

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การปรับปรุงพันธุ์มันฝรั่งต้านทานต่อโรคใบไหม้

ผู้เขียน

นางสาวสุธาสิณี นนทะจักร์

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. ประสาทพร สมิตะมาน ประธานกรรมการ

รศ. ดร. คณัย บุญยเกียรติ กรรมการ

บทคัดย่อ

มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างยิ่งชนิดหนึ่งของประเทศไทย โดยที่ความต้องการมันฝรั่งเพื่อใช้ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ของภาคอุตสาหกรรมเพิ่มมากขึ้น ทำให้ต้องนำเข้าหัวมันฝรั่งปีหนึ่ง ๆ จำนวนมาก เนื่องจากผลผลิตที่ได้ภายในประเทศไม่เพียงพอต่อความต้องการของภาคอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นผลจากพื้นที่ปลูกมันฝรั่งยังไม่มากและมีผลผลิตต่อพื้นที่ต่ำเมื่อเทียบกับประเทศอื่นที่ปลูกมันฝรั่งเป็นการค้า การระบาดของโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary เป็นสาเหตุหลักประการหนึ่งในหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อผลผลิตมันฝรั่ง เนื่องจากโรคนี้สามารถที่จะเข้าทำลายทุกระยะการเจริญของมันฝรั่งรวมทั้งก่อให้เกิดความเสียหายได้อย่างรุนแรง ดังนั้นจึงพัฒนาพันธุ์มันฝรั่งให้ต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้จึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมต่อการแก้ไขปัญหา การทดลองนี้แตกต่างจากรายงานอื่น ที่สามารถแยกเชื้อรา *P. infestans* บริสุทธิ์จากแหล่งปลูกที่สำคัญภายในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 26 สายพันธุ์ โดยไม่ใช้อาหารที่ผสมสารปฏิชีวนะได้สำเร็จ เชื้อราสร้างเส้นใยได้ดีบนอาหารทุกชนิดที่ทดสอบแต่มีลักษณะของโคโลนีแตกต่างกัน โดยบนอาหาร PDY จะให้ลักษณะของโคโลนีที่หนากว่าอาหารอื่น ๆ ส่วนการสร้างสปอร์บนอาหาร CDA และ CDY ภายใต้อุณหภูมิเลี้ยงที่มีแสงและอาหาร PDA กับ CDY ในสภาพที่ไม่มีแสงมากที่สุด การชักนำให้เกิดความต้านทานในมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic Kennebec และ Spunta ได้ใช้วิธี Diffusion และการผสมสารสกัดหยาบในอาหารที่เลี้ยงแคลลัสหรือเซลล์แขวนลอย หลังจากที้นำแคลลัสหรือเซลล์แขวนลอยที่รอดตายมาชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อน พบว่า อาหาร MS ที่มีสารเร่งการเจริญไซโตไคนิน ในรูป zeatin ความเข้มข้น

1 ppm ร่วมกับ IAA หรือ NAA ตั้งแต่ 0.1- 1 ppm สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ดีที่สุด ลักษณะต้นอ่อนที่พัฒนาจากแคลลัส มีลักษณะแตกต่างกันทั้งขนาดใบ สีใบ และ ลักษณะลำต้น เมื่อนำไปทดสอบความต้านทานต่อเชื้อราสายพันธุ์ AI-6 AT-3 และ RF-4 โดยใช้ sporangia จำนวน 3×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่น ภายใต้สภาพที่เอื้อต่อการเกิดโรคพบว่า มันฝรั่งสายต้น A002 A003 A004L และ K007L ต้านทานต่อเชื้อสายพันธุ์ AI-6 และมันฝรั่งสายต้น A003 A009 และ K002L ต้านทานต่อเชื้อสายพันธุ์ AT-3 รวมทั้งมันฝรั่งสายต้น A001 A002 A004L และ A005L ต้านทานต่อเชื้อสายพันธุ์ RF-4 แตกต่างจากสายพันธุ์ปกติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

การศึกษาคความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อ *P. infestans* ที่เก็บรวบรวมจากแหล่งปลูกใน 7 อำเภอของจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 21 สายพันธุ์ เมื่อนำมาสกัด DNA โดยใช้วิธีของ Goodwin *et al.* (1992) และนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยเทคนิค RAPD โดยใช้ primers ขนาด 10 เบส จำนวน 20 ชนิด พบว่ามี 5 ชนิด คือ OPA01 OPA19 OPA20 OPB01 และ OPB10 สามารถจำแนกความแตกต่างได้ดีที่สุด จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยค่า Jaccard's distance coefficient similarity ที่ระดับความเชื่อมั่น 97% แล้วสามารถจัดกลุ่มของเชื้อราได้ 13 กลุ่ม ที่ระดับความเหมือน 90% พบว่าเชื้อ *P. infestans* มีความแตกต่างทางพันธุกรรมทั้งในพันธุ์เดียวกัน มันฝรั่งต่างสายพันธุ์และแหล่งปลูก

Thesis Title	Varietal Improvement of Late Blight Resistant Potato		
Author	Miss Suthasinee Nontajak		
Degree	Master of Science (Biotechnology)		
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Prasartporn Smitamana		Chairperson
	Assoc. Prof. Dr. Danai Boonyakiat		Member

Abstract

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the economic important crops in Thailand. Due to the high increasing demand of potato tubers for the food processing of the industrial sector, the local production could not serve the requirement, which limited planting areas and low yielding, were identified. Low productivity of potato under the Thai conditions comparing to other commercial potato production countries could be depended on many major factors in which the out break of late blight caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary is one of them. This disease could be found in all potato development stages and caused a serious loss. Therefore, the improvement of potato lines resist to this disease is the suitable solution solving this problem. This experiment is differing from the others that the success of pure cultures are isolated using non-antibiotic supplemented V 8 medium. Twenty-six isolates of the *P. infestans* are obtained from the Chiang Mai major potato production areas. Mycelial growth is observed on all tested media, however the PDY shows thicker colony than on others. Sporulation is found on the CDA and CDY under the light condition and on PDA and CDY under the dark condition. Late blight resistant potato is induced by diffusion and crude extraction of the culture filtrate amended to the calli or cell suspension culture media. Calli and cell lines survived from the treatment are transferred to the shoot inducing media which the 1 ppm Zeatin in combination with either 0.1 -1 ppm IAA or NAA give the best result. Planlets derived from the treated calli are differing in

leaf size, stem structure and leaf color. The pathogens isolates AI-6, AT-3 and RF-4 at the concentration of 3×10^4 spores/ml are used for the screening and the results reveal that potato somaclones A002, A003 A004L and K007L are resist to the AI-6 isolate; A003, A009 and K002L are resist to the AT-3 isolate and A001, A 002, A004L and A005L resist to the RF – 4 isolate at the 99% statistical different from the parent commercial cultivars.

Biodiversity of *P. infestans* collected from seven districts of Chiang Mai Province are investigated. DNA is isolated form 21 *P. infestans* isolates followed the method described by Goodwin *et al.* (1992) with some modification. The random amplified sets of 20 random 10-mers primers are tested and only five sets; OPA01, OPA19, OPA20, OPB01 and OPB10, are found to be the suitable ones. Genetic distance between each isolates was calculated and cluster analysis was used to generate a dendrogram showing relationship between the isolates. Thirteen groups of the pathogen are identified at 90% similarity using Jaccard's distance coefficient at the 97% significant level. Furthermore, the result revealed that the isolates are difference not only by location or potato cultivar but also within the same location or within the same potato cultivar.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved