้านทานโรคราแป้ง (*Run1*) และราน้ำค้าง (*Rpv1*) ในถั่วเขียวจำนวน 2 ยีน (Eibach et al., 2007) เป็นต้น แต่ในถั่วเขียวยังไม่มีผู้ใดทดลองใช้มาก่อน แม้ว่าจะมีผู้ค้นพบเครื่องหมาย RFLP และ AFLP ที่มีลิงค์เกจกับยีนต้านทานโรครา-

แป้งในถั่วเขียว (บุปผา ใจเที่ยง, 2545; Zhang et al., 2008) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากเครื่องหมาย RFLP และ AFLP มีขั้นตอนที่ยุ่งยาก และต้นทุนสูง จึงอาจไม่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้คัดเลือกประชากรถั่วเขียวลูกผสมจำนวนมาก แม้มีการนำ SSR มาใช้ในการบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในประชากรถั่วเขียว (Kasettranon et al., 2010) แต่ก็ยังมีความยุ่งยากในเรื่องการโคลนและหาลำดับเบสของ microsatellites (SSR) ก่อนจึงจะนำไปใช้อยู่บ้าง จึงจำเป็นต้องพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลชนิดอื่นที่ง่าย รวดเร็ว และใช้ต้นทุนน้อยกว่า เช่น ISSR และ ISSR-RGA เป็นต้น โดย Bainade et al. (2014) นำ ISSR มาใช้หาความแตกต่างของถั่วเขียวในการต้านทานโรคราแป้ง แต่ยีนต้านทานโรคราแป้งในแต่ละสายพันธุ์ต้านทานอาจมีตำแหน่งแตกต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องพัฒนาเครื่องหมายที่จำเพาะกับยีนต้านทานแต่ละยีน ในโครงการวิจัยนี้จะทำการตรวจหาเครื่องหมาย ISSR และ ISSR-RGA ที่มีลิงก์เกจกับยีนต้านทานโรคราแป้ง และใช้เครื่องหมายดังกล่าวในการคัดเลือกเพื่อรวมยีนต้านทานเข้าไว้ในถั่วเขียวพันธุ์เดียวกัน คือ พันธุ์ชัชวาท 72 (CN72) เพื่อให้ได้พันธุ์ถั่วเขียวที่มีความต้านทานโรคราแป้งอย่างยั่งยืน สามารถต้านทานโรคได้หลากหลายสายพันธุ์ หรือในหลายท้องถิ่น และให้ผลผลิตสูง ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการผลิต และลดผลกระทบจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล ISSR หรือ ISSR-RGA ที่บ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว และใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับการคัดเลือกพันธุ์ ซึ่งอาจนำไปสู่การโคลนยีนต้านทานต่อโรคราแป้งของถั่วเขียวในอนาคต
2. เพื่อถ่ายทอดยีนต้านทานโรคราแป้งจากถั่วเขียวสายพันธุ์ V4718, V4758 และ/หรือ V4785 รวมเข้าไว้ในพันธุ์เดียวกัน คือ พันธุ์ชัชวาท 72 (CN72) โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือก ซึ่งจะทำให้ได้พันธุ์ต้านทานโรคราแป้งที่ยั่งยืน สำหรับส่งเสริมเกษตรกรในอนาคต
3. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคและให้ผลผลิตสูงจากประชากร RILs ของคู่ผสม CN72 x V4718, CN72 x V4758 และ/หรือ CN72 x V4785 เพื่อนำไปใช้ในการรวมยีนต้านทาน และใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวในอนาคต

ขอบเขตของการวิจัย

1. ถั่วเขียวสายพันธุ์ต้านทานโรคราแป้งที่คัดเลือกได้จากโครงการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิตในระยะที่ 2 จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ V4718, V4758 และ V4785 ซึ่งทั้งสามสายพันธุ์มีปฏิกิริยาและระดับความต้านทานโรคราแป้งแตกต่างกัน ความต้านทานโรคของแต่ละสายพันธุ์ถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ และเป็นยีนต่างตำแหน่งกัน (Khajudparn et al., 2007) ส่วนพันธุ์อ่อนแอต่อโรคใช้พันธุ์ชัชวาท 72 (CN72) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง และต้านทานต่อหอนอนแมลงวันเจาะลำต้น (ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี, 2553)

2. ประชากร recombinant inbred lines (RILs) ของคู่ผสม CN72 x V4718, CN72 x V4758 และ/หรือ CN72 x V4785 ซึ่งมีการกระจายตัวของยีนต้านทานโรคสำหรับพัฒนาเครื่องหมาย ISSR หรือ ISSR-RGA ที่สามารถบ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง

3. ปลูกพืชและประเมินโรคในแปลงทดลอง ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในฤดูซึ่งมีการระบาดของโรค (ฤดูหนาว) และทำการวิเคราะห์เครื่องหมายโมเลกุลในห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์พืช อาคาร ศูนย์เครื่องมือและวิทยาศาสตร์ 3

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป

1.1 ได้เครื่องหมาย ISSR และ/หรือ ISSR-RGA ที่สามารถบ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง ในถั่วเขียว และสามารถใช้คัดเลือกต้นที่ได้รับการรวมยีนต้านทานโรคหลายยีนเข้าไว้ในพันธุ์/สายพันธุ์เดียวกันได้ และอาจสามารถบ่งชี้ต้นต้านทานโรคในพันธุ์/สายพันธุ์ อื่น ๆ ได้ในเวลาอันรวดเร็ว โดยไม่ต้องรอให้มีการระบาดของโรค คัดเลือกได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าก่อนการผสมพันธุ์ สามารถย่นระยะเวลาในการคัดเลือก และประหยัดค่าใช้จ่ายในการจัดการพื้นที่เพาะปลูกและการดูแลรักษา

1.2 ได้พันธุ์ปรับปรุงที่มีพันธุกรรมและลักษณะคล้ายชัชนาท 72 ที่มีความต้านทานโรคราแป้ง สูงขึ้น จากการรวมยีนต้านทานโรคราแป้ง

1.3 ได้สายพันธุ์ปรับปรุงที่มียีนต้านทานโรคราแป้ง 1, 2 หรือ 3 ยีน และ/หรือ ให้ผลผลิตสูง ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการถ่ายทอดยีนไปสู่พันธุ์รับรองอื่นที่อ่อนแอต่อโรคราแป้งได้

2. นำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ หลังจากทำการทดสอบพันธุ์ปรับปรุงดังกล่าวหลายสภาพแวดล้อมแล้ว มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีอาจทำการจดทะเบียนพันธุ์ และผลิตเมล็ดพันธุ์ในเชิงพาณิชย์ หรืออาจส่งต่อให้กรมวิชาการเกษตรทำการทดสอบพันธุ์ต่อไปในระดับชาติ และส่งเสริมแก่เกษตรกรในอนาคต เพื่อลดการนำเข้าถั่วเขียวจากต่างประเทศ และเพิ่มอัตราการส่งออก

3. เพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตถั่วเขียว โดยให้ผลผลิตต่อหน่วยลงทุนสูงขึ้น

4. เป็นประโยชน์ต่อประชากรกลุ่มเป้าหมาย เกษตรกรผู้ปลูกถั่วเขียวได้รายได้เพิ่มขึ้นจากการปลูกถั่วเขียว เป็นการแก้ปัญหาความยากจน ลดการใช้สารเคมีกำจัดโรคแป้ง ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม และลดต้นทุนการผลิตและส่งเสริมให้มีการปลูกถั่วเขียวเป็นพืชหมุนเวียนเพื่อบำรุงดินร่วมกับการปลูกพืชอื่น จึงลดการใช้ปุ๋ยเคมีและเพิ่มประสิทธิภาพการปลูกพืชชนิดอื่นด้วย

5. ได้นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาซึ่งมีความรู้และประสบการณ์ทางด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยวิธีดั้งเดิม และด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลซึ่งเป็นสาขาวิชาที่ขาดแคลน 1 คน

6. ได้ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ 1 เรื่อง

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

ส่วนที่ 1 การประเมินโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 x V4718

ทำการผลิตประชากรที่มีการกระจายตัวของยีนต้านทานโรคราแป้ง (RILs) โดยการผสมระหว่างถั่วเขียวพันธุ์ CN72 (พันธุ์อ่อนแอ) กับ V4718 (สายพันธุ์ต้านทาน) เพื่อผลิตเมล็ดลูกผสมชั่วที่หนึ่ง (F_1) ปลูกเมล็ด F_1 ผสมตัวเองเพื่อผลิตประชากร F_2 ปลูก F_2 จำนวน 180-200 ต้น ผสมตัวเองแล้วเก็บหนึ่งเมล็ดต่อต้นเพื่อปลูกในชั่วถัดไป ทำเช่นเดียวกันจนถึงประชากร $F_{2:6}$ ผสมตัวเอง และเก็บเมล็ด $F_{2:7}$ ทำการปลูกเมล็ด $F_{2:7}$ และ $F_{2:8}$ เพื่อประเมินโรคราแป้งในปี พ.ศ. 2556 และ 2559 ตามลำดับ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (randomized complete block design; RCBD) จำนวน 3 แถว แต่ละแถวยาว 2 เมตร ระยะระหว่างแถว 50 เซนติเมตร และระยะระหว่างหลุม 20 เซนติเมตร โดยปลูกพันธุ์เปรียบเทียบ (CN72 และ V4718) ทุก 10 แถว ถอนแยกให้เหลือ 3 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ย N-P-K สูตร 12-24-12 อัตรา 30 กก./ไร่ และคาร์โบฟูแรน (carbofuran; 3% G) รองพื้นอัตรา 10 ก./หลุม ก่อนปลูกทำการพ่นสารเคมีป้องกันวัชพืชด้วยอะลาคลอร์ (alachlor) หลังจากงอกได้ 10 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือ 2 ต้น/หลุม เมื่อถั่วเขียวอายุ 25-30 วัน ทำการใส่ปุ๋ย N-P-K สูตร 12-24-12 อัตรา 30 กก./ไร่ พร้อมพูนโคน แล้วทำการฉีดพ่นสารโมนิโครโตฟอส (monocrotophos) อัตรา 15-20 ซีซี./น้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว จนถั่วเขียวอายุได้ 2 เดือน พ่นสารโมนิโครโตฟอส อัตรา 40 ซีซี./น้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันหนอนเจาะฝักถั่วเขียว ใช้แรงงานกำจัดวัชพืชเมื่อขึ้นหนาแน่น ให้น้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง และประเมินระดับความต้านทานโรคราแป้งของต้น $F_{2:7}$ และ $F_{2:8}$ ทุกต้น โดยใช้วิธีการของปริญญา ขจิตพาล (2552) ซึ่งแบ่งเป็นระดับคะแนน 1-9 ดังนี้

- 1 คะแนน = ไม่มีอาการโรค
- 2 คะแนน = พบแผล 2-3 แผลบนใบตอนล่าง
- 3 คะแนน = พบแผล 2-3 แผลบนใบตอนล่าง เชื้อเริ่มสร้างสปอร์
- 4 คะแนน = พบแผลจำนวนมากบนใบตอนล่างและตอนกลาง เชื้อเริ่มสร้างสปอร์
- 5 คะแนน = เหมือนระดับที่ 4 ใบเริ่มเหลืองหรือแห้งกรอบ เชื้อสร้างสปอร์มาก
- 6 คะแนน = เหมือนระดับที่ 5 สามารถมองเห็นอาการได้ในระยะไกล เชื้อสร้างสปอร์มาก
- 7 คะแนน = พบแผลบนใบทั่วทั้งต้น ใบแห้งกรอบแต่ไม่เกิน 25%
- 8 คะแนน = เหมือนระดับที่ 7 ใบแห้งกรอบ 25-50%
- 9 คะแนน = ใบแห้งกรอบมากกว่า 50%

นำค่าเฉลี่ยคะแนนการเกิดโรคราแป้งมาจัดอันดับความต้านทานดังนี้ ช่วงคะแนน 1-4.9 เป็นสายพันธุ์ต้านทาน และ 5-9 เป็นสายพันธุ์อ่อนแอ วิเคราะห์ค่าไคสแควร์ (χ^2) เพื่อศึกษาการกระจายตัวของประชากรต่อโรคราแป้ง และใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS version 14.0 (Levesque and SPSS Inc., 2006) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์

ของการเกิดโรคราแป้งทั้งสองปี พร้อมทั้งวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของระดับความรุนแรงในการเกิดโรค โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ซึ่งแปลงค่า (transform) คะแนนการเกิดโรคราแป้งโดยใช้สูตร $X' = (X + 1)^{1/2}$ และวิเคราะห์อัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (broad sense heritability) ทั้งสองปีตามวิธีการของปริญญา ขจัดพาล (2552)

ส่วนที่ 2 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล ISSR และ ISSR-RGA ที่บ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว

1. ใช้วิธี bulk segregant analysis (BSA) ในการทดลองเพื่อประหยัดเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่ายในการตรวจหาเครื่องหมายโมเลกุล ISSR และ/หรือ ISSR-RGA ที่มีลิงค์เกจกับยีนต้านทานโรคราแป้ง โดยจะทำการ screen เครื่องหมายเบื้องต้นด้วยดีเอ็นเอจาก 4 แหล่งก่อนคือ 1) พันธุ์แม่ที่อ่อนแอ CN72 2) สายพันธุ์พ่อที่ต้านทานโรค (V4718) 3) ดีเอ็นเอประชากรรวมต้านทาน (resistant bulk DNA) และ 4) ดีเอ็นเอประชากรรวมอ่อนแอ (susceptible bulk DNA) คัดเลือกเฉพาะเครื่องหมายที่ให้ความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างพันธุ์อ่อนแอ และสายพันธุ์ต้านทาน และจาก polymorphic markers กลุ่มนี้ คัดเลือกเฉพาะเครื่องหมายที่ให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอเหมือนกันระหว่างพันธุ์อ่อนแอ และดีเอ็นเอประชากรรวมอ่อนแอ และระหว่างสายพันธุ์ต้านทานโรค และดีเอ็นเอประชากรรวมต้านทาน นำเครื่องหมายดังกล่าวไปทดสอบในประชากรที่มีการกระจายตัวของยีนต้านทานโรคเป็นรายต้น เพื่อตรวจหาเครื่องหมายที่มีลิงค์เกจกับยีนต้านทานโรค และประเมินระยะห่างระหว่างเครื่องหมายและยีนต้านทานโรคต่อไป โดยมีรายละเอียดของแต่ละขั้นตอนดังนี้

1.1 การผลิตประชากรที่มีการกระจายตัวของยีนต้านทานโรคราแป้ง

ตามข้อมูลในส่วนที่ 1 โดยใช้คะแนนการเกิดโรคราแป้งที่ 65 วัน และดีเอ็นเอในปี พ.ศ. 2556

1.2 การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

ทำการเก็บใบอ่อนของถั่วเขียว $F_{2:7}$ แต่ละต้น และพ่อแม่พันธุ์ เพื่อสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Owens (2003) นำดีเอ็นเอของต้น $F_{2:7}$ ที่ต้านทานโรค จำนวน 10 ต้น มารวมในสัดส่วนที่เท่ากัน เป็นดีเอ็นเอประชากรรวมต้านทาน (resistant bulk DNA) และนำดีเอ็นเอของต้น $F_{2:7}$ ที่อ่อนแอต่อโรค จำนวน 10 ต้น มารวมในสัดส่วนที่เท่ากัน เป็นดีเอ็นเอประชากรรวมอ่อนแอ (susceptible bulk DNA)

1.3 การวิเคราะห์ ISSR (ISSR analysis)

ทำการวิเคราะห์โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวนประมาณ 92 ไพรเมอร์จาก University of British Columbia โดยมีวิธีการดังนี้

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR โดยใช้องค์ประกอบดังนี้ ดีเอ็นเอ 150 ng, 1x buffer [10 mM Tris-HCl (pH 9.1), 0.01% TritonTM-X-100 และ 50 mM KCl], 250 μ M dNTP, 3.5 mM MgCl₂, 0.4 μ M ไพรเมอร์ ISSR และ Taq DNA polymerase 1 unit โดยใช้ขั้นตอนอุณหภูมิดังนี้

Denaturing step: อุณหภูมิ 95 °ซ 5 นาที จำนวน 1 รอบ

Denaturing step: อุณหภูมิ 95 °ซ 1 นาที

Annealing step: อุณหภูมิ 40-65 °ซ 1 นาที

Elongation step: อุณหภูมิ 72 °ซ 1 นาที

} จำนวน 35 รอบ

Elongation step: อุณหภูมิ 72 °ซ 10 นาที จำนวน 1 รอบ
 (อาจจำเป็นต้องปรับ annealing temperature ให้เหมาะสมสำหรับแต่ละไพรเมอร์) หลังจากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ไปแยกขนาดภายใต้สนามไฟฟ้า 200 โวลต์ บน denaturing polyacrylamide gel 6% เป็นเวลา 70 นาที แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยซิลเวอร์ตามวิธีการของ Sambrook and Russell (2001)

1.4 การวิเคราะห์ ISSR-RGA

คัดเลือกเฉพาะไพรเมอร์ ISSR ที่ให้แถบดีเอ็นเอชัดเจนจากข้อ 1.3 และใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีนต้านทานโรค 4 ชนิด คือ ไพรเมอร์ GLPLAL 1 และ P-Loop (Mahani, 2007) ไพรเมอร์ Pto kin-1 (Chen et al., 1998) และ RLK-for (Feuillet et al., 1997) โดยมีวิธีการดังนี้

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR โดยใช้องค์ประกอบดังนี้ ดีเอ็นเอ 150 ng, 1x buffer [10 mM Tris-HCl (pH 9.1), 0.01% Triton™ X-100 และ 50 mM KCl], 250 μM dNTP, 3.5 mM MgCl₂, 0.4 μM ไพรเมอร์ ISSR, 1 μM P-loop หรือ GLPLAL 1 และ Taq DNA polymerase 1 unit โดยใช้ขั้นตอนอุณหภูมิดังนี้

Denaturing step:	อุณหภูมิ 95°ซ	5 นาที	จำนวน 1 รอบ
Denaturing step:	อุณหภูมิ 95°ซ	1 นาที	} จำนวน 35 รอบ
Annealing step:	อุณหภูมิ 50°ซ	1 นาที	
Elongation step:	อุณหภูมิ 72°ซ	1 นาที	
Elongation step:	อุณหภูมิ 72°ซ	10 นาที	จำนวน 1 รอบ

หรือโปรแกรม touchdown PCR (Ince and Karaca, 2011) โดยใช้ขั้นตอนอุณหภูมิดังนี้

Denaturing step:	อุณหภูมิ 94°ซ	3 นาที	จำนวน 1 รอบ
Denaturing step:	อุณหภูมิ 94°ซ	30 วินาที	} จำนวน 10 รอบ
Annealing step:	อุณหภูมิ 60-55.5°ซ	30 วินาที	
Elongation step:	อุณหภูมิ 72°ซ	2 นาที	
Denaturing step:	อุณหภูมิ 94°ซ	30 วินาที	} จำนวน 30 รอบ
Annealing step:	อุณหภูมิ 55°ซ	30 วินาที	
Elongation step:	อุณหภูมิ 72°ซ	2 นาที	
Elongation step:	อุณหภูมิ 72°ซ	8 นาที	จำนวน 1 รอบ

หลังจากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ไปแยกขนาดภายใต้สนามไฟฟ้า 200 โวลต์ บน denaturing polyacrylamide gel 6% เป็นเวลา 70 นาที แล้วย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยซิลเวอร์ตามวิธีการของ Sambrook and Russell (2001)

1.5 การตรวจหาเครื่องหมายที่มีลิงค์เกจ (linkage) กับยีนต้านทานโรค

วิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอจากไพรเมอร์ ISSR หรือ ISSR-RGA โดยนับจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดของพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ในแต่ละไพรเมอร์ (number of scorable bands; NB) จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number

of polymorphic bands between resistant and susceptible parents; NPB) ตรวจหาการมีลิงค์เกจระหว่างเครื่องหมาย ISSR หรือ ISSR-RGA กับยีนต้านทานโรคด้วยวิธี BSA โดยสังเกตการมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอดังกล่าวระหว่างสายพันธุ์พ่อแม่ที่ต้านทาน (resistant parent) และประชากรรวมที่ต้านทาน (resistant bulk DNA) และระหว่างพันธุ์แม่ที่อ่อนแอ (susceptible parent) และประชากรรวมที่อ่อนแอ (susceptible bulk DNA) โดยถ้าพบแถบดีเอ็นเอดังกล่าวในสายพันธุ์พ่อแม่ที่ต้านทานและประชากรรวมที่ต้านทานเหมือนกัน แต่ไม่พบแถบดีเอ็นเอดังกล่าวในพันธุ์แม่ที่อ่อนแอและประชากรรวมที่อ่อนแอ หรือไม่พบแถบดีเอ็นเอในสายพันธุ์พ่อแม่ที่ต้านทานและประชากรรวมที่ต้านทาน แต่พบในทั้งพันธุ์แม่ที่อ่อนแอและประชากรรวมที่อ่อนแอ แสดงว่าน่าจะมีลิงค์เกจระหว่างเครื่องหมายนั้นกับยีนต้านทานโรค นำเครื่องหมายดังกล่าวไปศึกษาต่อไป

ตรวจสอบเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่น่าจะมีลิงค์เกจกับยีนต้านทานโรคราแป้ง โดยวิเคราะห์แยกต้น ใช้ต้น $F_{2:7}$ ที่ต้านทาน (resistant individual RIL) และอ่อนแอ (susceptible individual RIL) อย่างละ 10 ต้น บันทึกการมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอ คัดเลือกเฉพาะเครื่องหมายที่ให้แถบ/ไม่ให้แถบดีเอ็นเอตามที่คาดไว้ในต้น $F_{2:7}$ อย่างน้อย 16 จาก 20 ต้น สำหรับใช้ทดสอบในประชากรขนาด 100 ต้นต่อไป

1.6 การหาระยะห่างระหว่างเครื่องหมาย ISSR หรือ ISSR-RGA และยีนต้านทานโรคราแป้ง

นำเครื่องหมาย ISSR หรือ ISSR-RGA ที่คัดเลือกจากข้อ 1.5 มาประเมินระยะห่างกับยีนต้านทานโรคราแป้ง โดยใช้ต้น $F_{2:7}$ ที่ต้านทาน (resistant individual RIL) และอ่อนแอ (susceptible individual RIL) อย่างละ 50 ต้น บันทึกการมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอ นับจำนวนต้นที่เกิด recombination ระหว่างเครื่องหมาย ISSR หรือ ISSR-RGA และยีนต้านทานโรค แล้วนำมาคำนวณ % recombination ดังนี้

$$\% \text{ recombination} = \frac{\text{จำนวนต้นที่เกิด recombination}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$$

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการกระจายตัวของเครื่องหมายโมเลกุลด้วยโปรแกรมทางสถิติ SPSS version 14.0 (Levesque and SPSS Inc., 2006) และวิเคราะห์ลิงค์เกจด้วยโปรแกรม MAPMAKER 3.0 (Lander et al., 1978)

1.7 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR หรือ ISSR-RGA และยีนต้านทานโรคราแป้ง

นำข้อมูลการเกิดโรคราแป้งเฉลี่ยแต่ละต้น และข้อมูลของเครื่องหมายโมเลกุลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลและยีนต้านทานโรคราแป้งแบบ multiple interval mapping (MIM) (Kao et al. 1999) ด้วยโปรแกรม WinQTLcart 2.5 (Wang et al., 2007) โดยวิเคราะห์จากผลของ composite interval mapping (CIM) กำหนดค่า permutation ที่ 1,000 รอบ และค่าความเชื่อมั่นที่ 95.0% เพื่อคำนวณหา significance threshold ของค่า LOD ที่สามารถแยกตำแหน่ง major QTL ออกมาจากบริเวณอื่นๆ ได้

ส่วนที่ 3 การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคและให้ผลผลิตสูงจากประชากร recombinant inbred lines (RILs)

1. คัดเลือกต้นต้านทานโรคราแป้งระดับสูงจากประชากร RILs ของกลุ่มผสม CN72 × V4718, CN72 × V4758 และ/หรือ CN72 × V4785 โดยคัดเลือกต้นที่ลักษณะคล้ายพันธุ์ CN72 แต่มีระดับความต้านทานโรคสูงขึ้น สายพันธุ์ดังกล่าวมียืนต้านทานสายพันธุ์ละ 1 ยืน
2. ทำการปลูกทดสอบผลผลิต และความต้านทานโรคราแป้ง โดยทดสอบหลายสภาพแวดล้อม เปรียบเทียบกับพันธุ์ CN72, SUT1, KPS1, V4718, V4758 และ V4785 โดยใช้แผนการทดลองแบบ RCBD และการดูแลรักษาเช่นเดียวกับส่วนที่ 1

ส่วนที่ 4 การปรับปรุงสายพันธุ์ต้านทานโรคราแป้ง โดยวิธีการรวมยืนต้านทานหลายยืนไว้ในสายพันธุ์เดียวกัน

การรวมยืนต้านทานหลายยืนเข้าไว้ในสายพันธุ์เดียวกันมีวัตถุประสงค์เพื่อให้สามารถต้านทานเชื้อสาเหตุของโรคราแป้งได้หลายสายพันธุ์มากขึ้น หรือเพิ่มระดับความต้านทานโรคให้สูงขึ้น โดยจะทำการรวมยืนต้านทาน ซึ่งการรวมยืนต้านทาน 3 ยืนมีขั้นตอนดังนี้

1. คัดเลือกต้น RILs ในแต่ละประชากรที่มีความต้านทานโรคราแป้งสูงสุดจากงานวิจัยส่วนที่ 3 นำมาผสมพันธุ์กันระหว่างประชากรดังนี้

กลุ่มผสมที่ 1 $F_{2.9}$ (CN72 × V4785) × $F_{2.7}$ (CN72 × V4718)

กลุ่มผสมที่ 2 $F_{2.9}$ (CN72 × V4785) × $F_{2.8}$ (CN72 × V4758)

กลุ่มผสมที่ 3 $F_{2.7}$ (CN72 × V4718) × $F_{2.8}$ (CN72 × V4758)

2. นำลูกผสม F_1 ที่ได้จากข้อ 1. มาผสมพันธุ์กัน โดยผสมระหว่าง F_1 จากกลุ่มผสมที่ 1 กับกลุ่มผสมที่ 2 และระหว่าง F_1 จากกลุ่มผสมที่ 1 กับ กลุ่มผสมที่ 3 ดังนี้

กลุ่มผสมที่ 1 F_1 (CN72; V4785; V4718) × F_1 (CN72; V4785; V4758)

กลุ่มผสมที่ 2 F_1 (CN72; V4718; V4758) × F_1 (CN72; V4718; V4785)

3. ปลูกลูกผสมที่มีการกระจายตัวของยืนต้านทานโรคราแป้งที่ได้จากข้อ 2. และเก็บใบมาสกัดดีเอ็นเอ เพื่อใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่มีลิงค์เกากับยืนต้านทานโรคราแป้งซึ่งได้จากงานวิจัยส่วนที่ 2 คัดเลือกเฉพาะต้นที่มียืนต้านทานโรค

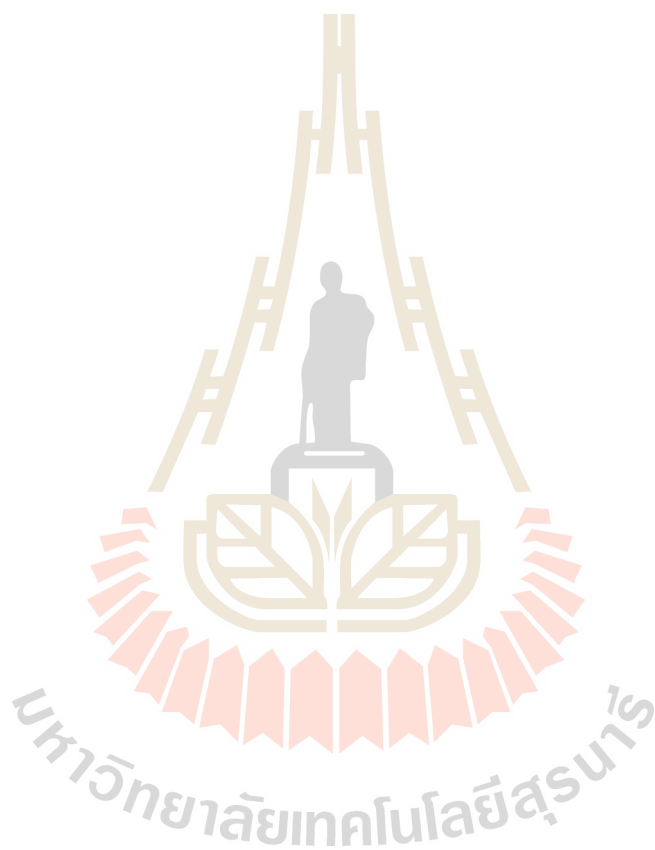
4. นำลูกผสมที่มียืนต้านทานโรคไปผสมกลับ (backcross) ไปยัง CN72 จนกระทั่งได้ต้นที่มีลักษณะคล้ายกับ CN72 แต่มียืนต้านทานโรคจากการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลในทุกชั่ว

5. นำลูกผสม BC ที่ได้จากข้อ 4. มาผสมตัวเอง เพื่อให้ได้ต้นที่มียืนต้านทานในสภาพ homozygous

6. ปลูกลูกผสม BCF_2 ที่ได้จากข้อ 5. คัดเลือกต้น BCF_2 ที่มีลักษณะดี และให้ผลผลิตสูง (จากการประเมินด้วยสายตา) และมียืนต้านทาน (จากการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือก) ผสมตัวเอง และเก็บเมล็ด BCF_3

7. ปลุกเมล็ด BCF₃ แบบต้นต่อแถว ในฤดูที่มีการระบาดของโรค คัดเลือกเฉพาะแถวที่ไม่มีการกระจายตัวของความต้านทานโรคราแป้ง แล้วตรวจสอบด้วยเครื่องหมายโมเลกุลอีกครั้งว่ามียืนต้านทาน แถวดังกล่าวน่าจะเป็นสายพันธุ์ที่มียืนต้านทานในสภาพ homozygous

8. ในอนาคตจะมีการนำสายพันธุ์ที่มียืนต้านทานโรคราแป้งมาปลูกทดสอบผลผลิต และความต้านทานโรค โดยทดสอบหลายสภาพแวดล้อม เปรียบเทียบกับพันธุ์ CN72, SUT1, KPS1, V4718, V4758 และ V4785 โดยใช้แผนการทดลองแบบ RCBD และการดูแลรักษาเช่นเดียวกับส่วนที่ 1



บทที่ 3

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล

ส่วนที่ 1 การประเมินโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718

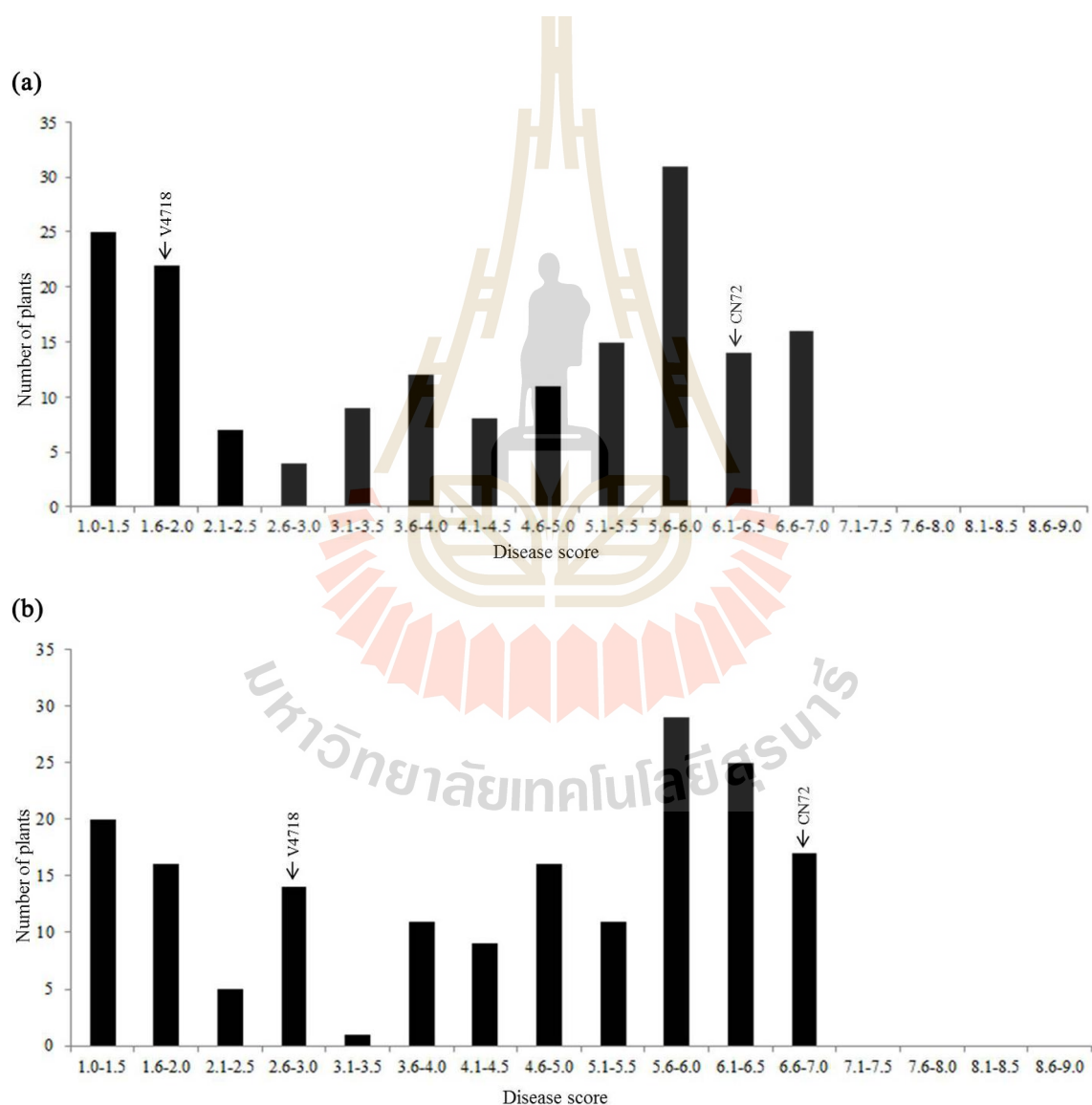
จากการประเมินโรคราแป้งถั่วเขียวในประชากร $F_{2:7}$ และ $F_{2:8}$ ของคู่ผสม CN72 × V4718 ที่อายุ 65 วัน ในปี พ.ศ. 2556 และ 2559 ตามลำดับ พบว่าปี พ.ศ. 2556 มีความรุนแรงในการเกิดโรคราแป้งใกล้เคียงกับปี พ.ศ. 2559 โดยมีความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.74 ($P < 0.01$) ซึ่งปี พ.ศ. 2556 พันธุ์พ่อ V4718 ที่ต้านทานต่อโรคราแป้งมีคะแนนเฉลี่ย 1.67 ส่วนพันธุ์แม่ CN72 ที่อ่อนแอมีคะแนนเฉลี่ย 6.33 ขณะที่ปี พ.ศ. 2559 พันธุ์พ่อแม่ (V4718 และ CN72) มีคะแนนเฉลี่ย 2.67 และ 6.67 ตามลำดับ (ภาพที่ 1; ตารางภาคผนวกที่ 1 และ 2) เมื่อพิจารณาการกระจายตัวของลักษณะต้านทานโรคราแป้งในประชากรนี้ จากการใช้จำนวนลูกผสม 172 ต้น พบว่าเป็นไปตามอัตราส่วนต้นต้านทานต่อต้นอ่อนแอ 1:1 ทั้งสองปี โดยปี พ.ศ. 2556 มีอัตราส่วนต้นต้านทาน 88 ต้น ต่อต้นอ่อนแอ 84 ต้น ($\chi^2 = 0.09$, $P < 0.05$) และปี พ.ศ. 2559 มีอัตราส่วนต้นต้านทาน 81 ต้น ต่อต้นอ่อนแอ 91 ต้น ($\chi^2 = 0.58$, $P < 0.05$) (ตารางที่ 1) ซึ่งความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมจากพ่อแม่ไปสู่รุ่นลูกหลานในช่วง $F_{2:7}$ และ $F_{2:8}$ คิดเป็นอัตราพันธุกรรมแบบกว้างเท่ากับ 83.5 และ 90.2% ตามลำดับ แสดงว่ายีนที่ถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคราแป้งถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ (single major gene) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Khajudparn et al. (2007) ซึ่งพบว่าสายพันธุ์ถั่วเขียว 3 สายพันธุ์ คือ V4718, V4758 และ V4785 เป็นสายพันธุ์ต้านทานต่อโรคราแป้งที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบข่มด้วยยีนเด่น 1 คู่ ในทำนองเดียวกันกับการศึกษาความต้านทานโรคราแป้งใน 6 ประชากร (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2) ของคู่ผสม KPS1 × V4758, KPS1 × V2106 และ KPS2 × V2106 (ปริญญา ขจัดพาล, 2552) อย่างไรก็ตาม Kasettranon et al. (2010) พบว่าความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม KPS1 × VC6468-11-1A จากการใช้ประชากร F_7 เป็นลักษณะปริมาณซึ่งควบคุมด้วยยีนหลายคู่ และเมื่อพิจารณาตำแหน่ง QTL ของลักษณะต้านทานโรคราแป้ง พบว่าอยู่บนโครโมโซมที่ 3, 4, 6, 7, 8 และ 9 (Young et al. 1993; Chankaew et al. 2013) แสดงให้เห็นว่ายีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวจากคู่ผสมที่แตกต่างกัน มีความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกัน และ/หรือมีตำแหน่งของยีนอยู่บนโครโมโซมที่แตกต่างกัน ดังนั้นรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน (polymorphism) ของพันธุ์พ่อแม่ อาจเป็นข้อจำกัดในการระบุเครื่องหมายที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง และการสร้างแผนที่ยีนในแต่ละคู่ผสมอาจจำเป็นต้องทำแยกกัน

ตารางที่ 1 การกระจายตัวของประชากร $F_{2:7}$ และ $F_{2:8}$ ต่อการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718

ประชากร	ปี	จำนวนต้น	จำนวนต้นต้านทาน: ต้นอ่อนแอ	ทดสอบไคสแควร์ (χ^2) ¹		
				ค่าคาดหวัง	ค่า χ^2	$P = 0.05$ ²
$F_{2:7}$	2556	172	88:84	1:1	0.09	3.84
$F_{2:8}$	2559	172	81:91	1:1	0.58	3.84

¹ ค่าทดสอบไคสแควร์ (χ^2) ในประชากร RILs มีอัตราส่วนต้นต้านทาน: ต้นอ่อนแอ = 1:1

² ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของการทดสอบไคสแควร์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 1 การกระจายตัวของประชากร RILs คู่ผสม CN72 × V4718 ต่อการเกิดโรคราแป้งที่ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556 (a) และปี พ.ศ. 2559 (b)

ส่วนที่ 2 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล ISSR และ ISSR-RGA ที่บ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว

จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบลูกโซ่ (PCR) ของประชากร RILs ($F_{2:7}$) ถั่วเขียว (*V. radiata* L.) คู่ผสม CN72 × V4718 โดยทดสอบด้วยวิธี BSA ซึ่งใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 92 ไพรเมอร์ เพื่อค้นหาไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718) และพันธุ์แม่ (CN72) ที่ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคราแป้ง ตามลำดับ แล้วนับจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่พบในพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number of scorable bands; NB) จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number of polymorphic bands between resistant and susceptible parents; NPB) และจำนวนตำแหน่งของเครื่องหมาย ISSR ที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง (I linked) พบว่าไพรเมอร์ ISSR ทั้งหมด 92 ไพรเมอร์มีเพียง 75 ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้อย่างชัดเจน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแต่ละไพรเมอร์ (annealing temperature) อยู่ที่ 50°C (90.7%) ยกเว้น 7 ไพรเมอร์ ได้แก่ ISSR 822, 840, 845, 872, 879, 895 และ 899 เมื่อนับจำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดของไพรเมอร์ ISSR ทั้ง 75 ไพรเมอร์ พบว่ามีจำนวน 1,297 แถบ เริ่มตั้งแต่ 11 แถบต่อไพรเมอร์ (ISSR 815, 819, 843, 860 และ 872) จนถึง 28 แถบต่อไพรเมอร์ (ISSR 857) เฉลี่ย 17 แถบต่อไพรเมอร์ และพบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์พ่อแม่รวม 90 แถบ อยู่ระหว่าง 0-4 แถบต่อไพรเมอร์ เฉลี่ย 1.2 แถบต่อไพรเมอร์ โดยไพรเมอร์ ISSR 814, 827 และ 884 พบความแตกต่างมากที่สุดจำนวน 4 แถบ และพบแถบดีเอ็นเอหรือจำนวนตำแหน่งของเครื่องหมาย ISSR ที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง จำนวน 27 แถบ จากไพรเมอร์ ISSR จำนวน 15 ไพรเมอร์ (ISSR 810, 811, 813, 816, 818, 830, 835, 841c, 843, 853, 856, 857, 884, 885 และ 888) ซึ่งจะกำหนดให้แต่ละแถบคือแต่ละเครื่องหมาย (ตารางที่ 2) จากข้อมูลดังกล่าวพบว่าไพรเมอร์ ISSR ที่มีลำดับเบสซ้ำของ AG จำนวน 5 ไพรเมอร์ (ISSR 809, 834, 835, 836 และ 884) จาก 7 ไพรเมอร์ ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอมาก (24-26 แถบ) ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มโอกาสในการพบเครื่องหมายที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Oumer et al. (2015) ซึ่งรายงานว่าไพรเมอร์ ISSR 834 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอใน Ethiopian white lupine ได้ดีที่สุดในเช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Bainade et al. (2014) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR จำนวน 75 เครื่องหมายกับลักษณะต้านทานโรคราแป้งในประชากร F_3 ของถั่วเขียวคู่ผสม Kopargaon กับ BPMR-48 ที่อ่อนแอและต้านทานต่อโรคราแป้ง ตามลำดับ โดยพบว่าการทดสอบด้วยวิธี BSA มีเพียงเครื่องหมาย ISSR 834 ที่สัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง

เมื่อนำไพรเมอร์ ISSR ทั้ง 15 ไพรเมอร์จากการทดสอบด้วยวิธี BSA มาวิเคราะห์กับดีเอ็นเอรายต้นจำนวน 20 ต้น (ภาพที่ 2) พบว่ามีเพียง 2 ไพรเมอร์ ได้แก่ ISSR 843 และ 853 ที่ไม่พบความแตกต่าง จึงนำไพรเมอร์ที่เหลือจำนวน 13 ไพรเมอร์ ซึ่งเพิ่มปริมาณได้เครื่องหมาย ISSR จำนวน 25 เครื่องหมายไปหาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR กับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง โดยการวิเคราะห์สมการเส้นตรง simple linear regression เพื่อประมาณค่าความน่าจะเป็นที่เครื่องหมายโมเลกุลจะอยู่ใกล้กับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง และตรวจหาเครื่องหมายที่เหมาะสมที่มีค่า recombination ไม่เกิน 20% สำหรับนำไปวิเคราะห์รายต้นจำนวน 100 ต้น พบว่าเครื่องหมาย I84267 มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้งมากที่สุด ($R^2 = 0.66$) ส่วนเครื่องหมาย I181486 มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้งน้อยที่สุด ($R^2 = 0.02$) และเมื่อพิจารณา

เครื่องหมายที่ให้ค่า recombination ไม่เกิน 20% พบว่ามีจำนวน 11 เครื่องหมาย ประกอบด้วยเครื่องหมาย I13306, I16274, I30236, I30700, I57216, I84121, I84267, I84282, I84416, I85420 และ I88656 เมื่อนำเครื่องหมายดังกล่าวนี้มาตรวจสอบเบื้องต้นว่าแต่ละเครื่องหมายอยู่ด้านเดียวกันหรือคนละด้านเมื่อเปรียบเทียบกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง พบว่าเครื่องหมาย I16274, I57216, I84121, I84267 และ I88656 อยู่ด้านเดียวกัน ส่วนอีกด้านหนึ่งของยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้งประกอบด้วยเครื่องหมาย I13306, I30236, I30700, I84282, I84416 และ I85420 จึงคัดเลือกมา 5 เครื่องหมายเพื่อใช้ในการประเมินเป็นรายต้นจำนวน 100 ต้น ประกอบด้วยเครื่องหมาย I13306, I16274, I84267, I84416 และ I85420 (ตารางที่ 3) โดยพบว่าเครื่องหมาย I85420 เป็นเครื่องหมายเดียวกันกับงานวิจัยของปริญญา ขจัดพาล (2552) ที่พัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในประชากร RIL ($F_{2:6}$) ถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718

อย่างไรก็ตาม เครื่องหมายโมเลกุล ISSR ที่พัฒนาขึ้นมานี้อาจไม่มีความสัมพันธ์หรือมีความสัมพันธ์น้อยกับลักษณะต้านทานโรคราแป้งในประชากรถั่วเขียวกลุ่มนี้เมื่อนำไปประเมินรายต้น จำนวน 100 ต้น ดังนั้นการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลชนิดใหม่ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้งเพิ่มเติมจึงมีความจำเป็น เพื่อค้นหาตำแหน่งเครื่องหมายที่ใกล้กับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้งมากที่สุด งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาเครื่องหมาย ISSR-RGA โดยนำไพรเมอร์ resistance gene analog (RGA) ที่มีความจำเพาะต่อยีนต้านทานโรครา 3 ไพรเมอร์ ซึ่งได้มาจากบริเวณอนุรักษ์ (conserved region) NBS จำนวน 1 ไพรเมอร์ (GLPLAL 1) และ kinase domain จำนวน 2 ไพรเมอร์ (Pto kin 1 และ RLK for) มาใช้ร่วมกับไพรเมอร์ ISSR เรียกว่าไพรเมอร์ ISSR-RGA และใช้หลักการทดลองในทำนองเดียวกันกับการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล ISSR ที่บ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว

จากการนำไพรเมอร์ ISSR จำนวน 10 ไพรเมอร์ (810, 811, 818, 835, 841c, 856, 857, 884, 885 และ 888) ที่พบแถบดีเอ็นเอจำเพาะและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ดีในตารางที่ 2 ยกเว้น 3 ไพรเมอร์ (ISSR 813, 816 และ 830 เนื่องจากไพรเมอร์ ISSR 813 เป็นการทดลองเพิ่มเติมภายหลัง ส่วน ISSR 816 และ 830 มีปัญหาในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอร่วมกับไพรเมอร์ RGA) และไพรเมอร์ 842 ที่มีรายงานการพบความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง (ปริญญา ขจัดพาล, 2552) มาจับคู่กับไพรเมอร์ RGA จำนวน 3 ไพรเมอร์ (GLPLAL 1, Pto kin 1 และ RLK for) รวมทั้งหมด 33 คู่ไพรเมอร์ (ตารางที่ 4) โดยปรับเปลี่ยนอุณหภูมิในขั้นตอน annealing ให้เหมาะสมสำหรับแต่ละคู่ไพรเมอร์ดังแสดงในตารางที่ 5 พบว่าเพิ่มปริมาณได้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดจากไพรเมอร์ ISSR-RGA ทั้ง 33 คู่ไพรเมอร์จำนวน 618 แถบ เฉลี่ย 18.7 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ และพบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์พ่อแม่รวม 68 แถบ เฉลี่ย 2.1 แถบต่อคู่ไพรเมอร์ โดยคู่ไพรเมอร์ ISSR835G พบความแตกต่างมากที่สุดจำนวน 7 แถบ และพบแถบดีเอ็นเอหรือตำแหน่งของเครื่องหมาย ISSR-RGA ที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรคราแป้งทั้งหมดจำนวน 12 เครื่องหมายจาก 7 คู่ไพรเมอร์ (ISSR810G, ISSR835G, ISSR835R, ISSR856P, ISSR857P, ISSR885R และ ISSR888R) โดยคู่ไพรเมอร์ ISSR856P ให้จำนวนเครื่องหมายดีเอ็นเอมากที่สุดคือ 4 เครื่องหมาย (ตารางที่ 4)

ในการทดลองนี้ได้นำไพรเมอร์ RLK for มาจับคู่กับไพรเมอร์ ISSR เพิ่มอีก 38 ไพรเมอร์ ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ที่ 50 องศาเซลเซียส พบว่าไพรเมอร์ทั้ง 38 คู่ไพรเมอร์

ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ด้านทานและอ่อนแอต่อโรค รวม 49 แถบ โดยไพรเมอร์ ISSR864R พบความแตกต่างมากที่สุดจำนวน 5 แถบ เมื่อพิจารณาคู่ไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอจำเพาะ พบว่ามีทั้งหมด 9 คู่ ไพรเมอร์ (ISSR809R, ISSR825R, ISSR826R, ISSR827R, ISSR844R, ISSR847R, ISSR859R, ISSR866R และ ISSR889R) ซึ่งให้เครื่องหมายดีเอ็นเออยู่ระหว่าง 1-2 เครื่องหมาย รวมทั้งหมด 10 เครื่องหมาย โดยคู่ไพรเมอร์ที่ให้เครื่องหมายดีเอ็นเอมากที่สุด จำนวน 2 เครื่องหมาย คือคู่ไพรเมอร์ ISSR844R (ตารางที่ 6)

เพื่อเพิ่มโอกาสในการค้นพบตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุลที่ใกล้กับยีนควบคุมลักษณะด้านทานโรคราแป้งมากที่สุดและอยู่คนละด้านกัน งานวิจัยนี้ได้เพิ่มไพรเมอร์ RGA อีก 1 ไพรเมอร์ที่ได้มาจากบริเวณอนุรักษ์ NBS คือ P-Loop ซึ่งเป็นตำแหน่งยีนด้านทานที่พบในพืชหลายชนิด นำมาจับคู่กับไพรเมอร์ ISSR จำนวน 51 ไพรเมอร์ ที่อุณหภูมิในขั้นตอน annealing 50 องศาเซลเซียส โดยใช้หลักการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลดังที่กล่าวมาในเบื้องต้น พบว่าไพรเมอร์ทั้ง 51 คู่ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ด้านทานและอ่อนแอต่อโรค รวม 99 แถบ โดยคู่ไพรเมอร์ที่ให้แถบดีเอ็นเอจำเพาะมีจำนวน 7 คู่ไพรเมอร์ (ISSR807PL, ISSR836PL, ISSR842PL, ISSR857PL, ISSR884PL, ISSR889PL และ ISSR891PL) ซึ่งเพิ่มปริมาณได้เครื่องหมายดีเอ็นเอรวมทั้งหมด 8 เครื่องหมาย (ตารางที่ 7)

เมื่อทำการวิเคราะห์เครื่องหมาย ISSR-RGA ทั้งหมด 29 เครื่องหมาย (ISSR + GLPLAL 1, ISSR + Pto kin 1, ISSR + P-Loop และ ISSR + RLK for จำนวน 2, 6, 8 และ 13 เครื่องหมาย ตามลำดับ) กับประชากรรวมด้านทานและอ่อนแอเป็นรายต้น จำนวน 20 ต้น และหาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR-RGA กับลักษณะด้านทานโรคราแป้งโดยการวิเคราะห์สมการเส้นตรง และตรวจหาเครื่องหมายที่ให้ค่า recombination ไม่เกิน 20% เพื่อนำไปวิเคราะห์รายต้น จำนวน 100 ต้น พบว่าเครื่องหมาย I42PL229 มีความสัมพันธ์กับลักษณะด้านทานโรคราแป้งมากที่สุด ($R^2 = 0.83$) ส่วนเครื่องหมาย I35R320 และ I35R438 มีความสัมพันธ์กับลักษณะด้านทานโรคราแป้งน้อยที่สุด ($R^2 = 0.00$) และจากการตรวจหาเครื่องหมายที่มีค่า recombination ไม่เกิน 20% พบว่ามี 6 เครื่องหมาย คือ I42PL222, I42PL229, I26R600, I27R211, I47R800 และ I88R656 (ตารางที่ 8)

ในส่วนของการสร้างแผนที่บนโครโมโซมเพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลกับยีนควบคุมลักษณะด้านทานโรคราแป้งในประชากร จำนวน 100 ต้น โดยการใช้เครื่องหมาย ISSR และ ISSR-RGA จำนวน 5 และ 6 เครื่องหมาย ตามลำดับ ทำการตรวจสอบคุณภาพของข้อมูลจีโนไทป์ โดยตรวจสอบข้อมูลสูญหาย (missing data) ของแต่ละเครื่องหมาย พบว่าทุกเครื่องหมายมีค่าไม่เกิน 10% ยกเว้นเครื่องหมาย I26R600, I27R211 และ I47R800 และเมื่อทดสอบค่าไคสแควร์กับเครื่องหมายโมเลกุลที่เหลือ 8 เครื่องหมาย (I13306, I16274, I42PL222, I42PL229, I84267, I84416, I85420 และ I88R656) พบว่าทุกเครื่องหมายมีการกระจายตัวในอัตราส่วน 1:1 ซึ่งเป็นค่าคาดหวังของประชากร RILs แสดงว่าเครื่องหมายเหล่านี้สามารถนำมาใช้ในการสร้างแผนที่บนโครโมโซม งานวิจัยนี้พบว่าทั้ง 8 เครื่องหมายนี้มีค่า LOD > 3.0 โดยเครื่องหมาย I42PL229 และ I85420 มีค่า LOD สูงสุด 17.519 และ 14.386 ตามลำดับ และอยู่ใกล้กับยีนควบคุมลักษณะด้านทานโรคราแป้งมากที่สุด 4 และ 9 cM ตามลำดับ สามารถอธิบายความต้านทานโรคได้ 72.3 และ 59.1% ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ซึ่งหากใช้ทั้งสองเครื่องหมายในการคัดเลือกจะให้ค่า

recombination เพียง 0.72% และจากการวิเคราะห์หาตำแหน่ง QTL ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้งแบบ MIM ด้วยโปรแกรม WinQTLcart 2.5 โดยวิเคราะห์จากผลของ CIM ซึ่งกำหนดค่า permutation ที่ 1,000 รอบ และค่าความเชื่อมั่นที่ 95.0% เพื่อคำนวณหา significance threshold ของค่า LOD ที่สามารถแยกตำแหน่ง major QTL ออกมาจากบริเวณอื่นๆ ได้ในประชากร F_{2:7} และ F_{2:8} ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 x V4718 พบว่าตำแหน่ง major QTL (*qPMC72V18-1*) วางตัวอยู่ระหว่างเครื่องหมาย I42PL229 และ I85420 โดยมีค่า LOD และ phenotypic variance explained (PVE) ในปี พ.ศ. 2556 และ 2559 เท่ากับ 5.89, 92.4 และ 5.04, 43.2 ตามลำดับ (ตารางที่ 10; ภาพที่ 3) และจากการเปรียบเทียบผลของ QTL ที่ได้รายงานไว้โดย Chankaew et al. (2013) ซึ่งระบุตำแหน่งโดยใช้เครื่องหมาย SSR กับลักษณะต้านทานโรคใบจุดในถั่วเขียวพบว่า major QTL ที่ตรวจสอบได้อาจจะไม่ใช่นับในตำแหน่งเดียวกัน เนื่องจากคณะผู้วิจัยได้ศึกษาทั้งโรคราแป้งและโรคใบจุดในประชากร RIL (F_{2:7}) ของคู่ผสมนี้ พบว่ามีจำนวนต้นลูกผสมที่ต้านทานหรืออ่อนแอต่อทั้งสองโรคนี้นี้เหมือนกัน (parental phenotypes) คิดเป็น 64% ส่วนที่เหลือเป็น recombinant phenotypes คือต้านทานต่อโรคหนึ่งแต่อ่อนแอต่ออีกโรค 36%

เมื่อพิจารณาถึงความพยายามในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ประสบความสำเร็จในระยะเวลาอันสั้น โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิดต่าง ๆ ช่วยในการคัดเลือก พบว่ามีมานานมากกว่า 10 ปี (Rivkin et al., 1999; Huang et al., 2000) ซึ่งในปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ประโยชน์เพิ่มมากขึ้น เช่น sequence characterized amplified region (SCAR) (Sowmini and Jayamani, 2014; Binyamin et al., 2015), secale cereal microsatellite (SCM) (Zhuang et al., 2011), SSR (Chankaew et al., 2013) และ ISSR (Souframanien and Gopalakrishna, 2006; Bainade et al., 2014) เป็นต้น รวมทั้งได้มีการนำลำดับเบสของ RGA มาใช้ประโยชน์เพิ่มมากขึ้นเช่นกัน เพื่อช่วยในการคัดเลือกพันธุ์พืชที่ต้านทานโรค (Basak et al., 2004; Mutlu et al., 2006; Kundagrami et al., 2009; Tantasawat et al., 2012; Yi et al., 2013; Patil et al., 2014; Suneeta et al., 2014; Wang et al., 2014) งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของความพยายามดังกล่าว ดังนั้นจึงเป็นประโยชน์และแนวทางในการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวต่อไปในอนาคต ซึ่งการใช้เครื่องหมาย I42PL229 และ I85420 ที่พบว่าอยู่ใกล้กับลักษณะต้านทานโรคราแป้งมากที่สุด จะช่วยย่นระยะเวลาและประหยัดค่าใช้จ่าย เนื่องจากการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานโรคราแป้งแบบดั้งเดิมต้องใช้ระยะเวลานาน เพราะเชื้อสาเหตุโรคราแป้งไม่สามารถเก็บรักษาในสภาพอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ จึงสามารถประเมินโรคได้เพียงปีละ 1 ครั้งในช่วงฤดูหนาวซึ่งมีการแพร่ระบาดของโรคเท่านั้น

ตารางที่ 2 ลำดับเบส ขนาดของแถบดีเอ็นเอ จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 75 ไพรเมอร์

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'-3') ¹	ขนาดของแถบ ดีเอ็นเอ (bp)	NB ²	NPB ³	I linked ⁴	อุณหภูมิ annealing (°ซ)
807	(AG) ₈ T	200-1,200	16	1	0	50
808	(AG) ₈ C	200-1,200	17	3	0	50
809	(AG) ₈ G	200-1,200	24	2	0	50
810	(GA) ₈ T	200-1,200	19	1	1	50
811	(GA) ₈ C	250-1,200	20	3	1	50
812	(GA) ₈ A	200-1,200	19	1	0	50
813	(CT) ₈ T	200-2,072	19	2	2	50
814	(CT) ₈ A	200-2,072	14	4	0	50
815	(CT) ₈ G	250-1,200	11	0	0	50
816	(CA) ₈ T	200-1,200	20	2	2	50
817	(CA) ₈ A	300-1,200	12	1	0	50
818	(CA) ₈ G	300-1,400	14	3	3	50
819	(GT) ₈ A	500-1,400	11	0	0	50
820	(GT) ₈ C	200-2,072	17	0	0	50
821	(GT) ₈ T	250-2,072	14	1	0	50
822	(TC) ₈ A	200-2,072	25	0	0	54
823	(TC) ₈ C	250-2,072	15	0	0	50
824	(TC) ₈ G	200-2,072	13	0	0	50
825	(AC) ₈ T	250-1,200	18	1	0	50
826	(AC) ₈ C	200-1,200	19	0	0	50
827	(AC) ₈ G	250-1,500	18	4	0	50
828	(TG) ₈ A	300-1,200	12	1	0	50
829	(TG) ₈ C	300-1,200	13	0	0	50
830	(TG) ₈ G	250-1,200	21	3	2	50
834	(AG) ₈ YT	200-1,200	24	1	0	50
835	(AG) ₈ YC	200-1,200	26	2	2	50
836	(AG) ₈ YA	200-1,200	24	2	0	50
840	(GA) ₈ YT	200-1,200	19	1	0	40
841	(GA) ₈ YC	250-1,200	19	1	0	50

ตารางที่ 2 ลำดับเบส ขนาดของแถบดีเอ็นเอ จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 75 ไพรเมอร์ (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'-3')	ขนาดของแถบ ดีเอ็นเอ (bp)	NB	NPB	I linked	อุณหภูมิ annealing (°ซ)
841c	(GA) ₈ CC	250-1,200	18	2	2	50
841t	(GA) ₈ TC	250-1,200	18	0	0	50
842	(GA) ₈ YG	250-1,200	23	1	0	50
843	(CT) ₈ RA	200-2,072	11	1	1	50
844	(CT) ₈ RC	300-1,200	14	0	0	50
845	(CT) ₈ RG	200-2,072	16	0	0	45
846	(CA) ₈ AT	200-1,500	14	0	0	50
847	(CA) ₈ RC	300-1,200	15	1	0	50
848	(CA) ₈ RG	400-1,200	14	0	0	50
849	(GT) ₈ YA	150-2,072	14	2	0	50
850	(GT) ₈ YC	200-1,200	19	3	0	50
851	(GT) ₈ YG	250-1,200	12	1	0	50
853	(TC) ₈ RT	300-2,072	13	1	1	50
854	(TC) ₈ RG	200-2,072	12	0	0	50
855	(AC) ₈ YT	350-1,200	15	0	0	50
856	(AC) ₈ YA	250-1,200	18	1	1	50
857	(AC) ₈ YG	200-1,200	28	3	1	50
858	(TG) ₈ RT	200-1,200	23	2	0	50
859	(TG) ₈ RC	350-1,200	17	1	0	50
860	(TG) ₈ RA	250-1,400	11	1	0	50
861	(ACC) ₆	100-2,072	18	0	0	50
862	(AGC) ₆	150-1,000	12	0	0	50
864	(ATG) ₆	200-1,500	27	2	0	50
865	(CCG) ₆	200-2,072	15	0	0	50
866	(CTC) ₆	200-1,500	15	1	0	50
867	(GGC) ₆	100-1,000	12	0	0	50
868	(GAA) ₆	350-1,200	13	1	0	50
869	(GTT) ₆	200-2,072	17	0	0	50

ตารางที่ 2 ลำดับเบส ขนาดของแถบดีเอ็นเอ จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 75 ไพรเมอร์ (ต่อ)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5'-3')	ขนาดของแถบดีเอ็นเอ (bp)	NB	NPB	I linked	อุณหภูมิ annealing (°C)
872	(GAGA) ₄	250-2,072	11	0	0	44
873	(GACA) ₄	350-1,200	15	0	0	50
876	(GATA) ₂ (GACA) ₂	400-1,200	14	2	0	50
878	(GGAT) ₄	300-1,400	16	1	0	50
879	(CTTCA) ₃	250-2,072	12	0	0	44
880	(GGAGA) ₃	250-1,200	13	3	0	50
881	(GGGTG) ₃	200-2,072	20	0	0	50
884	HBH (AG) ₇	200-1,200	25	4	4	50
885	BHB (GA) ₇	200-1,200	26	2	2	50
886	VDV (CT) ₇	250-1,500	26	2	0	50
887	DVD (TC) ₇	250-1,500	26	5	0	50
888	BDB (CA) ₇	300-1,200	20	3	2	50
889	DBD (AC) ₇	200-1,200	16	0	0	50
890	VHV (GT) ₇	200-1,200	18	2	0	50
891	HVH (TG) ₇	200-1,200	18	1	0	50
895	(AG) ₂ TTGGTAG(CT) ₂ TGATC	250-2,072	15	1	0	40
899	CATG(GT) ₂ TGGTCATTGTTCCA	200-1,000	14	0	0	40
900	ACTTCCC(CA) ₂ GGTTA(CA) ₂	200-2,072	25	0	0	50
ผลรวม			1,297	90	27	
ค่าเฉลี่ย			17	1.2	0.4	

¹ B = C, G, T; D = A, G, T; H = A, C, T; N = A, G, C, T; R = พิวรีน (A, G); V = A, C, G; Y = ไพริมิดีน (C, T)

² NB = จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่นับได้ในสายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number of scorable bands)

³ NPB = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number of polymorphic bands between resistant and susceptible parents)

⁴ I linked = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ (จำนวนของเครื่องหมาย ISSR ที่น่าจะเชื่อมโยงกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง)

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR และลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 x V4718

เครื่องหมาย	จำนวนต้น ¹	Beta	t-value	P-value	R ²	ระยะห่าง (cM)	LOD
I10198	20	0.572	2.962	0.008	0.328	25	1.136
I11282	19	0.250	1.063	0.303	0.062	42	0.103
I13306	20	-0.592	-3.115	0.006	0.350	20	1.674
I13311	20	0.514	2.543	0.020	0.264	25	1.136
I16274	20	-0.721	-4.413	0.000	0.520	15	2.349
I16989	20	-0.564	-2.900	0.010	0.318	25	1.136
I18333	18	-0.381	-1.647	0.119	0.145	33	0.443
I18363	18	-0.631	-3.252	0.005	0.398	22	1.278
I181486	18	0.137	0.553	0.588	0.019	44	0.048
I30236	20	-0.685	-3.985	0.001	0.469	15	2.349
I30700	20	-0.685	-3.985	0.001	0.469	15	2.349
I35196	20	-0.579	-3.016	0.007	0.336	25	1.136
I35287	20	0.249	1.090	0.290	0.062	40	0.175
I41c287	19	-0.457	-2.116	0.049	0.208	26	0.964
I41c291	19	0.457	2.116	0.049	0.208	26	0.964
I56800	18	0.313	1.317	0.207	0.098	33	0.443
I57216	20	-0.715	-4.341	0.000	0.511	15	2.349
I84121	20	0.645	3.579	0.002	0.416	20	1.674
I84267	20	-0.812	-5.913	0.000	0.660	10	3.197
I84282	20	-0.691	-4.053	0.001	0.477	15	2.349
I84416	20	-0.616	-3.321	0.004	0.380	20	1.674
I85165	20	0.579	3.013	0.007	0.335	25	1.136
I85420	20	-0.645	-3.582	0.002	0.416	20	1.674
I88305	20	0.426	2.001	0.061	0.182	35	0.397
I88656	20	-0.673	-3.858	0.001	0.453	15	2.349

¹ จำนวนต้น = จำนวนต้นทั้งหมดที่ได้จากประชากรรวมที่ต้านทาน (resistant bulk DNA) และประชากรรวมที่อ่อนแอ (susceptible bulk DNA) อย่างละ 10 ต้น

ตารางที่ 4 ไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่าง พันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ ไพรเมอร์ ISSR-RGA จำนวน 33 คู่ไพรเมอร์

ไพรเมอร์	ไพรเมอร์ที่ใช้ออกแบบ	ลำดับเบส (5'-3') ¹	NB ²	NPB ³	I-R linked ⁴
ISSR810G ⁵	ISSR810	(AG) ₈ T	18	5	1
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			
ISSR810P	ISSR810	(AG) ₈ T	15	1	0
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			
ISSR810R	ISSR810	(AG) ₈ T	16	4	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR811G	ISSR811	(GA) ₈ C	20	1	0
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			
ISSR811P	ISSR811	(GA) ₈ C	21	2	0
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			
ISSR811R	ISSR811	(GA) ₈ C	17	1	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR818G	ISSR818	(CA) ₈ G	15	0	0
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			
ISSR818P	ISSR818	(CA) ₈ G	12	0	0
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			
ISSR818R	ISSR818	(CA) ₈ G	14	4	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR835G	ISSR835	(AG) ₈ YC	25	7	1
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			
ISSR835P	ISSR835	(AG) ₈ YC	19	0	0
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			
ISSR835R	ISSR835	(AG) ₈ YC	20	1	2
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR841cG	ISSR841c	(GA) ₈ CC	19	3	0
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			
ISSR841cP	ISSR841c	(GA) ₈ CC	17	1	0
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			

ตารางที่ 4 ไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่าง พันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ ไพรเมอร์ ISSR-RGA จำนวน 33 คู่ไพรเมอร์ (ต่อ)

ไพรเมอร์	ไพรเมอร์ที่ใช้ออกแบบ	ลำดับเบส (5'-3')	NB	NPB	I-R linked
ISSR841cR	ISSR841c	(GA) ₈ CC	18	2	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR842G	ISSR842	(GA) ₈ YG	20	5	0
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			
ISSR842P	ISSR842	(GA) ₈ YG	22	1	0
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			
ISSR842R	ISSR842	(GA) ₈ YG	19	1	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR856G	ISSR856	(AC) ₈ YA	17	1	0
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			
ISSR856P	ISSR856	(AC) ₈ YA	23	4	4
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			
ISSR856R	ISSR856	(AC) ₈ YA	11	1	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR857G	ISSR857	(AC) ₈ YG	24	0	0
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			
ISSR857P	ISSR857	(AC) ₈ YG	30	4	2
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			
ISSR857R	ISSR857	(AC) ₈ YG	26	2	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR884G	ISSR884	HBH (AG) ₇	18	2	0
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			
ISSR884P	ISSR884	HBH (AG) ₇	18	1	0
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			
ISSR884R	ISSR884	HBH (AG) ₇	18	5	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR885G	ISSR885	BHB (GA) ₇	17	2	0
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			

ตารางที่ 4 ไพรเมอร์ ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA จำนวน 33 คู่ไพรเมอร์ (ต่อ)

ไพรเมอร์	ไพรเมอร์ที่ใช้ออกแบบ	ลำดับเบส (5'-3')	NB	NPB	I-R linked
ISSR885P	ISSR885	BHB (GA) ₇	19	1	0
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			
ISSR885R	ISSR885	BHB (GA) ₇	21	1	1
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR888G	ISSR888	BDB (CA) ₇	15	2	0
	GLPLAL 1	IAGIGCIAGIGGIAGICC			
ISSR888P	ISSR888	BDB (CA) ₇	17	1	0
	Pto kin 1	GCATTGGAACAAGGTGAA			
ISSR888R	ISSR888	BDB (CA) ₇	17	2	1
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ผลรวม			618	68	12
ค่าเฉลี่ย			18.7	2.1	0.4

¹ B = C, G, T; D = A, G, T; H = A, C, T; I = inosine; N = A, G, C, T; R = พิวรีน (A, G); Y = ไพริมิดีน (C, T)

² NB = จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่นับได้ในสายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number of scorable bands)

³ NPB = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number of polymorphic bands between resistant and susceptible parents)

⁴ I-R linked = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ (จำนวนของเครื่องหมาย ISSR-RGA ที่น่าจะเชื่อมโยงยีนควบคุมกับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง)

⁵ G = ไพรเมอร์ GLPLAL 1; P = ไพรเมอร์ Pto kin 1; R = ไพรเมอร์ RLK for

ตารางที่ 5 อุณหภูมิ annealing ที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของไพรเมอร์ ISSR-RGA จำนวน 33 คู่
ไพรเมอร์

ไพรเมอร์	อุณหภูมิ annealing (°ซ)	ไพรเมอร์	อุณหภูมิ annealing (°ซ)
ISSR810G	60-55 ¹	ISSR842R	50
ISSR810P	50	ISSR856G	60-55
ISSR810R	60-55	ISSR856P	50
ISSR811G	60-55	ISSR856R	60-55
ISSR811P	50	ISSR857G	50
ISSR811R	60-55	ISSR857P	50
ISSR818G	50	ISSR857R	60-55
ISSR818P	50	ISSR884G	50
ISSR818R	60-55	ISSR884P	50
ISSR835G	60-55	ISSR884R	60-55
ISSR835P	60-55	ISSR885G	60-55
ISSR835R	60-55	ISSR885P	60-55
ISSR841cG	60-55	ISSR885R	60-55
ISSR841cP	50	ISSR888G	60-55
ISSR841cR	60-55	ISSR888P	60-55
ISSR842G	50	ISSR888R	60-55
ISSR842P	50		

¹ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี touchdown PCR

ตารางที่ 6 ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA (RLK for) จำนวน 38 คู่ไพรเมอร์ ที่อุณหภูมิ annealing 50 องศาเซลเซียส

ไพรเมอร์	ไพรเมอร์ที่ใช้ออกแบบ	ลำดับเบส (5'-3') ¹	NB ²	NPB ³	I-R linked ⁴
ISSR807R ⁵	ISSR807 RLK for	(AG) ₈ T GAYGTNAARCCIGARAA	14	1	0
ISSR808R	ISSR808 RLK for	(AG) ₈ C GAYGTNAARCCIGARAA	14	0	0
ISSR809R	ISSR809 RLK for	(AG) ₈ G GAYGTNAARCCIGARAA	21	3	1
ISSR812R	ISSR812 RLK for	(GA) ₈ A GAYGTNAARCCIGARAA	16	1	0
ISSR815R	ISSR815 RLK for	(CT) ₈ G GAYGTNAARCCIGARAA	8	0	0
ISSR817R	ISSR817 RLK for	(CA) ₈ A GAYGTNAARCCIGARAA	11	2	0
ISSR819R	ISSR819 RLK for	(GT) ₈ A GAYGTNAARCCIGARAA	11	3	0
ISSR825R	ISSR825 RLK for	(AC) ₈ T GAYGTNAARCCIGARAA	19	1	1
ISSR826R	ISSR826 RLK for	(AC) ₈ C GAYGTNAARCCIGARAA	21	4	1
ISSR827R	ISSR827 RLK for	(AC) ₈ G GAYGTNAARCCIGARAA	19	3	1
ISSR828R	ISSR828 RLK for	(TG) ₈ A GAYGTNAARCCIGARAA	13	0	0
ISSR829R	ISSR829 RLK for	(TG) ₈ C GAYGTNAARCCIGARAA	10	0	0
ISSR834R	ISSR834 RLK for	(AG) ₈ YT GAYGTNAARCCIGARAA	20	2	0
ISSR836R	ISSR836 RLK for	(AG) ₈ YA GAYGTNAARCCIGARAA	19	0	0

ตารางที่ 6 ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ทำให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA (RLK for) จำนวน 38 คู่ไพรเมอร์ ที่อุณหภูมิ annealing 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

ไพรเมอร์	ไพรเมอร์ที่ใช้ออกแบบ	ลำดับเบส (5'-3')	NB	NPB	I-R linked
ISSR840R	ISSR840	(GA) ₈ YT	14	3	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR841R	ISSR841	(GA) ₈ YC	17	1	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR841tR	ISSR841t	(GA) ₈ TC	18	3	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR842R	ISSR842	(GA) ₈ YG	19	0	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR844R	ISSR844	(CT) ₈ RC	20	3	2
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR847R	ISSR847	(CA) ₈ RC	15	1	1
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR848R	ISSR848	(CA) ₈ RG	11	0	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR850R	ISSR850	(GT) ₈ YC	17	3	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR851R	ISSR851	(GT) ₈ YG	11	0	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR855R	ISSR855	(AC) ₈ YT	10	0	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR858R	ISSR858	(TG) ₈ RT	19	1	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR859R	ISSR859	(TG) ₈ RC	13	1	1
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR860R	ISSR860	(TG) ₈ RA	9	1	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR864R	ISSR864	(ATG) ₆	22	5	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			

ตารางที่ 6 ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA (RLK for) จำนวน 38 คู่ไพรเมอร์ ที่อุณหภูมิ annealing 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

ไพรเมอร์	ไพรเมอร์ที่ใช้ออกแบบ	ลำดับเบส (5'-3')	NB	NPB	I-R linked
ISSR866R	ISSR866	(CTC) ₆	14	1	1
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR868R	ISSR868	(GAA) ₆	13	0	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR873R	ISSR873	(GACA) ₄	13	0	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR878R	ISSR878	(GGAT) ₄	16	3	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR880R	ISSR880	(GGAGA) ₃	12	1	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR886R	ISSR886	VDV (CT) ₇	20	0	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR887R	ISSR887	DVD (TC) ₇	23	0	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR889R	ISSR889	DBD (AC) ₇	15	1	1
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR890R	ISSR890	VHV (GT) ₇	17	1	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ISSR891R	ISSR891	HVH (TG) ₇	16	0	0
	RLK for	GAYGTNAARCCIGARAA			
ผลรวม			590	49	10
ค่าเฉลี่ย			15.5	1.3	0.3

¹ B = C, G, T; D = A, G, T; H = A, C, T; I = inosine; N = A, G, C, T; R = พิวรีน (A, G); V = A, C, G; Y = ไพริมิดีน (C, T)

² NB = จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่นับได้ในสายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number of scorable bands)

³ NPB = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number of polymorphic bands between resistant and susceptible parents)

⁴ I-R linked = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ (จำนวนของเครื่องหมาย ISSR-RGA ที่น่าจะเชื่อมโยงกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง)

⁵ R = ไพรเมอร์ RLK for

ตารางที่ 7 ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA (P-Loop) จำนวน 51 คู่ไพรเมอร์ ที่อุณหภูมิ annealing 50 องศาเซลเซียส

ไพรเมอร์	ไพรเมอร์ที่ใช้ออกแบบ	ลำดับเบส (5'-3') ¹	NB ²	NPB ³	I-R linked ⁴
ISSR807PL ⁵	ISSR807 P-Loop	(AG) ₈ T (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	19	6	1
ISSR808PL	ISSR808 P-Loop	(AG) ₈ C (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	15	2	0
ISSR809PL	ISSR809 P-Loop	(AG) ₈ G (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	20	0	0
ISSR810PL	ISSR810 P-Loop	(GA) ₈ T (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	18	2	0
ISSR811PL	ISSR811 P-Loop	(GA) ₈ C (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	17	3	0
ISSR812PL	ISSR812 P-Loop	(GA) ₈ A (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	19	3	0
ISSR815PL	ISSR815 P-Loop	(CT) ₈ G (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	11	1	0
ISSR816PL	ISSR816 P-Loop	(CA) ₈ T (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	13	2	0
ISSR817PL	ISSR817 P-Loop	(CA) ₈ A (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	7	0	0
ISSR818PL	ISSR818 P-Loop	(CA) ₈ G (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	11	1	0
ISSR819PL	ISSR819 P-Loop	(GT) ₈ A (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	11	0	0
ISSR825PL	ISSR825 P-Loop	(AC) ₈ T (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	21	1	0
ISSR826PL	ISSR826 P-Loop	(AC) ₈ C (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	17	3	0
ISSR827PL	ISSR827 P-Loop	(AC) ₈ G (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	14	0	0

ตารางที่ 7 ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ทำให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA (P-Loop) จำนวน 51 คู่ไพรเมอร์ ที่อุณหภูมิ annealing 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

ไพรเมอร์	ไพรเมอร์ที่ใช้ออกแบบ	ลำดับเบส (5'-3')	NB	NPB	I-R linked
ISSR828PL	ISSR828 P-Loop	(TG) ₈ A (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	14	1	0
ISSR829PL	ISSR829 P-Loop	(TG) ₈ C (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	13	3	0
ISSR830PL	ISSR830 P-Loop	(TG) ₈ G (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	16	2	0
ISSR834PL	ISSR834 P-Loop	(AG) ₈ YT (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	25	1	0
ISSR835PL	ISSR835 P-Loop	(AG) ₈ YC (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	18	2	0
ISSR836PL	ISSR836 P-Loop	(AG) ₈ YA (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	15	5	1
ISSR840PL	ISSR840 P-Loop	(GA) ₈ YT (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	12	0	0
ISSR841PL	ISSR841 P-Loop	(GA) ₈ YC (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	16	3	0
ISSR841cPL	ISSR841c P-Loop	(GA) ₈ CC (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	18	7	0
ISSR841tPL	ISSR841t P-Loop	(GA) ₈ TC (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	17	3	0
ISSR842PL	ISSR842 P-Loop	(GA) ₈ YG (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	24	2	2
ISSR844PL	ISSR844 P-Loop	(CT) ₈ RC (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	13	6	0
ISSR846PL	ISSR846 P-Loop	(CA) ₈ AT (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	17	4	0
ISSR847PL	ISSR847 P-Loop	(CA) ₈ RC (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	15	2	0

ตารางที่ 7 ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ทำให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA (P-Loop) จำนวน 51 คู่ไพรเมอร์ ที่อุณหภูมิ annealing 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

ไพรเมอร์	ไพรเมอร์ที่ใช้ออกแบบ	ลำดับเบส (5'-3')	NB	NPB	I-R linked
ISSR848PL	ISSR848 P-Loop	(CA) ₈ RG (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	10	2	0
ISSR850PL	ISSR850 P-Loop	(GT) ₈ YC (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	9	1	0
ISSR851PL	ISSR851 P-Loop	(GT) ₈ YG (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	10	1	0
ISSR855PL	ISSR855 P-Loop	(AC) ₈ YT (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	15	3	0
ISSR856PL	ISSR856 P-Loop	(AC) ₈ YA (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	7	0	0
ISSR857PL	ISSR857 P-Loop	(AC) ₈ YG (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	24	3	1
ISSR858PL	ISSR858 P-Loop	(TG) ₈ RT (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	20	5	0
ISSR860PL	ISSR860 P-Loop	(TG) ₈ RA (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	11	0	0
ISSR864PL	ISSR864 P-Loop	(ATG) ₆ (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	23	0	0
ISSR866PL	ISSR866 P-Loop	(CTC) ₆ (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	14	0	0
ISSR868PL	ISSR868 P-Loop	(GAA) ₆ (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	12	0	0
ISSR873PL	ISSR873 P-Loop	(GACA) ₄ (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	12	0	0
ISSR876PL	ISSR876 P-Loop	(GATA) ₂ (GACA) ₂ (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	12	0	0
ISSR878PL	ISSR878 P-Loop	(GGAT) ₄ (GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC	11	0	0

ตารางที่ 7 ลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อ (V4718; R) และพันธุ์แม่ (CN72; S) และจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ เมื่อใช้ไพรเมอร์ ISSR-RGA (P-Loop) จำนวน 51 คู่ไพรเมอร์ ที่อุณหภูมิ annealing 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

ไพรเมอร์	ไพรเมอร์ที่ใช้ออกแบบ	ลำดับเบส (5'-3')	NB	NPB	I-R linked
ISSR880PL	ISSR880	(GGAGA) ₃	12	0	0
	P-Loop	(GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC			
ISSR884PL	ISSR884	HBH (AG) ₇	16	2	1
	P-Loop	(GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC			
ISSR885PL	ISSR885	BHB (GA) ₇	22	4	0
	P-Loop	(GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC			
ISSR886PL	ISSR886	VDV (CT) ₇	15	0	0
	P-Loop	(GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC			
ISSR887PL	ISSR887	DVD (TC) ₇	27	2	0
	P-Loop	(GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC			
ISSR888PL	ISSR888	BDB (CA) ₇	20	2	0
	P-Loop	(GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC			
ISSR889PL	ISSR889	DBD (AC) ₇	20	5	1
	P-Loop	(GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC			
ISSR890PL	ISSR890	VHV (GT) ₇	17	2	0
	P-Loop	(GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC			
ISSR891PL	ISSR891	HVH (TG) ₇	18	2	1
	P-Loop	(GGI) ₂ GTIGGIAAIACIAC			
ผลรวม			803	99	8
ค่าเฉลี่ย			15.7	1.9	0.2

¹ B = C, G, T; D = A, G, T; H = A, C, T; I = inosine; N = A, G, C, T; R = พิวรีน (A, G); V = A, C, G; Y = ไพริมิดีน (C, T)

² NB = จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมดที่นับได้ในสายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number of scorable bands)

³ NPB = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ (number of polymorphic bands between resistant and susceptible parents)

⁴ I-R linked = จำนวนแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ (จำนวนของเครื่องหมาย ISSR-RGA ที่น่าจะเชื่อมโยงกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง)

⁵ PL = ไพรเมอร์ P-Loop

ตารางที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR-RGA และลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718

เครื่องหมาย	จำนวนต้น1	Beta	t-value	P-value	R ²	ระยะห่าง (cM)	LOD
I10G175	20	-0.233	-1.017	0.322	0.054	45.0	0.044
I35G448	20	-0.254	-1.113	0.280	0.064	35.0	0.397
I56P166	17	-0.627	-3.114	0.007	0.393	29.4	0.645
I56P169	17	-0.627	-3.114	0.007	0.393	29.4	0.645
I56P363	17	-0.627	-3.114	0.007	0.393	29.4	0.645
I56P366	17	-0.627	-3.114	0.007	0.393	29.4	0.645
I57P358	14	-0.570	-2.401	0.033	0.324	28.6	0.577
I57P360	14	-0.570	-2.401	0.033	0.324	28.6	0.577
I07PL318	19	0.343	1.503	0.151	0.117	36.8	0.289
I36PL306	20	0.339	1.526	0.144	0.115	35.0	0.397
I42PL222	20	-0.804	-5.745	0.000	0.647	10.0	3.197
I42PL229	20	0.912	9.448	0.000	0.832	5.0	4.296
I57PL247	20	0.121	0.517	0.612	0.015	45.0	0.044
I84PL462	19	-0.645	-3.582	0.002	0.416	21.0	1.473
I89PL156	20	0.291	1.291	0.213	0.085	35.0	0.397
I91PL300	20	0.507	2.498	0.022	0.257	30.0	0.715
I09R246	20	0.501	2.458	0.024	0.251	25.0	1.136
I25R668	20	0.545	2.759	0.013	0.297	25.0	1.136
I26R600	20	-0.824	-6.166	0.000	0.679	10.0	3.197
I27R211	20	-0.715	-4.341	0.000	0.511	15.0	2.349
I35R320	20	-0.001	-0.006	0.995	0.000	50.0	0.000
I35R438	20	0.019	0.081	0.937	0.000	50.0	0.000
I44R209	20	0.205	0.890	0.385	0.042	45.0	0.044
I44R337	20	0.384	1.764	0.095	0.147	30.0	0.715
I47R731	20	0.645	3.579	0.002	0.416	20.0	1.674
I66R181	20	-0.239	-1.046	0.309	0.057	40.0	0.175

ตารางที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR-RGA และลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 (ต่อ)

เครื่องหมาย	จำนวนต้น	Beta	t-value	P-value	R ²	ระยะห่าง (cM)	LOD
I85R420	20	-0.552	-2.807	0.012	0.304	25.0	1.136
I88R656	20	-0.835	-6.439	0.000	0.697	15.0	2.349
I89R264	20	0.424	1.987	0.062	0.180	30.0	0.715

¹ จำนวนต้น = จำนวนต้นทั้งหมดที่ได้จากประชากรรวมที่ต้านทาน (resistant bulk DNA) และประชากรรวมที่อ่อนแอ (susceptible bulk DNA) อย่างละ 10 ต้น

ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย ISSR และ ISSR-RGA ต่อลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718

เครื่องหมาย	จำนวนต้น	Beta	t-value	P-value	R ²	LOD
I13306	90	-0.638	-7.776	0.000	0.407	9.482
I16274	94	-0.492	-5.421	0.000	0.242	5.582
I42PL222	99	-0.635	-8.096	0.000	0.403	9.416
I42PL229	90	-0.851	-15.172	0.000	0.723	17.519
I84267	100	-0.596	-7.344	0.000	0.355	8.371
I84416	100	-0.663	-8.774	0.000	0.440	11.745
I85420	90	-0.769	-11.282	0.000	0.591	14.386
I88R656	100	-0.505	-5.788	0.000	0.255	6.170

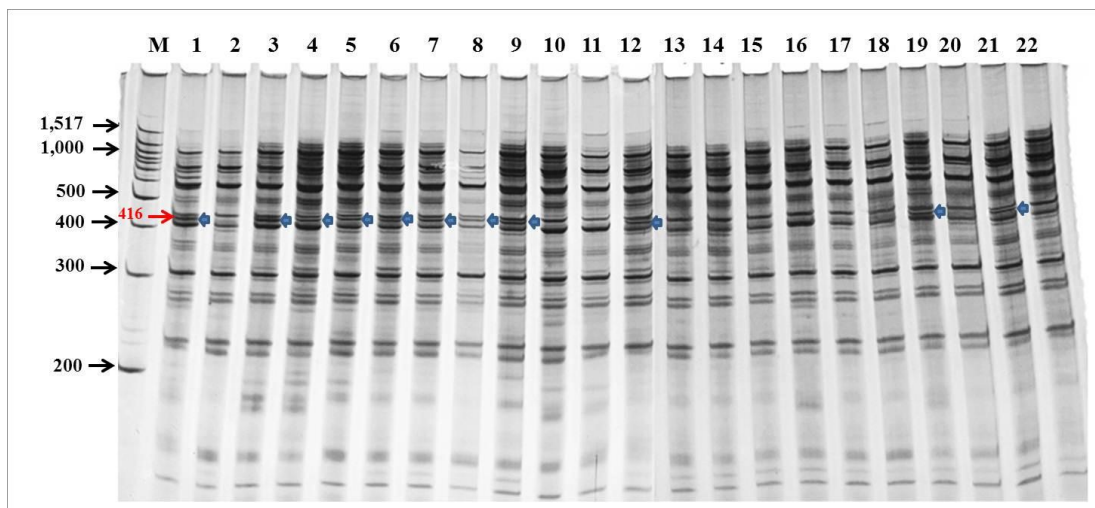
ตารางที่ 10 ตำแหน่ง QTL ที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรคราแป้งในประชากร F_{2:7} และ F_{2:8} ของคู่ผสม CN72 × V4718 จากการวิเคราะห์ multiple interval mapping

ประชากร	ปี	ชื่อ QTL	Marker interval	ตำแหน่ง (cM) ¹	LOD ²	PVE ³ (%)	ผลแบบบวก
F _{2:7}	2556	qPMC72V18-1	I42PL229-I85420	19.5	5.89	92.4	-2.23
F _{2:8}	2559	qPMC72V18-1	I42PL229-I85420	23.5	5.04	43.2	-1.03

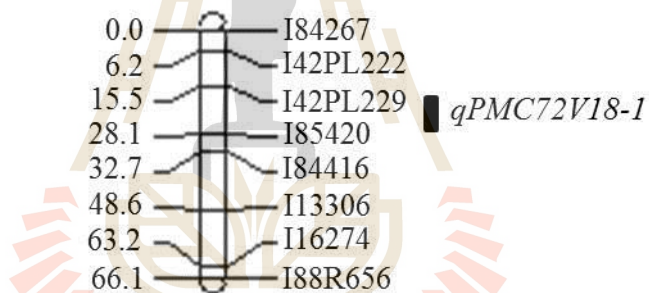
¹ ตำแหน่งบนกลุ่มลิงค์เกจ (linkage group)

² LOD, log of odd ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ QTL

³ เปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนของฟีโนไทป์ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ QTL



ภาพที่ 2 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในถั่วเขียวพันธุ์ต้านทาน V4718 (1) พันธุ์อ่อนแอ CN72 (2) ลูกผสมที่ต้านทาน (3-12) และลูกผสมที่อ่อนแอ (13-22) ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพโรเมอร์ ISSR884; M = 100 bp DNA ladder



ภาพที่ 3 ตำแหน่งยีนต้านทานโรคราแป้งอยู่ระหว่างเครื่องหมาย I42PL229 กับ I85420

และจากการประเมินความเหมาะสมในการนำไพรเมอร์ RGA มาใช้ร่วมกับไพรเมอร์ ISSR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 เพื่อหาเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง ซึ่งใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 52 ไพรเมอร์ ร่วมกับไพรเมอร์ RGA จำนวน 4 ไพรเมอร์ (GLPLAL 1, Pto kin 1, P-Loop และ RLK for) รวมทั้งหมด 122 คู่ไพรเมอร์ โดยการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่ได้ระหว่างไพรเมอร์ ISSR กับ ISSR-RGA ดังเช่นภาพที่ 4 พบว่ามีไพรเมอร์ ISSR-RGA จำนวน 20 คู่ไพรเมอร์ ที่ให้แถบดีเอ็นเอแถบใหม่ (ไม่พบในไพรเมอร์ ISSR) ที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานกับประชากรรวมต้านทาน หรือระหว่างพันธุ์อ่อนแอกับประชากรรวมอ่อนแอ (I-R linked) อยู่ระหว่าง 1-4 แถบ รวมทั้งหมด 27 แถบ โดยไพรเมอร์ ISSR 856 ร่วมกับ Pto kin 1 ให้จำนวนแถบดีเอ็นเอมากที่สุด จำนวน 4 แถบ ซึ่งกำหนดให้แต่ละแถบคือแต่ละเครื่องหมาย (ตารางที่ 11-13) โดยพบว่าเครื่องหมาย ISSR-RGA ทั้ง 27 เครื่องหมายนี้เป็นเครื่องหมายใหม่ คิดเป็น 93.1% จากทั้งหมด 29 เครื่องหมาย แสดงว่าการนำไพรเมอร์ RGA มาใช้ร่วมกับไพรเมอร์ ISSR เป็นประโยชน์และมีประสิทธิภาพสูง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Smolik (2012) ซึ่งสร้างเครื่องหมายโมเลกุลชนิดใหม่ R-ISSR ที่เกิดจากไพรเมอร์ RAPD กับ ISSR เพื่อใช้ในการหาตำแหน่ง QTL ที่สัมพันธ์กับความทนทานต่อการขาดธาตุอาหารในสภาพเครียดของข้าวไร่ โดยพบว่าเครื่องหมาย R-ISSR จำนวน 28 คู่ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอแถบใหม่ จำนวน 114 แถบจาก 207 แถบ และในทำนองเดียวกัน Patil et al. (2014) พบว่าการใช้เครื่องหมาย AFLP ร่วมกับ RGA ทำให้มีแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างจีโนไทป์ของถั่วระ (pigeon pea) สูงถึง 90.7% ซึ่งเป็นประโยชน์ในการเลือกจีโนไทป์ที่เหมาะสมสำหรับเป็นพ่อแม่พันธุ์ที่ต้านทานโรคเหี่ยว (Fusarium wilt) และ sterility mosaic

ตารางที่ 11 ขนาดและจำนวนแถบดีเอ็นเอรูปแบบต่าง ๆ ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ที่เพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA

ไพรเมอร์		ขนาดของแถบดีเอ็นเอ (bp)	จำนวนแถบดีเอ็นเอ			
ISSR	RGA		I ¹	I-R ²	I-R new ³	I-R linked ⁴
810	GLPLAL 1	200-1,200	19	17	1	1
	Pto kin 1	200-1,200	19	14	1	-
	RLK for	300-1,200	15	15	1	-
811	GLPLAL 1	200-1,200	20	17	3	-
	Pto kin 1	250-1,200	20	19	2	-
	RLK for	250-1,200	20	16	1	-
818	GLPLAL 1	300-1,400	14	13	2	-
	Pto kin 1	300-1,400	14	10	2	-
	RLK for	300-1,400	14	14	-	-
835	GLPLAL 1	200-1,200	26	24	1	1
	Pto kin 1	200-1,200	26	19	-	-
	RLK for	200-1,200	26	18	2	2

ตารางที่ 11 ขนาดและจำนวนแถบดีเอ็นเอรูปแบบต่าง ๆ ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ที่เพิ่มปริมาณ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA (ต่อ)

ไพรเมอร์		ขนาดของแถบดีเอ็นเอ (bp)	จำนวนแถบดีเอ็นเอ			
ISSR	RGA		I	I-R	I-R new	I-R linked
841c	GLPLAL 1	300-1,200	17	17	2	-
	Pto kin 1	250-1,200	18	16	1	-
	RLK for	250-1,200	18	17	1	-
842	GLPLAL 1	250-1,200	23	17	3	-
	Pto kin 1	250-1,200	23	19	3	-
	RLK for	250-1,200	23	19	-	-
856	GLPLAL 1	250-1,200	18	15	2	-
	Pto kin 1	120-1,200	18	13	10	4
	RLK for	250-1,200	18	10	1	-
857	GLPLAL 1	200-1,200	28	24	-	-
	Pto kin 1	200-1,200	28	28	2	2
	RLK for	200-1,200	28	24	2	-
884	GLPLAL 1	200-1,200	25	18	-	-
	Pto kin 1	200-1,200	25	18	-	-
	RLK for	200-1,200	25	18	-	-
885	GLPLAL 1	200-1,200	26	15	2	-
	Pto kin 1	200-1,200	26	17	2	-
	RLK for	200-1,200	26	18	3	-
888	GLPLAL 1	300-1,200	20	15	-	-
	Pto kin 1	300-1,200	20	16	1	-
	RLK for	300-1,200	20	16	1	1

¹ จำนวนแถบดีเอ็นเอของไพรเมอร์ ISSR; ² จำนวนแถบดีเอ็นเอของคู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA ที่เหมือนกับไพรเมอร์ ISSR; ³ จำนวนแถบดีเอ็นเอใหม่ของคู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA; ⁴ จำนวนแถบดีเอ็นเอใหม่ของคู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA ที่น่าจะเชื่อมโยงกับ ยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง

ตารางที่ 12 ขนาดและจำนวนแถบดีเอ็นเอรูปแบบต่าง ๆ ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ที่เพิ่มปริมาณ โดยใช้คู่มือ ISSR-RGA (RLK for)

ไพรเมอร์ ISSR-RGA	ขนาดของแถบดีเอ็นเอ (bp)	จำนวนแถบดีเอ็นเอ			
		I ¹	I-R ²	I-R new ³	I-R linked ⁴
ISSR807R ⁵	200-1,200	16	14	-	-
ISSR808R	200-1,200	17	14	-	-
ISSR809R	150-1,200	26	20	1	1
ISSR812R	200-1,200	19	15	1	-
ISSR815R	250-1,200	11	8	-	-
ISSR817R	300-1,200	12	11	-	-
ISSR819R	500-1,400	11	11	-	-
ISSR825R	200-1,200	19	15	4	1
ISSR826R	200-1,200	19	15	6	1
ISSR827R	200-1,500	19	16	3	1
ISSR828R	300-1,200	12	9	4	-
ISSR829R	300-1,200	13	10	-	-
ISSR834R	200-1,200	24	20	-	-
ISSR836R	200-1,200	24	19	-	-
ISSR840R	200-1,200	19	14	-	-
ISSR841R	250-1,200	19	16	1	-
ISSR841tR	250-1,200	18	17	1	-
ISSR842R	150-1,200	25	19	-	-
ISSR844R	200-1,200	17	17	3	2
ISSR847R	300-1,200	15	13	2	1
ISSR848R	400-1,200	14	11	-	-
ISSR850R	200-1,200	19	15	2	-
ISSR851R	250-1,200	12	9	2	-
ISSR855R	350-1,200	15	10	-	-
ISSR858R	200-1,200	23	19	-	-
ISSR859R	350-1,200	17	11	2	1
ISSR860R	250-1,400	11	7	2	-
ISSR864R	200-1,500	27	22	-	-
ISSR866R	150-1,500	15	11	3	1
ISSR868R	350-1,200	13	13	-	-
ISSR873PL	350-1,200	15	13	-	-

ตารางที่ 12 ขนาดและจำนวนแถบดีเอ็นเอรูปแบบต่าง ๆ ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ที่เพิ่มปริมาณโดยใช้คู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA (RLK for) (ต่อ)

ไพรเมอร์	ขนาดของแถบดีเอ็นเอ (bp)	จำนวนแถบดีเอ็นเอ			
		I	I-R	I-R new	I-R linked
ISSR-RGA					
ISSR878R	300-1,400	16	16	-	-
ISSR880R	250-1,200	13	12	-	-
ISSR886R	250-1,500	26	17	3	-
ISSR887R	250-1,500	26	19	4	-
ISSR889R	200-1,200	16	14	1	1
ISSR890R	200-1,200	18	17	-	-
ISSR891R	200-1,200	18	16	-	-

¹ จำนวนแถบดีเอ็นเอของไพรเมอร์ ISSR; ² จำนวนแถบดีเอ็นเอของคู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA ที่เหมือนกับไพรเมอร์ ISSR; ³ จำนวนแถบดีเอ็นเอใหม่ของคู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA; ⁴ จำนวนแถบดีเอ็นเอใหม่ของคู่ไพรเมอร์ ISSR-RGA ที่น่าจะเชื่อมโยงกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง; ⁵ R = ไพรเมอร์ RLK for



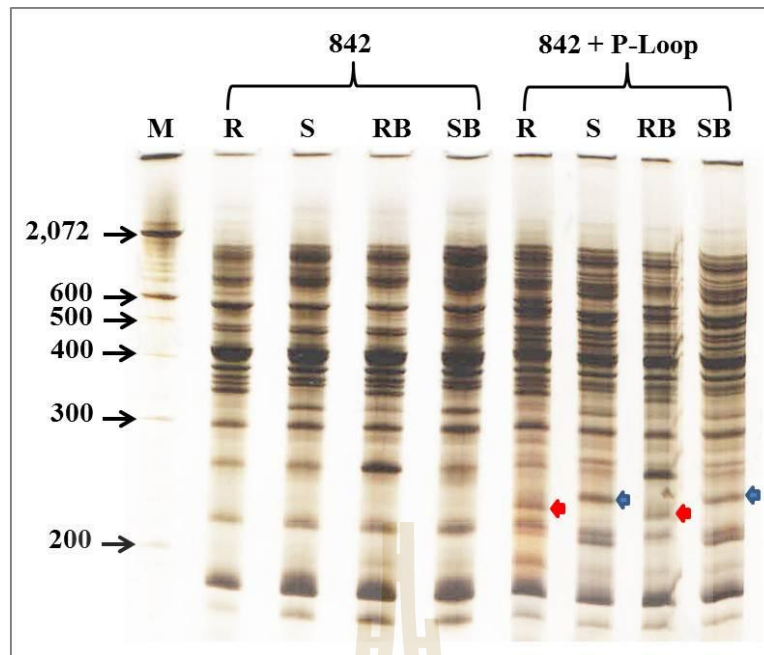
ตารางที่ 13 ขนาดและจำนวนแถบดีเอ็นเอรูปแบบต่าง ๆ ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ที่เพิ่มปริมาณ โดยใช้คู่มือ ISSR-RGA (P-Loop)

ไพรเมอร์	ขนาดของแถบดีเอ็นเอ (bp)	จำนวนแถบดีเอ็นเอ			
		I ¹	I-R ²	I-R new ³	I-R linked ⁴
ISSR-RGA					
ISSR807PL ⁵	200-1,200	16	16	3	1
ISSR808PL	200-1,200	17	14	1	-
ISSR809PL	200-1,200	24	20	-	-
ISSR810PL	200-1,200	19	17	1	-
ISSR811PL	250-1,200	20	14	3	-
ISSR812PL	200-1,200	19	18	1	-
ISSR815PL	250-1,200	11	8	3	-
ISSR816PL	200-1,200	20	13	-	-
ISSR817PL	300-1,200	12	7	-	-
ISSR818PL	300-1,400	14	11	-	-
ISSR819PL	500-1,400	11	11	-	-
ISSR825PL	250-1,200	18	18	3	-
ISSR826PL	200-1,200	19	16	1	-
ISSR827PL	250-1,500	18	13	1	-
ISSR828PL	300-1,200	12	11	3	-
ISSR829PL	300-1,200	13	13	-	-
ISSR830PL	250-1,200	21	16	-	-
ISSR834PL	200-1,200	24	24	1	-
ISSR835PL	200-1,200	26	18	-	-
ISSR836PL	200-1,200	24	14	1	1
ISSR840PL	200-1,200	19	12	-	-
ISSR841PL	250-1,200	19	15	1	-
ISSR841cPL	250-1,200	18	18	-	-
ISSR841tPL	250-1,200	18	16	1	-
ISSR842PL	150-1,200	25	20	4	2
ISSR844PL	300-1,200	14	11	2	-
ISSR846PL	200-1,500	14	14	3	-
ISSR847PL	300-1,200	15	12	3	-
ISSR848PL	400-1,200	14	10	-	-
ISSR850PL	200-1,200	19	7	2	-

ตารางที่ 13 ขนาดและจำนวนแถบดีเอ็นเอรูปแบบต่าง ๆ ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ที่เพิ่มปริมาณ โดยใช้คูไพรเมอร์ ISSR-RGA (P-Loop) (ต่อ)

ไพรเมอร์	ขนาดของแถบดีเอ็นเอ (bp)	จำนวนแถบดีเอ็นเอ			
		I	I-R	I-R new	I-R linked
ISSR-RGA					
ISSR851PL	250-1,200	12	10	-	-
ISSR855PL	350-1,200	15	12	3	-
ISSR856PL	250-1,200	18	6	1	-
ISSR857PL	200-1,200	28	20	4	1
ISSR858PL	200-1,200	23	20	-	-
ISSR860PL	250-1,400	11	11	-	-
ISSR864PL	200-1,500	27	23	-	-
ISSR866PL	200-1,500	15	13	1	-
ISSR868PL	350-1,200	13	11	1	-
ISSR873PL	350-1,200	15	12	-	-
ISSR876PL	400-1,200	14	12	-	-
ISSR878PL	300-1,400	16	11	-	-
ISSR880PL	250-1,200	13	11	1	-
ISSR884PL	200-1,200	25	16	1	1
ISSR885PL	200-1,200	26	22	-	-
ISSR886PL	250-1,500	26	14	1	-
ISSR887PL	250-1,500	26	26	1	-
ISSR888PL	300-1,200	20	20	-	-
ISSR889PL	200-1,200	16	16	2	-
ISSR890PL	200-1,200	18	15	2	-
ISSR891PL	200-1,200	18	16	2	1

¹ จำนวนแถบดีเอ็นเอของไพรเมอร์ ISSR; ² จำนวนแถบดีเอ็นเอของคูไพรเมอร์ ISSR-RGA ที่เหมือนกับไพรเมอร์ ISSR; ³ จำนวนแถบดีเอ็นเอใหม่ของคูไพรเมอร์ ISSR-RGA; ⁴ จำนวนแถบดีเอ็นเอใหม่ของคูไพรเมอร์ ISSR-RGA ที่น่าจะเชื่อมโยงกับ ยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง; ⁵ PL = ไพรเมอร์ P-Loop



ภาพที่ 4 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอในถั่วเขียวสายพันธุ์ V4718 (R) พันธุ์ CN72 (S) ประชากรรวมต้านทาน (RB) และประชากรรวมอ่อนแอ (SB) ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ ISSR842 และ ISSR842 ร่วมกับ P-Loop; M = 100 bp DNA ladder ลูกศรสีแดงสีน้ำเงินแสดงจำนวนแถบดีเอ็นเอที่น่าจะเชื่อมโยงกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง

ส่วนที่ 3 การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคและให้ผลผลิตสูงจากประชากร recombinant inbred lines; RILs

ทำการปลูกถั่วเขียวเพื่อทดสอบความต้านทานโรคราแป้ง จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 และ 65 วัน ในปี พ.ศ. 2556 และ 2557 โดยปลูกประชากรถั่วเขียวที่คัดเลือกแล้วว่ามีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งและให้ผลผลิตสูงจากคู่ผสม CN72 × V4758 (A) จำนวน 8 สายพันธุ์ คู่ผสม CN72 × V4718 (B) จำนวน 13 สายพันธุ์ และคู่ผสม CN72 × V4785 (C) จำนวน 13 สายพันธุ์ รวมทั้งหมด 34 สายพันธุ์ ปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์ KPS1 ที่เป็นพันธุ์ส่งเสริม พันธุ์ CN72 ที่เป็นพันธุ์รับรอง และพันธุ์ SUT1 ที่เป็นพันธุ์แนะนำจากกรมวิชาการเกษตร และเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมากในประเทศไทย (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557) ซึ่งพันธุ์ถั่วเขียวดังกล่าวนี้มีผลผลิตสูงแต่ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคราแป้ง (ปริญญา ขจัดพาล, 2552; สมพงษ์ จันทร์แก้ว และคณะ, 2554; สุมนา งามผ่องใส และคณะ, 2554) และสายพันธุ์ V4718, V4758 และ V4785 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคราแป้ง (Khajudparn et al., 2007) พบว่าในปี พ.ศ. 2556 เมื่อประเมินความสามารถในการต้านทานโรคราแป้งหลังปลูก 55 วัน ถั่วเขียวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 5) โดยถั่วเขียวพันธุ์ CN72 มีความสามารถในการต้านทานโรคราแป้งน้อยที่สุด ซึ่งมีระดับความรุนแรงในการเกิดโรคเท่ากับ 6.00 คะแนน และสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งมากที่สุดคือ สายพันธุ์ 55A, 13B, 44B, 24C, 43C, 53C และ 54C โดยมีระดับคะแนนในการเกิดโรค 1.00 คะแนน ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากพันธุ์/สายพันธุ์เปรียบเทียบกับ KPS1, SUT1, V4718, V4758 และ V4785 ที่มีระดับคะแนนการเกิดโรคราแป้ง 2.00, 2.33, 1.33, 2.00 และ 1.33 คะแนน ตามลำดับ ส่วนความสามารถในการต้านทานโรคราแป้งหลังปลูก 65 วัน พบว่าถั่วเขียวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีความสามารถในการต้านทานโรคราแป้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 6) โดยถั่วเขียวพันธุ์ CN72 มีความสามารถในการต้านทานโรคราแป้งน้อยที่สุด (6.33 คะแนน) (ตารางที่ 14)

