

บทคัดย่อ

โรคราน้ำค้างที่เกิดจากเชื้อ *Plasmopara viticola* และโรคสแคบที่เกิดจากเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* เป็นโรคที่ทำความเสียหายแก่ผลผลิตองุ่นทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย การปรับปรุงพันธุ์องุ่นโดยวิธีดั้งเดิมจึงมีความจำเป็น เพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ที่มียืนต้านทาน นอกจากนี้ การใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับยืนต้านทานเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์องุ่นที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็ว งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) ปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานต่อโรคราน้ำค้างและสแคบโดยวิธีดั้งเดิม (2) หายืนที่มีโครงสร้างคล้ายยืนต้านทาน (resistance gene analogs; RGAs) ที่เชื่อมโยง (link) อยู่กับหรือเป็นส่วนหนึ่งของยืนต้านทานโรคราน้ำค้าง/สแคบในองุ่น และพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลจาก RGAs (3) ศึกษาลักษณะทางการเกษตรและคุณภาพผลขององุ่นลูกผสม F₁ เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ งานวิจัยครั้งนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ การปรับปรุงพันธุ์องุ่นโดยวิธีดั้งเดิม การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับยืนต้านทานโรคราน้ำค้างและสแคบในองุ่น และการศึกษาลักษณะทางการเกษตรและคุณภาพผลขององุ่นลูกผสม F₁ ซึ่งดำเนินการในช่วงปี พ.ศ. 2551-2555 ดังนี้ การปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคราน้ำค้างโดยวิธีดั้งเดิม พบว่าองุ่นพันธุ์ Black Queen อ่อนแอมากที่สุดทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการ (4.83 คะแนน) และสภาพไร่ (7.50 คะแนน) ส่วนสายพันธุ์ NY65.0551.05 และ NY88.0517.01 ต้านทานมากที่สุดในสภาพห้องปฏิบัติการ (0.54 และ 0.57 คะแนน) และสายพันธุ์ Wilcox 321 ต้านทานมากที่สุดในสภาพไร่ (3.30 คะแนน) ซึ่งได้ลูกผสม F₁ ที่น่าสนใจ 1 สายพันธุ์ ที่มีระดับความต้านทานโรคราน้ำค้างสูงกว่าพันธุ์แม่ และเทียบเท่าพันธุ์พ่อ คือ SUT0403.09 และพบว่าผลการประเมินโรคราน้ำค้างในสภาพห้องปฏิบัติการสอดคล้องกับสภาพไร่ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ สเปียร์แมน เท่ากับ 0.69 ($P \leq 0.01$) ส่วนวิธีขยายพันธุ์ด้วยการตอนกิ่งและติดตาทำให้องุ่นเป็นโรคราน้ำค้างไม่แตกต่างกันสถิติ ($P > 0.05$) การปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบโดยวิธีดั้งเดิม แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ การศึกษาเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต และการประเมินโรคสแคบในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ พบว่าเชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร cereal agar (CA) และ corn cereal agar (CCA) แต่เริ่มหยุดการเจริญเติบโตเมื่อเชื้ออายุ 8 สัปดาห์ ส่วนลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ สีและรูปร่างของโคโลนี การมี/ไม่มี aerial mycelium และขนาดโคนิตีเดีย พบว่าอาหารทั้ง 4 ชนิด (CA, CCA, potato dextrose agar (PDA) และ Job's tear corn cereal agar (JCCA)) ทำให้เชื้อแต่ละไอโซเลตมีลักษณะดังกล่าวแตกต่างกัน ยกเว้นขนาดโคนิตีเดีย มีค่าใกล้เคียงกัน (4.20-5.51 × 1.58-2.07 ไมครอน) และเชื้อ 19 ไอโซเลตมีความเหมือนกันทางพันธุกรรม 0.78-0.94 ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่มตามภาค อย่างไรก็ตาม เชื้อแต่ละไอโซเลตมีความรุนแรงในการก่อโรคแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) ส่วนการประเมินโรคสแคบในสภาพห้องปฏิบัติการ

และสภาพไร่ พบว่าสอดคล้องกันโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สเปียร์แมน เท่ากับ 0.72 และ 0.71 สำหรับไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 ตามลำดับ ($P \leq 0.01$) ซึ่งองุ่นพันธุ์ Black Queen อ่อนแอมากที่สุด (4.61 และ 4.80 คะแนน ตามลำดับ) และได้ลูกผสม F_1 ที่ต้านทานหรือต้านทานมากต่อไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 จำนวน 14 สายพันธุ์ คิดเป็น 10.5 เปอร์เซ็นต์ของลูกผสมทั้งหมด ลูกผสม F_1 ที่น่าสนใจมากที่สุด คือ SUT0404.40 เนื่องจากต้านทานเชื้อทั้งสองไอโซเลตในสภาพห้องปฏิบัติการและมีความต้านทานระดับสูงในสภาพไร่ ส่วนการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับยีนต้านทานโรคราน้ำค้างและสแคบในองุ่น พบว่าเครื่องหมาย RAPD และ RGA-SSCP ที่ใช้ในการทดลองส่วนใหญ่ไม่เหมาะสมที่จะนำไปใช้คัดเลือกพันธุ์องุ่นในประชากรนี้ ยกเว้นเครื่องหมาย RGA-SSCP จำนวน 3 เครื่องหมาย ได้แก่ NY28_1, NY92_1 และ NY92_3 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับยีนควบคุมลักษณะการต้านทานโรคราน้ำค้างหรือสแคบสูง โดยมีเปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนทางฟีโนไทป์ (R^2) เท่ากับ 52.2, 79.2 และ 63.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาลักษณะทางการเกษตรและคุณภาพผลขององุ่น ลูกผสม F_1 พบว่าส่วนใหญ่มีลักษณะดังกล่าวอยู่ในช่วงพิสัยของพันธุ์พ่อแม่ ส่วนวิธีขยายพันธุ์โดยการติดตาช่วยให้องุ่นส่วนใหญ่มีการแตกตาและขนาดผลดีกว่าการตอนกิ่ง การปรับปรุงพันธุ์องุ่นประสบผลสำเร็จ ได้ลูกผสมที่มีความต้านทานต่อทั้งโรคราน้ำค้างและสแคบในระดับค่อนข้างต้านทานถึงต้านทาน จำนวน 2 สายพันธุ์ จาก 18 สายพันธุ์ คือ SUT0403.09 และ SUT0404.11 ลูกผสม SUT0403.09 มีความกว้างผล น้ำหนักผล และ Brix ไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์แม่ (Carolina Black Rose) ที่นิยมใช้เป็นการค้า และมี titrable acid (TA) ต่ำกว่าลูกผสมส่วนมาก จึงทำให้มีคุณภาพผลค่อนข้างดี เหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์สำหรับปรับปรุงพันธุ์องุ่นเพื่อให้ต้านทานโรค และให้ได้ผลผลิตและคุณภาพผลสูงต่อไป

