

Project Code: RSA-40-8-00

**Project Title: Mapping a New Source of Resistance to Powdery Mildew in
Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]**

Investigator: Bubpa Chaitieng

E-mail Address: chaitieng@yahoo.com

Project Period: September,30 2000 to May,31 2002.

Abstract

Both restriction fragment length polymorphism (RFLP) and, using a pooled DNA approach, amplified fragment length polymorphism (AFLP) analyses were employed to map a new source of resistance to powdery mildew (*Erysiphe polygoni*) in mungbean (*Vigna radiata*). A RFLP linkage map was reconstructed with 98 probes across the 13 linkage groups of the current map using an F₂ mapping population derived from the cross between a moderately resistant breeding line (VC1210A) and a susceptible wild relative of mungbean (*V. radiata* var. *sublobata* accession TC1966). The disease score of the F₂ population showed continuous distribution and was treated as quantitative trait. QTL analysis base on the linkage map showed only marker that associated with resistance to powdery mildew. However, the direction of gene action and extent of genetic variation explained by the QTL does not completely explain the variation of the F₂ population. Consequently, using DNA pooled separately from the resistant and susceptible F₂ plants 100 AFLP primer combinations were tested for polymorphism associated with resistance. Out of more than 5700 bands 4 were associated with the resistance. The new RFLP loci detected by two cloned probes from the AFLP bands associated with resistance constitute a new linkage group. A major resistance QTL was found on a new linkage group that accounted for 64.9% of the total variation for plant reaction to powdery mildew. The resistant parent allele enhances powdery mildew resistance with partially dominant effect. One of the probes developed in this study has potential to assist in breeding for powdery mildew resistance in mungbean.

Key words AFLP, Molecular markers, Quantitative trait loci (QTL), RFLP

บทคัดย่อ

ในการศึกษาการทำแผนที่ยีนต้านทานโรคราแป้งตัวใหม่ในถั่วเขียวครั้งนี้ใช้ทั้ง Restriction fragment length polymorphism (RFLP) และ Amplified fragment length polymorphism: AFLP การทำแผนที่ยีนใหม่ของถั่วเขียวจากดีเอ็นเอติดตาม (probe) ทั้งหมด 98 ตัว โดยศึกษาจากแผนที่ยีนของถั่วเขียวในปัจจุบันที่มีจำนวน linkage group 13 กลุ่ม โดยใช้ดีเอ็นเอจากประชากรชั่วที่สอง (F_2) ที่เกิดจากการผสมระหว่างสายพันธุ์ต้านทาน (VC1210A) และ สายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค (TC1966) ในการประเมินการเกิดโรคพบว่าลักษณะการกระจายตัวของค่าคะแนนการเกิดโรคเป็นแบบต่อเนื่องซึ่งจัดเป็นลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait loci : QTL)

ในการศึกษา QTL จากแผนที่ยีนเดิมพบว่ามี ดีเอ็นเอเครื่องหมาย(marker)หนึ่งตัวที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง แต่ปฏิกิริยาของยีน (gene action) และ ความสัมพันธ์ของลักษณะการเกิดโรค (R^2) กับ QTL ยังไม่สามารถอธิบายความแปรปรวนของการเกิดโรคในประชากรชั่วที่สอง (F_2) ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะเดียวกันเทคนิค AFLP ถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคราแป้ง โดยศึกษาในดีเอ็นเอที่เกิดจากการรวมภายในกลุ่มของลักษณะต้านทานและอ่อนแอต่อโรคที่สุดของประชากรชั่วที่สอง (F_2) โดยใช้ primer combination ทั้งหมด 100 คู่

จากการแยกความแตกต่างของชิ้นดีเอ็นเอที่เกิดจาก primer combination ทั้งหมดใน denaturing gel พบว่า มีจำนวนของแถบ (band) ดีเอ็นเอเกิดขึ้นมากกว่า 5700 แถบ แต่พบเพียงสี่แถบเท่านั้นที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะการต้านทานโรค ดีเอ็นเอจากแถบทั้งสี่ได้รับการโคลน (cloned) เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอติดตาม ซึ่งพบว่าดีเอ็นเอติดตามที่ได้จากเทคนิค AFLP สามารถตรวจสอบตำแหน่งของยีนต้านทานโรคราแป้งอยู่บน linkage group กลุ่มใหม่ และ QTL ที่ตรวจพบบน linkage group กลุ่มใหม่ นี้ มีความสัมพันธ์กับลักษณะการเกิดโรคราแป้ง (R^2) เท่ากับ 64.9 % ส่วนลักษณะการแสดงออกของยีนเป็นแบบ partial dominant และพบว่าหนึ่งในจำนวนดีเอ็นเอติดตามที่พัฒนาจากการศึกษาครั้งนี้ นี้มีศักยภาพในการนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อให้ต้านทานต่อโรคราแป้ง

คำสำคัญ: AFLP, Molecular markers, Quantitative trait loci (QTL), RFLP