เมื่อพิจารณาความสามารถในการต้านทานโรคราแป้งของถั่วเขียวทั้ง 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ในปี พ.ศ. 2557 ที่อายุ 55 และ 65 วัน พบว่าที่อายุ 55 วัน ถั่วเขียวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 7) โดยถั่วเขียวพันธุ์ CN72 และ KPS1 มีความสามารถในการต้านทานโรคราแป้งน้อย (7.00 คะแนน) ไม่แตกต่างทางสถิติจากพันธุ์ SUT1 และสายพันธุ์ 135A, 44B, 47B, 69B, 71B, 148B, 150B, 19C, 41C, 166C และ 182C โดยมีระดับคะแนนในการเกิดโรคอยู่ในช่วง 5.67-6.67 คะแนน ส่วนสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งมากที่สุดคือ สายพันธุ์ V4785 และ 24B โดยมีระดับคะแนนในการเกิดโรคเท่ากันคือ 2.67 คะแนน ในทำนองเดียวกันที่อายุ 65 วัน พบว่าถั่วเขียวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีความสามารถในการต้านทานโรคราแป้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 8) โดยถั่วเขียวพันธุ์ CN72 มีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งน้อยที่สุด (7.33 คะแนน) ส่วนถั่วเขียวสายพันธุ์ V4785 มีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งมากที่สุด (2.67 คะแนน) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากสายพันธุ์ V4785, V4718, 37A, 55A, 13B, 14B, 24B, 103B,

14C, 24C, 25C, 35C, 43C, 53C, 54C, 106C และ 166C ที่มีระดับคะแนนการเกิดโรคราแป้งตั้งแต่ 3.00-4.67 คะแนน (ตารางที่ 15)

เมื่อพิจารณาการประเมินศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งของถั่วเขียวหลังปลูก 55 และ 65 วัน พบว่าที่อายุ 55 วันเป็นช่วงเวลาการประเมินโรคราแป้งที่ใช้กันมากในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานโรคราแป้ง (ปริญญา ขจัดพาล, 2552; ไพศาล เหล่าสุวรรณ และคณะ, 2547) และประเมินเพิ่มเติมที่อายุหลังปลูก 65 วันอีกครั้งเพื่อยืนยันผลการประเมิน เนื่องจากช่วงการระบาดของโรคในแต่ละปีอาจทำให้การเข้าทำลายของโรคราแป้งเกิดขึ้นซ้ำ

และจากการพิจารณาสายพันธุ์ถั่วเขียวที่ให้ผลผลิตสูงโดยวิธีศึกษาองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และผลผลิตของถั่วเขียว พบว่าในปี พ.ศ. 2556 ถั่วเขียวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ให้องค์ประกอบผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 9-11) และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 12) โดยพบว่าพันธุ์ CN72 ให้น้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุดคือ 8.21 กรัม รองลงมาได้แก่สายพันธุ์ 181A, 162B และ 41C ให้น้ำหนัก 100 เมล็ดเท่ากับ 6.77, 6.55 และ 6.53 กรัม ตามลำดับ สายพันธุ์ 44B ให้น้ำหนัก 100 เมล็ดต่ำสุดอยู่ที่ 4.07 กรัม ในขณะที่จำนวนฝักต่อต้นของสายพันธุ์ 24B มากที่สุด (90 ฝัก) รองลงมาคือ สายพันธุ์ 166C และ V4758 ที่มีจำนวนฝักต่อต้นเท่ากับ 84 และ 83 ฝัก ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์ 162B ให้จำนวนฝักต่อต้นน้อยที่สุด (31 ฝัก) เมื่อพิจารณาจำนวนเมล็ดต่อฝัก พบว่าสายพันธุ์ 182C มีจำนวนเมล็ดต่อฝักมากที่สุด (13 เมล็ด) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากสายพันธุ์ 155A, 44B, 106B, V4718, V4758 และ V4785 ที่มีจำนวนเมล็ดต่อฝัก 12 เมล็ด ส่วนสายพันธุ์ 181A และ 35C ให้จำนวนเมล็ดต่อฝักต่ำที่สุด (10 เมล็ด) เมื่อพิจารณาผลผลิต พบว่าสายพันธุ์ 182C ให้ผลผลิตมากที่สุดถึง 655.94 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากสายพันธุ์ 135A, 181A, 13B, 14B, 24B, 148B, 150B, 14C, 19C, 41C, 54C, 166C และ V4758 ที่ให้ผลผลิตตั้งแต่ 430.78-583.39 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่สายพันธุ์ 64A ให้ผลผลิตต่ำที่สุดเพียง 215.55 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 16)

เมื่อศึกษาองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเขียวในปี พ.ศ. 2557 พบว่าถั่วเขียวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ให้องค์ประกอบผลผลิตต่าง ๆ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 13-16) โดยพบว่าพันธุ์ CN72 ให้น้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุด (7.26 กรัม) ส่วนสายพันธุ์ 47B ให้น้ำหนัก 100 เมล็ดต่ำสุด (3.72 กรัม) ซึ่งประชากรถั่วเขียวลูกผสมทุกสายพันธุ์ และสายพันธุ์ต้านทานโรคราแป้งทั้งสามสายพันธุ์ (V4718, V4758 และ V4785) ให้น้ำหนัก 100 เมล็ด น้อยกว่าพันธุ์เปรียบเทียบกับ CN72, KPS1 และ SUT1 โดยแต่ละสายพันธุ์ให้น้ำหนักเมล็ดตั้งแต่ 3.72-6.65 กรัม เมื่อนับจำนวนฝักต่อต้น พบว่าสายพันธุ์ 24B และ 162B มีจำนวนฝักต่อต้นมากและน้อยที่สุด 55 และ 12 ฝัก ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน เมื่อนับจำนวนเมล็ดต่อฝัก พบว่าสายพันธุ์ V4785 และ 25C มีจำนวนเมล็ดต่อฝักมากและน้อยที่สุด 12 และ 9 เมล็ด ตามลำดับ ส่วนเรื่องผลผลิตพบว่าสายพันธุ์ V4785 ให้ผลผลิตมากที่สุด (309.46 กิโลกรัมต่อไร่) ขณะที่สายพันธุ์ 162B ให้ผลผลิตต่ำที่สุดเพียง 77.38 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 17)

เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบผลผลิตทุกลักษณะของถั่วเขียวคือ น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝัก ต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝัก พบว่าทุกลักษณะมีความสัมพันธ์กับผลผลิต ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำหนัก 100 เมล็ด มีความสัมพันธ์ทางลบกับจำนวนฝักต่อต้น เมื่อน้ำหนัก 100 เมล็ดมีค่าสูง จะทำให้จำนวนฝักต่อต้นลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของปริญญา ขจัดพาล (2552) ที่พบว่าจำนวนฝักต่อต้นมี สหสัมพันธ์ทางลบกับความยาวฝัก และน้ำหนัก 100 เมล็ด ซึ่งการคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการ ต้านทานโรคราแป้งและให้ผลผลิตสูงจากประชากร RILs พบว่าปี พ.ศ. 2557 การระบาดของโรคราแป้งรุนแรง กว่าปี พ.ศ. 2556 ดังนั้นจากข้อมูลปี พ.ศ. 2557 สายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการรวมยีน ต้านทานโรคราแป้งทั้ง 3 ยีนจากสายพันธุ์ V4718, V4758 และ V4785 และให้ผลผลิตสูงเหมือนพันธุ์ CN72 คือ 13B, 14B, 24B และ 54C โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ 13B มีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งและ ยังให้ผลผลิตที่สูงในทั้งสองฤดูการปลูกคือ ปี พ.ศ. 2556 และ 2557 เมื่อพิจารณาปี พ.ศ. 2557 ที่พบการ ระบาดของโรคราแป้งรุนแรงกว่าปี พ.ศ. 2556 ทั้งนี้อาจเนื่องจากสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเข้าทำลาย ของโรคราแป้ง มีเชื้อสาเหตุโรคที่เพียงพอ และมีพืชพันธุ์อ่อนแอปลูกอยู่เป็นบริเวณกว้าง มีผลทำให้มีการ ระบาดของโรคพืช (ปิยะดา ต้นตสวัสดิ์, 2554) โดยโรคราแป้งในถั่วเขียวมีการระบาดในฤดูหนาว คือในช่วง อากาศแห้งและเย็น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557) และเนื่องจากในปี พ.ศ. 2557 มีอุณหภูมิในฤดูหนาวต่ำ กว่าในปี พ.ศ. 2556 (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2556; กรมอุตุนิยมวิทยา, 2557) จึงทำให้โรคพืชมีความรุนแรงเพิ่ม มากขึ้น และเนื่องจากผลผลิตเป็นลักษณะเชิงปริมาณ มียีนควบคุมอยู่หลายตำแหน่ง ทำให้ผลกระทบจาก สิ่งแวดล้อมมีอิทธิพลในการแสดงออกของลักษณะนั้น (พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ และประเสริฐ ฉัตรวิระวงษ์, 2548) จึงทำให้ลักษณะผลผลิตเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมได้



ตารางที่ 14 คะแนนการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 และ 65 วัน ปี พ.ศ.

2556

พันธุ์/สายพันธุ์	55 วัน	ระดับความต้านทานโรค ²	65 วัน	ระดับความต้านทานโรค
37A	1.67 ± 0.33 cd ¹	ต้านทาน	1.33 ± 0.33 c	ต้านทาน
55A	1.00 ± 0.00 d	ต้านทาน	1.00 ± 0.00 c	ต้านทาน
64A	1.67 ± 0.67 cd	ต้านทาน	1.33 ± 0.33 c	ต้านทาน
66A	1.67 ± 0.33 cd	ต้านทาน	2.33 ± 0.33 c	ต้านทาน
67A	1.67 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.67 ± 0.67 c	ต้านทาน
135A	1.67 ± 0.67 cd	ต้านทาน	1.67 ± 0.33 c	ต้านทาน
155A	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.33 ± 0.33 c	ต้านทาน
181A	2.00 ± 0.58 bcd	ต้านทาน	1.67 ± 0.33 c	ต้านทาน
13B	1.00 ± 0.00 d	ต้านทาน	1.50 ± 0.50 c	ต้านทาน
14B	1.67 ± 0.33 cd	ต้านทาน	2.00 ± 0.00 c	ต้านทาน
24B	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.00 ± 0.00 c	ต้านทาน
44B	1.00 ± 0.00 d	ต้านทาน	1.00 ± 0.00 c	ต้านทาน
47B	1.67 ± 0.67 cd	ต้านทาน	2.00 ± 0.58 c	ต้านทาน
51B	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.33 ± 0.33 c	ต้านทาน
68B	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.67 ± 0.67 c	ต้านทาน
69B	1.67 ± 0.67 cd	ต้านทาน	1.67 ± 0.67 c	ต้านทาน
71B	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.33 ± 0.33 c	ต้านทาน
103B	1.67 ± 0.67 cd	ต้านทาน	2.33 ± 0.67 c	ต้านทาน
148B	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.67 ± 0.67 c	ต้านทาน
150B	2.67 ± 0.33 bc	ต้านทาน	1.67 ± 0.33 c	ต้านทาน
162B	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.00 ± 0.00 c	ต้านทาน
14C	1.67 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.67 ± 0.67 c	ต้านทาน
19C	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	2.00 ± 0.58 c	ต้านทาน
24C	1.00 ± 0.00 d	ต้านทาน	1.00 ± 0.00 c	ต้านทาน
25C	1.67 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.00 ± 0.00 c	ต้านทาน
35C	2.67 ± 0.88 bc	ต้านทาน	1.00 ± 0.00 c	ต้านทาน
41C	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.67 ± 0.33 c	ต้านทาน
43C	1.00 ± 0.00 d	ต้านทาน	1.00 ± 0.00 c	ต้านทาน
53C	1.00 ± 0.00 d	ต้านทาน	1.33 ± 0.33 c	ต้านทาน
54C	1.00 ± 0.00 d	ต้านทาน	1.00 ± 0.00 c	ต้านทาน
106C	5.00 ± 0.58 a	อ่อนแอ	2.33 ± 0.67 c	ต้านทาน
133C	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.50 ± 0.50 c	ต้านทาน

ตารางที่ 14 คะแนนการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 และ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556 (ต่อ)

พันธุ์/สายพันธุ์	55 วัน	ระดับความต้านทานโรค	65 วัน	ระดับความต้านทานโรค
166C	3.33 ± 0.67 b	ต้านทาน	1.33 ± 0.41 c	ต้านทาน
182C	1.67 ± 0.33 cd	ต้านทาน	2.00 ± 0.41 c	ต้านทาน
CN72	6.00 ± 0.58 a	อ่อนแอ	6.33 ± 0.33 a	อ่อนแอ
KPS1	2.00 ± 0.58 bcd	ต้านทาน	4.00 ± 0.58 b	ต้านทาน
SUT1	2.33 ± 0.88 bcd	ต้านทาน	2.67 ± 0.88 bc	ต้านทาน
V4718	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.67 ± 0.67 c	ต้านทาน
V4758	2.00 ± 0.58 bcd	ต้านทาน	4.00 ± 1.00 b	ต้านทาน
V4785	1.33 ± 0.33 cd	ต้านทาน	1.33 ± 0.33 c	ต้านทาน

¹ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสมรภูมิ/คอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

² ระดับความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวมีเกณฑ์ดังนี้ 1.0-4.9 = ต้านทาน และ 5.0-9.0 = อ่อนแอ

ตารางที่ 15 คะแนนการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 และ 65 วัน ปี พ.ศ. 2557

พันธุ์/สายพันธุ์	55 วัน	ระดับความต้านทานโรค ²	65 วัน	ระดับความต้านทานโรค
37A	4.67 ± 0.41 d-g ¹	ต้านทาน	4.00 ± 0.71 f-j	ต้านทาน
55A	3.67 ± 0.33 ghi	ต้านทาน	4.33 ± 0.33 e-j	ต้านทาน
64A	5.33 ± 0.67 b-f	อ่อนแอ	5.67 ± 0.33 b-f	อ่อนแอ
66A	5.00 ± 0.00 c-g	อ่อนแอ	5.33 ± 0.88 c-g	อ่อนแอ
67A	5.00 ± 0.58 c-g	อ่อนแอ	4.67 ± 0.67 d-i	ต้านทาน
135A	5.67 ± 0.33 a-e	อ่อนแอ	5.67 ± 0.88 b-f	อ่อนแอ
155A	3.67 ± 0.33 ghi	ต้านทาน	5.00 ± 1.00 c-h	อ่อนแอ
181A	4.67 ± 0.33 d-g	ต้านทาน	5.33 ± 0.88 c-g	อ่อนแอ
13B	4.00 ± 0.00 f-i	ต้านทาน	3.33 ± 0.33 hij	ต้านทาน
14B	3.67 ± 0.33 ghi	ต้านทาน	4.00 ± 0.58 f-j	ต้านทาน
24B	2.67 ± 0.33 i	ต้านทาน	3.00 ± 0.00 ij	ต้านทาน
44B	6.33 ± 0.33 abc	อ่อนแอ	6.33 ± 0.33 a-d	อ่อนแอ
47B	6.33 ± 0.33 abc	อ่อนแอ	6.67 ± 0.33 abc	อ่อนแอ
51B	5.33 ± 0.67 b-f	อ่อนแอ	4.67 ± 0.67 d-i	ต้านทาน
68B	5.33 ± 0.82 b-f	อ่อนแอ	4.67 ± 0.82 d-i	ต้านทาน
69B	5.67 ± 0.82 a-e	อ่อนแอ	5.00 ± 0.71 c-h	อ่อนแอ
71B	5.67 ± 0.33 a-e	อ่อนแอ	6.00 ± 1.00 a-e	อ่อนแอ

ตารางที่ 15 คะแนนการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 และ 65 วัน ปี พ.ศ. 2557 (ต่อ)

พันธุ์/สายพันธุ์	55 วัน	ระดับความต้านทานโรค	65 วัน	ระดับความต้านทานโรค
103B	5.00 ± 0.58 c-g	อ่อนแอ	4.33 ± 0.33 e-j	ต้านทาน
148B	5.67 ± 0.88 a-e	อ่อนแอ	5.00 ± 0.58 c-h	อ่อนแอ
150B	6.67 ± 0.33 ab	อ่อนแอ	6.00 ± 0.00 a-e	อ่อนแอ
162B	5.33 ± 0.67 b-f	อ่อนแอ	5.33 ± 0.67 c-g	อ่อนแอ
14C	4.00 ± 0.00 f-i	ต้านทาน	4.00 ± 0.00 f-j	ต้านทาน
19C	5.67 ± 0.88 a-e	อ่อนแอ	5.00 ± 0.58 c-h	อ่อนแอ
24C	3.67 ± 0.33 ghi	ต้านทาน	4.00 ± 0.00 f-j	ต้านทาน
25C	3.00 ± 0.00 hi	ต้านทาน	4.00 ± 0.00 f-j	ต้านทาน
35C	4.33 ± 0.33 e-h	ต้านทาน	3.67 ± 0.33 g-j	ต้านทาน
41C	6.00 ± 0.71 a-d	อ่อนแอ	5.67 ± 1.08 b-f	อ่อนแอ
43C	3.67 ± 0.33 ghi	ต้านทาน	3.33 ± 0.33 hij	ต้านทาน
53C	4.67 ± 0.67 d-g	ต้านทาน	4.00 ± 0.00 f-j	ต้านทาน
54C	3.67 ± 0.33 ghi	ต้านทาน	4.00 ± 0.00 f-j	ต้านทาน
106C	3.67 ± 0.67 ghi	ต้านทาน	4.00 ± 0.58 f-j	ต้านทาน
133C	5.00 ± 1.00 c-g	อ่อนแอ	5.00 ± 0.58 c-h	อ่อนแอ
166C	5.67 ± 0.33 a-e	อ่อนแอ	4.67 ± 0.67 d-i	ต้านทาน
182C	5.67 ± 0.33 a-e	อ่อนแอ	5.00 ± 0.58 c-h	อ่อนแอ
CN72	7.00 ± 0.58 a	อ่อนแอ	7.33 ± 0.33 a	อ่อนแอ
KPS1	7.00 ± 0.00 a	อ่อนแอ	7.00 ± 0.00 ab	อ่อนแอ
SUT1	6.67 ± 0.33 ab	อ่อนแอ	7.00 ± 0.00 ab	อ่อนแอ
V4718	3.00 ± 0.71 hi	ต้านทาน	3.33 ± 0.41 hij	ต้านทาน
V4758	3.67 ± 0.33 ghi	ต้านทาน	4.00 ± 0.00 f-j	ต้านทาน
V4785	2.67 ± 0.33 i	ต้านทาน	2.67 ± 0.33 j	ต้านทาน

¹ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในสดมภ์/คอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

² ระดับความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวมีเกณฑ์ดังนี้ 1.0-4.9 = ต้านทาน และ 5.0-9.0 = อ่อนแอ

ตารางที่ 16 น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก ผลผลิต และระดับความต้านทานโรครา-
แป้งที่ 65 วันของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556

พันธุ์/ สายพันธุ์	น้ำหนัก 100 เมล็ด (ก.)	จำนวนฝักต่อต้น	จำนวนเมล็ดต่อฝัก	ผลผลิต (กก./ไร่)	ระดับความต้าน- ทานโรคที่ 65 วัน ²
37A	5.72 ± 0.09 e-j ¹	44.33 ± 7.80 def	11.67 ± 0.33 bcd	299.51 ± 63.14 c-f	ต้านทาน
55A	6.10 ± 0.22 c-f	42.67 ± 5.38 def	10.33 ± 0.33 ef	273.64 ± 51.31 def	ต้านทาน
64A	5.18 ± 0.04 k-p	38.33 ± 5.34 ef	11.00 ± 0.58 c-f	215.55 ± 19.77 f	ต้านทาน
66A	5.53 ± 0.23 g-l	47.33 ± 8.07 c-f	11.67 ± 0.67 bcd	306.42 ± 57.70 c-f	ต้านทาน
67A	5.75 ± 0.23 e-j	52.67 ± 6.76 b-f	11.00 ± 0.58 c-f	329.70 ± 38.27 c-f	ต้านทาน
135A	5.33 ± 0.16 i-n	70.00 ± 8.46 a-e	11.67 ± 0.33 bcd	436.60 ± 66.04 a-f	ต้านทาน
155A	5.50 ± 0.16 h-m	49.00 ± 8.20 b-f	12.00 ± 0.00 abc	326.81 ± 59.92 c-f	ต้านทาน
181A	6.77 ± 0.33 b	72.33 ± 3.00 a-e	10.00 ± 0.58 f	495.00 ± 66.65 a-d	ต้านทาน
13B	5.97 ± 0.13 d-h	82.33 ± 11.61 abc	10.33 ± 0.67 ef	513.45 ± 101.33 a-d	ต้านทาน
14B	5.70 ± 0.21 e-k	72.00 ± 15.19 a-e	10.67 ± 0.33 def	432.50 ± 83.72 a-f	ต้านทาน
24B	4.45 ± 0.07 rs	90.00 ± 4.97 a	11.00 ± 0.00 c-f	441.21 ± 25.15 a-f	ต้านทาน
44B	4.07 ± 0.15 s	62.00 ± 10.62 a-f	12.33 ± 0.67 ab	319.99 ± 77.14 c-f	ต้านทาน
47B	4.57 ± 0.17 qr	76.33 ± 4.67 a-d	11.67 ± 0.33 bcd	408.82 ± 35.66 b-f	ต้านทาน
51B	5.24 ± 0.23 j-o	59.67 ± 13.86 a-f	11.00 ± 0.00 c-f	350.31 ± 97.18 b-f	ต้านทาน
68B	4.96 ± 0.08 n-q	71.67 ± 14.32 a-e	11.67 ± 0.33 bcd	414.89 ± 91.72 b-f	ต้านทาน
69B	5.40 ± 0.06 i-n	62.33 ± 6.37 a-f	11.33 ± 0.33 b-e	377.65 ± 27.11 b-f	ต้านทาน
71B	5.48 ± 0.19 h-n	58.67 ± 12.02 a-f	11.33 ± 0.33 b-e	366.83 ± 82.87 b-f	ต้านทาน
103B	5.86 ± 0.18 e-i	54.67 ± 6.90 a-f	11.67 ± 0.33 bcd	375.15 ± 57.55 b-f	ต้านทาน
148B	5.04 ± 0.02 l-q	80.33 ± 19.29 abc	11.33 ± 0.33 b-e	466.11 ± 126.63 a-e	ต้านทาน
150B	4.96 ± 0.09 m-q	74.00 ± 8.73 a-e	11.67 ± 0.33 bcd	430.78 ± 63.18 a-f	ต้านทาน
162B	6.55 ± 0.10 bc	31.33 ± 1.47 f	11.67 ± 0.33 bcd	240.24 ± 12.70 ef	ต้านทาน
14C	6.47 ± 0.14 bcd	80.33 ± 17.04 abc	11.33 ± 0.33 b-e	583.39 ± 109.01 ab	ต้านทาน
19C	6.55 ± 0.12 bc	57.67 ± 4.91 a-f	11.67 ± 0.33 bcd	438.12 ± 19.36 a-f	ต้านทาน
24C	6.23 ± 0.07 cde	55.67 ± 6.88 a-f	11.33 ± 0.33 b-e	392.71 ± 44.38 b-f	ต้านทาน
25C	6.18 ± 0.05 cde	44.00 ± 4.16 def	11.00 ± 0.00 c-f	299.65 ± 29.49 c-f	ต้านทาน
35C	6.10 ± 0.12 c-f	59.33 ± 12.60 a-f	10.00 ± 0.00 f	363.34 ± 77.59 b-f	ต้านทาน
41C	6.53 ± 0.22 bc	59.67 ± 4.67 a-f	11.33 ± 0.33 b-e	437.26 ± 32.39 a-f	ต้านทาน
43C	4.81 ± 0.29 o-r	64.33 ± 18.78 a-f	11.00 ± 0.00 c-f	341.84 ± 98.41 b-f	ต้านทาน
53C	5.18 ± 0.06 k-p	50.00 ± 9.45 b-f	10.33 ± 0.33 ef	270.18 ± 56.33 def	ต้านทาน
54C	5.40 ± 0.24 i-n	75.67 ± 16.41 a-d	11.33 ± 0.33 b-e	458.19 ± 91.41 a-f	ต้านทาน
106C	5.74 ± 0.13 e-j	49.67 ± 9.86 b-f	12.00 ± 0.00 abc	341.34 ± 65.21 b-f	ต้านทาน
133C	6.07 ± 0.13 c-f	52.67 ± 6.74 b-f	11.33 ± 0.33 b-e	363.61 ± 52.52 b-f	ต้านทาน

ตารางที่ 16 น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก ผลผลิต และระดับความต้านทานโรครา-
แป้งที่ 65 วันของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556 (ต่อ)

พันธุ์/ สายพันธุ์	น้ำหนัก 100 เมล็ด (ก.)	จำนวนฝักต่อต้น	จำนวนเมล็ดต่อฝัก	ผลผลิต (กก./ไร่)	ระดับความต้าน- ทานโรคที่ 65 วัน
166C	5.58 ± 0.20 f-k	84.33 ± 2.28 ab	11.33 ± 0.33 b-e	530.82 ± 18.10 abc	ต้านทาน
182C	6.03 ± 0.09 c-g	83.00 ± 15.90 abc	13.00 ± 0.00 a	655.94 ± 133.81 a	ต้านทาน
CN72	8.21 ± 0.16 a	41.00 ± 9.74 def	11.33 ± 0.33 b-e	388.35 ± 102.84 b-f	อ่อนแอ
V4718	5.32 ± 0.10 i-o	60.67 ± 10.62 a-f	12.00 ± 0.58 abc	382.14 ± 54.51 b-f	ต้านทาน
V4758	4.67 ± 0.15 pqr	83.33 ± 12.68 ab	12.33 ± 0.33 ab	488.65 ± 96.98 a-e	ต้านทาน
V4785	5.40 ± 0.11 i-n	51.33 ± 4.58 b-f	12.33 ± 0.33 ab	342.64 ± 28.33 b-f	ต้านทาน

¹ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์/คอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

² ระดับความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวมีเกณฑ์ดังนี้ 1.0-4.9 = ต้านทาน และ 5.0-9.0 = อ่อนแอ

ตารางที่ 17 น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก ผลผลิต และระดับความต้านทานโรครา-
แป้งที่ 65 วันของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557

พันธุ์/ สายพันธุ์	น้ำหนัก 100 เมล็ด (ก.)	จำนวนฝักต่อต้น	จำนวนเมล็ดต่อฝัก	ผลผลิต (กก./ไร่)	ระดับความต้าน- ทานโรคที่ 65 วัน ²
37A	5.15 ± 0.14 e-l ¹	37.53 ± 4.38 b-f	10.67 ± 0.33 a-d	204.82 ± 19.82 a-e	ต้านทาน
55A	5.15 ± 0.07 e-l	23.80 ± 4.95 d-h	9.67 ± 0.67 c-f	121.07 ± 32.72 b-f	ต้านทาน
64A	4.69 ± 0.17 h-n	27.67 ± 6.77 b-h	10.67 ± 0.67 a-d	137.50 ± 33.04 b-f	อ่อนแอ
66A	4.99 ± 0.28 e-l	31.40 ± 6.28 b-g	11.00 ± 0.58 a-c	174.09 ± 39.90 b-f	อ่อนแอ
67A	4.63 ± 0.17 j-n	41.07 ± 3.00 a-d	11.00 ± 0.58 a-c	209.39 ± 21.34 a-e	ต้านทาน
135A	4.39 ± 0.10 k-n	27.80 ± 3.50 b-h	10.67 ± 0.67 a-d	131.73 ± 24.45 b-f	อ่อนแอ
155A	4.99 ± 0.05 e-l	25.47 ± 2.54 c-h	10.67 ± 0.88 a-d	133.70 ± 9.50 b-f	อ่อนแอ
181A	5.87 ± 0.22 b-e	25.00 ± 5.55 c-h	9.67 ± 0.67 c-f	147.59 ± 46.53 b-f	อ่อนแอ
13B	5.04 ± 0.05 e-l	43.07 ± 4.88 a-c	10.67 ± 0.67 a-d	230.14 ± 22.86 ab	ต้านทาน
14B	5.08 ± 0.22 e-l	41.07 ± 2.78 a-d	10.33 ± 0.33 a-e	214.65 ± 11.22 a-d	ต้านทาน
24B	3.84 ± 0.05 m-n	55.40 ± 6.17 a	10.33 ± 0.33 a-e	222.08 ± 34.95 a-d	ต้านทาน
44B	3.82 ± 0.02 m-n	26.13 ± 5.66 c-h	11.00 ± 0.00 a-c	109.96 ± 24.36 d-f	อ่อนแอ
47B	3.72 ± 0.22 n	31.67 ± 9.00 b-g	11.33 ± 0.33 ab	134.61 ± 40.38 b-f	อ่อนแอ
51B	4.53 ± 0.15 j-n	43.13 ± 6.18 a-c	10.00 ± 0.00 b-f	197.17 ± 33.33 b-e	ต้านทาน
68B	4.43 ± 0.21 k-n	31.27 ± 4.39 b-g	10.67 ± 0.88 a-d	148.15 ± 27.00 b-f	ต้านทาน
69B	4.55 ± 0.09 j-n	34.40 ± 4.59 b-g	10.33 ± 0.67 a-e	161.60 ± 24.62 b-f	อ่อนแอ
71B	4.52 ± 0.08 j-n	30.80 ± 1.06 b-g	11.00 ± 0.58 a-c	153.67 ± 13.05 b-f	อ่อนแอ
103B	5.39 ± 0.13 d-k	17.80 ± 1.10 g-h	9.67 ± 0.33 c-f	93.47 ± 10.47 ef	ต้านทาน

