การจำแนกเครื่องหมายเอสเอสอาร์ที่สัมพันธ์กับลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดหวาน

Identification of SSR Markers Associated with Northern Corn Leaf Blight Resistance in Sweet Corns

ธีรวุฒิ วงศ์วรัตน์[1/*] ฉลอง เกิดศรี[2/] เชาวนารถ พฤทธิเทพ[3/]

Theerawut Wongwarat[1/*] Chalong Kerdsri[2/] Chaowanart Phruetthithep[3/]

Received 21 Aug. 2023/Revised 6 Dec. 2023/Accepted 16 Feb. 2024

ABSTRACT

Northern corn leaf blight (NCLB) caused by *Exserohilum turcicum,* is one of the most serious diseases of sweet corn. Resistant variety is often considered the most effective method for controlling NCLB. Conventional breeding for developing sweet corn resistant to NCLB is time-consuming and the evaluation of NCLB resistance in sweet corn is influenced by environmental conditions. Utilising DNA markers to screen for resistance to NCLB in sweet corn is less time consuming and more effective. This research focused on identifying 16 SSR markers that could be associated with polymorphisms related to NCLB disease reaction. Twenty-six commercial sweet corn cultivars/hybrids were used in this study. Results indicated that SSR marker, bnlg182, located on chromosome 1 (bin no. 1.03), exhibited different particular alleles between moderately resistant and moderately susceptible to NCLB disease. Then the bnlg182 marker was used as the template for amplification of the DNA of 158 S_6 lines of sweet corn. The presence of particular alleles related to resistance to NCLB from 10 S_6 lines of sweet corn. These sweet corn lines were planted to evaluate their resistance to NCLB disease. The results indicated that the 10 S_6 lines of sweet corn exhibited a moderate resistance (19 -30%) to NCLB disease. The utilisation of the bnlg182 marker as a screening tool in resistance sweet corn breeding programs offers the advantages of being simple and fast.

Keywords: northern corn leaf blight (NCLB); SSR markers; *Exserohilum turcicum*

[1/] ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น 180 ต. ศิลา อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40000

[1/] Khon Kaen Field Crops Research Center, 180 Sila, Mueang, Khon Kaen 40000, Thailand

[2/] ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท 522 ต.บางหลวง อ. สรรพยา จ. ชัยนาท 17150

[2/] Chai Nat Field Crops Research Center, 522 Bang Luang, Sapphaya, Chai Nat 17150, Thailand

[3/] สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน 50 ถ.พหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

[3/] Field and Renewable Energy Crops Research Institute, 50 Phahonyothin Rd., Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

*** Corresponding author: theerawut6949@gmail.com**

บทคัดย่อ

โรคใบไหม้แผลใหญ่ มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum* ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตข้าวโพดหวาน การปลูกข้าวโพดหวานสายพันธุ์ต้านทานโรคเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงสุด แต่การปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีมาตรฐานใช้ระยะเวลานาน และอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมมีผลต่อการประเมินการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ งานวิจัยนี้จึงนำเทคโนโลยีชีวภาพระดับโมเลกุลทางด้านเครื่องหมายดีเอ็นเอ มาใช้ในการคัดเลือกข้าวโพดหวานต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ โดยนำเครื่องหมายเอสเอสอาร์จำนวน 16 เครื่องหมายมาทดสอบความสามารถในการแยกความแตกต่างของการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดหวาน 26 พันธุ์/พันธุ์ลูกผสม ผลการทดสอบ พบว่า เครื่องหมาย bnlg182 บนโครโมโซมที่ 1 ตำแหน่ง 1.03 ปรากฏอัลลีลที่สามารถแยกความแตกต่างกันระหว่างข้าวโพดหวานที่มีระดับต้านทานปานกลางต่อโรคกับข้าวโพดหวานที่มีระดับอ่อนแอปานกลางต่อโรคได้ เมื่อนำ bnlg182 มาใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอข้าวโพดหวานลูกผสมรุ่นชั่วที่ 6 จำนวน 158 สายพันธุ์ พบอัลลีลที่สัมพันธ์กับความต้านทานโรคปานกลางในข้าวโพดหวานลูกผสมจำนวน 10 สายพันธุ์ เมื่อนำไปปลูกเพื่อประเมินการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ พบว่า ข้าวโพดหวานทั้ง 10 สายพันธุ์นี้มีระดับต้านทานปานกลางต่อโรค (19 - 30%) การประยุกต์ใช้เครื่องหมาย bnlg182 มาเป็นเครื่องมือในการช่วยคัดเลือกข้าวโพดหวานต้านทานใบไหม้แผลใหญ่ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดหวานทำให้การปฏิบัติงานง่าย และรวดเร็วขึ้น

คำสำคัญ: โรคใบไม้แผลใหญ่; เครื่องหมายเอสเอสอาร์; ความต้านทานโรคพืช; *Exserohilum turcicum*

บทนำ

ข้าวโพดหวานเป็นพืชในอุตสาหกรรมอาหารไทย มีภาพรวมการส่งออกในรูปข้าวโพดกระป๋องในเดือนมกราคม ถึง พฤศจิกายน 2566 ทั้งปริมาณและมูลค่าขยายตัว 20.4 และ 28.0% ตามลำดับ (องอาจ, 2567) แต่การผลิตข้าวโพดหวานยังคงต้องเผชิญกับปัญหาการระบาดของโรคพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดหวาน (northern corn leaf blight, NCLB) ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum* อาการเริ่มแรกพบแผลขนาดเล็กกระจายบนใบข้าวโพดหวาน แผลจะขยายขนาดใหญ่ขึ้นจนรวมเป็นแผลเดียวกันตามความยาวของใบ ลักษณะคล้ายรูปกระสวย เชื้อราชนิดนี้สร้างสปอร์จำนวนมากในสภาพความชื้นสูง ที่อุณหภูมิระหว่าง 18 – 27° ซ. จึงพบเชื้อนี้ระบาดในช่วงฤดูหนาวในประเทศไทย สปอร์สามารถแพร่กระจายได้โดยลม เมื่อมีความชื้นสปอร์จะงอกเข้าทำลายใบข้าวโพด ลักษณะอาการระยะแรกจะเกิดแผลขนาดใหญ่ 2 - 20 ซม. สีเทาหรือสีน้ำตาลยาวไปตามใบ หัวท้ายเรียวคล้ายรูปกระสวย มักจะเกิดที่ใบล่าง ๆ แล้วลุกลามไปยังใบบนทั่วต้น เมื่ออาการรุนแรงแผลจะขยายตัวรวมกันจนในที่สุดทำให้ใบข้าวโพดแห้งตาย (พีระวรรณ, 2551) นอกจากนี้ Raymundo and Hooker (1981) และ Rajeshwar et al. (2014) ได้รายงานว่า ต้นข้าวโพดหวานที่ติดเชื้อนี้รุนแรง โดยเฉพาะในช่วงการออกดอกจะทำให้ฝักไม่สมบูรณ์ เกิดความเสียหายของผลผลิตประมาณ 16 – 98%

การป้องกันความเสียหายจากโรคพืชที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด คือ การใช้พันธุ์ต้านทาน ซึ่งเป็นความท้าทายของนักปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดหวาน เนื่องจากการประเมินระดับความรุนแรงของการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่มักดำเนินการได้เฉพาะ

ในช่วงฤดูหนาวเท่านั้น อันเป็นอุปสรรคสำคัญ การนำเครื่องหมาย ดีเอ็นเอมาช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวโพดหวานต้านทานใบไหม้แผลใหญ่ จะช่วยให้การคัดเลือกพันธุ์สามารถทำได้ตลอดทั้งปี จึงช่วยลดทั้งระยะเวลา แรงงาน และพื้นที่ปลูกทดสอบได้ และเป็นการคัดเลือกข้าวโพดหวานในระดับดีเอ็นเอ จึงไม่มีอิทธิพลของสภาวะแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง ในต่างประเทศมีรายงานการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดเอสเอสอาร์ในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดหวานต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ โดย Osman et al. (2015) นำมาใช้กับข้าวโพดหวานจำนวน 8 พันธุ์ และลูกผสมจำนวน 28 สายพันธุ์ โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 20 เครื่องหมาย สามารถจัดกลุ่มข้าวโพดหวานที่มีระดับต้านทานโรค (แสดงอาการเป็นโรคเฉลี่ย 16%) กลุ่มที่มีระดับต้านทานโรคปานกลาง (แสดงอาการเป็นโรคเฉลี่ย 48%) และกลุ่มที่อ่อนแอต่อโรค (แสดงอาการเป็นโรคเฉลี่ย 64%) ต่อมา Wende et al. (2018) พบว่า ระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดหวานมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อทำการจัดกลุ่มทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 20 เครื่องหมาย สามารถแบ่งกลุ่มข้าวโพดหวานที่มีความต้านทาน ต้านทานปานกลาง และที่มีความอ่อนแอได้

ในประเทศไทยมีการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดเอสเอสอาร์มาใช้ในการช่วยคัดเลือกพันธุ์ข้าวโพดต้านทานของโรคใบไหม้แผลใหญ่ โดย Puttarach et al. (2016) นำเครื่องหมายเอสเอสอาร์ 3 เครื่องหมาย ได้แก่ bnlg1721, umc1042 และ umc1149 มาใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอประชากรลูกผสมรุ่นชั่วที่ 2 ระหว่างพันธุ์แม่ที่มีระดับอ่อนแอต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ และพันธุ์พ่อที่มีระดับต้านทานใบไหม้แผลใหญ่ พบว่าเครื่องหมาย bnlg1721 และ umc1042 มีความเชื่อมโยงกันระหว่างระดับการเป็นโรค และอัลลีลของเครื่องหมายเอสเอสอาร์ทั้งสองเครื่องหมายอยู่บนโครโมโซมที่ 2 มีความเชื่อมโยงกับยีน *Ht1* มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination: R^2) 0.2616 และ 0.2948 และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.0001$)

เนื่องจากเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดเอสเอสอาร์สามารถใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวโพดหวานต้านทานใบไหม้แผลใหญ่ได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาและจำแนกเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดเอสเอสอาร์ที่สัมพันธ์กับระดับความต้านทานของข้าวโพดหวานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ที่ระบาดในประเทศไทย สำหรับใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการช่วยคัดเลือกพันธุ์ข้าวโพดหวานต้านทานใบไหม้แผลใหญ่อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การประเมินระดับการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดหวาน

1.1 ข้าวโพดหวาน จำนวน 26 พันธุ์/สายพันธุ์ ดังนี้

ข้าวโพดหวานสายพันธุ์แท้ จากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท จำนวน 20 สายพันธุ์ ได้แก่ 6622104-24 6622104-53 6622104-56 6622104-67 6622104-97 6622104-118 6622104-157 6622104-183 6622104-196 7522104-224 7522104-241 7522104-261 7522104-268 7522104-282 7522104-330 7522104-332 7522104-354 7522104-357 7522104359 และ 7522104-363

ข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์การค้า จำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สงขลา84-1 (Songkla84-1) หวาน54 (Wan54) หวาน1351 (Wan1351) อินทรี2 (Insee2) ไฮบริกซ์3 (Hibrix3) และไฮบริกซ์59 (Hibrix59) ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ

1.2 ปลูกข้าวโพดหวานทั้ง 26 สายพันธุ์ ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ เดือน ธ.ค. 2564 วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ จำนวน 2 ซ้ำ ขนาดแปลงทดลอง 24x50 ม. ปลูกแถวคู่ แถวยาว 2.5 ม. ระยะห่างระหว่างแถว 75 ซม. ระยะห่างระหว่างต้น 20 ซม. จำนวน 1 ต้น/หลุม ปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์3 (มีระดับอ่อนแอต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่) เป็นแถวแพร่กระจายโรค (spread row) เมื่ออายุครบ 10 วัน ปลูกเชื้อรา *E. turcicum* สาเหตุของโรคใบไหม้แผลใหญ่ หลังจากปลูกเชื้อราบนข้าวโพดหวานแถว spread row แล้ว 14 วัน จึงปลูกข้าวโพดหวาน 26 พันธุ์/สายพันธุ์ เมื่อข้าวโพดหวานอายุครบ 55 วันหลังปลูก ประเมินระดับการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ตามวิธีของ Min et al. (2012) โดยจัดระดับความการเกิดโรคเป็น 5 ระดับ ตามเปอร์เซ็นต์ลักษณะอาการแผลบนพื้นที่ใบ ดังนี้ ระดับต้านทานสูง (highly resistant: HR) = 0 - 3% ระดับต้านทาน (resistant: R) = 4 - 10% ระดับต้านทานปานกลาง (moderately resistant: MR) = 11 – 30% ระดับอ่อนแอปานกลาง (moderately susceptible: MS) = 31 – 70% ระดับอ่อนแอมาก (highly susceptible: HR) = >70%

2. การสกัดดีเอ็นเอและการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR)

2.1 การสกัดดีเอ็นเอ โดยคัดเลือกเมล็ดข้าวโพดหวานที่สมบูรณ์ พันธุ์/สายพันธุ์ละ 20 เมล็ด นำมาเพาะให้งอกเป็นต้นกล้า ตัดใบอ่อนเป็นชิ้นเล็ก ๆ ประมาณ 100 มก. ใส่ลงในโกร่งที่มีไนโตรเจนเหลว บดให้ละเอียดเป็นผงแล้วใช้ชุดน้ำยาสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (DNeasy Plant Kit, QIAGEN*)* เพื่อสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารสกัดดีเอ็นเอที่ได้ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร ซึ่งต้องมีค่าระหว่าง 1.65 - 1.85 จากนั้นแบ่งสารสกัดดีเอ็นเอนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 10 นาโนกรัม/ไมโครลิตร สำหรับใช้เป็นสารพันธุกรรมต้นแบบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

2.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ (SSR marker, simple sequence repeat marker) จำนวน 16 เครื่องหมาย (Table 1) ส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR ปริมาตรสุทธิ 15 ไมโครลิตร ประกอบด้วย สารสกัดดีเอ็นเอความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตร 3 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปราศจากเชื้อจุลินทรีย์และอาร์เอ็นเอ ปริมาตร 3.98 ไมโครลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ AllTaq PCR 5x ปริมาตร 3 ไมโครลิตร สารละลายบัฟเฟอร์ 5xQ ปริมาตร 3 ไมโครลิตร เครื่องหมายเอสเอสอาร์ความเข้มข้น 0.2 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 0.7 ไมโครลิตร สารละลาย $MgCl_2$ ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.6 ไมโครลิตร สารละลาย dNTP ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร สารละลาย master mix tracer 125 x ปริมาตร 0.12 ไมโครลิตร และเอนไซม์ *Taq* DNA polymerase (AllTaq PCR Core and Master Mix Kit, QIAGEN) ความเข้มข้น 0.1 หน่วยต่อหนึ่งหน่วยปฏิกิริยา ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร จากนั้น นำหลอดปฏิกิริยาใส่ลงในเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ มีขั้นตอนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ดังนี้

Table 1 List of SSR markers used in this study and their sequences

SSR markers	Chrom. position	Forward primer	Reverse primer	Citation
bnlg176	1	AGTTCACGTCCAGCTGAATGACAG	CGCGCATCGCATGCTTATCCTA	Wende et al. (2018)
bnlg182	1	AGACCATATTCCAGGCTTTACAG	ACAACTAGCAGCAGCACAAGG	Wende et al. (2018)
phi037	1	CCCAGCTCCTGTTGTCGGCTCAGAC	TCCAGATCCGCCGCACCTCACGTCA	Wende et al. (2018)
umc1568	1	AAGTCCAGCCAAGTTCATCAAAGA	ACTGTAACTAAACTGGGTGTGCCC	Wende et al. (2018)
bnlg108	2	GCACTCACGCGCACAGGTCA	CGCCTGCCAAGGTACATCAC	Wende et al. (2018)
umc1042	2	AAGGCACTGCTACTCCTATGGCTA	CTGACCTTTGAATTCTGTGCTCCT	Puttarach et al. (2016)
umc1644	3	CCATAAACTGTTCCTTTGGCACAC	CTTTCACGTGTTAAGGGAGACACC	Osman et al. (2015)
bnlg490	4	GCCCTAGCTTGCTAATTAACTAACA	ACTGTAAGGGCAGTGGACCTATA	Osman et al. (2015)
umc2038	4	ACAGAAACCAATGCATGTGATGAG	TGCATGGTTGCTTCAGCAGT	Wende et al. (2018)
bnlg238	6	CTTATTGCTTTCGTCATACACACACATTCAT	GAGCATGAGCTTGCATATTTCTTGTGG	Wende et al. (2018)
umc1296	6	GCTGGAGATAGGCATCCAGACAC	CTCTCCCGGCTCTGACCTAGC	Wende et al. (2018)
phi054	8	AGAAAAGAGAGTGTGCAATTGTGATAGAG	AATGGGTGCCTCGCACCAAG	Wende et al. (2018)
bnlg240	8	AAGAACAGAAGGCATTGATACATAA	TGCAGGTGTATGGGCAGCTA	Min et al. (2012)
MAC216826-4	8	CGGAGGAGCATATTTTCCAA	CGGGAATGGTTATGCAACTT	Osman et al. (2015)
umc1149	8	TACAGTAGGGATTCTTGCAGCCTC	GTGGGACCTTGTTGCTTCCTTT	Puttarach et al. (2016)
umc1367	10	TGGACGATCTGCTTCTTCAGG	GAAGGCTTCTTCCTCGAGTAGGTC	Kumar et al. (2022)

