รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาพืชไร่น้ำมันอื่นๆ (งา ทานตะวัน สบู่ดำ)

2. ชื่อโครงการวิจัย : การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตและการเพิ่มมูลค่าผลผลิตงา

กิจกรรม : การวิจัยและพัฒนาพันธุ์งา

ชื่อกิจกรรมย่อย : การปรับปรุงพันธุ์งาต้านทานโรค

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การสร้างประชากรเพื่อใช้ในการสืบค้นยีนโดยใช้เทคนิคชีวโมเลกุลสำหรับคัดเลือกพันธุ์งาต้านทานโรคราแป้ง

ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) : Population Improvement of Sesame Powdery mildew Resistance for Tagging gene by Molecular technique.

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : จุไรรัตน์ หวังเป็น

ผู้ร่วมงาน : สุรีพร เกตุงาม สมใจ โควสุรัตน์ ธำรง เชื้อกิตติศักดิ์ สมหมาย วังทอง

5. บทคัดย่อ : ศึกษาการสร้างประชากรเพื่อใช้ในการสืบค้นยีนโดยใช้เทคนิคชีวโมเลกุลสำหรับคัดเลือกพันธุ์งาต้านทานโรคราแป้ง โดยการสร้างกลุ่มตัวแทนสองกลุ่ม จากการผสมระหว่างงาพันธุ์ต้านทาน (GMUB 1) และงาพันธุ์อ่อนแอ มี 2 พันธุ์ คือ มหาสารคาม 60 และ อุบลราชธานี 1 โดยอาศัยข้อมูลจากการประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Oidium* sp นำมาทำการผสมพันธุ์ ผลการทดลองปี 2556 พบว่า จากการประเมินการเกิดโรคราแป้งของลูกผสมชั่วที่ 2 งาคู่ผสมมีระดับความรุนแรงของการเกิดโรคราแป้งมีระดับต้านทานคือ คู่ผสม MK60 x GMUB1 (9.43%) ระดับค่อนข้างต้านทาน คือ คู่ผสม GMUB1 x MK60 (21.43%) และ UB1 x GMUB1 (23.33%) ส่วนคู่ผสม GMUB1 x UB1 (36.99%) ค่อนข้างอ่อนแอ ทั้ง 4 คู่ผสมมีความแตกต่างกันไม่ชัดเจน การทดลอง ปี 2557 ปลูกลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสม 2 คู่ คือ UB1 x MK60 มีระดับอ่อนแอต่อโรคราแป้ง 65.35 เปอร์เซ็นต์ และ MK60 x UB1 มีระดับอ่อนแอต่อโรคราแป้ง 60.21 เปอร์เซ็นต์ ปลูกลูกผสมชั่วที่ 3 คู่ผสม ซึ่งจะนำไปใช้ในการสืบค้นยีนในห้องปฏิบัติการต่อไป

6.คำนำ : โรคราแป้งเกิดจากเชื้อรา *Oidium* sp. เป็นโรคที่สำคัญของงา เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายพืชได้ในทุกระยะการเจริญเติบโต และทำให้ผลผลิตลดลง 25 - 50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับระดับความรุนแรงของโรค (Ramana Rao *et al*., 2011) แต่หากโรคเกิดขึ้นในระยะแรกของการเจริญเติบโตจะทำให้ต้นงาชะงักการเจริญเติบโตและอาจไม่ให้ผลผลิตเลย ซึ่งระบาดในช่วงที่มีอากาศเย็น และความชื้นต่ำ ทำให้ผลผลิตเสียหาย จึงได้ทำการศึกษาลักษณะการถ่ายทอดของโรคเพื่อเป็นข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์งาให้ต้านทานต่อโรคราแป้งรวมไปถึงการพัฒนาเครื่องหมาย DNA มาช่วยคัดเลือกพันธุ์ ในการศึกษาลักษณะการถ่ายทอดของโรคราแป้งนี้ได้ทำการศึกษาประชากร 5 กลุ่มที่ได้จากการผสมระหว่างพันธุ์ต้านทานกับพันธุ์อ่อนแอต่อโรคราแป้ง ได้แก่ พันธุ์พ่อ (P1) พันธุ์แม่ (P2) ลูกผสมชั่วที่หนึ่ง (F1) ลูกผสมชั่วที่สอง (F2) ที่ต้านทาน และลูกผสมชั่วที่สอง (F2) ที่อ่อนแอ เพื่อนำมาศึกษาและพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับคัดเลือกพันธุ์งาต้านทานโรคราแป้งต่อไป

7. วิธีดำเนินการ :

