

ปริญญา ขจัดพาล : ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับศักยภาพการให้ผลผลิตและการพัฒนา
เครื่องหมายโมเลกุลบ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว (CHARACTERS
ASSOCIATED WITH YIELD POTENTIAL AND DEVELOPMENT OF MOLECULAR
MARKERS FOR POWDERY MILDEW RESISTANCE IN MUNGBEAN)

อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. ปิยะดา ตันตสวัสดิ์, 121 หน้า.

การเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตของถั่วเขียวสามารถทำได้โดยการปรับปรุงลักษณะทางพีช
ไร่ ลักษณะทางสรีรวิทยา รวมทั้งระดับความต้านทานโรค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ประเมิน
ลักษณะทางพีชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีสหสัมพันธ์และอิทธิพลทางตรงต่อผลผลิต 2) ศึกษา
การแสดงออกของยีนและอัตราพันธุกรรมของลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับผลผลิต 3) ศึกษาการ
แสดงออกของยีนต้านทานโรคราแป้ง และ 4) เพื่อพัฒนาเครื่องหมาย inter-simple sequence repeat
(ISSR) บ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง การทดลองที่ 1 ประเมินลักษณะทางพีชไร่และลักษณะ
ทางสรีรวิทยา 15 ลักษณะ ในถั่วเขียว 58 พันธุ์/สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ต่างประเทศจำนวน
41 สายพันธุ์ พันธุ์ส่งเสริม 10 พันธุ์ สายพันธุ์ดีเด่น 3 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่พัฒนา ณ มหาวิทยาลัย
เทคโนโลยีสุรนารี 4 สายพันธุ์ ทำการทดลอง ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี วางแผนการ
ทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (randomized complete block design; RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ
โดยพบว่าจำนวนฝักต่อต้น จำนวนช่อต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก จำนวนเมล็ดต่อต้น จำนวนกิ่งต่อต้น
น้ำหนักแห้งมวลรวม (total dry matter; TDM) น้ำหนักสดชีวมวล (biomass) และ ดัชนีพื้นที่ใบ (leaf
area index; LAI) มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการวิเคราะห์
สัมประสิทธิ์เส้นทาง พบว่าจำนวนช่อต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก TDM และจำนวนฝักต่อต้น เป็น
ลักษณะที่มีอิทธิพลทางตรงต่อผลผลิตสูง ดังนั้นจึงเหมาะสมสำหรับใช้เป็นดัชนีในการคัดเลือกสาย
พันธุ์ถั่วเขียวเพื่อเพิ่มผลผลิต โดยเฉพาะในประชากรที่ใช้ศึกษา การทดลองที่ 2 ศึกษาการแสดงออก
ของยีน และอัตราพันธุกรรมของลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับผลผลิต โดยวิธีวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย
ประชากร ทำการผสมระหว่างพันธุ์ที่ให้ลักษณะทางพีชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาต่ำกับสายพันธุ์
คัดเลือกที่ให้ลักษณะทางพีชไร่และลักษณะทางสรีรวิทยาสูง จำนวน 12 คู่ผสมใน 7 ลักษณะ ได้แก่
TDM จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อฝัก ความยาวฝัก และ
ความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122 ลบ.ซม. และผลิตประชากร F_2 , BC_1 , BC_2 ทุกคู่ผสมปลูกทดสอบ
โดยใช้ 6 ประชากร (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2) วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 3 ซ้ำ
พบว่า ลักษณะ TDM จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อต้น และความยาวรากต่อปริมาตรดิน 2,122
ลบ.ซม. มีการแสดงออกของยีนไม่เป็นไปตามกฎบวกข่ม และมีการแสดงออกของยีนแบบข่มข้ามคู่
ในทุกรูปแบบ มีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแคบปานกลาง และถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อย 1-2 คู่

