บทคัดย่อ

โครงการวิจัยการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งและโรคใบจุด และการรวมยีนต้านทานในถั่วเขียว ระยะที่ 2 นี้ ประกอบด้วย 4 ส่วนหลัก คือ (1) การประเมินโรค (2) การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล (3) การปรับปรุงสายพันธุ์ต้านทานโรคราแป้งและโรคใบจุดโดยวิธีการรวมยีนต้านทานหลายยีนไว้ในสายพันธุ์เดียวกัน และ (4) การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการต้านทานโรคและให้ผลผลิตสูงจากวิธีการรวมยีนต้านทานหลายยีนไว้ในสายพันธุ์เดียวกัน ซึ่งในส่วนที่ 1 พบว่ายีนที่ถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4758 และ CN72 × V4785 รวมทั้งยีนที่ถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคใบจุดในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 ถูกควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่ (single major gene) ส่วนที่ 2 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4758 โดยใช้ไพรเมอร์ inter-simple sequence repeat (ISSR) จำนวน 63 ไพรเมอร์ และ ISSR-resistance gene analog (RGA) จำนวน 338 คู่ไพรเมอร์ พบว่าได้เครื่องหมาย I41tP379 เพียง 1 เครื่องหมาย ซึ่งน่าจะเชื่อมโยงกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้งอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (R^2 = 0.26; P < 0.001) ในทำนองเดียวกัน การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4785 โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 63 ไพรเมอร์ และ ISSR-RGA จำนวน 241 คู่ไพรเมอร์ พบว่าเครื่องหมาย I27R565 เชื่อมโยงกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคราแป้งอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (R^2 = 0.30; P < 0.001) ส่วนการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคใบจุดในถั่วเขียวคู่ผสม CN72 × V4718 โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR, ISSR-RGA และ SSR จำนวน 63, 48 และ 47 ไพรเมอร์/คู่ไพรเมอร์ ตามลำดับ ได้ 2 เครื่องหมาย (VR393 และ I16274) ที่มีความสัมพันธ์กับความต้านทานโรคใบจุดอย่างมีนัยสำคัญ โดยเครื่องหมาย VR393 และ I16274 มีตำแหน่งอยู่ 2 ด้านของยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคใบจุด (*qCLSC72V18-1*) และอยู่ใกล้มากที่สุด 12 และ 6 cM ตามลำดับ ซึ่งหากใช้ทั้งสองเครื่องหมายในการคัดเลือกจะให้ค่า recombination เพียง 1.44% ส่วนการประเมินความเหมาะสมในการใช้ไพรเมอร์ RGA ร่วมกับ ISSR เพื่อพัฒนาเป็นเครื่องหมายชนิดใหม่ พบว่าเครื่องหมาย ISSR-RGA เป็นประโยชน์และมีประสิทธิภาพสูง และในส่วนที่ 3 กับ 4 การรวมยีนต้านทาน 4 ยีนเข้าไว้ในสายพันธุ์เดียวกัน (ยีนต้านทานโรคราแป้งจาก V4718, V4758 และ V4785 และยีนต้านทานโรคใบจุดจาก V4718) โดยวิธีผสมกลับและคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ได้ต้นลูกผสมกลับชั่ว BC_3F_3 ที่มียีนครบทั้ง 4 ยีน จำนวน 25 สายพันธุ์ ซึ่งอยู่ระหว่างการปลูกขยายเมล็ดเพื่อทดสอบโรคราแป้งและโรคใบจุด ซึ่งข้อมูลจากการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลเหล่านี้จะเป็นประโยชน์และเป็นแนวทางที่มีประสิทธิภาพในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคราแป้งและโรคใบจุดในถั่วเขียวต่อไป

Abstract

The development of molecular markers linked to powdery mildew and leaf spot resistance and pyramiding multiple resistance genes in mungbean phase 2 research project consists of 4 major parts (1) Evaluation of disease in mungbean (2) development of molecular markers (3) breeding for powdery mildew and leaf spot resistant lines by pyramiding multiple resistance genes and (4) selection of the potential mungbean lines with disease resistance and high yield from pyramiding multiple resistance genes. It was found that (1) powdery mildew resistant response in the CN72 x V4758 and CN72 x V4785 cross including leaf spot resistant response in the CN72 x V4718 cross were controlled by a single major gene. (2) The development of molecular markers linked to powdery mildew in the CN72 x V4758 cross with 63 inter-simple sequence repeat (ISSR) primers and 338 ISSR-resistance gene analog (RGA) primer pairs to find highly significant only one marker (I41tP379) possible linkage of gene controlling powdery mildew resistance (R^2 = 0.26; P < 0.001). In the same way, the development of molecular markers linked to powdery mildew in the CN72 x V4785 cross with 63 ISSR primers and 241 ISSR-RGA primer pairs found marker I27R565 highly significant linked to powdery mildew resistance gene (R^2 = 0.30; P < 0.001). In part of the development of molecular markers linked to leaf spot resistance in the CN72 x V4718 cross with 68 ISSR, 48 ISSR-RGA and 47 simple sequence repeat (SSR) primers/primer pairs were found 2 markers (VR393 and I16274) significantly linked to leaf spot resistance. VR393 and I16274 flanked and were closest to the gene encoding leaf spot resistance (*qCLSC72V18-1*) with the distance of 12 and 6 cM, respectively. Only 1.44% 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 were useful and high efficient. (3) and (4) pyramiding 4 resistance gene (gene controlling powdery mildew resistance from V4718, V4758 and V4785 and gene controlling leaf spot resistance from V4718) using backcross method and marker selection found 25 BC_3F_3 lines for propagation to evaluate powdery mildew and leaf spot resistance. These results suggested that the development of these molecular markers were useful and can be effectively used for selection of powdery mildew and leaf spot resistance in mungbean.