วิศรุต เชื้อขุนทด : การพัฒนาถั่วเขียวสายพันธุ์ปรับปรุงให้ต้านทานโรคใบจุดและราแป้งโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยรวมยีน (DEVELOPMENT OF MUNGBEAN BREEDING LINES WITH IMPROVED RESISTANCE TO CERCOSPORA LEAF SPOT AND POWDERY MILDEW BY MOLECULAR MARKER ASSISTED GENE PYRAMIDING) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา อลิฌาณ์ ตันตสวัสดิ์, 90 หน้า.

การพัฒนาถั่วเขียวที่มีความต้านทานแบบกว้างต่อโรคใบจุดและราแป้งสามารถทำได้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยรวมยีนในการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีผสมกลับ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) คัดเลือกพันธุ์ให้ที่มียีนต้านทานโรคใบจุดและราแป้งโรคละ 1 ยีนจากสายพันธุ์ต้านทาน V4718 และยีนต้านทานโรคราแป้ง 1 ยีนจากสายพันธุ์ต้านทาน V4785 2) คัดเลือกพันธุ์รับโดยอาศัยความแตกต่างทางพันธุกรรมกับพันธุ์ให้ที่ตำแหน่งซึ่งเชื่อมโยงกับยีนต้านทานโรคใบจุดและราแป้งเหล่านี้ และ 3) รวมยีนต้านทานหลายยีนเข้าสู่พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงโดยการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีผสมกลับร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือก การทดลองที่ 1 ทำการคัดเลือกพ่อแม่ที่เหมาะสมโดยการวิเคราะห์ความแตกต่างที่ได้จากเครื่องหมายโมเลกุลจำนวน 6 เครื่องหมาย ได้แก่ เครื่องหมาย inter-simple sequence repeat (ISSR) (I85420) และ ISSR-anchored resistance gene analog (ISSR-RGA) (I42PL222) ซึ่งอยู่ขนาบข้างยีนต้านทานโรคราแป้งในสายพันธุ์ V4718 เครื่องหมาย simple sequence repeat (SSR) (VR393 และ CEDG084) ซึ่งอยู่ขนาบข้างยีนต้านทานโรคใบจุดในสายพันธุ์ V4718 และเครื่องหมาย ISSR-RGA (I27R211 และ I27R565) ซึ่งเชื่อมโยงกับยีนต้านทานโรคราแป้งในสายพันธุ์ V4785 ในการศึกษาครั้งนี้ทำการคัดเลือกพันธุ์ให้จากลูกผสมจำนวน 36 สายพันธุ์ ที่มียีนต้านทานโรคใบจุดจำนวน 1 ยีน (จาก V4718) และยีนต้านทานโรคราแป้งจำนวน 2 ยีน (จาก V4718 และ V4785) ขณะที่การคัดเลือกพันธุ์รับใช้ถั่วเขียวผิวมันจำนวน 23 พันธุ์/สายพันธุ์ พบว่า จากลูกผสมทั้งหมด 36 สายพันธุ์มีเพียง 10 สายพันธุ์ที่มีเครื่องหมายซึ่งเชื่อมโยงกับความต้านทานโรคใบจุดและราแป้งครบทั้ง 6 ตำแหน่ง จึงนำมาใช้เป็นพันธุ์ให้ ส่วนพันธุ์รับในการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีผสมกลับร่วมกับการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกครั้งนี้ ได้เลือกใช้พันธุ์รับรองของไทย (มทส 1) ซึ่งพัฒนาโดยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และพันธุ์นำเข้าที่มีศักยภาพ (KING) จาก World Vegetable Center เนื่องจากมีความแตกต่างของอัลลีลจากเครื่องหมายที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคใบจุดและราแป้งจำนวน 6 ตำแหน่งกับพันธุ์ให้ การทดลองที่ 2 ทำการรวมยีนต้านทานโรคใบจุดจำนวน 1 ยีน และยีนต้านทานโรคราแป้งจำนวน 2 ยีน จากพันธุ์ให้จำนวน 10 สายพันธุ์เข้าสู่พันธุ์รับ มทส 1 และ KING โดยใช้เครื่องหมายเหล่านี้คัดเลือกแบบ foreground และคัดเลือกลูกผสมกลับที่มี