ตารางที่ 17 น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก ผลผลิต และระดับความต้านทานโรครา-
แป้งที่ 65 วันของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557 (ต่อ)

พันธุ์/ สายพันธุ์	น้ำหนัก 100 เมล็ด (ก.)	จำนวนฝักต่อต้น	จำนวนเมล็ดต่อฝัก	ผลผลิต (กก./ไร่)	ระดับความต้าน- ทานโรคที่ 65 วัน
148B	4.85 ± 0.21 f-l	27.33 ± 7.42 b-h	9.00 ± 0.00 e-f	118.02 ± 30.06 b-f	อ่อนแอ
150B	4.89 ± 0.11 e-l	23.47 ± 4.80 d-h	9.67 ± 0.33 c-f	111.51 ± 24.76 c-f	อ่อนแอ
162B	6.65 ± 0.47 ab	12.60 ± 1.51 h	9.33 ± 0.33 d-f	77.38 ± 8.30 f	อ่อนแอ
14C	5.85 ± 0.14 b-f	26.40 ± 5.94 c-h	10.33 ± 0.67 a-e	155.79 ± 27.15 b-f	ต้านทาน
19C	5.46 ± 0.30 d-j	32.00 ± 7.56 b-g	11.33 ± 0.33 ab	201.46 ± 53.75 a-e	อ่อนแอ
24C	5.84 ± 0.10 b-f	23.33 ± 7.45 d-h	9.67 ± 0.33 c-f	132.78 ± 44.44 b-f	ต้านทาน
25C	5.76 ± 0.14 b-g	24.20 ± 4.00 d-h	8.67 ± 0.88 f	123.14 ± 27.66 b-f	ต้านทาน
35C	5.29 ± 0.06 d-k	21.20 ± 4.11 e-h	9.67 ± 0.33 c-f	107.30 ± 18.05 d-f	ต้านทาน
41C	5.24 ± 0.22 d-l	31.47 ± 6.56 b-g	10.33 ± 0.33 a-e	170.93 ± 38.23 b-f	อ่อนแอ
43C	4.26 ± 0.08 l-n	39.20 ± 2.73 a-e	10.33 ± 0.33 a-e	173.12 ± 17.56 b-f	ต้านทาน
53C	4.74 ± 0.18 h-m	29.60 ± 5.76 b-h	10.67 ± 0.33 a-d	148.66 ± 27.79 b-f	ต้านทาน
54C	4.65 ± 0.20 i-n	19.67 ± 2.04 f-h	10.33 ± 0.33 a-e	94.92 ± 11.84 ef	ต้านทาน
106C	5.06 ± 0.14 e-l	29.67 ± 3.06 b-h	10.00 ± 0.00 b-f	150.62 ± 19.06 b-f	ต้านทาน
133C	5.70 ± 0.23 b-h	32.13 ± 7.41 b-g	9.00 ± 0.00 e-f	166.17 ± 42.75 b-f	อ่อนแอ
166C	4.80 ± 0.07 g-m	32.27 ± 5.76 b-g	9.67 ± 0.33 c-f	149.19 ± 25.69 b-f	ต้านทาน
182C	4.89 ± 0.07 e-l	25.53 ± 2.50 c-n	11.00 ± 0.00 a-c	137.65 ± 14.88 b-f	อ่อนแอ
CN72	7.26 ± 0.13 a	18.07 ± 2.67 gh	9.67 ± 0.33 c-f	125.86 ± 16.36 b-f	อ่อนแอ
KPS1	7.31 ± 0.51 b-d	27.73 ± 7.32 b-h	9.67 ± 0.33 c-f	169.50 ± 55.59 b-f	อ่อนแอ
SUT1	7.05 ± 0.76 a-c	25.67 ± 3.41 c-h	9.67 ± 0.33 c-f	168.89 ± 43.03 b-f	อ่อนแอ
V4718	5.14 ± 0.21 g-m	42.73 ± 1.57 a-c	10.67 ± 0.33 a-d	216.39 ± 10.47 a-d	ต้านทาน
V4758	5.03 ± 0.90 d-l	41.33 ± 2.58 a-d	10.67 ± 0.33 a-d	227.49 ± 26.98 a-c	ต้านทาน
V4785	5.18 ± 0.83 d-i	45.33 ± 8.18 a-b	11.67 ± 0.33 a	309.46 ± 93.43 a	ต้านทาน

¹ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในสมรค์/คอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

² ระดับความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวมีเกณฑ์ดังนี้ 1.0-4.9 = ต้านทาน และ 5.0-9.0 = อ่อนแอ



ภาพที่ 5 แปลงทดสอบผลผลิตถั่วเขียวในช่วงที่มีการระบาดของโรคราแป้งที่อายุ 55 วัน ปี พ.ศ. 2557



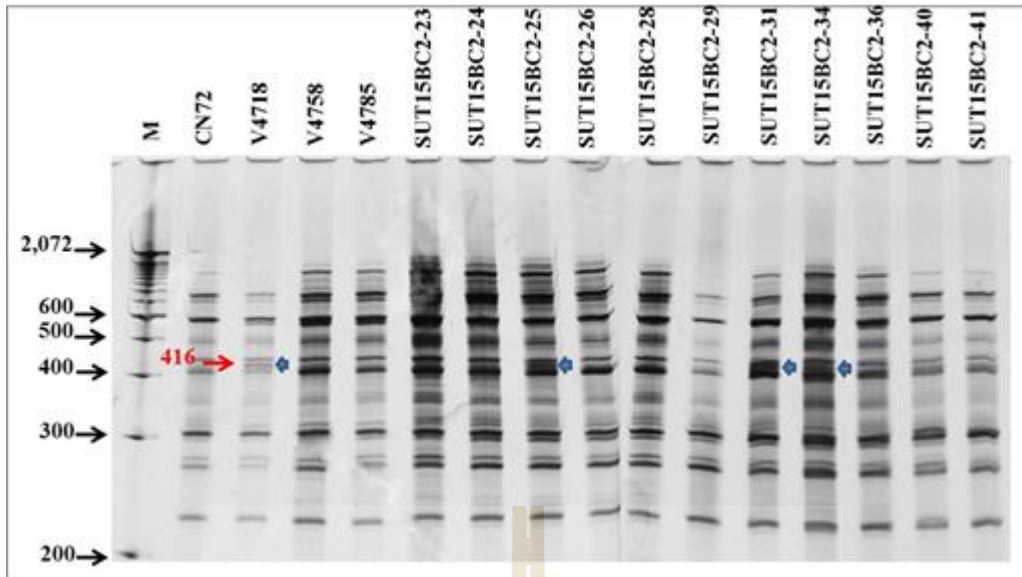
ส่วนที่ 4 การปรับปรุงสายพันธุ์ด้านทานโรคราแป้ง โดยวิธีการรวมยีนต้านทานหลายยีนไว้ในสายพันธุ์เดียวกัน

การรวมยีนต้านทานหลายยีนเข้าไว้ในสายพันธุ์เดียวกันมีวัตถุประสงค์เพื่อให้สามารถต้านทานเชื้อสาเหตุของโรคราแป้งได้หลายสายพันธุ์มากขึ้น หรือเพิ่มระดับความต้านทานโรคให้สูงขึ้น โดยการนำต้นลูกผสมที่ต้านทานโรคราแป้งและให้ผลผลิตสูงในส่วนของ 3 มาผสมพันธุ์กันระหว่างประชากร ซึ่งดำเนินการโดยสร้างลูกผสม F_1 จำนวน 3 คู่ ประกอบด้วยคู่ผสมที่ 1 $F_{2:9}$ (CN72 × V4785) × $F_{2:7}$ (CN72 × V4718) คู่ผสมที่ 2 $F_{2:9}$ (CN72 × V4785) × $F_{2:8}$ (CN72 × V4758) และคู่ผสมที่ 3 $F_{2:7}$ (CN72 × V4718) × $F_{2:8}$ (CN72 × V4758) จากนั้นนำลูกผสม F_1 ที่ได้มาผสมพันธุ์กัน โดยผสมระหว่าง F_1 จากคู่ผสมที่ 1 กับคู่ผสมที่ 2 และระหว่าง F_1 จากคู่ผสมที่ 1 กับคู่ผสมที่ 3 ได้ลูกผสมที่คาดว่าจะมียีนต้านทานครบ 3 ยีน จำนวน 50 ลูกผสม หลังจากนั้นนำลูกผสมดังกล่าวผสมกลับ (backcross; BC) ไปยังพันธุ์แม่ CN72 จำนวน 2 ครั้ง ได้ลูกผสม BC_2F_1 ใช้เครื่องหมาย I84416 ที่ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 416 bp ในพันธุ์ต้านทาน V4718 แต่ไม่พบแถบในพันธุ์อ่อนแอ CN72 ช่วยในการคัดเลือกลูกผสม BC_2F_1 ที่มียีนต้านทานโรคราแป้ง ภาพที่ 6 แสดงตัวอย่างการคัดเลือกลูกผสม BC_2F_1 จำนวน 11 ลูกผสม (ตารางที่ 18) โดยใช้เครื่องหมาย I84416 พบว่าลูกผสม SUT15BC2-25, SUT15BC2-31 และ SUT15BC2-34 มีแถบดีเอ็นเอขนาด 416 bp เช่นเดียวกับ V4718 ซึ่งน่าจะมียีนต้านทานโรคราแป้ง จึงคัดเลือกไว้เพื่อนำไปผสมกลับต่อไป ขณะนี้ยังอยู่ในขั้นตอนการดำเนินการผสมกลับเพิ่มเติม และคัดเลือกโดยใช้การประเมินโรคราแป้งในห้องปฏิบัติการร่วมด้วย ในขณะเดียวกันอยู่ระหว่างการประเมินเครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคราแป้งอีก 2 ประชากร คือ CN72 × V4758 และ CN72 × V4785 และสร้างประชากรลูกผสมกลับระหว่าง 3 ประชากรอีกจำนวนมาก ซึ่งเมื่อสำเร็จจะนำเครื่องหมายที่ได้มาใช้คัดเลือกประชากรลูกผสมกลับที่มียีนต้านทานครบทั้ง 3 ยีน เพื่อให้ได้พันธุ์ถั่วเขียวที่มีผลผลิตสูงและระดับความต้านทานโรคสูงขึ้น ด้านทานเชื้อสาเหตุของโรคราแป้งได้หลายสายพันธุ์ และมีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งยาวนานขึ้น

ตารางที่ 18 ประวัติสายพันธุ์ของลูกผสมกลับในชั่ว BC_2F_1 จำนวน 11 ลูกผสม และพันธุ์พ่อแม่

พันธุ์/สายพันธุ์	ประวัติสายพันธุ์ ¹
CN72	ให้ผลผลิตสูง แต่อ่อนแอต่อโรคราแป้งและโรคใบจุด
V4718	ต้านทานโรคราแป้งและโรคใบจุด
V4758	ต้านทานโรคราแป้ง
V4785	ต้านทานโรคราแป้ง
SUT15BC2-23	CN72 × ((14B×19C) × (2A×47B))
SUT15BC2-24	CN72 × ((14B×35C) × (2A×47B))
SUT15BC2-25	CN72 × ((14B×41C) × (2A×47B))
SUT15BC2-26	CN72 × ((14B×19C) × (181A×14C))
SUT15BC2-28	CN72 × ((14B×19C) × (181A×35C))
SUT15BC2-29	CN72 × ((14B×19C) × (181A×41C))
SUT15BC2-31	CN72 × ((14B×41C) × (181A×14C))
SUT15BC2-34	CN72 × ((14B×41C) × (181A×41C))
SUT15BC2-36	CN72 × ((14B×182C) × (181A×14C))
SUT15BC2-40	CN72 × ((14B×182C) × (181A×181C))
SUT15BC2-41	CN72 × ((14B×14C) × (181A×19C))

¹ สายพันธุ์ 2A และ 181A เป็นลูกผสมในประชากร $F_{2.8}$ ของคู่ผสม CN72 × V4758; สายพันธุ์ 14B และ 47B เป็นลูกผสมในประชากร $F_{2.7}$ ของคู่ผสม CN72 × V4718; สายพันธุ์ 14C, 19C, 35C, 41C, 181C และ 182C เป็นลูกผสมในประชากร $F_{2.9}$ ของคู่ผสม CN72 × V4785



ภาพที่ 6 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอของถั่วเขียวพันธุ์อ่อนแอ (CN72) สายพันธุ์ต้านทาน (V4718, V4758 และ V4785) และถั่วเขียวลูกผสม BC₂F₁ จำนวน 11 ลูกผสม ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ ISSR 884; M = 100 bp DNA ladder ลูกศรแสดงแถบดีเอ็นเอขนาด 416 bp ที่สัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง

บทที่ 4

บทสรุป

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. ยีนที่ถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่
2. การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล ISSR และ ISSR-RGA ที่บ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในประชากร RILs ของถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 จากการทดสอบด้วยวิธี BSA โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 75 ไพรเมอร์ และ ISSR-RGA จำนวน 122 คู่ไพรเมอร์ พบว่าได้เครื่องหมาย ISSR และ ISSR-RGA จำนวน 25 และ 29 เครื่องหมาย ตามลำดับที่น่าจะเชื่อมโยงกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้ง
3. จากการประเมินประชากรลูกผสมรายต้น จำนวน 100 ต้น พบว่ามี 8 เครื่องหมาย (I13306, I816274, I84267, I84416, I85420, I42PL222, I42PL229 และ I88R656) ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้งอย่างมีนัยสำคัญ โดยเครื่องหมาย I42PL229 และ I85420 อยู่ใกล้กับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้งมากที่สุด 4 และ 9 cM ตามลำดับ ซึ่งหากใช้ทั้งสองเครื่องหมายในการคัดเลือกจะให้ค่า recombination เพียง 0.72%
4. การประเมินความเหมาะสมในการใช้ไพรเมอร์ RGA ร่วมกับ ISSR พบว่าเครื่องหมาย ISSR-RGA จำนวน 27 เครื่องหมายเป็นเครื่องหมายใหม่ คิดเป็น 93.1% จากทั้งหมด 29 เครื่องหมาย และหนึ่งในเครื่องหมายเหล่านี้ (I42PL229) อยู่ใกล้ยีนต้านทานมากที่สุด แสดงว่าการใช้เครื่องหมาย ISSR-RGA เป็นประโยชน์และมีประสิทธิภาพสูง
5. การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งและให้ผลผลิตสูงจากประชากร RILs พบว่าปี พ.ศ. 2557 การระบาดของโรคราแป้งรุนแรงกว่าปี พ.ศ. 2556 ดังนั้นจากข้อมูลปี พ.ศ. 2557 สายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการรวมยีนต้านทานโรคราแป้งทั้ง 3 ยีนจากสายพันธุ์ V4718, V4758 และ V4785 และให้ผลผลิตสูงเหมือนพันธุ์ CN72 คือ 13B, 14B, 24B และ 54C
6. เมื่อประเมินลูกผสมกลับ BC_2F_1 ที่ได้จากการรวมยีนต้านทานหลายยีนเข้าไว้ในสายพันธุ์เดียวกันด้วยเครื่องหมาย I84416 ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 416 bp ที่มีความสัมพันธ์กับอัลลีลต้านทานโรคราแป้งจาก V4718 พบว่าลูกผสม SUT15BC2-25, SUT15BC2-31 และ SUT15BC2-34 มีแถบดีเอ็นเอขนาด 416 bp เช่นเดียวกับ V4718 ซึ่งน่าจะมียีนต้านทานโรคราแป้ง จึงคัดเลือกไว้เพื่อนำไปผสมกลับต่อไป
7. ขณะนี้อยู่ระหว่างการประเมินเครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคราแป้งอีก 2 ประชากร คือ CN72 × V4758 และ CN72 × V4785 และสร้างประชากรลูกผสมกลับที่ให้ผลผลิตสูงและมียีนต้านทานครบทั้ง 3 ยีน ทำให้มีศักยภาพในการต้านทานโรคราแป้งยาวนานขึ้น

บรรณานุกรม

- กรมส่งเสริมการเกษตร. (2557). การปลูกถั่วเขียว. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. หน้า 3-17.
- กรมอุตุนิยมวิทยา. (2556). สภาพอากาศของประเทศไทย พ.ศ. 2556. [ออนไลน์] ได้จาก: <http://www.joelandchoom.net/tmdsummaries/Annual2556thai.pdf>
- กรมอุตุนิยมวิทยา. (2557). สภาพอากาศของประเทศไทย พ.ศ. 2557. [ออนไลน์] ได้จาก: http://www.tmd.go.th/programs%5Cuploads%5CyearlySummary%5Cweather%202014_th3.pdf
- บุปผา ใจเที่ยง. (2545). การถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวและการพัฒนาดีเอ็นเอเครื่องหมายสำหรับการคัดเลือก. วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- ปริญญา ขจัดพาล. (2552). ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับศักยภาพการให้ผลผลิตและการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว. วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- ปิยะดา ต้นตสวัสดิ์. (2554). การปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ต้านทานศัตรูพืช. นครราชสีมา: สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. หน้า 2.
- พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ และประเสริฐ ฉัตรวชิระวงษ์. (2548). พันธุศาสตร์เชิงปริมาณที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. หน้า 2.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ, บุปผา ใจเที่ยง, ฐิติพร มะชิโกว, มณฑา จันทร์ขำ และโสภณ วงศ์แก้ว. (2547). รายงานวิจัยโครงการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองและถั่วเขียวระยะที่ 2. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. หน้า 11-20.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ, อารีย์ วรรณวิวัฒน์ และปิยะดา ทิพย์ผ่อง. (2546). หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา. 271 หน้า.
- สมพงษ์ จันทร์แก้ว, ประกิจ สมท่า, วรวิทย์ ไสร้จจากินันท์, ธนพร ขจรผล, สุขุมารมณ์ ศรีเผด็จ และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. (2554). เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่เชื่อมโยงกับลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว. แก่นเกษตร 39(3): 215-220.
- สุมนา งามผ่องใส, สุวิมล ถนอมทรัพย์, อารดา มาสรี, จิราลักษณ์ ภิไธสง, เขาวานถ พฤทธิเทพ, พัชรภาพร หนูวิสัย, นรีลักษณ์ วรรณสาย, นิภาพรณ พวรรณรา, วันเพ็ญ ศรีทองชัย, กาญจนา วาระวิชนี, อรรณพ กลิวิวัฒน์, อารีรัตน์ ภักดีตุลละ, ระวีวรรณ เชื้อกิตติศักดิ์, เบญจมาศ คำสืบ, นัฐภัทร์ คำหล้า, นงลักษณ์ ปันลาย, วันชัยถนอมทรัพย์, ศักดิ์ เฟ่งผล และ เทวา เมาลานนท์. (2554). งานวิจัยและพัฒนาพันธุ์ถั่วเขียวของกรมวิชาการเกษตรปี 2549-2553. แก่นเกษตร 39(3): 291-301.

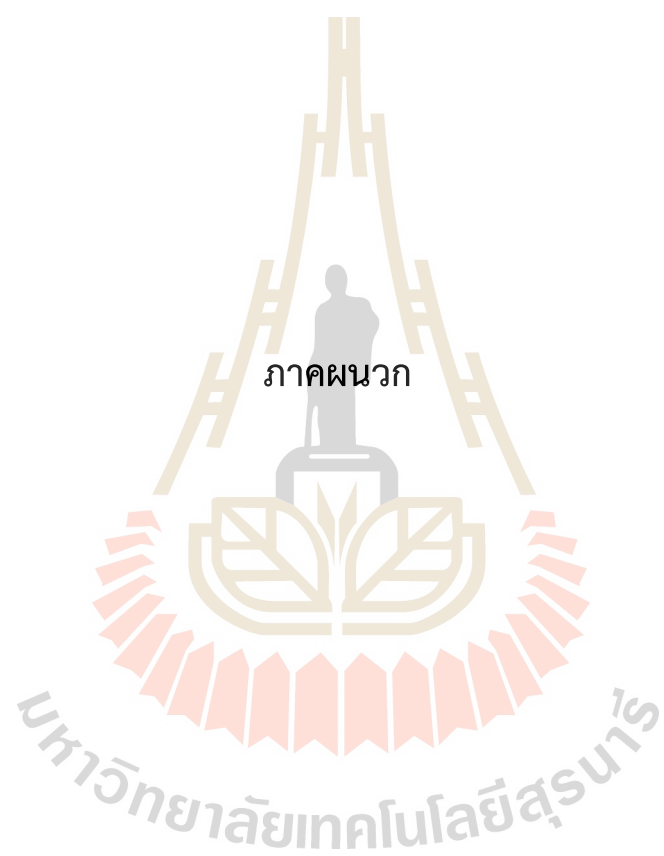
- สำนักงานมาตรฐานสินค้า. (2558). สถิติการส่งออกสินค้ามาตรฐานถั่วเขียวตามใบรับรองมาตรฐานสินค้า. กรมการค้าต่างประเทศ [ออนไลน์]. ได้จาก: <http://www.dft.go.th/Default.aspx?tabid=164&ctl=DetailUserContent&mid=689&contentID=7879>
- สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร. (2552). โรคราแป้ง (powdery mildew). กรมส่งเสริมการเกษตร [ออนไลน์]. ได้จาก: <http://agriqua.doe.go.th/plantclinic/clinic/plant/mungbean/powd.htm>
- ศรีสุตา เตชะสาน. (2558). ถั่วเขียว. กรมส่งเสริมการเกษตร [ออนไลน์]. ได้จาก: http://ssnet.doe.go.th/wp-content/uploads/2015/04/036_green-gram.pdf
- ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี. (2553). พืชพันธุ์กลายในประเทศไทย: ถั่วเขียวพันธุ์ชยันต 72. อ้างถึงใน เอกสารทางวิชาการพันธุ์พืชขึ้นทะเบียนและพืชรับรอง ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518. (2543). ฝ่ายพันธุ์พืช กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ [ออนไลน์]. ได้จาก: <http://www.sci.ku.ac.th/Gamma/database/Greenbean/Gbean.htm>
- Ajibade, S.R., Weeden, N.F. and Chite, S.M. (2000). Inter simple sequence repeat analysis of genetic relationships in the genus *Vigna*. *Euphytica* 11: 47-55.
- Asian Vegetable Research and Development Center. (2009). Disease control-mungbean production. The World Vegetable Center [Online]. Available from: <http://www.avrdc.org/LC/mungbean/production/disease.html>
- Bainade, P.S., Kale, A.A., Kumbhar, S.D. and Deshmukh, S.G. (2014). Inter simple sequence repeats (ISSR) based polymorphism for powdery mildew resistance in green gram (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *J. Cell Tissue Res.* 14(3): 4547-4550.
- Basak, J., Kundagrami, S., Ghose, T.K. and Pal, A. (2004). Development of yellow mosaic virus (YMV) resistance linked DNA marker in *Vigna mungo* from populations segregating for YMV-reaction. *Mol. Breeding* 14: 375-383.
- Binyamin, R., Khan, M.A., Khan, N.A. and Khan, A.I. (2015). Application of SCAR markers linked with mungbean yellow mosaic virus disease-resistance gene in Pakistan mungbean germplasm. *Genet. Mol. Res.* 14(1): 2825-2830.
- Chankaew, S., Somta, P., Isemura, T., Tomooka, N., Kaga, A., Vaughan, D.A. and Srinives, P. (2013). Quantitative trait locus mapping reveals conservation of major and minor loci for powdery mildew resistance in four sources of resistance in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek.]. *Mol. Breeding* 32: 121-130.
- Chen, X.M., Line, R.F. and Leung, H. (1998). Genome scanning for resistance-gene analogs in rice, barley and wheat by high-resolution electrophoresis. *Theor. Appl. Genet.* 97: 345-355.

- Cregan, P.B., Mudge, J., Fickus, E.W., Marek, L.F., Danesh, D., Denny, R., Shoemaker, R.C., Matthews, B.F., Jarvik, T. and Young, N.D. (1999). Targeted isolation of simple sequence repeat markers through the use of bacterial artificial chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 98: 919-928.
- Eibach, R., Zyprian, E., Welter, L. and Töpfer, R. (2007). The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. *Vitis* 46(2): 120-124.
- Fatokun, C.A., Danesh, D. and Young, N.D. (1993). Molecular taxonomic relationships in the genus *Vigna* based on RFLP analysis. *Theor. Appl. Genet.* 86: 97-104.
- Fatokun, C.A., Mignouna, H.D., Knox, M.R. and Ellis, T.H.N. (1997). AFLP variation among cowpea varieties. p. 156. *In* *Agronomy Abstracts*. ASA, Madison, WI Quoted in Li C.-D., Fatokun, C.A., Ubi, F.B., Singh, B.B. and Scoles, G.J. (2001). Determining genetic similarities and relationships among cowpea breeding lines and cultivars by microsatellite markers. *Crop Sci.* 41: 189-197.
- Fazio, G., Stevens, M.R. and Scott, J.W. (1999). Identification of RAPD linked to *Fusarium* crown and root rot resistance (*Frl*) in tomato. *Euphytica* 105: 205-210.
- Feuillet, C., Schachermayr, G. and Keller, B. (1997). Molecular cloning of a new receptor-like kinase gene encoded at the Lr10 disease resistance locus of wheat. *Plant J.* 11: 45-52.
- Gawande, V.L. and Patil, J.V. (2003). Genetics of powdery mildew (*Erysiphe polygoni* DC) resistance in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Crop Prot.* 22: 567-571.
- Huang, X.Q., Hsam, S.L.K., Zeller, F.J., Wenzel, G. and Mohler, V. (2000). Molecular mapping of the wheat powdery mildew resistance gene *Pm24* and marker validation for molecular breeding. *Theor. Appl. Genet.* 101: 407-414.
- Ince, A.C. and Karaca, M. (2011). Genetic variation in common bean landraces efficiently revealed by Td-DAMD-PCR markers. *POJ.* 4(4): 220-227.
- Kao, C.H., Zeng, Z.B. and Teasdale, R.D. (1999). Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* 152: 1203-1216.
- Kasettranon, W., Somta, P. and Srinives, P. (2010). Mapping of quantitative trait loci controlling powdery mildew resistance in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *J. Crop Sci. Biotech.* 13(3): 155-161.
- Khajudpan, P., Prajongjai, T., Poolsawat, O. and Tantasawat, P.A. (2012). Application of ISSR markers for verification of F₁ hybrids in mungbean (*Vigna radiata*). *Genet. Mol. Res.* 11(3): 3329-3338.