ยกเว้นลักษณะน้ำหนักรวมเมล็ดต่อต้นมีอัตราพันธุกรรมทั้ง 2 แบบต่ำ และถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อย 4 คู่ สำหรับลักษณะน้ำหนักรวมเมล็ดต่อฝัก และความยาวฝัก มีการแสดงออกของยีนเป็นไปตามกฎบวก-ข่ม โดยน้ำหนักรวมเมล็ด และจำนวนเมล็ดต่อฝักมีการแสดงออกของยีนแบบบวกเท่านั้น ในขณะที่ความยาวฝักได้รับอิทธิพลของยีนแบบข่มมากกว่าแบบบวก ทุกคู่ผสมมีอัตราพันธุกรรมแบบกว้างและแคบปานกลาง และถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อย 4 คู่ (น้ำหนักรวมเมล็ด) 3 คู่ (จำนวนเมล็ดต่อฝัก) และ 2 คู่ (ความยาวฝัก) การทดลองที่ 3 ศึกษาการแสดงออกของยีนด้านทานโรคราแป้ง โดยใช้ 6 ประชากร (P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 และ BC_2) ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์อ่อนแอและสายพันธุ์ต้านทาน ($KPS1 \times V4758$, $KPS1 \times V2106$ และ $KPS2 \times V2106$) ทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยประชากร พบว่าทั้ง 3 คู่ผสม มีการแสดงออกของยีนทั้งแบบบวกและแบบข่ม โดยอิทธิพลของยีนแบบบวกมีมากกว่าแบบข่ม และไม่พบการแสดงออกของยีนแบบข่มข้ามคู่ และจากการวิเคราะห์ลักษณะความต้านทานโรคราแป้งพบว่าความต้านทานโรคราแป้งถูกควบคุมด้วยยีนเด่นหนึ่งคู่ การทดลองที่ 4 พัฒนาเครื่องหมาย ISSR บ่งชี้ลักษณะความต้านทานโรคราแป้ง โดยผลิตประชากร $F_{2.6}$ ที่มีการกระจายตัวของยีนด้านทาน (recombinant inbred line; RIL) จากการผสมระหว่างพันธุ์ CN 72 (พันธุ์อ่อนแอ) กับ V4718 (สายพันธุ์ต้านทาน) สกัดดีเอ็นเอของพันธุ์อ่อนแอ สายพันธุ์ต้านทาน ต้น $F_{2.6}$ ที่มีความต้านทานต่อโรคราแป้ง 10 ต้น (นำดีเอ็นเอจากทั้ง 10 ต้น มารวมกันเป็นประชากรรวมด้านทาน) และต้น $F_{2.6}$ ที่มีความอ่อนแอต่อโรคราแป้ง 10 ต้น (นำดีเอ็นเอจากทั้ง 10 ต้น มารวมกันเป็นประชากรรวมอ่อนแอ) ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ ISSR 46 ไพรเมอร์ พบว่าเมื่อใช้อุณหภูมิในขั้นตอน annealing ลดลงขั้นตอนละ 1 องศาเซลเซียส จาก 65 ถึง 50 องศาเซลเซียส มี 9 ไพรเมอร์ที่ให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและประชากรรวมด้านทาน และระหว่างพันธุ์อ่อนแอและประชากรรวมอ่อนแอ (unique bands; UB) ทำการยืนยันผลโดยการใช้ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสในขั้นตอน annealing พบเฉพาะไพรเมอร์ ISSR 842 และ 885 ที่ให้ UB ชัดเจนไพรเมอร์ละ 1 แถบ (เครื่องหมาย 842_340 และ 885_420 ตามลำดับ) ทำการตรวจสอบประชากร RIL ($F_{2.6}$) เป็นรายต้น จำนวน 20 ต้น เพื่อประเมินระยะห่างระหว่างเครื่องหมาย ISSR และยีนด้านทานโรคราแป้งเบื้องต้น พบว่า ISSR 842_340 และ 885_420 อยู่ห่างจากยีนด้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียวประมาณ 10 เซนติมอร์แกน (centiMorgan; cM)

PARINYA KHAJUDPARN : CHARACTERS ASSOCIATED WITH YIELD
POTENTIAL AND DEVELOPMENT OF MOLECULAR MARKERS FOR
POWDERY MILDEW RESISTANCE IN MUNGBEAN.

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PIYADA TANTASAWAT, Ph.D., 121 PP.

