วารสารแก่นเกษตร

Khon Kaen Agriculture Journal SUPPL.
Agricultural Conference
Journal Home Page : https://ag2.kku.ac.th/kaj

JOURNAL KAJ

การจัดกลุ่มถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) ต้านทานโรคราแป้งด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์

Classification of powdery mildew resistance in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) using SSR markers

ธีรวุฒิ วงศ์วรัตน์[1], อัจฉรา จอมสง่าวงศ์[2] และ เชาวนาถ พฤทธิเทพ[2]*

Theerawut Wongwarat[1], Achara Jomsangawong[2] and Chaowanart Phruetthithep[2]*

[1] ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น 180 ตำบลศิลา อำเภอเมืองขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น
[1] Khon Kaen Field Crops Research Center, 180, Sila, Muang, Khon Kaen
[2] ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท 522 ตำบลบางหลวง อำเภอสรรพยา จังหวัดชัยนาท
[2] Chai Nat Field Crops Research Center, 522, Bang Luang, Sapphaya, Chai Nat

บทคัดย่อ: การประเมินการเป็นโรคราแป้งในถั่วเขียวทำได้เพียงปีละครั้งเท่านั้น ในช่วงของฤดูหนาว จึงทำให้เป็นอุปสรรคสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวต้านทานโรคราแป้ง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการจัดกลุ่มถั่วเขียวด้วยเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ ร่วมกับการประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้งในถั่วเขียว จากการประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้ง พบว่าเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และร้อยละการเป็นโรคเมื่ออายุครบ 30 และ 50 วันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) และมีความสัมพันธ์กันระดับปานกลาง (r = 0.677**) การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ 6 เครื่องหมาย พบว่าสามารถจัดกลุ่มได้ 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 และ 2 ประกอบด้วยพันธุ์/สายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีเปอร์เซ็นการเป็นโรคราแป้งระดับปานกลางถึงสูง หรือต้านทานโรคระดับปานกลางถึงอ่อนต่อโรคราแป้ง ส่วนกลุ่มที่ 3 เป็นสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้งต่ำ หรือต้านทานต่อโรคราแป้ง ผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ทั้ง 6 เครื่องหมาย สามารถนำมาใช้ในการจัดกลุ่มถั่วเขียวได้และเกี่ยวข้องกับเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้ง ดังนั้นเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์นี้จึงนำมาประยุกต์ใช้สำหรับเป็นเครื่องมือในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ และลูกผสมในขั้นตอนของการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวได้ต่อไป
คำสำคัญ: เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์; โรคราแป้งในถั่วเขียว; ร้อยละการเป็นโรคราแป้ง

ABSTRACT: The evaluation of powdery mildew disease can be done only once a year during the winter. This makes it a major obstacle in breeding powdery mildew resistant in mungbean. Therefore, the purpose of this research was to classification of mungbean using SSR markers together with the assessment of powdery mildew disease percentage. The results revealed that the percentage of powdery mildew disease was statistically significant (P<0.05). The percentage of powdery mildew disease at 30 and 50 days after planting were significantly (P<0.01) and moderately correlated (r = 0.677**). A dendrogram construction based on DNA band information from amplification using 6 SSR markers showed that the mungbeans were classified into 3 groups. Group 1 and 2 included moderately and high percentage of powdery mildew disease of lines/varieties or moderately resistant or susceptible to the disease. Group 3 included mungbean lines/varieties that had low percentage of powdery mildew disease or resistance to the disease. This research suggested that 7 SSR markers could be used as classified mungbeans and associated with percentage of powdery mildew disease. The SSR markers from this study can be applied for parental and hybrids selection in mungbean breeding program on the futher.
Keywords: SSR markers; powdery mildew disease in mungbean; percentage of powdery mildew disease

