ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การปรับปรุงพันธุ์สตรอเบอรี่ต้านทานโรคแอนแทรกโนส

ผู้เขียน นางสาวปริฉัตร พละพึง

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. ดร. ประสาทพร สมิตะมาน

บทคัดย่อ

สตรอเบอรี่เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งที่มีแหล่งปลูกที่สำคัญในภาคเหนือของประเทศไทย โดยที่สตรอเบอรี่เป็นพืชซึ่งนำเข้าจากแหล่งอื่น จึงพบว่ามีโรคหลายชนิดที่เป็นอุปสรรคต่อการผลิต โดยเฉพาะโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* species ซึ่งเป็นปัญหารุนแรงที่สุด เนื่องจากเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวสามารถเข้าทำลายในส่วนของ ก้านใบ ไหล ช่อดอก และผล นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อยังดื้อต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดอีกด้วย ดังนั้นการพัฒนาพันธุ์สตรอเบอรี่ให้ต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรกโนสจึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมต่อการแก้ปัญหาการระบาดของโรค การทดลองนี้สามารถแยกเชื้อ *Colletotrichum* sp. จาก อำเภอสะ-เมิงได้ 49 ไอโซเลท อำเภอแม่วาง 34 ไอโซเลท และ อำเภอจอมทอง 13 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อที่แยกได้จากส่วน ก้านใบ ไหล ช่อดอกและผล มาศึกษาลักษณะทางสัณฐาน พบว่าเชื้อที่แยกได้จากแต่ละส่วนของพืชเป็นเชื้อ *C. gloeosporioides* เมื่อนำเชื้อที่แยกจากแต่ละส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรค มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับผลสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทานเบอร์ 50 พบว่า เชื้อไอโซเลท BFR5001 และ BFR5003 ให้ระดับความรุนแรงของโรคสูงที่สุด แต่พันธุ์พระราชทานเบอร์ 70 เชื้อไอโซเลท JFR7201 และ JFR7203 ให้ความรุนแรงของโรคสูงสุด ในส่วนของช่อดอกพันธุ์พระราชทานเบอร์ 50 เชื้อไอโซเลท TFL708 ให้ระดับความรุนแรงสูงสุด ขณะที่เชื้อไอโซเลท JFL7201 ให้ระดับความรุนแรงสูงสุดต่อช่อดอกพันธุ์พระราชทานเบอร์ 70 ส่วนไหลพันธุ์พระราชทานเบอร์ 50 เชื้อไอโซเลท BS7201 BS7202 BS7207 BS7205 BS7206 BS501 BS502 BS503 BS504 BS505 BS506 BS509 BS5010 BS5012 BS5014 BS5015 TSS702 TS704 และ JS7201 ต่างก็ให้ระดับความรุนแรงสูงสุด แต่ไหลพันธุ์พระราชทานเบอร์ 70

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

พบว่าเชื้อไอโซเลท BS7207 BS7205 BS501 BS502 BS503 BS504 BS505 BS506 BS509 BS5010 BS5011 BS5012 BS5014 BS5015 TS7202 TS7203 และ JS7202 ให้ระดับความรุนแรงสูงสุด ในส่วนก้านใบพันธุ์พระราชทานเบอร์ 50 เชื้อไอโซเลท BP7201 BP506 BP507 และ TP504 ให้ระดับความรุนแรงสูงสุด ในพันธุ์พระราชทานเบอร์ 70 เชื้อไอโซเลท BP506 BP507 และ TP702 ให้ระดับความรุนแรงสูงสุด เชื้อราดังกล่าวมีอัตราการเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร OAT ทั้งในสภาพการเลี้ยงที่มีแสงและไม่มีแสง ส่วนการสร้างสปอร์ในสภาพมีแสงสร้างได้สูงสุดพบบนอาหาร CMA แต่ในสภาพไม่มีแสงสร้างได้สูงสุดบนอาหาร PDA และ MEA สำหรับการชักนำให้เกิดความต้านทานในสตรอเบอรี่ โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยผ่านสภาพแคลลัสก่อนชักนำให้เกิดต้นใหม่ พบว่าสามารถชักนำให้ไหลสตรอเบอรี่พัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงชิ้นไหลในอาหาร MS ที่มีสารเร่งการเจริญ kinetin ความเข้มข้น 0.1 mg/l ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้นที่ 0.7-1.0 mg/l แคลลัสสามารถพัฒนาเป็นต้นเมื่อย้ายลงบนอาหาร MS ที่มี 10 μM BA และ 1 μM NAA และเมื่อคัดเลือกต้นที่เกิดใหม่ไปทดสอบความต้านทานต่อเชื้อราที่แยกได้จากก้านใบ ช่อดอก ผล และ ไหล โดยใช้สปอร์จำนวน 1.7×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่น พบว่า จากสตรอเบอรี่ 27สายต้น มีเพียง 9 สายต้น ซึ่งประกอบด้วย 5131B 5171B 5001H 5145B 5127F 5211C 5208D 5015H และ 5032L เป็นสายต้นที่มีความต้านทานสูงสุดต่อการเข้าทำลายของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ เมื่อนำสายต้นดังกล่าวปลูกทดสอบในแปลง พบว่าสายต้น 5001H 5145B 5032L และ 5004J มีความต้านทานต่อโรค จากนั้นนำต้นสตรอเบอรี่สายพันธุ์เดิม (พันธุ์พระราชทานเบอร์50) และสายต้นใหม่ประกอบด้วย 5208D 5015H 5001H 5131B และ 5211C ซึ่งเป็นสายต้นที่มีความต้านทานในสภาพแปลงปลูก จากการวิเคราะห์โปรตีนที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค (PR-protein) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 5-70 kDa โดยพืชจะสร้างขึ้นหลังจากถูกเชื้อราสาเหตุโรคเข้าทำลาย โดย วิธี SDS-PAGE พบว่าต้นสตรอเบอรี่สายต้น 5001H ซึ่งมีความต้านทานสูงสุดมีปริมาณโปรตีนในช่วงดังกล่าวสูงขึ้นในเนื้อเยื่อใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย ส่วนสายต้นอื่นๆ พบว่า มีปริมาณโปรตีนในกลุ่มที่สนใจ ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อชุดควบคุมในสายต้นเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title **Improvement of Anthracnose Resistant Strawberry**