Chrom. position = Chromosome position

pre-denature 94°ซ. นาน 3 นาที denature 94°ซ. นาน 30 วินาที Annealing 48°ซ. นาน 30 วินาที extension 72°ซ. นาน 1 นาที ทำซ้ำ denature ถึง extension จำนวน 35 รอบ และ final extension 72°ซ. นาน 10 นาที จากนั้นตรวจสอบผลผลิต PCR ด้วยเทคนิคอะการ์โรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (agarose gel electrophoresis) ใช้ 5% อะการ์โรส ที่มีสีย้อมดีเอ็นเอ (ViSafe Green Gel Stain, Vivantis) ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 2 ชม. จากนั้นนำแผ่นเจลอะการ์โรสมาผ่านแสง LED แล้วบันทึกภาพแถบดีเอ็นเอ

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 จัดรูปแบบอัลลีลของแต่ละเครื่องหมายเอสเอสอาร์ด้วยการกำหนดให้ตัวอักษรภาษาอังกฤษ โดยให้ตัวอักษรตัวเล็ก เป็นตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ และตัวอักษรตัวใหญ่ เป็นอัลลีล (แถบดีเอ็นเอ) ที่ปรากฏ โดยกำหนดให้ตัวอักษรเดียวกัน แสดงถึงการปรากฏของอัลลีลที่ตำแหน่งเดียวกัน

3.2 ประเมินค่า polymorphism information content (PIC) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงโอกาสที่จะพบตัวอย่างที่เลือกแบบสุ่ม 2 ตัวอย่างที่เกิดพอลิมอร์ฟิซึม สำหรับเครื่องหมายข่มร่วม (co-dominant markers) PIC = $1-\sum Pi^2$ มีค่าอยู่ระหว่าง 0.01 - 1.00

4. การคัดเลือกข้าวโพดหวานลูกผสมรุ่นชั่วที่ 6 ด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ที่ผ่านการคัดเลือก

ทำการทดสอบเครื่องหมายเอสเอสอาร์ที่ผ่านการคัดเลือก เพื่อคัดเลือกข้าวโพดลูกผสมชั่วรุ่นที่ 6 จำนวน 158 สายพันธุ์ ที่พัฒนาโดยศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ เดือน ธ.ค. 2565 วางแผนการทดสอบ และประเมินผลการเกิดโรค เช่นเดียวกับการทดสอบ ในข้อ 1.2

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การประเมินระดับการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดหวาน

การประเมินการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดหวาน จำนวน 26 พันธุ์/สายพันธุ์ พบว่า มี

ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) สามารถแบ่งระดับการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ได้ 2 ระดับ (Table 2) ดังนี้

ระดับต้านทานปานกลางต่อโรค (MR) จำนวน 8 พันธุ์/สายพันธุ์ มีการแสดงอาการแผลบนใบ 23.20 – 29.85% ได้แก่ 6622104-53 (29.05%) 6622104-67 (29.15%) 7522104-241 (29.85%) 7522104-268 (25.25%) 7522104-282 (27.65%) 7522104-332 (29.35%) 7522104-363 (27.45%) และพันธุ์เปรียบเทียบ หวาน54 (23.20%)

ระดับอ่อนแอปานกลางต่อโรค (MS) จำนวน 18 พันธุ์/ลูกผสม มีการแสดงอาการแผลบนใบ 30.20 – 64.70% ได้แก่ 6622104-24 (61.75%) 6622104-56 (30.35%) 6622104-97 (30.50%) 6622104-118 (55.90%) 6622104-157 (55.35%) 6622104-183 (49.25%) 6622104-196 (57.40%) 7522104-224 (54.85%) 7522104-261 (49.05%) 7522104-330 (54.95%) 7522104-354 (50.85%) 7522104-357 (30.20%) 7522104-359 (48.60%) และพันธุ์เปรียบเทียบ สงขลา84-1 (64.55%) หวาน 1351 (59.65%) อินทรี2 (44.80%) ไฮบริกซ์3 (64.70%) และ ไฮบริกซ์59 (59.90%)

2. การใช้เครื่องหมายเอสเอสอาร์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ด้วยเครื่องหมายเอสเอสอาร์ จำนวน 16 เครื่องหมาย พบว่า มีแถบดีเอ็นเอหรืออัลลีลจำนวนทั้งหมด 108 อัลลีล มีขนาด 50 - 300 คู่เบส เครื่องหมาย umc1568 และ umc1644 มีอัลลีลน้อยที่สุด คือ

Table 2 Comparison the percentage of leaf area infection by northern corn leaf blight (NCLB) on sweet corn cultivars/hybrid varieties and their resistance reaction level