- อุปกรณ์

1. เมล็ดงา พันธุ์GMUB 1 (ต้านทาน) และพันธุ์มหาสารคาม 60 (อ่อนแอ) และอุบลราชธานี 1 (อ่อนแอ)
2. หลอดกาแฟ
3. สำลี
4. ลวด
5. ไหมพรมสีต่าง ๆ
6. จานแก้วมีฝาครอบสำหรับใส่เกสรตัวผู้
7. ปากคีบ
8. ป้ายพลาสติก
9. ปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-8
10. สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
11. กล้องถ่ายรูป
12. Block ทดลอง

- วิธีการทดลอง

ไม่มีแผนการทดลอง ประกอบด้วยสายพันธุ์งา จำนวน 3 พันธุ์/สายพันธุ์ โดยมีงาพันธุ์ GMUB 1 (ต้านทาน) พันธุ์ มหาสารคาม 60 (อ่อนแอ) และ อุบลราชธานี 1 (อ่อนแอ)

1. ในฤดูแล้งปลูกงาแต่ละพันธุ์ใน block ทดลอง จำนวน 2 แถวต่อ block เมื่องาอายุ 2 สัปดาห์ ถอนแยกให้ได้ระยะห่างระหว่างต้นประมาณ 5-10 เซนติเมตร กำจัดวัชพืช แล้วใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-8 อัตรา 50 กก./

ไร่ และพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามความจำเป็น เมื่องาออกดอก ทำการผสมพันธุ์ โดยสลับพ่อแม่ (reciprocal cross) เขียนชื่อคู่ผสมไว้ เก็บฝักที่ผสมได้ (F1) แยกเป็นฝักๆ กะเทาะฝัก ทำความสะอาดเมล็ด แยกไว้

2. ต้นฤดูฝน แบ่งเมล็ดลูกผสม F1 ที่ได้ครึ่งหนึ่งลงปลูกในแปลงทดลอง ดูแลรักษาต้นงาตามคำแนะนำการปลูกงา บันทึกลักษณะประจำพันธุ์ และการเป็นโรคราแป้งไว้ ปล่อยให้ผสมตัวเอง เก็บเกี่ยวเมล็ดรวมเป็นเมล็ดลูกผสม F2

3. ปลายฤดูฝน ปลูกลูกผสม F2 ในแปลงทดลอง เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ ดูแลรักษาต้นงาตามคำแนะนำ เมื่อต้นงาอายุประมาณ 3 สัปดาห์ ทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคราแป้ง โดยการนำใบงาที่เป็นโรคราแป้งให้มากที่สุด มาแช่ลงในน้ำและนำไปฉีดพ่นลงต้นงา เพื่อปลูกเชื้อโรคราแป้ง บันทึกลักษณะประจำพันธุ์ และคอยตรวจเช็คการเป็นโรคของงาแต่ละต้นที่เป็นโรคราแป้งไว้ เพื่อคัดเลือกต้นที่เป็นโรคมากที่สุด (อ่อนแอ/susceptible) และคัดต้นที่ไม่เป็นโรค (ต้านทาน/resistance) เปรียบเทียบกับการเป็นโรคของพันธุ์พ่อแม่ เก็บเกี่ยวแบบแยกต้นที่อ่อนแอ และต้นที่ต้านทานไว้ เพื่อปลูกพ่อแม่ ลูกผสม F1 และ F2 ที่ต้านทาน และ F2 ที่อ่อนแอ สำหรับการสืบค้นหาตำแหน่งของยีนที่ต้านทานต่อโรคราแป้ง โดยใช้เครื่องหมาย DNA ในห้องปฏิบัติการต่อไป

- การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลต่อไปนี้ :

- วันปลูก และวันปฏิบัติการต่างๆ
- โดยให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรค ซึ่งดัดแปลงจาก Young *et. al*. (1993) ดังนี้

ระดับความรุนแรงของโรค (disease severity) :

1 = พื้นที่ใบไม่มีผงสีขาวปกคลุม = Highly Resistant (HR)

2 = พื้นที่ใบมีผงสีขาวปกคลุม 1 - 10% = Resistant (R)

3 = พื้นที่ใบมีผงสีขาวปกคลุม 11-25% = Moderately Resistant (MR)

4 = พื้นที่ใบมีผงสีขาวปกคลุม 26 - 50% = Moderately Susceptible (MS)

5 = พื้นที่ใบมีผงสีขาวปกคลุม 51-75% = Susceptible (S)

6 = พื้นที่ใบมีผงสีขาวปกคลุม 76-100% = Highly Susceptible (HS)

ระดับที่ 1 ระดับที่ 2 ระดับที่ 3 ระดับที่ 4 ระดับที่ 5 ระดับที่ 6

- เวลาและสถานที่

ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี ในช่วงฤดูแล้ง ปี 2555 - 2557