Author **Miss Parichat Plapung**

Degree **Master of Science (Biotecchnology)**

Thesis Advisor **Assoc. Prof. Dr. Prasartporn Smitamana**

Abstract

Strawberry is one of the most economic fruit crops in Thailand where the major production areas are mostly located in the North. Since strawberry has been introduced to Thailand, therefore lots of diseases which caused serious damages are found. Anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species is the most important one due to fungi could infect all plant parts: fruit, blossoms, petioles, runner and foliage. Moreover, the pathogen is resistant to the chemicals used in the control measure due to the long history of applications. Thus, development of strawberry resistant to anthracnose disease should be the suitable solution for this problem. The pathogens were isolated from the major production areas in Chiang Mai namely, 49 from Amphor Samung, 34 strains from Amphor Mae Wang and 13 Amphor Jom Thong. Morphological studies of the pathogens isolated from various plant parts indicated that all isolates could be identified as *Colletotrichum gloeosporioides*. Pathogenicity test using spraying method on Prarajathan #50 and Prarajathan # 70 fruits, revealed that BFR5001 and BFR5003 isolates caused the highest disease incidence on Prarajathan #50' fruits where as JFR7201 and JFR7203 isolates produced strongest symptom on Prarajathan # 70' fruits. Prarajathan #50' stolons were highly susceptible to the following isolates : BS7201, BS7202, BS7207, BS7205, BS7206 , BS501, BS502, BS503, BS504, BS505, BS506, BS509, BS5010, BS5012, BS5014, BS5015, TSS702, TS704 and JS7201, where as Prarajathan # 70's stolons were susceptible to the BS7207, BS7205, BS501, BS502, BS503, BS504, BS505, BS506, BS509, BS5010, BS5011, BS5012, BS5014, BS5015, TS7202,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

TS7203 and JS7202 isolates. For the petioles part the isolates BP7201 BP506 BP507 and TP504 caused serious symptom on Prarajathan #50 variety and the BP506 BP507 and TP702 isolates to the Prarajathan #70 variety. Culture study of the isolated pathogens was done on CMA, MEA, MYA, PDA and OA, results showed that OA could best support the mycelial growth under both light and dark conditions. Highest sporulation was found in CMA under continuous light condition and in PDA and MEA under dark condition. Stolon part of strawberry formed callus when cultured on MS medium supplemented with 1.0 mg/l kinetin and 0.7-1.0 mg/l of 2,4-D and plant regeneration was induced when transferred to MS medium with10 μM/l of BA and 1 μM/l of NAA added. Leaves form the plants obtained from the callus culture were sprayed with fungal spores at the concentration of 1.7×10^{5} spore/ml for the screening tests and the following clones: 5131B, 5171B, 5001H, 5145B, 5127F, 5211C, 5208D, 5015H and 5032L were resistant to 4 isolates of fungal pathogens. Field trail was performed for the final selection and the clones: 5001H, 5145B, 5032L and 5004J were proved to be resistant to anthracnose disease under the field condition. Five selected clones namely: 5208D, 5015H, 5001H, 5131B and 5211C were selected for the PR proteins in infected leaves investigation using SDS-PAGE from which the 5001H clone showed higher expression of 5- 70 kDa protein bands than the other semi- or non resistant clones.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved