รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย
การปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวให้ต้านทาน ต่อการทำลายของแมลงศัตรู (ระยะที่ 1)

ภาควิชาพืชศาสตร์
คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

2550

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวเพื่อให้ต้านทานต่อการทำลายของแมลงศัตรู

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยการปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวเพื่อให้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลง เป็นโครงการระยะยาวซึ่งแบ่งเป็น 3 ระยะ รายงานฉบับนี้เป็นการรายงานผลการวิจัยระยะที่ 1 รวม 3 ปีตั้งแต่เดือนตุลาคม 2547 ถึงเดือนกันยายน 2549 โดยในระยะแรกแบ่งงานทดลองออกเป็น 3 ส่วนคือ การทดลองที่1 ทำการปลูกถั่วฝักยาว 24 สายพันธุ์และถั่วพุ่ม 13 สายพันธุ์เพื่อเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานและวิเคราะห์ความสัมพันธุ์ทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิคอาร์เอพีดี โดยปลูกถั่วทั้ง 37 สายพันธุ์ในแปลงทดลอง และทำการสกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อน และทดสอบดีเอ็นเอกับไพรเมอร์จำนวน 150 ไพรเมอร์ คัดเลือกไพรเมอร์ที่ให้ผลชัดเจนที่สุด 5 ไพรเมอร์ (OPC-06, OPR-12, OPZ-03, OPZ-08 และ OPZ-13) เพื่อศึกษารูปแบบของแถบดีเอ็นเอของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว นำผลของรูปแบบแถบดีเอ็นเอจากแต่ละสายพันธุ์รวม 38 แถบที่ได้ มาสร้างเดนโดแกรม เพื่อดูความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในกลุ่มพืชโดยวิธี UPGMA โปรแกรม SPSS พบว่าสามารถแยกกลุ่มระหว่างถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มได้ชัดเจน โดยดัชนีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในกลุ่มถั่วฝักยาวและถั่วพุ่มมีค่าระหว่าง 0.515-1.000 และ 0.548-1.000 ตามลำดับ การทดลองที่ 2 เลือกถั่วฝักยาวจำนวน 18 สายพันธุ์และถั่วพุ่มจำนวน 6 สายพันธุ์ ทำการทดสอบการต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนทั้งในแปลงปลูกและโรงเรือนตาข่าย ในแปลงปลูกวางแผนการทดลองแบบ RCBD 3 ซ้ำแต่ละซ้ำใช้จำนวนต้น 20 ต้นต่อสายพันธุ์ การประเมินผลวัดจากผลผลิต และคะแนนการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน จากผลการทดลองพบว่ามี 4 สายพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทานต่อการเข้าทำลายคือ SR00-863 IT82E-16 สุรนารี1 และพันธุ์เขาหินซ้อน หลังจากทดสอบในแปลงแล้ว ทำการยืนยันผลอีกครั้งในเรือนตาข่าย โดยการปล่อยเพลี้ยอ่อนจำนวน 5 ตัวต่อต้นเมื่อต้นถั่วอายุ 19 วันหลังปลูก ตรวจสอบจำนวนเพลี้ยอ่อนที่เพิ่มขึ้น และให้คะแนนการเข้าทำลายในช่วง 3-7 สัปดาห์ พบว่าจำนวนเพลี้ยอ่อนมีมากที่สุดในพันธุ์บิกวัน ในขณะที่พันธุ์ SR00-863 มีจำนวนเพลี้ยอ่อนน้อยที่สุด ตามด้วย IT82E-16 สุรนารี1 และพันธุ์เขาหินซ้อนตามลำดับ ผลการทดสอบในทั้งสองสภาพแวดล้อมให้ผลตรงกันว่าทั้ง 4 สายพันธุ์มีแนวโน้มต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อนจริง หลังจากนั้นจึงทำการผสมข้ามระหว่างพันธุ์คัด-มอ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ฝักมีคุณภาพดี แต่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยอ่อน กับสายพันธุ์ทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 (F1) ทำการผสมตัวเองลูกผสมชั่วที่ 1 ในแต่ละคู่ได้ลูกชั่วที่ 2 (F2) จากชั่วที่ 2 จึงเริ่มทำการคัดเลือกแบบหนึ่งเมล็ดต่อต้น จนถึง F4

การทดลองที่3 เป็นการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ถั่วฝักยาวพันธุ์คัด-มอ. โดยใช้รังสีแกมมาเป็นสิ่งก่อกลายพันธุ์ เริ่มต้นด้วยการหาค่า LD_{50} ของรังสีแกมมา โดยนำเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด – มอ. ที่ผ่านฉายรังสีแกมมาในปริมาณต่าง ๆ กันคือ 25, 50, 75 และ 100 Krad ไปปลูกทดสอบ บันทึกจำนวนต้นที่รอดชีวิต พบว่าค่า LD_{50} ที่ 21 วัน มีค่า 38.12-42.34 krad หลังจากนั้นนำเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์คัด- มอ. มา

ฉายรังสีอีกครั้งที่ปริมาณ 25 35 45 และ 50 Krad นำเมล็ดที่ผ่านการฉายรังสี (M1) มาปลูกในแปลง และบันทึกลักษณะต่างๆ เช่น เปอร์เซ็นต์การงอก จำนวนต้นที่รอดชีวิต ระยะเวลาในการออกดอก รวมทั้งบันทึกความผิดปกติที่เกิดขึ้นจากรังสี พบว่าเมล็ดM_1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอก จำนวนต้นที่รอดชีวิต และระยะเวลาในการออกดอก ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยเฉพาะเปอร์เซ็นต์ความงอก และจำนวนต้นที่รอดชีวิต ได้รับผลกระทบจากการฉายรังสีมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าในประชากรของถั่วฝักยาวที่ฉายรังสีมีลักษณะผิดปกติต่าง ๆ เกิดขึ้น เช่น ต้นแคระ ลักษณะใบแฝด ใบด่างขาว ใบกลมเล็ก ใบเรียวแหลม จำนวนใบย่อย 4 ใบ ลักษณะลำต้นแบน และการเป็นหมัน เป็นต้น ทำการเก็บเกี่ยวเมล็ดทั้งหมดแยกต้น และนำไปปลูกในฤดูต่อไป ในต้นชั่วที่ 2 (M_2) พบความแปรปรวนสูงในลักษณะต่อไปนี้ เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด ระยะเวลาออกดอก จำนวนฝักต่อต้น และความยาวฝัก ลักษณะผิดปกติที่พบในชั่วนี้คือ การเป็นหมัน และยังพบลักษณะต้นแคระที่สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ โดยมีอัตราการกลายพันธุ์ของลักษณะเป็นหมัน และต้นแคระเท่ากับ 93.94 และ 0.28 % ตามลำดับ ในชั่วที่ 3 (M_3) พบลักษณะต้นแคระ และความเป็นหมันเพิ่มขึ้น และยังพบลักษณะผิดปกติของฝักเพิ่มขึ้นอีกลักษณะ ในชั่วที่ 3 ทำการคัดเลือกต้นถั่วฝักยาวไว้ 39 ต้น หรือ 15 เปอร์เซ็นต์ของประชากร การคัดเลือกอาศัยลักษณะดังต่อไปนี้เป็นเกณฑ์ การต้านทานเพลี้ยอ่อน ระยะเวลาการออกดอกเร็วกว่า 46 วัน จำนวนฝักต่อต้นมากกว่า 30 ฝัก และความยาวฝักมากกว่า 30 เซนติเมตร ในชั่วที่ 4 (M_4) พบว่ายังมีลักษณะต้นแคระกระจายอยู่ในสายต้น PSU50 – 001 การคัดเลือกชั่วนี้จึงตัดสายต้น PSU50 – 001 ออก และคัดเลือกไว้ 15 ต้น จาก 4 สายต้นเพื่อการทดสอบในชั่วถัดไป

Improvement of Yardlong Bean for Insect Resistance

Abstract

Improvement of yardlong bean for insect resistance was investigated. Regarding to long process of breeding program, the research was divided into 3 phases and this paper was the summery results of phase I, research started from October 2004 to September 2007. In the first phase, 3 experiments were conducted. Experiment I: Twenty four yardlong bean and 13 cowpea accessions were plated in the field to characterize their morphology and genetic relatedness. Genetic variation and relationships among 37 accessions except were investigated based on RAPD technique. One hundred and twenty decamer oligonucleotide primers were screened and 5 primers (OPC-06, OPR-12, OPZ-03, OPZ-08, OPZ-13) were chosen for further evaluation. A dendrogram of genetic similarity was constructed based on 23 polymorphic bands obtained from 5 primers using UPGMA in SPSS program, which revealed separate groups between yardlong bean and cowpea. The similarity coefficient among yardlong bean and cowpea accessions ranged from 0.515 to 1.000 and 0.548 to 1.000, respectively. Experiment II : Eighteen yardlong bean and 6 cowpea accessions were screened for resistance to aphid (*Aphis craccivora* Koch) under field and screenhouse trials. The experimental design for field experiment was a Randomized Completed Block Design with 3 replications, 20 plants /plot for each accession. Evaluation for aphid resistance was based on yield and foliage damage scores. The results showed that the following 4 accessions tended to be resistant : SR00-863, IT82E-16, suranaree 1 and Khao-hinson. Resistance was further evaluated in the screenhouse by measuring differences in aphid populations and visual damage on the accessions. Five aphids were released on each plant 19 days after germination and the number of aphids subsequently monitored for 3-7 weeks. The high number of aphids was found on Big-one whereas SR00-863 had the lowest aphid number followed by IT82E-16, Suranaree1 and Kao-hinson, respectively. The results under both field and screenhouse experiments indicate aphid resistance in those four accession. Based on results, selected-PSU, one of cultivated variety which susceptible to aphid was crossed by those 4 varieties to produce F1 and F2. Seed of F2 from each cross were grown and single seed descent was used for selection until F4.

Experiment III: Induced mutation in yardlong bean cv. "Selected-PSU' by gamma ray was carried out. Seed of Selected-PSU were treated with gamma rays at 25, 50, 75 and 100 Krad and Lethal dose(LD_{50}) was examined. Results indicate LD_{50} of gamma ray in yardlong bean at 21 days

was about 38.12 -42.34 Krad. Seeds of Selected – PSU were treated again with gamma irradiation at 25, 35, 45 and 50 Krad. The treated seeds (M_1 seeds) were cultivated in the field at and the following characteristics of M_1 plants were recorded: percent of seed germination, survival rate, time of flowering and abnormal characters. Field observation indicated that treated plants could be recognized by flat stem, large – thick and deep green colour leave, twin leaves, small – circular leave, spotted colourless leave, fine leave, quadrifoliate leaves, sterility and dwarfs. Seeds of all M_1 plants were harvested and grown as M_2 plants. In the M_2 generation, high variation in percentage of germination, first flowering, number of pods per plant and pod length were found. Mutations of some characteristics were also observed. Dwarfs and sterility were observed indicated mutation induction with mutation rate 0.28 and 93.94 % respectively. In the M_3 generation, a higher number of dwarf plants and sterility were found in comparison to the M_2 generation. In addition, some plants produced abnormal pods in this generation. Only 39 lines were selected, based on aphid resistance (and tolerance), early first flowering less then 46 days, pods per plant > 30 pods and pods length > 30 cm. In this generation, dwarf plants were still found in all lines derived from PSU50 – 001. For this reason, lines derived from PSU50 – 001 were discarded. The best 15 plants from 4 lines were selected and further selection will be performed.