ABSTRACT

Downy mildew caused by *Plasmopara viticola* and anthracnose caused by *Sphaceloma ampelinum*, are ones of the most destructive grapevine diseases worldwide including Thailand. Therefore, conventional breeding of grapevine for new resistant varieties is essential. Furthermore, application of molecular markers linked to downy mildew and anthracnose resistance genes can provide a rapid and efficient alternative for grapevine improvement. The objectives of this research were to (1) improve grapevine for downy mildew and anthracnose resistance by conventional breeding, (2) obtain resistance gene analogs (RGAs) linked to or being a part of downy mildew/anthracnose resistance genes in grapevine and develop molecular markers from RGAs and (3) evaluate agricultural and fruit quality traits of F₁ hybrids compared with their parents. This research was divided into 3 parts; conventional breeding of grapevine, development of molecular markers for downy mildew and anthracnose resistance genes in grapevine and evaluation of agricultural and fruit quality traits of F₁ hybrids. The followings were the research conducted during 2008-2012. It was found from conventional breeding of grapevine to improve downy mildew resistance that Black Queen was the most susceptible cultivar under both laboratory (score 4.83) and field conditions (score 7.50). NY65.0551.05 and NY88.0517.01 were the most resistant lines under laboratory condition (score 0.54 and 0.57, respectively), and Wilcox 321 was the most resistant line under field condition (score 3.30). An interesting F₁ hybrid, SUT0403.09, with high level of downy mildew resistance equivalent to its male parent and significantly higher than its female parent was found. In addition, it was found that assessment of downy mildew under laboratory was in agreement with field conditions with the Spearman's rank correlation of 0.69 ($P \leq 0.01$). However, the propagation method (layering and chip budding) had no significant effect on damage from downy mildew infection ($P > 0.05$). Conventional breeding of grapevine for anthracnose resistance was divided into 2 parts including evaluation of 19 isolates of *S. ampelinum* and assessment of anthracnose resistance under laboratory and field conditions. It was found that all 19 isolates were best grown on cereal agar (CA) and corn cereal agar

(CCA) but began to stop growing at week 8. Morphological characterization according to color and shape of colonies, presence/absence of aerial mycelium and conidial size showed that each isolate had different characters on 4 media (CA, CCA, potato dextrose agar (PDA) and Job's tear corn cereal agar (JCCA)) except conidial size, which fell on the same range ($4.20-5.51 \times 1.58-2.07 \mu\text{m}$). These nineteen isolates showed the genetic similarity of 0.78-0.94 and could be divided into 4 groups, mainly by geographical regions. However, the virulence of each isolate was significantly different ($P < 0.01$). Laboratory assessment of anthracnose resistance was consistent with field evaluation with the Spearman's rank correlation of 0.72 and 0.71 for isolates Nk4-1 and Rc2-1, respectively ($P \leq 0.01$). Black Queen was the most susceptible cultivar (score 4.61 and 4.80 under laboratory and field conditions, respectively). Fourteen F_1 hybrids were resistant or highly resistant to isolates Nk4-1 and Rc2-1 (10.5% of total hybrids). The most interesting F_1 hybrid was SUT0404.40 owing to its resistance to both isolates under laboratory condition and its high resistance level under field condition. The development of molecular markers for downy mildew and anthracnose resistance genes in grapevine indicated that the RAPD and most RGA-SSCP markers used in this experiment were not suitable for selection of downy mildew and anthracnose resistance in this population, except 3 RGA-SSCP markers, NY28_1, NY92_1 and NY92_3, which were highly correlated with downy mildew or anthracnose resistance genes. They had percentages of phenotypic variance (R^2) of 52.2, 79.2 and 63.8%, respectively. Finally, when agricultural and fruit quality traits of F_1 hybrids were evaluated, most of the hybrids exhibited trait values within the range of their parents. In addition, the propagation by chip budding helped improve days to bud break and fruit size in most varieties/hybrids compared to layering. In this research, grapevine improvement was successful yielding two, SUT0403.09 and SUT0404.11, from 18 hybrids with moderately resistance to resistance levels for both downy mildew and anthracnose. SUT0403.09 had similar fruit width, fruit weight and °Brix as Carolina Black Rose, its female parent. In addition, it had lower titrable acid (TA) than most F_1 hybrids making its fruit quality quite high. Therefore, it should be useful as a breeding line for future improvement of grapevine for disease resistance together with high yield and high fruit quality.