- Khajudparn, P., Wongkaew, S. and Thipyapong, P. (2007). Mungbean powdery mildew resistance. Identification of genes for powdery mildew resistance in mungbean. *Afr. Crop Sci. Conf. Proc.* 8: 743-745.
- Khunti, J.P., Bhoraniya, M.F. and Vora, V.D. (2002). Management of powdery mildew and cercospora leaf spot of mungbean by some systemic fungicides. *J. Mycol. Plant Pathol.* 32(1).
- Kundagrami, S., Basak, J., Maiti, S., Kundu, A., Das, B., Ghose, T.K. and Pal, A. (2009). Agronomic, genetic and molecular characterization of MYMIV-tolerant mutant lines of *Vigna mungo*. *Int. J. Plant Breed. Gen.* 3(1): 1-10.
- Lander, E.S., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, A., Daly, J.M., Lincoln, S.E. and Newberg, L. (1978). Mapmaker: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1: 174-181.
- Levesque, R. and SPSS Inc. (2006). *SPSS Programming and Data Management*, 3rd Edition. SPSS Institute, United State of America.
- Mahanil, S. (2007). Inheritance and cloning of candidate resistance gene analogs (RGAs) for downy mildew in grapevine (*Vitis* spp.). Nakhon Ratchasima, Thailand, Suranaree University of Technology, PhD Thesis.
- Mignouna, H.D., Ng, N.Q., Ikca, J. and Thottapilly, G. (1998). Genetic diversity in cowpea as revealed by random amplified polymorphic DNA. *J. Genet. Breed.* 52: 151-159.
- Mutlu, N., Miklas, P.N. and Coyne, D.P. (2006). Resistance gene analog polymorphism (RGAP) markers co-localize with disease resistance genes and QTL in common bean. *Mol. Breeding* 17: 127-135.
- Oumer, A., Yohannes, P., Kassahun, T., Abel, T. and Endashaw, B. (2015). Inter simple sequence repeat (ISSR) analysis of Ethiopian white lupine (*Lupinus albus* L.). *Afr. J. Biotechnol.* 14(18): 1552-1563.
- Owens, C.L. (2003). SNP detection and genotyping in *Vitis*. *Acta Hort.* 603: 139-140.
- Patil, P.G., Datta, S., Agbagwa, I.O., Singh, I.P., Soren, K.R., Das, A., Choudhary, A.K. and Chaturvedi, S.K. (2014). Using AFLP-RGA markers to assess genetic diversity among pigeon pea (*Cajanus cajan*) genotypes in relation to major diseases. *Acta Bot. Brasilica* 28(2): 198-205.
- Reddy, K. S., Pawar, S. E. and Bhatia, C. R. (1994). Inheritance of powdery mildew (*Erysiphe polygoni* DC) resistance in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Theor. Appl. Genet.* 88: 945-948.

- Rivkin, M.I., Vallejos, C.E. and McClean, P.E. (1999). Disease-resistance related sequences in common bean. *Genome* 42: 41-47.
- Sambrook, J. and Russell, D.W. (2001). *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Sanchez, A.C., Brar, D.S., Haung, N., Li, Z. and Khush, G.S. (2000). Sequence tagged site marker -assisted selection for three bacterial blight resistance gene in rice. *Crop Sci.* 40: 792-797.
- Singh, A. Dikshit, H.K., Jain, N., Singh, D. and Yadav, R.V. (2014). Efficiency of SSR, ISSR and RAPD markers in molecular characterization of mungbean and other *Vigna* species. *Indian J. Biotechnol.* 13: 81-88.
- Smolik, M. (2012). R-ISSR-tool for generation of a new type of products, applied for the identification of putative molecular marker linked to QTL determined tolerance to nutrient deprivation stress in rye (*Secale cereal* L.). *Not. Bot. Horti. Agrobot.* 40(2): 238-246.
- Souframanien, J. and Gopalakrishna, T. (2006). ISSR and SCAR markers linked to the mungbean yellow mosaic virus (MYMV) resistance gene in blackgram [*Vigna mungo* (L.) Hepper]. *Plant Breed.* 125: 619-622.
- Sowmini, K. and Jayamani, P. (2014). Validation of molecular markers linked with yellow mosaic disease resistance in blackgram (*Vigna mungo* (L.) Hepper). *Legume Genomics Genet.* 5(4): 25-30.
- Suneetha, T.B., Gopinath, S.M. and Naik, S.L. (2014). Identification of resistance gene analogs (RGAs) linked to powdery mildew resistance in peas. *Int. J. Innov. Res. Adv. Eng.* 1(6): 33-36.
- Tantasawat, P.A., Poolsawat, O., Prajongjai, T., Chaowiset, W. and Tharapreuksapong, A. (2012). Association of RGA-SSCP markers with resistance to downy mildew and anthracnose in grapevines. *Genet. Mol. Res.* 11: 1799-1809.
- Tantasawat, P., Trongchuen, J., Prajongjai, T., Thongpae, J., Petkhum, C., Seehalak, W. and Machikowa, T. (2010). Variety identification and genetic relationships of mungbean and blackgram in Thailand based on morphological characters and ISSR analysis. *Afr. J. Biotechnol.* 9(27): 4452-4464.
- Tsou, C.S., Hsu, M.S., Tan, S.T. and Park, H.G. (1979). The protein quality of mungbean and its improvement. *Acta Hort. (ISHS)* 93: 279-288.

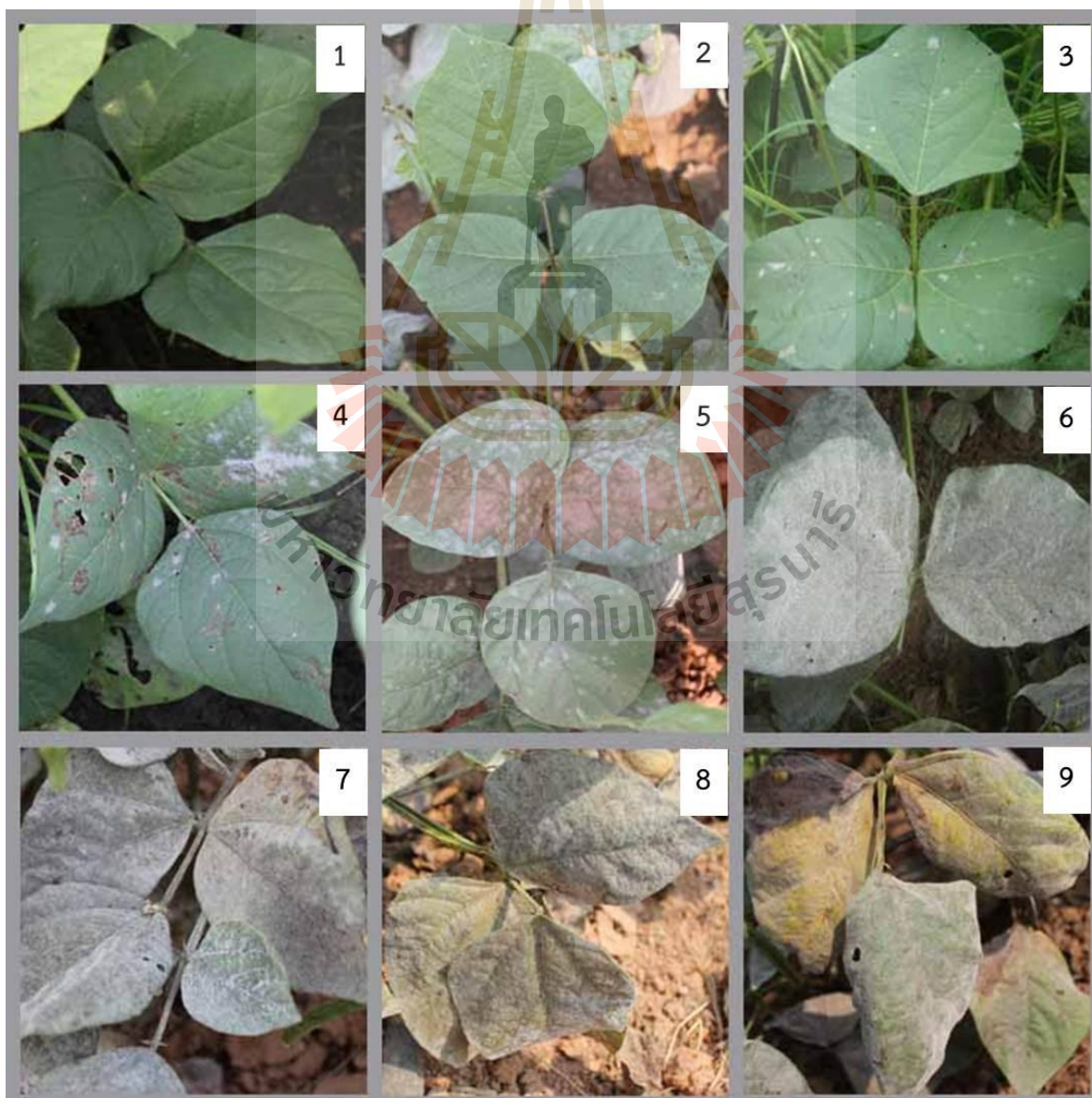
- Veldboom, L.R. and Lee, M. (1994). Molecular-marker facilitated studies of morphological trait in maize. II: determination of QTLs for grain yield and yield components. *Theor. Appl. Genet.* 89: 451-458.
- Wang, S., Basten, C.J., Zeng, Z.B. (2007). Windows QTL Cartographer 2.5. North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Wang, X., Xu, L., Song, Z., Zhu, X., Wang, Y., Wang, R., Gong, Y., Limera, C. and Liu, L. (2014). Resistance gene analogue isolation and RGA-based marker development for identifying downy mildew resistance in radish (*Raphanus sativus* L.) *Euphytica* 198: 289-303.
- Wang, Z., Weber, J.L., Zhang, G. and Tanksley, S.D. (1994). Survey of plant short tandem DNA repeats. *Theor. Appl. Genet.* 88: 1-6.
- Women's Health Letter. (2003). Nutrition Detective: Bean sprouts and breast cancer treatment. *Women's Health Letter*. Dec 1, 2003. [Online] Available from: <http://www.thefreelibrary.com/Bean+sprouts+and+breast+cancer+treatment-a0135118900>
- Yee, E., Kidwell, K.K., Sills, G.R. and Lumpkin, T.A. (1999). Diversity among selected *Vigna angularis* (Azuki) accessions on the basis of RAPD and AFLP markers. *Crop Sci.* 39: 268-275.
- Yi, Y., Li, R., Xu, H., Wu, X., Li, S., Zhang, J. and Yin, Y. (2013). Identification of SRAP and RGA markers linked to powdery mildew (*Blumeria graminis*) resistance gene *PmZB90* in common wheat. *Aust. J. Crop Sci.* 7(3): 454-459.
- Young, N.D., Danesh, D., Menancio-Hautea, D. and Kumar, L. (1993). Mapping oligogenic resistance to powdery mildew in mungbean with RFLP's. *Theor. Appl. Genet.* 87: 243-249.
- Zhang, M.C., Wang, D.M., Zheng, Z., Humphry, M. and Liu, C.J. (2008). Development of PCR-based markers for a major locus conferring powdery mildew resistance in mungbean (*Vigna radiata*). *Plant breed.* 127: 429-432.
- Zhang, T.M. (1999). Chemical control of powdery mildew of mungbean. Asian Regional Center –AVRDC. Report 1999 The World Vegetable Center. [Online] Available from: [http://www.arc-avrdc.org/pdf_files/Zhangtia\(17-N\).pdf](http://www.arc-avrdc.org/pdf_files/Zhangtia(17-N).pdf)
- Zhuang, L.F., Sun, L., Li, A.X., Chen, T.T. and Qi, Z.J. (2011). Identification and development of diagnostic markers for a powdery mildew resistance gene on chromosome 2R of Chinese rye cultivar Jingzhouheimai. *Mol. Breeding* 27: 455-465.



การประเมินโรคราแป้งในถั่วเขียว

เกณฑ์การให้คะแนนการเกิดโรคราแป้งในถั่วเขียว เมื่อถั่วเขียวมีอายุ 55-65 วัน (ประเมินทั้งแถว) ตามวิธีการของปริญญา ขจัดพาล (2552)

- 1 คะแนน = ไม่มีอาการโรค
- 2 คะแนน = พบแผล 2-3 แผลบนใบตอนล่าง
- 3 คะแนน = พบแผล 2-3 แผลบนใบตอนล่าง เชื้อเริ่มสร้างสปอร์
- 4 คะแนน = พบแผลจำนวนมากบนใบตอนล่างและตอนกลาง เชื้อเริ่มสร้างสปอร์
- 5 คะแนน = เหมือนระดับที่ 4 ใบเริ่มเหลืองหรือแห้งกรอบ เชื้อสร้างสปอร์มาก
- 6 คะแนน = เหมือนระดับที่ 5 สามารถมองเห็นอาการได้ในระยะไกล เชื้อสร้างสปอร์มาก
- 7 คะแนน = พบแผลบนใบทั่วทั้งต้น ใบแห้งกรอบแต่ไม่เกิน 25%
- 8 คะแนน = เหมือนระดับที่ 7 ใบแห้งกรอบ 25-50%
- 9 คะแนน = ใบแห้งกรอบมากกว่า 50%



ตารางภาคผนวกที่ 1 คะแนนการเกิดโรคราแป้ง CN72 x V4718 ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556

พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย ± SE	พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย ± SE	พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย ± SE
CN72	6.33 ± 0.33 a-e ¹	34B	1.00 ± 0.00 q	66B	3.33 ± 0.88 d-q
V4718	1.67 ± 0.67 n-q	35B	2.00 ± 1.00 l-q	67B	2.33 ± 0.67 j-q
2B	3.67 ± 0.88 b-p	36B	4.00 ± 2.01 a-p	68B	1.67 ± 0.67 n-q
3B	2.00 ± 0.58 l-q	38B	4.50 ± 0.50 a-l	69B	1.67 ± 0.67 n-q
4B	7.00 ± 0.00 a	39B	1.00 ± 0.00 q	70B	6.50 ± 0.50 a-d
5B	1.00 ± 0.00 q	40B	5.00 ± 1.00 a-j	71B	1.33 ± 0.33 pq
6B	1.00 ± 0.00 q	41B	2.00 ± 1.00 l-q	72B	5.00 ± 1.16 a-j
7B	1.00 ± 0.00 q	42B	6.00 ± 1.00 a-f	73B	5.33 ± 1.45 a-i
8B	1.50 ± 0.50 opq	43B	4.00 ± 2.01 a-p	74B	2.00 ± 0.58 l-q
9B	2.50 ± 0.50 i-q	44B	1.00 ± 0.00 q	75B	5.67 ± 1.20 a-h
10B	4.00 ± 1.00 a-o	45B	1.00 ± 0.00 q	76B	2.00 ± 0.58 l-q
11B	5.50 ± 0.50 a-h	46B	5.50 ± 0.50 a-h	77B	1.67 ± 0.67 n-q
12B	1.00 ± 0.00 q	47B	2.00 ± 0.58 l-q	78B	1.00 ± 0.00 q
13B	1.50 ± 0.50 opq	48B	5.00 ± 1.53 a-k	79B	1.33 ± 0.33 pq
14B	2.00 ± 0.00 k-q	49B	2.33 ± 0.88 j-q	80B	6.00 ± 1.16 a-f
15B	3.50 ± 2.51 e-q	50B	2.00 ± 0.58 l-q	81B	2.00 ± 0.58 l-q
16B	6.00 ± 0.00 a-f	51B	1.33 ± 0.33 pq	82B	2.33 ± 0.88 j-q
17B	5.00 ± 1.00 a-j	52B	6.67 ± 0.33 abc	83B	7.00 ± 0.58 ab
18B	6.50 ± 0.50 a-d	53B	7.00 ± 1.00 ab	84B	5.67 ± 0.88 a-g
21B	1.50 ± 0.50 opq	54B	6.33 ± 0.33 a-e	85B	6.00 ± 0.58 a-f
22B	3.00 ± 0.00 f-q	55B	4.33 ± 1.20 a-n	86B	1.67 ± 0.33 m-q
23B	3.50 ± 0.50 c-p	56B	5.33 ± 1.77 a-j	87B	6.33 ± 0.33 a-e
24B	1.00 ± 0.00 q	57B	3.33 ± 0.88 d-q	88B	5.67 ± 0.33 a-g
25B	2.00 ± 1.00 l-q	58B	4.00 ± 2.01 a-p	89B	2.00 ± 0.58 l-q
26B	3.50 ± 2.51 e-q	59B	6.67 ± 0.33 abc	90B	3.67 ± 0.67 a-p
27B	1.00 ± 0.00 q	60B	5.67 ± 0.88 a-g	91B	3.67 ± 0.33 a-p
28B	5.50 ± 0.50 a-h	61B	6.00 ± 0.58 a-f	92B	7.00 ± 1.00 ab
29B	2.00 ± 1.00 l-q	62B	5.67 ± 0.88 a-g	93B	7.00 ± 0.58 ab
31B	7.00 ± 0.00 a	63B	4.33 ± 0.88 a-m	94B	1.33 ± 0.33 pq
32B	4.50 ± 2.51 a-n	64B	4.00 ± 1.16 a-o	95B	6.00 ± 0.00 a-f
33B	1.50 ± 0.50 opq	65B	1.67 ± 0.33 m-q	96B	5.00 ± 0.00 a-j

ตารางภาคผนวกที่ 1 คะแนนการเกิดโรคราแป้ง CN72 x V4718 ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556 (ต่อ)

พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย \pm SE	พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย \pm SE	พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย \pm SE
97B	4.00 \pm 1.00 a-o	124B	6.00 \pm 0.58 a-f	152B	5.67 \pm 0.33 a-g
98B	5.33 \pm 0.33 a-i	125B	6.50 \pm 0.50 a-d	153B	6.33 \pm 0.33 a-e
99B	6.00 \pm 0.00 a-f	126B	6.67 \pm 0.33 abc	155B	6.00 \pm 0.58 a-f
100B	5.33 \pm 0.33 a-i	127B	6.67 \pm 0.33 abc	156B	5.67 \pm 0.88 a-g
101B	6.00 \pm 0.00 a-f	128B	6.67 \pm 0.33 abc	157B	4.33 \pm 1.20 a-n
102B	7.00 \pm 0.58 ab	130B	3.67 \pm 0.88 b-p	158B	5.67 \pm 0.88 a-g
103B	2.33 \pm 0.67 j-q	131B	5.33 \pm 0.88 a-i	159B	6.50 \pm 0.50 a-d
104B	6.50 \pm 0.50 a-d	132B	5.67 \pm 0.33 a-g	161B	3.33 \pm 0.67 d-q
105B	6.00 \pm 1.53 a-f	133B	4.00 \pm 1.16 a-o	162B	1.00 \pm 0.00 q
106B	5.67 \pm 1.33 a-h	134B	6.33 \pm 0.33 a-e	163B	4.67 \pm 1.20 a-l
107B	1.33 \pm 0.33 pq	135B	2.00 \pm 0.00 k-q	164B	5.50 \pm 1.50 a-i
108B	4.33 \pm 1.20 a-n	136B	6.67 \pm 0.33 abc	165B	6.50 \pm 0.50 a-d
109B	4.33 \pm 1.20 a-n	137B	6.00 \pm 0.00 a-f	166B	5.00 \pm 2.01 a-j
110B	4.67 \pm 1.33 a-l	138B	5.00 \pm 0.58 a-j	167B	1.50 \pm 0.50 opq
111B	3.67 \pm 1.20 c-p	139B	6.33 \pm 0.67 a-e	168B	2.00 \pm 0.00 k-q
112B	2.67 \pm 0.88 h-q	140B	4.33 \pm 0.88 a-m	172B	1.50 \pm 0.50 opq
113B	5.67 \pm 0.88 a-g	141B	7.00 \pm 0.58 ab	173B	2.00 \pm 1.00 l-q
114B	7.00 \pm 0.58 ab	142B	5.33 \pm 0.67 a-i	174B	5.50 \pm 0.50 a-h
115B	5.33 \pm 0.67 a-i	143B	6.33 \pm 0.33 a-e	175B	1.00 \pm 0.00 q
116B	6.33 \pm 0.33 a-e	144B	5.67 \pm 0.33 a-g	177B	6.00 \pm 1.00 a-f
117B	2.33 \pm 0.88 j-q	145B	5.00 \pm 0.00 a-j	178B	3.50 \pm 1.50 c-q
118B	6.00 \pm 0.00 a-f	146B	6.00 \pm 0.00 a-f	182B	3.50 \pm 1.50 c-q
119B	5.50 \pm 0.50 a-h	147B	2.67 \pm 0.67 g-q	183B	5.50 \pm 0.50 a-h
120B	6.00 \pm 0.58 a-f	148B	1.67 \pm 0.67 n-q	184B	5.00 \pm 1.00 a-j
121B	5.67 \pm 0.88 a-g	149B	3.33 \pm 0.33 d-q	185B	2.50 \pm 0.50 i-q
122B	5.33 \pm 1.20 a-i	150B	1.67 \pm 0.33 m-q	186B	1.50 \pm 0.50 opq
123B	6.00 \pm 0.00 a-f	151B	5.67 \pm 0.33 a-g	187B	6.00 \pm 0.00 a-f

¹ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย \pm SE ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในสตมภ์/คอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางภาคผนวกที่ 2 คะแนนการเกิดโรคราแป้ง CN72 x V4718 ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2559

พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย ± SE	พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย ± SE	พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย ± SE
CN72	6.67 ± 0.33 ab ¹	34B	2.33 ± 0.33 j-o	66B	1.67 ± 0.33 mno
V4718	2.67 ± 0.33 i-o	35B	1.67 ± 0.67 mno	67B	1.00 ± 0.00 o
2B	1.67 ± 0.33 mno	36B	2.67 ± 1.67 j-o	68B	1.67 ± 0.33 mno
3B	4.00 ± 1.16 c-k	38B	5.33 ± 1.20 a-g	69B	3.00 ± 0.58 g-n
4B	6.33 ± 0.67 abc	39B	2.67 ± 0.33 i-o	70B	5.00 ± 1.00 a-h
5B	1.33 ± 0.33 no	40B	7.00 ± 0.00 a	71B	2.33 ± 0.33 j-o
6B	1.67 ± 0.33 mno	41B	1.33 ± 0.33 no	72B	6.33 ± 0.33 abc
7B	1.67 ± 0.33 mno	42B	5.67 ± 1.33 a-e	73B	6.00 ± 0.58 a-d
8B	1.33 ± 0.33 no	43B	5.67 ± 0.33 a-e	74B	4.33 ± 0.88 b-j
9B	3.00 ± 0.58 g-n	44B	1.33 ± 0.33 no	75B	6.00 ± 0.58 a-d
10B	3.33 ± 0.33 e-m	45B	1.00 ± 0.00 o	76B	1.33 ± 0.33 no
11B	4.00 ± 0.58 c-j	46B	6.00 ± 0.58 a-d	77B	2.00 ± 0.58 k-o
12B	4.00 ± 1.16 c-k	47B	4.00 ± 1.00 c-j	78B	4.33 ± 0.88 b-j
13B	1.33 ± 0.33 no	48B	3.00 ± 1.16 h-n	79B	1.67 ± 0.33 mno
14B	2.00 ± 0.58 k-o	49B	4.33 ± 0.88 b-j	80B	4.33 ± 0.88 b-j
15B	5.33 ± 0.88 a-f	50B	2.67 ± 0.33 i-o	81B	5.00 ± 0.00 a-h
16B	5.00 ± 1.00 a-h	51B	1.00 ± 0.00 o	82B	2.33 ± 0.67 j-o
17B	4.67 ± 1.20 a-i	52B	5.33 ± 1.20 a-g	83B	6.33 ± 0.67 abc
18B	5.67 ± 0.33 a-e	53B	6.00 ± 0.58 a-d	84B	5.00 ± 0.00 a-h
21B	1.33 ± 0.33 no	54B	4.33 ± 1.33 b-j	85B	4.00 ± 0.58 c-j
22B	4.00 ± 1.16 c-k	55B	1.33 ± 0.33 no	86B	1.00 ± 0.00 o
23B	5.33 ± 0.33 a-e	56B	5.00 ± 1.16 a-h	87B	7.00 ± 0.00 a
24B	2.00 ± 1.00 l-o	57B	6.33 ± 0.33 abc	88B	6.33 ± 0.67 abc
25B	4.00 ± 0.58 c-j	58B	6.33 ± 0.33 abc	89B	2.67 ± 0.33 i-o
26B	2.00 ± 0.58 k-o	59B	6.33 ± 0.33 abc	90B	1.67 ± 0.33 mno
27B	1.33 ± 0.33 no	60B	6.67 ± 0.33 ab	91B	1.33 ± 0.33 no
28B	6.33 ± 0.33 abc	61B	6.33 ± 0.33 abc	92B	6.67 ± 0.33 ab
29B	2.00 ± 0.58 k-o	62B	6.00 ± 0.58 a-d	93B	4.00 ± 0.00 c-j
31B	7.00 ± 0.00 a	63B	2.33 ± 0.67 j-o	94B	1.67 ± 0.33 mno
32B	5.67 ± 0.33 a-e	64B	1.33 ± 0.33 no	95B	4.33 ± 0.88 b-j
33B	1.00 ± 0.50 o	65B	1.33 ± 0.33 no	96B	6.33 ± 0.33 abc

ตารางภาคผนวกที่ 2 คะแนนการเกิดโรคราแป้ง CN72 x V4718 ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2559 (ต่อ)

พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย \pm SE	พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย \pm SE	พันธุ์/ สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ย \pm SE
97B	5.67 \pm 0.33 a-e	124B	5.67 \pm 0.33 a-e	152B	6.00 \pm 0.58 a-d
98B	4.33 \pm 1.33 b-j	125B	5.33 \pm 0.33 a-e	153B	6.67 \pm 0.33 ab
99B	5.33 \pm 0.33 a-e	126B	5.33 \pm 0.67 a-e	155B	6.00 \pm 1.00 a-d
100B	5.67 \pm 0.33 a-e	127B	6.33 \pm 0.33 abc	156B	5.33 \pm 0.88 a-f
101B	6.33 \pm 0.33 abc	128B	6.33 \pm 0.33 abc	157B	5.00 \pm 1.16 a-h
102B	6.33 \pm 0.33 abc	130B	3.00 \pm 1.16 h-n	158B	7.00 \pm 0.00 a
103B	2.67 \pm 0.33 i-o	131B	6.33 \pm 0.67 abc	159B	6.67 \pm 0.33 ab
104B	5.33 \pm 1.20 a-g	132B	6.33 \pm 0.33 abc	161B	4.33 \pm 1.20 b-j
105B	6.67 \pm 0.33 ab	133B	5.00 \pm 1.00 a-h	162B	2.00 \pm 0.58 k-o
106B	6.33 \pm 0.33 abc	134B	6.33 \pm 0.33 abc	163B	6.33 \pm 0.33 abc
107B	1.00 \pm 0.00 o	135B	2.33 \pm 0.67 j-o	164B	6.67 \pm 0.33 ab
108B	5.00 \pm 1.00 a-h	136B	4.00 \pm 1.53 d-k	165B	5.00 \pm 1.16 a-h
109B	5.33 \pm 1.20 a-g	137B	6.00 \pm 0.58 a-d	166B	6.67 \pm 0.33 ab
110B	5.00 \pm 1.16 a-h	138B	6.67 \pm 0.33 ab	167B	4.33 \pm 0.88 b-j
111B	3.00 \pm 0.00 f-n	139B	6.00 \pm 1.00 a-d	168B	4.67 \pm 0.67 a-i
112B	6.33 \pm 0.33 abc	140B	6.67 \pm 0.33 ab	172B	6.00 \pm 0.58 a-d
113B	6.67 \pm 0.33 ab	141B	6.33 \pm 0.33 abc	173B	3.67 \pm 0.33 d-l
114B	6.67 \pm 0.33 ab	142B	6.33 \pm 0.33 abc	174B	5.67 \pm 0.88 a-e
115B	4.67 \pm 0.67 a-i	143B	4.67 \pm 0.33 a-i	175B	1.00 \pm 0.00 o
116B	6.00 \pm 0.58 a-d	144B	6.67 \pm 0.33 ab	177B	5.67 \pm 0.33 a-e
117B	5.33 \pm 0.67 a-e	145B	6.00 \pm 0.58 a-d	178B	6.00 \pm 0.00 a-d
118B	4.67 \pm 0.67 a-i	146B	5.67 \pm 1.33 a-e	182B	6.67 \pm 0.33 ab
119B	5.67 \pm 0.33 a-e	147B	2.67 \pm 0.33 i-o	183B	5.00 \pm 0.58 a-h
120B	6.00 \pm 0.00 a-d	148B	2.67 \pm 0.33 i-o	184B	6.00 \pm 0.58 a-d
121B	6.00 \pm 0.58 a-d	149B	6.33 \pm 0.33 abc	185B	6.33 \pm 0.67 abc
122B	4.67 \pm 0.33 a-i	150B	1.00 \pm 0.00 o	186B	3.67 \pm 0.33 d-l
123B	6.00 \pm 0.58 a-d	151B	6.33 \pm 0.33 abc	187B	5.67 \pm 0.88 a-e

¹ ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย \pm SE ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในสดมภ์/คอลัมน์หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางภาคผนวกที่ 3 ค่าการวิเคราะห์ของคะแนนการเกิดโรคราแป้ง CN72 x V4718 ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	173	94.289	0.545	6.186**	0.000
Block	2	0.811	0.405	4.601*	0.011
Error	276	24.318	0.088		
Corrected Total	451	120.989			

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%; ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางภาคผนวกที่ 4 ค่าการวิเคราะห์ของคะแนนการเกิดโรคราแป้ง CN72 x V4718 ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2559

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	173	105.021	0.607	10.245**	0.000
Block	2	0.915	0.457	7.718**	0.001
Error	345	20.444	0.059		
Corrected Total	520	126.325			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางภาคผนวกที่ 5 ค่าการวิเคราะห์ของคะแนนการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 วัน ปี พ.ศ. 2556

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	39	118.258	3.032	4.957**	0.000
Block	2	0.950	0.475	0.776 ^{ns}	0.464
Error	78	47.717	0.612		
Corrected Total	119	166.925			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%; ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 6 ค่าการวิเคราะห์ของคะแนนการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2556

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	39	117.179	3.005	4.736**	0.000
Block	2	4.019	2.010	3.167*	0.048
Error	78	46.314	0.634		
Corrected Total	119	168.400			

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%; ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางภาคผนวกที่ 7 ค่าการวิเคราะห์ของคะแนนการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 55 วัน ปี พ.ศ. 2557

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	39	169.967	4.358	6.477**	0.000
Block	2	4.850	2.425	3.607*	0.032
Error	78	52.483	0.673		
Corrected Total	119	227.300			

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%; ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางภาคผนวกที่ 8 ค่าการวิเคราะห์ของคะแนนการเกิดโรคราแป้งของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ที่อายุ 65 วัน ปี พ.ศ. 2557

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	39	149.867	3.843	5.307**	0.000
Block	2	10.850	5.425	7.492**	0.001
Error	78	56.483	0.724		
Corrected Total	119	217.200			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางภาคผนวกที่ 9 ค่าการวิเคราะห์หน้าหนัก 100 เมล็ดของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	37	64.600	1.746	23.186**	0.000
Block	2	0.347	0.174	2.305 ^{ns}	0.107
Error	74	5.572	0.075		
Corrected Total	113	70.519			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%; ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 10 ค่าการวิเคราะห์จำนวนฝักต่อต้นของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	37	24691.193	667.330	2.147**	0.003
Block	2	1015.070	507.535	1.633 ^{ns}	0.202
Error	74	23003.596	310.859		
Corrected Total	113	48709.860			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%; ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 11 ค่าการวิเคราะห์จำนวนเมล็ดต่อฝักของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	37	47.193	1.275	3.375**	0.000
Block	2	3.368	1.684	4.457*	0.015
Error	74	27.965	0.378		
Corrected Total	113	78.526			

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%; ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางภาคผนวกที่ 12 ค่าการวิเคราะห์ผลผลิตของถั่วเขียว จำนวน 38 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2556

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	37	946597.975	25583.729	1.718*	0.024
Block	2	39592.694	19796.347	1.330 ^{ns}	0.271
Error	74	1101694.508	14887.764		
Corrected Total	113	2087885.177			

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%; ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 13 ค่าการวิเคราะห์น้ำหนัก 100 เมล็ดของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	39	66.560	1.707	6.661**	0.000
Block	2	0.565	0.282	1.103 ^{ns}	0.337
Error	78	19.985	0.256		
Corrected Total	119	87.110			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%; ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 14 ค่าการวิเคราะห์จำนวนฝักต่อต้นของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	39	8996.666	230.684	2.874**	0.000
Block	2	37.118	18.559	0.231 ^{ns}	0.794
Error	78	6259.789	80.254		
Corrected Total	119	15293.573			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%; ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 15 ค่าการวิเคราะห์จำนวนเมล็ดต่อฝักของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	39	56.325	1.444	2.593**	0.000
Block	2	9.217	4.608	8.273**	0.001
Error	78	43.450	0.557		
Corrected Total	119	108.992			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางภาคผนวกที่ 16 ค่าการวิเคราะห์ผลผลิตของถั่วเขียว จำนวน 40 พันธุ์/สายพันธุ์ ปี พ.ศ. 2557

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Variety	39	250613.315	6425.982	1.942**	0.007
Block	2	33.301	16.650	0.005 ^{ns}	0.995
Error	78	258101.021	3308.987		
Corrected Total	119	508747.636			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%; ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ



ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นาง ปิยะดา อลิมาณ์ นามสกุล ต้นตสวัสดิ์ (นามสกุลเดิม ทิพย์พ่อง)
(ภาษาอังกฤษ) Mrs. Piyada Alisha Tantasawat (Thipyapong)
2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3100900033308
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 111 ถ. มหาวิทยาลัย ต. สุรนารี อ.เมือง จ. นครราชสีมา 30000
โทร. 0-4422-4204 โทรสาร 0-4422-4150 E-mail: piyada@sut.ac.th
5. ประวัติการศึกษา
 - 1) ปริญญาตรี สาขาวิชาเกษตร สถาบัน ม. เกษตรศาสตร์
ปีที่สำเร็จ 1988 (เกียรตินิยมอันดับ 1)
 - 2) ปริญญาโท ไม่มี (เข้าศึกษาต่อปริญญาเอกหลังจบปริญญาตรี)
 - 3) ปริญญาเอก สาขาวิชาการปรับปรุงพันธุ์พืช (Plant Breeding) สถาบัน Cornell University
สหรัฐอเมริกา ปีที่สำเร็จ 1997
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
Plant Biotechnology, Plant Molecular Biology, Plant Breeding
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยและงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ :
ระบุสถานภาพในการทำวิจัย ว่า เป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วม
วิจัยในแต่ละข้อเสนอโครงการวิจัย เป็นต้น
 - 7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย:
 - 1) การผลิตข้าวโพด (*Zea mays* L.) ดับเบิลแฮพลอยด์โดยการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร
 - 2) การผลิตข้าวโพด (*Zea mays* L.) สายพันธุ์แท้โดยการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร
 - 3) บทบาทของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidases) ในการต้านทานของมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* L.) ต่อการเข้าทำลายของหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (F.))
 - 4) การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของถั่วฝักยาว ถั่วฝักยาวไร่ค้าง ถั่วเขียว และถั่วเหลือง
 - 5) การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิต

- 6) การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิต ระยะที่ 2
- 7) การปรับปรุงพันธุ์องุ่น (*Vitis spp.*) ให้ต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง
- 8) การปรับปรุงพันธุ์องุ่น (*Vitis spp.*) ให้ต้านทานต่อโรคราน้ำค้างและโรคสแคบ ระยะที่ 2
- 9) การพัฒนาพันธุ์แตงกวา (*Cucumis sativus L.*) ลูกผสมที่ต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง
- 10) การพัฒนาพันธุ์ maintainer line ของทานตะวันโดยการรวมโปรโตพลาสต์
- 11) การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายด้วยวิธีกลายพันธุ์เพื่อให้ต้านทานโรคเน่าดำ
- 12) การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้ง และการรวมยีนต้านทานในถั่วเขียว
- 13) การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวายด้วยวิธีกลายพันธุ์เพื่อให้ต้านทานโรคเน่าดำ ระยะที่ 2
- 14) การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งและโรคใบจุด และการรวมยีนต้านทานในถั่วเขียว ระยะที่ 2

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อแผนงานวิจัย และ/หรือโครงการวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และสถานภาพในการทำวิจัย

- 1) การโคลนกลุ่มของยีนต้านทานโรค (RGAs) เพื่อให้ต้านทานต่อโรคราน้ำค้างในองุ่น (*Vitis spp.*). (2547). การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 4, เชียงใหม่ หัวหน้าโครงการ (นศ. นำเสนอผลงาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 2) การจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของถั่วฝักยาว ถั่วฝักยาวไร้ค้าง ถั่วเขียว และถั่วเหลือง. (2551). รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. หัวหน้าโครงการ แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 3) การจำแนกพันธุ์ถั่วฝักยาวไร้ค้างและถั่วฝักยาวโดยใช้ ISSR analysis. (2548). การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5, ชลบุรี. หัวหน้าโครงการและผู้เสนอผลงาน แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 4) การตรวจสอบลูกผสมถั่วเขียวชั่วที่หนึ่งโดยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR. (2549). การประชุมวิชาการพืชไร่วงศ์ถั่วแห่งชาติ ครั้งที่ 1, เชียงราย. หัวหน้าโครงการ (นศ. นำเสนอผลงาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 5) การเปรียบเทียบวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากใบถั่วเขียว (*Vigna radiata*). (2547). การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 4, เชียงใหม่. หัวหน้าโครงการ (นศ. นำเสนอผลงาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 6) การผลิตข้าวโพด (*Zea mays L.*) ดับเบิลแฮพลอยด์โดยการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร. (2547). รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. หน้าโครงการ แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 7) การผลิตข้าวโพด (*Zea mays L.*) สายพันธุ์แท้โดยการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร. (2547). รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. หัวหน้าโครงการ แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 8) การแยกโปรโตพลาสต์ทานตะวัน (*Helianthus annuus L.*) จากเนื้อเยื่อใบ (2551). การประชุมวิชาการ งานเกษตรแห่งชาติ ประจำปี 2551 “พลังงานทดแทน แก่นเกษตรยั่งยืน พืชชีวิตสิ่งแวดล้อม น้อมรับพระราชดำริ”, พิษณุโลก. หัวหน้าโครงการ (นศ. นำเสนอผลงาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

- 9) การแยกโปรโตพลาสต์ทานตะวัน. (2550). การประชุมวิชาการ งาน ทานตะวัน ละหุ่ง และคำฝอย แห่งชาติ ครั้งที่ 5, น่าน. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนอฟผลงาน) แหล่งทุน สำนักงาน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 10) การส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวโพดภายใต้สภาพ photoautotrophic. (2546). การประชุมศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติประจำปี นครปฐม. หัวหน้าโครงการ (นศ. นำเสนอฟผลงาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 11) การแสดงออกของยีนแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสของมะเขือเทศในเซลล์ยีสต์. (2551). การประชุม วิชาการ งานเกษตรแห่งชาติ ประจำปี 2551 “พลังงานทดแทน แก่นเกษตรยั่งยืน พืชวี สิ่งแวดล้อม น้อมรับพระราชดำริ”, พิษณุโลก. ผู้ร่วมวิจัย (นศ.นำเสนอฟผลงาน) แหล่งทุน DUO-FRANCE
- 12) บทบาทของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidases) ในการต้านทานของมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* L.) ต่อการเข้าทำลายของหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (F.)). (2548). รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. หน้าโครงการ แหล่งทุน สำนักงานพัฒนา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
- 13) ผลของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในมะเขือเทศต่อความต้านทานของหนอนกระทู้หอม. (2548). การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5, ชลบุรี. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนอฟ ผลงาน)
- 14) A simple and highly efficient protocol for somatic embryogenesis and plant regeneration from proembryonic mass suspension culture in ‘Autumn Royal Seedless’. (2007). *Vitis* 46(1): 45-46. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 4
- 15) Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility. (2004). *Planta* 220: 105-117. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 1
- 16) Application of ISSR markers for verification of F₁ hybrids in mungbean (*Vigna radiata*). (2012). *Genet. Mol. Res.* 11: 3329-3338. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 4 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 17) Assessment of *Phytophthora palmivora* culture filtrates from different media on *in vitro* selection of black rot resistance in *Dendrobium*. (2012). The 2nd Asian Conference on Plant-Microbe Symbiosis and Nitrogen Fixation. Oct 28-Nov 1, Phuket, Thailand หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนอฟผลงาน) แหล่งทุนสำนักงานกองทุนสนับสนุน การวิจัย
- 18) Association between root length density and seed yield in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). (2012). *Env. Res. J.* 6: 50-56. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 4 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 19) Association of ISSR markers with resistance to powdery mildew in mungbean. (2012). 10th International Congress on Plant Molecular Biology, October 21-26, ICC, Jeju Island, Republic of Korea หัวหน้าโครงการและผู้เสนอฟผลงาน แหล่งทุน สำนักงาน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

- 20) Association of RGA-SSCP markers with resistance to downy mildew and anthracnose in grapevines. (2012). *Gen. Mol. Res.* 11: 1799-1809. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 21) Chitosan stimulates growth of micropropagated *Dendrobium* plantlets. (2010). *Acta Hort* 878: 205-212. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 22) Cloning of resistance gene analogs (RGAs) in grapevine (*Vitis cinerea*). (2005). International Grape Genomics Symposium, St. Louis, USA. หัวหน้าโครงการและผู้เสนอผลงาน แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 23) Cloning of resistance gene analogs (RGAs) in grapevine hybrid. (2006). The 9th International Conference on Grape Genetics and Breeding, Udine, Italy. หัวหน้าโครงการและผู้เสนอผลงาน แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 24) Correlation of total dry matter (TDM) with seed yield in mungbean. (2010). The International Conference on Sustainable Community Development. Jan 21-23, Nong Khai Campus Khon Kaen University and Vientiane, Lao PDR. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนองาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 25) Cultural characteristics of *Sphaceloma ampelinum*, causal pathogen of grape anthracnose on different media. (2009). *Suranaree J. Sci. Technol.* 6(2): 149-157. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 4 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 26) Defensive role of polyphenol oxidases against *Pseudomonas syringae* pv. tomato. (1996). Annual Meeting of the American Society of Plant Physiologists, San Antonio, Texas. *Plant Physiol.* 111s: 168. ผู้ร่วมวิจัยและเสนองาน
- 27) Defensive role of tomato polyphenol oxidases against cotton bollworm (*Helicoverpa armigera* [Hübner]) and beet armyworm (*Spodoptera exigua* [Hübner]). (2009). *J Chem Ecol* 35: 28-38. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 4 แหล่งทุน สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
- 28) Development of food safety software prototype. (2006). *Suranaree J. Sci. Tech.* 13: 101-111. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 4
- 29) Development of ISSR-RGA markers linked to powdery mildew resistance in mungbean. (2013). The Convergence of Two Major Meetings Joint Conference of HGM 2013 and 21st International Congress of Genetics, April 13-18, The Sands Expo and Convention Center, Marina Bay Sands, Singapore หัวหน้าโครงการและผู้เสนอผลงาน แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 30) Differential expression and turnover of the tomato polyphenol oxidase gene family during vegetative and reproductive development. (1997). *Plant Physiol.* 113: 707-718. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 1
- 31) Diversity of *Sphaceloma ampelinum*, causal pathogen of grapevine anthracnose in Thailand. (2006). Proceedings of the International Workshop on Tropical and

- Subtropical Fruits (at Royal Flora Ratchaphruek 2006, International Horticultural Exposition for His Majesty the King). Nov 20-23, 2006, Chiang Mai, Thailand. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนองาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 32) Effects of colchicine on aseptic culture of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). (1988). ปัญหาพิเศษ
 - 33) Evaluation of genetic variability in *in vitro* sodium azide-induced *Dendrobium* 'Earsakul' mutants. (2014). Genet. Mol. Res. 13(3): 5333-5342. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1
 - 34) Evaluation of grapevines for resistance to downy mildew (*Plasmopara viticola*) under laboratory and field conditions. (2014). S. Afr. J. Enol. Vitic. 35(1): 43-50. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1 แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
 - 35) Functional analysis of polyphenol oxidases by antisense/sense technology. (2007). Molecules 12: 1569-1595. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1
 - 36) Genetic diversity and pathogenicity analysis of *Sphaceloma ampelinum* causing grape anthracnose in Thailand. (2010). J. Phytopathol. 158: 837-840. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 5 แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
 - 37) Genetic diversity of *Sphaceloma ampelinum* causing grape anthracnose and pathogenicity in laboratory and field conditions. The 4th AG-BIO/PERDO Graduate Conference & UT-KU Joint Seminar, December 9-10, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, Thailand. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนองาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
 - 38) Genetic diversity of the *Vigna* germplasm from Thailand and neighboring regions revealed by AFLP analysis. (2006). Gen. Res. Crop Evol. 53: 1043-1059. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 4
 - 39) Grapevine breeding and genetics. UNESCO-EOLSS (Online Encyclopedia) <http://www.eolss.net/ViewChapter.aspx?CategoryId=10> หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
 - 40) Growth and downy mildew resistance of grapevine hybrids. (2010). The International Conference on Sustainable Community Development. Jan 21-23, Nong Khai Campus Khon Kaen University and Vientiane, Lao PDR. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนองาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัย-แห่งชาติ
 - 41) Growth enhancement of *in vitro* maize under photoautotrophic condition. (2003). Annual Meeting of the National Corn and Sorghum Research Center, Nakhon Pathom, Thailand. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนองาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
 - 42) Identification of chemical mutagen-induced *Dendrobium* 'Earsakul' mutants using ISSR markers. (2012). Molecular Mapping & Marker Assisted Selection International Conference, Feb 8-11, Vienna, Austria. หัวหน้าโครงการและผู้เสนองาน แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

- 43) Identification of dwarf yard-long bean and yard-long bean cultivars using ISSR analysis. (2005). The Fifth National Horticultural Congress. Apr 26-29, 2005, Chonburi, Thailand. ผู้ร่วมวิจัยและเสนอผลงาน
- 44) Identification of genes for resistance to powdery mildew in mungbean. (2007). Proceedings of the 8th African Crop Science Society Conference. Oct 27-31, 2007, El-Minia, Egypt. หัวหน้าโครงการและผู้เสนอผลงาน แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 45) Identification of genes for powdery mildew resistance in mungbean. (2010). J. Life Sci. 4: 25-29. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 3 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 46) Increasing resistance of tomato to Lepidopteran insects by overexpression of polyphenol oxidase. (2004). 6th World Congress on the Processing Tomato, Melbourne, Australia. หัวหน้าโครงการและผู้เสนอผลงาน. แหล่งทุน สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
- 47) Induced mutagenesis and *in vitro* selection for black rot resistance in *Dendrobium*. (2014). International Conference on Life Science & Biological Engineering, July 22-24, Renaissance Sapporo Hotel, Hokkaido, Japan หัวหน้าโครงการและผู้เสนอผลงาน แหล่งทุนสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
- 48) Inheritance of downy mildew (*Plasmopara viticola*) and anthracnose (*Sphaceloma ampelinum*) resistance in grapevines. (2013). Gen. Mol. Res. 12(4): 6752-6761. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 49) Inhibition of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Phytophthora palmivora* with plant crude extracts. (2012). 2nd International Symposium of Bio-Pesticides and Ecotoxicological Network (2nd IS-BioPEN), September 24-26, Maruay Garden Hotel, Bangkok, Thailand. ผู้ร่วมวิจัย
- 50) Isolation of resistance gene analogs from grapevine resistant and susceptible to downy mildew and anthracnose. (2011). Sci. Hort. 128: 357-363. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 4 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 51) Laboratory and field evaluations of resistance to *Sphaceloma ampelinum* causing anthracnose in grapevine. (2012). Aust. Plant Pathol. 41: 263-269. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 5 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 52) Modification of polyphenol oxidase expression in transgenic tomato: role of PPO in disease resistance. (1997). Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Copper Mountain, Colorado. ผู้ร่วมวิจัยและเสนอผลงาน
- 53) Molecular characterization of *Sphaceloma ampelinum*, causal pathogen of grapevine anthracnose in Thailand. (2007). Proceedings of the 5th International Table Grape Symposium. Nov 14-16, 2007, Cape Town, South Africa. หัวหน้าโครงการและผู้เสนอผลงาน แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

- 54) Molecular, morphological and pathogenicity characterization of *Sphaceloma ampelinum* isolates from Thailand. (2006). The 9th International Conference on Grape Genetics and Breeding, Udine, Italy. หัวหน้าโครงการและผู้ยื่นเสนอผลงาน แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 55) Morphological, pathogenicity and virulence characterization of *Sphaceloma ampelinum* the causal agent of grape anthracnose in Thailand. (2012). Afr. J. Microbiol. Res. 6(10): 2313-2320. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 2
- 56) NBS-LRR-type resistance gene analogs (RGAs) in *Vitis cinerea* B9, *V. rupestris* B38 and 'Horizon'. (2006). Proceedings of the International Workshop on Tropical and Subtropical Fruits (at Royal Flora Ratchaphruek 2006, International Horticultural Exposition for His Majesty the King). Nov. 20-23, 2006, Chiang Mai, Thailand. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนอผลงาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 57) Optimization of factors for efficient isolation of protoplasts in sunflower (*Helianthus annuus* L.). (2012). Aust. J. Crop Sci. 6: 1004-1010. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 3 แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 58) Overexpression of a bacterial branched-chain α -keto acid dehydrogenase complex in Arabidopsis results in accumulation of branched-chain acyl-CoAs and alteration of free amino acid composition in seeds. (2003). Plant Sci. 165: 1213-1219. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 2
- 59) Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants increases resistance to common cutworm (*Spodoptera litura* (F.)). (2003). Plant Biology 2003, Honolulu, Hawaii. หัวหน้าโครงการและผู้เสนอผลงาน
- 60) Overexpression of tomato polyphenol oxidase increases resistance to common cutworm. (2008). Plant Sci. 174: 456-466. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 4. แหล่งทุน สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
- 61) Polyphenol oxidase gene family: differential expression during vegetative and reproductive development, and in response to injuries, and defensive functional analysis. (1997). Ph.D. thesis. Cornell University, Ithaca, NY. 132 p.
- 62) Polyphenol oxidase-mediated resistance to common cutworm. (2007). Proceedings of the 60th New Zealand Plant Protection Conference. Aug 13-16, 2007, Napia, New Zealand. หัวหน้าโครงการและผู้เสนอผลงาน แหล่งทุน สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
- 63) PPO expression and accumulation during pollen germination and pollen tube growth. (2002). Fourteenth Annual Penn State Symposium in Plant Physiology: Plant Reproduction 2002, State College, Pennsylvania. ผู้ร่วมวิจัยและเสนอผลงาน
- 64) Production of doubled haploid maize (*Zea mays* L.) by anther culture. (2004). AgBiotech Graduate Conference I, Bangkok, Thailand. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนอผลงาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

- 65) Pronamide-induced polyploidy in *Rhynchostylis gigantean* and *Dendrobium*. (2010). The 28th International Horticultural Congress. Aug 22-27, Lisbon, Portugal. ผู้ร่วมวิจัยและเสนอผลงาน
- 66) Relationships and variability of agronomic and physiological characters in mungbean. (2011). Afr. J. Biotechnol. 10: 9992-10000. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 2 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 67) Resistance gene analogs from *Vitis cinerea*, *Vitis rupestris*, and *Vitis* hybrid Horizon. (2007). Am. J. Enol. Vitic. 58(4): 484-493. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 4 แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 68) Role of tomato polyphenol oxidase in resistance against beet army worm. (2005). The Fifth National Horticultural Congress. Apr 26-29, 2005, Chonburi, Thailand. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนอผลงาน)
- 69) Seed yield in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) is correlated with root length density and total dry matter. Popescu E, Golubev I (eds). Beans: Nutrition, Consumption and Health. Nova Science Publishers, New York. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 4 แหล่งทุนสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 70) SSR analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genetic relationship and variety identification in Thailand. (2011). Aust. J. Crop Sci. 5: 283-290. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1 แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 71) Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. (1997). 5th International Congress of Plant Molecular Biology, Singapore. ผู้ร่วมวิจัยและเสนอผลงาน
- 72) Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. (2004). Plant Sci. 167: 693-703. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 1
- 73) Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenol oxidase. (1995). Phytochemistry 40: 673-676. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 1
- 74) The effects of proline and coconut water on callus induction of cucumber (*Cucumis sativus* L.). (2010). Acta Hort. 871: 589-597. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1 แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 75) Tomato polyphenol oxidase B is spatially and temporally regulated during development and in response to ethylene. (2011). Molecules 16: 493-517. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 2
- 76) Tomato polyphenol oxidase (PPO) D expression. (in preparation).
- 77) Tomato polyphenol oxidase (PPO): differential response of the PPO F promoter to injuries and wound signals. (1997). Plant Physiol. 115: 409-418. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 1
- 78) Tomato polyphenol oxidase (PPO): role of PPO during oxidative stress. (2004). Plant Sci. 167: 693-703. ผู้ร่วมวิจัยและผู้เขียนอันดับ 1

- 79) Variety identification and comparative analysis of genetic diversity in yardlong bean (*Vigna unguiculata* spp. *sesquipedalis*) using morphological characters, SSR and ISSR analysis. (2010). *Sci. Hort.* 124:204-216. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1 แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 80) Variety identification and genetic relationships of mungbean and blackgram in Thailand based on morphological characters and ISSR analysis. (2010). *African Journal of Biotechnology.* 9(27): 4452-4464. หัวหน้าโครงการและผู้เขียนอันดับ 1 แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 81) Verification of F₁ hybrid using ISSR markers in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Proceedings of the First National Leguminosae Congress. Aug 28-30, 2006, Chiangrai, Thailand. หัวหน้าโครงการ (นศ.นำเสนองาน) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 82) Wound induction of polyphenol oxidases. (1994). Cornell Center for Advanced Technology, Ithaca, New York, USA. ผู้ร่วมวิจัยและเสนองาน

