DBG5080020 รศ.ดร. สนั่น จอกลอย

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
249849

สกว
TRF

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาขั้นพื้นฐานเพื่อสนับสนุนงาน ปรับปรุงพันธุ์ถั่วลิสงทนแล้ง

Basic Research for Supporting Groundnut Varietal Improvement for Drought Tolerance Project

โดย รศ.ดร. สนั่น จอกลอย และคณะ

กรกฎาคม 2553

b00254433

249849

สัญญาเลขที่ DBG5080020

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
249849

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาขั้นพื้นฐานเพื่อสนับสนุนงาน ปรับปรุงพันธุ์ถั่วลิสงทนแล้ง

Basic Research for Supporting Groundnut Varietal Improvement for Drought Tolerance Project

คณะผู้วิจัย **สังกัด**

1. รศ.ดร.สนั่น จอกลอย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
2. รศ.ดร.นิมิตร วรสูต คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
3. รศ.ดร.ชุติพงศ์ อรรคแสง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
4. ผศ.ดร.นภาภรณ์ ตันติสุวิชวงศ์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทสรุปการดำเนินงานโครงการสำหรับผู้บริหาร
(Executive Summary)

ถั่วลิสงเป็นพืชหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ พื้นที่เพาะปลูกส่วนใหญ่มักประสบปัญหาการกระทบแล้งทำให้ผลผลิตลดและเพิ่มความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินในผลผลิต แนวทางในการแก้ปัญหาการกระทบแล้งดังกล่าว โดยการปรับปรุงพันธุ์ถั่วลิสงให้ทนแล้ง การปรับปรุงพันธุ์ให้ทนแล้งนั้นจำเป็นต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการตอบสนองของพืชเพื่อทนต่อความแห้งแล้ง พันธุกรรมควบคุมลักษณะการทนแล้ง จะเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ถั่วลิสงทนแล้ง ดังนั้น การศึกษานี้ จึงมีวัตถุประสงค์ คือ 1) เพื่อจำแนกลักษณะการทนแล้งของพันธุ์ถั่วลิสงทั้งจากลักษณะที่ปรากฏและการใช้เครื่องหมายโมเลกุล 2) เพื่อศึกษาระบบรากและการตอบสนองของลักษณะราก เมื่อกระทบแล้ง และ 3) เพื่อประเมินค่าพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะการทนแล้งและหาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทนแล้งกับลักษณะผลผลิต การตรึงไนโตรเจน และการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซิน การดำเนินงานครอบคลุมทั้งการกระทบแล้งในช่วงก่อนการออกดอก ช่วงการพัฒนาฝักและเมล็ด ช่วงปลายของการเจริญเติบโตและการกระทบแล้งตลอดช่วงการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งมีการศึกษาเพื่อจำแนกลักษณะทนแล้งของถั่วลิสง สหพันธุ์ต่างๆ ทั้งใช้ลักษณะที่ปรากฏและเครื่องหมายโมเลกุลจำนวน 3 การทดลอง การศึกษาเกี่ยวกับระบบรากและการตอบสนองของราก จำนวน 2 การทดลอง การศึกษาเกี่ยวกับพันธุกรรมการควบคุมลักษณะการทนแล้ง จำนวน 7 การทดลอง และการศึกษาเพื่อพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ถั่วลิสงทนแล้ง จำนวน 1 การทดลอง โดยมีวิธีการและผลการดำเนินคือ

การศึกษากลไกการตอบสนองเพื่อความทนทานต่อความแห้งแล้งของถั่วลิสง โดยพบว่า การตอบสนองของรากโดยการหยั่งรากลงไปในระดับลึก จะส่งผลทำให้ถั่วลิสงที่กระทบแล้งก่อนการออกดอกและได้รับน้ำกลับคืนหลังจากกระทบแล้งกลับมีผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่การตรึงไนโตรเจนลดลงในขณะกระทบแล้ง แต่เมื่อได้รับน้ำกลับคืน การตรึงไนโตรเจนจะอยู่ในระดับเดียวกับถั่วลิสงที่ไม่กระทบแล้ง โดยค่าการวัดคลอโรฟิลล์ทางอ้อม (spad chlorophyll meter reading : SCMR) สามารถใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ทางอ้อมของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจน และการเจริญเติบโตของถั่วลิสง สำหรับการตอบสนองของถั่วลิสงเมื่อกระทบแล้งในระยะพัฒนาฝักและเมล็ด พบว่าถั่วลิสงมีระบบรากแตกต่างกัน และพันธุ์ที่มีระบบรากลึกมีความหนาแน่นของรากในดินชั้นล่างมากจะส่งผลทำให้มีระดับผลผลิตสูงในสภาพแล้งในระยะดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบว่าการกระทบแล้งทำให้ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบลดลง และมีน้ำหนักรากลดลง แต่มีน้ำหนักใบจำเพาะเพิ่มขึ้น การใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR จำแนกลักษณะความแตกต่างระหว่างพันธุ์ที่มีลักษณะน้ำหนักใบจำเพาะ และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบได้ดี

การศึกษาพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะการทนแล้งของถั่วลิสง การดำเนินงานทดสอบเพื่อประเมินพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะทนแล้งทำใน 4 สภาพการกระทบแล้ง คือ 1.) การกระทบแล้งก่อนการออกดอก พบว่า สายพันธุ์ลูกผสมมีค่าความสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมของลักษณะทนแล้งสูง

ทั้งลักษณะดัชนีเก็บเกี่ยว พื้นที่ใบจำเพาะ และ SCMR โดยเฉพาะลักษณะ SCMR มีสัมพันธ์กับลักษณะจำนวนฝักแก่ต่อต้นสูง น้ำหนักแห้งต้น และน้ำหนักปมแห้ง การคัดเลือกเพื่อปรับปรุงลักษณะ SCMR จะได้ผลและส่งผลกระทบต่อการเพิ่มผลผลิตมวลชีวภาพ น้ำหนักปมแห้ง และจำนวนฝักต่อต้น 2.) การกระทบแล้งในระยะการพัฒนาฝักและเมล็ด พันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะการทนแล้งของถั่วลิสงในชั่วรุ่นที่ 2 พบว่า ลักษณะทนแล้ง เช่น ลักษณะราก ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ และค่าคลอโรฟิลล์ทางอ้อมมีค่าความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะต่ำ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าไม่สามารถคัดเลือกเพื่อปรับปรุงลักษณะทนแล้งดังกล่าวในประชากรลูกผสมในชั่วรุ่นที่ 2 ได้ และในอีกการศึกษาหนึ่งพบว่า สามารถพัฒนาโมเลกุลเครื่องหมาย SSR (simple sequence repeats) เพื่อใช้ช่วยในการคัดเลือกลักษณะทนแล้งทั้งลักษณะน้ำหนักใบจำเพาะ และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบของถั่วลิสงลูกผสม 3.) การกระทบแล้งระยะยาว พบว่าความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะทนแล้งทั้งดัชนีเก็บเกี่ยว ค่าคลอโรฟิลล์ทางอ้อม และพื้นที่ใบจำเพาะ และลักษณะการตรึงไนโตรเจนมีค่าสูง ดังนั้นการคัดเลือกเพื่อปรับปรุงลักษณะทนแล้ง และลักษณะการตรึงไนโตรเจนจะได้ผลและส่งผลต่อความสามารถในการให้ผลผลิตฝักของถั่วลิสงในสภาพแล้งดังกล่าว ในขณะเดียวกันพบว่าลักษณะทนแล้งมีค่าสหสัมพันธ์กับลักษณะการติดเชื้อรา และการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซิน โดยการปรับปรุงลักษณะทนแล้งดังกล่าวข้างต้นจะมีผลทำให้การติดเชื้อและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินปนเปื้อนในถั่วลิสงลดลง 4.) การกระทบแล้งในช่วงปลายของระยะการเจริญเติบโต ความสามรถในการถ่ายทอดลักษณะทนแล้ง ของลักษณะดัชนีเก็บเกี่ยว พื้นที่ใบจำเพาะ และค่าคลอโรฟิลล์ทางอ้อมมีค่าสูง การปรับปรุงลักษณะทนแล้งดังกล่าวจะได้ผลและส่งผลกระทบต่อศักยภาพการให้ผลผลิตฝักสูง และส่งผลต่อการลดการติดเชื้อราและการสร้างสารอะฟลาทอกซินปนเปื้อนในผลผลิตของถั่วลิสง

นอกจากนี้การดำเนินงานของโครงการได้สร้างและพัฒนานักวิจัยรุ่นเยาว์ในระดับต่าง ๆ จำนวน 11 คน มีการตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการระดับนานาชาติแล้ว 8 เรื่อง และอยู่ในระหว่างการดำเนินการเพื่อตีพิมพ์อีกจำนวน 4 เรื่อง นำเสนอผลงานวิจัยทั้งในระดับชาติและนานาชาติ จำนวน 19 ครั้ง และสร้างเครือข่ายการวิจัยกับองค์กรระดับนานาชาติ จำนวน 6 เครือข่าย

Executive Summary

Peanut is an economically important crop. The areas planted to peanut are concurrently affected by drought. As a consequence, yield loss and the risk of aflatoxin contamination are common in drought prone areas. The use of drought tolerant cultivars should reduce yield loss and lower the risk of aflatoxin contamination. To complete this end, a better understanding on peanut responses to drought and genetic control of drought tolerance traits is required. The objectives of this study were to identify drought tolerance traits using molecular markers and morphological characters, investigate root systems and root responses to drought and evaluate the inheritance of drought tolerance traits and the relationships between drought tolerance traits with pod yield, nitrogen fixation and aflatoxin contamination. The extent of the study covered the most occurring events of drought including early-season drought, mid-season drought, late-season drought and continuous long-term drought.

The project consisted of 14 experiments. The correlations among traits and the identification of traits related to drought tolerance under different drought conditions were studied in three experiments using physiological characters related to drought and SSR markers. Two experiments were devoted for the study of root systems and root responses to drought. Seven experiments were devoted for the inheritance study and one experiment was devoted for the construction of genetic linkage map for relative water content (RWC) and specific leaf weight (SLW) using SSR markers.

In the study of peanut responses to early-season drought, root growth deeper into the soil gave contribution to drought tolerance and higher yield. Nitrogen fixation was decreased during drought session and was increased after drought termination. Therefore, nitrogen fixation was not different between drought and well-irrigated conditions. SPAD chlorophyll meter reading (SCMR) could be used as an indication for nitrogen fixation traits and growth traits. In responses to mid-season drought, differential responses among peanut genotypes were observed, and the genotypes with deep root systems and high root length density in deeper soil layers had higher yield. Drought at mid growing season also reduced RWC and root dry weight, but it increased specific leaf weight (SLW). SSR markers could successfully detected polymorphisms among peanut genotypes with differences in RWC and SLW.

The inheritance study for traits related to drought tolerance was undertaken under early-season drought, mid-season drought, late-season drought and continuous long-term

drought. Under early-season drought, high heritability estimates were observed for most traits related to drought tolerance including harvest index (HI), SLA and SCMR. High correlation coefficients were observed for SCMR with number of pods per plant, shoot dry weight and nodule dry weight. Improvement of SCMR should result in the increases in biomass production, nodule dry weight and number of pods per plant under early-season drought.

Under mid-season drought in the F_2 generation, the heritability estimates for root characters, RWC and SCMR were low. Selection for these characters would be difficult in early generations. In the separate experiment using the same population, SSR markers successfully detected sufficient polymorphisms and the SSR markers associated with RWC and SLW were identified.

Under continuous long-term drought, high heritability estimates were observed for HI, SCMR, SLA and nitrogen fixation. The improvement of these characters would be effective. Selection for high nitrogen fixation could result in the increase in number of pods per plant under continuous long-term drought. Drought tolerance traits were also associated with the reductions in *Aspergillus flavus* colonization and aflatoxin contamination, improvement of peanut genotypes with drought tolerance could be a means to reduce *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination.

Under late-season drought, the heritability estimates for HI, SLA and SCMR were high. Improvement of drought tolerance traits could result in the increase in number of pods per plant and reductions in *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination.

The project involves in the development of new generations of researchers, generates publications and builds research networks. There are four M.Sc. students and seven Ph.D. students are under the project. Eight papers have been published in the international journals, three papers have been submitted to the international journals and three papers have been ready for submission. Fifteen papers have been presented in the national proceedings and four papers have been presented in the international proceedings. Six research networks have been built.

บทคัดย่อ

249849

ถั่วลิสงเป็นพืชหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ พื้นที่เพาะปลูกส่วนใหญ่มักประสบปัญหาการกระทบแล้งทำให้ผลผลิตลดและเพิ่มความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินในผลผลิต แนวทางในการแก้ปัญหาการกระทบแล้งดังกล่าว โดยการปรับปรุงพันธุ์ถั่วลิสงให้ทนแล้ง การปรับปรุงพันธุ์ให้ทนแล้งนั้นจำเป็นต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการตอบสนองของพืชเพื่อทนต่อความแห้งแล้ง และพันธุกรรมการควบคุมลักษณะการทนแล้ง จะเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ถั่วลิสงทนแล้ง ดังนั้นการศึกษานี้ จึงมีวัตถุประสงค์ คือ 1) เพื่อจำแนกลักษณะการทนแล้งของพันธุ์ถั่วลิสงทั้งจากลักษณะที่ปรากฏและการใช้เครื่องหมายโมเลกุล 2) เพื่อศึกษาระบบรากและการตอบสนองของลักษณะราก เมื่อกระทบแล้ง และ 3) เพื่อประเมินค่าพันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะการทนแล้งและหาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทนแล้งกับลักษณะผลผลิต การตรึงไนโตรเจน และการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซิน การดำเนินงานครอบคลุมทั้งการกระทบแล้งในช่วงก่อนการออกดอก ช่วงการพัฒนาฝักและเมล็ด ช่วงปลายของการเจริญเติบโตและการกระทบแล้งตลอดช่วงการเจริญเติบโตของพืช โดยมีการดำเนินงานคือ

1. ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะการทนแล้งและสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะทนแล้งและลักษณะทางการเกษตรของถั่วลิสง 4 คู่ผสมจำนวน 140 สายพันธุ์เมื่อกระทบแล้งตลอดช่วงเวลาการเจริญเติบโต พบว่า ลักษณะ harvest index (HI), spad chlorophyll meter reading (SCMR) และ specific leaf area (SLA) มีค่าความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมสูง ควรใช้ลักษณะ SCMR เป็นลักษณะที่ใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งได้ดี เนื่องจากมีค่าความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะสูงและตรวจวัดได้ง่าย

2. ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะการตรึงไนโตรเจน สหสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของลักษณะการตรึงไนโตรเจนกับลักษณะทนแล้งและผลผลิตของถั่วลิสง 4 คู่ผสม 140 สายพันธุ์ เมื่อกระทบแล้งตลอดเวลาการเจริญเติบโต พบว่าการคัดเลือกลักษณะการตรึงไนโตรเจนของถั่วลิสงมีค่าความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะสูง การคัดเลือกพันธุ์ที่ตรึงไนโตรเจนสูงในสภาพแล้งจะช่วยส่งเสริมให้ถั่วลิสงมีผลผลิตที่สูงได้ เพราะค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้กับผลผลิตฝักมีค่าสูง การคัดเลือกลักษณะการตรึงไนโตรเจนจะไม่มีผลกระทบต่อลักษณะ SCMR และ SLA แต่จะมีผลกระทบต่อ HI

3. ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินและสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินกับลักษณะทนแล้งในถั่วลิสง 4 คู่ผสม 140 สายพันธุ์ในสภาพกระทบแล้งตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโตของถั่วลิสง พบว่า ค่าความสามารถในการ ถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมต่ำ ทั้งลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อ และการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซิน การปรับปรุงพันธุ์ถั่วลิสงเพื่อความต้านทานต่อการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินมีความก้าวหน้าน้อย อย่างไรก็ตามลักษณะความต้านทานต่อการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินมีสหสัมพันธ์

249849

ทางพันธุกรรมสูงกับลักษณะการทนแล้งโดยเฉพาะผลผลิตฝักภายใต้สภาวะความแห้งแล้ง และลักษณะทางสรีระวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้ง เช่น HI, SCMR และ SLA ดังนั้นควรใช้ลักษณะเหล่านี้เป็นลักษณะทางอ้อมในการคัดเลือกเพื่อปรับปรุงลักษณะความต้านทานต่อสารอะฟลาทอกซิน

4. ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะทนแล้งในช่วงต้นของการเจริญเติบโตและสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะทนแล้งและลักษณะทางการเกษตรของถั่วลิสง 4 คู่ผสม จำนวน 90 สายพันธุ์ ในสภาพการกระทบแล้งก่อนการออกดอก พบว่า ลักษณะ HI, SLA และ SCMR ในถั่วลิสงทุกคู่ผสมที่ทำการศึกษามีความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะสูง และมีค่าปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมต่ำ ลักษณะดังกล่าวมีความเป็นไปได้ที่จะนำมา ใช้เป็นลักษณะที่ใช้คัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในถั่วลิสง SCMR มีค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับจำนวนฝักแก่ มีความเป็นไปได้ในการคัดเลือกลักษณะ SCMR เพื่อเพิ่มผลผลิตถั่วลิสงในสภาพการกระทบแล้งก่อนการออกดอก

5. ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะการทนแล้งในช่วงปลายของการเจริญเติบโตและสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะทนแล้งกับผลผลิตของถั่วลิสง 4 คู่ผสม จำนวน 140 สายพันธุ์ ในสภาพการกระทบแล้งช่วงปลายของการเจริญเติบโต HI, SCMR และ SLA สามารถนำไปใช้เป็นลักษณะในการคัดเลือกพันธุ์ทนแล้งในถั่วลิสงได้เนื่องจากมีความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะสูง และมีค่าสหสัมพันธ์สูงกับลักษณะการให้ผลผลิต จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนัก 100 เมล็ด การปรับปรุงลักษณะ SCMR และ SLA จึงสามารถรักษาระดับของผลผลิตให้อยู่ในเกณฑ์ดีได้ภายใต้สภาพความแห้งแล้งปลายฤดู

6. ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซินและสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินกับลักษณะการทนแล้งในช่วงปลายของการเจริญเติบโตของถั่วลิสง 4 คู่ผสม จำนวน 140 สายพันธ์ การปรับปรุงลักษณะความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราและการสร้างสารอะฟลาทอกซินโดยตรงนั้นทำได้ยากและมีโอกาสที่จะประสบความสำเร็จ น้อยเนื่องจากค่าความสามารถในการถ่ายทอดของลักษณะต่ำ การปรับปรุงลักษณะดัชนีการทนแล้ง HI, SCMR และ SLA สามารถลดการปนเปื้อนของ สารอะฟลาทอกซินในถั่วลิสงได้ เพราะมีค่าสหสัมพันธ์กับลักษณะการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซิน

7. การศึกษาเพื่อใช้เครื่องหมายดีเอนเอ SSR (simple sequence repeats) เพื่อประเมินความแตกต่างของลักษณะน้ำหนักใบจำเพาะ (SLW) และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (RWC) ในใบถั่วลิสง 4 พันธุ์ ในสภาพการกระทบแล้งช่วงการพัฒนาฝักและเมล็ดของถั่วลิสง พบว่าในสภาพขาดน้ำถั่วลิสงพันธุ์ ICGV 38353 มีค่า specific leaf weight (SLW) มากที่สุด ส่วนพันธุ์ ICGV 98324 สามารถรักษาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบได้สูงที่สุด ในขณะที่ถั่วลิสงพันธุ์ KK 4 มีค่า SLW และค่า RWC ต่ำที่สุด และจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเครื่องหมาย SSR มีประสิทธิภาพในการจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ถั่วลิสงได้ โดยถั่วลิสงพันธุ์ KK 4 เป็นพันธุ์ที่มีความห่างไกลทางพันธุกรรมจากพันธุ์อื่นๆ มากที่สุด ซึ่งจากผลการทดลองนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ เพื่อพัฒนาประชากรกระจายตัวสำหรับติดตามยีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะทนแล้งต่อไป

249849

8. การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมอยู่กับลักษณะน้ำหนักใบจำเพาะและปริมาณน้ำสัมพันธ์ในใบถั่วลิสง จากลูกผสมถั่วลิสง KK 4 x ICGV 98324 ในชั่วที่ 2 จำนวน 128 ต้น เมื่อกระทบแล้งช่วงพัฒนาฝัก และเมล็ด พบว่าเครื่องหมาย SSR มีประสิทธิภาพในการจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ถั่วลิสงพันธุ์ปลูกได้ จากการทดลองครั้งนี้สามารถใช้เครื่องหมาย SSR สร้างแผนที่โครโมโซมของถั่วลิสงพันธุ์ปลูกได้จำนวน 12 ลิงค์เกจ ครอบคลุมระยะ 303 cM และสามารถระบุได้ว่าเครื่องหมาย TC06H03 เชื่อมอยู่กับลักษณะค่า SLW และเครื่องหมาย Ah4-04 วางตัวอยู่ใกล้กับลักษณะ RWC ซึ่งเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พบนี้สามารถใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับช่วยคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วลิสง เพื่อความต้านทานต่อการขาดน้ำต่อไป

9. การตอบสนองของรากถั่วลิสง 6 พันธุ์ เมื่อกระทบแล้งในช่วงต้นของการเจริญเติบโต พบว่าถั่วลิสงที่นำมาทำการทดลองสามารถจัดแบ่งได้ 3 กลุ่ม ตามการตอบสนองของผลผลิตฝักในสภาพขาดน้ำก่อนการออกดอกเปรียบเทียบกับสภาพไม่ขาดน้ำ คือ กลุ่มพันธุ์ที่ผลผลิตฝักเพิ่มขึ้น กลุ่มพันธุ์ที่ไม่ตอบสนองต่อสภาพขาดน้ำในระยะก่อนออกดอก และ พันธุ์ที่ผลผลิตฝักลดลง โดยในแต่ละกลุ่มพันธุ์ที่มีการตอบสนองผลผลิตฝักต่างกันนั้น เพราะมี HI ที่แตกต่างกันและมีการตอบสนองของน้ำหนักรากและความหนาแน่นรากที่ต่างกัน กลุ่มพันธุ์ที่ผลผลิตฝักเพิ่มขึ้น มีน้ำหนักรากและความหนาแน่นของรากในดินชั้นลึกเพิ่มขึ้น

10. การศึกษารูปแบบการกระจายตัวของรากและผลของการกระจายตัวแบบต่างๆต่อผลผลิตของถั่วลิสงเมื่อกระทบแล้งในระยะพัฒนาฝักและเมล็ดของถั่วลิสงจำนวน 40 พันธุ์ พบว่าถั่วลิสงที่นำมาทำการทดลองสามารถจัดแบ่งได้ 6 กลุ่ม ตามค่าเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นราก ในชั้นความลึกของดิน 3 ชั้น โดยเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นรากของดินชั้นล่าง เป็นลักษณะที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อศักยภาพการให้ผลผลิต ดัชนีเก็บเกี่ยว และมวลชีวภาพของถั่วลิสงในสภาพแห้งแล้ง

11. การตอบสนองต่อความแห้งแล้งในระยะก่อนการออกดอกของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจนและผลผลิต และสหสัมพันธ์ของลักษณะการตรึงไนโตรเจนกับลักษณะการทนแล้งในถั่วลิสง 11 สายพันธุ์ พบว่าการกระทบแล้งช่วงก่อนการออกดอก และได้รับน้ำกลับคืนไม่ได้ส่งผลต่อการตรึงไนโตรเจน และมวลชีวภาพของถั่วลิสง เนื่องจากพืชสามารถฟื้นตัวหลังจากได้รับน้ำกลับคืน ลักษณะการทนแล้งทั้ง SCMR สามารถใช้เป็นลักษณะทางอ้อมเพื่อบ่งชี้ถึงลักษณะน้ำหนักแห้งปมของถั่วลิสงทั้งในสภาพขาดน้ำช่วงต้นการเจริญเติบโตและสภาพที่ไม่ขาดน้ำ