MUNGBEAN/*Vigna radiata* (L.) Wilczek/CORRELATION ANALYSIS/PATH
COEFFICIENT ANALYSIS/AGRONOMIC AND PHYSIOLOGICAL
CHARACTERS/YIELD IMPROVEMENT/GENE ACTION/HERITABILITY/
POWDERY MILDEW/*Sphaerotheca phaseoli*/RESISTANCE GENE/
INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEAT/MARKER ASSISTED SELECTION

Mungbean yield potential could be increased by improving agronomic characters, physiological characters and disease resistance levels. The objectives of this research were to 1) determine the correlations and direct effects of agronomic characters and physiological characters on seed yield, 2) study the inheritance and heritability of agronomic characters and physiological characters correlated with seed yield, 3) study the inheritance of powdery mildew resistance, and 4) develop inter-simple sequence repeat (ISSR) molecular markers for powdery mildew resistance. The first experiment was carried out to evaluate fifteen agronomic characters and physiological characters in fifty eight varieties/lines including 41 plant introductions, 10 Thai recommended varieties, 3 promising breeding lines, and 4 SUT developed lines. All varieties/lines were planted at Suranaree University of Technology (SUT) Farm in randomized complete block design (RCBD) with four replications. It was found that seed yield was significantly positively correlated with the number of pods/plant, clusters/plant, seeds/pod, seeds/plant, and branches/plant, total dry matter (TDM), biomass, and leaf area

index (LAI). Path coefficient analysis indicated that the number of clusters/plant, seeds/pod, pods/plant, and TDM showed positively high direct effects on seed yield. Therefore, these characters should be used as selection criteria for mungbean yield improvement particularly in this population. The second experiment was conducted to study gene action and heritability of agronomic characters and physiological characters related to seed yield by using generation mean analysis. Twelve crosses between parents with low and high values of seven agronomic characters and physiological characters (TDM, the number of pods/plant, seeds weight/plant, 100 seed weight, the number of seeds/pod, pod length and root length/2,122 cm³ of soil volume) were made, and their F₂, BC₁ and BC₂ were produced. Six populations including P₁, P₂, F₁, F₂, BC₁ and BC₂ were evaluated. The experiment was conducted in RCBD with three replications. It was found that TDM, the number of pods/plant, seed weight/plant and root length/2,122 cm³ of soil volume did not follow the additive-dominant model in all crosses. All types of epistasis gene effects, moderate broad and narrow sense heritability, and at least 1-2 major gene pairs were found to control their expression, except seed weight/plant which showed low heritability and at least 4 major gene pairs. In all crosses, 100 seed weight, the number of seeds/pod and pod length did not show epistasis gene effects. One hundred seed weight and the number of seeds/pod possessed only additive gene effects, while pod length was controlled predominantly by dominant gene effects. Moderate broad and narrow sense heritability and at least 4 (100 seed weight) 3 (number of seeds/pod) and 2 (pod length) major gene pairs were found to control their expression. The third experiment was performed to study the inheritance of powdery mildew resistance in three crosses (KPS1 x V4758, KPS1 x V2106 and KPS2 x V2106) between resistant and susceptible varieties/lines of mungbean. Six populations

including P₁, P₂, F₁, F₂, BC₁ and BC₂, of each cross were subjected to generation mean analysis. The prevalence of additive over dominant gene effects was observed. Interaction of genes was not found in all three crosses. Powdery mildew resistant reaction of all three crosses was controlled by a single dominant gene. The fourth experiment was conducted to develop ISSR molecular markers for powdery mildew resistance. Recombinant inbred lines (RILs; F_{2:6} population) were produced by crossing CN72 (susceptible parent) with V4718 (resistant parent). DNA was extracted from CN72, V4718, ten of F_{2:6} resistant plants (DNA was pooled from all 10 plants to form resistant bulk DNA) and ten of F_{2:6} susceptible plants (DNA was pooled from all 10 plants to form susceptible bulk DNA) for ISSR analysis with forty six ISSR primers. It was found that when touch down temperature from 65-50°C was used at the annealing step, nine primers gave similar DNA banding patterns between resistant parent and resistant bulk DNA, and between susceptible parent and susceptible bulk DNA (unique bands; UB). When the results were confirmed by using 50°C at the annealing step, it was found that each of the ISSR 842 and 885 primers gave a clear UB (ISSR 842_340 and ISSR 885_420, respectively). Twenty individual F_{2:6} plants were evaluated for preliminary estimation of the distance between both ISSR markers and the powdery mildew resistance gene. Both ISSR 842_340 and ISSR 885_420 were detected at approximately ten centiMorgan (cM) away from the powdery mildew resistance gene in mungbean.

School of Crop Production Technology

Academic Year 2009

Student's Signature Pirinya Khojardpan

Advisor's Signature Pirotee Tulpasorn