8. ผลการทดลองและวิจารณ์ : ผลการทดลองปี 2556 พบว่า จากการประเมินการเกิดโรคราแป้งของลูกผสมชั่วที่ 2 งาคู่ผสมมีระดับความรุนแรงของการเกิดโรคราแป้งมีระดับต้านทานคือ คู่ผสม MK60 x GMUB1 (9.43%) ระดับค่อนข้างต้านทาน คือ คู่ผสม GMUB1 x MK60 (21.43%) และ UB1 x GMUB1 (23.33%) ส่วนคู่ผสม GMUB1 x UB1 (36.99%) ค่อนข้างอ่อนแอ (ตารางที่ 1) ทั้ง 4 คู่ผสมมีความแตกต่างกันไม่ชัดเจน ผลการทดลอง ปี 2557 ปลูกลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสม 2 คู่ คือ UB1 x MK60 มีระดับอ่อนแอต่อโรคราแป้ง 65.35 เปอร์เซ็นต์ และ MK60 x UB1 มีระดับอ่อนแอต่อโรคราแป้ง 60.21 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)
ปลูกพ่อ แม่ และลูกผสมชั่วที่ 3 คู่ผสม GMUB1 x MK60 และ UB1 x GMUB1 ที่มีความต้านทานโรคราแป้ง จำนวน 10 ต้น และที่มีความอ่อนแอต่อโรค 10 ต้น ซึ่งจะนำไปใช้ในการสืบค้นยีนในห้องปฏิบัติการต่อไป

9. สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ : จากผลการทดลองการสร้างประชากรเพื่อใช้ในการสืบค้นยีนโดยใช้เทคนิคชีวโมเลกุลสำหรับคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคราแป้งระหว่างปี 2555 - 2557 สามารถคัดเลือกงาลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มีความต้านทานต่อโรคราแป้งได้ดี จำนวน 1 คู่ผสม ได้แก่ MK60 x GMUB1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ค่อนข้างต้านทานต่อโรคราแป้ง จำนวน 2 คู่ผสม ได้แก่ GMUB1 x MK60 และ UB1 x GMUB1 ลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคราแป้ง จำนวน 1 คู่ผสม ได้แก่ GMUB1 x UB1 และลูกผสมชั่วที่ 2 ที่มีความอ่อนแอต่อโรคราแป้งได้จำนวน 2 คู่ได้แก่ UB1 x MK60 และ MK60 x UB1 ปลูก พันธุ์ พ่อ แม่ และลูกผสมชั่วที่ 3 คู่ผสม คือ GMUB1 x MK60 และ UB1 x GMUB1 ที่ค่อนข้างต้านทานโรคราแป้ง จำนวน 10 ต้น และที่มีความอ่อนแอต่อโรค 10 ต้น ซึ่งจะนำไปใช้ในการสืบค้นยีนในห้องปฏิบัติการต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ : ได้ประชากรลูกผสมชั่วที่ 3 มาใช้ในการสืบค้นยีนโดยใช้เทคนิคชีวโมเลกุลสำหรับคัดเลือกพันธุ์งาต้านทานโรคราแป้งต่อไป

11. เอกสารอ้างอิง :

Ramana Rao, P.V.; V.G. Shankar; J.V.P. Pavani; V. Rajiesh; A. Vishnuvardhan Reddy and K. Dharma Reddy. 2011. Evaluation of Sesame Genotypes for Powdery Mildew Resistance. International Journal of Bio-resource and Stress Management. 2(3) : 341 - 344.

Young, N.D.; Danesh,D.;Menancio-Hautea,D. and Kumar,L. 1993. Mapping oligogenic resistanc to powdery in mungbeab with RFLPs. Theor. Appl. Genet. 87: 243-249.

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้ง และระดับความรุนแรงของการเกิดโรคราแป้ง ปี 2556

พันธุ์	การเกิดโรค (%)	ระดับความรุนแรงของโรค [1/]
GMUB1 x MK60	21.43	MR
GMUB1 x UB1	36.99	MS
UB1 x GMUB1	23.33	MR
MK60 x GMUB1	9.43	R

หมายเหตุ :

[1/] ระดับความรุนแรงของโรค (disease severity) : HR = highly resistant (0%), R = resistant (1-10%), MR = moderately resistant (11-25%), MS = moderately susceptible (26-50%), S = susceptible (51-75%) และ HS = highly susceptible (76-100%)

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราแป้ง และระดับความรุนแรงของการเกิดโรคราแป้ง ปี 2557

พันธุ์	การเกิดโรค (%)	ระดับความรุนแรงของโรค [1/]
UB1 x MK60	65.35	S
MK60 x UB1	60.21	S

หมายเหตุ :

[1/] ระดับความรุนแรงของโรค (disease severity) : HR = highly resistant (0%), R = resistant (1-10%), MR = moderately resistant (11-25%), MS = moderately susceptible (26-50%), S = susceptible (51-75%) และ HS = highly susceptible (76-100%)