* Corresponding author: theerawut6949@gmail.com

บทนำ

ถั่วเขียวเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้ภายในประเทศเพื่อการบริโภคโดยตรงและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยเฉพาะอุตสาหกรรมอาหารแปรรูปวุ้นเส้น ความต้องการผลผลิตถั่วเขียวในตลาดยังคงเติบโตอย่างต่อเนื่อง สวนทางกลับพื้นที่ปลูกที่มีน้อย และผลผลิตถั่วเขียวยังได้รับความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Oidium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคราแป้ง มีรายงานผลกระทบของโรคราแป้งต่อผลผลิตของถั่วเขียวในหลายประเทศทั่วโลก ในประเทศอินเดียผลผลิตเสียหายคิดเป็น 20 – 100% (Khunti et al., 2005) ในประเทศไทยถั่วเขียวพันธุ์อู่ทอง 1 ผลผลิตลดลงร้อยละ 21 (บุษราคัม และคณะ, 2538) โรคราแป้งในถั่วเขียวมีการระบาดในฤดูหนาว ในสภาพอากาศค่อนข้างแห้งและเย็น เมื่อถั่วเขียวถูกเชื้อราเข้าทำลาย เชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมอยู่บนใบ ทำให้ใบเสียพื้นที่การสังเคราะห์ด้วยแสง และทำให้ต้นตายเมื่อเป็นโรคอย่างเต็มที่ (Soria and Quebral, 1973) ปัจจุบันการป้องกันกำจัดโรคราแป้งยังคงใช้สารเคมีเบโนมิลร้อยละ 50 อัตรา 15-20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อถั่วเขียวอายุ 30 วัน และพ่นซ้ำทุก 10 วัน รวม 3 ครั้ง (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2545) ซึ่งไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวให้ได้พันธุ์ที่ต้านทานการโรคราแป้ง เป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึงอย่างยิ่ง แต่ขั้นตอนการประเมินการเป็นโรคราแป้งทำได้เฉพาะในช่วงฤดูแล้งเท่านั้น การพัฒนาพันธุ์จึงล่าช้า การนำเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์เข้ามาช่วยในการจัดกลุ่มและจำแนกพันธุ์ถั่วเขียว สามารถดำเนินการได้ตลอดทั้งปี ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์เพื่อนำมาใช้ในการจัดกลุ่มทางพันธุกรรม สำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวต่อไป

วิธีการศึกษา

ตัวอย่างพืช

พันธุ์ถั่วเขียวจำนวน 20 พันธุ์/สายพันธุ์ ดังนี้ พันธุ์ Chai Nat 3, Chai Nat 36, Chat Nat 72, Chai Nat 84-1, Kampangsan 2, SUT1สายพันธุ์ 300184, 500167, CNMB06-03-60-7, LM 19, ML-5, MN 98, V1415 (403669), V2540 (000199), V2564 (000202), V4718, VC1210A, VC1973A (500165), VC6468-1-1A และ VI000071B-Y

การประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้ง

ปลูกถั่วเขียวในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว ในสภาพพื้นที่ที่มีประวัติการระบาดของโรคที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท จนกระทั่งถั่วเขียวแสดงอาการของโรคราแป้ง จากนั้นปลูกถั่วเขียวที่ใช้ในงานวิจัย พันธุ์/สายพันธุ์ละ 4 กระถาง จำนวน 3 ต้นต่อกระถาง เมื่อถั่วเขียวมีอายุ 14 วัน ให้ปลูกเชื้อราโดยการนำใบถั่วเขียวที่เป็นโรคราแป้งมาปัดสปอร์ของเชื้อรา *Oidium* sp. ลงบนใบถั่วเขียว เมื่ออายุครบ 50 วัน บันทึกผลเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคตามกรรมวิธีของ อำภา และคณะ (2538)

การสกัดดีเอ็นเอ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ และการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

การสกัดดีเอ็นเอ

คัดเลือกเมล็ดถั่วเขียวที่สมบูรณ์จำนวน 20 เมล็ดต่อพันธุ์/สายพันธุ์ นำมาเพาะให้งอกในวัสดุเพาะ เมื่องอกเป็นต้นกล้าให้เก็บใบอ่อนมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ 0.1 กรัม ใส่ลงในโกร่งที่มีไนโตรเจนเหลว บดให้ละเอียดเป็นผงแล้วเติมน้ำยาสกัดดีเอ็นเอ (DNeasy Plant Kit, QIAGEN) จากนั้นตรวจสอบคุณภาพสารสกัดดีเอ็นเอด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวนหาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของสารสกัดดีเอ็นเอให้อยู่ในช่วงระหว่าง 1.65-1.85