12.พันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจนในสภาพการกระทบแล้งในช่วงก่อนการออกดอกและสหสัมพันธ์ของลักษณะการตรึงไนโตรเจนกับผลผลิตและลักษณะทนแล้งในถั่วลิสง 4 คู่ผสม 90 สายพันธุ์ พบว่าความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะมวลชีวภาพ ผลผลิตและลักษณะสรีรวิทยาการทนแล้งทั้ง SLA และ SCMR มีค่าสูง การคัดเลือกเพื่อการปรับปรุงลักษณะดังกล่าวจะได้ผล ลักษณะ SCMR ซึ่งวัดได้ง่ายมีค่าสหสัมพันธ์สูงกับลักษณะน้ำหนักแห้งต้น น้ำหนักปมแห้ง แต่ไม่พบว่ามีสหสัมพันธ์กับผลผลิต แสดงว่าการใช้ SCMR เป็นลักษณะทางอ้อมในการคัดเลือกพันธุ์ที่มีมวลชีวภาพสูง พันธุ์ที่ตรึงไนโตรเจนสูงจะมีผลต่อมวลชีวภาพแต่ส่งผลน้อยต่อลักษณะผลผลิต

249849

13.การศึกษาเพื่อจำแนกลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้งในถั่วลิสง 4 พันธุ์ในสภาพกระทบแล้งช่วงออกดอกและพัฒนาฝักของถั่วลิสง พบว่าในสภาวะที่ขาดน้ำทำให้ผลผลิตฝักและมวลชีวภาพลดลงมีค่า RWC, SLA และ root dryweight (RDW) และ มวลชีวภาพลดลง แต่มีค่า SCMR เพิ่มขึ้น ถั่วลิสงพันธุ์ต่างๆ มีการตอบสนองที่แตกต่างกันของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้งและพันธุ์ที่มีสมรรถนะที่ดีของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้ง ซึ่งสามารถจำแนกพันธุ์ ICGV 98324 เป็นพันธุ์ที่ดีโดยเมื่อกระทบแล้งมีค่า RWC และ SCMR สูง ในขณะที่ พันธุ์ ICGV 98303 เป็นพันธุ์ที่มีน้ำหนักแห้งรากเพิ่มขึ้น การตอบสนองที่แตกต่างกันของถั่วลิสงพันธุ์ต่างๆของลักษณะทนแล้ง แสดงให้เห็นความหลากหลายของกลไกการทนแล้ง

14. ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะและสหสัมพันธ์ของลักษณะทนแล้ง และลักษณะทางการเกษตรของถั่วลิสง ของคู่ผสม KK 4 x ICGV 98324 ในชั่วรุ่นที่ 2 พบว่าค่าความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะแบบกว้างมีค่าต่ำถึงปานกลาง และค่าความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะแบบแคบมีค่าต่ำ ทั้งลักษณะราก ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ ค่าประมาณคลอโรฟิลล์ทางอ้อม ลักษณะที่เกี่ยวข้องทางการเกษตร และลักษณะทนแล้ง ทำให้การคัดเลือกพันธุ์เพื่อปรับปรุงลักษณะเหล่านี้ไม่ประสบความสำเร็จในชั่วรุ่นต้นๆ

นอกจากนี้โครงการมีการพัฒนานักวิจัยระดับปริญญาโทและหลังปริญญาโท จำนวน 4 คน ระดับปริญญาเอก 7 คน มีผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติแล้ว 8 เรื่อง ส่งไปยังวารสารวิชาการแล้วรอการตอบรับ 3 เรื่อง และเตรียมต้นฉบับพร้อมส่งวาสาร 3 เรื่อง นำเสนอผลงานในระดับชาติ 15 เรื่อง ในระดับนานาชาติ 4 เรื่อง และสร้างเครือข่ายงานวิจัย 6 เครือข่าย

Abstract

249849

Peanut is an economically important crop. The areas planted to peanut are concurrently affected by drought. As a consequence, yield loss and the risk of aflatoxin contamination are common in drought prone areas. The use of drought tolerant cultivars should reduce yield loss and lower the risk of aflatoxin contamination. To complete this end, a better understanding on peanut responses to drought and genetic control of drought tolerance traits is required. The objectives of this study were to identify drought tolerance traits using molecular markers and morphological characters, investigate root systems and root responses to drought and evaluate the inheritance of drought tolerance traits and the relationships between drought tolerance traits with pod yield, nitrogen fixation and aflatoxin contamination. The extent of the study covered the most occurring events of drought including early-season drought, mid-season drought, late-season drought and continuous long-term drought. The key findings of 14 topics are as follows;

1. **Heritability estimates and genotypic correlations for drought related traits and agronomic traits of 140 families of four peanut crosses evaluated under continuous long-term drought** –High heritability estimates were observed for harvest index (HI), SPAD chlorophyll meter reading (SCMR) and specific leaf area (SLA). SCMR should be used as a surrogate trait for drought tolerance as it has high heritability estimates and is easy to evaluate.
2. **Heritability estimates and genotypic correlations for drought related traits and traits related to nitrogen fixation of 140 families of four peanut crosses evaluated under continuous long-term drought** – High heritability estimates were observed for traits related to nitrogen fixation. Selection for high nitrogen fixation should result in high pod yield as the genotypic correlation between nitrogen fixation and pod yield was high. Selection for high nitrogen fixation will not have significant effect on SCMR and SLA but will have significant effect on harvest index.
3. **Heritability estimates and genotypic correlations for drought related traits and aflatoxin contamination of 140 families of four peanut crosses evaluated under continuous long-term drought** –The heritability estimates for *Aspergillus flavus* colonization and aflatoxin contamination were low. Limited progress in selection for low aflatoxin contamination is expected. However, high correlation coefficients were found between aflatoxin contamination and pod yield and drought related

traits such as HI, SCMR, and SLA. These characters should be used as surrogate traits for resistance to aflatoxin contamination in peanut.

4. **Heritability estimates and genotypic correlations for drought related traits and agronomic traits of 90 families of four peanut crosses evaluated under early-season drought** –High heritability estimates for HI, SLA and SCMR were observed in all crosses and the interactions between genotype and environment for these characters were also low. These characters can be used as surrogate traits for drought tolerance in peanut. SCMR had high correlation with number of mature pods and it is possible to select high SCMR for high yield under early-season drought.
5. **Heritability estimates and genotypic correlations for drought related traits and traits related to nitrogen fixation of 140 families of four peanut crosses evaluated under late-season drought** –HI, SCMR and SLA could be used as surrogate traits for drought tolerance in peanut because of their high heritability estimates and high correlations with pod yield, number of mature pods per plant, number of seeds per pods and 100-seed weight. Improvement of SCMR and SLA could maintain acceptable yield under late-season drought.
6. **Heritability estimates and genotypic correlations for drought related traits and aflatoxin contamination of 140 families of four peanut crosses evaluated under late-season drought** –Improvement of peanut varieties with resistance to *Aspergillus flavus* colonization and aflatoxin contamination would be difficult and the success would be low because of low heritability estimates for these traits. Improvement of drought tolerance index, SCMR and SLA could reduce aflatoxin contamination in peanut because of high correlations of these traits.
7. **Genetic distance among four peanut genotypes with differences in specific leaf weight (SLW) and relative water content (RWC) as identified by SSR markers under drought**–ICGV 98353 was the best genotype for SLW, whereas ICGV 98324 was the best genotype for RWC. KK 4 had the lowest SLW and RWC. SSR markers successfully discriminated genetic distance among peanut genotypes, and KK 4 was not closely related to other peanut lines. The information would be useful in developing segregating populations for further study of SSR markers associated with drought tolerance traits.
8. **SSR markers associated with specific leaf weight (SLW) and relative water content (RWC) in peanut** –One hundred and twenty eight plants in the F_2

generation of the cross between KK 4 and ICGV 98324 were used as a mapping population to map SLW and RWC into peanut genetic linkage map. Phenotypic characterization for SLW and RWC was conducted under drought. SSR markers successfully detected polymorphism in this population. Twelve linkage groups covering 303 cM on peanut genome were constructed. The marker TC06H03 was associated with SWL , whereas the marker Ah4-04 was associated with RWC . The SSR markers associated with SLW and RWC will be used for marker-assisted breeding for drought tolerance in peanut.

9. **Root responses of six peanut genotypes to early-season drought** –Differential responses of peanut genotypes to early-season drought were observed, and they were classified as the group with increase in pod yield, the group with no response and the group with yield reduction. The differences among peanut genotypes in pod yield were mainly due to the differences in HI and root length density. The group with increase in pod yield in response to drought had higher root length density and root weight in deeper soil layers.
10. **Root distribution patterns of 40 peanut genotypes in response to mid-season drought and their relationships with yield performance** –Root distributions could be classified into six groups depending on root length density in three soil layers. Root length density at lower soil layers was the most important factor promoting higher yield, harvest index and biomass production under drought.
11. **Responses to early-season drought of 11 peanut genotypes for traits related to nitrogen fixation and pod yield and correlations among these characters** –Early-season drought did not have detrimental effects on nitrogen fixation and biomass production of peanut mainly due to better recovery of peanut after recovery from drought. SCMR could be used as a surrogate trait for nodule dry weight of peanut both under early-season drought and fully-irrigated conditions.
12. **Heritability estimates for nitrogen fixation, yield and drought tolerance traits of 90 families of four peanut crosses and correlations among these traits evaluated under early-season drought** –High heritability estimates were observed for biomass production, pod yield, SLA and SCMR, indicating that there are high possibility to improve these traits. SCMR, an easily measurable trait, had high correlations with shoot dry weight and nodule dry weight, but it was not correlated with pod yield. The results indicated that SCMR could be used as a surrogate

trait for biomass production. High nitrogen fixation under drought gave more contribution to biomass production rather than to pod yield.

13. **Identification of drought tolerance traits in four peanut genotypes under mid-season drought** –Drought reduced pod yield, biomass production, RWC, SLA and root dry weight, but it increased SCMR. Differential responses to mid-season drought for traits related to drought tolerance were observed among peanut genotypes, and two genotypes with good responses were readily identified. ICGV 98324 was identified as a good genotype because it was high RWC and increased SCMR in response to mid-season drought, whereas ICGV 98303 was identified as a good genotype because of the increase in root dry weight. Differential responses also indicated the differences in drought tolerance mechanisms.
14. **Heritability estimates for drought tolerance traits and agronomic traits and correlations among these characters under mid-season drought** –The 128 progenies of the cross between KK 4 and ICGV 98324 in the F_2 generation were used for estimation of heritability. The heritability estimates in broad sense were low to intermediate for root traits, RWC, SCMR, agronomic traits and traits related to drought tolerance, whereas the heritability estimates in narrow sense for these traits were low. Selection for improving these traits in early generations is not effective.

The project involves in the development of new generations of researchers, generates publications and builds research networks. There are four M.Sc. students and seven Ph.D. students are under the project. Eight papers have been published in the international journals, three papers have been submitted to the international journals and three papers have been ready for submission. Fifteen papers have been presented in the national proceedings and four papers have been presented in the international proceedings. Six research networks have been built.

คำนิยาม

คณะผู้วิจัยต้องขอขอบคุณ ฝ่ายวิชาการ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่ได้จัดสรรงบประมาณสนับสนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้จัดสรรงบประมาณผ่านศูนย์ปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน เพื่อสมทบการทำงานวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้ให้การสนับสนุนการใช้สถานที่ทดลองห้องปฏิบัติการ ครุภัณฑ์ สำหรับการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

สารบัญ

	หน้า
บทสรุปการดำเนินงานโครงการสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)	ก
Executive Summary	ค
บทคัดย่อ	จ
Abstract	ฌ
คำนิยาม	ฐ
สารบัญ	ฑ
1. **บทนำ**	1
2. **วัตถุประสงค์**	2
3. **ผลที่คาดว่าจะได้รับ**	2
4. **ผลการดำเนินงานของโครงการ**	2
4.1 งานวิจัย งานวิจัยของโครงการประกอบด้วย	2
4.1.1 ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะการทนแล้งและสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและลักษณะที่ปรากฏของลักษณะการทนแล้งและลักษณะทางการเกษตรของถั่วลิสง	3
4.1.2 ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะการตรึงไนโตรเจน สหสัมพันธ์ของลักษณะที่ปรากฏ และสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะการตรึงไนโตรเจนกับลักษณะการทนแล้ง และผลผลิตของถั่วลิสง	8
4.1.3 ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินและสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินกับลักษณะการทนแล้งในถั่วลิสง	13
4.1.4 ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะการทนแล้งในช่วงต้นของการเจริญเติบโต และสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและลักษณะที่ปรากฏของลักษณะการทนแล้งและลักษณะทางการเกษตรในถั่วลิสง	18
4.1.5 ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะทนแล้งช่วงปลายของการเจริญเติบโตและสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะทนแล้งช่วงปลายของการเจริญเติบโต และผลผลิตในถั่วลิสง	23
4.1.6 ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะการปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินและสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินกับการทนแล้งในช่วงปลายของการเจริญเติบโตในถั่วลิสง	27

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
4.1.7	การใช้เครื่องหมายดีเอนเอ SSR เพื่อประเมินความแตกต่างของลักษณะน้ำหนักใบจำเพาะ และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบถั่วลิสงพันธุ์ต่าง ๆ	31
4.1.8	เครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมอยู่กับลักษณะน้ำหนักใบจำเพาะ และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบถั่วลิสง	37
4.1.9	การตอบสนองของรากถั่วลิสงเมื่อกระทบแล้งในช่วงต้นของการเจริญเติบโต	41
4.1.10	รูปแบบการกระจายตัวของรากและผลของการกระจายตัวของรากต่อผลผลิตถั่วลิสงสายพันธุ์ต่างๆ ในสภาพแห้งแล้ง	48
4.1.11	การตอบสนองต่อความแห้งแล้งในระยะก่อนออกดอกของถั่วลิสงของลักษณะที่เกี่ยวกับการตรึงไนโตรเจนและผลผลิตและสหสัมพันธ์ของลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจน กับลักษณะผลผลิตและลักษณะทนแล้งในถั่วลิสง	54
4.1.12	พันธุกรรมการถ่ายทอดลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจนในสภาพการกระทบแล้งในช่วงก่อนการออกดอกและสหสัมพันธ์ของลักษณะการตรึงไนโตรเจนกับผลผลิตและลักษณะการทนแล้งในถั่วลิสง	58
4.1.13	ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะและสหสัมพันธ์ของลักษณะทนแล้ง และลักษณะทางการเกษตรของถั่วลิสง	63
4.1.14	การศึกษาเพื่อจำแนกลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้งในถั่วลิสง	67
4.2 ผลงานในการสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่		72
4.3 ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ		72
4.4 ผลงานที่ส่งไปยังวารสารวิชาการแล้ว รอการตอบรับตีพิมพ์		73
4.5 ผลงานที่เตรียมต้นฉบับแล้ว รอการตรวจอ่านจากผู้ทรงคุณวุฒิ		74
4.6 การนำเสนอผลงานทางวิชาการในระดับชาติ		74
4.7 การนำเสนอผลงานทางวิชาการในระดับนานาชาติ		76
4.8 การเชื่อมโยงทางวิชาการกับนักวิชาการในสถาบันอื่น ๆ		77
5. เอกสารอ้างอิง		78
ภาคผนวก		