พันธุกรรมใกล้เคียงพันธุ์รับด้วยการคัดเลือกแบบ background โดยใช้ชุดเครื่องหมาย SSR, EST-SSR และ ISSR อื่นที่ไม่ได้เชื่อมโยงกับยีนต้านทานเหล่านี้ พบว่า ปริมาณจีโนมของพันธุ์รับในลูกผสมกลับ BC_2F_1 ซึ่งได้จากคู่ผสมที่ใช้ มทส 1 เป็นพันธุ์รับ คือ 87.2-97.6% แต่เมื่อวิเคราะห์ background ในลูกผสมกลับ BC_2F_1 ซึ่งได้จากคู่ผสมที่ใช้ KING เป็นพันธุ์รับ พบปริมาณจีโนมของพันธุ์รับสูงถึง 84.7-100% ลูกผสมกลับ BC_2F_1 ที่มีปริมาณจีโนมเหมือนพันธุ์รับสูงสุดบางต้นแสดงความต้านทานต่อโรคใบจุดสูงในระดับห้องปฏิบัติการ การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกเพื่อเร่งการผสมกลับของลูกผสมกลับที่ได้จากการรวมยีนเหล่านี้ นอกจากนี้สายพันธุ์ปรับปรุงที่ต้านทานโรคใบจุดและราแป้งที่ได้ จะเป็นประโยชน์ต่อการผลิตถั่วเขียวพันธุ์ต้านทานสำหรับใช้ในพื้นที่ที่มีแนวโน้มการระบาดของโรค รวมทั้งในระบบเกษตรอินทรีย์ในอนาคต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2562

ลายมือชื่อนักศึกษา วิศรุต เชื้อขุนทด
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

WITSARUT CHUEAKHUNTHOD : DEVELOPMENT OF MUNGBEAN BREEDING LINES WITH IMPROVED RESISTANCE TO CERCOSPORA LEAF SPOT AND POWDERY MILDEW BY MOLECULAR MARKER ASSISTED GENE PYRAMIDING. THESIS ADVISOR : PROF. PIYADA ALISHA TANTASAWAT, Ph.D., 90 PP.

ISSR/ISSR-RGA/MARKER ASSISTED BACKCROSS BREEDING (MABB)/SSR/ *Vigna radiata* (L.) Wilczek/*Vigna mungo* (L.) Hepper

The development of mungbean with broad spectrum resistance to Cercospora leaf spot (CLS) and powdery mildew (PM) could be achieved by molecular marker assisted gene pyramiding through backcross breeding. The objectives of this study were to 1) select donor parents possessing each of resistance genes for CLS and PM from V4178 and another PM resistance gene from V4785, 2) select recurrent parents based on genetic polymorphism compared with donor parents at marker loci linked to these CLS and PM resistance genes, and 3) pyramid multiple resistance genes into high yielding mungbean varieties through marker assisted backcross breeding (MABB). The first experiment was carried out to select the suitable parents by means of marker polymorphism analysis with 6 marker loci; inter-simple sequence repeat (ISSR) (I85420) and ISSR-anchored resistance gene analog (ISSR-RGA) (I42PL222) markers flanked a PM resistance gene in V4718, simple sequence repeat (SSR) (VR393 and CEDG084) markers flanked a CLS resistance gene in V4718, and ISSR-RGA (I27R211 and I27R565) markers associated with a PM resistance gene in V4785. In this study, 36 hybrids were subjected to selection of donor parents with a CLS resistance gene (from V4718) and 2 PM resistance genes (from V4718 and V4785),

while selection of recurrent parents was based on 23 mungbean varieties/lines. From total of the 36 hybrids, only 10 were present with all 6 marker loci associated with CLS and PM resistance, thereby being used as donor parents. While Thai certified variety (SUT1) developed by Suranaree University of Technology (SUT) and one promising plant introduction derived from the World Vegetable Center (KING) were selected as recurrent parents in MABB because of their distinctive allele polymorphisms among 6 marker loci compared with the donor parents. The second experiment was conducted to pyramid a CLS resistance gene and 2 PM resistance genes from 10 donor parents into SUT1 and KING using foreground selection by those of marker loci. And backcross (BC) progenies having close genetics with recurrent parents were selected by background selection. Background selection was carried out using other SSR, EST-SSR, and ISSR marker loci unlinked to these resistance genes. Recurrent parent genome (RPG) recovery of BC_2F_1 in the crosses that used SUT1 as recurrent parent was 87.2-97.6%. While background analysis in BC_2F_1 from the crosses using another recurrent parent (KING) reached 84.7-100% RPG recovery. Some of the BC_2F_1 plants with the maximum RPG recovery were highly resistant to CLS under laboratory condition. This study revealed the usefulness of marker assisted selection (MAS) to accelerate backcrossing of these BC plants. Moreover, it can be expected that the improved CLS and PM breeding lines of SUT1 and KING will be beneficial for the production of resistant mungbean varieties useful for prone areas with disease epidemics and organic farming systems in the future.

School of Crop production Technology

Academic Year 2019

Student's Signature Witsarut Chueakhunthod

Advisor's Signature Pipob Alisha Tanlamai

Co-advisor's Signature Wanpen Singgool