กิติยา อายากิจ : เครื่องหมาย ISSR และ SSR ที่บ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคราแป้ง และโรคใบจุดในถั่วเขียว (ISSR AND SSR MARKERS LINKED TO POWDERY MILDEW AND CERCOSPORA LEAF SPOT RESISTANCE IN MUNGBEAN) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา อลิฌาณ์ ตันตสวัสดิ์, 77 หน้า.

โรคราแป้ง (powdery mildew) เกิดจากเชื้อรา *Sphaerotheca phaseoli* พบการระบาดในช่วงฤดูแล้งและหนาว ในขณะที่โรคใบจุด (Cercospora leaf spot) ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Cercospora canescens* Ellis & Martin พบการระบาดในฤดูฝนของการผลิตถั่วเขียว (*Vigna radiata* L. Wilczek) โดยทั้งสองโรคนี้ทำให้ผลผลิตในพันธุ์อ่อนแอลดลง 40% และมากกว่า 50% ตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงความต้องการของพันธุ์ต้านทานต่อโรคทั้งสองเพื่อการผลิตถั่วเขียวที่ยั่งยืน การใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกมีความสำคัญสำหรับการพัฒนาพันธุ์ต้านทานที่มียีนต้านทานหลายยีน โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อหาเครื่องหมาย inter simple sequence repeat (ISSR) และ simple sequence repeat (SSR) ที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรคใบจุดและโรคราแป้งในถั่วเขียวสายพันธุ์ V4718 โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้ประชากร $F_{2:7}$, $F_{2:8}$ และ $F_{2:9}$ recombinant inbred line (RIL) จากคู่ผสมระหว่างพันธุ์ CN72 (พันธุ์อ่อนแอและให้ผลผลิตสูง) และสายพันธุ์ V4718 (สายพันธุ์ต้านทาน) ทำการประเมินความต้านทานต่อโรคทั้งสองในประชากร RIL ภายใต้สภาพแปลงทดลองระหว่างฤดูแล้งและหนาวของปี พ.ศ. 2556 และ 2559 สำหรับโรคราแป้ง และช่วงฤดูฝนของปี พ.ศ. 2559 และ 2560 สำหรับโรคใบจุด การวิเคราะห์การกระจายตัวแสดงให้เห็นว่าลักษณะความต้านทานโรคราแป้งและโรคใบจุดถูกควบคุมโดยยีนเดี่ยวแบบข่ม ใช้เครื่องหมาย ISSR จำนวน 20 ไพรเมอร์ และ SSR จำนวน 11 เครื่องหมาย เพื่อระบุหาเครื่องหมายที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอที่น่าจะมีความสัมพันธ์กับความต้านทานโรคใบจุดและโรคราแป้งด้วยวิธี bulk segregant analysis (BSA) เครื่องหมาย ISSR จำนวน 2 เครื่องหมาย (I13306 และ I13311) แสดงความแตกต่างและมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความต้านทานต่อโรคราแป้ง และเครื่องหมาย SSR จำนวน 5 เครื่องหมาย (CEDAAG002, CEDC050, CEDG084, VR108 และ VR393) แสดงความแตกต่างและมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความต้านทานต่อโรคใบจุด นอกจากนี้ยังพบว่าเครื่องหมาย I13306, I13311 และ VR393 มีความสัมพันธ์กับความต้านทานต่อโรคทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่ายีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคทั้งสองอาจอยู่ใกล้กัน จากเครื่องหมายเหล่านี้พบว่าเครื่องหมาย VR393 แสดงค่า LOD สำหรับโรคทั้งสองมากที่สุด (> 5.0 สำหรับโรคใบจุดและ >3.0 สำหรับโรคราแป้ง) ซึ่งช่วยยืนยันความสัมพันธ์ของเครื่องหมายนี้กับยีนต้านทานต่อโรคทั้งสอง การวิเคราะห์ด้วยวิธี multiple interval mapping (MIM) พบ QTL 1 ตำแหน่ง (*qCLSC72V18*) ที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรคใบจุด และ QTL 1

ตำแหน่ง (*qPMC72V18*) ที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรคราแป้งในประชากร RIL ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์ CN72 และสายพันธุ์ V4718 โดย *qCLSC72V18* และ *qPMC72V18* อยู่ระหว่างเครื่องหมาย VR108 กับ VR393 ซึ่งสามารถอธิบายความแปรปรวนของคะแนนการเกิดโรคใบจุดและโรคราแป้งในทั้งสองฤดูการปลูกได้ 22.9-43.5% และ 13.9-20.2% ตามลำดับ เครื่องหมายที่มีความเชื่อมโยงกับยีนต้านทานโรคทั้งสองนี้สามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกเพื่อรวมยีนต้านทานโรคใบจุดและโรคราแป้งในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวในอนาคต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา กิตติยา อาชาทัง

ปีการศึกษา 2562 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

KITIYA ARSAKIT : ISSR AND SSR MARKERS LINKED TO POWDERY MILDEW AND CERCOSPORA LEAF SPOT RESISTANCE IN MUNGBEAN. THESIS ADVISOR : PROF. PIYADA ALISHA TANTASAWAT, Ph.D. 77 PP.

BULK SEGREGANT ANALYSIS (BSA)/LINKAGE/MOLECULAR MARKER/ QUANTITATIVE TRAIT LOCI (QTL)/RESISTANCE GENE

Powdery mildew (PM) caused by the fungus *Sphaerotheca phaseoli* is a serious disease during the cool-dry season while Cercospora leaf spot (CLS) caused by the fungus *Cercospora canescens* Illis & Martin is a serious disease during the rainy season of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) production. PM and CLS diseases incur total yield loss of up to 40% and more than 50% in susceptible cultivars, respectively, suggesting the requirement of resistant cultivars to both diseases for sustainable mungbean production. Marker-assisted selection (MAS) is crucial for developing resistant cultivars with multiple resistance genes. The objective of this study was to identify inter simple sequence repeat (ISSR) and simple sequence repeat (SSR) markers which are linked to CLS and PM resistance genes in V4718. An $F_{2:7}$, $F_{2:8}$ and $F_{2:9}$ recombinant inbred line (RIL) population derived from a cross between CN72 (susceptible cultivar with high yield) and V4718 (resistant line) was used in this study. Each resistance to both diseases in RIL population was evaluated under field conditions during the cool-dry seasons of 2013 and 2016 for PM resistance, and the rainy seasons of 2016 and 2017 for CLS resistance. The segregation analysis showed that each resistance to PM and CLS is controlled by single dominant genes. A total of twenty ISSR primers and eleven SSR markers were used in bulk segregant analysis (BSA) to identify polymorphic markers between resistant and

susceptible cultivar/lines possibly associated with CLS and PM resistance. Only two ISSR markers (I13306 and I13311) were polymorphic and significantly associated with the PM resistance. And only five SSR markers (CEDAAG002, CEDC050, CEDG084, VR108, and VR393) were found polymorphic and significantly associated with the CLS resistance. Moreover, I13306, I13311 and VR393 markers were significantly associated with both disease resistance, suggesting that the genes conferring resistance to these diseases may be co-localized. Among these markers, VR393 exhibited the highest LOD scores for both diseases (> 5.0 for CLS and > 3.0 for PM), confirming that it was associated with resistance genes for both diseases. The multiple interval mapping (MIM) consistently identified one QTL (*qCLSC72V18*) linked to CLS resistance and one QTL (*qPMC72V18*) linked to PM resistance in $F_{2:7}$ RIL population of the cross between CN72 and V4718. *qCLSC72V18* and *qPMC72V18* were localized between VR108 and VR393 markers and accounted for 22.9-43.5% and 13.9-20.2% of the CLS and PM disease score variation in both growing seasons, respectively. The markers that were closely linked to both resistance genes could be used in MAS for combining CLS and PM resistance in future mungbean breeding.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Crop production Technology Student's Signature Kitiya Arsakit

Academic Year 2019 Advisor's Signature Pimda Srisuka Tulsuwan