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์

สารสกัดดีเอ็นเอที่ได้ถูกนำมาใช้เป็นสารพันธุกรรมต้นแบบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์จำนวน 6 เครื่องหมาย ดังแสดงใน **Table** 2 ซึ่งถูกคัดเลือกมาจากเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ทั้งหมด 50 เครื่องหมาย มีขั้นตอนการเตรียมปฏิริยาพีซีอาร์เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอปริมาตรสุทธิ 15 ไมโครลิตร มีส่วนผสมตามชุดน้ำยา *Taq* PCR Core Kit (QIAGEN) มีขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอดังนี้ ขั้นที่ 1 Pre-denature 94°C นาน 3 น. ขั้นตอนที่ 2 Denature 94°C นาน 1 น. Annealing 55°C นาน 1 น. Extension 72°C นาน 1 น. จำนวน 35 รอบ ขั้นตอนที่ 3 Final extension 72°C นาน

7 น. จากนั้นตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ด้วยเทคนิคอะการ์โรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ใช้ความเข้มข้นอะการ์โรส 5% กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 3 ชม. และนำแผ่นเจลมาผ่านแสง LED แล้วบันทึกภาพแถบดีเอ็นเอ

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

พิจารณาภาพถ่ายดีเอ็นเอโดยการเปรียบเทียบดีเอ็นเอที่อยู่ตำแหน่งเดียวกันทุกตำแหน่ง ถ้ามีแถบดีเอ็นเอปรากฏให้สัญลักษณ์ “1” ถ้าไม่มีแถบดีเอ็นเอให้สัญลักษณ์ “0” บันทึกข้อมูลทุกตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอในแต่ละเครื่องหมายเอสเอสอาร์ แล้วนำข้อมูลที่ได้เปรียบเทียบความเหมือนและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอทั้งหมดมาค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรม (Similarity coefficient) การจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA สร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยวิธีการของ SAHN โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc version 2.10p (Jaccard, 1908)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ไคสแควร์ (Chi-square)

นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้งเมื่ออายุครบ 30 และ 50 วัน มาหาความสัมพันธ์โดยการวิเคราะห์ไคสแควร์ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient) แบ่งระดับความสัมพันธ์ตามเกณฑ์ของ Zady (2000)

การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเป็นโรคราแป้งกับรูปแบบอัลลีลของแต่ละเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ด้วยวิธี Correlation Coefficient

การวิเคราะห์ความเชื่อมโยงของเครื่องหมายเอสเอสอาร์กับระดับการเป็นโรคราแป้ง

วิเคราะห์ความเชื่อมโยงของเครื่องหมายเอสเอสอาร์กับระดับการเป็นโรคราแป้ง ด้วยวิธี Multiple locus regression

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการประเมินลักษณะปรากฏความต้านทานโรคราแป้ง

เก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้ง เมื่อถั่วเขียวอายุครบ 30 และ 50 วัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดัง **Table 1** การประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้ง เมื่อถั่วเขียวอายุครบ 30 วัน พบว่าพันธุ์/สายพันธุ์ถั่วเขียวที่เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้งมากที่สุดและน้อยที่สุด ได้แก่ พันธุ์ Chai Nat 84-1 และ สายพันธุ์ V2564 (000202) (18.00 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) เมื่อถั่วเขียวอายุครบ 50 วัน พบว่าพันธุ์/สายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้งมากที่สุดและน้อยที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ ML-5 และสายพันธุ์ V2564 (000202) (83.15 และ 12.59 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) ผลของการบันทึกภาพลักษณะปรากฏอาการของโรคเมื่อถั่วเขียวอายุครบ 50 วัน พบว่า มีลักษณะปรากฏอาการของโรคราแป้ง 4 ระดับ ดัง **Figure** 1 ดังนี้ ระดับที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 1-25 ได้แก่ สายพันธุ์ V2564 (000202) (12.59%), VC6468-1-1A (21.48%), V4718 (22.13%) และ VC1210A (22.79%) ระดับที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 26-50 ได้แก่ สายพันธุ์ VC1973A (500165) (32.90%), V2540 (000199) (39.17%), LM 19 (42.96%) และ 300184 (50.43%) ระดับที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 51-75 ได้แก่ สายพันธุ์ 500167 (51.77%), MN 98 (56.22%), CNMB06-03-60-7 (57.13%), VI000071B-Y (58.75%), พันธุ์ SUT 1 (61.54%), Chai Nat 3 (64.65%) และ Chai Nat 72 (74.63%) และระดับที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 76-100 ได้แก่ สายพันธุ์ V1415 (403669) (75.94%) พันธุ์ Kampangsan 2 (76.10%), Chai Nat 84-1 (79.28%), Chai Nat 36 (80.90%) และสายพันธุ์ ML-5 (83.15%)

