

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
ABSTRACT	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์การวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	2
คำสำคัญ	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
2.1 ข้าวโพด	3
2.2 โรคใบไหม้แผลใหญ่ (Northern Corn Leaf Blight: NCLB) และเชื้อราสาเหตุ	6
2.3 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา <i>E. turcicum</i>	8
2.4 การประเมินระดับอาการเกิดโรค	8
2.5 ลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่	9
2.6 การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่	10
2.7 การถ่ายทอดยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่	12
2.8 การใช้โมเลกุลเครื่องหมายในการคัดเลือกความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่	13
2.9 การใช้โมเลกุลเครื่องหมายในการคัดเลือกและการปรับปรุงพันธุ์	16
บทที่ 3 การคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ที่ใช้ในสร้างประชากรข้าวโพด	17
บทนำ	17
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	18
3.1 อุปกรณ์	18

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2 วิธีการทดลอง	18
3.3 การบันทึกข้อมูล	27
3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	28
3.5 สถานที่ทำการทดลอง	29
3.6 ระยะเวลาในการทำการทดลอง	29
ผลการทดลอง	30
วิจารณ์ผลการทดลอง บทที่ 3	54
สรุป บทที่ 3	55
บทที่ 4 การศึกษาการใช้โมเลกุลเครื่องหมายสร้างแผนที่ทางพันธุกรรมความต้านทานโรค ใบไหม้แผลใหญ่ของประชากรข้าวโพด	58
บทนำ	58
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	59
4.1 อุปกรณ์	59
4.2 วิธีการทดลอง	59
4.3 การบันทึกข้อมูล	62
4.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	63
4.5 สถานที่ทำการทดลอง	63
4.6 ระยะเวลาในการทำการทดลอง	63
ผลการทดลอง	64
วิจารณ์การทดลอง บทที่ 4	85
สรุป บทที่ 4	87
บทที่ 5 การระบุตำแหน่ง QTLs (Quantitative Trait Loci) ของยีนความต้านทานโรคใบ ไหม้แผลใหญ่ในประชากรข้าวโพด	88
บทนำ	88
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	89

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.1 อุปกรณ์	89
5.2 วิธีการทดลอง	89
5.3 การบันทึกข้อมูล	90
5.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	90
5.5 สถานที่ทำการทดลอง	90
5.6 ระยะเวลาในการทำการทดลอง	90
ผลการทดลอง	91
วิจารณ์ผลการทดลอง บทที่ 5	98
สรุป บทที่ 5	100
บทที่ 6 สรุปและข้อเสนอแนะ	101
บทที่ 7 เอกสารอ้างอิง	104
ภาคผนวก ก	111
ภาคผนวก ข	128
ภาคผนวก ค	156
ประวัติผู้เขียน	176

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตำแหน่งยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณ และชนิดของโมเลกุลเครื่องหมายที่วางตัวใกล้ตำแหน่งยีนในประชากรต่างๆ ที่มีการรายงานบางส่วนที่สามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์เบื้องต้นการเกิดโรค	16
3.1 ข้อมูลความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในเบื้องต้น ของข้าวโพดพันธุ์แท้จำนวน 72 พันธุ์ จากแหล่งพันธุกรรม	30
3.2 เชื้อรา <i>E. turcicum</i> ไอโซเลทจากภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 4 ไอโซเลท จาก 4 แหล่งปลูกข้าวโพด	31
3.3 ระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ของข้าวโพดพันธุ์แท้ 16 พันธุ์ ที่ทดสอบในสภาพโรงเรือนกับ 2 เชื้อสาเหตุจากภาคเหนือ (MCC7) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (H5)	36
3.4 จำนวนพันธุ์ข้าวโพดและร้อยละต่อจำนวนทั้งหมด ที่จัดระดับความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ หลังการปลูกถ่ายด้วยเชื้อรา MCC7 และเชื้อรา H5	37
3.5 ค่าเฉลี่ยและระดับคะแนนการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดสายพันธุ์แท้ 16 พันธุ์ หลังการปลูกถ่ายเชื้อไอโซเลท MCC7 ในสภาพแปลง ทั้ง 2 แปลง (ฤดูกาล)	38
3.6 จำนวนสายพันธุ์ข้าวโพดและร้อยละต่อจำนวนทั้งหมด ที่จัดระดับความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ หลังการปลูกถ่ายเชื้อ อร์ราไอโซเลท MCC7 ในสภาพแปลง ทั้ง 2 แปลง (ฤดูกาล)	39
3.7 ลักษณะทางการเกษตรของข้าวโพดกลุ่มผสม Ki48 / Ki47 และกลุ่มผสมกลับ Ki47 / Ki48 ลูกผสมชั่วที่ 1	40
3.8 ค่าเฉลี่ยระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ของข้าวโพดลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 16 กลุ่มผสม พร้อมพันธุ์มาตรฐาน 2 พันธุ์ ที่ทดสอบในสภาพโรงเรือน กับ 2 เชื้อสาเหตุจากภาคเหนือ (MCC7) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (H5)	42

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
3.9	จำนวนสายพันธุ์ข้าวโพดและร้อยละต่อจำนวนทั้งหมด ที่จัดระดับความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ ลูกผสมชั่วที่ 1 หลังการปลูกถ่ายด้วยเชื้อ MCC7 และ H5 ในสภาพแปลงทดลอง 2 ฤดูกาล	43
3.10	ข้าวโพด Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48	46
4.1	ตำแหน่งของ QTL หรือยีน และชนิดของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่วางตัวใกล้ตำแหน่งของ QTL หรือยีน ในประชากรต่างๆ ที่มีการรายงาน	65
4.2	เครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่าง ( polymorphism) ระหว่างพันธุ์พ่อแม่ (Ki48 และ Ki47)	73
4.3	โมเลกุลเครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างของอัลลีลระหว่างข้าวโพดพันธุ์พ่อ และแม่	75
4.4	ข้อมูลจีโนไทป์ของประชากรคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2	77
4.5	แสดงจำนวนเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้ และเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อ และแม่	83
4.6	แสดงเครื่องหมายโมเลกุลที่แสดงความแตกต่างระหว่าง Ki47 และ Ki48 และเครื่องหมายที่ใช้ในการตรวจสอบประชากรลูกผสมชั่วที่ 2	84
5.1	ตำแหน่ง QTLs โมเลกุลเครื่องหมายที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ และค่าเฉลี่ยฟีโนไทป์ของแต่ละกลุ่มอัลลีลในประชากร ข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2:3	92
5.2	ตำแหน่ง QTLs และโมเลกุลเครื่องหมายที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ และค่าเฉลี่ยฟีโนไทป์ของแต่ละกลุ่มอัลลีลในประชากร ข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2:3	95

## สารบัญตาราง (ต่อ)

## ตารางภาคผนวกที่

หน้า

## ภาคผนวก ก

1	ข้อมูลความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในเบื้องต้น ของข้าวโพดพันธุ์แท้ จำนวน 72 พันธุ์ จากแหล่งพันธุ์กรรม	111
2	ระดับการประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดพันธุ์แท้ โดยเชื้อจำนวน 3 ไอโซเลท ในสภาพโรงเรือน	113
3	ระดับการประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ของพันธุ์ข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 1 ในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงทดลอง	117
4	ระดับการประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ของพันธุ์ข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2 ในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงทดลอง	118

## ภาคผนวก ข

1	ตำแหน่งของ QTL หรือยีน และชนิดของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่วางตัวใกล้ ตำแหน่งของ QTL หรือยีน ในประชากรต่างๆ ที่มีการรายงานไว้	128
2	ดีเอ็นเอเครื่องหมายจำนวน 53 เครื่องหมายที่นำมาตรวจสอบความแตกต่างของสายพันธุ์พ่อ-แม่ ทั้ง 10 สายพันธุ์	131
3	เครื่องหมายโมเลกุล ตำแหน่งบนจีโนม ขนาด และลักษณะอัลลีลของ ข้าวโพดสายพันธุ์แท้ที่ใช้ทดสอบ polymorphism	136
4	ตำแหน่งบนจีโนม และลำดับเบสคู่ไพร์เมอร์ของเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้ในการ ตรวจสอบความต่างระหว่างข้าวโพดสายพันธุ์แท้	150
5	ลักษณะอัลลีล (Allele) ตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุล และขนาดของ ชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (PCR product size) ของข้าวโพดสายพันธุ์พ่อ และแม่	153

## ภาคผนวก ค

1	ข้อมูลจีโนไทป์บนโครโมโซมที่ 2 และโครโมโซมที่ 8 ของประชากรคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2	156
2	ข้อมูลระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ (พีโนไทป์) ของประชากร คู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ F <sub>2:3</sub>	163

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	9
2.1	9
3.1	18
3.2	20
3.3	22
3.4	23
3.5	23
3.6	24
3.7	25
3.8	26
3.9	28
3.10	32
3.11	32
3.12	33
3.13	34
3.14	34
3.15	35

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
3.16	39
ลักษณะอาการของแผลโรคใบไหม้แผลใหญ่ที่เกิดที่ใบล่างของข้าวโพด ในสภาพ แปลง	
3.17	41
ลักษณะฝัก เมล็ด ลำต้น ช่อดอกตัวผู้ ของข้าวโพดกลุ่มผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 1	
3.18	41
ลักษณะฝัก เมล็ด ลำต้น ช่อดอกตัวผู้ ของข้าวโพดกลุ่มผสม Ki47 / Ki48 ลูกผสมชั่วที่ 1	
3.19	44
แสดงการเปรียบเทียบระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในสภาพโรงเรือน ของข้าวโพดลูกผสมชั่วที่ 1 ( $F_1$ )	
3.20	46
ลักษณะสีไหม ระบบราก ทรงดอกตัวผู้ และสีดอกตัวผู้ ของประชากรชั่วที่ 2 กลุ่มผสม Ki48 / Ki47 และกลุ่มผสมกลับ Ki47 / Ki48	
3.21	47
ลักษณะมุมใบของประชากรชั่วที่ 2 กลุ่มผสม Ki48 / Ki47 และกลุ่มผสมกลับ Ki47 / Ki48	
3.22	47
ลักษณะสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ ไอโซเลท AICL1	
3.23	48
ข้อมูลระดับความต้านทานโรคไหม้แผลใหญ่ หลังจากทดสอบเชื้อรา 7 วัน ของประชากร F2:3 กลุ่มผสม Ki48/Ki47 ในการทดสอบสภาพโรงเรือน	
3.24	49
ข้อมูลระดับความต้านทานโรคไหม้แผลใหญ่ หลังจากทดสอบเชื้อรา 10 วัน ของประชากร F2:3 กลุ่มผสม Ki48/Ki47 ในการทดสอบสภาพโรงเรือน	
3.25	51
ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังจากทดสอบโรค 45 วัน ของประชากร F2:3 กลุ่มผสม Ki48 / Ki47 จากร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค ในสภาพแปลงทดลอง	
3.26	51
ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังจากทดสอบโรค 90 วัน ของประชากร F2:3 กลุ่มผสม Ki48 / Ki47 จากร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค ในสภาพแปลงทดลอง	
3.27	52
ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังจากทดสอบโรค 100 วัน ของประชากร F2:3 กลุ่มผสม Ki48 / Ki47 จากร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค ในสภาพแปลงทดลอง	
3.28	52
ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังการทดสอบโรค 45 วัน ของประชากร F2:3 กลุ่มผสม Ki48/Ki47 จากชนิดของแผลที่ใบ ในสภาพแปลงทดลอง	
3.29	53
ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังการทดสอบโรค 90 วัน ของประชากร F2:3 กลุ่มผสม Ki48/Ki47 จากชนิดของแผลที่ใบ ในสภาพแปลงทดลอง	



## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
3.30 ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังการทดสอบโรค 100 วัน ของประชากร F2:3 คู่ผสม Ki48/Ki47 จากชนิดของแผลที่ใบ ในสภาพแปลงทดลอง	54
4.1 แผนที่การเชื่อมโยงทางพันธุกรรมของข้าวโพดกับ Marker ที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ NCLB บน Chromosome 1 2 และ 3	69
4.1 แผนที่การเชื่อมโยงทางพันธุกรรมของข้าวโพดกับ Marker ที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ NCLB บน Chromosome 4 5 และ 6	70
(ต่อ) โรคใบไหม้แผลใหญ่ NCLB บน Chromosome 4 5 และ 6	
4.1 แผนที่การเชื่อมโยงทางพันธุกรรมของข้าวโพดกับ Marker ที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ NCLB บน Chromosome 7 และ 8	71
(ต่อ) โรคใบไหม้แผลใหญ่ NCLB บน Chromosome 7 และ 8	
4.1 แผนที่การเชื่อมโยงทางพันธุกรรมของข้าวโพดกับ Marker ที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ NCLB บน Chromosome 9 และ 10	72
(ต่อ) โรคใบไหม้แผลใหญ่ NCLB บน Chromosome 9 และ 10	
5.1 ตำแหน่ง QTLs และโมเลกุลเครื่องหมายที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ประชากรข้าวโพด	97