Cultivars/hybrid varieties	Leaf area infection (%)	Level of disease resistance	Cultivars/hybrid varieties	Leaf area infection (%)	Level of disease resistance
6622104-53	29.05 abc	MR	6622104-24	61.75 e	MS
6622104-67	29.15 abc	MR	6622104-56	30.35 a-d	MS
7522104-241	29.85 abc	MR	6622104-97	30.50 a-d	MS
7522104-268	25.25 ab	MR	6622104-118	55.90 e	MS
7522104-282	27.65 abc	MR	6622104-157	55.35 e	MS
7522104-332	29.35 abc	MR	6622104-183	49.25 b-e	MS
7522104-363	27.45 abc	MR	6622104-196	57.40 e	MS
Wan54	23.20 a	MR	7522104-224	54.85 d-e	MS
			7522104-261	49.05 b-e	MS
			7522104-330	54.95 d-e	MS
			7522104-354	50.85 c-e	MS
			7522104-357	30.20 a-c	MS
			7522104-359	48.60 b-e	MS
			Hibrix3	64.70 e	MS
			Hibrix59	59.90 e	MS
			Insee2	44.80 a-e	MS
			Songkla84-1	64.55 e	MS
			Wan1351	59.65 e	MS

MR = Moderately resistant, MS = Moderately susceptible

Means in the same column followed by common letters are not significantly different at the 5% level by DMRT

มีอยู่ 2 อัลลีล/เครื่องหมาย (Table 3) ในขณะที่เครื่องหมาย bnlg182 และ umc1149 มีอัลลีลมากที่สุด คือ มีอยู่ 6 อัลลีล/เครื่องหมาย เมื่อวิเคราะห์ค่าคาดหมายเฮทเทอโรไซโกซิตี้ หรือค่าความหลากหลายของยีน (gene diversity, He) อยู่ระหว่าง 0.3900 – 0.7900 มีค่าเฉลี่ย 0.5936 การวิเคราะห์ค่า PIC พบว่า มีค่าอยู่ระหว่าง 0.3500 – 0.7596 โดยที่เครื่องหมาย bnlg182 และ umc1367 มีค่า PIC สูงสุด 0.7596 ซึ่ง Wende et al. (2018) รายงานว่า ค่า PIC > 0.6 บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการตรวจสอบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์แท้ของข้าวโพด สำหรับงานวิจัยนี้ มีเครื่องหมายที่มีค่า PIC > 0.6 จำนวน 10 เครื่องหมาย ได้แก่ bnlg176 (0.6559) bnlg182 (0.7596) bnlg108 (0.7200) bnlg490 (0.6894) umc2038 (0.7341) bnlg238 (0.7221) umc1296 (0.6319) bnlg240 (0.6038) phi054 (0.7345) และ umc1357 (0.7596) แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายเหล่านี้มีประสิทธิภาพเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกความแตกต่างระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์อยู่ในระดับสูง เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจีโนโทป์ (ข้อมูลอัลลีลของเครื่องหมายเอสเอสอาร์) และฟีโนไทป์ (ระดับการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่) พบว่า เครื่องหมาย bnlg176 bnlg182 phi037 umc1644 และ umc2038 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่เมื่อพิจารณาค่า PIC ร่วมกับค่า p-value พบว่า มีเพียงเครื่องหมาย bnlg176 bnlg182 และ umc2038 เท่านั้นที่ค่า p-value ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและ PIC > 0.6 ดังนั้น เครื่องหมาย bnlg176 bnlg182 และ umc2038 จึงเป็นเครื่องหมายที่มีประสิทธิภาพในการคัดเลือกพันธุ์/สายพันธุ์ข้าวโพดหวานที่มีความต้านทานระดับปานกลาง ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการใช้เครื่องหมายทั้งสามนี้ในการคัดเลือกข้าวโพดหวานต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในประเทศไทย

Table 3 Information based on SSR loci and differences among sweet corns

SSR locus	Bin number	Number alleles	He	PIC value	p-value (chi-square test)
umc1568	1.02	2	0.4885	0.3692	0.326
bnlg176	1.03	3	0.6337	0.6559	0.003
bnlg182	1.03	6	0.7900	0.7596	0.009
phi037	1.08	3	0.3900	0.3500	0.022
bnlg108	2.04	5	0.7557	0.7200	0.295
umc1042	2.07	4	0.5277	0.4925	0.198
umc1644	3.06	2	0.5000	0.3747	0.001
bnlg490	4.04	4	0.7372	0.6894	0.199
umc2038	4.07	5	0.7723	0.7341	0.017
bnlg238	6.00	5	0.7611	0.7221	0.149
umc1296	6.07	4	0.6897	0.6319	0.159
bnlg240	8.06	4	0.6557	0.6038	0.304
umc1149	8.06	6	0.3900	0.3500	0.267
MAC216826-4	8.07	4	0.6173	0.5413	0.118
phi054	10.03	5	0.7711	0.7345	0.241
umc1367	10.30	3	0.7900	0.7596	0.802

He = heterozygosity, PIC = polymorphism information content

เครื่องหมาย bnlg176 อยู่บนโครโมโซมที่ 1 ที่ตำแหน่ง (Bin No.) 1.03 เป็นตำแหน่ง QTLs ที่เกี่ยวข้องกับความยาวของรากแก้ว ใช้บ่งชี้ความทนแล้ง (drought tolerance index) ในการปลูกสภาพไร่ ดังนั้นเครื่องหมาย bnlg176 เป็นเครื่องหมายที่มีประสิทธิภาพในการใช้คัดเลือกลักษณะ (marker assisted selection, MAS) และสร้างสายพันธุ์ข้าวโพดหวานที่มีลักษณะทนทานต่อสภาพแห้งในข้าวโพด (Tuberosa et al., 2002) เช่นเดียวกับรายงานของ Hao et al. (2008) ที่พบว่า มีเฉพาะเครื่องหมาย bnlg176 เท่านั้นที่สามารถตรวจสอบต้นข้าวโพดลูกผสมชั่วรุ่นที่ 2:3 (F2:3) ที่มีลักษณะทนแล้งได้ แสดงให้เห็นว่าต้นข้าวโพดที่คัดเลือกได้ มีแนวโน้มที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะแล้ง

เครื่องหมาย bnlg182 อยู่บนโครโมโซมที่ 1 ที่ตำแหน่ง (Bin No.) 1.03 ถูกนำมาใช้ในการศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมในข้าวโพดที่ต้านทานใบไหม้แผลใหญ่ ซึ่งพบมีค่า PIC 0.5510 (Wende et al., 2018) อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้พบเครื่องหมาย bnlg182 มีค่า PIC 0.7596 แสดงให้ว่าสามารถนำมาใช้ในการดำเนินงานในขั้นตอนต่อไปได้

เครื่องหมาย umc2038 มีตำแหน่งอยู่บนยีน *C2C2-GATA*-transcription factor 4 *(GATA4)* อยู่บนโครโมโซมที่ 4 ที่ตำแหน่ง (Bin No.) 4.07 ของจีโนมข้าวโพด บทบาทหน้าที่ของยีนนี้ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในพืชทดลองชนิดอะราบิดอปซิส (*Arabidopsis thaliana*) และข้าว พบว่า เมื่อถอดรหัสเป็นโปรตีน จะมีบทบาทหน้าที่กระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Teakle et al., 2002) ในส่วนของบทบาททางด้านความต้านทานโรคพืชยังคงมีการศึกษาน้อย และยังไม่มีการศึกษาในข้าวโพด งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับบทบาทของยีน *GATA* ในด้านความต้านทานโรคพืชที่มีเชื้อราเป็นสาเหตุ มีการศึกษาของ Zhang et al. (2018) ได้รายงานว่า ยีน *GATA* ในแตงกวาเป็นยีนที่มีบทบาทในการต้านทานการเกิดโรคราแป้ง และโรคราน้ำค้าง ซึ่งมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อรา *Erysiphe cichoracearum* และ *Pseudoperonospora cubensis* ตามลำดับ มีรายงานการแสดงออกของยีน *VdGATA2* ทำหน้าที่กระตุ้นบทบาทของ oxygen species pathway ให้เพิ่มขึ้นเพื่อต้านทานโรคราแป้งองุ่น (Yu et al., 2020) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าในระหว่างที่ข้าวสาลีถูกเชื้อรา *Rhizoctonia cerealis* เข้าทำลาย ข้าวสาลีมีการตอบสนองเพื่อต้านทานเชื้อราไม่ให้ก่อโรค sharp eyespot โดยการเพิ่มการแสดงออกของยีน *TaGATA1* ให้เพิ่มสูงมากขึ้น (Liu et al., 2020)

3. วิเคราะห์รูปแบบของอัลลีล

เครื่องหมาย bnlg176 มีแถบดีเอ็นเอปรากฏ 3 ตำแหน่ง ได้แก่ a b และ c จึงกำหนดให้มีรูปแบบอัลลีลเป็น A B และ C ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มข้าวโพดหวานที่มีระดับความต้านทานปานกลางกับกลุ่มที่อ่อนแอปานกลาง พบมี 3 รูปแบบอัลลีลในทั้ง 2 กลุ่ม ดังนั้น bnlg176 จึงไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างกลุ่มข้าวโพดหวานที่มีระดับความต้านทานแตกต่างกันได้ (Table 4)

เครื่องหมาย bnlg182 มีแถบดีเอ็นเอปรากฏ 6 ตำแหน่ง ได้แก่ d e f g h และ I กำหนดให้รูปแบบอัลลีล A มีมีแถบดีเอ็นเอ h และ I ปรากฏ รูปแบบอัลลีล B มีแถบดีเอ็นเอ g ปรากฏ รูปแบบอัลลีล C มีแถบดีเอ็นเอ g และ I ปรากฏ รูปแบบอัลลีล D มีแถบดีเอ็นเอ d g และ i ปรากฏ รูปแบบอัลลีล E มีแถบดีเอ็นเอ f g และ i ปรากฏ

รูปแบบอัลลีล F มีแถบดีเอ็นเอ e และ g ปรากฏ
รูปแบบอัลลีล G มีแถบดีเอ็นเอ g และ h ปรากฏ
รูปแบบอัลลีล H มีแถบดีเอ็นเอ d e และ g ปรากฏ
รูปแบบอัลลีล I มีแถบดีเอ็นเอ e และ h ปรากฏ
รูปแบบอัลลีล J มีแถบดีเอ็นเอ d h และ i ปรากฏ
รูปแบบอัลลีล K มีแถบดีเอ็นเอ e และ h ปรากฏ
รูปแบบอัลลีล L มีแถบดีเอ็นเอ d และ g ปรากฏ
เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มข้าวโพดหวานที่มี

Table 4 Present, absent allele and allele variation using SSR markers; bnlg176, bnlg182 and umc2038; in 26 cultivars/hybrid varieties of sweet corns infected by northern corn leaf blight (NCLB)

Cultivars/hybrid variety	Level of disease resistance	bnlg176				bnlg182							umc2038					
		a	b	c	al	d	e	f	g	h	i	al	j	k	l	m	n	al
6622104-53	MR	■			A					■	■	A	■		■			A
6622104-67	MR		■		B				■			B				■		B
7522104-241	MR		■		B					■	■	A	■		■			A
7522104-268	MR			■	C				■		■	C	■		■			A
7522104-282	MR		■		B				■		■	C				■		B
7522104-332	MR			■	C	■			■		■	D	■		■			A
7522104-363	MR	■			A					■	■	A		■		■	■	C
Wan54	MR		■		B						■	E		■		■	■	C
6622104-24	MS			■	C		■		■			F		■				D
6622104-56	MS	■			A				■	■		G	■		■			A
6622104-97	MS	■			A				■	■		G	■		■			A
6622104-118	MS			■	C		■		■			F				■		B
6622104-157	MS		■		B		■		■			F				■		B
6622104-183	MS		■		B	■	■		■			H		■				D
6622104-196	MS		■		B	■	■		■			H		■				D
7522104-224	MS		■		B	■	■		■			H		■				D
7522104-261	MS		■		B		■			■		I		■				D
7522104-330	MS			■	C	■	■		■			H		■				D
7522104-354	MS		■		B	■				■	■	J	■					E
7522104-357	MS		■		B	■				■	■	J	■		■			A
7522104-359	MS			■	C		■			■		K				■		B
Hibrix3	MS			■	C	■			■			L				■		B
Hibrix59	MS			■	C	■			■			L		■		■	■	C
Insee2	MS		■		B				■	■		G		■	■	■	■	F
Songkla84-1	MS		■		B	■			■			L		■	■	■		G
Wan1351	MS			■	C	■			■			L		■		■		H

a-n letters = DNA band or allelel position; al = allele variation; MR = Moderately resistant; MS = Moderately susceptible

■ = present allele □ = absent allele

ระดับต้านทานปานกลางกับกลุ่มที่อ่อนแอปานกลาง พบว่า กลุ่มข้าวโพดหวานที่มีข้าวโพดหวานที่มีระดับต้านทานปานกลางมีรูปแบบอัลลีล A B C D และ E ในขณะที่กลุ่มที่อ่อนแอปานกลางมีรูปแบบอัลลีล F G H I J K และ L จึงเป็นเครื่องหมายที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มข้าวโพดหวานที่มีระดับต้านทานปานกลางและอ่อนแอปานกลางออกจากกันได้

เครื่องหมาย umc2038 มีแถบดีเอ็นเอปรากฏ 5 ตำแหน่ง ได้แก่ j k l m และ n กำหนดให้รูปแบบอัลลีล A มีแถบดีเอ็นเอ j และ l ปรากฏ รูปแบบอัลลีล B มีแถบดีเอ็นเอ m ปรากฏ รูปแบบอัลลีล C มีแถบดีเอ็นเอ k m และ n ปรากฏ รูปแบบอัลลีล D มีแถบดีเอ็นเอ k ปรากฏ รูปแบบอัลลีล E มีแถบดีเอ็นเอ j ปรากฏ รูปแบบอัลลีล F มีแถบดีเอ็นเอ k l m และ n ปรากฏ รูปแบบอัลลีล G มีแถบดีเอ็นเอ k l และ m ปรากฏ รูปแบบอัลลีล H มีแถบดีเอ็นเอ k และ m ปรากฏ เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มข้าวโพดหวานที่มีข้าวโพดหวานที่มีระดับต้านทานปานกลางกับกลุ่มที่อ่อนแอปานกลาง พบว่ากลุ่มข้าวโพดหวานที่มีข้าวโพดหวานที่มีระดับต้านทานปานกลางมีรูปแบบอัลลีล A B C ส่วนกลุ่มอ่อนแอปานกลางมีรูปแบบอัลลีล A B C D E F G และ H ดังนั้นเครื่องหมายนี้จึงไม่แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มได้

ดังนั้นในการงานวิจัยนี้จึงพบเพียงเครื่องหมาย bnlg182 ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างข้าวโพดหวานที่มีระดับต้านทานปานกลางและอ่อนแอปานกลางได้ ซึ่งรายงานของ Wende et al. (2018) ได้ใช้ bnlg182 เป็นเครื่องหมายเอสเอสอาร์ตัวหนึ่งในการศึกษาความความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวโพดหวานต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ เช่นกัน

4. การคัดเลือกข้าวโพดหวานลูกผสมรุ่นชั่วที่ 6 ด้วยเครื่องหมาย bnlg182

ดีเอ็นเอของข้าวโพดหวานลูกผสมรุ่นชั่วที่ 6 จำนวน 158 สายพันธุ์ ที่นำมาใช้เป็นสารพันธุกรรมต้นแบบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย bnlg182 เมื่อตรวจสอบอัลลีลที่ปรากฏ พบว่า มีข้าวโพดหวานลูกผสมรุ่นชั่วที่ 6 จำนวน 10 สายพันธุ์ ที่มีอัลลีล B C และ D ซึ่งเป็นอัลลีลที่พบในข้าวโพดหวานที่มีระดับต้านทานปานกลางต่อโรค สายพันธุ์ดังกล่าวถูกนำมาปลูกในเดือน ธันวาคม 2565 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และบันทึกข้อมูลการประเมินการเป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ เมื่ออายุครบ 55 วัน พบว่า สายพันธุ์ 6622102-55-1 6622102-56-1 6622102-57-1 6622102-60-1 6622102-61-1 6622102-95-1 6622102-96-1 6622102-97-1 6622102-239-1 และ 6622102-240-1 การแสดงอาการแผลบนพื้นที่ใบ 19 - 30% จัดอยู่ในระดับความต้านทานโรคปานกลาง แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์เหล่านี้มีขีดความสามารถในการป้องกันตนเองด้วยการต่อต้านโรคใบไหม้แผลใหญ่ และควรนำไปทดสอบเบื้องต้นตามขั้นตอนของสายพันธุ์ก้าวหน้าในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การจำแนกเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดเอสเอสอาร์ ที่สัมพันธ์กับระดับความต้านทานของโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดหวาน พบว่าสามารถคัดเลือกเครื่องหมายเอสเอสอาร์ที่สัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ระดับปานกลางในข้าวโพดหวานได้ 3 จาก 16 เครื่องหมาย ได้แก่ เครื่องหมาย bnlg176 bnlg182 และ umc2038 และจากการวิเคราะห์รูปแบบของอัลลีล พบว่า

เครื่องหมาย bnlg182 แสดงผลของอัลลีลแตกต่างกันระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ข้าวโพดหวานต้านทานปานกลาง กับพันธุ์/สายพันธุ์ข้าวโพดหวานอ่อนแอปานกลางได้ชัดเจน จึงเลือกพียงเครื่องหมาย bnlg182 ไปทดสอบในการคัดเลือกข้าวโพดหวานลูกผสมรุ่นชั่วที่ 6 และพบว่า สามารถใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นเครื่องหมายเอสเอสอาร์ bnlg182 สามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกข้าวโพดหวานที่มีความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ระดับปานกลางได้ในขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์

คำขอบคุณ

ผลงานวิจัยเรื่องนี้ได้รับการสนับสนุนงบวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.)

เอกสารอ้างอิง

พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2551. โรคข้าวโพดฝักสด. เอกสารวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. แหล่งข้อมูล: http://lib.doa.go.th/multim/e-book/EB00572.pdf. สืบค้น: 15 สิงหาคม 2566.

องอาจ กิตติคุณชัย. 2567. สถานการณ์ปัจจุบันของอุตสาหกรรมข้าวโพดหวานไทย. แหล่งข้อมูล: https://thaifood.org/main/revealed-the-current-situation-of-thai-sweet-corn. สืบค้น: 23 พฤษภาคม 2567.

Hao, Z.F., X.H. Li, C.X. Xie, M.S. Li, D.G. Zhang, L. Bai and S.H. Zhang. 2008. Two consensus quantitative trait loci clusters controlling anthesis-silking interval, ear setting and grain yield might be related with drought tolerance in maize. Annals of Applied Biology. 153: 73-83.

Kumar, B., M. Choudhary, P. Kumar, K. Kumar, S. Kumar, B.K. Singh, C. Lahkar, Meenakshi, P. Kumar, Z.A. Dar, R. Devlash, K.S. Hooda, S.K. Guleria and S. Rakshit. 2022. Population structure analysis and association mapping for turcicum leaf blight resistance in tropical maize using SSR markers. Genes. 13(4): 618.

Liu, X., X. Zhu, X. Wei, C. Lu, F. Shen, X. Zhang and Z. Zhang. 2020. The wheat LLM domain-containing transcription factor TaGATA1 positively modulates host immune response to *Rhizoctonia cerealis*. Journal of Experimental Botany. 71(1): 344-355.

Min, J., Z. Chunyu, H. Khalid, W. Suwen and L. Feng. 2012. Pyramiding resistance genes to northern leaf blight and head smut in maize. International Journal of Agriculture & Biology. 14: 430-434.

Osman, H.T., M.G. Balbaa, A.E. Khalied and N.R. Abdelsalam. 2015. Marker assisted selection for leaf blight in maize (*Zea mays* L.). Middle East Journal of Agricultural Research. 4(3): 417-426.

Puttarach, J., P. Puddhanon, S. Siripin, S. Sangtong and S. Songchantuek. 2016. Marker assisted selection for resistance to northern corn leaf blight in sweet corn. SABRAO Journal of Breeding and Genetics. 48(1): 72-79.

Rajeshwar, R.P., R. Narayan, P. Ranga and S.R. Sokka. 2014. Cultural and morphological variability among *Exserohilum turcicum* isolates. International Journal of Scientific Research and Publication. 3: 54-59.

Raymundo, A.D. and A.L. Hooker. 1981. Measuring the relationship between northern corn

blight and yield losses. Plant Disease. 65: 325-327.

Teakle, G.R., I.W. Manfield, J.F. Graham and P.M. Gilmartin. 2002. *Arabidopsis thaliana* GATA factors: organization, expression and DNA-binding characteristics. Plant Molecular Biology. 50(1): 43-57.

Tuberosa, S., M.C. Sanguinet, P. Landi, M.M. Giulini, S. Salvi and M. Conti. 2002. Identification of QTLs for root characteristics in maize grown in hydroponics and analysis of their overlap with QTLs for gran yield in the field at two water regimes. Plant Molecular Biology. 48: 697-712

Wende, A., H. Shimelis and E.T. Gwata. 2018. Genetic variability for resistance to leaf blight and diversity among selected maize inbred lines. pp. 39-56. In: M.A. El-Esawi, Maize Germplasm-Characterization and Genetic Approaches for Crop Improvement. London, U.K. IntechOpen.

Yu, Y.H., L. Bian, K.K. Yu, S.D. Yang, G.H. Zhang and D.L. Guo. 2020. Grape (*Vitis davidii*) VdGATA2 functions as a transcription activator and enhances powdery mildew resistance via the active oxygen species pathway. Scientia Horticulturae. 267: 109327.

Zhang, K., X. Wang, W. Zhu, X. Qin, J. Xu, C. Cheng, Q. Lou, J. Li and J. Chen. 2018. Complete resistance to powdery mildew and partial resistant to downy mildew in a *Cucumis hystrix*, introgression line of cucumber were controlled by a co-localized locus. Theoretical and Applied Genetics. 131: 2229-2243.