Table 1 Powdery mildew disease percentage of different mungbean lines/varieties at 50 days

Lines/Varieties	Disease percentage at 50 days	PM symptom of level		Lines/Varieties	Disease percentage at 50 days	PM symptom of level	
Chai Nat 3	64.65 a-c	3	MS	ML-5	83.15 a	4	S
Chai Nat 36	80.90 a	4	S	MN 98	56.22 a-d	3	MS
Chai Nat 72	74.63 ab	4	S	V1415 (403669)	75.94 ab	4	S
Chai Nat 84-1	79.28 a	4	S	V2540 (000199)	39.17 d-g	2	MR
Kampangsan 2	76.10 ab	4	S	V2564 (000202)	12.59 i	1	R
SUT 1	61.54 a-c	3	MS	V4718	22.13 h	1	R
300184	50.43 cd	2	MR	VC1210A	22.79 gh	1	R
500167	51.77 b-d	2	MR	VC1973A (500165)	32.90 f-h	2	MR
CNMB06-03-60-7	57.13 a-d	3	MS	VC6468-1-1A	21.48 gh	1	R
LM 19	42.96 c-f	2	MR	VI000071B-Y	58.75 a-d	3	MS

* Means within the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$); PM = Powdery mildew systems, R = Resistant, MR = Moderate resistant, MS = Moderate susceptible, S = Susceptible

Figure 1 Powdery mildew symptoms on mungbean. (A) Powdery mildew symptoms of level 1 = Resistant; (B) level 2 = Moderate resistant; (C) of level 3 = Moderate susceptible; (D) level 4 = Susceptible

การจัดกลุ่มทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ 6 เครื่องหมาย และตรวจสอบขนาดของผลผลิตพีซีอาร์ด้วยเทคนิคอะการ์โรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส จากการบันทึกข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ พบว่ามีแถบดีเอ็นเอจำนวนทั้งสิ้น 19 แถบ ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดตั้งแต่ 100-250 คู่เบส นำข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรม พบว่ามีค่าระหว่าง 0.52-1.00 เมื่อนำมาจัดกลุ่มและสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ดัง **Figure 1** ค่าสัมประสิทธิ์ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่ม 0.59 ทำให้สามารถแบ่งกลุ่มได้ 3 กลุ่ม ดังนี้

Table 2 List of 7 SSR markers used for the amplification

Names	Sequences (5'-3') Forward primer	Reveres primer	Citation	PCR product size (bp)	Number of Alleles	Correlation
CEDG037	GAAGAAGAACCCTACCACAG	CACCAAAAACGTTCCCTCAG	Kitiya (2019)	110 - 130	3	0.702**
CEDG232	GATGACCAAGGTAACGTG	GGACAGATCCAAAACGTG		170 - 220	5	0.451*
CEDAAG002	GCAGCAACGCACAGTTTCATGG	GCAAAACTTTTCACCGGTACGACC		140 - 190	3	0.481*
VrCS SSR2	GTTGAAAACTACAATACACT	ACCAACAGTTCCATATCATG	Zhang et al. (2008)	200 - 250	3	0.488*
MB-SSR238	AGCTATTGGTGCATAGGTTC	GATATGATGAGTATGGTGTAG	Pavithra et al. (2021)	140 - 190	3	0.712**
CEDG166	GGTACAACATTCTTCTATTTG	GGCTTATGAGTTTATCTTATC		180 - 190	2	0.415*

** Correlation is signification at the 0.01 level

* Correlation is signification at the 0.05 level

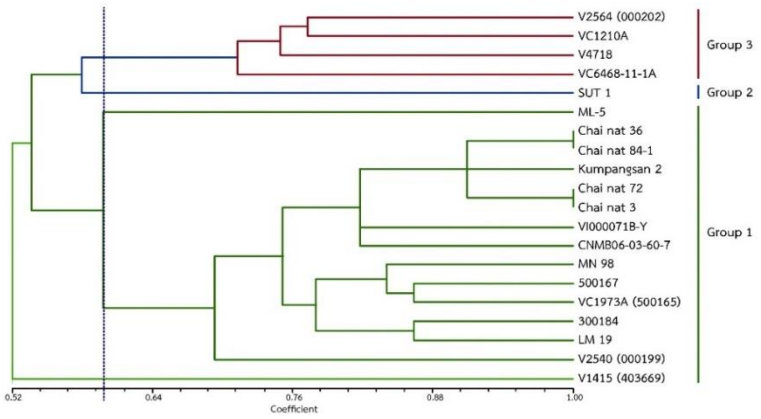

Figure 2 Dendrogram generated using UPGMA showing genetic distances between 20 mungbean lines/varieties based on band scores of SSR markers

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย 15 พันธุ์/สายพันธุ์ ดังนี้ พันธุ์ Chai Nat 3, Chai Nat 36, Chai Nat 72, Chai Nat 84-1 และ Kampangsan 2 สายพันธุ์ 300184, 500167, CNMB06-03-60-7, MN 98, ML-5, LM 19, V1415 (403669), V2540 (000199), VC1973A (500165) และ VI000071B-Y

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วย 1 พันธุ์ ดังนี้ พันธุ์ SUT 1

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย 4 สายพันธุ์ ดังนี้ V2564 (000202), V4718, VC1210A และ VC6468-11-1A

เมื่อพิจารณาผลของการจัดกลุ่มจากข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่บันทึกได้ร่วมกับข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้งเมื่อถั่วเขียวอายุครบ 50 วัน พบว่าพันธุ์/สายพันธุ์ถั่วเขียวในกลุ่มที่ 1 และ 2 มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้งปานกลางถึงสูง (32.90- 83.15%) จึงกล่าวได้ว่าเป็นกลุ่มที่ประกอบด้วยพันธุ์/สายพันธุ์ถั่วเขียวที่ต้านทานโรคราแป้งระดับปานกลางถึงอ่อนแอต่อโรคราแป้ง พันธุ์ SUT 1 เป็นพันธุ์ที่ต้านทานโรคใบจุด ซึ่งมาจากการผสมระหว่างพันธุ์อู่ทอง 1 กับ VCI1560D ซึ่งเครื่องหมายดีเอ็นเอบางเครื่องหมายสามารถใช้ร่วมกันได้ทั้งสองโรค จึงเป็นไปได้ว่าบางเครื่องหมายจากผลงานวิจัยนี้อาจใช้ในการจำแนกโรคใบจุดได้ ในขณะที่กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยสายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์เป็นโรคราแป้งต่ำ (12.59-22.79%) จึงกล่าวได้ว่าเป็นกลุ่มที่ประกอบด้วยสายพันธุ์ถั่วเขียวที่ต้านทานโรคราแป้ง เมื่อวิเคราะห์ความเชื่อมโยงระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์กับระดับการเป็นโรคอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งมีอิทธิพลเป็นร้อยละ 73.9 (ไม่แสดงข้อมูล) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์กับระดับการเป็นโรคอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$ และ

p<0.05) ดัง **Table** 2 มีรายงานการศึกษา พบว่าเครื่องหมาย VrCS SSR2 เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานโรค ราแป้งในถั่วเขียว (Zhang et al., 2008) เครื่องหมาย VrCSSTS1 VrCSSTS2 CEDG191 CEDG166 CEDG238 และ MB-SSR238 มีความเชื่อมโยงกับพันธุ์ที่ต้านทานโรคราแป้ง (Pavithra et al., 2021) ผลของงานวิจัยนี้นำไปใช้ในการใช้คัดเลือกพันธุ์พ่อแม่ของคู่ผสม และลูกผสมที่มีความต้านทานโรคราแป้ง การใช้เครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ในการจัดกลุ่มและจำแนกถั่วเขียวต้านทานโรคราแป้งสามารถทำได้ตลอดทั้งปี ไม่มีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง ซึ่งแตกต่างจากวิธีการเดิมที่ใช้วิธีการประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้งได้ปีละ 1 ครั้งเท่านั้น ทำให้ขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวที่มีลักษณะความต้านทานโรคราแป้งมีประสิทธิภาพมากขึ้น

สรุป

จากการดำเนินการจัดกลุ่มถั่วเขียวร่วมกับประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคราแป้ง พบว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 เป็นกลุ่มที่ต้านทานโรคราแป้งระดับปานกลางถึงระดับอ่อนแอต่อโรคราแป้ง กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่ต้านทานโรคราแป้ง แสดงให้เห็นว่าข้อมูลดีเอ็นเอที่ได้จากเครื่องหมายโมเลกุลเอสเอสอาร์ 6 เครื่องหมายสามารถใช้ในการจัดกลุ่มตามระดับความต้านทานของโรคราแป้งในถั่วเขียวได้ ข้อมูลเหล่านี้ถูกนำมาใช้คัดเลือกพันธุ์พ่อแม่ในการสร้างประชากรลูกผสมเพื่อให้ได้ลูกผสมที่ต้านทานโรคราแป้งที่ให้ผลผลิตดี ซึ่งสามารถทดสอบได้ตลอดทั้งปี ต่างจากการประเมินร้อยละการเป็นโรคซึ่งทำได้ปีละครั้งเท่านั้น ทำให้การพัฒนาพันธุ์ถั่วเขียวมีประสิทธิภาพและรวดเร็วมากขึ้น

คำขอบคุณ

บทความวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการทดลองเรื่อง “การใช้เครื่องหมายโมเลกุลค้นหาตำแหน่งยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว” รหัสการทดลอง FF65-27-02-65-01-04-65 โดยศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น กรมวิชาการเกษตร ได้รับการสนับสนุนจาก กองทุนส่งเสริม ววน.

เอกสารอ้างอิง

กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2545. คู่มือโรคพืชไร่. เอกสารวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อำภา สืบรสปลื้ม, บุษราคัม อุดมศักดิ์ และปรีชา สุรินทร์. 2538. งานวิจัยโรคถั่วเขียว ปี 2536-2537. น. 129-141. ใน การสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานถั่วเขียว ครั้งที่ 6. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, นครราชสีมา.

สมพงศ์ จันทร์แก้ว, ประกิจ สมท่า, วรวิทย์ โสรัจจาภินันท์, ธนพร ขจรผล, สุขุมาภรณ์ ศรีเผด็จ และพีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2554. เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ที่เชื่อมโยงกับลักษณะความต้านทานโรคราแป้งในถั่วเขียว. แก่นเกษตร. 39(ฉบับพิเศษ 3): 215-220.

Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches surl la distribution florale. Bulletin de la Societe vaudoise des Sciences Naturelles. 44: 223-170.

Khunti, J.P., M.F. Bhoranya, and V.D. Vora. 2005. Management of powdery mildew and Cercospora leaf spot of mungbean by some systemic fungicides. Legume Research. 28(1): 65-67.

Kitiya, A. 2019. ISSR and SSR markers linked to powerdery mildew and cercospora leaf spot resistance in mungbean. M.S. Thesis. Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima.

Pavithra, B.S., L. Behera, and K.C. Samal. 2021. Genetic diversity analysis and validation of microsatellite markers liked with tolerance to powdery mildew disease in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Legume Research-An International. LR-4472: 1-10.

Sodia, J.A., and F.C. Quebral. 1973. Occurrence and development of powdery mildew on yield, yield components and seed quality of mungbeans. Suranaree Journal of Science and Technology. 13(12): 159-162.

Zady, M.F. 2000. Correlation and simple least squares regression. In: Basic statistics, Clinical Laboratory Science Program, University of Louisvillle, Louisville, Kentucky.

Zhang, M.C., D.M. Wang, Z. Zheng, M. Humphry, and C.J. Liu. 2008. Development of PCR-based markers for a major locus conferring powdery mildew resistance in mungbean (*Vigna radiata*). Plant Breeding. 127: 429-432.