

ความหลากหลายของเชื้อ ความต้านทาน และการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล
สำหรับยีนต้านทานเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ
(แอนแทรคโนส) ในองุ่น

นางสาวอ้อยทิพย์ พูลสวัสดิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2553

**PATHOGEN DIVERSITY, RESISTANCE AND
DEVELOPMENT OF MOLECULAR MARKERS FOR
RESISTANCE GENES TO *Sphaceloma ampelinum*,
THE CAUSAL AGENT OF GRAPE SCAB
(ANTHRACNOSE)**

Oythip Poolsawat

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Doctor of Philosophy in Crop Production Technology**

Suranaree University of Technology

Academic Year 2010

ความหลากหลายของเชื้อ ความต้านทาน และการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับยีน
ต้านทานเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ (แอนแทรคโนส) ในองุ่น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาคุุณบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผศ. ดร.อารักษ์ ชีรอำพน)

ประธานกรรมการ

(รศ. ดร.ปิยะดา ดันตสวัสดิ์)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(ผศ. ดร.ฐิติพร มะณีโกวา)

กรรมการ

(อ. ดร.รุจ มรกต)

กรรมการ

(อ. ดร.โสภณ วงศ์แก้ว)

กรรมการ

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิมปิจำนงค์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)

คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

อ้อยทิพย์ พูลสวัสดิ์ : ความหลากหลายของเชื้อ ความต้านทาน และการพัฒนาเครื่องหมาย
โมเลกุลสำหรับยีนต้านทานเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* สาเหตุโรครสแคบ (แอนแทรคโนส)
ในองุ่น (PATHOGEN DIVERSITY, RESISTANCE AND DEVELOPMENT OF
MOLECULAR MARKERS FOR RESISTANCE GENES TO *Sphaceloma ampelinum*,
THE CAUSAL AGENT OF GRAPE SCAB (ANTHRACNOSE)) อาจารย์ที่ปรึกษา :
รองศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา ดันตสวัสดิ์, 174 หน้า.

โรครสแคบหรือแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* เป็นโรคที่มีความสำคัญกับองุ่นทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย ความหลากหลายของเชื้อ และลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของยีนต้านทานโรครสแคบ สามารถใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรครสแคบได้อย่างมีประสิทธิภาพ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา ระดับความรุนแรงในการก่อโรค และใช้เครื่องหมาย random amplified polymorphic DNA (RAPD) ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ 2) ประเมินและเปรียบเทียบระดับความต้านทานโรครสแคบในองุ่นลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) โดยวิธีการทดสอบความต้านทานโรคในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ 3) ศึกษาสมรรถนะการรวมตัวของยีนต้านทานโรครสแคบในองุ่น 4) ประเมินความหลากหลาย (polymorphism) ของเครื่องหมาย RAPD ที่มีรายงานว่าสัมพันธ์กับยีนต้านทานโรครสแคบในองุ่น และ 5) ประเมินความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย single strand conformation polymorphism (SSCP) ที่พัฒนาจาก resistance gene analogs (RGAs) กับลักษณะต้านทานโรครสแคบในองุ่น การศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ การศึกษาความหลากหลายของเชื้อ ความต้านทานและการแสดงออกของยีนต้านทาน และการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับยีนต้านทานโรครสแคบในองุ่น

จากการศึกษาความหลากหลายของเชื้อ จำนวน 19 ไอโซเลต พบว่าเชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร cereal agar (CA) และ corn cereal agar (CCA) แต่เริ่มหยุดการเจริญเติบโตเมื่อเชื้ออายุ 8 สัปดาห์ ส่วนลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ สีและรูปร่างของโคโลนี การมี/ไม่มี aerial mycelium และขนาดโคนิเดีย พบว่าอาหารทั้ง 4 ชนิด (CA, CCA, potato dextrose agar (PDA) และ Job's tear corn cereal agar (JCCA)) ทำให้เชื้อแต่ละไอโซเลตมีลักษณะดังกล่าวแตกต่างกัน ยกเว้นขนาดโคนิเดีย มีค่าใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 4.20-5.51 x 1.58-2.07 ไมครอน การวิเคราะห์ RAPD แสดงว่าเชื้อ 19 ไอโซเลตมีความเหมือนกันทางพันธุกรรม 0.78-0.94 และสามารถแบ่งเชื้อออกได้เป็น 4 กลุ่มตามภาค อย่างไรก็ตาม เชื้อแต่ละไอโซเลตมีระดับความรุนแรงในการก่อโรคแตกต่างกัน โดยไอโซเลต Nk4-1 และ Cr1-1 มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคสูงที่สุด 3.08 และ 2.96 คะแนนตามลำดับ ส่วนไอโซเลต Nk5-1 มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคน้อยที่สุด (1.74 คะแนน) (ช่วง

คะแนน 1 = 0-6 แผล และ 5 = >100 แผล) ผลการทดลองนี้บ่งชี้ว่าเชื้อ *S. ampelinum* จากต่างแหล่งกันมีการเจริญเติบโต ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พันธุกรรม และระดับความรุนแรงในการก่อโรคต่างกัน และยีนต้านทานเดี่ยวอาจไม่มีประสิทธิภาพในทุกพื้นที่

การศึกษาความต้านทานและการแสดงออกของยีนต้านทานต่อเชื้อ *S. ampelinum* ในสภาพห้องปฏิบัติการโดยวิธี detached leaf ในองุ่น 10 พันธุ์/สายพันธุ์ พบว่าองุ่นสายพันธุ์ Wilcox 321, NY 65.0550.04 และ Illinois 547-1 มีระดับความต้านทานสูงที่สุด (1.03, 1.09 และ 1.09 คะแนน ตามลำดับ) ส่วนองุ่นพันธุ์ Black Queen อ่อนแอมากที่สุด (4.61 คะแนน) และพบว่าพันธุ์/สายพันธุ์องุ่นมีปฏิสัมพันธ์กับไอโซเลตของเชื้อ ดังนั้น ในการปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบ จำเป็นต้องทดสอบความต้านทานโรคในสภาพไร่ หลายสถานที่ และอาจจำเป็นต้องรวมยีนต้านทานหลายยีนไว้ในพันธุ์เดียวกัน เมื่อพิจารณาลูกผสม F_1 จำนวนทั้งหมด 133 ลูกผสม จาก 12 คู่ผสม พบว่ามี 14 ลูกผสม ที่ต้านทานหรือต้านทานมากต่อไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 คิดเป็น 10.5 เปอร์เซ็นต์ของลูกผสมทั้งหมด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองในสภาพไร่ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สเปียร์แมน เท่ากับ 0.54; $P \leq 0.01$ และ 0.41; $P \leq 0.05$ ตามลำดับ และพบลูกผสม F_1 ที่น่าสนใจมากที่สุด คือ SUT0404.40 เนื่องจากต้านทานเชื้อทั้งสองไอโซเลตในสภาพห้องปฏิบัติการและมีความต้านทานระดับสูงในสภาพไร่ เมื่อทดสอบสมรรถนะการรวมตัวทั่วไป (general combining ability; gca) และสมรรถนะการรวมตัวจำเพาะ (specific combining ability; sca) ในองุ่น 6 คู่ผสม โดยใช้แผนการผสมพันธุ์แบบ North Carolina mating design II (NC II) ผลการวิเคราะห์พบว่ายีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคสแคบในองุ่นเป็นยีนแบบบวก (additive gene action) ซึ่งสายพันธุ์องุ่นที่เหมาะสมในการถ่ายทอดยีนต้านทานโรคสแคบมากที่สุด คือ NY65.0550.04 อัตราพันธุกรรมอย่างแคบมีค่า 79.2 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ายีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคสแคบสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้สูง ส่วนการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่น พบว่าเครื่องหมาย RAPD และ SSCP ที่ใช้ในการทดลองไม่เหมาะสมที่จะนำไปใช้คัดเลือกพันธุ์องุ่นในประชากรนี้ ยกเว้นเครื่องหมาย SSCP NY28_1 สัมพันธ์กับลักษณะต้านทานในกลุ่มผสมระหว่าง Italia $\times$ NY 65.0550.04 ($R^2 = 0.96$; $P < 0.01$) แต่จำเป็นต้องยืนยันผลการทดลองด้วยการใช้จำนวนประชากรที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

OYTHIP POOLSAWAT : PATHOGEN DIVERSITY, RESISTANCE AND
DEVELOPMENT OF MOLECULAR MARKERS FOR RESISTANCE
GENES TO *Sphaceloma ampelinum*, THE CAUSAL AGENT OF GRAPE
SCAB (ANTHRACNOSE). THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PIYADA
TANTASAWAT, Ph.D. 174 PP.

GRAPE/ANTHRACNOSE/SCAB/*Sphaceloma ampelinum*/DISEASE RESISTANCE/
GCA/SCA/NC II/HERITABILITY/RAPD/SSCP

Scab or anthracnose caused by *Sphaceloma ampelinum*, is one of the most important grape diseases worldwide including Thailand. Knowledge of pathogen diversity and inheritance of scab resistance genes could be used to achieve efficient grape breeding for scab resistance. The objectives of this study were 1) to study morphological diversity, virulency using random amplified polymorphic DNA (RAPD) to evaluate genetic diversity of scab pathogen, 2) to assess and compare the scab resistance levels of F₁ hybrids under laboratory and field conditions, 3) to study the combining ability of scab resistance genes, 4) to evaluate polymorphisms of RAPD markers reported to be linked to scab resistance gene(s), and 5) to evaluate correlation between single strand conformation polymorphism (SSCP) markers developed from resistance gene analogs (RGAs) and scab resistance in grapes. This study was divided into three parts : diversity of pathogen, resistance and expression of resistance gene(s) in grapes, and development of molecular markers for scab resistance gene(s).

In the first part, 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 four media (CA, CCA, potato dextrose agar (PDA) and Job's tear corn cereal agar (JCCA)) except conidial size, which fell on the similar range of $4.20\text{-}5.51 \times 1.58\text{-}2.07 \mu\text{m}$. The RAPD analysis of 19 isolates showed the genetic similarity of 0.78-0.94, and these isolates could be divided into 4 groups, mainly by geographical regions. However, the virulence of each isolate was different. Isolates Nk4-1 and Cr1-1 were the most virulent (score 3.08 and 2.96, respectively), and Nk5-1 was the least virulent (score 1.74) (score range 1 = 0-6 lesions and 5 = >100 lesions). These results indicated that *S. ampelinum* from different geographical regions had differential growth, morphology, genetics and virulence, and that a single resistance gene might not be effective across all regions.

The analysis of resistance and expression of resistance gene(s) to *S. ampelinum* under laboratory condition using detached leaf assay of ten grape cultivars/lines showed that Wilcox 321, NY65.0550.04 and Illinois 547-1 were the most resistant lines (score 1.03, 1.09 and 1.09, respectively) and Black Queen was the most susceptible cultivar (score 4.61). In addition, significant interactions were found between grape cultivars/lines and isolates of the pathogen. Therefore, breeding of grape for scab resistance required several years and locations of field testing, and pyramiding might be achieved by combining multiple resistance genes into one cultivar. Fourteen F₁ hybrids from 133 hybrids of 12 crosses were resistant or highly resistant to isolates Nk4-1 and Rc2-1 (10.5% of total hybrids). These results were in agreement with evaluation under field condition with the Spearman's rank correlation of 0.54, $P \leq 0.01$ and 0.41, $P \leq 0.05$, respectively. The most interesting F₁ hybrid was SUT0404.40 owing to its resistance to both isolates under laboratory condition and its high resistance level under field condition. When general combining ability (gca) and specific combining ability (sca) were analyzed using North Carolina mating design II (NC II) in 6 crosses of grapes, it

was found that scab resistance in grapes was controlled by additive gene action. Moreover, it showed that NY65.0550.04 was the most suitable parent for the transfer of scab resistance. The estimated heritability of scab resistance was 79.2%, suggesting that scab resistance gene(s) was (were) highly heritable. Finally, the development of molecular markers for scab resistance gene(s) in grape indicated that the RAPDs and SSCPs used in this experiment were not suitable for selection of scab resistance in this population, except NY28_1 marker which was significantly correlated with scab resistance in the Italia $\times$ NY65.0550.04 cross ($R^2 = 0.96$; $P < 0.01$). However, the results need to be verified with larger population.

School of Crop Production Technology Student's Signature _____

Academic Year 2010 Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา ต้นตสวัสดิ์ ผู้ให้ความเมตตากรุณา คอยให้คำปรึกษาและคอยชี้แนะแนวทางในการวิจัย เป็นแบบอย่างนักวิจัยที่ดีแก่ข้าพเจ้า พร้อมทั้งอบรมสั่งสอนเพื่อให้ศิษย์ประพฤติดนเป็นคนดีของสังคม ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.โสภณ วงศ์แก้ว และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตติพร มะณีโกวา ที่กรุณาให้คำปรึกษาและช่วยแก้ไขปัญหาในระหว่างการทำวิจัยและช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร. รุจ มรกต ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารักษ์ ชีรอำพนที่ช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ และศาสตราจารย์ ดร. Bruce I. Reisch ที่อนุเคราะห์ห้องนุสาขพันธุ์ด้านทานโรคจากมหาวิทยาลัย Cornell

ขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้การสนับสนุนทุนการศึกษา และวิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่ง จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ขอขอบคุณหน่วยวิจัยและพัฒนาเฉพาะทางด้านองุ่นและการสร้างมูลค่าเพิ่ม ที่ให้การสนับสนุนพื้นที่วิจัยองุ่นและพันธุ์องุ่นเพื่อวิจัยบางส่วน ขอขอบคุณพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนทร กาญจนทวี รัฐบาลไทย และรัฐบาลฝรั่งเศสที่ให้การสนับสนุนทุนการวิจัยที่เมืองตูลุส ประเทศฝรั่งเศส ภายใต้โครงการ SUT-ENSAT (INP-Toulouse) Joint M.Sc and Ph.D Programs in Agricultural Sciences ขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่าน ที่ชี้แนะและอบรมสั่งสอน ขอขอบคุณ คุณเอกวัฒน์ ธาราพฤษพงศ์ เป็นอย่างสูงที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี โดยการชี้แนะเทคนิคต่าง ๆ ช่วยแก้ปัญหาในการดำเนินการวิจัย พร้อมทั้งเป็นกำลังใจไม่ให้ท้อต่ออุปสรรคต่าง ๆ

ขอขอบคุณ คุณอรทัย นาซิน และเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการวิจัย คุณกิตติมา ชาญกิจโกศล และเจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไปที่ให้ความช่วยเหลือด้านการประสานงานและการเตรียมเอกสารต่าง ๆ

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร. สุจินต์ เจนวิวัฒน์ ที่ช่วยเก็บใบองุ่นที่เป็นโรคสแคบจาก จ.ราชบุรี จ.เชียงราย และ จ.แพร่ คุณชนิษฐา ภูโบริมา ที่ช่วยเก็บใบองุ่นที่เป็นโรคสแคบจาก จ.ชลบุรี คุณศิริประภา มหานิต ที่ให้การอนุเคราะห์ดินองุ่นปลูกผสมทั้งหมด ให้คำปรึกษาด้านต่าง ๆ และเป็นกำลังใจ อาจารย์ปริศนา วิริยะกิจไพบูลย์ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ ที่ให้คำแนะนำในการแยกเชื้อรา และช่วยเหลือในการแยกเชื้อ *Sphaceloma ampelinum*

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาที่ให้การเลี้ยงดู ส่งเสริม ให้กำลังใจ และให้การสนับสนุนการศึกษาเป็นอย่างดี เป็นกำลังใจที่ดีที่สุด รวมทั้งญาติพี่น้อง และเพื่อน ๆ ทุกคน ที่คอยช่วยเหลือเป็นอย่างดีเสมอ

อ้อยทิพย์ พูลสวัสดิ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญภาพ	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ท

บทที่

1 บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย.....	4
1.3 สมมติฐานการวิจัย	4
1.4 ขอบเขตการวิจัย.....	5
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5

2 ปรัชญ่วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....

2.1 ความสำคัญขององุ่น	6
2.2 การปลูกองุ่นในประเทศไทย.....	6
2.3 โรคสแคบขององุ่น	6
2.3.1 การจัดจำแนกและสัณฐานวิทยาของเชื้อ <i>S. ampelinum</i>	7
2.3.2 การแพร่ระบาดและวงจรการเกิดโรค.....	8
2.3.3 อาการของโรคสแคบ	8
2.3.4 การควบคุมโรค.....	9
2.3.4.1 การควบคุมโรคโดยใช้สารเคมีและสารสกัดจากพืช.....	9
2.3.4.2 การควบคุมโรคโดยวิธีเขตกรรม	9
2.4 การศึกษาโรคพืชที่เกิดจากเชื้อ <i>Sphaceloma</i> spp.	10

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5	การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรคพืชด้วยเครื่องหมาย Random amplified polymorphic DNA (RAPD)	15
2.6	การปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบ	17
2.6.1	การศึกษาสมรรถนะการรวมตัวทั่วไปและสมรรถนะการรวมตัวจำเพาะ...	19
2.6.2	การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรค	19
2.6.3	การใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อช่วยในการปรับปรุงพันธุ์	21
2.6.3.1	เครื่องหมาย RAPD	23
2.6.3.2	เครื่องหมาย SSCP	24
3	วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย	26
3.1	วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	26
3.2	สถานที่ทำการทดลอง	27
3.3	ระยะเวลาการทดลอง	27
3.4	วิธีการทดลอง	27
3.4.1	การทดลองที่ 1 : การแยกเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จากชิ้นส่วนองุ่นที่เป็นโรค ...	27
3.4.2	การทดลองที่ 2 : การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะทาง สัณฐานวิทยาของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ	27
3.4.3	การทดลองที่ 3 : การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> โดยใช้เครื่องหมาย RAPD	28
3.4.4	การทดลองที่ 4 : การวิเคราะห์ความต้านทานขององุ่นต่อเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จากปฏิกิริยาบนใบองุ่นในห้องปฏิบัติการ	29
3.4.5	การทดลองที่ 5 : การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรค สแคบในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่	30
3.4.6	การทดลองที่ 6 : การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน โดยศึกษา สมรรถนะการรวมตัวทั่วไปและสมรรถนะการรวมตัวจำเพาะ	31
3.4.7	การทดลองที่ 7 : ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RAPD OPJ13-300, OPV02-600 และ OPS03-1300 และยีนต้านทานโรค สแคบในองุ่น	33

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.8 การทดลองที่ 8 : ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSCP และยีนต้านทานโรคสแคบงุ่น	33
4 ผลการทดลอง	36
5 วิเคราะห์ผลการทดลอง.....	82
6 สรุปผลการทดลอง	93
รายการอ้างอิง.....	95
ภาคผนวก.....	108
ประวัติผู้เขียน	174

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การศึกษาเชื้อ <i>Sphaceloma</i> spp. ในพืชชนิดต่าง ๆ	14
2	จำนวนงุ่นลูกผสม F_1 ที่ใช้ในการทดสอบความต้านทานโรคสแคบ	30
3	จำนวนงุ่นลูกผสม F_1 ที่ใช้ในการทดสอบการแสดงออกของยีน	32
4	ไพรเมอร์ที่จำเพาะ อุณหภูมิในขั้นตอน annealing เอนไซม์ตัดจำเพาะ และขนาดของ PCR products ของเครื่องหมายโมเลกุล SSCP ที่พัฒนาจาก RGAs.....	34
5	การเปรียบเทียบขนาดโคโลนีของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด.....	39
6	การเปรียบเทียบขนาดโคโลนีของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> อายุ 2 สัปดาห์ จำนวน 19 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด.....	40
7	การเปรียบเทียบขนาดโคโลนีของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> อายุ 5 สัปดาห์ จำนวน 19 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด	41
8	การเปรียบเทียบขนาดโคโลนีของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> อายุ 8 สัปดาห์ จำนวน 19 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด	42
9	สีโคโลนีของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 2 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด.....	45
10	สีโคโลนีของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 5 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด.....	46
11	สีโคโลนีของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 8 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด.....	47
12	Aerial mycelium ของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด.....	48
13	รูปร่างของโคโลนีเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 2 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด	49
14	รูปร่างของโคโลนีเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 5 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด	50

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
15	รูปร่างของโคโลนีเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 8 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด 51
16	การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยขนาดโคโรนาของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 19 ไอโซเลต 52
17	ไพรเมอร์ RAPD ที่ใช้ในการทดลอง แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์ ของแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน และ polymorphism information content (PIC) 56
18	วันแรกของการปรากฏแผลบนเนื้อเยื่อใบองุ่น (Latent period) ทั้ง 10 พันธุ์/สายพันธุ์ 59
19	ค่าเฉลี่ยคะแนนการเกิดโรคสแคบบนเนื้อเยื่อใบขององุ่นทั้ง 10 พันธุ์/สายพันธุ์ หลังปลูกเชื้อ 4 วัน 60
20	ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> ไอโซเลต Cb1-1, Cr1-1, Nk4-1, Nk5-1 และ Rc2-1 60
21	คะแนนการเกิดโรคสแคบบองุ่น 10 พันธุ์/สายพันธุ์ 61
22	คะแนนการเกิดโรคสแคบบเฉลี่ยขององุ่นลูกผสม F_1 ในแต่ละคู่ผสม 62
23	ระดับความต้านทานโรคสแคบบ ไอโซเลต Nk4-1 ในองุ่นลูกผสม F_1 โดยการให้คะแนน การเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 4 วัน 63
24	ระดับความต้านทานโรคสแคบบ ไอโซเลต Rc2-1 ในองุ่นลูกผสม F_1 โดยการให้คะแนน การเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 4 วัน 67
25	ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรคสแคบบองุ่นในสภาพห้องปฏิบัติการ และสภาพไร่ 72
26	เปอร์เซ็นต์ต้านทานโรคสแคบบในองุ่นลูกผสม F_1 จำนวน 6 คู่ผสม ทดสอบโดยใช้ เชื้อ <i>S. ampelinum</i> ไอโซเลต Nk4-1 76
27	ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย OPV02-600 และลักษณะต้านทานโรคสแคบบในองุ่น ลูกผสม F_1 78
28	ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย BQ47 และลักษณะต้านทานโรคสแคบบในองุ่นลูกผสม... 79
29	ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย NY11 และลักษณะต้านทานโรคสแคบบในองุ่นลูกผสม... 80
30	ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย NY28 และลักษณะต้านทานโรคสแคบบในองุ่นลูกผสม... 81

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเจริญเติบโตของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> แต่ละภาค ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์	44
2	อิทธิพลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> ทั้ง 4 ภาค ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์.....	44
3	ลักษณะโคนิเดียของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์.....	52
4	Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จากสัณฐานวิทยา จำนวน 19 ไอโซเลต โดย UPGMA cluster analysis ด้วยโปรแกรม NYSYSsp2.2.....	54
5	แผนภาพ 3 มิติ แสดง principal coordinates 3 แกนแรก จาก principal coordinate analysis ของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำนวน 19 ไอโซเลต	54
6	รูปแบบแถบดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 19 ไอโซเลต ด้วยไพรเมอร์ OPA-3 บน acrylamide gel 6%.....	57
7	Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จากเครื่องหมาย RAPD จำนวน 19 ไอโซเลต โดย UPGMA cluster analysis ด้วยโปรแกรม NTSYSsp2.2.....	57
8	แผนภาพ 3 มิติ แสดง principal coordinates 3 แกนแรก จาก principal coordinate analysis ของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จากเครื่องหมาย RAPD จำนวน 19 ไอโซเลต	58
9	ระดับความต้านทานโรคสแคบองุ่นในสภาพไร่ระหว่างปี พ.ศ. 2550-2552	74
10	แถบดีเอ็นเอขององุ่นพันธุ์พ่อแม่ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย OPV02-600	77
11	แถบดีเอ็นเอของลูกผสมระหว่าง Carolina Black Rose × NY88.0517.01 ที่เพิ่ม ปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย OPV02-600.....	77
12	แถบดีเอ็นเอของลูกผสมระหว่าง Black Queen × Wilcox 321 ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยไพรเมอร์ rgVvinBQ_47	79
13	แถบดีเอ็นเอขององุ่นลูกผสมระหว่าง Italia × NY65.0550.04 ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยไพรเมอร์ rgVhybNY507_11	80
14	แถบดีเอ็นเอขององุ่นลูกผสมระหว่าง Carolina Black Rose × NY65.0550.04 ที่เพิ่ม ปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ rgVhybNY507_28.....	81

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CA	=	cereal agar
CCA	=	corn cereal agar
CTAB	=	cetylmethylammonium bromide
JCCA	=	Job's tear corn cereal agar
PCR	=	polymerase chain reaction
PDA	=	potato dextrose agar
RAPD	=	random amplified polymorphic DNA
SDS	=	sodium dodecylsulfate
SSCP	=	single strand conformation polymorphism
WA	=	water agar

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

องุ่น (*Vitis vinifera* Linn.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่มีผู้นิยมบริโภคเป็นอย่างมาก นับว่าเป็นไม้ผลที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่มีราคาสูง สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น รับประทานสด ทำแยม ไวน์ ลูกเกด และน้ำองุ่น เป็นต้น จึงเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ ทำให้เกษตรกรผู้ปลูกสามารถยึดเป็นอาชีพหลักได้ จากการสำรวจผลผลิตองุ่นรวมทั่วโลกในปี พ.ศ. 2552 พบว่าสูงถึง 67,221,000 ตัน โดยประเทศที่มีผลผลิตองุ่นมากที่สุด คือ อิตาลี รองลงมาคือ จีน อเมริกา และฝรั่งเศส (Wikipedia, 2009) สำหรับการปลูกองุ่นในประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2542 พบว่ามักจะปลูกบริเวณภาคกลางเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งมีพื้นที่ปลูกมากกว่า 21,900 ไร่ พื้นที่ปลูกบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือมากกว่า 2,680 ไร่ (กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร, 2542) และมีการขยายพื้นที่ปลูกองุ่นมากขึ้นในทั่วทุกภาคของประเทศไทย จังหวัดที่มีการปลูกมา ได้แก่ สมุทรสาคร ราชบุรี กาญจนบุรี นครปฐม นครราชสีมา และสระบุรี (กิตติพงศ์ ศรีตรัยานนท์, 2544) ต่อมาในปี พ.ศ. 2547 พบว่าจังหวัดราชบุรีมีพื้นที่ปลูกองุ่นมากเป็นอันดับ 1 ของประเทศ คือ 15,000 ไร่ (จรล เห็นพิทักษ์ และ โอฬาร ตันทาทวิรุฬห์, 2549) โดยองุ่นที่นิยมปลูกเป็นการค้า ได้แก่ องุ่นพันธุ์ไวท์ มะละกา ผลสีเขียว และพันธุ์คาร์ดินาล ผลสีม่วงดำ (นันทกร บุญเกิด, 2546) จากการสำรวจของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร โดยความร่วมมือของกรมศุลกากร พบว่าการผลิตองุ่นสดในประเทศยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ต้องมีการนำเข้าองุ่นสดจากต่างประเทศปีละไม่ต่ำกว่า 3,000 ตัน โดยในปี พ.ศ. 2549 มีปริมาณการนำเข้าองุ่นสด 16,876 ตัน คิดเป็นมูลค่า 994.1 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2550 ปริมาณการนำเข้า 24,247 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,242.5 ล้านบาท ปี พ.ศ. 2551 ปริมาณการนำเข้า 26,962 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,465.8 ล้านบาท และปี พ.ศ. 2552 ปริมาณการนำเข้า 42,607 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,944.4 ล้านบาท ซึ่งพบว่าปริมาณการนำเข้าเพิ่มขึ้นทุกปี (สำนักงานเศรษฐกิจ-การเกษตร, 2553)

การปลูกองุ่นมักพบปัญหาเรื่องการระบาดของโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อรา โดยหนึ่งในโรคที่สำคัญขององุ่นคือ โรคสแคบ (scab) หรือแอนแทรคโนส (anthracnose) ซึ่งเชื้อสาเหตุคือ *Sphaceloma ampelinum* เป็นโรคพืชที่สร้างความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น กระจับ กะวาน ชา กุหลาบ แก้วมังกร น้อยหน่า ถั่วลิสง ฝรั่ง มะละกอ มะม่วง ขางพารา ละหุ่ง ส้ม สัก และอะโวคาโด (กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ, 2545) ในปี พ.ศ. 2546 นันทกร บุญเกิด กล่าวว่าโรคนี้ทำความเสียหายแก่องุ่นรองจากโรคน้ำค้าง พบการระบาดในช่วงที่มีฝนตกชุกและอากาศชื้น ซึ่งชาวสวน

องุ่นในเขตจังหวัดนครปฐม ราชบุรี และสมุทรสาคร เรียกโรคนี้ว่า อีบบบ พบบริเวณเนื้อเยื่อเจริญทุกส่วน เช่นใบอ่อนถึงใบเพสลาด เกาอ่อน ยอดอ่อน ช่อดอก และมือเกาะ ส่วนอาการของผลอ่อนจนผลเริ่มเปลี่ยนสี บริเวณที่เชื้อเข้าทำลายจะมีแผลลักษณะยุบตัว บิดงอ ต่อมาจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเทา และดำ อาการที่ใบจะมีลักษณะฉ่ำน้ำในระยะแรก ต่อมาจุดเหล่านี้จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลขนาดเล็ก ถ้าอากาศร้อนจัด บริเวณสีน้ำตาลจะหลุดออก เกิดเป็นรอยใบทะลุ หากสภาพอากาศเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ จุดต่าง ๆ เหล่านี้ก็จะลามติดต่อกัน ทำให้เกิดอาการใบแห้งอย่างรวดเร็ว และร่วงไปในที่สุด กรณีที่เชื้อเข้าทำลายบริเวณเส้นใบจะทำให้ใบม้วนงอลงด้านล่าง อาการบนเถาอ่อนและมือเกาะจะปรากฏเป็นแผลสีน้ำตาลแดงถึงสีดำ มีลักษณะเป็นตะปุ่มตะป่ำ กลางแผลจะยุบและมีสีเข้ม (กรณีการ์ เพียนภักตร์ และคณะ, 2537) การป้องกันและกำจัดสามารถทำได้โดยการทำความสะอาดแปลง หลีกเลี้ยงการปลูกช่วงอากาศร้อนขึ้น และใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา (กรณีการ์ เพียนภักตร์ และคณะ, 2533) การแก้ปัญหาส่วนใหญ่มักกระทำหลังมีการระบาดของโรค ซึ่งไม่ค่อยได้ผลเพราะ โรคนี้ระบาดมากในช่วงฤดูฝน นอกจากนี้ เกษตรกรต้องเสียค่าใช้จ่ายจำนวนมากในการซื้อสารเคมีกำจัดเชื้อรา และค่าแรงงานฉีดพ่น

การปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบ เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยในการแก้ปัญหา โดยพบว่าแหล่งความต้านทานโรคสแคบในองุ่นส่วนใหญ่ เป็นองุ่นพันธุ์พื้นเมืองในเขตชุ่มชื้นของอเมริกาและเขตใกล้เคียง ได้แก่ *V. simpsoni* Mun., *V. smalliana* Bailey, *V. shotteworthii* House, *V. labrusca* L., *V. rotundifolia* Michx. และ *V. munsoniana* Simp โดยองุ่น *V. labrusca* L. เป็นสปีชีส์ที่ต้านทานโรคสแคบได้ดีที่สุด ลักษณะต้านทานโรคสแคบถูกควบคุมโดยยีนด้อย 2 ยีน คือ an_1 , an_2 (An_1 และ An_2 แสดงลักษณะไม่ต้านทาน) และยีนเด่น 1 ยีน คือ An_3 (an_3 แสดงลักษณะไม่ต้านทาน) (Mortensen, 1981) ซึ่งสามารถถ่ายทอดสู่พันธุ์อ่อนแอได้ ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบด้วยวิธีดั้งเดิม โดยการผสมระหว่างองุ่นพันธุ์ดีที่อ่อนแอต่อโรคกับองุ่นสายพันธุ์ต้านทานที่มีองุ่นพันธุ์ป่าเหล่านี้ในประวัติพันธุ์ อาจทำให้ได้ลูกผสมใหม่ที่มีคุณภาพดีและต้านทานโรคสแคบในระดับสูง ซึ่งขั้นตอนเริ่มต้นที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบ คือ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. ampelinum* ตลอดจนระดับความรุนแรงในการก่อโรค (virulencity) ในองุ่นพันธุ์ต่าง ๆ โดยที่ผ่านมา ขนิษฐา มากรุง (2548) ได้ศึกษาถึงความหลากหลายของสายพันธุ์ของเชื้อ *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบในประเทศไทย โดยวิธีทางเซรัมวิทยาและปฏิกิริยาบนพันธุ์องุ่น แต่ยังไม่มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม นอกจากนี้ การประเมินสมรรถนะการรวมตัวทั่วไป (gca) สมรรถนะการรวมตัวจำเพาะ (sca) ของยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่น และอัตราพันธุกรรม เพื่อศึกษาถึงผลของการแสดงออกของยีนแบบบวกร่วมแบบข้ามข้ามคู่ และปฏิกิริยาการแสดงออกของยีนแบบต่าง ๆ รวมทั้งสภาพแวดล้อมต่อความต้านทานโรค อาจทำให้สามารถเลือกใช้พ่อแม่พันธุ์และวิธีการปรับปรุงพันธุ์ที่เหมาะสม ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มประสิทธิภาพ

ในการปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบ การปรับปรุงพันธุ์องุ่นซึ่งเป็นพืชยืนต้นจำเป็นต้องใช้เวลานาน และใช้ต้นทุนในการคัดเลือกพันธุ์สูง ดังนั้น การทดสอบความต้านทานของลูกผสมในระดับห้องปฏิบัติการ จะช่วยลดขั้นตอนและระยะเวลาการคัด เลือกพันธุ์ต้านทานได้ อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องทดสอบประสิทธิภาพของวิธีทดสอบความต้านทานในสภาพห้องปฏิบัติการที่พัฒนาขึ้น โดยศึกษาความสอดคล้องกับความต้านทานในสภาพไร่

ในปัจจุบันนี้ เทคนิควิธีการทางด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลได้มีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว จึงมีการนำเทคนิคเหล่านี้มาเข้าร่วมในโครงการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูง โดยเฉพาะในด้านการนำยีนต้านทานโรค (disease-resistance genes; R genes) มาใช้ปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานโรค ทำให้การปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานโรคพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว มีการโคลนยีนต้านทานจากพืชใบเลี้ยงคู่หลายสปีชีส์ ตัวอย่างเช่น ยีน *L6* จากป่าน ยีน *N* จากยาสูบ และยีน *RPS2* และ *RPM1* จาก *Arabidopsis* โดยพบว่ายีนต้านทานมีความสามารถในการต้านทานโรค ครอบคลุมทั้งโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส เชื้อรา แบคทีเรีย และไส้เดือนฝอย โปรตีนที่เกิดจากการถอดรหัส (transcription) และแปลรหัส (translation) ของยีนต้านทานส่วนใหญ่ ประกอบด้วย 2 ส่วนหลักคือ nucleotide binding site (NBS) และ leucine-rich repeats (LRRs) โดยที่ NBS ในตำแหน่ง N-terminal แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) leucine-zipper coiled-coil motif (CC) และ 2) *Drosophila Toll* and mammalian *Interleukin-1 receptors* (TIR) (Donald et al., 2002) และ LRRs ที่ตำแหน่ง C-terminal มีบทบาทในการช่วยกำหนดความต้านทานโรคอย่างเฉพาะเจาะจง (Ellis et al., 2000)

การโคลน resistance gene analogs (RGAs) จากพืชสปีชีส์ต่าง ๆ สามารถทำได้โดยการนำไพรเมอร์ที่สร้างจากลำดับกรดอะมิโนที่ conserve (degenerate primers) ในบริเวณ NBS มาเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี polymerase chain reaction (PCR) Donald et al. (2002) พบว่าเครื่องหมาย restriction fragment length polymorphism (RFLP) ที่พัฒนาขึ้นมาจาก RGAs จำนวน 3 เครื่องหมายสามารถนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์องุ่นที่ต้านทานโรคราแป้ง เนื่องจากมีความเชื่อมโยง (link) กับยีนต้านทานโรคราแป้ง และเช่นเดียวกัน RFLP probes ที่พัฒนาจาก RGAs ในองุ่น จะมีการจับคู่กับดีเอ็นเอเฉพาะในองุ่นที่ต้านทานต่อโรคราแป้งเท่านั้น แสดงให้เห็นว่า RGAs ที่โคลนขึ้นมาจากองุ่นอาจใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคในองุ่น (Gaspero and Cipriani, 2002) นอกจากนี้ Tantasawat et al. (unpublished data) ได้โคลน RGAs จากองุ่นลูกผสมที่ต้านทานต่อโรคราน้ำค้างและสแคบ ซึ่งอาจนำมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือกพันธุ์องุ่นให้ต้านทานต่อโรคสแคบได้ ส่วน Wang et al. (2000b) พบเครื่องหมาย RAPD ที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่นป่าของประเทศจีน ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ต่อการคัดเลือกพันธุ์เช่นกัน ดังนั้น การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลจาก RGAs และ RAPD เพื่อช่วยในการคัดเลือกพันธุ์องุ่นที่ต้านทานโรคสแคบ อาจช่วยให้ได้องุ่นพันธุ์ต้านทานโรคสแคบเร็วขึ้น ช่วยให้เกิดเกษตรกร

ลดต้นทุนการผลิตในด้านต่าง ๆ ลง ลดปัญหาการระบาดของโรค ทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพดี เป็นที่ต้องการของตลาด และเป็นผลดีต่อทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค นอกจากนี้ ยังอาจสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่นเพื่อปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรคได้

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา ความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมาย RAPD และระดับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. ampelinum* ซึ่งเก็บรวบรวมจากแหล่งปลูกใน 4 ภาคของประเทศไทย

1.2.2 เพื่อศึกษาสมรรถนะการรวมตัวทั่วไป และสมรรถนะการรวมตัวจำเพาะของยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่น

1.2.3 เพื่อประเมินและเปรียบเทียบระดับความต้านทานโรคสแคบในองุ่นลูกผสม โดยวิธีการทดสอบความต้านทานในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่

1.2.4 เพื่อประเมินความหลากหลาย (polymorphism) ของเครื่องหมาย RAPD ที่มีรายงานว่าสัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่นพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคสแคบ

1.2.5 เพื่อพัฒนาเครื่องหมาย single strand conformation polymorphism (SSCP) จาก RGAs และประเมินความหลากหลายในองุ่นพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคสแคบ

1.3 สมมติฐานการวิจัย

1.3.1 พันธุ์องุ่นต้านทานโรคแต่ละพันธุ์อาจมียีนต้านทานแตกต่างกัน และมีความจำเพาะต่อสายพันธุ์ของเชื้อ *S. ampelinum* และความต้านทานโรคสแคบในองุ่นอาจถูกควบคุมโดยยีนแบบง่ายหรือแบบบวก ซึ่งสามารถประเมินได้จาก gca และ sca

1.3.2 เชื้อ *S. ampelinum* มีความหลากหลายทางสายพันธุ์ เนื่องจากการปลูกองุ่นกระจายอยู่หลายภาคของประเทศไทย ซึ่งสามารถตรวจสอบได้จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม และจากลักษณะทางพันธุกรรมเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมาย RAPD

1.3.3 พันธุ์องุ่นที่ต้านทานโรคสแคบจะแสดงความต้านทานได้อย่างชัดเจนทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการ และในสภาพไร่ โดยให้ความสัมพันธ์ทางสถิติไปในทิศทางเดียวกัน

1.3.4 เครื่องหมายโมเลกุลที่ให้ความหลากหลายระหว่างพันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอต่อโรคสแคบ อาจนำมาใช้ประเมินความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทาน เพื่อใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานในอนาคต

1.4 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เน้นศึกษาถึงระดับความต้านทานโรคสแคบในองุ่นพันธุ์ต้านทานโรคที่นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 6 สายพันธุ์ คือ Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และ NY65.0551.05 และองุ่นลูกผสม F_1 ที่เกิดจากพันธุ์พ่อที่ต้านทานโรคซึ่งได้นำเข้าจากต่างประเทศ (Wilcox 321, NY88.0517.01, NY65.0550.04 และ NY65.0551.05) ผสมกับพันธุ์แม่ซึ่งเป็นองุ่นรับประทานผลสดที่อ่อนแอต่อโรค (Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia) และที่ต้านทานปานกลาง (Early Muscat) จำนวน 133 ลูกผสม โดยทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ และศึกษาความหลากหลายของเชื้อ *S. ampelinum* จาก 4 ภาคของประเทศไทย ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันตก ภาคละ 4-5 ไอโซเลต ศึกษาระดับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อไอโซเลตต่าง ๆ จำนวน 5 ไอโซเลต ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของแต่ละภาค วิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรคสแคบในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ ประเมินความหลากหลายของเครื่องหมาย RAPD OPJ13-300, OPV02-600 และ OPS03-1300 ในองุ่นพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคสแคบ และพัฒนาเครื่องหมาย SSCP เพื่อประเมินความหลากหลายในองุ่นพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคสแคบ รวม 10 พันธุ์/สายพันธุ์

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้องุ่นพันธุ์ต้านทานโรคสแคบ สามารถนำไปขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเพื่อปลูกทดสอบคุณภาพและผลผลิตในอนาคต

1.5.2 เข้าใจความหลากหลายของเชื้อ *S. ampelinum* และปฏิกิริยาบนพันธุ์ต้านทาน ทราบการแสดงออกของยีนจากการประเมิน gca และ sca และสามารถออกแบบวิธีการปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้เหมาะสมยิ่งขึ้นในอนาคต

1.5.3 ได้เครื่องหมายโมเลกุลที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ประเมินความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคสแคบในอนาคต

1.5.4 สามารถนำความรู้ที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคอื่นหรือปรับปรุงพันธุ์พืชชนิดอื่นให้ต้านทานโรค ซึ่งจะช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีและการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมได้

บทที่ 2

ปรัทัศนัวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญขององุ่น

องุ่นเป็นพืชที่อยู่ในสกุล *Vitis* วงศ์ *Vitaceae* มี 11 สกุล ประมาณ 600 ชนิด สกุล *Vitis* เป็นสกุลเดียวที่สามารถรับประทานได้ ลักษณะเป็นไม้เลื้อย มีมือจับเพื่อยึดเกาะ (นันทกร บุญเกิด, 2546) ถิ่นกำเนิดเดิมขององุ่นอยู่บริเวณเอเชียไมเนอร์ ระหว่างทะเลดำและทะเลเมดิเตอร์เรเนียน (อภิชาติ ศรีสอาด, 2543) จากรายงานของกรมส่งเสริมการเกษตรเรื่องการปลูกองุ่น พบว่ามีการปลูกมานานไม่ต่ำกว่า 5,000 ปี ในแถบยุโรป อเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ และออสเตรเลีย ประเทศที่ปลูกองุ่นมากได้แก่ อิตาลี ฝรั่งเศส สเปน ตุรกี สหรัฐอเมริกา และจีน ส่วนพันธุ์องุ่นที่นิยมปลูกส่วนใหญ่ คือ องุ่นยุโรป (*Vitis vinifera* L.) เพราะลักษณะช่อผลใหญ่ ผลดกคุณภาพดี รสหวานมากกว่าเปรี้ยว มีเมล็ดน้อย และสามารถเก็บไว้ได้นาน (วัฒนา สวรรยาธิปดี, 2531)

2.2 การปลูกองุ่นในประเทศไทย

สำหรับประเทศไทยไม่ปรากฏหลักฐานว่านำองุ่นเข้ามาปลูกในสมัยใด แต่สันนิษฐานว่านำมาจากต่างประเทศในสมัยรัชกาลที่ 5 ต่อมาในสมัยรัชกาลที่ 7 พบหลักฐานว่ามีปลูกอยู่บ้าง แต่องุ่นมีรสเปรี้ยว จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2493 ได้มีการปลูกอย่างจริงจัง โดยหลวงสมานวนกิจ นำพันธุ์มาจากแคลิฟอร์เนีย และในปี พ.ศ. 2497 ดร.พิศ ปัญญาลักษณ์ ได้นำพันธุ์องุ่นจากยุโรปมาทดลองปลูกในประเทศไทย (วันณรงค์ เหล่าประดิษฐ์, 2542) ต่อมาปี พ.ศ. 2506 ปวณ ปุณณศรี และคณะ ได้นำองุ่นยุโรป ได้แก่ พันธุ์โกลเดนมัสแคท มัสแคทฮัมเบิร์ก และคาร์ดินาล เข้ามาปลูกและได้ผลดี จึงขยายพันธุ์ไปทดลองปลูกในแปลงของเกษตรกร และขยายพันธุ์ในเชิงการค้ามากขึ้น (นันทกร บุญเกิด, 2546)

2.3 โรคสแคบขององุ่น

ในปี ค.ศ. 1874 De Bary พบโรคสแคบในแหล่งปลูกองุ่นทางภาคตะวันออกของอเมริกาเป็นครั้งแรก และรายงานว่าเกิดจากเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* (CAB International, 2000) ต่อมาในปี ค.ศ. 1929 Shear ได้เรียกชื่อจีนัสที่ทำให้เกิดโรคสแคบในองุ่นและแอปเปิ้ล *Rubus* ว่า *Elsinoe* ซึ่งในทวีปยุโรปโรคสแคบขององุ่น เกิดจากเชื้อ *E. ampelina* ซึ่งเป็นระยะสมบูรณ์เพศของเชื้อ *S. ampelinum* (Tourjee, 2004) ต่อมามีการรายงานการเข้าทำลายองุ่นในหลายประเทศ เช่น ชิลี บราซิล

คิวบา ออสเตรเลีย นิวินี แอมเบีย และอินเดีย (กรรณิการ์ เพียนภักตร์, 2537) ซึ่งในแต่ละประเทศมีชื่อเรียกแตกต่างกัน ทำให้เกิดความสับสน เช่น ในประเทศอังกฤษเรียกโรคนี้ว่า grape anthracnose, grape black spot, grape black rot, bird's eye spot, bird's eye rot, vine black spot, bird's eye fungus, anthracnose of grapevine, bird's eye disease of grapevine และ black spot of grapevine ในประเทศสเปน เรียกว่า antracnosis de la vid ประเทศอินเดีย เรียกว่า die-black และ dead arm ประเทศญี่ปุ่น เรียกว่า blackspot (CAB International, 2000) ส่วนประเทศไทย เรียกโรคนี้ว่า โรคสแครบหรืออินบูบ (กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ, 2537) ซึ่งรายงานการพบโรคนี้ครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2506 ที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ในขณะนั้นเรียกโรคนี้ว่า แอนแทรคโนส และรายงานว่าเกิดจากเชื้อ *Gloeosporium ampelophagum* เนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมา แยกเชื้อสาเหตุโรคสแครบด้วยวิธี tissue transplanting ซึ่งมีส่วนทำลายเชื้อที่แท้จริง เนื่องจากเชื้อ *Sphaceloma* spp. ตอบสนองต่อสารเคมีได้เร็ว ดังนั้นเชื้อที่เหลืออยู่จึงเป็นเชื้อที่ทนทานต่อสารเคมีมากกว่า เช่น *Colletotrichum gloeosporioides* (Prnz.) Sacc. ซึ่งมักเป็นพวกใช้อินทรีย์วัตถุเป็นอาหาร (saprophyte) และปรสิตพืช (plant parasite) ส่วนเชื้อ *Sphaceloma* spp. เป็นปรสิตพืชเพียงอย่างเดียว และเจริญงอกงามไม่อาจแข่งขันกับเชื้อใด ๆ (กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ, 2545; Ellett, 1957) ต่อมาในปี พ.ศ. 2533 ได้มีรายงานใหม่ว่าเกิดจากเชื้อ *S. ampelinum* (กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ, 2536)

2.3.1 การจัดจำแนกและสัณฐานวิทยาของเชื้อ *S. ampelinum*

เชื้อ *S. ampelinum* เป็นราชนิดหนึ่งในสกุล *Sphaceloma* สามารถจำแนกตามอนุกรมวิธานได้ดังนี้ (ไพโรจน์ จ้วงพานิช, 2525)

Division Eumycota

Class Deuteromycetes

Order Melanconiales

Family Melanconiaceae

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ พบว่าเชื้อมีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) โคนิเดียสร้างอยู่ภายใน fruiting body ซึ่ง fruiting body มีลักษณะคล้ายจานปากกว้าง เรียกว่า acervulus ซึ่งโคนิเดียมีขนาดเล็ก กลมรี มีเซลล์กลมใสภายใน (teleomorph state คือ *Elsinoe*) เป็นสาเหตุของโรคสแครบ (กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ, 2544) Sutton และ Pollack (1973) อ้างถึงใน Spiers (1992) รายงานเชื้อ *S. ampelinum* ว่าแต่ละเซลล์ของ pseudoparenchyma ที่เปลี่ยนเป็น conidiogenous cell อาจสร้างโคนิเดียในตำแหน่งเดียว (monophialidic) หรือมากกว่า 1 ตำแหน่ง (polyphialidic) โคนิเดียไม่มีผนังกัน รูปร่างกลมรีหัวท้ายมน ขนาด $6.37-8.75 \times 2.61-4.77$ ไมครอน (กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ, 2537) และ $5.24-6.83 \times 2.17-3.35$ ไมครอน (ขนิษฐา มากรุง, 2548) เชื้อ *S. ampelinum* มีลักษณะที่คล้ายเชื้อ *Gloeosporium* และ *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพืชหลายชนิด

เนื่องจากเชื้อทั้ง 3 สกุลนี้จัดอยู่ใน Order Melanconiales เช่นเดียวกัน (กานต์ คำทรัพย์, 2546)

2.3.2 การแพร่ระบาดและวงจรการเกิดโรค

ในทวีปยุโรปส่วนใหญ่มักเกิดการระบาดขึ้นเมื่อมีฝนตกอย่างหนักนาน 24 ชั่วโมงหรือมากกว่า และอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 2°C และ 32°C ระยะเวลาติดเชื้อ พบว่าที่อุณหภูมิ 2°C และ 32°C ใช้เวลา 13 และ 4 วัน ตามลำดับ ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการแพร่ของเชื้ออยู่ระหว่าง $24-26^{\circ}\text{C}$ (Tourjee, 2004) Jackson (1999) รายงานว่าโรคเน่าของผล โรคครำน้ำค้าง โรคสแคบ และโรค Phomopsis เป็นโรคที่รุนแรงในสภาพอากาศเปียก สำหรับในประเทศไทยโรคสแคบจะระบาดรุนแรงในช่วงฤดูฝน ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึงตุลาคม หรือมีฝนตกปรอย ๆ และมีแดดติดต่อกัน ในบางพื้นที่หากมีน้ำค้างลงจัดก็พบโรคนี้ได้ (กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ, 2536) เนื่องจากเชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศที่มีความชื้นสูง (เพ็ชรรัตน์ โยวะบุตร, 2545) การแพร่ระบาดของโรคสแคบในองุ่นประกอบด้วย 3 เงื่อนไข คือ ความอ่อนแอของเนื้อเยื่อพืช การกระจายของโคนิเดีย และสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค ซึ่งปัจจัยที่มีผลมากที่สุดต่อการเกิดความรุนแรงของการแพร่ระบาดคือความถี่ของระยะเวลาฝนตก ที่เมือง Auckland ของนิวซีแลนด์ พืชจะเกิดการติดเชื้อเมื่อความชื้นสูงฝนตกติดต่อกัน 7-12 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 12°C ในฤดูใบไม้ผลิเชื้อจะสร้างโคนิเดียภายใน 14 วัน ส่วนในฤดูร้อนที่อุณหภูมิ 21°C และฝนตกนาน 3-4 ชั่วโมง เชื้อจะสร้างโคนิเดียภายใน 5 วัน และพบโคนิเดียของเชื้อสามารถปลิวไปตามลมและฝนได้ไกลถึง 7 เมตรจากแหล่งกำเนิด (Brook, 1973) ส่วน Mortensen (1981) พบว่าเชื้อ *E. ampelina* เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 28°C และเชื้อหยุดการเจริญเติบโตที่ 35°C

2.3.3 อาการของโรคสแคบ

เชื้อ *S. ampelinum* สามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญทุกส่วน ได้แก่ ใบอ่อน เกาอ่อน ยอดอ่อน และมือเกาะ มักพบอาการของโรคในระยะติดผลจนถึงอายุ 2 เดือน (นิพนธ์ วิสารทนนท์, 2542) อาการที่ผลอ่อนจนผลเริ่มเปลี่ยนสี ในบริเวณที่เชื้อเข้าทำลาย จะมีแผลลักษณะยุบตัว บิดงอ ต่อมาจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เทาและดำ มีลักษณะคล้ายลูกตานก จึงถูกเรียกว่า bird's eye rot (Simone, 1999) ระยะแรก อาการที่ใบจะมีลักษณะฉ่ำน้ำ เป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก ถ้าอากาศร้อนจัดบริเวณสีน้ำตาลจะเกิดเป็นรอยใบทะลุ หากสภาพอากาศเหมาะต่อการเจริญของเชื้อ จุดแผลที่เกิดขึ้นจะลุกลามติดต่อกัน ทำให้เกิดอาการใบแห้งลงอย่างรวดเร็วและร่วง กรณีที่เชื้อเข้าทำลายบริเวณเส้นใบ จะทำให้ใบม้วนงอลงด้านล่าง ส่วนอาการบนเกาอ่อนและมือเกาะจะปรากฏเป็นแผลสีน้ำตาลแดงถึงสีดำ มีลักษณะเป็นตะปุ่มตะป่ำ กลางแผลจะยุบและมีสีเข้ม พบว่าแผลของโรคสแคบต่างจากแผลของโรคแคงเกอร์ โดยแผลของโรคสแคบเป็นแผลตกระก่ด อาจปริเล็กน้อยไม่แตกเป็นร่องลึกเหมือนแผลโรคแคงเกอร์ และบริเวณเนื้อใบรอบแผลไม่เป็นวงสีเหลือง (halo) และพบอาการที่ผลอ่อน แตกต่างจากโรคแอนแทรคโนส หรือโรคเตาเผา ที่เกิดจากเชื้อ *C. gloeosporioides* มักพบ

อาการเมื่ออ่อนเริ่มเข้าสีจนถึงระยะเก็บเกี่ยว (กรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ, 2537) ลักษณะแผลโรคเตาเผามี 2 ลักษณะคือ แผลเป็นสีน้ำตาลดำยุบตัว ลักษณะเป็นวงซ้อนกัน พบเม็ดเล็ก ๆ สีดำขึ้นเรียงราย บางครั้งพบเมือกสีส้มซึ่งเป็นส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา และอีกลักษณะหนึ่งเป็นจุดสีน้ำตาลอ่อนรูปร่างกลมหรือรี บริเวณกลางแผลจะพบเม็ดสีดำเรียงรายอยู่ (เดือนใจ กาหลง และคณะ, 2545)

2.3.4 การควบคุมโรค

2.3.4.1 การควบคุมโรคโดยใช้สารเคมีและสารสกัดจากพืช

กานต์ คำทรัพย์ (2546) รายงานว่าสารเคมีแคพแทน (captan) และคาร์เบนดาซิม (carbendazim) เป็นสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. ampelinum* ที่มีลักษณะโคโลนีสร้างเส้นใยและโคนิเดีย ส่วนสารคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (copper oxychloride) เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีที่สร้างเฉพาะโคนิเดีย นอกจากนี้ อาจใช้สารสกัดจากพืชแทนได้ ซึ่งพบว่าสารสกัดจากผลยอแก้ว ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่สร้างเส้นใยและโคนิเดีย ส่วนสารสกัดจากผลมะตูม ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่สร้างได้เฉพาะโคนิเดีย

กนิษฐ์ ฐนเทพ และคณะ (ม.ม.ป.) รายงานว่าสารเคมีเบลคัท® (iminocycladine tris [albesilate]) 40%WP ที่อัตรา 5-15 กรัม/20 ลิตร สามารถควบคุมโรคสแคบได้ดีในระดับเดียวกับสารไดเฟโนโคนาโซล (difenoconazole) ที่อัตรา 5 ซีซี/ 20 ลิตร และดีกว่าสารโพรพิเนบ (propineb) ที่อัตรา 10 กรัม/20 ลิตร นอกจากนี้ สารเบลคัททุกอัตราที่ทดสอบมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหมือนกัน และไม่มีพิษต่อกิ่ง ใบ ช่อดอก และผลขององุ่น

นิพนธ์ วิสารทนนท์ (2542) กล่าวว่าควรทำความสะอาดแปลงปลูก เฝ้าทำลายเศษซากพืช และพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อราให้เพียงพอ ตั้งแต่ระยะช่อดอก ใบอ่อนและใบแก่ สารเคมีที่ให้ผลดีได้แก่ คาร์เบนดาซิม การใช้เมทาแลกซิล (metalaxyl) ควบคุมโรคราน้ำค้างต่อเนื่องอย่างเดียวเป็นประจำจะทำให้การระบาดของโรคแอนแทรคโนสมากขึ้น และควรฉีดพ่นสารเคมีระยะพักตัว (Dormant spray) ได้แก่ DNOC, DNBP, บอร์โด มิกเจอร์ (Bordeaux mixture) หรือไลม์ ซัลเฟอร์ 2 (lime sulfur 2) ตัปดาห์ละ 1 ครั้ง จะช่วยควบคุมโรค

Tourjee (2004) แนะนำให้ใช้สารเคมีไลม์ซัลเฟอร์ชนิดเหลว (Liquid lime sulfur) กำจัดเชื้อรา โดยฉีดพ่นทางใบก่อนการแตกตา อัตราส่วน 112 ลิตร/เฮกตาร์

2.3.4.2 การควบคุมโรคโดยวิธีเขตกรรม

Domoto and Nonnecke (2004) รายงานการจัดการสวนองุ่น 3 แบบ ได้แก่ ระบบดั้งเดิม (conventional system) ซึ่งอาศัยสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดแมลงและเชื้อรา ระบบการจัดการแบบผสมผสาน (integrated pest management; IPM) ซึ่งอาศัยสารกำจัดวัชพืชเมื่อจำเป็น และมีการ

กำหนดการใช้สารกำจัดแมลงและเชื้อรา และระบบอินทรีย์ (organic-approved system) ซึ่งอาศัยวิธีการควบคุมศัตรูพืชด้วยชีววิธี พบว่าการใช้ระบบอินทรีย์ในการจัดการสวนองุ่น ทำให้องุ่นเป็นโรคสแคบมากกว่าระบบดั้งเดิมและระบบการจัดการแบบผสมผสาน

เตือนใจ บุญหลง และคณะ (2545) รายงานว่า ควรหลีกเลี่ยงการตัดแต่งกิ่งให้ออกดอกติดผลในช่วงที่มีฝนตกชุก เนื่องจากเชื้อนี้จะเข้าทำลายพืชได้ดีในช่วงฤดูฝน และควรนำส่วนที่เป็นโรคไปทำลายนอกแปลงปลูก

2.4 การศึกษาโรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *Sphaceloma* spp.

เชื้อ *Sphaceloma* spp. เป็นสาเหตุของโรคสแคบในไม้ผลและไม้ดอกหลายชนิด เช่น ฝรั่ง มะม่วง องุ่น กระเจี๊ยบเขียว และปทุมมา เชื้อราชนิดนี้เป็นปรสิตพืชเพียงอย่างเดียว สามารถทำลายส่วนต่าง ๆ ของพืชอาศัยที่อยู่เหนือดินได้ทุกส่วน โดยเฉพาะบริเวณเนื้อเยื่อเจริญ เช่น ยอดอ่อน ใบ เพสลาด ใบอ่อน และผลอ่อน ทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นแห้งตาย เพราะท่อลำเลียงน้ำและอาหารถูกทำลาย ซึ่งอาการที่ปรากฏบนส่วนต่าง ๆ ของพืชที่เกิดจากเชื้อ *Sphaceloma* spp. เข้าทำลาย มักพบแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช การแพร่ระบาดพบมากในฤดูฝน และช่วงที่อากาศเปลี่ยนแปลงกะทันหัน เช่น ฝนตกแดดออก เย็นจัดในเวลากลางคืน หรือมีน้ำค้างลงจัด (กรรณิการ์ (ลาซโรจน์) เพียนภักตร์, 2547) ซึ่งการศึกษาและทำความเข้าใจเกี่ยวกับเชื้อชนิดนี้ในพืชต่าง ๆ ช่วยเป็นแนวทางในการวิจัยได้อย่างมีประสิทธิภาพ ตัวอย่างการศึกษาเชื้อ *Sphaceloma* spp. เช่น

กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ (2536) รายงานว่าลักษณะสำคัญของเชื้อ *S. ampelinum* ที่ต่างจากเชื้อชนิดอื่นคือ เมื่อโคไนเดียงอกบนอาหาร water agar (WA) ระยะหนึ่ง จะสร้าง secondary conidia โดยไม่มี fruiting body ห่อหุ้ม เกิดจุดสีครีมเล็ก ๆ และค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นกลุ่มเข็มสีแดงสด

กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ (2541) รายงานว่าการพบโรคสแคบของมะม่วงซึ่งเกิดจากเชื้อ *S. mangiferae* Bit. & Jenkins ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศไทยในมะม่วงเขียวเสวย ที่ อ.กระทุ่มแบน จ.สมุทรสาคร

กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ (2544) แยกเชื้อ *S. psidii* จำนวน 37 ไอโซเลต จากแหล่งปลูกฝรั่ง 16 จังหวัดของประเทศไทย พบว่าโคไนเดียมีลักษณะกลมรี หัวท้ายมน มีผนังคล้ายวุ้นห่อหุ้มอีกชั้นหนึ่ง ขนาด $5.84-8.87 \times 2.87-6.22$ ไมครอน เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 28-30°C เชื้อไม่สร้าง fruiting body บนอาหารชนิดใด ๆ อาหารที่ทำให้เชื้อเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคือ potato dextrose agar (PDA)

กานต์ คำทรัพย์ (2546) รายงานว่าโรคสแคบในองุ่นเกิดจากเชื้อ *S. ampelinum* โคไนเดียมีการเจริญเติบโตบนอาหาร PDA ได้ 2 ลักษณะคือ ลักษณะของโคไนเดียที่สร้างเส้นใยและโคไนเดีย ซึ่งเชื้อจะเจริญเป็นก้อนเล็ก ๆ ซ้อนกัน มีสีเหลืองอมน้ำตาล และลักษณะโคไนเดียที่สร้างได้เฉพาะโคไนเดีย

โคโลนีของเชื้อมีลักษณะคล้ายเซลล์ของแบคทีเรีย มีลักษณะเยิ้ม ผิวมันวาว โคโลนีมีสีชมพูอมส้ม มีรอยหยักเล็กน้อย อาหาร grape juice agar 1 (GJA1), grape juice dextrose agar 1 (GJDA1) และ PDA เป็นอาหารวุ้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อที่มีลักษณะโคโลนีสร้างเส้นใยและโคนินเดีย ส่วนเชื้อที่มีลักษณะโคโลนีสร้างเฉพาะโคนินเดีย พบว่า PDA เป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อมากที่สุด อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตบนอาหาร PDA คือ 30°C ส่วนที่อุณหภูมิ 10 และ 35°C เชื้อจะหยุดการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังพบว่าอาหาร potato dextrose broth (PDB) ที่ระดับความเป็นกรดค่า 6-7 เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อที่มีลักษณะของโคโลนีสร้างเส้นใยและโคนินเดีย ส่วนอาหาร PDB ที่ระดับความเป็นกรดค่า 5-8 เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อที่โคโลนีสร้างเฉพาะโคนินเดีย

ขนิษฐา มากรุ่ง (2548) รายงานว่าเชื้อ *S. ampeilum* เจริญเติบโตขึ้นบนอาหาร PDA เชื้อในแต่ละไอโซเลตมีลักษณะโคโลนีแตกต่างกัน สีของโคโลนีแบ่งได้ 3 กลุ่มคือ สีเหลืองอ่อน สีเหลืองเข้มถึงส้ม และสีแดง

ณรงค์ สิงห์บุระอุดม (2547) รายงานว่าเชื้อ *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบขององุ่นในประเทศไทย มีการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ 2 ลักษณะคือ 1) ลักษณะการเจริญเติบโตที่เป็นเส้นใย (mycelium form) และ 2) ลักษณะการเจริญที่ไม่สร้างเส้นใย (non-mycelium form หรือ yeast-like form) ซึ่งลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารจะมีเมือกเยิ้มเหมือนการเจริญของแบคทีเรีย

เศรษฐพงศ์ เลขาวัฒนะ และคณะ (2550) รายงานว่าในช่วงฤดูฝนที่มีฝนตกติดต่อกันนาน ๆ ดอกและใบของกล้วยไม้ดินใบหมากจะเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Sphaceloma* sp. ซึ่งกลีบดอกชั้นนอก (sepal) จะเกิดแผลจุดสีน้ำตาลกลมรี ตรงกลางแผลจะมีจุดสีน้ำตาลเข้ม ส่วนกลีบดอกชั้นใน (petal) ที่บานเต็มที่ แผลจะเกิดเดี่ยว ๆ เห็นได้ชัดเจน ต่อมา 2-3 วัน แผลเหล่านี้จะมีขนาด 0.1-0.4 มิลลิเมตร

อังสนา อัครพิศาล และคณะ (ม.ม.ป.) รายงานเชื้อ *S. rosarum* สาเหตุโรคสแคบของกุหลาบ สร้างโคนินเดียเซลล์เดี่ยว สีใส รูปร่างทรงกระบอกหรือรูปไข่ หัวท้ายมน จากการเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าสีของเส้นใยจะเข้มข้นตามอายุของเชื้อ

Tasugi and Mogi (1958) ได้ศึกษาความต้านทานโรคสแคบของถั่วเหลือง ซึ่งเกิดจากเชื้อ *S. glycines* จำนวน 11 พันธุ์ โดยการนับจำนวนแผล (lesions) ที่ใบอ่อน ใบระยะสมบูรณ์เต็มที่ และใบแก่ พบว่าเป็นพันธุ์ที่ต้านทาน 4 พันธุ์ พันธุ์ต้านทานปานกลาง 4 พันธุ์ และพันธุ์อ่อนแอ 2 พันธุ์ และจากการสังเกตใบที่ปลูกเชื้อพบว่า เชื้อไม่สามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อ palisade และ spongy ของพันธุ์ต้านทาน ส่วนพันธุ์ที่ต้านทานปานกลาง การเกิดรอยแผล และปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อใบจะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ส่วนพันธุ์อ่อนแอ เชื้อสามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อ palisade และ spongy ภายใน 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ และจะพบการสร้างสปอร์ภายใน 2 สัปดาห์

Ananthanarayanan (1963) ได้รายงานการค้นพบสปิซิสใหม่ของเชื้อ *Elsinoe* จากต้น *Scutia*

indica ในอินเดีย ซึ่งลักษณะของเชื้อคล้ายคลึงกับ *E. bitancourtiana* Thirum. ที่ได้มีการรายงานโดย Thirumalochar ในปี ค.ศ. 1946

Wehlburg (1968) รายงานการศึกษาโรคสแคบในต้นคริสมาสต์ (*poinsettia*) ซึ่งเกิดจากเชื้อ *S. poinsettiae* Jenkins & Ruehle ใน Florida โรคนี้ถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1939 ในโรงเรือนเพาะกล้าของฮาวาย ต่อมาได้มีรายงานการแพร่ระบาดในพื้นที่ปลูกเป็นการค้าทั่วไปใน Florida

Brook (1973) รายงานว่าผลอ่อนจะมีความต้านทานโรคสแคบได้ดี เมื่อมีการสร้าง soluble solid ในผลมากกว่า 5-7% หลังจากดอกบาน 50 วัน และจากการเปรียบเทียบระหว่างแผลที่เกิดจากเชื้อ *S. ampelinum* บนอ่อนพันธุ์อ่อนแอและพันธุ์ต้านทาน พบว่าแผลที่เกิดขึ้นมีขนาดแตกต่างกัน โดยอ่อนพันธุ์อ่อนแอจะมีแผลขนาดใหญ่กว่า อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาในการเกิดแผลไม่ต่างกัน

Burnett (1974) ได้ศึกษาเชื้อ *S. perseae* Jenkins สาเหตุโรคสแคบในอะโวคาโด พบว่าโรคนี้ถูกพบครั้งแรกที่ Florida ในปี ค.ศ. 1918 อาการที่ใบ จะมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาลดำ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่า 3 มิลลิเมตร แผลจะขยายไปตามเส้นใบ ก้านใบ และกิ่งอ่อน อาการที่ผลจะมีลักษณะแผลนูนเล็กน้อยเป็นสีน้ำตาลอมม่วง น้ำตาลดำ ขนาดของแผลไม่แน่นอน

Cheema et al. (1978) ได้ทำการทดสอบความแตกต่างทางจีโนมไทป์ของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 41 ไอโซเลต ซึ่งแยกได้จากอ่อนพันธุ์ต่าง ๆ โดยแบ่งกลุ่มตามลักษณะสีของเส้นใย และการสร้างโคนินเดียบนอาหาร PDA สามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่มใหญ่ และ 9 กลุ่มย่อย และเลือกตัวแทนจากกลุ่มย่อย กลุ่มละ 1 ไอโซเลต เลี้ยงบนอาหารแข็ง 4 ชนิด ได้แก่ PDA, Czapek's agar, yeast extract agar และ leaf extract agar พบว่าอาหาร yeast extract agar ทำให้เชื้อทุกไอโซเลตเจริญเติบโตได้ดีที่สุด และได้ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อในอาหารเหลว 3 ชนิด ได้แก่ Czapek's medium, yeast extract และ PDB แล้ววัดอัตราการเจริญโดยชั่งน้ำหนักแห้งของเส้นใย พบว่าไอโซเลตส่วนใหญ่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในอาหาร PDB

Miller et al. (1981) ศึกษาเชื้อ *E. australis* สาเหตุโรคสแคบในส้มหวาน พบว่ามักเกิดการติดเชื้อบริเวณผล ไม่ค่อยพบอาการบนใบและกิ่งอ่อน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้ออยู่ระหว่าง 24.5-29.0°C ส่วนส้มเปรี้ยวมักเกิดจากเชื้อ *E. fawcetti* พบอาการบริเวณเนื้อเยื่อเจริญทุกส่วน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 20.0-24.5°C

Spiers (1992) ศึกษาลักษณะโคนินเดียของเชื้อ *S. murrayae* ในต้นหลิวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าโคนินเดียมีเซลล์เดียว ใส รูปไข่ มีนิวเคลียสเดียว และล้อมรอบด้วยผนัง 2 ชั้น ขนาด $3.6-5.2 \times 2.0-2.8$ ไมครอน

Alvarez and Molina (2000) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตและสีโคโลนีของเชื้อ *S. manihoticola* ในมันสำปะหลัง พบว่าสีของโคโลนีจะไม่คงที่เมื่อเวลาเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ aerial mycelium จะปรากฏบนโคโลนีภายหลังการวางบนอาหาร PDA 21 และ 28 วัน ซึ่งโคนินเดียของเชื้อทุกไอโซเลตมี

ขนาดเฉลี่ย 5.7×3.2 ไมครอน

Kucharek and Whiteside (2000) รายงานว่าเชื้อ *S. fawcetti* เป็นสาเหตุโรคสแคบของพืชตระกูลส้ม โดยเฉพาะส้มเปรี้ยว ซึ่งมีแนวโน้มว่าการระบาดจะรุนแรงในสวนผลไม้ที่ปลูกใกล้ป่ามากกว่าสวนผลไม้ที่ปลูกบนสันเขา เชื้อจะสร้างโคนิเดียมากที่สุดในตอนเช้า และตอนกลางคืนที่มีน้ำค้างมาก อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 21-27°C

Butin and Kehr (2004) ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *S. murrayae* ในต้นหลิวพบว่าโคโลนีเจริญเติบโตช้า โดยจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ประมาณ 1 เซนติเมตรใน 3 สัปดาห์ บนอาหาร 2% malt extract agar (MEA) ที่อุณหภูมิ 21°C และสีของโคโลนีเปลี่ยนจากสีครีมเป็นสีแดงส้ม

Hausbeck et al. (2004) ได้รายงานการประเมินความต้านทานโรคสแคบในต้นคริสต์มาสจำนวน 54 พันธุ์ โดยการแยกโคนิเดียเดี่ยวของเชื้อ *S. poinsettiae* ด้วยการ streak บนอาหาร PDA และใส่ streptomycin sulfate ความเข้มข้น 100 ppm จากนั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ในที่มืด เติริมสารแขวนลอยของเชื้อ ความเข้มข้น 3×10^6 โคนิเดีย/ออนซ์ จากนั้นปลูกเชื้อด้วยการฉีดพ่นลงบนใบ คลุมด้วยถุงพลาสติก วางไว้ในโรงเรือนเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงดึงพลาสติกออกสังเกตการเกิดโรค พบว่าต้นคริสต์มาสแสดงการเกิดโรค 6 วันหลังปลูกเชื้อ

Schilder (2004) ได้รายงานการศึกษาอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum acutatum* และ *E. ampelina* ในองุ่น เลี้ยงเชื้อทั้งสองบนอาหาร V₈ และใช้ความเข้มข้นของแต่ละเชื้อ 1×10^6 โคนิเดีย/มล. พ่นลงบนใบและยอดอ่อน รวมทั้งผลสุกขององุ่นพันธุ์ Mars, Niagara และ Vignoles คลุมต้นองุ่นด้วยถุงพลาสติกเพื่อควบคุมความชื้นนาน 48 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ *E. ampelina* ก่อให้เกิดอาการตายของเนื้อเยื่อหรือกลุ่มของเซลล์บริเวณใบและยอดอ่อน แต่ไม่แสดงอาการที่ผลแก่ ส่วนเชื้อ *C. acutatum* ไม่ก่อให้เกิดอาการบนใบและยอดอ่อนแต่แสดงอาการที่ผลแก่โดยพบโคนิเดียสีส้มบนผิวของผลที่เน่า

Kudela and Krejzar (2006) รายงานการระบาดของโรคสแคบในสโนว์เบอร์รี่ (snow berry) ที่สาธารณรัฐเชค ซึ่งเกิดจากเชื้อ *S. symphoricarpi* ว่ามีความสัมพันธ์กับฝนและสภาพอากาศ ทดสอบระดับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ จำนวน 4 ไอโซเลต ความเข้มข้น 2×10^5 โคนิเดีย/มล. พ่นยอดปกติที่ได้มาทดสอบ เก็บไว้ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 100% นาน 3 วัน ประเมินโรคที่ 7, 14 และ 21 วันหลังปลูกเชื้อ พบว่าโรคจะแสดงอาการภายใน 5 วันหลังปลูกเชื้อ และสามารถพัฒนาได้รวดเร็ว นอกจากนี้ยังศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ พบว่าโคโลนีของเชื้อทุกไอโซเลตเจริญเติบโตช้า โคลอนิที่เกิดขึ้นใหม่จะสร้างเมือกบนอาหาร การเจริญเติบโตของโคโลนีไม่สม่ำเสมอ สีโคโลนีที่ขี้เหล็ก จะเป็นสีน้ำตาลอ่อนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลค่อนข้างแดงเมื่อมีอายุ 4 สัปดาห์

ตารางที่ 1 การศึกษาเชื้อ *Sphaceloma* spp. ในพืชชนิดต่าง ๆ

พืช	เชื้อ	อ้างอิง
กุหลาบ	<i>S. rosarum</i>	อังสนา อัครพิศาล และคณะ, ม.ม.ป.
คริสต์มาส	<i>S. poinsettiae</i>	Wehlburg, 1968; Engelhard, 1983
ถั่ว (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	<i>E. phaseoli</i> Jenkins	Phillips, 1994
ถั่วเหลือง	<i>S. glycines</i>	Tasugi and Mogi, 1958
ฝรั่ง	<i>S. psidii</i>	กรรณิการ์ เพี้ยนภักตร์ และคณะ, 2544
มะนาว	<i>S. fawcetti</i>	Kucharek and Whiteside, 2000
มะม่วง	<i>S. mangiferae</i> Bit. & Jenkins	กรรณิการ์ เพี้ยนภักตร์ และคณะ, 2541
มันสำปะหลัง	<i>S. manihoticola</i>	Zeigler and Lozano, 1983; Rademacher, 1992; Alvarez and Molina, 2000
ส้มหวาน	<i>E. australis</i> Bitancourt & Jenkins	Miller et al., 1981
หลิ้ว	<i>S. murrayae</i> Jenk. & Grods.	Spiers, 1992; Butin and Kehr, 2004
อะโวคาโด	<i>S. perseae</i> Jenkins	Burnett, 1974; Everett et al., 2007
องุ่น	<i>S. ampeilnum</i>	ขนิษฐา มากรุ่ง, 2548; กานต์ คำทรัพย์, 2546; กรรณิการ์ เพี้ยนภักตร์ และคณะ, 2536; ณรงค์ สิงห์บุระอุดม, 2547; Shear, 1929; Cheema et al., 1978; Suhag and Kaushik, 1982
Common snowberry	<i>S. symphoricarpi</i>	Küdela and Krejzar, 2006
Raspberry	<i>S. necator</i> (Ell. & Ev.)	Labruyère, 1957; Munro, 1988

2.5 การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรคพืชด้วยเครื่องหมาย **Random amplified polymorphic DNA (RAPD)**

ในการปรับปรุงพันธุ์พืชต้านทานโรคให้ประสบความสำเร็จได้นั้น ขั้นตอนเริ่มต้นที่สำคัญ คือ การทำความเข้าใจเกี่ยวกับเชื้อที่ศึกษา ทั้งในด้านวงจรชีวิต ความหลากหลายทางพันธุกรรม การแพร่ระบาด ตลอดจนความสามารถในการก่อให้เกิดโรค ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่สำคัญคือ การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ เนื่องจากดีเอ็นเอเป็นเครื่องบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต สามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบลักษณะของดีเอ็นเอด้วยเทคนิคทางอณูวิทยา เนื่องจากเป็นที่รู้จักกันทั่วไปว่า ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) เครื่องหมายดีเอ็นเอสามารถแบ่งได้ 2 ประเภท คือ เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ต้องตรวจสอบโดยใช้เทคนิคไฮบริไดเซชัน (hybridization) เช่น restriction fragment length polymorphisms (RFLP) และเครื่องหมายดีเอ็นเอที่อาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ ได้แก่ เครื่องหมาย RAPD, amplified fragment length polymorphisms (AFLP) และ microsatellite (สุริพร เกตุงาม, 2546) ซึ่งเครื่องหมายที่นิยมใช้ส่วนใหญ่เป็นเครื่องหมายที่อาศัยหลักการของพีซีอาร์ เป็นเทคนิคที่ง่ายและรวดเร็ว อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องเลือกใช้เครื่องหมายให้เหมาะสมกับการทดลอง ซึ่งเครื่องหมายที่นิยมใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อคือ เครื่องหมาย RAPD เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่จำเพาะเจาะจงกับดีเอ็นเอบริเวณใด (arbitrary primer) และไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย จึงมีการประยุกต์ใช้ในการศึกษาพันธุกรรมทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ (ปรีชา ประเทพา, 2543; สุรินทร์ ปิยะโชคณาภ, 2545) ตัวอย่างงานวิจัย เช่น

ศิริลักษณ์ ลิละคร และคณะ (2547) รายงานความผันแปรทางพันธุกรรมของเชื้อ *Ustilago scitaminea* สาเหตุโรคเส้ดำของอ้อย โดยการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD-PCR ด้วยการสกัดเอาดีเอ็นเอของเชื้อ *U. scitaminea* จากจังหวัดชลบุรี จำนวน 10 ไอโซเลต พบว่าไพรเมอร์ A07, A09, G08 และ G10 สามารถตรวจความผันแปรของเชื้อได้ทั้ง 10 ไอโซเลต โดยสามารถแยกความแตกต่างกันได้ 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มใหญ่ประกอบด้วยไอโซเลตต่าง ๆ จำนวน 9 ไอโซเลต ได้แก่ CL1, CL2, CL4, CL5, CL6, CL7, CL8, CL9 และ CL10 และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยไอโซเลต CL3 เพียง 1 ไอโซเลต

ศิริสุข พูนผลกุล และคณะ (2551) ศึกษาการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อ *Phytophthora* spp. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD ในรายงานใช้เชื้อที่แยกได้จากน้ำในสวนส้มเขียวหวาน 1 ตัวอย่าง และเชื้อ *Phytophthora* spp. จากพืชที่เป็นโรค จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ วานิลลา หน้าวัว ละหุ่ง ต้นแพงพวย กล้ายไม้ ส้มเขียวหวาน ลองกอง ฝรั่งไทย มังคุด เผือก และทุเรียน จำนวน 24 ตัวอย่าง รวมเป็น 25 ตัวอย่าง แยกเชื้อบริสุทธิ์ และเพิ่มปริมาณบนอาหาร V8 blot และสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีของ Murray and Thompson (1980) จำแนกและจัดกลุ่ม

เชื้อด้วยเทคนิค RAPD พบว่าไพรเมอร์ UBC 155, UBC 811, UBC 818, UBC 825, UBC 827, UBC 862 และ UBC 873 สามารถจำแนกเชื้อ *Phytophthora* spp. ได้ดี โดยสามารถจัดกลุ่มเชื้อที่ได้จากหน้าวัว ละหุ่ง กล้วยไม้ ส้มเขียวหวาน และพริกไทยไว้ในกลุ่มเดียวกัน กลุ่มเชื้อที่ได้จากทุเรียนอยู่กลุ่มเดียวกัน กลุ่มเชื้อจากลองกองและวานิลลาอยู่กลุ่มเดียวกัน สำหรับเชื้อจากเฟือกและแพงพวยไม่สามารถจัดเข้ากลุ่มได้ ส่วนเชื้อจากน้ำในสวนส้มเขียวหวานมีความใกล้ชิดกับเชื้อที่แยกจากต้นส้มเขียวหวานมาก

Alvarez et al. (2003) ได้ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ *Sphaceloma* ซึ่งแยกได้จากใบ ลำต้น และก้านใบของมันสำปะหลัง และ milkweed จำนวน 19 ไอโซเลต โดยใช้เครื่องหมาย RAPD พบว่าที่ความเหมือนกันทางพันธุกรรมระดับ 0.6 สามารถแบ่งเชื้อทั้งหมดเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้แก่ ไอโซเลต 1 และ 6 เป็นเชื้อที่แยกได้จาก milkweed ซึ่งเป็นวัชพืชในแปลงปลูกมันสำปะหลังที่เกิดจากเชื้อ *S. krugii* และอีก 4 กลุ่ม เป็นเชื้อ *S. manihoticola* ที่แยกได้จากมันสำปะหลังในหลายพื้นที่บริเวณบราซิลตอนใต้-กลาง

Hyun et al. (2001) ได้ศึกษาระดับความผันแปรทางพันธุกรรมระหว่างไอโซเลตและสปีชีส์ของเชื้อ *Elsinoe* ในพืชตระกูลส้ม โดยใช้เชื้อ *E. fawcettii* ที่มีพืชอาศัยแคบและกว้างจาก Florida และเกาะเจจู (Jeju Island) ในประเทศเกาหลี จำนวน 10 ไอโซเลต และ Australia จำนวน 3 ไอโซเลต ใช้เชื้อ *E. australis* จากอาร์เจนตินา จำนวน 6 ไอโซเลต และเชื้อที่แยกได้จาก Natsudaikai ในเกาะเจจู จำนวน 5 ไอโซเลต สกัดดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละไอโซเลตที่เลี้ยงบนอาหาร PDA และทดสอบโดยใช้ไพรเมอร์ RAPD จำนวน 42 ไพรเมอร์ พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 226 แถบ มีขนาด 250-3,000 bp และพบว่าไพรเมอร์ OPX-7 และ 13 มีความจำเพาะต่อเชื้อ *E. fawcettii*, *E. australis* และ Natsudaikai แต่ไม่พบไพรเมอร์ที่สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อที่มีพืชอาศัยแคบและกว้างออกจากกัน และพบว่าไอโซเลตจาก Natsudaikai มีความเหมือนกันทางพันธุกรรมกับเชื้อ *E. fawcettii* และ *E. australis* ที่ระดับ 0.42 และ 0.57 ตามลำดับ

Alvarez and Molina (2000) ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. manihoticola* จำนวน 27 ไอโซเลต ที่เก็บจากใบ ก้านใบ และลำต้นของมันสำปะหลังที่ติดเชื้อจาก 6 สถานที่ของโคลัมเบีย โดยใช้เครื่องหมาย RAPD ในทดสอบ จำนวน 25 ไพรเมอร์ พบว่าไพรเมอร์ OPN-18, OPA-03 และ OPH-13 ให้แถบดีเอ็นเอจำนวนมาก จากการวิเคราะห์ความเหมือนกันทางพันธุกรรม พบว่าสามารถแบ่งเชื้อออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นไอโซเลตที่มาจากเมือง Meta เชื้อแต่ละไอโซเลตภายในกลุ่มนี้มีที่มาจากต่างสถานที่ คือ Carimagua, Puerto López, Granada และ Villavacencio กลุ่มที่ 2 เป็นไอโซเลตที่มีลักษณะแตกต่างกัน (heterogeneous) ซึ่งประกอบด้วยไอโซเลตจากหลายสถานที่ ส่วนไอโซเลต 0102 จาก Villavacencio และ 0090 จาก Santander de Quilichao (Cauca) ไม่สามารถจัดเข้ากลุ่มทั้งสองได้

Chen et al. (1995) รายงานการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Xylella fastidiosa* สาเหตุโรค Pierce's จำนวน 7 สายพันธุ์ สาเหตุโรค oak leaf scorch จำนวน 7 สายพันธุ์ สาเหตุโรค plum leaf scald จำนวน 2 สายพันธุ์ และสาเหตุโรค periwinkle wilt จำนวน 1 สายพันธุ์ ทดสอบโดยใช้เครื่องหมาย RAPD จำนวน 14 โพรเมอร์ พบว่าเชื้อ *X. fastidiosa* ที่ทำให้เกิดโรคแตกต่างกันมีลักษณะทางพันธุกรรมที่ต่างกัน เมื่อวิเคราะห์ความเหมือนกันทางพันธุกรรม สามารถจัดกลุ่มเชื้อได้ 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค oak leaf scorch กลุ่มที่ 2 เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค Pierce's ซึ่งทั้งสองกลุ่มมีความเหมือนกันทางพันธุกรรมภายในกลุ่ม 0.96 และ 0.93 ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ 3 เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค plum leaf scald และ periwinkle wilt มีความเหมือนกันทางพันธุกรรมกับสองกลุ่มแรกในระดับ 0.44

2.6 การปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบ

ในการปรับปรุงพันธุ์พืช อาจแบ่งเป็น 2 วิธีหลักคือ การปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิม และการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้ความรู้ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิมสามารถทำได้โดยการคัดเลือกในแปลงหรือการผสมพันธุ์เพื่อพัฒนาพันธุ์ต้านทาน (Chaube and Singh, 1991) โดยใช้พันธุ์ต้านทานโรคจากแหล่งอื่น ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย แต่ต้องใช้เวลานาน ส่วนการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้ความรู้ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ตัวอย่างเช่น การถ่ายยีนต้านทานโรคเข้าไปในพืชด้วยวิธีพันธุวิศวกรรม และการคัดเลือกพืชต้านทานโรคโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชร่วมกับสารพิษของเชื้อรา ซึ่งได้ประสบความสำเร็จในการคัดเลือกพันธุ์กล้วย คาร์เนชั่น องุ่น สตรอเบอรี่ และข้าวสาลี (Sv Ábová and Lebeda, 2005) เป็นวิธีที่รวดเร็ว แต่ยาก ต้องใช้ค่าใช้จ่ายสูง และต้องอาศัยความรู้ความชำนาญในการทดลอง ซึ่งงานวิจัยในลักษณะนี้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์ เช่น Yamamoto et al. (2000) รายงานว่าการปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้มีความต้านทานโรคโดยวิธีดั้งเดิมต้องใช้เวลานานหลายปีและยุ่งยาก ดังนั้น จึงทำการถ่ายยีน chitinase จากข้าว (*RCC2*) เข้าไปในองุ่นเพื่อส่งเสริมให้องุ่นต้านทานโรคราแป้งและโรคสแคบ โดยใช้ *Agrobacterium* เพื่อช่วยในการถ่ายยีน พบว่าองุ่นแสดงความต้านทานโรคราแป้งในระดับสูงและต้านทานโรคสแคบเล็กน้อย ส่วน Jayasankar et al. (2000) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเซลล์ embryo ร่วมกับสารพิษของเชื้อ *E. ampelina* และคัดเลือกต้นที่รอดชีวิตมาปลูก พบว่าสารพิษของเชื้อ *E. ampelina* กระตุ้นเอนไซม์ โคตินเนสให้เพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อได้พันธุ์ที่ต้านทานโรคแล้ว ยังมีความจำเป็นต้องปลูกคัดเลือกในสภาพธรรมชาติเพื่อยืนยันผลการทดลอง

การศึกษาแหล่งของยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่นเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับโครงการปรับปรุงพันธุ์ ตัวอย่างเช่น Fennell (1948) รายงานว่าองุ่นในป่าเขตร้อนของอเมริกาส่วนใหญ่แสดงความต้านทานต่อโรคสแคบดีปานกลาง แต่เมื่อนามาผสมข้ามกับองุ่นพวก *V. vinifera* ซึ่งเป็นพันธุ์

อ่อนแอ ทำให้ลูกผสม F_1 แสดงความอ่อนแอต่อโรคสแคบ การปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบอาจใช้องุ่นพันธุ์ Bharat-early และ Hussaini ในประเทศอินเดีย เนื่องจากแสดงความต้านทานโรคสแคบได้ดี (Goyal et al., 1971) Simone (1999) รายงานว่าองุ่นพันธุ์ Conquistador และ Liberty เป็นพันธุ์ต้านทานโรคสแคบ ขณะที่พันธุ์ Daytona, Norris, Orlando Seedless, Stover และ Suwannee เป็นพันธุ์อ่อนแอ ส่วนองุ่นมัสคาติน เช่น พันธุ์ Dixie เป็นพันธุ์ที่เกือบปลอดจากโรคสแคบ (almost immune) นอกจากนี้ Ray (2002) รายงานว่าองุ่นพันธุ์ Muscat Hamburg ทนทานต่อโรคสแคบได้ดี ส่วนองุ่นพันธุ์/สายพันธุ์ Onitskansii Muscat, Suruchenskii, V44-45, V52-8, Bongalore Blue และ Gross Colman ต้านทานต่อโรคสแคบ และ Kim et al. (2007) รายงานว่าการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคสแคบในองุ่นถูกควบคุมด้วยยีนซ่ม 1 ยีน (single dominant gene) ในรุ่น F_1 , S_1 และ BC_1 และพบว่าองุ่น *V. vinifera* มีความอ่อนแอมาก ส่วนองุ่น *V. labrusca* และลูกผสมของ *V. labrusca* ต้านทานหรือต้านทานปานกลางต่อเชื้อ *E. ampelina* ซึ่งองุ่น *V. labrusca* เป็นแหล่งความต้านทานโรคสแคบที่สำคัญ รองลงมาคือ *V. riparia* และ/หรือ *V. rupestris* ในทำนองเดียวกัน Wang et al. (2000c) รายงานว่าองุ่นยุโรป (*V. vinifera*) มีความอ่อนแอต่อโรค องุ่นอเมริกาและลูกผสมมีความต้านทานโรคสูง แต่คุณภาพของผลต่ำ ส่วนองุ่นป่าในประเทศจีนมีความต้านทานโรคสูงตัวอย่างเช่น Wang et al. (2000a) ได้ศึกษาความต้านทานโรคสแคบที่เกิดจากเชื้อ *S. ampelinum* ขององุ่นยุโรป (*V. vinifera*) จำนวน 22 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Guibao, Fenghuang-51, Muscat Hamburg, Zana, Longyan, Tiarmner, Ugni Blanc, Cabernet Sauvignon, Sauvignon, Merlot, Pinot chardonnay, Chenin Blanc, Syrah, Riesling, Cinsaut, Carignane, Sernilloa, Honny Red, Pinot nior, Cabernet Franc, Grenache และ MyckaT poeoBbI และองุ่นลูกผสมยุโรปกับอเมริกาอีก 15 ลูกผสม ในสภาพไร่ พบว่าองุ่นพวก *V. vinifera* ทั้ง 22 พันธุ์ อ่อนแอต่อโรคสแคบ แต่องุ่นลูกผสมยุโรปกับอเมริกาทุกพันธุ์ต้านทานโรคสแคบได้ดี ซึ่งประกอบด้วย พันธุ์ Fujiiminori, Jungchao, Ryoho, Takasumi, Pioneer, Zizhenxiang, Kyoho, Benuzu, Beniizu, Wane takasunu, 8801, 8805, Ikawa 1014, Ikawa 1075 และ Meuguiyi นอกจากนี้ Wang et al. (2001) ยังพบองุ่นพันธุ์ต้านทานโรคสแคบอีกหลายพันธุ์ คือ พันธุ์ Riesling, Ugni blanche, Chenin blanc และ Aigeli

เมื่อพิจารณาพันธุ์องุ่นที่ต้านทานโรคสแคบส่วนใหญ่เป็นองุ่นมีเมล็ด ขณะที่องุ่นไร้เมล็ด ได้แก่ องุ่นพันธุ์ Beauty seedless, Delight, Perlette และ Thompson seedless อ่อนแอต่อโรคสแคบ (Suhag et al., 1982) อย่างไรก็ตาม Moore et al. (1989) พบว่าองุ่นไร้เมล็ดพันธุ์ Saturn ซึ่งได้รับการปรับปรุงพันธุ์ขึ้นที่สถานีทดลองทางการเกษตรใน Arkansas มีการเจริญเติบโตปานกลาง และแสดงความต้านทานต่อโรคเน่าดำ (*Guignardia bidwellii* (Ell.) V. & R.) โรคสแคบ (*E. ampelina* shear) และโรคราแป้ง (*Uncinula necator* Bur) ในระดับปานกลาง แต่อ่อนแอต่อโรคราน้ำค้าง (*Plasmopara viticola* Berl.&Toni.) นอกจากนี้ Domoto and Nonnecke (2004) ยังพบว่าองุ่นพันธุ์ Reliance ซึ่งเป็น

องุ่นลูกผสมไร้เมล็ด (*V. 'Ontario' × V. 'Suffolk Red'*) ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์จากมหาวิทยาลัย Arkansas ในปี 1965 ด้านทานโรคสแคบที่ที่สุด

2.6.1 การศึกษาสมรรถนะการรวมตัวทั่วไปและสมรรถนะการรวมตัวจำเพาะ

การศึกษาการแสดงผลของยีนมีความสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์พืช ในปี ค.ศ. 1942 Spare and Tatum ได้พัฒนาวิธีการผสมพันธุ์แบบพบกันหมด (diallel cross) ในข้าวโพดขึ้น เพื่อใช้ประเมินสมรรถนะการรวมตัวทั่วไป (gca) และสมรรถนะการรวมตัวจำเพาะ (sca) พบว่า gca เป็นค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์ในลูกผสม และค่า sca เป็นค่าความเบี่ยงเบนของลูกผสมที่ได้จากสมรรถนะของสายพันธุ์ต่อมา Hayman (1954) และ Griffing (1956) ได้พัฒนาวิธีการทดสอบการแสดงผลของยีน โดยที่ Griffing (1956) ใช้วิธีการวิเคราะห์การแสดงผลของยีน จำนวน 4 วิธี ในปี ค.ศ. 1958 Hayman ได้พัฒนาวิธีเพื่อแยกผลของยีนแบบบวก แบบข่ม และข่มข้ามคู่ออกจากกัน ซึ่ง Gamble (1962) ได้นำมาใช้ในการผลิตข้าวโพด ในการวิเคราะห์เหล่านี้ วาเรียนซ์ของ gca อาจเป็นผลเนื่องจากยีนแบบบวก หรือปฏิกิริยาแบบบวก ส่วนวาเรียนซ์ของ sca อาจเป็นผลแบบข่มหรือข่มข้ามคู่ นอกจากนี้ ค่าวาเรียนซ์ของ gca และ sca อาจเกิดจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม การกระจายตัวของยีน และผลทางพันธุกรรมที่ได้จากแม่ (Pswarayi, 1993; Dieters et al., 1995; King and Johnson, 1998) นอกจากนี้สามารถใช้แผนการผสมพันธุ์แบบ North Carolina Design I, II และ III ซึ่งพัฒนาขึ้นโดย Comstock และ Robinson (1952) ในการประเมินการแสดงผลของยีนเพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์พืช Shattuck et al. (1993) กล่าวว่าผลของ gca และ sca เป็นข้อมูลที่สำคัญในการเลือกพันธุ์พ่อแม่ที่ดีที่สุดในการปรับปรุงพันธุ์พืช ส่วนการประเมินอัตราพันธุกรรมอย่างแคบ จะบ่งชี้ความแปรปรวนอันเนื่องมาจากอิทธิพลของยีนแบบบวกเทียบกับความแปรปรวนของยีนในรูปแบบอื่น ๆ ที่อาจเกิดขึ้น คือ ความแปรปรวนของยีนแบบข่ม แบบมีปฏิกิริยาร่วมระหว่างยีนแบบบวกและแบบข่ม หรือแบบข่มข้ามคู่ยีน และความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อม โดยอัตราพันธุกรรมอย่างแคบที่มีค่าสูง บ่งชี้โอกาสหรือความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ โดยเฉพาะในพืชผสมตัวเอง และช่วยเป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์พืชอย่างมีประสิทธิภาพ

2.6.2 การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรค

การประเมินระดับความต้านทานโรค อาจทำได้ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ โรงเรือน และสภาพไร่ ซึ่งในแต่ละระดับมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน ในระดับห้องปฏิบัติการจะให้ผลรวดเร็ว สามารถควบคุมสภาพแวดล้อม และใช้ต้นทุนต่ำ แต่ผลการทดลองอาจไม่สอดคล้องกับสภาพไร่ การประเมินในระดับโรงเรือนจะง่ายกว่าในสภาพไร่ แต่ยากกว่าในระดับห้องปฏิบัติการ เนื่องจากใช้สถานที่ในการทำทดลองขนาดใหญ่ขึ้น จึงต้องเพิ่มความระมัดระวังในการควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อการทดลอง ซึ่งผลการทดลองอาจสอดคล้องหรือไม่สอดคล้องกับในสภาพไร่ ใช้ระยะเวลาสั้น ตัวอย่างเช่น ในกรณีที่มีจีโนไทป์ข้าวสาลีจำนวนมาก การประเมินโรคในสภาพโรงเรือนสามารถย่น

ระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวสาลีได้เร็วขึ้น (Evans et al., 1999) ส่วนการประเมินระดับความต้านทานโรคในสภาพไร่ ผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จริง แต่ต้องใช้ต้นทุนสูง เนื่องจากใช้พื้นที่ทำการทดลองขนาดใหญ่ ควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อการทดลองได้ยาก จึงต้องทำการทดลองหลายปี หลายสถานที่ เพื่อลดความคลาดเคลื่อนในการทดลอง ดังนั้น แม้ว่าการประเมินเพื่อคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคในสภาพห้องปฏิบัติการหรือสภาพโรงเรือนเพียงอย่างเดียวอาจให้ผลที่คลาดเคลื่อน แต่ช่วยลดระยะเวลาและต้นทุน เนื่องจากสามารถคัดเลือกกลุ่มผสมจำนวนมากได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในไม้ยืนต้น ซึ่งการปลูกทดสอบในสภาพไร่ต้องใช้ต้นทุนสูง

เมื่อพิจารณาในระดับห้องปฏิบัติการและโรงเรือน ซึ่งสามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้ จะพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการคัดเลือกพันธุ์พืชต้านทานโรค คือส่วนของพืชที่นำมาทดสอบ เช่น การใช้ใบอ่อนบริเวณปลายยอด (young detached leaflets) และสารพิษ (toxic metabolites) จากอาหารเหลว ช่วยทำให้การประเมินความต้านทานโรค early blight ในมันฝรั่งมีความถูกต้อง (Lynch, et al., 1991) ส่วน St. Amand and Wehner (1995) ใช้ส่วนของใบในการทดสอบความต้านทานโรค gummy stem blight ของแตงกวาในห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบกับในสภาพโรงเรือน และสภาพไร่ พบว่าในสภาพห้องปฏิบัติการไม่มีความสัมพันธ์กับสภาพไร่ แต่ในสภาพโรงเรือนมีความสัมพันธ์กับในสภาพไร่นอกจากนี้ ความต้านทานโรอยังขึ้นอยู่กับพันธุ์พืช ตัวอย่างเช่น Bouhassan et al. (2004) ได้ทดสอบความต้านทานโรคจุดช็อคโกแลต ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Botrytis fabae* ในถั่ว faba (*Vicia faba* L.) จำนวน 136 สายพันธุ์ โดยใช้ถั่วพันธุ์ BPL710 และพันธุ์ Aguadulce ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอตามลำดับ เป็นพันธุ์ควบคุมในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ วิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยการหาพื้นที่ใต้กราฟการเกิดโรค (AUPDC) คะแนนการเกิดโรค และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล พบว่าถั่วสายพันธุ์ต่าง ๆ มีระดับความต้านทานโรคจุดช็อคโกแลตต่างกัน แต่ถั่วแต่ละสายพันธุ์ต้านทานโรคได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ ($r = 0.26$) นอกจากนี้ Pei et al. (2004) ประเมินความต้านทานโรคราสนิมของต้นหลิว จำนวน 174 โคลน จากต้นหลิวทั้งหมด 54 สปีชีส์ ในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ หาความสัมพันธ์โดยวิธีของ Spearman พบว่าต้นหลิวแต่ละโคลนแสดงความต้านทานโรคราสนิมในระดับห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ไปในทิศทางเดียวกัน ($r = 0.76$) แสดงว่าการประเมินในระดับห้องปฏิบัติการสามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่นเดียวกับ Vuong et al. (2004) พบว่าความต้านทานเชื้อ *Sclerotinia sclerotiorum* ของถั่วเหลือง ทั้ง 15 พันธุ์ในโรงเรือนและสภาพไร่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน และขึ้นอยู่กับอายุของพืช การปลูกพืชที่เหมาะสม ความถี่ของการปลูกเชื้อ และปริมาณความเข้มข้นของสปอร์ที่ใช้ (Stewart et al., 1983)

Tabi et al. (2007) ศึกษาความต้านทานของฝักโกโก้ต่อเชื้อ *Phytophthora palmivora* ความเข้มข้น 5×10^5 สปอร์/มล. ปริมาตร 30 ไมโครลิตร โดยใช้ฝักของโกโก้ สีเขียวอายุ 4 เดือน จำนวน

9 โคลน ปลุกเชื้อในห้องปฏิบัติการและสภาพไร่โดยการทำแผลก่อนปลุกเชื้อ วัดขนาดแผลที่ใหญ่และเล็กที่สุด ที่ระยะเวลา 5 วันหลังปลุกเชื้อ หาความสัมพันธ์ของระดับความต้านทานโรคในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่โดยวิธีของ Spearman พบว่าทั้งสองวิธีให้ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยให้ค่าสหสัมพันธ์ ($r = 0.77$) และการเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อ *Sphaceloma* spp. จากพืชอาศัยที่แตกต่างกันในสภาพโรงเรือนและสภาพไร่ พบว่าในสภาพโรงเรือนก่อให้เกิดความรุนแรงมากกว่าสภาพไร่ (Adebitan, 1998) นอกจากนี้ ปัจจัยที่มีผลต่อการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาการประเมินการเกิดโรคที่เหมาะสม ตัวอย่าง ระยะเวลาการประเมินความต้านทานโรค alternaria leaf blight ในแครอทที่เหมาะสมคือ 20 วันหลังปลุกเชื้อ (Pawelec et al., 2006) ซึ่งสอดคล้องกับ Diamond and Cooke (1999) ที่รายงานว่าการแสดงออกของความต้านทานโรคขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและระยะเวลาของการปลุกเชื้อ รวมทั้งความรุนแรงของเชื้อในการบุกเข้าทำลาย นอกจากนี้ Nelson et al. (1991) พบว่าความเข้มข้นของแสงมีผลต่อการประเมินโรคต้นเน่าของถั่วเหลืองในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่แตกต่างกัน หากวิธีการประเมินในสภาพห้องปฏิบัติการหรือในสภาพโรงเรือนมีประสิทธิภาพสูง ให้ผลสอดคล้องกับในสภาพไร่ วิธีการดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์เบื้องต้น

ส่วนการประเมินระดับความต้านทานโรคในสภาพไร่ ความรุนแรงในการเกิดโรคขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และประชากรของเชื้อสาเหตุโรคพืช ดังนั้นการทดสอบความต้านทานโรคในสภาพไร่อาจได้ผลแตกต่างกันในแต่ละปี หรือแต่ละท้องที่ ตัวอย่างเช่น Chenault et al. (2005) ศึกษาถั่วลิสงดัดแปลงพันธุกรรม จำนวน 32 สายพันธุ์ ที่ได้รับการถ่ายยีน chitinase จากข้าว และ/หรือ glucanase จากอัลฟาฟา เพื่อประเมินความเสถียรของความต้านทานโรค Sclerotinia blight โดยประเมินความต้านทานโรคในสภาพไร่ และความสัมพันธ์ระหว่างปีที่ทดสอบ พบว่าระดับความต้านทานโรคในสภาพไร่ปี ค.ศ. 2000 และ 2001 มีค่า $r = 0.65$ ส่วนปี ค.ศ. 2001 และ 2002 มีค่า $r = 0.64$ และปี ค.ศ. 2000 และ 2002 มีค่า $r = 0.50$ แสดงว่าระยะเวลาที่พืชต้านทานมากกว่า 3 ปี โดยสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคมามากที่สุดคือ 188 รองลงมาคือ Southwest Runner และ 416 ตามลำดับ นอกจากนี้ Broadhurst et al. (1997) พบว่าพื้นที่ปลูกมีผลต่อความอ่อนแอของพืช ซึ่ง Yang et al. (1999) รายงานการศึกษากการตอบสนองของพันธุ์และการสูญเสียผลผลิตของถั่วเหลืองที่เกิดจากโรคลำต้นเน่าทางตอนเหนือและตอนกลางของเมือง Iowa พบว่าการเกิดโรค 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สูญเสียผลผลิต 170-335 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ดังนั้นการลดความคลาดเคลื่อนในการทดลอง จำเป็นต้องควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ให้คงที่ เช่น พื้นที่ปลูก ความชื้น และความสมบูรณ์ของพืช นอกจากนี้ Gao et al. (2005) รายงานว่าการใช้ต้นพืชที่ติดเชื้อในโรงเรือนเป็น inoculum ช่วยทำให้การประเมินโรคในประชากรที่มีการกระจายตัวมีประสิทธิภาพและถูกต้อง

2.6.3 การใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อช่วยในการปรับปรุงพันธุ์

การปรับปรุงพันธุ์พืชในศตวรรษที่ 21 นักปรับปรุงพันธุ์พืชจำเป็นต้องปรับเปลี่ยนวิธีการให้เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ สภาพแวดล้อม ระบบการปลูกพืช และผลการเปลี่ยนแปลงภายในพืช (Evans, 1997) เพื่อการตอบสนองต่อความต้องการของประชากรที่เพิ่มสูงขึ้น ลักษณะสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์พืชส่วนใหญ่ ได้แก่ การต้านทานโรค ทนต่อสภาพแวดล้อม และเพื่อให้ได้ต้นพืชที่ใช้อาหารและน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Mackill et al. 1999; Slafer et al. 2005; Trethowan et al. 2005) การปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิมต้องใช้เวลามากอย่างน้อย 5-10 ปี เพื่อคัดเลือกพืชที่มีลักษณะเฉพาะตามที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ และเพื่อให้ได้การรวมตัวของยีนใหม่ ๆ ในพันธุ์ที่ปรับปรุง ซึ่งพบว่าขนาดและองค์ประกอบของประชากรพืชมีบทบาทสำคัญในการคัดเลือกพันธุ์ เนื่องจากประชากรที่มีขนาดใหญ่จะมีการกระจายตัวของยีนสูง และมีโอกาสประสบความสำเร็จในการคัดเลือกพืชที่มีลักษณะทุกอย่างที่ต้องการสูง การปรับปรุงพันธุ์จึงจำเป็นต้องใช้ประชากรตั้งแต่ 100 ต้นขึ้นไป และอาจมากกว่า 1 ล้านต้นในพืชบางชนิด (Witcombe and Virk, 2001) ดังนั้นการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกจึงมีประโยชน์มาก ช่วยให้การปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิมมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น และได้พันธุ์ที่ต้องการในระยะเวลาอันสั้น จึงช่วยลดต้นทุนในการผลิต (Gao et al., 2005; Collard and Mackill, 2008) นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ การศึกษาความเค้นของลูกผสม (heterosis) และช่วยในการออกแบบวิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชที่เหมาะสม (Steele et al., 2004) ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลที่จะสามารถนำมาคัดเลือกลักษณะใด ๆ ได้นั้น ต้องมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับลักษณะนั้น ๆ (closely linked) ในปัจจุบันอาจค้นหาเครื่องหมายดังกล่าวได้ด้วยวิธีการ bulked segregant analysis (BSA) (อรรถรัตน์ มงคลพร, 2548) ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้ค้นหา ความแตกต่างระหว่างดีเอ็นเอ 2 กลุ่มที่ได้มาจากประชากรที่กระจายตัว โดยที่ประชากรนี้มาจากการผสมระหว่างพ่อแม่คู่เดียว (Mackay and Caligari, 2000; Tabor et al., 2000; Wu and Huang, 2006) Michelmore และคณะเป็นผู้พัฒนา BSA ขึ้นมาเมื่อปี ค.ศ. 1991 เพื่อค้นหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคน้ำค้างในผักกาดหอม (*Dm*) โดยใช้ประชากร F_2 ที่สร้างจากคู่ผสมเดี่ยวที่พ่อแม่พันธุ์มีลักษณะต้านทานและอ่อนแอต่อโรค ซึ่งการคัดเลือกต้น homozygous *DmDm* F_2 สำหรับดีเอ็นเอ bulk ต้องมีการทดสอบประชากร F_3 ก่อน กล่าวคือ ถ้าต้น F_2 ที่เป็นต้นกำเนิดของประชากร F_3 แสดงลักษณะต้านทานทั้งหมดจะคัดเลือกมาใช้สร้างดีเอ็นเอ bulk (Michelmore et al., 1991) การคัดเลือกพันธุ์พืชให้ได้ลักษณะตามต้องการ เช่น ต้านทานโรค ถ้ามีเครื่องหมายที่สัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรค ก็จะช่วยให้การคัดเลือกเป็นไปได้ อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะไม่จำเป็นต้องคำนึงถึงเชื้อ พืช และสภาพแวดล้อม เครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช ได้แก่ RAPD, RFLP, single strand conformation polymorphism (SSCP), sequenced characterized amplified region (SCAR) ฯลฯ ตัวอย่างงานวิจัยเช่น การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโดยใช้เครื่องหมาย RAPD ที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานต่อโรคสแคบ (*Vf*) ในแอปเปิ้ล

(Gianfranceschi et al., 1996; Tartarini, 1996) การใช้เครื่องหมาย SCARs ที่สัมพันธ์กับยีน *Vf* ซึ่งต้านทานโรคสแคบในแอปเปิ้ล ช่วยคัดเลือกพันธุ์ (Huaracha et al., 2004) การใช้เครื่องหมาย RFLP ที่สัมพันธ์กับตำแหน่งยีนต้านทานโรคราแป้งในองุ่นไวน์เพื่อพัฒนาเครื่องหมายที่เหมาะสมในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทาน (Donald et al., 2002; Di Gaspero and Cipriani, 2002) นอกจากนี้ยังสามารถนำเครื่องหมายโมเลกุลมาใช้ในการสร้างแผนที่ยีน ตัวอย่างเช่น Doucleff et al. (2004) สร้างแผนที่ยีนขององุ่นโดยใช้เครื่องหมาย RAPD, SSR, ISSR และ AFLP ซึ่งเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานไส้เดือนฝอย *Xiphinema index* และ *Xylella fastidiosa* Fischer et al. (2004) สร้างแผนที่ยีนองุ่นเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานต่อเชื้อ *P. viticola* และ *U. necator* สาเหตุโรคราน้ำค้างและราแป้ง ตามลำดับ องุ่นเป็นไม้ผลประเภทเฮเทอโรไซกัส (Heterozygous fruit tree) การปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคโดยวิธีผสมพันธุ์แบบดั้งเดิมต้องใช้เวลาอย่างน้อย 4-5 ปี เครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานจึงมีประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคที่ต้องการได้อย่างรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้น (Wang et al., 2000c)

2.6.3.1 เครื่องหมาย RAPD

RAPD เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดหนึ่งที่ใช้หลักการพีซีอาร์เพื่อการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เป็นวิธีการที่ William และคณะ ได้พัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 1990 โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีขนาดสั้น 10 นิวคลีโอไทด์เพียงชนิดเดียวในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2545) เป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก สามารถทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว มีค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานค่อนข้างต่ำ เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่เจาะจงกับลำดับเบสของดีเอ็นเอบริเวณใดบริเวณหนึ่งบนโครโมโซมพืชที่ต้องการตรวจสอบ อย่างไรก็ตาม เครื่องหมายชนิดนี้เป็นเครื่องหมายแบบข่ม (dominant marker) ไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างพวกที่เป็นพันธุ์แท้และพันธุ์ทาง เพราะแถบดีเอ็นเอที่ต่างกันมักเกิดในลักษณะมีหรือไม่มีแถบดีเอ็นเอ

ในปัจจุบันได้มีการนำเครื่องหมาย RAPD มาใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์พืชกันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม ความต้านทานโรค และการสร้างแผนที่ยีน เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นประโยชน์มากในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานโรค ตัวอย่างเช่น ในประเทศจีนมีนักวิจัยหลายกลุ่มใช้เครื่องหมายชนิดนี้ช่วยในการคัดเลือกพันธุ์องุ่นที่ต้านทานโรคสแคบ โดยในปี ค.ศ. 2000 Wang และคณะ พบเครื่องหมาย OPJ13-300 และ OPV02-600 มีความสัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่นลูกผสม F_1 ที่เกิดจากองุ่นป่าในประเทศจีนกับองุ่นยุโรป (*V. quinquangularis* Rehd (Shang-24) $\times$ *V. vinifera* (Longyan)) (Wang et al., 2000b, c) ต่อมาในปี ค.ศ. 2001 กลุ่มงานวิจัยของ Zhang ค้นพบว่าเครื่องหมาย OPS03-1300 มีความสัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคสแคบเช่นเดียวกับกลุ่มงานวิจัยของ Wang ในองุ่นลูกผสม F_1 ระหว่างองุ่นพันธุ์ Baihe35-1 ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทาน กับองุ่นพันธุ์ Carignane ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอ (Zhang et al., 2001)

ส่วนกลุ่มงานวิจัยของ Luo ได้พบว่าเครื่องหมาย OPO06-1500 มีความสัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคน้ำค้างในองุ่น จึงได้ออกแบบเครื่องหมาย SCAR (SCO06-1500) เพื่อประเมินความต้านทานโรคน้ำค้างในองุ่น (Luo et al., 2001) และปี ค.ศ. 2002 กลุ่มงานวิจัยของ Luo ได้นำเครื่องหมาย RAPD มาใช้ในการศึกษาการสืบทอดทางพันธุกรรมของยีน (inheritance) ในองุ่นลูกผสมระหว่างองุ่น *V. quinquangularis* (83-4-96) และองุ่น *V. vinifera* (Muscat Rose) พบว่าการกระจายตัวของยีน 3 แบบ คือ (1) การกระจายตัวของยีนเป็นอัตราส่วนปกติตามกฎของเมนเดล 1:1, 3:1 หรือ 1:0 (2) เบี่ยงเบนจากอัตราส่วนปกติ และ (3) การกระจายตัวของยีนต่ำผิดปกติ (Luo et al., 2002) หลังจากนั้น ในปี ค.ศ. 2005 กลุ่มงานวิจัยของ Guo รายงานการใช้เครื่องหมาย RAPD ที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคสแคบ และโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Glomerella cingulata* ช่วยในการตรวจสอบความต้านทานโรคดังกล่าวในองุ่นลูกผสม F_1 จำนวน 55 ลูกผสม ที่ได้จากวิธีการช่วยเหลือต้นอ่อน (embryo rescue) แล้วทดสอบด้วยไพรเมอร์ GSP1 ซึ่งจำเพาะต่อยีนไรเมล็ด จากทั้งหมด 16 คู่ผสม ระหว่างพันธุ์องุ่นยุโรปไรเมล็ดกับพันธุ์พันธุ์ Shuanyou, Beichum และองุ่นยุโรป จำนวน 8 พันธุ์ ซึ่งได้องุ่นลูกผสมที่มียีนต้านทานโรคผลเน่า จำนวน 16 ต้น ยีนต้านทานโรคสแคบ จำนวน 9 ต้น ยีนไรเมล็ด จำนวน 22 ต้น และได้ต้นที่มียีนไรเมล็ดและต้านทานโรคทั้งสองโรค จำนวน 4 ต้น (Guo et al., 2005) ดังนั้น เครื่องหมาย RAPD จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์พืชต้านทานโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.6.3.2 เครื่องหมาย SSCP

SSCP เป็นเครื่องหมายที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการตรวจสอบการกลายพันธุ์ (Cai and Touitou, 1993; Markoff et al., 1997) ถูกนำมาใช้ครั้งแรกในการตรวจหาการกลายพันธุ์ในจีโนมมนุษย์ ความสำเร็จในการตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย SSCP ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เพราะการขดตัว (conformation) ของดีเอ็นเอสายเดี่ยวจะขึ้นอยู่กับชนิดของเจล ความยาวของท่อนดีเอ็นเอ และอุณหภูมิ (Orita et al., 1989) หลักการคือ เมื่อดีเอ็นเอสายคู่ถูกทำให้แยกเป็นสายเดี่ยวด้วยความร้อน ดีเอ็นเอสายเดี่ยวเหล่านี้จะกลับมาจับกันระหว่างเบสคู่สมเมื่ออุณหภูมิลดลง การจับกันของสายดีเอ็นเอสายเดี่ยวจะทำให้เกิดการขดตัวเฉพาะแบบใดแบบหนึ่งสำหรับสายดีเอ็นเอนั้น ๆ ขึ้นอยู่กับลำดับเบสของดีเอ็นเอเอง ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสแม้เพียง 1 ตำแหน่ง ก็จะทำให้เกิดการขดตัวต่างไปจากเดิม (Weising et al., 2005) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเพียง 1 ตำแหน่งอาจส่งผลต่อการแสดงออกของยีน ตลอดจนปริมาณและการทำงานของโปรตีนได้ (กนกวรรณ จารุกัจฉ และวรัญญา จตุพรประเสริฐ, 2550) ความไวของการตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย SSCP ขึ้นอยู่กับความยาวของสายดีเอ็นเอ ซึ่งไม่ควรเกิน 200 นิวคลีโอไทด์ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2545) ประโยชน์ของ SSCP คือ เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพราะทำได้ง่าย รวดเร็ว และเสียค่าใช้จ่ายน้อย (Fujita and Silver, 1994; Sunnucks et al., 2000) เครื่องหมายชนิดนี้มีบทบาทในการใช้ศึกษาสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น

ชนิดของแบคทีเรีย (Widjoatmodjo et al., 1994) ไวรัสสาเหตุโรคพืช (Gago-Zachert et al., 1999) เชื้อราสาเหตุโรคพืช (Kong et al., 2005) และปลาแซลมอล (Wain et al., 1998; Jordon et al. 1999; Nair et al., 2002) การศึกษาโครงสร้างการเคลื่อนที่ของอาร์เอ็นเอ/ดีเอ็นเอ (Biyani and Nishigaki, 2005) การศึกษาการกลายพันธุ์ของยีนในโค (Ukoskit, 2001) การศึกษาความหลากหลายของยีน *STAT5A* (Flisikowski and Zwierzchowski, 2002) และยีนควบคุมการสร้าง heat shock protein ในโค (Pastsart et al., 2006) ในพืชถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาการกลายพันธุ์และความหลากหลายทางพันธุกรรม (Martins-Lopes et al., 2001; Xie et al., 2002; Lekawipat et al., 2003; Goszczynski, 2007) รวมทั้งความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายนี้กับการเกิดโรคต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในลำดับเบสแม้เพียง 1 ตำแหน่ง ก็สามารถส่งผลกระทบต่อการแสดงออกของยีน ตลอดจนปริมาณและการทำงานของโปรตีนได้ ดังนั้นการใช้เครื่องหมาย SSCP คัดเลือกพันธุ์พืชต้านทานโรคจึงเป็นประโยชน์อย่างมาก เช่น ในปี ค.ศ. 2002 และ 2003 Di Gaspero และ Cipriani ได้โคลน RGAs จากองุ่น 2 สปีชีส์ คือ *V. amurensis* และ *V. riparia* เพื่อศึกษาการแสดงออกของยีนต้านทานโรคราน้ำค้างและโรคอื่น ๆ พบว่าลำดับเบสใน NBS มีความเหมือนกับยีนต้านทาน *RPS5* ใน *Arabidopsis* และยีน *N* ในยาสูบ จึงนำลำดับเบสที่มียีนต้านทานมาพัฒนาเป็นเครื่องหมาย SSCP สำหรับประเมินความต้านทานโรคในองุ่น *Vitis* spp. มากกว่า 20 สปีชีส์ พบว่ามีไพรเมอร์ที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคในจีโนมองุ่น จำนวน 45 ไพรเมอร์ และต่อมา Mahanil (2007) ได้โคลน RGAs ขององุ่นจาก *V. cinerea*, *V. rupestris* และ *V. hybrid* 'Horizon' เพื่อศึกษาลักษณะต้านทานโรคราน้ำค้าง ได้ลำดับเบสที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคหลายโคลน จากนั้นนำมาพัฒนาเป็นเครื่องหมาย SSCP จำนวน 8 เครื่องหมาย เพื่อทดสอบความต้านทานโรคราน้ำค้างในองุ่นลูกผสมที่เกิดจากองุ่น Horizon กับ Illinois 547-1 พบว่าเครื่องหมายดังกล่าวยังห่างจากยีนต้านทานโรคราน้ำค้างเกิน 5% ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาเครื่องหมาย SSCP เพื่อใช้ในการตรวจสอบ และนำไปใช้คัดเลือกองุ่นลูกผสมที่มียีนต้านทานโรคราน้ำค้าง โรคสแคบ และโรคอื่น ๆ ต่อไป

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้แบ่งเป็น 3 ส่วน คือ

1. การศึกษาความหลากหลายของเชื้อ *S. ampelinum*
2. การศึกษาความต้านทานและการแสดงออกของยีนต้านทานเชื้อ *S. ampelinum* ในองุ่น
3. การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่น

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. องุ่นพันธุ์ต้านทานโรคซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 6 สายพันธุ์ คือ Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และ NY65.0551.05 องุ่นรับประทานผลสดที่อ่อนแอต่อโรค จำนวน 3 พันธุ์ คือ Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia และที่ต้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ คือ Early Muscat และองุ่นลูกผสมที่เกิดจากพันธุ์พ่อที่ต้านทานโรคซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศ (Wilcox 321, NY88.0517.01, NY65.0550.04 และ NY65.0551.05) และพันธุ์แม่ซึ่งอ่อนแอหรือต้านทานปานกลางต่อโรค (Black Queen, Carolina Black Rose, Italia และ Early Muscat) จำนวน 133 ลูกผสม

2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
3. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
4. เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer)
5. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
7. เครื่องแยกขนาดดีเอ็นเอแนวนอน (horizontal gel electrophoresis apparatus)
8. เครื่องแยกขนาดดีเอ็นเอแนวตั้ง (vertical gel electrophoresis apparatus)
9. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (thermal cycler)
10. เครื่องส่องดูเจล (UV transilluminator) พร้อมชุดบันทึกภาพลงแผ่นดิสก์
11. เครื่องเขย่าสารละลาย (shaker)
12. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
13. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow hood)
14. สไลด์นับเม็ดเลือด (haemocytometer)
15. กล้องจุลทรรศน์ (light microscope)

16. กล้องสเตอริโอ (stereo-microscope)
17. อุปกรณ์การเกษตร
18. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

3.2 สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการกีฏวิทยาและโรคพืช ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3
2. ห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์พืช ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3
3. ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.3 ระยะเวลาการทดลอง

พฤษภาคม 2548 – ธันวาคม 2552

3.4 วิธีการทดลอง

ส่วนที่ 1 การศึกษาความหลากหลายของเชื้อ *S. ampelinum* ประกอบด้วย 3 การทดลอง คือ

3.4.1 การทดลองที่ 1 : การแยกเชื้อ *S. ampelinum* จากชิ้นส่วนองุ่นที่เป็นโรค

เก็บตัวอย่างองุ่นที่เป็นโรคสับจากแหล่งที่เกิดการระบาดใน 4 ภาคของประเทศ ไทย คือ ภาคตะวันตก จ.ราชบุรี ภาคตะวันออก จ.ชลบุรี ภาคเหนือ จ.เชียงราย และ จ.แพร่ และภาค ตะวันออกเฉียงเหนือ จ.นครราชสีมา เลือกใบองุ่นอ่อนที่สุดและมีลักษณะแผลใหม่ นำมาตัดเป็นรูป สี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 1 ซม.² ล้างชิ้นส่วนใบด้วยน้ำสบู่เบา ๆ แล้วล้างด้วยน้ำประปา จากนั้นล้าง ด้วย Clorox 20% (v/v) (โซเดียมไฮโปคลอไรต์ 2% (w/v)) ซึ่งเติม Tween 20 ประมาณ 2-3 หยด นาน 3-5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้ออีก 3 ครั้ง นาน 30 วินาที แล้วคีบมาวางบนกระดาษทิชชูหนึ่ง ฆ่าเชื้อ ซับให้แห้ง แล้วใช้มีดผ่าตัดซึ่งเผาไฟและรอจนเย็น กรีดผ่านแผลแล้วตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ โดย ติดแผลมาเล็กน้อย นำมาวางบน water agar (WA) ความเข้มข้น 1% (w/v) ผสมกับสเตรปโตมัยซิน (streptomycin) 25 มก./ล. บ่มที่อุณหภูมิ 25°C ประมาณ 3-5 วัน หลังจากนั้นย้ายเส้นใยที่เจริญออก มารอบ ๆ เนื้อเชื้อพืชไปเลี้ยงบนอาหาร Cereal agar (CA; อาหารผงธัญพืช 2% (w/v) กลูโคส 2% (w/v) และผงวุ้น 1.5% (w/v)) ผสมกับสเตรปโตมัยซิน 25 มก./ล. หลังจากเชื้อเจริญเต็มที่แล้ว ย้าย เชื้อลงไปเลี้ยงบนอาหาร CA โดยไม่ใส่สเตรปโตมัยซิน และเมื่อเชื้อเจริญเติบโตได้ 1 สัปดาห์ ย้าย มาเลี้ยงบนใบองุ่นอ่อนพันธุ์อ่อนแอที่วางอยู่บน WA เพื่อให้เชื้อสร้างโคนิเดีย และส่งไปแยกเป็น โคนิเดียเดี่ยวที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

3.4.2 การทดลองที่ 2 : การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของเชื้อ *S. ampelinum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ศึกษาการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *S. ampelimum* จำนวน 19 ไอโซเลต ที่ได้จากการทดลองที่ 1 หลังจากเลี้ยงบนอาหาร PDA (มันฝรั่ง 20% (w/v) กลูโคส 2% (w/v) และผงวุ้น 1.5% (w/v)), CA, CCA (อาหารผงธัญพืช 1% (w/v) เมล็ดข้าวโพดบด 0.5% (w/v) กลูโคส 2% (w/v) และผงวุ้น 1.5% (w/v)) และ JCCA (อาหารผงธัญพืช 1% (w/v) เมล็ดข้าวโพดบด 0.5% (w/v) เมล็ดถั่วเหลืองบด 0.5% (w/v) เมล็ดลูกเดือยบด 0.5% (w/v) กลูโคส 2% (w/v) และผงวุ้น 1.5% (w/v)) นาน 2, 5 และ 8 สัปดาห์ โดยบันทึกลักษณะของโคโลนี 4 ลักษณะ คือ (1) ลักษณะการเจริญเติบโต โดยวัดจากความกว้างและยาวของโคโลนี (2) สีของโคโลนี (3) การมีหรือไม่มี aerial mycelium (4) รูปร่างโคโลนี และปลูกเชื้อทั้ง 19 ไอโซเลต บนใบอ่อนขององุ่นพันธุ์อ่อนแอ (Black Queen หรือ Italia) เพื่อให้สร้างโคนิเดีย แล้ววัดขนาดของโคนิเดีย โดยสุ่มวัดโคนิเดีย จำนวน 50 โคนิเดีย/ไอโซเลต คำนวณความเหมือนทางพันธุกรรมของเชื้อแต่ละไอโซเลตโดยใช้ Jaccard similarity coefficients และสร้าง phylogenetic tree โดยใช้วิธี unweighted paired grouped mean arithmetic average ใช้ SAHN and TREE options และหาค่า similarity matrix ด้วยการใส่โปรแกรม NTSYSpc 2.2 (Rohlf, 1993)

3.4.3 การทดลองที่ 3 : การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. ampelimum* โดยใช้เครื่องหมาย RAPD

วิเคราะห์ความแตกต่างทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. ampelimum* 19 ไอโซเลต โดยการนำโคโลนีที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ JCCA ที่มีอายุ 1 เดือนมาสกัดดีเอ็นเอ ด้วยวิธีการของ Boehm (2004) และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ RAPD 6 ไพรเมอร์ คือ RAPD-1 (GGCACTGAGG), OPA-1 (CAGGCCCTTC), OPA-2 (TGCCGAGCTG), OPA-3 (AGTCAGCCAC), MUNG-1 (GGTGCGGGAA), และ MUNG-2 (GTAGACCCGT) โดยขั้นตอนการปฏิบัติใช้ 15 µl reaction mixture ประกอบด้วย 1x buffer, 4 mM MgCl₂, 0.2 mM dATP, dCTP, dGTP และ dTTP ไพรเมอร์ 0.5 µM ดีเอ็นเอต้นแบบ ประมาณ 15 ng และ DNA polymerase 0.75 unit เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้โปรแกรม (1) 95°C นาน 5 นาที (2) 95°C นาน 30 วินาที, 36°C นาน 1 นาที, 72°C นาน 2 นาที จำนวน 50 รอบ และ (3) 72°C นาน 10 นาที แล้วแยกขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ ปริมาตร 7 µl ใน 6% acrylamide gel นาน 50 นาที ที่ 40 V/cm โดยใช้ 1 kb DNA ladder เป็นตัวเปรียบเทียบ และย้อมสีแถบดีเอ็นเอโดยใช้ซิลเวอร์ไนเตรด (Sambrook and Russell, 2001) คำนวณหาความเหมือนทางพันธุกรรมของเชื้อแต่ละไอโซเลตโดยใช้ Jaccard similarity coefficients และสร้าง phylogenetic tree โดย unweighted paired grouped mean arithmetic average โดยใช้ SAHN and TREE options และหาค่า similarity matrix ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.2 (Rohlf, 1993) คำนวณค่า polymorphism information content (PIC) จากสูตร $PIC = 1 - \sum P_i^2$ โดย P_i คือ ความถี่ของอัลลีล i ในประชากรเชื้อที่ศึกษา วิเคราะห์ principle coordinate analysis (PCoA) เพื่อให้ได้ข้อมูลระยะห่าง

ระหว่างกลุ่มเพิ่มเติมจากข้อมูลที่ได้จาก cluster analysis และเปรียบเทียบ similarity matrix ระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อด้วยวิธีของ Mantel (1976)

ส่วนที่ 2 การศึกษาความต้านทานและการแสดงออกของยีนต้านทานต่อเชื้อ *S. ampelinum* ในองุ่น ประกอบด้วย 3 การทดลองคือ

3.4.4 การทดลองที่ 4 : การวิเคราะห์ความต้านทานขององุ่นต่อเชื้อ *S. ampelinum* จากปฏิกิริยาบนใบองุ่นในห้องปฏิบัติการ

1. การเตรียมพืช

ใช้ชิ้นส่วนใบองุ่นอ่อนข้อที่ 3-4 ขนาด 1 ซม.² จากองุ่นพันธุ์อ่อนแอ จำนวน 3 พันธุ์ คือ Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia พันธุ์ต้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ คือ Early Muscat สายพันธุ์ต้านทาน จำนวน 6 สายพันธุ์ คือ Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และ NY65.0551.05 และองุ่นลูกผสมจำนวน 133 ลูกผสม (ตารางที่ 2) ซึ่งวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 10 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

2. การเตรียมเชื้อ

ใช้เชื้อ *S. ampelinum* ในจาก 4 ภาคของประเทศไทย ภาคละ 1 ไอโซเลต ยกเว้นภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 2 ไอโซเลต รวมทั้งหมด 5 ไอโซเลต สำหรับทดสอบสายพันธุ์ต้านทาน 6 สายพันธุ์ พันธุ์อ่อนแอ 3 พันธุ์ และพันธุ์ต้านทานปานกลาง 1 พันธุ์ และเลือกเชื้อสายพันธุ์ที่รุนแรงที่สุดจำนวน 2 ไอโซเลตจากเชื้อทั้งหมด 5 ไอโซเลต มาทดสอบกับองุ่นลูกผสม 133 ลูกผสม โดยเลี้ยงเชื้อให้สร้างโคนิเดียบนใบอ่อนองุ่นพันธุ์อ่อนแอ แล้วนำโคนิเดียไปปั่นเหวี่ยงและตรวจนับจำนวนโคนิเดียโดยใช้ haemocytometer ให้มีความเข้มข้น 10^6 โคนิเดีย/มล. เพื่อใช้ในการปลูกเชื้อ

3. การปลูกเชื้อ

เลือกใบอ่อนขององุ่นที่จะทดสอบ นำมาล้างด้วยน้ำสบู่ และล้างออกด้วยน้ำสะอาด 1 ครั้ง จากนั้นล้างใบด้วย clorox 1% (v/v) (โซเดียมไฮโปคลอไรต์ 0.1% (w/v)) ซึ่งเติม Tween 20 ประมาณ 2-3 หยด นาน 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษทิชชูนิ่งฆ่าเชื้อ นำแผ่นรองตัดรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาด 1 ซม.² วางได้ Petri dishes ขนาดกลางแล้วตัดใบให้มีขนาดเท่า ๆ กัน คีบมาวางใน Petri dishes ที่ใส่ WA ความเข้มข้น 1.5% (w/v) ผสมกับสเตรปโตมัยซิน 25 มก./ล. และโอไมท์ (omite) 2 มล./ล. หยดเชื้อ *S. ampelinum* ความเข้มข้น 10^6 โคนิเดีย/มล. ปริมาตร 5 μ l จำนวน 1 หยด บริเวณกลางเนื้อเยื่อใบ แล้วค่อย ๆ นำ Petri dishes ใส่ในถุงพลาสติกปิดยาง บ่มไว้ในที่มืดแสง 16 ชม./วัน อุณหภูมิ 25°C นาน 4 วัน ส่วน control ใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

4. การบันทึกผล

4.1 บันทึกวันแรกของการปรากฏแผลบนเนื้อเยื่อใบ (latent period) โดยการ

ส่องภายใต้กล้องสเตอริโอทุกวัน

4.2 ให้คะแนนการเกิดโรค ตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล
คะแนน 2 = 7-25 แผล คะแนน 3 = 26-50 แผล คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล
(ประยุกต์จาก Inglis et al., 1988)

ตารางที่ 2 จำนวนรุ่นลูกผสม F_1 ที่ใช้ในการทดสอบความต้านทานโรคสแคบ

คู่ผสม	จำนวน (ต้น)
Black Queen × Wilcox 321	21
Black Queen × NY88.0517.01	16
Black Queen × NY65.0550.04	11
Black Queen × NY65.0551.05	22
Carolina Black Rose × Wilcox 321	4
Carolina Black Rose × NY88.0517.01	11
Carolina Black Rose × NY65.0550.04	9
Carolina Black Rose × NY65.0551.05	16
Early Muscat × NY65.0551.05	9
Italia × NY88.0517.01	4
Italia × NY65.0550.04	5
Italia × NY65.0551.05	5
รวม	133

3.4.5 การทดลองที่ 5 : การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรคสแคบ ในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่

1. เก็บข้อมูลคะแนนระดับความต้านทานโรคในสภาพห้องปฏิบัติการ จากรุ่นพันธุ์ต้านทานทั้ง 6 สายพันธุ์ (Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และ NY65.0551.05) รุ่นพันธุ์อ่อนแอ จำนวน 3 พันธุ์ คือ Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia รุ่นพันธุ์ต้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ คือ Early Muscat และรุ่นลูกผสม จำนวน 24 ลูกผสม โดยวิธีการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 10 ซ้ำ แล้ววิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสถิติ SPSS version 14.0 (Levesque and SPSS Inc., 2006)

2. เก็บข้อมูลคะแนนระดับความต้านทานโรคในสภาพไร่ ซึ่งมีวิธีการดังนี้

2.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ โดยใช้รุ่นพันธุ์ต้านทาน

ทั้ง 6 สายพันธุ์ (Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และ NY65.0551.05) องุ่นพันธุ์อ่อนแอ จำนวน 3 พันธุ์ คือ Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia องุ่นพันธุ์ต้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ คือ Early Muscat และองุ่นลูกผสม จำนวน 24 ลูกผสม

2.2 ตอนกิ่งองุ่นที่ต้องการ จำนวนพันธุ์/สายพันธุ์ละ 5 กิ่ง ปลูกในถุงเพาะชำภายในโรงเรือน เมื่อต้นแข็งแรงจึงย้ายมาปลูกในแปลงที่เตรียมไว้ และวางระบบน้ำแบบหยดเพื่อรักษาความชื้นในดิน

2.3 ดูแลรักษาและกำจัดศัตรูพืชจนองุ่นตั้งตัวได้ แล้วจึงประเมินผลการเกิดโรคเป็นคะแนน 1-5 ตามวิธีการประเมินโรคราน้ำค้างองุ่นของ Cornell grape breeding program โดยคะแนน 1 = 0-3% ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 2 = 4-12% ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 3 = 13-25% ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 4 = 26-50% ของพื้นที่ใบเป็นโรค และคะแนน 5 = > 50% ของพื้นที่ใบเป็นโรค

2.4 หาความสัมพันธ์ระหว่างระดับความต้านทานโรคสแคบที่ประเมินในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ โดยวิธี Spearman's rank correlation (Spearman, 1904) และนำค่าเฉลี่ยของคะแนนการเกิดโรคสแคบขององุ่นพันธุ์ต้านทานทั้ง 6 สายพันธุ์ พันธุ์อ่อนแอ จำนวน 3 พันธุ์ พันธุ์ต้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ และองุ่นลูกผสม จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ มาจัดอันดับความต้านทานโรคสแคบ โดยประยุกต์จากวิธีการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ คะแนน 1.0 = ต้านทานมาก คะแนน 1.1-2.0 = ต้านทาน คะแนน 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง คะแนน 3.1-4.0 = อ่อนแอ คะแนน 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

3.4.6 การทดลองที่ 6: การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน โดยศึกษาสมรรถนะการรวมตัวทั่วไปและสมรรถนะการรวมตัวจำเพาะ

1. ใช้แผนการผสมพันธุ์แบบ North Carolina Design II ซึ่งเป็นแผนการผสมพันธุ์ที่ผสมระหว่างพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ครบทุกชุด ซึ่งอาจเรียกว่า การผสมแบบแฟกตอเรียล (factorial) การผสมพันธุ์แบ่งพืชออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่ม 1 เป็นพันธุ์พ่อ จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ NY88.0517.01, NY65.0550.04 และ NY65.0551.05 และกลุ่ม 2 เป็นพันธุ์แม่ จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ Black Queen และ Carolina Black Rose นำพันธุ์พ่อแต่ละพันธุ์ผสมกับพันธุ์แม่ทุกพันธุ์ รวมทั้งหมด 6 คู่ผสม ได้อองุ่นลูกผสม F_1 จำนวน 85 ลูกผสม ประเมินความต้านทานโรคเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนรุ่นลูกผสม F_1 ที่ใช้ในการทดสอบการแสดงออกของยีน

กลุ่มผสม	จำนวน (ต้น)
Black Queen $\times$ NY88.0517.01	16
Black Queen $\times$ NY65.0550.04	11
Black Queen $\times$ NY65.0551.05	22
Carolina Black Rose $\times$ NY88.0517.01	11
Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04	9
Carolina Black Rose $\times$ NY65.0551.05	16
รวม	85

2. การวิเคราะห์การรวมตัวทั่วไปและการรวมตัวจำเพาะจากแผนการผสมพันธุ์แบบ North Carolina Design II โดยให้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ดังสมการต่อไปนี้

$$\bar{X}_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij}$$

กำหนด $\bar{X}_{ij}$ เป็นค่าเฉลี่ยของลูกผสมระหว่างพันธุ์พ่อที่ i กับพันธุ์แม่ที่ j , μ เป็นค่าเฉลี่ยของประชากร, g_i เป็น gca ของพันธุ์พ่อ, g_j เป็น gca ของพันธุ์แม่, s_{ij} เป็น sca ของพันธุ์พ่อที่ i กับพันธุ์แม่ที่ j , ทั้งนี้ i มีค่าตั้งแต่ 1, 2, ..., ถึง k และ j มีค่าตั้งแต่ 1, 2, ..., ถึง n หากนำค่าเฉลี่ยมาคำนวณค่า gca ได้ผลดังนี้

$$g_i = \bar{X}_{i.} - \bar{X}_{..}$$

$$g_j = \bar{X}_{.j} - \bar{X}_{..}$$

และสามารถคำนวณหาค่า sca ดังนี้

$$s_{ij} = \bar{X}_{ij} - \bar{X}_{..} - g_i - g_j$$

การประเมินระดับความสำคัญของ gca และ sca ให้เปรียบเทียบกับความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (S_x) ดังนี้

$$S_x = (MSE/n)^{1/2}$$

เมื่อ MSE ได้จากการวิเคราะห์หว่าเรียนซ์, n เป็นจำนวนซ้ำ

ถ้าหากค่าใดสูงกว่า S_x เกิน 2 เท่า แสดงว่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับ 0.05 ถ้าหากเกิน 3 เท่า แสดงว่าแตกต่างที่ระดับ 0.01

จากผลการวิเคราะห์ Expected mean squares สามารถแสดงวาเรียนซ์การรวมตัว ดังนี้

$$\sigma_m^2 = \sigma_{gca(male)}^2 = 1/4 \sigma_A^2$$

$$\sigma_f^2 = \sigma_{gca(female)}^2 = 1/4 \sigma_A^2$$

$$\sigma_{mf}^2 = \sigma_{sca}^2 = 1/4 \sigma_D^2$$

เมื่อ $\sigma_A^2 = 2(\sigma_m^2 + \sigma_p^2)$
 และวิเคราะห์หาอัตราพันธุกรรมอย่างแคบตามสมการ ดังนี้

$$\text{Heritability (\%)} = [\sigma_A^2 / (\sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \sigma_E^2)] \times 100$$

ส่วนที่ 3 การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับยืนต้านทานโรคสแคบในองุ่น

3.4.7 การทดลองที่ 7: ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RAPD OPJ13-300, OPV02-600 และ OPS03-1300 และยืนต้านทานโรคสแคบในองุ่น

1. สกัดดีเอ็นเอองุ่นพันธุ์ต้านทาน จำนวน 6 สายพันธุ์ (Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และ NY65.0551.05) องุ่นพันธุ์อ่อนแอจำนวน 3 พันธุ์ คือ Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia องุ่นพันธุ์ต้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ คือ Early Muscat โดยวิธีของ Owens (2003) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1.1 เตรียม extraction buffer ประกอบด้วย 3% (w/v) cetyltrimethylammonium (CTAB), 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, pH 8.9, 0.1 M Tris-HCl, pH 8.0, 2% (w/v) polyvinyl polypyrrolidone และ 0.2% (v/v) β -mercaptoethanol

1.2 บดตัวอย่างในโกร่งโดยเติม extraction buffer และบ่มที่อุณหภูมิ 60°C นาน 30 นาที

1.3 เติม 24:1 chloroform: isoamyl alcohol ปริมาตร 1 V ผสมให้เข้ากัน และปั่นที่ความเร็ว $5635 \times g$ นาน 15 นาที

1.4 ควบน้ำใสให้หลอดใหม่และเติม 5 M NaCl ปริมาตร 0.5 V จากนั้นตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย isopropanol ปริมาตร 1 V และบ่มที่อุณหภูมิ 20°C นาน 20 นาที

1.5 ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% และ 95% (v/v) ethanol และละลายด้วย ddH₂O ปริมาตร 200 μ l จากนั้นเติม RNase A ความเข้มข้น 1 มก./มล. ปริมาตร 20 μ l วัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่ความยาวคลื่น 260 nm โดยใช้เครื่อง spectrophotometer

2. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะตามวิธีการของ Wang et al. (2003)

3. นำ PCR products มาแยกขนาดโดยใช้วิธี agarose gel electrophoresis

4. สำหรับเครื่องหมาย OPJ13-300, OPV02-600 และ OPS03-1300 สังเกตการมี/ไม่มีแถบดีเอ็นเอขนาด 300, 600 และ 1300 bp ในองุ่นพันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอ ตามลำดับ

5. สำหรับเครื่องหมายที่ได้จากข้อ 4. ซึ่งมี polymorphism ระหว่างพันธุ์พ่อและแม่นำมาทดสอบในประชากรลูกผสมที่มีการกระจายตัวของความต้านทานโรคสแคบ เพื่อประเมินการนำมาใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ในอนาคต

3.4.8 การทดลองที่ 8: ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSCP และยืนต้านทานโรคสแคบองุ่น

1. นำลำดับเบสของ RGA ที่โคลนได้จาก Tantasawat et al. (unpublished data) จำนวน 3 โคลน ได้แก่ rgVvinBQ_47, rgVhybNY507_11 และ rgVhybNY507_28 มาใช้ออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ เพื่อใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ โดยใช้โปรแกรม Primer 3 (http://frodo.wi.mit.edu/primer3/primer3_www.cgi) จากนั้นเลือกเอนไซม์ตัดจำเพาะโดยใช้โปรแกรม nebcutter (<http://tools.neb.com/NEBcutter2/>) และส่งส่งเคราะห์ไพรเมอร์จากบริษัท Biogenomed Co., LTD. (ตารางที่ 4)

2. สกัดดีเอ็นเอจุนพันธุ์ด้านทาน ทั้ง 6 สายพันธุ์ (Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และ NY65.0551.05) จุนพันธุ์อ่อนแอจำนวน 3 พันธุ์ คือ Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia จุนพันธุ์ด้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ คือ Early Muscat โดยวิธีของ Owens (2003)

3. ใช้ไพรเมอร์ในข้อ 1. เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในข้อ 2. โดยใช้ 20 µl reaction mixture ประกอบด้วย 1x PCR buffer, 2.5 mM MgCl₂, 0.1 mM dATP, dCTP, dGTP, และ dTTP, ไพรเมอร์ 2 µM ดีเอ็นเอต้นแบบ ประมาณ 30 ng และ Taq DNA polymerase 1 unit เพิ่มปริมาณ DNA โดยใช้โปรแกรม (1) 94°C นาน 1 นาที (2) 2°C นาน 50 วินาที, 45-67°C นาน 50 วินาที, 72°C นาน 1 นาที จำนวน 25 รอบ และ (3) 72°C นาน 10 นาที

4. นำ PCR products มาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะที่ให้ขนาดท่อนไม่เกิน 200 bp

ตารางที่ 4 ไพรเมอร์ที่จำเพาะ อุณหภูมิในขั้นตอน annealing เอนไซม์ตัดจำเพาะ และขนาดของ PCR products ของเครื่องหมายโมเลกุล SSCP ที่พัฒนาจาก RGAs

ชื่อ ^{1/}	Forward primer (5' → 3')	อุณหภูมิ (°C) annealing	เอนไซม์	ขนาดดีเอ็นเอ (bp)
	Reverse primer (5' → 3')			
rgVvinBQ_47	CATTCAAAAATCGCGTTGTA GAAATGGTTCTCCGTCAGTG	67 → 63	<i>Alu</i> I	77, 137
rgVhybNY507_11	AGTTGAACAGCTTCCCCTGT TCCGAAAAGTGGGTTTGCT	50 → 45	<i>Apo</i> I	123, 193
rgVhybNY507_28	GAGGCCATTAGCATCCTCTA GATTGGTAGCAGGCAAAAAG	62 → 50	<i>Mbo</i> II	100, 110

^{1/} ตั้งชื่อไพรเมอร์จากชื่อของ RGAs

5. วิเคราะห์ SSCP ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

5.1 แยกความต่างของท่อนดีเอ็นเอโดยใช้ polyacrylamide gels 8% (v/v) acrylamide/Bis 19:1, 2% (v/v) glycerol, 1× TBE, 0.10% (v/v) TEMED และ 0.01% (w/v) ammonium persulfate)

5.2 pre-run ที่อุณหภูมิ 4°C 200 V, 10 W นาน 45 นาที เพื่อทำความสะอาดและทำให้เจลเย็น

5.3 เติมตัวอย่างดีเอ็นเอ ปริมาตร 5 µl ลงไปใน 3x SSCP loading dye (95% (v/v) formamide, 0.05% (w/v) xylene cyanol, 0.05% (w/v) bromophenol blue และ 20 mM EDTA, pH 8.0) ปริมาตร 5 µl

5.4 บ่มตัวอย่างดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ 95°C นาน 5 นาที แล้ววางในน้ำแข็งทันที

5.5 Electrophoresis ตัวอย่างดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ 4°C 200V นาน 60 นาที

5.6 ย้อมเจลด้วยซิลเวอร์ไนเตรดตามวิธีการของ Di Gaspero and Cipriani (2003)

6. ประเมินความแตกต่างของรูปแบบของท่อนดีเอ็นเอระหว่างพันธุ์ด้านทานและพันธุ์อ่อนแอ

7. สำหรับเครื่องหมายที่ได้จากข้อ 6. ซึ่งมี polymorphism ระหว่างพันธุ์พ่อและแม่นำมาทดสอบในประชากรลูกผสมที่มีการกระจายตัวของความต้านทานโรคสแคบ เพื่อประเมินการนำมาใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ในอนาคต

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การแยกเชื้อ *S. ampelinum* จากชิ้นส่วนองุ่นที่เป็นโรค

จากการเก็บตัวอย่างใบอ่อนองุ่นที่แสดงอาการของโรคสแคบ และมีลักษณะแผลใหม่จากแหล่งที่เกิดการระบาดใน 4 ภาคของประเทศไทย คือ ภาคตะวันตก จ.ราชบุรี ภาคตะวันออก จ.ชลบุรี ภาคเหนือ จ.เชียงราย และ จ.แพร่ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จ.นครราชสีมา ทำการแยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting สามารถแยกเชื้อได้สำเร็จ 80 เปอร์เซ็นต์ เพราะใช้ใบอ่อนที่เพิ่งเป็นโรคใหม่ ๆ แต่ไม่สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด เนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่น เชื้อ *S. ampelinum* เจริญเติบโตช้า สามารถเห็นเป็นเส้นใยสั้น ๆ สีขาว เจริญออกมาจากบริเวณเนื้อเยื่อใบอ่อน ภายใน 3-5 วัน เชื้อมักเจริญอยู่ในวัน ทำการย้ายเส้นใยที่เจริญออกมาไปเลี้ยงบนอาหาร CA ผสมกับสเตรปโตมัยซิน 25 มก./ล. หลังจากเชื้อเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ย้ายเชื้อลงไปในอาหาร CA โดยไม่ใส่สเตรปโตมัยซิน หลังจากเชื้อเจริญเติบโตได้ 1 สัปดาห์ ส่งไปแยกเป็นโคโคนิเดียเดี่ยวที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ ได้โคโคนิเดียเดี่ยวทั้งหมด 19 ไอโซเลต คือ ไอโซเลตจากภาคตะวันตก จ.ราชบุรี ภาคตะวันออก จ.ชลบุรี ภาคเหนือ จ.เชียงราย และ จ.แพร่ ภาคละ 5 ไอโซเลต และไอโซเลตจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จ.นครราชสีมา จำนวน 4 ไอโซเลต

4.2 การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *S. ampelinum*

4.2.1 ลักษณะการเจริญเติบโตของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเจริญเติบโตของเชื้อแต่ละไอโซเลต

จากการเลี้ยงเชื้อ *S. ampelinum* ขนาด $\frac{1}{4}$ ของ Cork Borer No.1 (ϕ 4.0 มม.) จำนวน 19 ไอโซเลต ที่ได้จากใบอ่อนองุ่นที่แสดงอาการของโรคสแคบใน 4 ภาคของประเทศไทย ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด คือ PDA, CA, CCA และ JCCA พบว่าขนาดโคโลนีขนาดใหญ่ที่สุดอยู่บนอาหาร CA และ CCA โดยมีขนาดโคโลนีใหญ่กว่า 1.5, 1.7 และ 2.0 เท่า ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร JCCA เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของเชื้อแต่ละสัปดาห์ พบว่าที่อายุ 2 สัปดาห์ ทุกไอโซเลตที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด มีขนาดโคโลนีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{18, 302} = 23.28$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 1) โดยไอโซเลต Cr1-1 และ Cr3-1 มีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด (0.77 และ 0.75 ซม.² ตามลำดับ) ส่วนไอโซเลตที่มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด คือ Nk4-1 และ Cb5-1 (1.73 และ 1.59 ซม.² ตามลำดับ) (ตารางที่ 5) และพบว่าชนิดของอาหารเลี้ยง-

เชื้อมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. ampelinum* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{3, 302} = 106.88$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 1) โดยอาหาร CA และ CCA มีผลทำให้เชื้อมีขนาดโคโลนีใหญ่กว่าอาหาร PDA และ JCCA 1.5 ถึง 1.6 เท่า ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

สำหรับการเจริญเติบโตของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด คือ PDA, CA, CCA และ JCCA ที่อายุ 5 สัปดาห์ พบว่าแต่ละไอโซเลตมีขนาดโคโลนีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{18, 299} = 69.56$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 1) โดยไอโซเลต Cr1-1 และ Cr3-1 มีขนาดเล็กที่สุด (มีขนาดโคโลนีเท่ากับ 2.85 และ 2.73 ซม.² ตามลำดับ) ส่วนไอโซเลต Cb4-1 มีขนาดใหญ่ที่สุด (7.38 ซม.²) (ตารางที่ 5) และพบว่าอาหาร CA และ CCA ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. ampelinum* มากกว่าอาหาร PDA และ JCCA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{3, 299} = 272.25$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 1) โดยมีขนาดโคโลนี เท่ากับ 5.28 และ 5.54 ซม.² ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าอาหาร PDA และ JCCA ที่มีขนาดเท่ากับ 3.36 และ 3.37 ซม.² ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

และเมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด คือ PDA, CA, CCA และ JCCA ที่อายุ 8 สัปดาห์ พบว่าเชื้อทุกไอโซเลตมีขนาดโคโลนีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{18, 293} = 30.36$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 1) โดยไอโซเลต Cr3-1 มีขนาดเล็กที่สุด (4.98 ซม.²) ส่วนไอโซเลต Nk5-1 มีขนาดใหญ่ที่สุด (10.78 ซม.²) (ตารางที่ 5) และพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด ทำให้เชื้อมีขนาดโคโลนีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{3, 293} = 252.50$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 1) โดยอาหาร JCCA ทำให้เชื้อทุกไอโซเลตมีโคโลนีขนาดเล็กที่สุด (4.57 ซม.²) ส่วนอาหาร PDA, CA และ CCA มีขนาดโคโลนีไม่แตกต่างกัน เท่ากับ 8.24, 9.29 และ 9.10 ซม.² ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

ในการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างไอโซเลตและอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 2 สัปดาห์ พบว่าแต่ละไอโซเลตและอาหารเลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลร่วมกันทางสถิติ ($F_{54, 302} = 5.98$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 1) โดยอาหาร PDA มีผลทำให้ไอโซเลต Cb2-1 มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (1.43 ซม.²) และไอโซเลต Cr1-1 มีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด (0.25 ซม.²) อาหาร CA มีผลทำให้ไอโซเลต Nk4-1 มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (2.31 ซม.²) และไอโซเลต Cr3-1 มีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด (0.68 ซม.²) อาหาร CCA มีผลทำให้ไอโซเลต Cb5-1, Nk4-1 และ Nk5-1 มีขนาดโคโลนี (2.32, 2.22 และ 2.06 ซม.² ตามลำดับ) และอาหาร JCCA มีผลทำให้ไอโซเลต Nk4-1 มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (1.54 ซม.²) ส่วนไอโซเลต Cr3-1 มีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด (0.38 ซม.²) (ตารางที่ 6)

สำหรับการเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมระหว่างไอโซเลตของเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อที่อายุ 5 สัปดาห์ พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตและอาหารเลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลร่วมกันทางสถิติ ($F_{54, 299} = 15.06$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 1) โดยอาหาร PDA มีผลทำให้ไอโซเลต Nk5-1 มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (4.76 ซม.²) และไอโซเลต Cr1-1 และ Cr2-1 มีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด (1.43 และ 1.73 ซม.²)

ตามลำดับ) อาหาร CA ทำให้ไอโซเลต Cb4-1 มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (9.64 ซม.²) และไอโซเลต Cr3-1 มีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด (2.73 ซม.²) อาหาร CCA มีผลทำให้ไอโซเลต Cb4-1 มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (11.11 ซม.²) และไอโซเลต Cr1-1, Cr3-1 และ Pr4-1 มีขนาดโคโลนี เท่ากับ 3.58, 3.48 และ 3.58 ซม.² ตามลำดับ และอาหาร JCCA มีผลทำให้ไอโซเลต Cb4-1 มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (6.57 ซม.²) (ตารางที่ 7)

และอิทธิพลระหว่างไอโซเลตของเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อที่อายุ 8 สัปดาห์ พบว่าแต่ละไอโซเลตและอาหารเลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลร่วมกันทางสถิติ ($F_{54, 293} = 7.30; P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 1) โดยอาหาร PDA มีผลทำให้ไอโซเลต Rc1-1, Cb5-1, Cb3-1, Rc5-1, Rc2-1 และ Nk2-1 มีขนาดโคโลนี เท่ากับ 10.46, 10.22, 10.15, 9.86, 9.84 และ 9.81 ซม.² ตามลำดับ อาหาร CA มีผลให้ไอโซเลต Cb3-1 มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (13.41 ซม.²) และไอโซเลต Cr3-1 มีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด (5.27 ซม.²) อาหาร CCA มีผลทำให้ไอโซเลต Nk5-1 มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (15.11 ซม.²) และไอโซเลต Cr3-1 มีขนาดโคโลนีมีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด (5.27 ซม.²) และอาหาร JCCA มีผลทำให้ไอโซเลต Cb4-1 มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (10.20 ซม.²) (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบขนาดโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

ภาค	ไอโซเลต	ขนาดโคโลนีเฉลี่ย (ซม. ²)		
		2 สัปดาห์	5 สัปดาห์	8 สัปดาห์
ตะวันออก	Cb1-1	1.17 ± 0.07 c ^{1/}	4.00 ± 0.11 ef	7.06 ± 0.45 gh
	Cb2-1	1.34 ± 0.12 b	5.77 ± 0.54 c	9.87 ± 0.42 ab
	Cb3-1	1.01 ± 0.08 cde	5.85 ± 0.59 c	9.99 ± 0.78 ab
	Cb4-1	1.15 ± 0.10 c	7.38 ± 0.81 a	9.94 ± 0.70 ab
	Cb5-1	1.59 ± 0.15 a	5.63 ± 0.49 c	9.11 ± 0.71 bc
ค่าเฉลี่ย		1.25 ± 0.10	5.73 ± 0.53	9.19 ± 0.56
เหนือ	Cr1-1	0.77 ± 0.09 g	2.85 ± 0.31 i	5.78 ± 0.58 ij
	Cr2-1	0.78 ± 0.07 fg	3.13 ± 0.32 hi	5.54 ± 0.52 ij
	Cr3-1	0.75 ± 0.08 g	2.73 ± 0.19 i	4.98 ± 0.42 j
	Pr4-1	0.84 ± 0.08 efg	3.13 ± 0.18 hi	6.23 ± 0.39 hi
	Pr5-1	0.96 ± 0.05 def	3.43 ± 0.18 gh	7.21 ± 0.61 fg
ค่าเฉลี่ย		0.82 ± 0.04	3.05 ± 0.12	5.95 ± 0.37
เลี้ยงเหนือ	Nk2-1	0.99 ± 0.07 cde	4.21 ± 0.28 def	8.53 ± 0.61 cd
	Nk3-1	0.89 ± 0.08 d-g	3.50 ± 0.20 gh	6.06 ± 0.48 i
	Nk4-1	1.73 ± 0.15 a	4.65 ± 0.30 d	8.12 ± 0.60 def
	Nk5-1	1.41 ± 0.11 b	6.71 ± 0.52 b	10.78 ± 0.70 a
ค่าเฉลี่ย		1.26 ± 0.19	4.77 ± 0.69	8.37 ± 0.97
ตะวันตก	Rc1-1	0.78 ± 0.03 fg	4.12 ± 0.18 ef	8.32 ± 0.57 cde
	Rc2-1	1.07 ± 0.07 cd	4.22 ± 0.17 def	7.70 ± 0.50 d-g
	Rc3-1	1.00 ± 0.08 cde	4.31 ± 0.28 de	7.72 ± 0.58 d-g
	Rc4-1	1.00 ± 0.11 cde	4.15 ± 0.20 ef	7.71 ± 0.40 d-g
	Rc5-1	0.92 ± 0.07 d-g	3.80 ± 0.18 fg	7.54 ± 0.38 efg
ค่าเฉลี่ย		0.95 ± 0.05	4.12 ± 0.09	7.80 ± 0.13
ค่าเฉลี่ยรวม		1.06 ± 0.06	4.40 ± 0.30	7.80 ± 0.38

^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบขนาดโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* อายุ 2 สัปดาห์ จำนวน 19 ไอโซเลต
บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

ภาค	ไอโซเลต	ขนาดโคโลนีเฉลี่ย (ซม. ²)			
		PDA ^{1/}	CA	CCA	JCCA
ตะวันออก	Cb1-1	0.79 ± 0.07 def ^{2/}	1.29 ± 0.13 d-h	1.43 ± 0.11 bcd	1.16 ± 0.12 b
	Cb2-1	1.43 ± 0.06 a	1.87 ± 0.14 bc	1.53 ± 0.13 b	0.51 ± 0.04 gh
	Cb3-1	0.84 ± 0.09 cd	1.43 ± 0.09 d-g	1.07 ± 0.17 c-f	0.72 ± 0.08 efg
	Cb4-1	0.57 ± 0.06 e-h	1.48 ± 0.14 c-f	1.47 ± 0.15 bc	1.09 ± 0.13 bc
	Cb5-1	0.97 ± 0.10 bcd	1.97 ± 0.16 ab	2.32 ± 0.19 a	1.08 ± 0.12 bcd
ค่าเฉลี่ย		0.92 ± 0.14	1.61 ± 0.13	1.56 ± 0.21	0.91 ± 0.13
เหนือ	Cr1-1	0.25 ± 0.07 i	1.09 ± 0.14 e-j	1.13 ± 0.09 b-f	0.61 ± 0.04 fgh
	Cr2-1	0.49 ± 0.07 h	0.78 ± 0.03 ij	1.12 ± 0.13 b-f	0.74 ± 0.13 d-g
	Cr3-1	0.76 ± 0.11 d-g	0.68 ± 0.07 j	1.19 ± 0.13 b-f	0.38 ± 0.04 h
	Pr4-1	0.40 ± 0.07 hi	0.92 ± 0.10 hij	1.00 ± 0.05 def	1.02 ± 0.20 b-e
	Pr5-1	1.06 ± 0.08 bc	1.02 ± 0.11 g-j	1.02 ± 0.11 c-f	0.76 ± 0.06 c-g
ค่าเฉลี่ย		0.59 ± 0.14	0.90 ± 0.08	1.09 ± 0.04	0.70 ± 0.10
ตะวันออก เฉียงเหนือ	Nk2-1	0.76 ± 0.09 d-g	1.17 ± 0.11 e-i	1.13 ± 0.21 b-f	0.89 ± 0.11 b-f
	Nk3-1	0.56 ± 0.04 fgh	1.06 ± 0.19 f-j	1.14 ± 0.14 b-f	0.79 ± 0.04 c-g
	Nk4-1	0.82 ± 0.03 cde	2.31 ± 0.15 a	2.22 ± 0.22 a	1.54 ± 0.11 a
	Nk5-1	1.06 ± 0.08 bc	1.51 ± 0.14 cde	2.06 ± 0.08 a	1.02 ± 0.11 b-e
ค่าเฉลี่ย		0.80 ± 0.10	1.51 ± 0.28	1.64 ± 0.29	1.06 ± 0.17
ตะวันตก	Rc1-1	0.78 ± 0.05 d-g	0.73 ± 0.09 ij	0.85 ± 0.08 ef	0.76 ± 0.06 c-g
	Rc2-1	0.80 ± 0.10 def	0.96 ± 0.13 hij	1.30 ± 0.17 b-e	1.20 ± 0.10 b
	Rc3-1	0.78 ± 0.05 d-g	1.25 ± 0.17 e-h	1.18 ± 0.15 b-f	0.78 ± 0.15 c-g
	Rc4-1	0.53 ± 0.04 gh	1.69 ± 0.22 bcd	0.82 ± 0.02 f	0.92 ± 0.10 b-f
	Rc5-1	1.21 ± 0.14 ab	0.97 ± 0.04 hij	0.93 ± 0.07 ef	0.58 ± 0.09 fgh
ค่าเฉลี่ย		0.82 ± 0.11	1.12 ± 0.16	1.01 ± 0.10	0.85 ± 0.10
ค่าเฉลี่ยรวม		0.78 ± 0.07 b	1.27 ± 0.10 a	1.31 ± 0.10 a	0.87 ± 0.06 b

^{1/} PDA คือ potato dextrose agar, CA คือ cereal agar, CCA คือ corn cereal agar, JCCA คือ Job' tear corn cereal agar

^{2/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบขนาดโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* อายุ 5 สัปดาห์ จำนวน 19 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

ภาค	ไอโซเลต	ขนาดโคโลนีเฉลี่ย (ซม. ²)			
		PDA ^{1/}	CA	CCA	JCCA
ตะวันออก	Cb1-1	3.53 ± 0.16 d-g ^{2/}	4.28 ± 0.26 g-j	4.11 ± 0.16 ghi	4.06 ± 0.12 bc
	Cb2-1	4.48 ± 0.24 abc	8.59 ± 0.28 b	7.01 ± 0.84 d	3.00 ± 0.25 def
	Cb3-1	4.03 ± 0.30 a-e	8.51 ± 0.40 b	8.13 ± 0.49 c	3.19 ± 0.25 cde
	Cb4-1	2.19 ± 0.25 hi	9.64 ± 0.25 a	11.11 ± 0.62 a	6.57 ± 0.45 a
	Cb5-1	3.86 ± 0.14 b-f	6.13 ± 0.27 d	8.70 ± 0.26 c	3.81 ± 0.57 bcd
ค่าเฉลี่ย		3.62 ± 0.39	7.43 ± 0.98	7.81 ± 1.14	4.12 ± 0.64
เหนือ	Cr1-1	1.43 ± 0.14 i	4.38 ± 0.24 f-i	3.58 ± 0.24 i	1.73 ± 0.26 g
	Cr2-1	1.73 ± 0.21 i	4.33 ± 0.61 f-j	4.23 ± 0.27 ghi	2.23 ± 0.26 fg
	Cr3-1	3.10 ± 0.15 fg	2.73 ± 0.15 k	3.48 ± 0.31 i	1.58 ± 0.14 g
	Pr4-1	1.98 ± 0.13 hi	3.27 ± 0.19 jk	3.58 ± 0.14 i	3.83 ± 0.17 bcd
	Pr5-1	3.74 ± 0.27 b-f	3.80 ± 0.16 ij	3.81 ± 0.34 hi	2.37 ± 0.14 efg
ค่าเฉลี่ย		2.40 ± 0.44	3.70 ± 0.32	3.74 ± 0.14	2.35 ± 0.40
เจียงเหนือ	Nk2-1	2.77 ± 0.16 gh	5.41 ± 0.20 def	5.05 ± 0.23 efg	3.46 ± 0.06 cd
	Nk3-1	3.72 ± 0.49 b-f	3.95 ± 0.32 hij	3.92 ± 0.15 hi	2.40 ± 0.11 efg
	Nk4-1	4.09 ± 0.29 a-d	5.49 ± 0.64 de	5.63 ± 0.34 e	3.38 ± 0.38 cd
	Nk5-1	4.76 ± 0.29 a	7.49 ± 0.15 c	9.94 ± 0.30 b	4.65 ± 0.35 b
ค่าเฉลี่ย		3.83 ± 0.42	5.34 ± 0.93	6.14 ± 1.32	3.47 ± 0.46
ตะวันตก	Rc1-1	3.94 ± 0.30 a-f	4.50 ± 0.55 e-i	4.50 ± 0.12 f-i	3.62 ± 0.19 cd
	Rc2-1	3.60 ± 0.23 c-f	4.74 ± 0.35 e-i	4.85 ± 0.23 e-h	3.69 ± 0.11 cd
	Rc3-1	3.12 ± 0.28 efg	5.26 ± 0.28 d-g	5.43 ± 0.25 ef	3.43 ± 0.38 cd
	Rc4-1	3.24 ± 0.25 d-g	5.04 ± 0.36 e-h	4.48 ± 0.21 f-i	3.86 ± 0.20 bcd
	Rc5-1	4.56 ± 0.54 ab	3.69 ± 0.04 ijk	3.72 ± 0.08 hi	3.22 ± 0.31 cde
ค่าเฉลี่ย		3.69 ± 0.26	4.65 ± 0.27	4.59 ± 0.28	3.56 ± 0.11
ค่าเฉลี่ยรวม		3.36 ± 0.22 b	5.28 ± 0.45 a	5.54 ± 0.53 a	3.37 ± 0.26 b

^{1/} PDA คือ potato dextrose agar, CA คือ cereal agar, CCA คือ corn cereal agar, JCCA คือ Job' tear corn cereal agar

^{2/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบขนาดโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* อายุ 8 สัปดาห์ จำนวน 19 ไอโซเลต
บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

ภาค	ไอโซเลต	ขนาดโคโลนีเฉลี่ย (ซม. ²)			
		PDA ^{1/}	CA	CCA	JCCA
ตะวันออก	Cb1-1	8.13 ± 0.62 bc ^{2/}	8.34 ± 1.04 efg	6.90 ± 0.13 dc	4.85 ± 0.17 cde
	Cb2-1	9.55 ± 0.53 ab	11.74 ± 0.34 b	14.75 ± 3.39 ab	4.35 ± 1.01 def
	Cb3-1	10.15 ± 0.65 a	13.41 ± 0.58 a	11.57 ± 0.45 c	5.15 ± 0.53 cd
	Cb4-1	5.38 ± 0.44 ef	11.79 ± 0.20 b	12.39 ± 0.77 bc	10.20 ± 0.99 a
	Cb5-1	10.22 ± 0.34 a	10.56 ± 0.74 bcd	11.58 ± 0.41 c	4.08 ± 0.15 d-h
ค่าเฉลี่ย		8.69 ± 0.91	11.17 ± 0.84	11.44 ± 1.27	5.73 ± 1.13
เหนือ	Cr1-1	4.40 ± 0.24 f	8.10 ± 0.49 efg	7.82 ± 0.31 de	2.51 ± 0.28 i
	Cr2-1	4.46 ± 0.53 f	6.74 ± 0.42 gh	8.06 ± 0.83 de	2.91 ± 0.19 ghi
	Cr3-1	6.92 ± 0.38 cd	5.27 ± 0.46 h	5.27 ± 0.60 e	2.44 ± 0.23 i
	Pr4-1	5.93 ± 0.29 de	7.88 ± 0.61 efg	7.06 ± 0.26 de	3.91 ± 0.36 d-h
	Pr5-1	9.13 ± 0.29 ab	9.03 ± 0.44 def	7.60 ± 0.78 de	3.06 ± 0.15 f-i
ค่าเฉลี่ย		6.17 ± 0.88	7.40 ± 0.65	7.16 ± 0.50	2.97 ± 0.26
เลี้ยงเหนือ	Nk2-1	9.81 ± 0.58 a	10.87 ± 0.48 bc	8.30 ± 0.50 d	4.32 ± 0.39 d-g
	Nk3-1	6.98 ± 0.41 cd	7.67 ± 0.61 fg	6.78 ± 0.42 de	2.80 ± 0.12 hi
	Nk4-1	9.09 ± 0.54 ab	10.69 ± 0.53 bcd	8.44 ± 0.79 d	4.28 ± 0.23 d-g
	Nk5-1	8.82 ± 0.42 ab	11.33 ± 0.32 bc	15.11 ± 0.96 a	7.86 ± 0.49 b
ค่าเฉลี่ย		8.68 ± 0.60	10.14 ± 0.83	9.66 ± 1.86	4.82 ± 1.08
ตะวันตก	Rc1-1	10.46 ± 0.53 a	9.08 ± 1.01 def	8.91 ± 0.25 d	4.97 ± 0.23 cde
	Rc2-1	9.84 ± 0.32 a	9.08 ± 0.47 def	7.43 ± 0.19 de	4.45 ± 0.24 c-f
	Rc3-1	7.98 ± 0.75 bc	9.59 ± 0.32 cde	8.84 ± 0.59 d	3.68 ± 0.63 e-i
	Rc4-1	9.40 ± 0.38 ab	7.98 ± 0.46 efg	8.35 ± 0.25 d	5.13 ± 0.21 cde
	Rc5-1	9.86 ± 0.68 a	7.28 ± 0.28 fg	7.71 ± 0.29 de	5.78 ± 0.47 c
ค่าเฉลี่ย		9.51 ± 0.42	8.60 ± 0.42	8.25 ± 0.30	4.80 ± 0.35
ค่าเฉลี่ยรวม		8.24 ± 0.46 a	9.29 ± 0.47 a	9.10 ± 0.62 a	4.57 ± 0.43 b

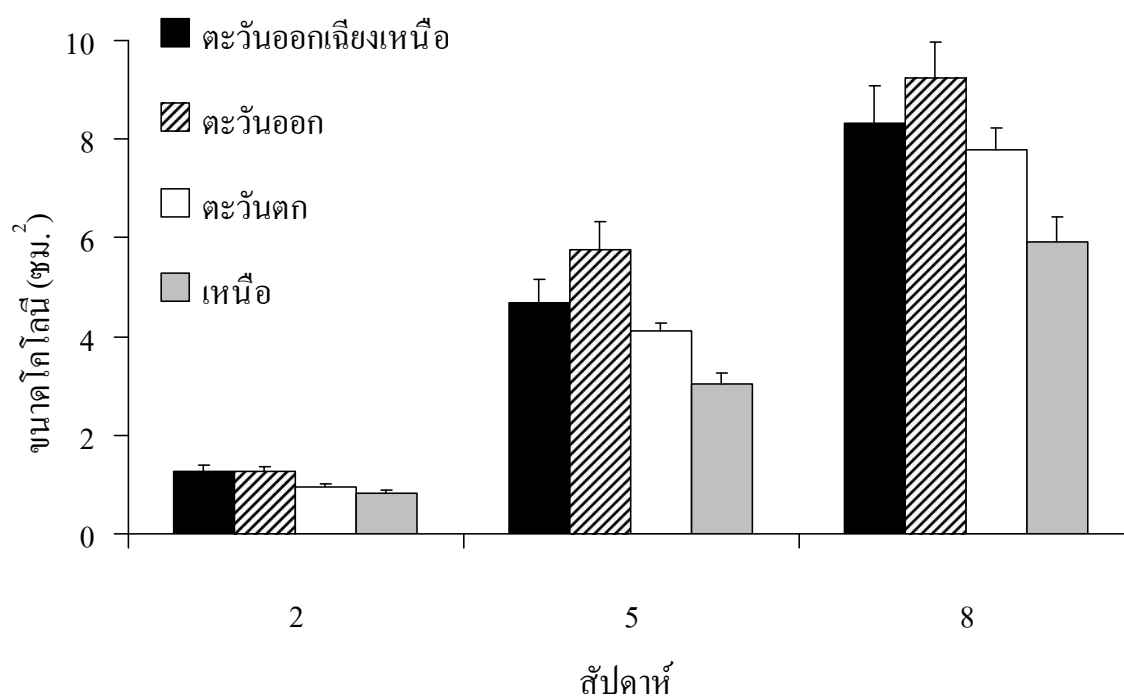
^{1/} PDA คือ potato dextrose agar, CA คือ cereal agar, CCA คือ corn cereal agar, JCCA คือ Job' tear corn cereal agar

^{2/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

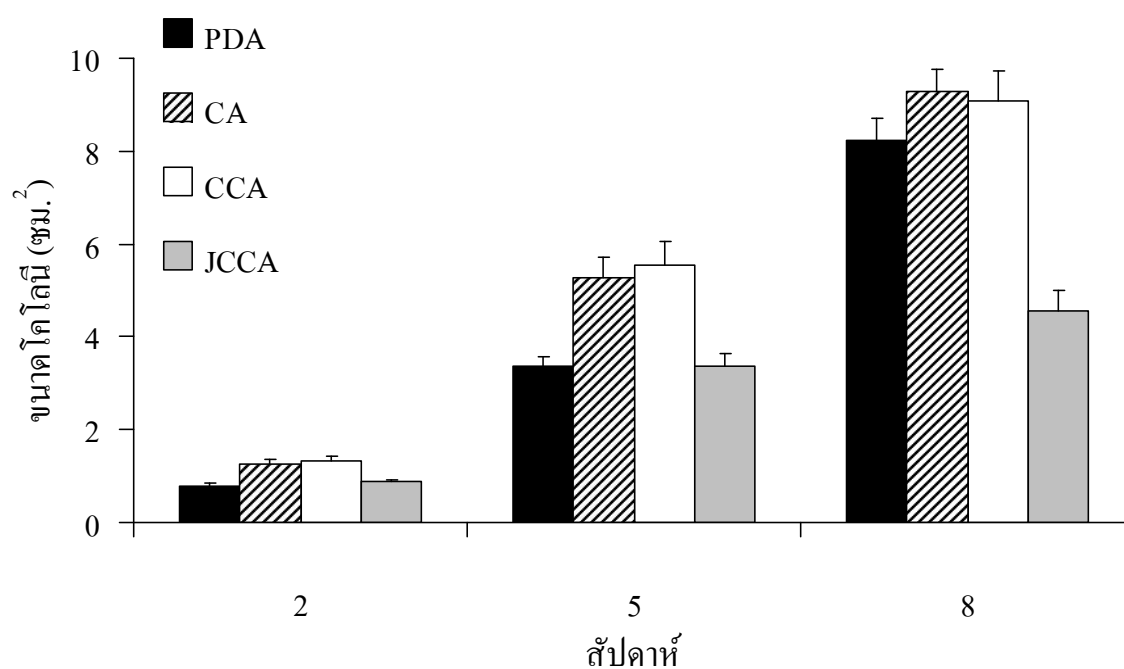
2. การเจริญเติบโตของเชื้อแต่ละภาค

เมื่อนำข้อมูลการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด มาวิเคราะห์การเจริญเติบโตเป็นภาค พบว่าที่อายุ 2 สัปดาห์ ไอโซเลตจากภาคตะวันออกและตะวันออกเฉียงเหนือมีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด โดยมีขนาดโคโลนีใหญ่กว่าไอโซเลตจากภาคเหนือและตะวันตก 1.3 เท่า เมื่อเชื้อมีอายุ 5 และ 8 สัปดาห์ พบว่าไอโซเลตจากภาคตะวันออกมีขนาดของโคโลนีใหญ่ที่สุด ส่วนไอโซเลตจากภาคเหนือมีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด โดยพบว่าไอโซเลตจากภาคตะวันออกมีขนาดโคโลนีใหญ่กว่าไอโซเลตจากภาคเหนือ 1.9 และ 1.6 เท่า ตามลำดับ เมื่อพิจารณาขนาดโคโลนีของเชื้อแต่ละสัปดาห์ พบว่าที่อายุ 2 สัปดาห์ ไอโซเลตจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกมีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด เท่ากับ 1.25 ซม.² ทั้งสองภาคและเมื่อเชื้อมีอายุ 5 และ 8 สัปดาห์ ไอโซเลตจากภาคตะวันออกจะมีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (5.75 และ 9.26 ซม.² ตามลำดับ) ส่วนไอโซเลตจากภาคเหนือมีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด (3.05 ซม.² และ 5.93 ซม.² ตามลำดับ) (ภาพที่ 1)

จากการเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด พบว่าอาหาร CA และ CCA ทำให้เชื้อทั้ง 4 ภาคมีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 การเจริญเติบโตของเชื้อ *S. ampelinum* แต่ละภาค ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์



ภาพที่ 2 อิทธิพลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. ampelinum* ทั้ง 4 ภาค ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์

4.2.2 ลักษณะสีของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากการศึกษาลักษณะสีของโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* จาก 4 ภาคของประเทศไทย (ตะวันออก, เหนือ, ตะวันออกเฉียงเหนือ และตะวันตก) จำนวน 19 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด (PDA, CA, CCA และ JCCA) ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์ พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตมีสีโคโลนีต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ อายุของเชื้อ และภาคที่เป็นแหล่งเก็บเชื้อ เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ พบว่าสีของโคโลนีไม่คงที่เมื่อเวลาเปลี่ยนแปลงไป โดยที่อายุ 2 สัปดาห์ ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของสีได้ในแต่ละไอโซเลต เนื่องจากโคโลนีมีเพียง 1-2 สี สามารถแยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจนเมื่อเชื้อมีอายุ 5 สัปดาห์ บนอาหาร CA และ CCA ส่วนที่อายุ 8 สัปดาห์โคโลนีเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม นอกจากนี้ ยังพบว่าสีของโคโลนีภายในภาคเดียวกันมีความคล้ายคลึงกัน ยกเว้นไอโซเลตจากภาคตะวันออกมีความหลากหลายของสีภายในภาค (ภาพภาคผนวกที่ 1, 2 และ 3; ตารางที่ 9, 10 และ 11)

ตารางที่ 9 สีโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 2 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

ภาค	ไอโซเลต	สีของโคโลนี			
		PDA	CA	CCA	JCCA
ตะวันออก	Cb1-1	น้ำตาลอ่อน	แดง-ขาว-เหลือง	แดง-เหลือง	เหลือง
	Cb2-1	น้ำตาลอ่อน	เหลือง	เหลือง	เหลือง
	Cb3-1	น้ำตาลอ่อน	เหลือง	เหลือง	เหลือง
	Cb4-1	น้ำตาลอ่อน	แดง-ขาว-เหลือง	แดง-เหลือง	เหลือง
	Cb5-1	น้ำตาลอ่อน	แดง-ขาว-เหลือง	แดง-เหลือง	เหลือง
เหนือ	Cr1-1	น้ำตาลอ่อน	แดง-เหลือง	เหลือง	เหลือง
	Cr2-1	น้ำตาลอ่อน	แดง-เหลือง	เหลือง	เหลือง
	Cr3-1	น้ำตาลอ่อน	แดง-เหลือง	แดง-เหลือง	เหลือง
	Pr4-1	น้ำตาลอ่อน	แดง-เหลือง	แดง-เหลือง	เหลือง
	Pr5-1	น้ำตาลอ่อน	แดง-เหลือง	แดง-เหลือง	เหลือง
ตะวันออก เฉียงเหนือ	Nk2-1	น้ำตาลอ่อน	เหลือง	เหลือง	เหลือง
	Nk3-1	น้ำตาลอ่อน	เหลือง	แดง-เหลือง	เหลือง
	Nk4-1	น้ำตาลอ่อน	เหลือง	เหลือง	เหลือง
	Nk5-1	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอ่อน-เหลือง	แดง-น้ำตาลอ่อน-เหลือง	เหลือง
ตะวันตก	Rc1-1	น้ำตาลอ่อน	แดง	แดง	เหลือง
	Rc2-1	น้ำตาลอ่อน	แดง	แดง	เหลือง
	Rc3-1	น้ำตาลอ่อน	แดง	แดง-เหลือง	เหลือง
	Rc4-1	น้ำตาลอ่อน	แดง	แดง	เหลือง
	Rc5-1	น้ำตาลอ่อน	แดง	แดง	เหลือง

ตารางที่ 10 สีโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 5 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

ภาค	ไอโซเลต	สีของโคโลนี			
		PDA	CA	CCA	JCCA
ตะวันออก	Cb1-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	น้ำตาล-ส้ม-ขาว-เหลือง	น้ำตาล-ส้ม-แดง	น้ำตาลอ่อน
	Cb2-1	เทา-ขาว-เหลือง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล-ขาว
	Cb3-1	เทา-ขาว-เหลือง	เหลือง	เหลือง	น้ำตาล-ขาว
	Cb4-1	น้ำตาล-ส้ม-ขาว	น้ำตาล-ขาว	น้ำตาล-ส้ม-เหลือง	น้ำตาลอ่อน
	Cb5-1	น้ำตาล-ส้ม-ขาว	น้ำตาล-เทา-ส้ม-ขาว	น้ำตาล-ส้ม-ขาว-เหลือง	น้ำตาลอ่อน
เหนือ	Cr1-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	แดง-เหลือง	แดง-เหลือง	น้ำตาล
	Cr2-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	น้ำตาล-ส้ม-เหลือง	แดง-เหลือง	น้ำตาล
	Cr3-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	น้ำตาล-แดง-ขาว-เหลือง	แดง-เหลือง	น้ำตาล
	Pr4-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	น้ำตาล-ส้ม-เหลือง	แดง-เหลือง	น้ำตาล
	Pr5-1	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอ่อน-เหลือง	น้ำตาล-ขาว-เหลือง	น้ำตาลอ่อน
ตะวันออก เฉียงเหนือ	Nk2-1	น้ำตาลอ่อน	ส้ม-ขาว-เหลือง	น้ำตาล-ส้ม-เหลือง	น้ำตาลอ่อน
	Nk3-1	น้ำตาลอ่อน	ส้ม-ขาว-เหลือง	น้ำตาล-ส้ม-เหลือง	น้ำตาลอ่อน
	Nk4-1	น้ำตาลอ่อน	ส้ม-ขาว-เหลือง	น้ำตาล-ส้ม-เหลือง	น้ำตาลอ่อน
	Nk5-1	ดำ-ขาว-เหลือง	น้ำตาล-เทา-ขาว-เหลือง	น้ำตาลอ่อน-เหลือง	น้ำตาล
ตะวันตก	Rc1-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	น้ำตาล-ส้ม-แดง	น้ำตาล-ส้ม-แดง	น้ำตาลอ่อน
	Rc2-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	น้ำตาล-ส้ม-แดง	น้ำตาล-ส้ม-แดง	น้ำตาลอ่อน
	Rc3-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	น้ำตาล-ส้ม-แดง	น้ำตาล-ส้ม-แดง	เทา-น้ำตาลอ่อน
	Rc4-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	น้ำตาล-ส้ม-แดง	น้ำตาล-ส้ม-แดง-ขาว	น้ำตาลอ่อน
	Rc5-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	น้ำตาล-ส้ม-แดง	น้ำตาล-ส้ม-แดง	น้ำตาลอ่อน

ตารางที่ 11 สีโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 8 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

ภาค	ไอโซเลต	สีของโคโลนี			
		PDA	CA	CCA	JCCA
ตะวันออก	Cb1-1	น้ำตาล-ขาว	น้ำตาล-เทา-ขาว	น้ำตาล-เทา-ขาว	น้ำตาล-เหลือง
	Cb2-1	เทา-ขาว	น้ำตาล-เทา-ขาว	น้ำตาล-เทา	น้ำตาล-ขาว
	Cb3-1	น้ำตาล-ขาว	น้ำตาล-เทา	น้ำตาล-เทา	น้ำตาล-เทา-เหลือง
	Cb4-1	น้ำตาล-ขาว	ดำ-น้ำตาล-เทา-ขาว	ดำ-น้ำตาล-เทา	น้ำตาล-เทา-เหลือง
	Cb5-1	น้ำตาล-ขาว	ดำ-น้ำตาล-เทา-ขาว	ดำ-น้ำตาล-เทา-ขาว	น้ำตาลอ่อน
เหนือ	Cr1-1	ดำ-น้ำตาล-ขาว	น้ำตาล-แดง-เหลือง	น้ำตาล-แดง	น้ำตาลอ่อน
	Cr2-1	ดำ-น้ำตาล-ขาว	น้ำตาล-แดง-เหลือง	น้ำตาล-แดง	น้ำตาลอ่อน
	Cr3-1	ดำ-น้ำตาล-ขาว	น้ำตาล-แดง-เหลือง	น้ำตาล-แดง	น้ำตาลอ่อน
	Pr4-1	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาล-แดง-เหลือง	น้ำตาล-แดง-เหลือง	น้ำตาลอ่อน
	Pr5-1	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาล-แดง-เหลือง	น้ำตาล-แดง-เหลือง	น้ำตาลอ่อน
ตะวันออก เฉียงเหนือ	Nk2-1	น้ำตาลอ่อน	ส้ม-ขาว-เหลือง	น้ำตาล-เหลือง	น้ำตาลอ่อน
	Nk3-1	ดำ-น้ำตาล	น้ำตาล-เทา-เหลือง	ดำ-น้ำตาล-เทา	น้ำตาลอ่อน
	Nk4-1	น้ำตาลอ่อน	ส้ม-ขาว-เหลือง	น้ำตาล-เหลือง	น้ำตาลอ่อน
	Nk5-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	เทา-ขาว-เหลือง	ดำ-น้ำตาล-เหลือง	ดำ-น้ำตาล
ตะวันตก	Rc1-1	น้ำตาลอ่อน-ขาว	ดำ-น้ำตาล-ส้ม	ดำ-น้ำตาล-ส้ม	น้ำตาล-เทา
	Rc2-1	น้ำตาล-ขาว	ดำ-น้ำตาล-ส้ม	ดำ-น้ำตาล-ส้ม	น้ำตาล-เทา
	Rc3-1	น้ำตาล-ขาว	ดำ-น้ำตาล-ส้ม	ดำ-น้ำตาล-ส้ม	น้ำตาล-เทา
	Rc4-1	น้ำตาล-ขาว	ดำ-น้ำตาล-ส้ม	ดำ-น้ำตาล-ส้ม	น้ำตาล-เทา
	Rc5-1	น้ำตาล-ขาว	ดำ-น้ำตาล-ส้ม	ดำ-น้ำตาล-ส้ม	น้ำตาล-เทา

4.2.3 การมีหรือไม่มี aerial mycelium

จากการศึกษาการมีหรือไม่มี aerial mycelium ของเชื้อ *S. ampelinum* จาก 4 ภาคของประเทศไทย (ตะวันออก, เหนือ, ตะวันออกเฉียงเหนือ และตะวันตก) จำนวน 19 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด (PDA, CA, CCA และ JCCA) ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์ ด้วยกล้องสเตอริโอ พบว่าไอโซเลตส่วนใหญ่มีความสามารถในการสร้าง aerial mycelium ได้แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ และระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกัน ทำให้เชื้อสามารถสร้าง aerial mycelium ต่างกัน ในอาหาร PDA เชื้อทุกไอโซเลตสร้าง aerial mycelium ได้ตั้งแต่ระยะ 2 สัปดาห์ ในขณะที่ไอโซเลตส่วนใหญ่ยังไม่สร้าง aerial mycelium ในอาหาร CA, CCA และ JCCA (68, 79 และ 74% ตามลำดับ) ไอโซเลตส่วนใหญ่มีการสร้าง aerial mycelium มากขึ้นเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น ที่อายุ 8 สัปดาห์ เชื้อ 52.6% สร้าง aerial mycelium ได้ในอาหารทั้ง 4 ชนิด อย่างไรก็ตาม พบเชื้อบาง

ไอโซเลตที่ไม่สามารถสร้าง aerial mycelium ได้ แม้จะมีอายุ 8 สัปดาห์ เช่น ไอโซเลต Cr1-1 ไม่สร้าง aerial mycelium บนอาหาร JCCA ไอโซเลต Cr2-1 ไม่สร้าง aerial mycelium บนอาหาร CA ไอโซเลต Cb4-1 ไม่สร้าง aerial mycelium บนอาหาร CCA ไอโซเลต Cb3-1 ไม่สร้าง aerial mycelium บนอาหาร CA และ CCA ไอโซเลต Pr4-1 ไม่สร้าง aerial mycelium บนอาหาร CA, CCA และ JCCA และเมื่อพิจารณาการสร้าง aerial mycelium ตามภาค พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน ภาคไม่มีผลต่อการสร้าง aerial mycelium ของเชื้อ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 Aerial mycelium ของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

ภาค	ไอโซเลต	Aerial mycelium											
		2 สัปดาห์				5 สัปดาห์				8 สัปดาห์			
		PDA	CA	CCA	JCCA	PDA	CA	CCA	JCCA	PDA	CA	CCA	JCCA
ตะวันออก	Cb1-1	++ ¹	+	-	-	++	++	-	+	++	+	+	++
	Cb2-1	++	-	+	++	++	-	-	++	++	+	+	++
	Cb3-1	++	+	-	+	++	-	-	++	++	-	-	++
	Cb4-1	++	++	-	+	++	++	-	++	++	++	-	++
	Cb5-1	++	+	+	-	++	++	-	+	++	++	++	-
เหนือ	Cr1-1	++	-	-	-	++	-	-	-	++	+	+	-
	Cr2-1	++	-	-	-	++	-	+	-	++	-	+	+
	Cr3-1	++	-	-	-	++	+	+	-	++	+	+	+
	Pr4-1	++	-	-	-	++	-	-	+	++	-	-	-
	Pr5-1	++	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
เฉียงเหนือ	Nk2-1	++	-	-	-	++	+	-	+	++	++	+	+
	Nk3-1	+	-	-	-	++	+	+	+	++	++	++	+
	Nk4-1	++	+	+	-	++	++	+	+	++	++	+	+
	Nk5-1	++	+	-	+	++	++	+	++	++	++	-	++
ตะวันตก	Rc1-1	++	-	-	+	++	-	-	++	++	+	+	++
	Rc2-1	++	-	+	-	++	+	+	+	++	+	+	+
	Rc3-1	++	-	-	-	++	-	+	++	++	+	+	++
	Rc4-1	++	-	-	-	++	-	+	++	++	-	+	++
	Rc5-1	++	-	-	-	++	-	+	++	++	-	+	++

¹ ++ = aerial mycelium จำนวนมาก; + = aerial mycelium จำนวนน้อย; - = ไม่ปรากฏ aerial mycelium

4.2.4 รูปร่างของโคโลนี

เมื่อพิจารณารูปร่างโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* จาก 4 ภาคของประเทศไทย (ตะวันออก, เหนือ, ตะวันออกเฉียงเหนือ และตะวันตก) จำนวน 19 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด (PDA, CA, CCA และ JCCA) ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์ พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตมีรูปร่างโคโลนีแตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกันมีผลทำให้โคโลนีมีรูปร่างแตกต่างกัน ในอาหาร PDA และ JCCA โคโลนีของไอโซเลตส่วนใหญ่มีรูปร่างนูนสูง-ผิวย่น และนูนสูง-ผิวย่นมาก ส่วนในอาหาร CA และ CCA โคโลนีของไอโซเลตมีรูปร่างต่างกัน 4 ลักษณะ คือ นูน-ผิวย่น นูน-ผิวเรียบ แบน-ผิวย่น และแบน-ผิวเรียบ และพบว่าไอโซเลตส่วนใหญ่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพียงเล็กน้อย เมื่อเชื้อมีอายุมากขึ้น ส่วนภาคที่เป็นแหล่งเก็บเชื้อไม่ความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโคโลนีของเชื้อ (ตารางที่ 13, 14 และ 15)

ตารางที่ 13 รูปร่างของโคโลนีเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 2 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

ภาค	ไอโซเลต	รูปร่างของโคโลนี			
		PDA	CA	CCA	JCCA
ตะวันออก	Cb1-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	นูน ผิวย่น	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่นมาก
	Cb2-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวเรียบ
	Cb3-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวเรียบ
	Cb4-1	นูนสูง ผิวย่น	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่น
	Cb5-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่น
เหนือ	Cr1-1	นูนสูง ผิวย่น	นูน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่นมาก
	Cr2-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่นมาก
	Cr3-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	นูน ผิวย่น	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่น
	Pr4-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่น
	Pr5-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	นูน ผิวย่น	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่นมาก
ตะวันออกเฉียงเหนือ	Nk2-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	นูน ผิวย่น	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่นมาก
	Nk3-1	นูนสูง ผิวย่น	นูน ผิวย่น	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่น
	Nk4-1	นูนสูง ผิวย่น	นูน ผิวย่น	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่นมาก
	Nk5-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่น
ตะวันตก	Rc1-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่น
	Rc2-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่นมาก
	Rc3-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	นูน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่นมาก
	Rc4-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่นมาก
	Rc5-1	นูนสูง ผิวย่นมาก	นูน ผิวย่น	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวย่นมาก

ตารางที่ 14 รูปร่างของโคโลนีเชื้อ *S. ampelimum* จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 5 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

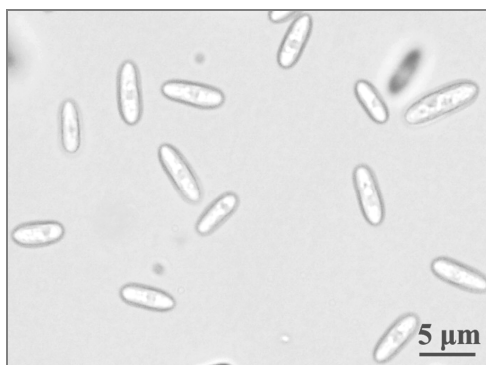
ภาค	ไอโซเลต	รูปร่างของโคโลนี			
		PDA	CA	CCA	JCCA
ตะวันออก	Cb1-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	นูน ผิวขุ่น	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Cb2-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
	Cb3-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
	Cb4-1	นูนสูง ผิวขุ่น	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Cb5-1	นูนสูง ผิวขุ่น	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
เหนือ	Cr1-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Cr2-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวขุ่น	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Cr3-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Pr4-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	แบน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
	Pr5-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
ตะวันออกเฉียงเหนือ	Nk2-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Nk3-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
	Nk4-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	แบน ผิวขุ่น	แบน ผิวขุ่น	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Nk5-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
ตะวันตก	Rc1-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Rc2-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
	Rc3-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Rc4-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Rc5-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น

ตารางที่ 15 รูปร่างของโคโลนีเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต ที่อายุ 8 สัปดาห์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด

ภาค	ไอโซเลต	รูปร่างของโคโลนี			
		PDA	CA	CCA	JCCA
ตะวันออก	Cb1-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	นูน ผิวขุ่น	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Cb2-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
	Cb3-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Cb4-1	นูนสูง ผิวขุ่น	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Cb5-1	นูนสูง ผิวขุ่น	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
เหนือ	Cr1-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
	Cr2-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวขุ่น	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Cr3-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Pr4-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	แบน ผิวขุ่น	นูนสูง ผิวขุ่น
	Pr5-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	แบน ผิวขุ่น	นูนสูง ผิวขุ่น
ตะวันออกเฉียงเหนือ	Nk2-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	นูน ผิวขุ่น	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Nk3-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
	Nk4-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวขุ่น	นูน ผิวขุ่น	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Nk5-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	แบน ผิวเรียบ	แบน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
ตะวันตก	Rc1-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Rc2-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่น
	Rc3-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Rc4-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก
	Rc5-1	นูนสูง ผิวขุ่นมาก	นูน ผิวเรียบ	นูน ผิวเรียบ	นูนสูง ผิวขุ่นมาก

4.2.5 ขนาดของโคนีเดีย

จากการเลี้ยงเชื้อ *S. ampelinum* ทั้ง 19 ไอโซเลต บนชิ้นใบองุ่นพันธุ์อ่อนแอ และวัดขนาดของโคนีเดียด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าโคนีเดียมีลักษณะรูปไข่ หัวท้ายมน ไม่มีสี (ภาพที่ 3) ความยาวโคนีเดียของไอโซเลตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{18, 931} = 22.53$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 2) โดยไอโซเลต Rc1-1 และ Rc2-1 มีความยาวโคนีเดียมากที่สุดเท่ากับ 5.51 และ 5.48 ไมครอน ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับไอโซเลต Cr2-1 (5.33 ไมครอน) แต่มากกว่าไอโซเลตอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าความกว้างโคนีเดียของเชื้อแต่ละไอโซเลตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{18, 931} = 23.44$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 2) โดยพบว่าไอโซเลต Rc1-1 มีความกว้างโคนีเดียมากที่สุด เท่ากับ 2.07 ไมครอน และไม่แตกต่างทางสถิติกับไอโซเลต Cb3-1 (2.00 ไมครอน) แต่กว้างกว่าไอโซเลตอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าทั้ง 19 ไอโซเลต มีขนาดของโคนีเดียอยู่ระหว่าง $4.20-5.51 \times 1.58-2.07$ ไมครอน (ตารางที่ 16)



ภาพที่ 3 ลักษณะ โคนิเดียของเชื้อ *S. ampelinum* ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์

ตารางที่ 16 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยขนาดโคนิเดียของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต

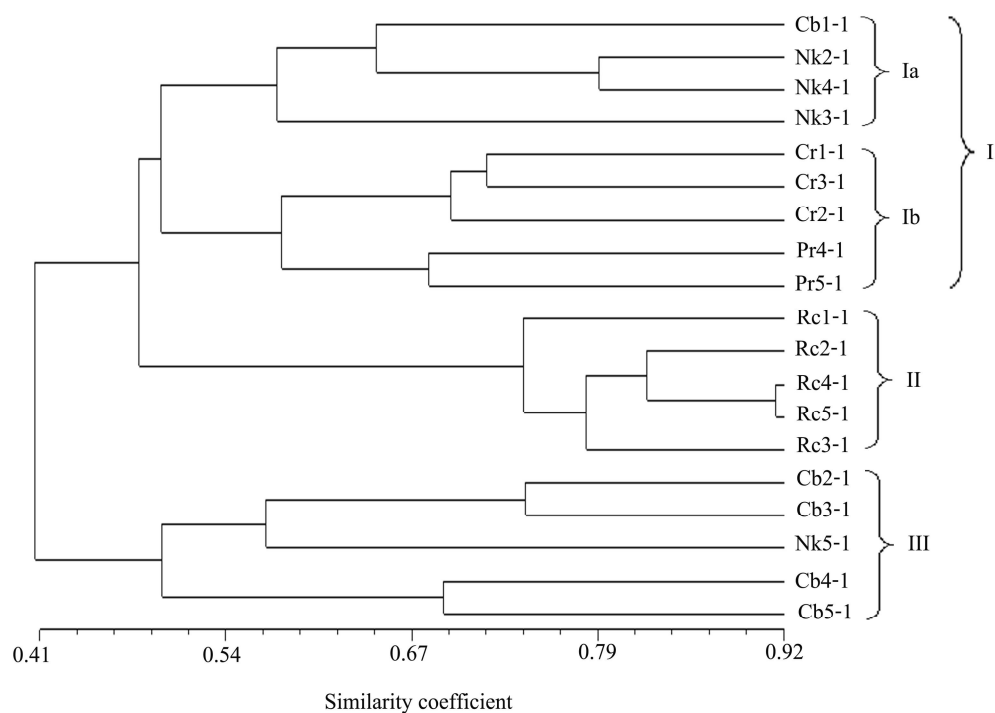
ภาค	ไอโซเลต	ขนาดโคนิเดีย (ไมครอน)	
		ความยาว	ความกว้าง
ตะวันออก	Cb1-1	4.49 ± 0.10 ghi ^{1/}	1.62 ± 0.03 k
	Cb2-1	4.88 ± 0.08 de	1.95 ± 0.03 bcd
	Cb3-1	5.01 ± 0.09 cd	2.00 ± 0.05 ab
	Cb4-1	4.46 ± 0.07 ghi	1.85 ± 0.04 ef
	Cb5-1	4.48 ± 0.09 ghi	1.63 ± 0.03 jk
ค่าเฉลี่ย		4.66 ± 0.12	1.81 ± 0.08
เหนือ	Cr1-1	5.19 ± 0.07 bc	1.86 ± 0.03 def
	Cr2-1	5.32 ± 0.07 ab	1.89 ± 0.03 cde
	Cr3-1	4.93 ± 0.06 d	1.71 ± 0.02 hij
	Pr4-1	4.61 ± 0.07 fgh	1.65 ± 0.03 ijk
	Pr5-1	4.40 ± 0.06 hi	1.58 ± 0.02 k
ค่าเฉลี่ย		4.89 ± 0.17	1.74 ± 0.06
ตะวันออกเฉียงเหนือ	Nk2-1	4.27 ± 0.08 i	1.88 ± 0.04 cde
	Nk3-1	4.42 ± 0.09 hi	1.81 ± 0.03 efg
	Nk4-1	4.68 ± 0.07 efg	1.98 ± 0.03 b
	Nk5-1	4.67 ± 0.08 efg	1.73 ± 0.03 ghi
ค่าเฉลี่ย		4.51 ± 0.10	1.85 ± 0.05
ตะวันตก	Rc1-1	5.51 ± 0.09 a	2.07 ± 0.03 a
	Rc2-1	5.48 ± 0.07 a	1.96 ± 0.03 bc
	Rc3-1	4.99 ± 0.08 cd	1.77 ± 0.03 fgh
	Rc4-1	4.79 ± 0.09 def	1.77 ± 0.02 fgh
	Rc5-1	4.84 ± 0.07 def	1.67 ± 0.02 ijk
ค่าเฉลี่ย		5.12 ± 0.16	1.85 ± 0.07

^{1/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ยจาก 50 โคนิเดียต่อไอโซเลต $\pm$ S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

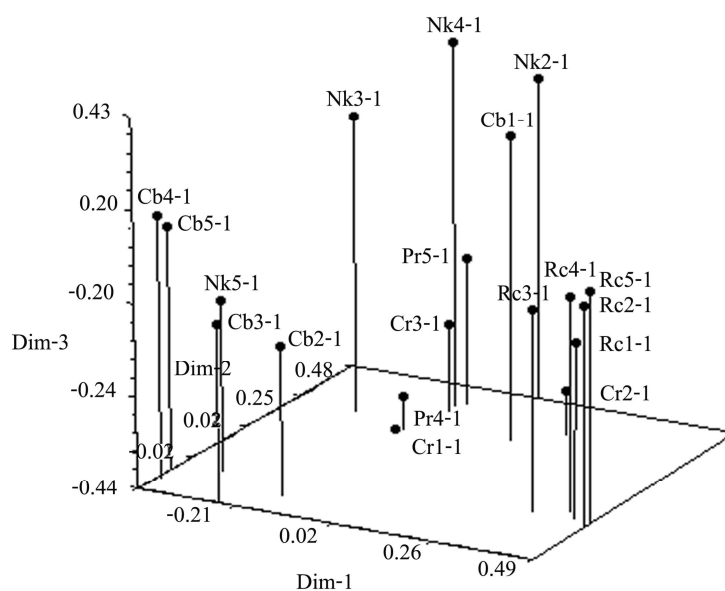
4.2.6 การจัดกลุ่มเชื้อ *S. ampelinum* จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการนำลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ สีของโคโลนี การมีหรือไม่มี aerial mycelium และรูปร่างของโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต ซึ่งเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อมา ประเมินความเหมือนทางพันธุกรรม (genetic similarity) โดยใช้โปรแกรม NYSYSsp2.2 พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตมีความเหมือนกันทางสัณฐานวิทยาระหว่าง 0.41-0.91 ซึ่ง UPGMA cluster analysis ให้ dendrogram ที่แบ่งเชื้อออกเป็นกลุ่มใหญ่ 3 กลุ่ม ที่ระดับความเหมือนกันทางสัณฐานวิทยา 0.48 (ภาพที่ 4) Cophenetic correlation coefficient ของ Mantel's test มีค่า 0.86 ($P < 0.01$) บ่งบอกการเชื่อมโยงของไอโซเลตภายในแต่ละกลุ่มของ dendrogram อย่างชัดเจน โดยกลุ่มที่ I ประกอบด้วย ไอโซเลตจากภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ จำนวน 9 ไอโซเลต กลุ่มนี้ถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย กลุ่มย่อย Ia เป็นไอโซเลตจากภาคตะวันออก (Cb1-1) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 ไอโซเลต (Nk2-1, Nk3-1 และ Nk4-1) และกลุ่มย่อย Ib เป็นไอโซเลตจากภาคเหนือ (Cr1-1, Cr2-1, Cr3-1, Pr4-1 และ Pr5-1) กลุ่มที่ II ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคตะวันตก จำนวน 5 ไอโซเลต (Rc1-1, Rc2-1, Rc3-1, Rc4-1 และ Rc5-1) กลุ่มที่ III ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคตะวันออก จำนวน 4 ไอโซเลต (Cb2-1 Cb3-1 Cb4-1 และ Cb5-1) และไอโซเลตจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 1 ไอโซเลต (Nk5-1)

PCoA ยืนยันการแบ่งกลุ่มเชื้อ *S. ampelinum* ออกเป็น 3 กลุ่ม เช่นเดียวกับกลุ่ม I, II และ III ของ UPGMA analysis โดยสามารถแบ่งกลุ่ม Ia และ Ib อย่างชัดเจนจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ภาพที่ 5) Principle coordinate components ที่ให้ข้อมูลสูงสุด 3 แกนแรก ช่วยอธิบายความแปรปรวน 18.84, 16.60 และ 11.61 เปอร์เซ็นต์ ของความแปรปรวนทั้งหมด ตามลำดับ โดยมีผลรวม คือ 47.05 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อ *S. ampelinum* จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำนวน 19 ไอโซเลต โดย UPGMA cluster analysis ด้วยโปรแกรม NYSYSsp2.2



ภาพที่ 5 แผนภาพ 3 มิติ แสดง principal coordinates 3 แกนแรกจาก principal coordinate analysis ของเชื้อ *S. ampelinum* จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำนวน 19 ไอโซเลต

4.3 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. ampelinum* โดยใช้เครื่องหมาย

RAPD

จากการนำโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 1 เดือน มาสกัดดีเอ็นเอ โดยวิธีการของ Boehm (2004) และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ 6 ไพรเมอร์ ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอจำนวนมาก และสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้จากทุกตัวอย่าง ได้แก่ RAPD-1, OPA-1, OPA-2, OPA-3, MUNG-1 และ MUNG-2 (ตารางที่ 17) พบว่ามีแถบดีเอ็นเออยู่ระหว่าง 17-36 แถบ รวม 161 แถบ ซึ่งพบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันระหว่างเชื้อแต่ละไอโซเลตจำนวน 116 แถบ มีขนาดโมเลกุลอยู่ระหว่าง 150-2,000 bp แต่ละไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอเฉลี่ย 26.8 แถบ และเป็นแถบที่มีความหลากหลาย (polymorphic band) 19.3 แถบ ไพรเมอร์ MUNG-1 และ RAPD-1 ให้จำนวนที่หลากหลายน้อย (17) และมาก (36) ที่สุด ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ความหลากหลายของไอโซเลตทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 56.0 เปอร์เซ็นต์ (OPA-2) ถึง 88.5 เปอร์เซ็นต์ (MUNG-2) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 72.1 เปอร์เซ็นต์ ค่า PIC แสดงความหลากหลายของอัลลีลในตำแหน่งนั้น ช่วงของค่า PIC ในการศึกษาครั้งนี้คือ 0.23 (OPA-2) ถึง 0.34 (MUNG-1) โดยมีค่าเฉลี่ย 0.30 (ตารางที่ 17; ภาพที่ 6)

คำนวณความเหมือนทางพันธุกรรมของเชื้อแต่ละไอโซเลตด้วยโปรแกรม NYSYSsp 2.2 โดยใช้แถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างกัน จำนวน 116 แถบ พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตมีความเหมือนกันทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.78-0.94 (ภาพที่ 7) Mantel's test ให้ค่า cophenetic correlation coefficient 0.84 ($P < 0.01$) แสดงว่าการจัดกลุ่มของไอโซเลตใน dendrogram มีความสัมพันธ์กับความเหมือนทางพันธุกรรมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยจัดกลุ่มเชื้อ *S. ampelinum* ได้เป็นกลุ่มใหญ่ 4 กลุ่ม ที่ระดับ 0.87 กลุ่มที่ I ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคตะวันออก จำนวน 4 ไอโซเลต (Cb1-1, Cb2-1, Cb3-1 และ Cb4-1) ภาคตะวันตก จำนวน 1 ไอโซเลต (Rc4-1) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 1 ไอโซเลต (Nk5-1) ไอโซเลตจากภาคตะวันออกมีความเหมือนกันทางพันธุกรรมมากที่สุดที่ระดับ 0.91-0.94 โดยไอโซเลต Cb1-1 และ Cb4-1 มีความเหมือนกันทางพันธุกรรมมากที่สุด กลุ่มที่ II ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคเหนือ จำนวน 4 ไอโซเลต (Cr1-1, Cr2-1, Pr4-1 และ Pr5-1) กลุ่มที่ III ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 ไอโซเลต (Nk2-1 Nk3-1 และ Nk4-1) มีความเหมือนกันทางพันธุกรรมภายในกลุ่มอยู่ระหว่าง 0.85-0.89 กลุ่มที่ IV ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคตะวันตก จำนวน 2 ไอโซเลต (Rc1-1 และ Rc2-1) ซึ่งมีความเหมือนกันทางพันธุกรรมที่ระดับ 0.83 ส่วนไอโซเลตที่เหลือ 4 ไอโซเลต ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคตะวันตก จำนวน 2 ไอโซเลต (Rc3-1 และ Rc5-1) ไอโซเลตจากภาคเหนือ จำนวน 1 ไอโซเลต (Cr3-1) และไอโซเลตจากภาคตะวันออก จำนวน 1 ไอโซเลต (Cb5-1) ไม่สามารถแบ่งกลุ่มได้ ซึ่งพบว่าไอโซเลต Cr3-1 และไอโซเลต Cb5-1 มีความเหมือนทางพันธุกรรมกับไอโซเลตอื่นน้อยที่สุดที่ระดับ 0.78

และ 0.81 ตามลำดับ (ภาพที่ 7)

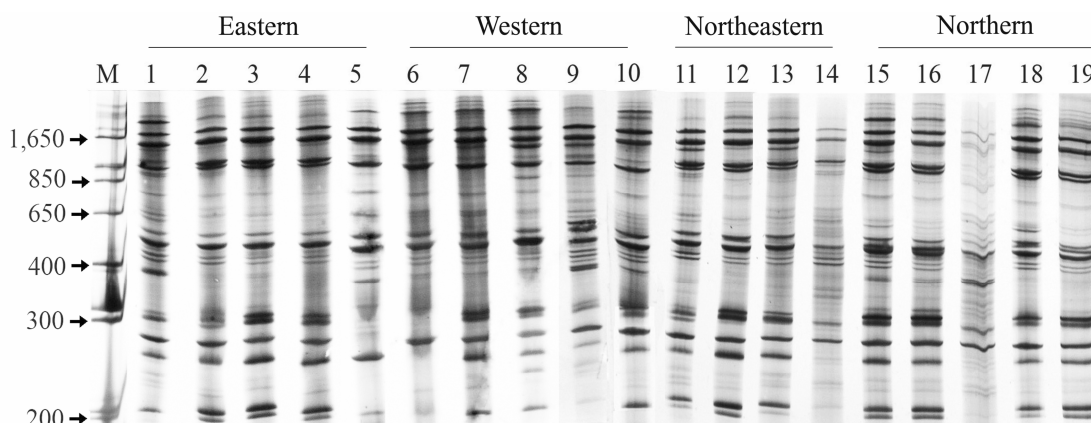
แกนทั้งสามของ PCoA อธิบายความแปรปรวน 17.63, 13.25 และ 8.81 เปอร์เซ็นต์ ของความแปรปรวนทั้งหมด ตามลำดับ โดยมีผลรวม 39.69 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8) PCoA แบ่งไอโซเลตออกเป็น 4 กลุ่ม ที่ต่างกันตามภาคเป็นส่วนใหญ่ เช่นเดียวกับ UPGMA cluster analysis

ผลของการเปรียบเทียบระหว่างการจัดกลุ่มตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมาย RAPD โดยการเปรียบเทียบ similarity และ cophenetic matrices ด้วย matrix correspondence ของ Mantel's test (Mantel, 1967) พบว่าสหสัมพันธ์ระหว่าง similarity matrices ของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมาย RAPD มีค่า 0.08 ($P > 0.05$) แสดงถึงความไม่สัมพันธ์กันระหว่างเครื่องหมายทั้งสองในการกำหนดความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างไอโซเลตที่ศึกษา และพบสหสัมพันธ์ระหว่าง matrices ของค่า cophenetic correlation สำหรับ dendrogram ของเครื่องหมาย RAPD และลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่มีความสัมพันธ์กัน ($r = 0.11$; $P > 0.05$) แม้ว่าค่า goodness of fit สำหรับ cophenetic correlation ของเครื่องหมาย RAPD (0.84) มีค่าใกล้เคียงกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา (0.86)

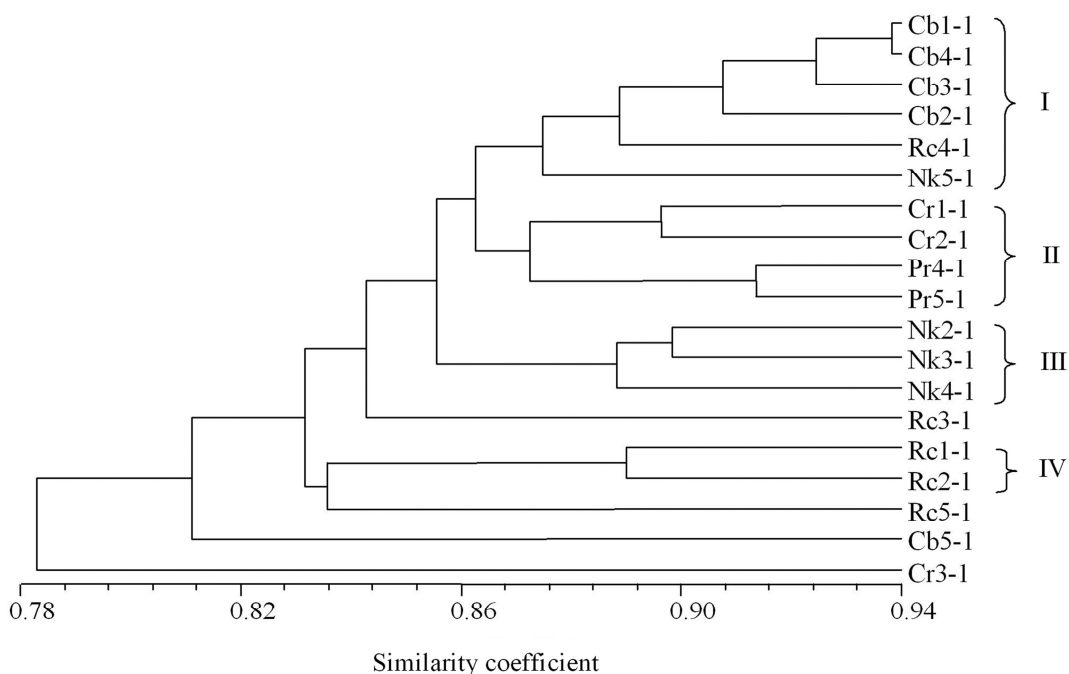
ตารางที่ 17 ไพรเมอร์ RAPD ที่ใช้ในการทดลอง แสดงลำดับเบส จำนวนแถบดีเอ็นเอ เปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง และ polymorphism information content (PIC)

ไพรเมอร์	ลำดับเบส	แถบดีเอ็นเอ	แถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง (%)	PIC
RAPD-1	GGCACTGAGG	36	25 (69.4) ^{1/}	0.27
OPA-1	CAGGCCCTTC	28	23 (82.1)	0.31
OPA-2	TGCCGAGCTG	25	14 (56.0)	0.23
OPA-3	AGTCAGCCAC	29	18 (64.3)	0.34
MUNG-1	GGTGC GGGA	17	13 (76.5)	0.34
MUNG-2	G TAGACCCGT	26	23 (88.5)	0.28
รวม		161	116	1.77
เฉลี่ย		26.8	19.3 (72.1)	0.30

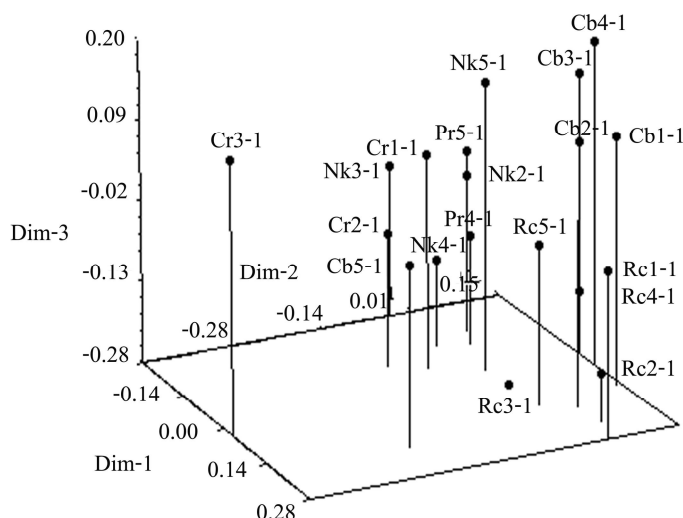
^{1/} ค่าในวงเล็บแสดงเปอร์เซ็นต์ของแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง



ภาพที่ 6 รูปแบบแถบดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 19 ไอโซเลต ด้วยไพรเมอร์ OPA-3 บน acrylamide gel 6% เลน M, 1 kb plus DNA marker, เลน 1-5 ไอโซเลตจากชลบุรี Cb1-1, 2-1, 3-1, 4-1 และ 5-1; เลน 6-10 ไอโซเลตจากราชบุรี Rc1-1, 2-1, 3-1, 4-1 และ 5-1; เลน 11-14 ไอโซเลตจากนครราชสีมา Nk2-1, 3-1, 4-1 และ 5-1; เลน 15-17 ไอโซเลตจากเชียงราย Cr1-1, 2-1 และ 3-1; เลน 18-19 ไอโซเลตจากแพร่ Pr4-1 และ 5-1



ภาพที่ 7 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อ *S. ampelinum* จากเครื่องหมาย RAPD จำนวน 19 ไอโซเลต โดย UPGMA cluster analysis ด้วยโปรแกรม NTSYSsp2.2



ภาพที่ 8 แผนภาพ 3 มิติ แสดง principal coordinates 3 แกนแรก จาก principal coordinate analysis ของเชื้อ *S. ampelinum* จากเครื่องหมาย RAPD จำนวน 19 ไอโซเลต

4.4 การวิเคราะห์ความต้านทานขององุ่นต่อเชื้อ *S. ampelinum* ในห้องปฏิบัติการ

4.4.1 วิเคราะห์ความต้านทานขององุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ ต่อเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 5 ไอโซเลต

ทำการทดลองโดยใช้องุ่นพันธุ์ต้านทาน จำนวน 6 สายพันธุ์ (Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และ NY65.0551.05) องุ่นพันธุ์อ่อนแอจำนวน 3 พันธุ์ (Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia) และพันธุ์ต้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ (Early Muscat) ใช้เชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 5 ไอโซเลต ซึ่งเป็นตัวแทนจากแต่ละภาค ภาคละ 1 ไอโซเลต ยกเว้นภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ใช้จำนวน 2 ไอโซเลต (Nk4-1 และ Rc2-1) สังเกตวันแรกของการปรากฏแผลชัดเจน และประเมินโรคสเคบหลังการปลูกเชื้อ 4 วัน พบองุ่นสายพันธุ์ NY88.0517.01, NY65.0551.05 และองุ่นพันธุ์อ่อนแอทุกพันธุ์ ปรากฏแผลชัดเจนในวันที่ 2 ของการปลูกเชื้อในทุกไอโซเลต (ตารางที่ 18)

ในการเปรียบเทียบปฏิกิริยาระหว่างพันธุ์องุ่นกับไอโซเลตของเชื้อ พบว่าองุ่นแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีความสามารถในการต้านทานเชื้อแต่ละไอโซเลตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{36, 431} = 9.26$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 3; ตารางที่ 19) องุ่นสายพันธุ์ Wilcox 321, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1 มีความต้านทานต่อเชื้อทุกไอโซเลต NY88.0517.01 ต้านทานต่อไอโซเลต Cb1-1 และ Nk5-1 แต่อ่อนแอต่อไอโซเลต Nk4-1 องุ่นสายพันธุ์ NY88.0507.01 ต้านทานต่อเชื้อเกือบทุกไอโซเลต ยกเว้นไอโซเลต Cr1-1 องุ่นสายพันธุ์ NY65.0551.05 อ่อนแอต่อเชื้อทุกไอโซเลต ยกเว้นไอโซเลต Nk5-1 ส่วนองุ่นพันธุ์ Black Queen, Carolina Black Rose, Early Muscat และ Italia แสดง

ความอ่อนแอต่อเชื้อทุกไอโซเลต ยกเว้น Italia ด้านทานต่อไอโซเลต Nk5-1

เมื่อพิจารณาระดับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. ampelinum* หลังปลูกเชื้อ 4 วัน ดังแสดงในภาพภาคผนวกที่ 4 พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตมีระดับความรุนแรงในการก่อโรคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4, 431} = 80.74$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 4; ตารางที่ 20) โดยไอโซเลต Nk4-1 มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคมากที่สุด (3.08 คะแนน) ไม่แตกต่างทางสถิติกับไอโซเลต Cr1-1 (2.96 คะแนน) ส่วนไอโซเลต Nk5-1 มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคน้อยที่สุด (1.74 คะแนน)

สำหรับความต้านทานโรคสเคบขององุ่น พบว่าองุ่นแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีความสามารถในการต้านทานโรคสเคบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{9, 431} = 273.43$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 3; ตารางที่ 21) โดยองุ่นสายพันธุ์ Wilcox 321, NY 65.0550.04 และ Illinois 547-1 ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีความสามารถในการต้านทานโรคสเคบได้ดีไม่แตกต่างกันที่ระดับคะแนน 1.03, 1.09 และ 1.09 คะแนน ตามลำดับ และพบว่าองุ่นพันธุ์ Black Queen อ่อนแอต่อโรคสเคบมากที่สุด (4.61 คะแนน)

ตารางที่ 18 วันแรกของการปรากฏแผลบนเนื้อเยื่อใบองุ่น (Latent period) ทั้ง 10 พันธุ์/สายพันธุ์

ไอโซเลต พันธุ์/สายพันธุ์	วันแรกของการปรากฏแผล (วันที่)				
	Cb1-1	Cr1-1	Nk4-1	Nk5-1	Rc2-1
Wilcox 321	5	6	4	6	6
NY88.0517.01	2	2	2	2	2
NY88.0507.01	4	4	2	2	4
NY65.0550.04	4	4	4	ns	4
Illinois 547-1	6	5	5	6	5
NY65.0551.05	2	2	2	2	2
Black Queen	2	2	2	2	2
Carolina Black Rose	2	2	2	2	2
Early Muscat	2	2	2	2	2
Italia	2	2	2	2	2

ns คือ ไม่ปรากฏร่องรอยแผล

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 5 ไอโซเลต บนเนื้อเยื่อใบอ่อน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

พันธุ์/สายพันธุ์	ไอโซเลต				
	Cb1-1	Cr1-1	Nk4-1	Nk5-1	Rc2-1
Wilcox 321	1.00 ± 0.00 d ^{1/}	1.00 ± 0.00 d	1.00 ± 0.00 g	1.00 ± 0.00 d	1.15 ± 0.15 d
NY88.0517.01	1.90 ± 0.41 c	2.90 ± 0.53 c	3.05 ± 0.95 d	1.30 ± 0.21 cd	2.78 ± 0.92 c
NY88.0507.01	1.00 ± 0.00 d	3.67 ± 0.42 b	1.95 ± 0.05 e	1.00 ± 0.00 d	1.18 ± 0.08 d
NY65.0550.04	1.00 ± 0.00 d	1.00 ± 0.00 d	1.33 ± 0.33 fg	1.00 ± 0.00 d	1.11 ± 0.11 d
Illinois 547-1	1.00 ± 0.00 d	1.00 ± 0.00 d	1.35 ± 0.35 f	1.00 ± 0.00 d	1.10 ± 0.10 d
NY65.0551.05	4.80 ± 0.13 a	3.40 ± 0.40 bc	4.83 ± 0.17 a	1.25 ± 0.25 cd	4.29 ± 0.29 b
Black Queen	4.70 ± 0.21 a	5.00 ± 0.00 a	4.48 ± 0.15 ab	4.00 ± 0.53 a	4.85 ± 0.05 a
Carolina Black Rose	4.20 ± 0.33 a	4.70 ± 0.21 a	4.34 ± 0.44 b	2.78 ± 0.22 b	4.60 ± 0.00 ab
Early Muscat	3.00 ± 0.21 b	2.70 ± 0.26 c	3.52 ± 0.82 c	2.50 ± 0.22 b	3.15 ± 0.95 c
Italia	4.60 ± 0.16 a	4.20 ± 0.20 ab	4.95 ± 0.05 a	1.60 ± 0.22 c	4.20 ± 0.40 b

^{1/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

ตารางที่ 20 ระดับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. ampelinum* ไอโซเลต Cb1-1, Cr1-1, Nk4-1, Nk5-1 และ Rc2-1

ไอโซเลต	ระดับความรุนแรงในการก่อโรค
Cb1-1	2.72 ± 0.54 b ^{1/}
Cr1-1	2.96 ± 0.48 a
Nk4-1	3.08 ± 0.49 a
Nk5-1	1.74 ± 0.32 c
Rc2-1	2.84 ± 0.50 b

^{1/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

ตารางที่ 21 คะแนนการเกิดโรคสแคบขององุ่น 10 พันธุ์/สายพันธุ์

พันธุ์/สายพันธุ์	คะแนนการเกิดโรคสแคบ
Wilcox 321	1.03 ± 0.03 g ^{1/}
NY88.0517.01	2.39 ± 0.34 e
NY88.0507.01	1.76 ± 0.51 f
NY65.0550.04	1.09 ± 0.00 g
Illinois 547-1	1.09 ± 0.00 g
NY65.0551.05	3.71 ± 0.67 c
Black Queen	4.61 ± 0.17 a
Carolina Black Rose	4.12 ± 0.35 b
Early Muscat	2.97 ± 0.18 d
Italia	3.91 ± 0.59 c

^{1/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ S.E. ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

4.4.2 การวิเคราะห์ความต้านทานขององุ่นลูกผสมต่อเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 2 ไอโซเลต (Nk4-1 และ Rc2-1)

ทำการคัดเลือกเชื้อ *S. ampelinum* ที่มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคสแคบรุนแรง และมีพันธุกรรมต่างกันจากการประเมินด้วยเครื่องหมาย RAPD จำนวน 2 ไอโซเลต (Nk4-1 และ Rc2-1) จาก 5 ไอโซเลต เพื่อประเมินความต้านทานโรคสแคบในองุ่นลูกผสม F₁ จำนวนทั้งหมด 133 ลูกผสม ตั้งแต่วันแรกของการปรากฏแผลชัดเจน พบว่าองุ่นลูกผสม F₁ ทั้งหมดปรากฏแผลชัดเจนในวันที่ 2 ของการปลูกเชื้อทั้งสองไอโซเลต

เมื่อพิจารณาระดับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อ *S. ampelinum* หลังการปลูกเชื้อ 4 วัน พบว่าเชื้อทั้งสองไอโซเลตมีระดับความรุนแรงในการก่อโรคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{1, 242} = 4.22$; $P < 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 5) โดยไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 มีระดับความรุนแรงในการก่อโรค 3.26 และ 2.96 คะแนน ตามลำดับ

สำหรับความสามารถในการต้านทานโรคสแคบขององุ่นลูกผสม F₁ พบว่าแต่ละลูกผสมมีความสามารถในการต้านทานโรคสแคบได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{11, 242} = 2.78$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 5; ตารางที่ 22, 23) องุ่นลูกผสมระหว่าง Black Queen $\times$ Wilcox 321,

Black Queen × NY88.0517.01 และ Carolina Black Rose × NY65.0550.04 มีความสามารถในการต้านทานโรคสแคบได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยของคะแนนการเกิดโรค (2.72, 2.53 และ 2.63 คะแนน ตามลำดับ) ส่วนองุ่นลูกผสมระหว่าง Black Queen × NY65.0551.05 มีความสามารถในการต้านทานโรคสแคบน้อยที่สุด (3.69 คะแนน) และจากการทดสอบลูกผสมจำนวนทั้งหมด 133 ลูกผสมของ 12 คู่ผสม ในห้องปฏิบัติการพบ 29 และ 36 ลูกผสมที่มีความต้านทานถึงต้านทานมากต่อโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 ตามลำดับ โดยมีเพียง 14 ลูกผสม ที่มีความต้านทานถึงต้านทานมากต่อเชื้อทั้งสองไอโซเลต คิดเป็น 10.5 เปอร์เซ็นต์ขององุ่นลูกผสม F_1 ทั้งหมด (ตารางที่ 23 และ 24)

ในการเปรียบเทียบปฏิกริยาระหว่างองุ่นลูกผสมกับไอโซเลตของเชื้อ พบว่าองุ่นลูกผสมแต่ละลูกผสมมีความสามารถในการต้านทานเชื้อทั้งสองไอโซเลตได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{11, 242} = 0.33$; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 4 และ 5)

ตารางที่ 22 คะแนนการเกิดโรคสแคบเฉลี่ยขององุ่นลูกผสม F_1 ในแต่ละคู่ผสม

องุ่นลูกผสม F_1	จำนวน (ต้น)	คะแนนการเกิดโรคสแคบเฉลี่ยในแต่ละคู่ผสม
Black Queen × Wilcox 321	21	2.72 ± 0.13 b ^{1/}
Black Queen × NY88.0517.01	16	2.53 ± 0.32 b
Black Queen × NY65.0550.04	11	3.02 ± 0.05 ab
Black Queen × NY65.0551.05	22	3.69 ± 0.30 a
Carolina Black Rose × Wilcox 321	4	2.94 ± 0.11 ab
Carolina Black Rose × NY88.0517.01	11	3.28 ± 0.10 ab
Carolina Black Rose × NY65.0550.04	9	2.63 ± 0.01 b
Carolina Black Rose × NY65.0551.05	16	3.34 ± 0.25 ab
Early Muscat × NY65.0551.05	9	3.42 ± 0.16 ab
Italia × NY88.0517.01	4	3.08 ± 0.05 ab
Italia × NY65.0550.04	5	3.17 ± 0.11 ab
Italia × NY65.0551.05	5	3.44 ± 0.10 ab

^{1/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ S.E. ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความน่าจะเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

ตารางที่ 23 ระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1 ในอนุ่งลูกผสม F_1 โดยการให้คะแนนการเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ผู้ผสม	ลูกผสม F_1	คะแนนแผลเฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
Black Queen $\times$ Wilcox 321	SUT0411.01	3.20	อ่อนแอ ^{1/}
	SUT0411.04	3.20	อ่อนแอ
	SUT0411.06	3.70	อ่อนแอ
	SUT0411.07	2.90	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.09	2.00	ต้านทาน
	SUT0411.12	3.60	อ่อนแอ
	SUT0411.18	2.60	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.22	3.00	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.23	2.10	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.28	3.40	อ่อนแอ
	SUT0411.30	1.40	ต้านทาน
	SUT0411.35	1.20	ต้านทาน
	SUT0411.37	2.10	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.38	2.56	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.39	2.30	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.43	2.30	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.45	4.60	อ่อนแอมาก
	SUT0411.46	3.40	อ่อนแอ
	SUT0411.47	1.00	ต้านทานมาก
	SUT0411.50	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0411.56	4.30	อ่อนแอมาก
Black Queen $\times$ NY88.0517.01	SUT0401.06	4.90	อ่อนแอมาก
	SUT0401.07	1.90	ต้านทาน
	SUT0401.08	4.80	อ่อนแอมาก
	SUT0401.09	1.30	ต้านทาน
	SUT0401.13	1.70	ต้านทาน
	SUT0401.14	3.86	อ่อนแอ
	SUT0401.15	4.29	อ่อนแอมาก
	SUT0401.18	1.80	ต้านทาน
	SUT0401.19	2.10	ต้านทานปานกลาง
	SUT0401.20	3.50	อ่อนแอ
	SUT0401.24	1.60	ต้านทาน
	SUT0401.27	3.10	อ่อนแอ
	SUT0401.29	2.10	ต้านทานปานกลาง
	SUT0401.30	2.00	ต้านทาน
	SUT0401.32	1.70	ต้านทาน
	SUT0401.33	5.00	อ่อนแอมาก

ตารางที่ 23 ระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1 ในอนุพันธุ์ผสม F_1 โดยการให้คะแนนการเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 4 วัน (ต่อ)

ผู้ผสม	ลูกผสม F_1	คะแนนแผลเฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
Black Queen $\times$ NY65.0550.04	SUT0402.01	4.50	อ่อนแอมาก
	SUT0402.04	1.80	ต้านทาน
	SUT0402.05	2.80	ต้านทานปานกลาง
	SUT0402.06	2.30	ต้านทานปานกลาง
	SUT0402.08	4.40	อ่อนแอมาก
	SUT0402.11	3.70	อ่อนแอ
	SUT0402.12	1.60	ต้านทาน
	SUT0402.13	1.00	ต้านทานมาก
	SUT0402.14	3.89	อ่อนแอ
	SUT0402.30	4.20	อ่อนแอมาก
	SUT0402.54	2.57	ต้านทานปานกลาง
Black Queen $\times$ NY65.0551.05	SUT0410.01	2.70	ต้านทานปานกลาง
	SUT0410.02	4.50	อ่อนแอมาก
	SUT0410.03	4.30	อ่อนแอมาก
	SUT0410.05	2.86	ต้านทานปานกลาง
	SUT0410.07	4.13	อ่อนแอมาก
	SUT0410.08	4.13	อ่อนแอมาก
	SUT0410.09	4.40	อ่อนแอมาก
	SUT0410.10	4.29	อ่อนแอมาก
	SUT0410.11	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0410.16	2.56	ต้านทานปานกลาง
	SUT0410.17	4.20	อ่อนแอมาก
	SUT0410.18	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0410.19	3.20	อ่อนแอ
	SUT0410.20	3.50	อ่อนแอ
	SUT0410.21	3.71	อ่อนแอ
	SUT0410.24	4.38	อ่อนแอมาก
	SUT0410.25	3.90	อ่อนแอ
	SUT0410.27	4.90	อ่อนแอมาก
	SUT0410.28	1.70	ต้านทาน
	SUT0410.31	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0410.32	4.43	อ่อนแอมาก
	SUT0410.47	5.00	อ่อนแอมาก
Carolina Black Rose $\times$ Wilcox 321	SUT0403.03	1.80	ต้านทาน
	SUT0403.06	2.50	ต้านทานปานกลาง
	SUT0403.09	4.00	อ่อนแอ
	SUT0403.10	3.00	ต้านทานปานกลาง

ตารางที่ 23 ระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1 ในอนุ่งลูกผสม F_1 โดยการให้คะแนนการเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 4 วัน (ต่อ)

คู่ผสม	ลูกผสม F_1	คะแนนแผลเฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
Carolina Black Rose × NY88.0517.01	SUT0404.01	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0404.02	1.30	ต้านทาน
	SUT0404.03	2.80	ต้านทานปานกลาง
	SUT0404.08	3.00	ต้านทานปานกลาง
	SUT0404.11	4.60	อ่อนแอมาก
	SUT0404.12	2.44	ต้านทานปานกลาง
	SUT0404.14	3.80	อ่อนแอ
	SUT0404.15	4.30	อ่อนแอมาก
	SUT0404.21	3.70	อ่อนแอ
	SUT0404.36	4.70	อ่อนแอมาก
Carolina Black Rose × NY65.0550.04	SUT0404.40	1.50	ต้านทาน
	SUT0405.02	1.20	ต้านทาน
	SUT0405.03	2.60	ต้านทานปานกลาง
	SUT0405.05	4.60	อ่อนแอมาก
	SUT0405.06	3.30	อ่อนแอ
	SUT0405.13	3.67	อ่อนแอ
	SUT0405.14	1.80	ต้านทาน
	SUT0405.17	4.00	อ่อนแอ
	SUT0405.19	1.10	ต้านทาน
Carolina Black Rose × NY65.0551.05	SUT0405.25	1.50	ต้านทาน
	SUT0406.01	4.20	อ่อนแอมาก
	SUT0406.02	1.00	ต้านทานมาก
	SUT0406.03	3.60	อ่อนแอ
	SUT0406.04	3.70	อ่อนแอ
	SUT0406.05	2.70	ต้านทานปานกลาง
	SUT0406.07	4.10	อ่อนแอมาก
	SUT0406.08	2.80	ต้านทานปานกลาง
	SUT0406.11	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0406.12	3.90	อ่อนแอ
	SUT0406.18	3.56	อ่อนแอ
	SUT0406.20	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0406.21	4.70	อ่อนแอมาก
	SUT0406.22	3.67	อ่อนแอ
	SUT0406.27	4.10	อ่อนแอมาก
	SUT0406.28	1.30	ต้านทาน
	SUT0406.29	4.00	อ่อนแอ

ตารางที่ 23 ระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1 ในองุ่นลูกผสม F_1 โดยการให้คะแนนการเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 4 วัน (ต่อ)

คู่ผสม	ลูกผสม F_1	คะแนนแผลเฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
Early Muscat × NY65.0551.05	SUT0412.01	4.90	อ่อนแอมาก
	SUT0412.02	4.14	อ่อนแอมาก
	SUT0412.05	3.70	อ่อนแอ
	SUT0412.06	3.89	อ่อนแอ
	SUT0412.09	2.00	ต้านทาน
	SUT0412.10	2.90	ต้านทานปานกลาง
	SUT0412.15	4.40	อ่อนแอมาก
	SUT0412.16	3.33	อ่อนแอ
	SUT0412.17	3.00	ต้านทานปานกลาง
Italia × NY88.0517.01	SUT0407.03	1.30	ต้านทาน
	SUT0407.06	3.60	อ่อนแอ
	SUT0407.14	2.70	ต้านทานปานกลาง
	SUT0407.17	4.50	อ่อนแอมาก
Italia × NY65.0550.04	SUT0408.02	3.60	อ่อนแอ
	SUT0408.06	1.00	ต้านทานมาก
	SUT0408.12	3.89	อ่อนแอ
	SUT0408.15	3.60	อ่อนแอ
	SUT0408.18	3.20	อ่อนแอ
Italia × NY65.0551.05	SUT0409.03	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0409.04	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0409.05	1.70	ต้านทาน
	SUT0409.06	1.00	ต้านทานมาก
	SUT0409.21	5.00	อ่อนแอมาก

^{1/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางที่ 24 ระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ในอนุพันธุ์ลูกผสม F_1 โดยการให้คะแนนการเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ผู้ผสม	ลูกผสม F_1	คะแนนแผลเฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
Black Queen $\times$ Wilcox 321	SUT0411.01	3.00	ต้านทานปานกลาง ^{1/}
	SUT0411.04	2.60	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.06	1.50	ต้านทาน
	SUT0411.07	1.40	ต้านทาน
	SUT0411.09	1.70	ต้านทาน
	SUT0411.12	1.43	ต้านทาน
	SUT0411.18	3.10	อ่อนแอ
	SUT0411.22	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0411.23	3.50	อ่อนแอ
	SUT0411.28	2.80	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.30	3.00	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.35	1.90	ต้านทาน
	SUT0411.37	1.30	ต้านทาน
	SUT0411.38	1.10	ต้านทาน
	SUT0411.39	1.40	ต้านทาน
	SUT0411.43	3.80	อ่อนแอ
	SUT0411.45	4.00	อ่อนแอ
	SUT0411.46	2.50	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.47	3.70	อ่อนแอ
	SUT0411.50	3.00	ต้านทานปานกลาง
	SUT0411.56	2.71	ต้านทานปานกลาง
Black Queen $\times$ NY88.0517.01	SUT0401.06	2.00	ต้านทาน
	SUT0401.07	1.10	ต้านทาน
	SUT0401.08	3.20	อ่อนแอ
	SUT0401.09	3.80	อ่อนแอ
	SUT0401.13	1.70	ต้านทาน
	SUT0401.14	1.90	ต้านทาน
	SUT0401.15	3.00	ต้านทานปานกลาง
	SUT0401.18	2.10	ต้านทานปานกลาง
	SUT0401.19	1.50	ต้านทาน
	SUT0401.20	1.40	ต้านทาน
	SUT0401.24	1.40	ต้านทาน
	SUT0401.27	3.20	อ่อนแอ
	SUT0401.29	4.50	อ่อนแอมาก
	SUT0401.30	1.90	ต้านทาน
	SUT0401.32	1.10	ต้านทาน
	SUT0401.33	1.60	ต้านทาน

ตารางที่ 24 ระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ในออ์นลูกผสม F_1 โดยการให้คะแนนการเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 4 วัน (ต่อ)

คู่ผสม	ลูกผสม F_1	คะแนนแผลเฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
Black Queen $\times$ NY65.0550.04	SUT0402.01	4.50	อ่อนแอมาก
	SUT0402.04	3.63	อ่อนแอ
	SUT0402.05	2.14	ต้านทานปานกลาง
	SUT0402.06	4.30	อ่อนแอมาก
	SUT0402.08	3.90	อ่อนแอ
	SUT0402.11	1.50	ต้านทาน
	SUT0402.12	2.20	ต้านทานปานกลาง
	SUT0402.13	3.20	อ่อนแอ
	SUT0402.14	1.20	ต้านทาน
	SUT0402.30	3.90	อ่อนแอ
	SUT0402.54	3.30	อ่อนแอ
Black Queen $\times$ NY65.0551.05	SUT0410.01	3.60	อ่อนแอ
	SUT0410.02	4.30	อ่อนแอมาก
	SUT0410.03	3.60	อ่อนแอ
	SUT0410.05	4.00	อ่อนแอ
	SUT0410.07	4.80	อ่อนแอมาก
	SUT0410.08	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0410.09	3.50	อ่อนแอ
	SUT0410.10	2.33	ต้านทานปานกลาง
	SUT0410.11	3.90	อ่อนแอ
	SUT0410.16	1.60	ต้านทาน
	SUT0410.17	2.75	ต้านทานปานกลาง
	SUT0410.18	2.30	ต้านทานปานกลาง
	SUT0410.19	3.33	อ่อนแอ
	SUT0410.20	4.00	อ่อนแอ
	SUT0410.21	2.00	ต้านทาน
	SUT0410.24	3.10	อ่อนแอ
	SUT0410.25	3.44	อ่อนแอ
	SUT0410.27	3.44	อ่อนแอ
	SUT0410.28	1.90	ต้านทาน
	SUT0410.31	2.88	ต้านทานปานกลาง
	SUT0410.32	4.50	อ่อนแอมาก
	SUT0410.47	4.38	อ่อนแอมาก
Carolina Black Rose $\times$ Wilcox 321	SUT0403.03	4.00	อ่อนแอ
	SUT0403.06	1.80	ต้านทาน
	SUT0403.09	2.50	ต้านทานปานกลาง
	SUT0403.10	3.90	อ่อนแอ

ตารางที่ 24 ระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ในออ์นลูกผสม F_1 โดยการให้คะแนนการเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 4 วัน (ต่อ)

คู่ผสม	ลูกผสม F_1	คะแนนแผลเฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
Carolina Black Rose $\times$ NY88.0517.01	SUT0404.01	3.80	อ่อนแอ
	SUT0404.02	3.00	ต้านทานปานกลาง
	SUT0404.03	2.10	ต้านทานปานกลาง
	SUT0404.08	4.13	อ่อนแอมาก
	SUT0404.11	2.20	ต้านทานปานกลาง
	SUT0404.12	3.30	อ่อนแอ
	SUT0404.14	3.10	อ่อนแอ
	SUT0404.15	4.20	อ่อนแอมาก
	SUT0404.21	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0404.36	3.20	อ่อนแอ
	SUT0404.40	1.00	ต้านทานมาก
Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04	SUT0405.02	2.67	ต้านทานปานกลาง
	SUT0405.03	1.30	ต้านทาน
	SUT0405.05	3.33	อ่อนแอ
	SUT0405.06	4.40	อ่อนแอมาก
	SUT0405.13	4.29	อ่อนแอมาก
	SUT0405.14	2.30	ต้านทานปานกลาง
	SUT0405.17	2.20	ต้านทานปานกลาง
	SUT0405.19	1.10	ต้านทาน
	SUT0405.25	2.00	ต้านทาน
Carolina Black Rose $\times$ NY65.0551.05	SUT0406.01	3.63	อ่อนแอ
	SUT0406.02	1.20	ต้านทาน
	SUT0406.03	3.75	อ่อนแอ
	SUT0406.04	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0406.05	1.70	ต้านทาน
	SUT0406.07	3.50	อ่อนแอ
	SUT0406.08	3.63	อ่อนแอ
	SUT0406.11	3.20	อ่อนแอ
	SUT0406.12	3.00	ต้านทานปานกลาง
	SUT0406.18	2.50	ต้านทานปานกลาง
	SUT0406.20	3.30	อ่อนแอ
	SUT0406.21	1.89	ต้านทาน
	SUT0406.22	3.00	ต้านทานปานกลาง
	SUT0406.27	4.11	อ่อนแอมาก
	SUT0406.28	1.00	ต้านทานมาก
	SUT0406.29	5.00	อ่อนแอมาก

ตารางที่ 24 ระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ในองุ่นลูกผสม F_1 โดยการให้คะแนนการเกิดแผล หลังปลูกเชื้อ 4 วัน (ต่อ)

คู่ผสม	ลูกผสม F_1	คะแนนแผลเฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
Early Muscat × NY65.0551.05	SUT0412.01	3.50	อ่อนแอ
	SUT0412.02	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0412.05	1.50	ต้านทาน
	SUT0412.06	1.56	ต้านทาน
	SUT0412.09	2.50	ต้านทานปานกลาง
	SUT0412.10	4.20	อ่อนแอมาก
	SUT0412.15	3.60	อ่อนแอ
	SUT0412.16	4.50	อ่อนแอมาก
Italia × NY88.0517.01	SUT0412.17	3.00	ต้านทานปานกลาง
	SUT0407.03	1.29	ต้านทาน
	SUT0407.06	4.10	อ่อนแอมาก
	SUT0407.14	2.80	ต้านทานปานกลาง
Italia × NY65.0550.04	SUT0407.17	4.30	อ่อนแอมาก
	SUT0408.02	4.20	อ่อนแอมาก
	SUT0408.06	2.70	ต้านทานปานกลาง
	SUT0408.12	3.00	ต้านทานปานกลาง
	SUT0408.15	2.67	ต้านทานปานกลาง
Italia × NY65.0551.05	SUT0408.18	3.83	อ่อนแอ
	SUT0409.03	4.00	อ่อนแอมาก
	SUT0409.04	5.00	อ่อนแอมาก
	SUT0409.05	1.10	ต้านทาน
	SUT0409.06	4.13	อ่อนแอมาก
	SUT0409.21	2.50	ต้านทานปานกลาง

^{1/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรคสแคบขององุ่นในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่

ในการทดลองนี้ใช้เชื้อ *S. ampelinum* ที่มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคสแคบ จำนวน 2 ไอโซเลต (Nk4-1 และ Rc2-1) ประเมินระดับความต้านทานโรคในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยการใช้คะแนนการเกิดแผลเปรียบเทียบกับ การปล่อยให้เกิดโรคสแคบตามธรรมชาติในสภาพไร่ และให้คะแนนการเกิดแผล โดยใช้อองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่นลูกผสม F_1 จำนวน 24 ลูกผสม เมื่อพิจารณาผลการทดลองในแต่ละสภาพ พบว่าสภาพห้องปฏิบัติการ เชื้อทั้งสองไอโซเลตมีระดับความรุนแรงในการก่อโรคโรคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{1, 601} = 107.10$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 6) โดยไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 มีระดับความรุนแรงในการก่อโรค 3.69 และ

3.31 คะแนน ตามลำดับ

สำหรับความสามารถในการต้านทานโรคสแคบในห้องปฏิบัติการของงุ่นทั้ง 10 พันธุ์/สายพันธุ์และงุ่นลูกผสม F_1 จำนวน 24 ลูกผสม พบว่างุ่นแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีความสามารถในการต้านทานโรคสแคบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{33, 601} = 110.51; P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 6) โดยงุ่นลูกผสม F_1 SUT0404.40 (Carolina Black Rose $\times$ NY88.0517.01) แสดงความต้านทานต่อเชื้อทั้งสองไอโซเลต ส่วน SUT0401.19 (Black Queen $\times$ NY88.0517.01) และ SUT0405.02 (Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04) แสดงความต้านทานต่อเชื้อทั้งสองไอโซเลตในระดับต้านทานปานกลาง

และจากการบันทึกผลการทดลองในสภาพไร่เป็นระยะเวลา 3 ปี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550, 2551 และ 2552 พบว่าระดับความต้านทานโรคสแคบในงุ่นทั้ง 3 ปีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{2, 99} = 0.66; P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 7; ภาพที่ 9) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรคสแคบในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ พบว่าการเกิดโรคสแคบในสภาพห้องปฏิบัติการเมื่อทดสอบด้วยไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 เปรียบเทียบกับผลในสภาพไร่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สเปียร์แมน เท่ากับ 0.54; $P \leq 0.01$ และ 0.41; $P \leq 0.05$ ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม พบงุ่นบางสายพันธุ์ที่มีความต้านทานในสภาพไร่แต่อ่อนแอหรือต้านทานปานกลางในสภาพห้องปฏิบัติการเช่น NY88.0517.01, SUT0413.09 และ SUT0404.11 และจากการทดลองนี้พบว่างุ่น Wilcox 321, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1 และงุ่นลูกผสม F_1 SUT0404.40 เป็นสายพันธุ์/ลูกผสมที่ต้านทานโรคสแคบทั้งสองไอโซเลตมากที่สุด และแสดงความต้านทานโรคสแคบได้ดีในสภาพไร่ (ตารางที่ 25)

ตารางที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรคสแคบขององุ่นในสภาพห้องปฏิบัติการ และสภาพไร่

พันธุ์/สายพันธุ์	สภาพห้องปฏิบัติการ		สภาพไร่	
	Nk4-1	Re2-1	ปี 2550-2552	ฟิโนไทป์
Black Queen	4.48 ± 0.15 abc ^{2/}	4.85 ± 0.05 ab	4.80 ± 0.06	HS ^{3/}
Carolina Black Rose	4.34 ± 0.44 bcd	4.60 ± 0.00 abc	4.37 ± 0.19	HS
Early Muscat	3.52 ± 0.82 fgh	3.15 ± 0.95 ghi	3.80 ± 0.23	S
Italia	4.95 ± 0.05 a	4.20 ± 0.40 cd	4.60 ± 0.06	HS
Wilcox 321	1.00 ± 0.00 l	1.15 ± 0.15 m	1.00 ± 0.00	HR
NY88.0517.01	3.05 ± 0.95 i	2.78 ± 0.92 ij	1.10 ± 0.10	R
NY88.0507.01	1.95 ± 0.05 j	1.18 ± 0.08 m	1.80 ± 0.20	R
NY65.0550.04	1.33 ± 0.33 kl	1.11 ± 0.11 m	1.03 ± 0.03	HR
Illinois 547-1	1.35 ± 0.35 k	1.10 ± 0.10 m	1.03 ± 0.03	HR
NY65.0551.05	4.83 ± 0.17 abc	4.29 ± 0.29 bcd	4.23 ± 0.26	HS
SUT0401.08 ^{1/}	4.55 ± 0.25 abc	3.70 ± 0.50 def	4.00 ± 0.40	S
SUT0401.15	4.54 ± 0.26 abc	3.50 ± 0.50 fgh	4.23 ± 0.20	HS
SUT0401.19	2.61 ± 0.51 i	2.69 ± 1.20 jk	3.00 ± 0.82	M
SUT0403.09	3.19 ± 0.81 h	2.13 ± 0.38 kl	1.60 ± 0.32	R
SUT0404.11	3.36 ± 1.25 gh	2.35 ± 0.15 kl	1.97 ± 0.22	R
SUT0404.15	4.21 ± 0.09 bcd	3.77 ± 0.43 cde	3.03 ± 0.63	M
SUT0404.40	1.56 ± 0.06 k	1.56 ± 0.56 m	1.00 ± 0.00	HR
SUT0405.02	2.60 ± 1.40 j	2.68 ± 0.02 ijk	3.27 ± 0.93	S
SUT0406.01	3.41 ± 0.79 fgh	3.88 ± 0.26 def	4.17 ± 0.09	HS
SUT0406.20	5.00 ± 0.00 a	4.15 ± 0.85 cde	4.07 ± 0.12	HS
SUT0406.21	4.70 ± 0.00 abc	3.44 ± 1.56 hi	4.30 ± 0.26	HS
SUT0406.27	4.30 ± 0.20 bcd	4.01 ± 0.11 cde	3.23 ± 0.30	S
SUT0407.06	2.55 ± 1.05 i	3.55 ± 0.55 efg	3.33 ± 0.52	S
SUT0408.02	3.80 ± 0.20 efg	3.98 ± 0.23 cde	3.07 ± 0.29	S
SUT0409.03	4.64 ± 0.36 abc	4.25 ± 0.25 cde	4.37 ± 0.29	HS
SUT0409.04	4.56 ± 0.45 abc	4.50 ± 0.50 abc	4.10 ± 0.12	HS

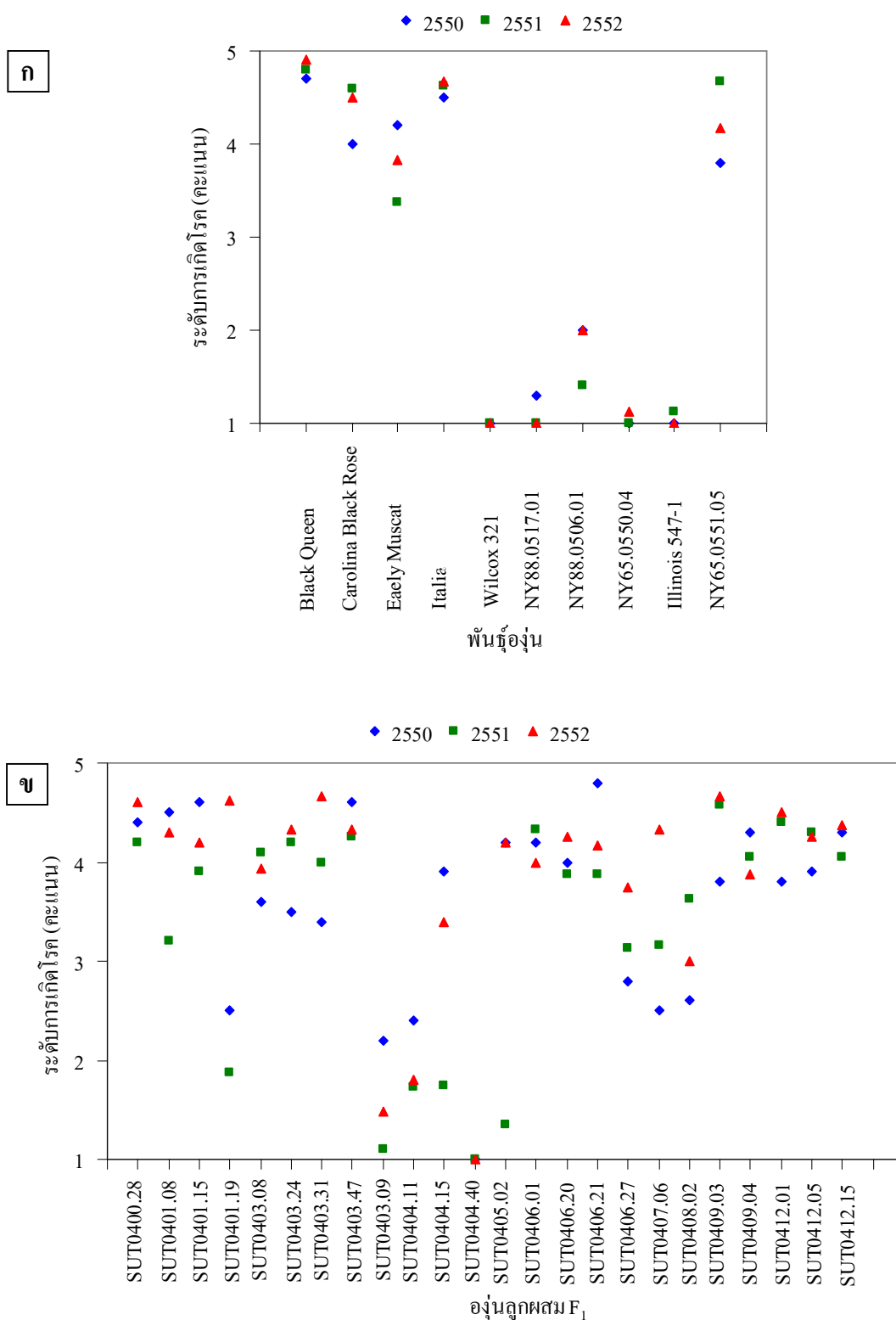
ตารางที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทาน โรคสแคบขององุ่นในสภาพห้องปฏิบัติการ และสภาพไร่ (ต่อ)

พันธุ์/สายพันธุ์	สภาพห้องปฏิบัติการ		สภาพไร่	
	Nk4-1	Rc2-1	ปี 2550-2552	ฟิโนไทป์
SUT0410.08	4.56 ± 0.44 abc	5.00 ± 0.00 a	3.87 ± 0.15	S
SUT0410.24	4.69 ± 0.31 abc	4.05 ± 0.95 def	4.00 ± 0.25	S
SUT0410.31	4.86 ± 0.14 ab	3.15 ± 0.28 ijk	4.03 ± 0.38	S
SUT0410.47	5.00 ± 0.00 a	4.69 ± 0.31 bcd	4.40 ± 0.10	HS
SUT0411.28	4.08 ± 0.68 def	3.83 ± 0.73 def	4.40 ± 0.12	HS
SUT0412.01	4.45 ± 0.45 abc	3.97 ± 0.47 cde	4.23 ± 0.22	HS
SUT0412.05	3.60 ± 0.10 fgh	2.00 ± 0.50 l	4.17 ± 0.13	HS
SUT0412.15	3.74 ± 0.60 def	3.47 ± 0.13 efg	4.27 ± 0.09	HS

^{1/} SUT0403 และ SUT0411 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ Wilcox 321 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0401, SUT0404 และ SUT0407 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY 88.0517.01 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0405 และ SUT0408 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY 65.0550.04 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0406, SUT0409, SUT0410 และ SUT0412 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY 65.0551.05 เป็นพันธุ์พ่อ

^{2/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

^{3/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก (HR), 1.1-2.0 = ต้านทาน (R), 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง (M), 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก (HS)



ภาพที่ 9 ระดับความต้านทานโรคสแคบองุ่นในสภาพไร่ระหว่างปี พ.ศ. 2550-2552

ก : องุ่นพันธุ์พ่อแม่

ข : องุ่นลูกผสม F_1

4.6 การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน โดยศึกษาสมรรถนะการรวมตัวทั่วไป (gca) และสมรรถนะการรวมตัวจำเพาะ (sca)

4.6.1 การศึกษาสมรรถนะการรวมตัวทั่วไปและสมรรถนะการรวมตัวจำเพาะขององุ่นลูกผสม F_1 และพันธุ์พ่อแม่ ทดสอบโดยใช้เชื้อ *S. ampelinum* ไอโซเลต Nk4-1

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรคสแคบในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ โดยใช้เชื้อ *S. ampelinum* ไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 พบว่ามีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน จึงเลือกไอโซเลต Nk4-1 ซึ่งเป็นตัวแทนจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มาใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่นลูกผสม F_1 6 คู่ผสม จำนวน 85 ลูกผสม และพันธุ์พ่อแม่ จำนวน 5 พันธุ์/สายพันธุ์ พบว่าองุ่นแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์และลูกผสม F_1 มีความสามารถในการต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{10, 117} = 11.65$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 8) เมื่อเปรียบเทียบคะแนนการเกิดโรคระหว่างองุ่นลูกผสม F_1 และพันธุ์พ่อแม่ พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{1, 117} = 0.46$; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 8) ส่วนคะแนนการเกิดโรคในประชากรองุ่นลูกผสม F_1 และระหว่างพันธุ์พ่อแม่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยองุ่นลูกผสม F_1 มีค่า $F_{5, 117} = 3.91$; $P < 0.01$ (ตารางภาคผนวกที่ 8) และพันธุ์พ่อแม่ มีค่า $F_{4, 117} = 24.12$; $P < 0.01$ (ตารางภาคผนวกที่ 8)

เมื่อพิจารณาระดับความต้านทานโรคสแคบขององุ่นลูกผสม F_1 พบว่ามีระดับคะแนนการเกิดโรคตั้งแต่ 1.0 คะแนน (ต้านทานมาก) ถึง 5.0 คะแนน (อ่อนแอมาก) ซึ่งหากแบ่งระดับคะแนนความต้านทานโรคสแคบ เป็น 3 กลุ่ม คือ ต้านทาน (1.0-2.0 คะแนน) ต้านทานปานกลาง (2.1-3.0 คะแนน) และอ่อนแอ (3.1-5.0 คะแนน) พบว่าองุ่นลูกผสม F_1 ทั้งหมด 6 คู่ผสม จำนวน 85 ลูกผสม มีจำนวนองุ่นลูกผสม F_1 ที่ต้านทานโรคสแคบ 18 ต้น คิดเป็น 21.2 เปอร์เซ็นต์ จำนวนองุ่นลูกผสม F_1 ที่ต้านทานโรคสแคบปานกลาง 15 ต้น คิดเป็น 17.7 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนองุ่นลูกผสม F_1 ที่อ่อนแอต่อโรคสแคบ 52 ต้น คิดเป็น 61.2 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 26)

จากการวิเคราะห์ gca โดยพิจารณาจากค่า mean square ของพันธุ์พ่อและแม่ และวิเคราะห์ sca จากค่า mean square ระหว่างพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ พบว่า gca ของพันธุ์แม่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{1, 79} = 0.17$; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 9) แต่ gca ของพันธุ์พ่อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{2, 79} = 5.78$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 9) ส่วนปฏิกริยาระหว่างพันธุ์พ่อและแม่หรือ sca ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{2, 79} = 1.33$; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 9) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างค่า mean square ของ gca และ sca คือ 25.5:1, 4.4:1 และ 0.2:1 (gca (พันธุ์พ่อ): gca (พันธุ์แม่), gca (พันธุ์พ่อ): sca และ gca (พันธุ์แม่): sca ตามลำดับ) และพบว่าอัตราพันธุกรรมอย่างแคบ มีค่า 79.2% แสดงว่ายีนต้านทานโรคสแคบสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมจากพ่อแม่ไปยังลูกหลานได้สูง

ตารางที่ 26 เปอร์เซ็นต์ต้นด้านทานโรคสแคบในองุ่นลูกผสม F_1 จำนวน 6 กลุ่ม ทดสอบโดยใช้เชื้อ

S. ampelinum ไอโซเลต Nk4-1

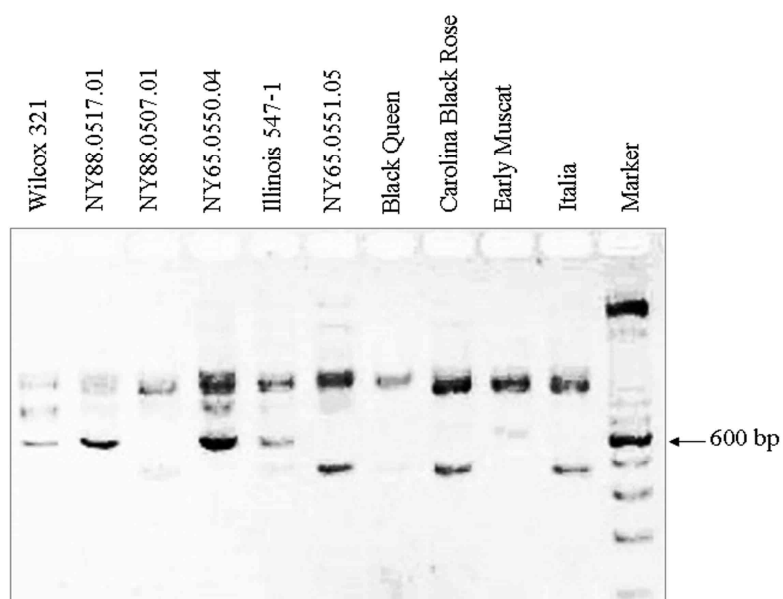
องุ่นลูกผสม F_1	จำนวน (ต้น)	จำนวนต้นด้านทานโรคสแคบ (เปอร์เซ็นต์)		
		R ^{1/}	M	S
		(คะแนน = 1.0-2.0)	(คะแนน = 2.1-3.0)	(คะแนน = 3.1-5.0)
Black Queen × NY88.0517.01	16	6 (37.5)	3 (18.8)	7 (43.8)
Black Queen × NY65.0550.04	11	3 (27.3)	3 (27.3)	5 (45.5)
Black Queen × NY65.0551.05	22	1 (4.6)	3 (13.6)	18 (81.8)
Carolina Black Rose × NY88.0517.01	11	2 (18.2)	3 (27.3)	6 (54.6)
Carolina Black Rose × NY65.0550.04	9	4 (44.4)	1 (11.1)	4 (44.4)
Carolina Black Rose × NY65.0551.05	16	2 (12.5)	2 (12.5)	12 (75.0)
รวม	85	18 (21.2)	15 (17.7)	52 (61.2)

^{1/} R คือ ด้านทาน M คือ ด้านทานปานกลาง S คือ อ่อนแอ

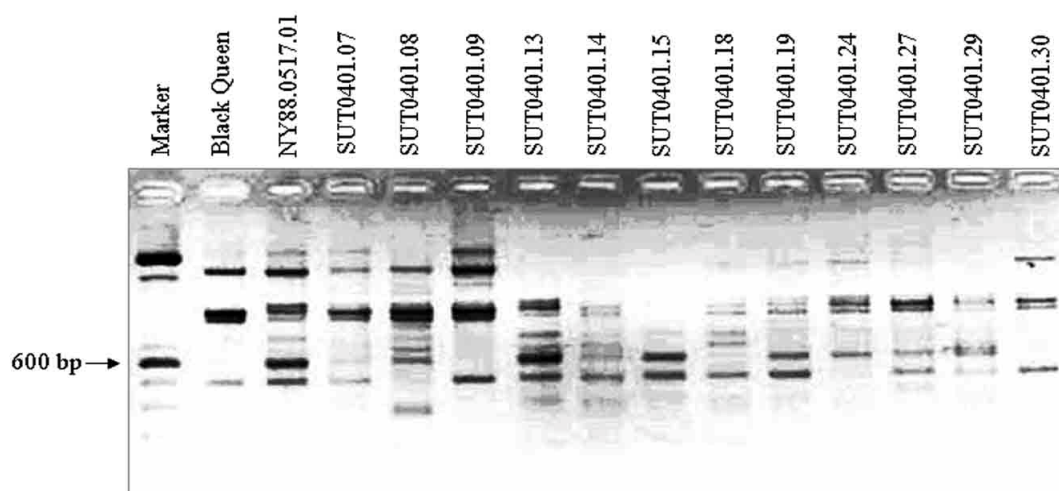
4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลและยีนด้านทานโรคสแคบในองุ่น

4.7.1 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RAPD และยีนด้านทานโรคสแคบในองุ่น

จากการใช้เครื่องหมาย RAPD จำนวน 3 เครื่องหมาย ได้แก่ OPJ13-300, OPV02-600 และ OPS03-1,300 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอองุ่นพันธุ์ด้านทาน จำนวน 6 สายพันธุ์ (Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และ NY65.0551.05) องุ่นพันธุ์อ่อนแอจำนวน 3 พันธุ์ (Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia) และพันธุ์ด้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ (Early Muscat) พบเครื่องหมาย OPV02-600 เป็นเครื่องหมายเดียวที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง 600 bp ในองุ่น Wilcox 321, NY88.0517.01, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1 (ภาพที่ 10) จึงได้นำมาทดสอบกับองุ่นลูกผสม F_1 ทั้งหมด 7 กลุ่ม ได้แก่ Black Queen × Wilcox 321, Black Queen × NY88.0517.01, Black Queen × NY65.0550.04, Carolina Black Rose × NY88.0517.01 (ภาพที่ 11), Carolina Black Rose × NY65.0550.04, Italia × NY88.0517.01 และ Italia × NY65.0550.04 ซึ่งปลูกเชื้อด้วยไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย OPV02-600 กับลักษณะด้านทานโรคสแคบ ด้วยสมการเส้นตรง (linear regression) พบว่าเครื่องหมาย OPV02-600 ไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะด้านทานโรคสแคบในองุ่นลูกผสม F_1 ที่ปลูกเชื้อด้วยไอโซเลต Nk4-1 ($R^2 = 0.00-0.25$) และไอโซเลต Rc2-1 ($R^2 = 0.01-0.02$) (ตารางที่ 27)



ภาพที่ 10 แถบดีเอ็นเอขององุ่นพันธุ์พ่อแม่ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย OPV02-600; Marker = 100 bp DNA ladder



ภาพที่ 11 แถบดีเอ็นเอของลูกผสมระหว่าง Carolina Black Rose × NY88.0517.01 ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องหมาย OPV02-600; Marker = 100 bp DNA ladder

ตารางที่ 27 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย OPV02-600 และลักษณะด้านทานโรคสแคบในองุ่น
ลูกผสม F_1

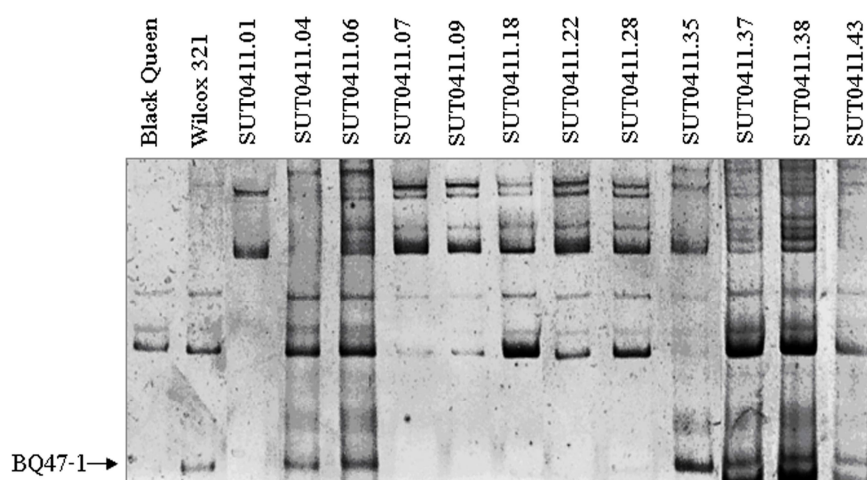
เครื่องหมาย	องุ่นลูกผสม F_1	ไอโซเลต/ R^2 , P -value	
		Nk4-1	Rc2-1
	Black Queen × Wilcox 321	0.00, 0.48	0.01, 0.40
	Black Queen × NY88.0517.01	0.25, 0.05	0.02, 0.32
	Black Queen × NY65.0550.04	nc ^{1/}	nc
OPV02-600	Carolina Black Rose × NY88.0517.01	0.11, 0.15	0.02, 0.36
	Carolina Black Rose × NY65.0550.04	0.05, 0.30	0.02, 0.38
	Italia × NY88.0517.01	nc	nc
	Italia × NY65.0550.04	nc	nc

^{1/} nc คือ ไม่สามารถคำนวณได้

4.7.2 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSCP และยีนด้านทานโรคสแคบในองุ่น

ใช้ไพรเมอร์ SSCP จำนวน 3 คู่ ได้แก่ rgVvinBQ_47, rgVhybNY507_11 และ rgVhybNY-507_28 (ตั้งชื่อว่าเครื่องหมาย BQ47, NY11 และ NY28) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในองุ่นพันธุ์ด้านทานจำนวน 6 สายพันธุ์ (Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และ NY65.0551.05) องุ่นพันธุ์อ่อนแอ จำนวน 3 พันธุ์ (Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia) และพันธุ์ด้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ (Early Muscat) แล้วตัดด้วยเอนไซม์ *Alu I*, *Apo I* และ *Mbo II* พบว่าได้ฟอนต์ดีเอ็นเอที่มีขนาด (77, 137), (123, 193) และ (100, 110) bp ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอสายเดี่ยวด้วยเจล polyacrylamide 8% ความต่างศักย์ไฟฟ้า 200 โวลต์ นาน 75 นาที และย้อมแถบดีเอ็นเอด้วยซิลเวอร์ไนเตรด พบว่าเครื่องหมาย BQ47 ตรวจพบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันในองุ่น Wilcox 321, NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04, Illinois 547-1 และองุ่นพันธุ์ Italia แต่ไม่พบแถบดีเอ็นเอในองุ่นสายพันธุ์ NY65.0551.05 และองุ่นพันธุ์ Black Queen, Carolina Black Rose และ Early Muscat เครื่องหมาย NY11 พบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันในองุ่นสายพันธุ์ NY88.0517.01, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1 แต่ไม่พบในพันธุ์ Black Queen, Carolina Black Rose, Early Muscat และ Italia ส่วนเครื่องหมาย NY28 ตรวจพบแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันในองุ่นสายพันธุ์ NY88.0517.01, NY88.0507.01, NY65.0550.04 และองุ่นพันธุ์ Black Queen แต่ไม่พบในองุ่นสายพันธุ์ Wilcox 321, Illinois 547-1, NY65.0551.05 และองุ่นพันธุ์ Carolina Black Rose, Early Muscat และ Italia จากนั้นนำไพรเมอร์ SSCP ทั้ง 3 คู่ มาทดสอบกับองุ่นลูกผสม F_1 ของพ่อแม่พันธุ์ที่ให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอแตกต่างกัน ดังนี้

ใช้ไพรเมอร์ rgVvinBQ_47 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของอู่นลูกผสม F_1 ทั้งหมด 5 คู่ผสม ได้แก่ Black Queen $\times$ Wilcox 321, Black Queen $\times$ NY88.0517.01, Black Queen $\times$ NY65.0550.04, Carolina Black Rose $\times$ NY88.0517.01 และ Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04 จำนวน 40 ต้น ตรวจสอบรูปแบบแถบดีเอ็นเอของลูกผสม และพันธุ์พ่อแม่ทั้งหมด ประเมินความสัมพันธ์ด้วยสมการเส้นตรงพบว่าเครื่องหมาย BQ47 ไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคสแคบในอู่นลูกผสม F_1 ทุกคู่ผสม (ตารางที่ 28)

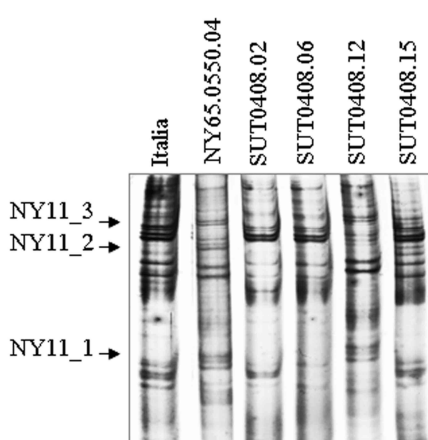


ภาพที่ 12 แถบดีเอ็นเอของอู่นลูกผสมระหว่าง Black Queen $\times$ Wilcox 321 ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ rgVvinBQ_47

ตารางที่ 28 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย BQ47 และลักษณะต้านทานโรคสแคบในอู่นลูกผสม

เครื่องหมาย	อู่นลูกผสม F_1	ไอโซเลต/ R^2 , P -value	
		Nk4-1	Rc2-1
BQ47_1	Black Queen $\times$ Wilcox 321	0.06, 0.22	0.13, 0.13
BQ47_1	Black Queen $\times$ NY88.0517.01	0.24, 0.06	0.24, 0.06
BQ47_2	Black Queen $\times$ NY88.0517.01	0.02, 0.34	0.05, 0.26
BQ47_3	Black Queen $\times$ NY88.0517.01	0.05, 0.26	0.03, 0.29
BQ47_1	Black Queen $\times$ NY65.0550.04	0.37, 0.07	0.05, 0.31
BQ47_4	Carolina Black Rose $\times$ NY88.0517.01	0.38, 0.10	0.01, 0.44
BQ47_4	Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04	0.05, 0.39	0.40, 0.18

จากการใช้ไพรเมอร์ rgVhybNY507_11 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของงุ่นลูกผสม F_1 ทั้งหมด 5 คู่ผสม ได้แก่ Black Queen $\times$ NY88.0517.01, Black Queen $\times$ NY65.0550.04, Carolina Black Rose $\times$ NY88.0517.01, Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04 และ Italia $\times$ NY65.0550.04 จำนวน 28 ต้น ซึ่งปลูกเชื้อด้วยไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 และทำการประเมินความสัมพันธ์ด้วยสมการเส้นตรง พบว่าเครื่องหมาย NY11 ไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะด้านทานโรคสแคปในงุ่นลูกผสม F_1 ทุกคู่ผสมที่ปลูกเชื้อด้วยไอโซเลต Nk4-1 ($R^2 = 0.03-0.38$) และไอโซเลต Rc2-1 ($R^2 = 0.01-0.39$) (ตารางที่ 29)



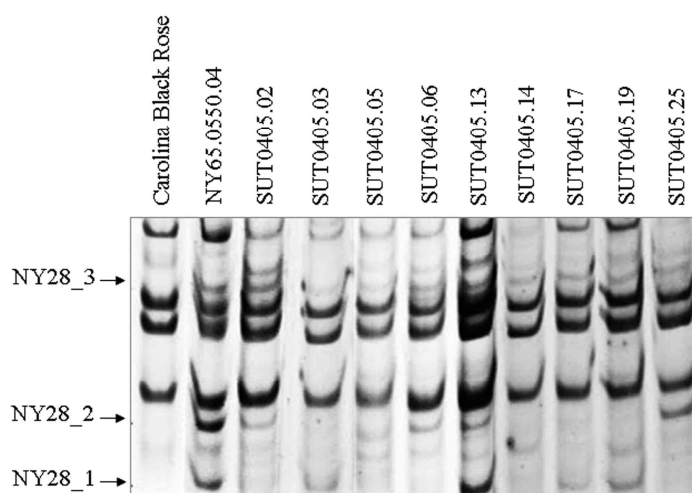
ภาพที่ 13 แถบดีเอ็นเอของงุ่นลูกผสมระหว่าง Italia $\times$ NY65.0550.04 ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ rgVhybNY507_11

ตารางที่ 29 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย NY11 และลักษณะด้านทานโรคสแคปในงุ่นลูกผสม

เครื่องหมาย	งุ่นลูกผสม F_1	ไอโซเลต/ R^2 , P -value	
		Nk4-1	Rc2-1
NY11_1	Black Queen $\times$ NY88.0517.01	0.03, 0.32	0.01, 0.39
NY11_1	Black Queen $\times$ NY65.0550.04	nc ^{1/}	nc
NY11_5	Black Queen $\times$ NY65.0550.04	nc	nc
NY11_4	Carolina Black Rose $\times$ NY88.0517.01	0.05, 0.34	0.39, 0.09
NY11_3	Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04	0.04, 0.37	0.01, 0.43
NY11_1	Italia $\times$ NY65.0550.04	0.18, 0.29	0.02, 0.43
NY11_2	Italia $\times$ NY65.0550.04	0.38, 0.19	0.24, 0.26
NY11_3	Italia $\times$ NY65.0550.04	0.38, 0.19	0.24, 0.26

^{1/} nc คือ ไม่สามารถคำนวณได้

และเมื่อใช้ไพรเมอร์ rgVhybNY507_28 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในอองุ่นลูกผสม F_1 ทั้งหมด 4 คู่ผสม ได้แก่ Carolina Black Rose $\times$ NY88.0517.01, Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04, Italia $\times$ NY88.0517.01 และ Italia $\times$ NY65.0550.04 จำนวน 27 ต้น ซึ่งปลูกเชื้อด้วยไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 ประเมินความสัมพันธ์ด้วยสมการเส้นตรง พบว่าเครื่องหมาย NY28 ไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคสแคบในอองุ่นลูกผสม F_1 ทุกคู่ผสม ยกเว้นคู่ผสมระหว่าง Italia $\times$ NY65.0550.04 ที่ปลูกเชื้อด้วยไอโซเลต Rc2-1 ($R^2 = 0.96$) (ตารางที่ 30)



ภาพที่ 14 แถบดีเอ็นเอในอองุ่นลูกผสมระหว่าง Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04 ที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ rgVhybNY507_28

ตารางที่ 30 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย NY28 และลักษณะต้านทานโรคสแคบในอองุ่นลูกผสม

เครื่องหมาย	อองุ่นลูกผสม F_1	ไอโซเลต/ R^2 , P -value	
		Nk4-1	Rc2-1
NY28_1	Carolina Black Rose $\times$ NY88.0517.01	0.07, 0.23	0.28, 0.06
NY28_1	Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04	0.02, 0.35	0.10, 0.20
NY28_2	Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04	0.03, 0.34	0.34, 0.05
NY28_3	Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04	0.00, 0.49	0.18, 0.13
NY28_1	Italia $\times$ NY88.0517.01	0.24, 0.26	0.13, 0.32
NY28_2	Italia $\times$ NY88.0517.01	0.71, 0.08	0.77, 0.06
NY28_1	Italia $\times$ NY65.0550.04	0.08, 0.36	0.96, 0.01

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

การแยกเชื้อ *S. ampelinum* จากชิ้นส่วนองุ่นที่เป็นโรค

วิธีการที่สามารถแยกเชื้อจากตัวอย่างองุ่นที่แสดงอาการโรคสแคบได้อย่างมีประสิทธิภาพมีหลายวิธี ในปี พ.ศ. 2545 กรรณิการ์ เพียนภักตร์และคณะ รายงานการแยกเชื้อสาเหตุโรคสแคบของพืชต่าง ๆ ในประเทศไทยว่า การแยกเชื้อราด้วยการใช้เทคนิคชักนำให้เชื้อราปล่อยสปอร์ออกจาก acervulus ในน้ำกลั่นเป็นวิธีเดียวที่ช่วยให้การวินิจฉัยโรคถูกต้อง ต่อมากานต์ คำทรัพย์ (2546) เสนอว่าการใช้วิธี dilution plate method สามารถแยกเชื้อ *S. ampelinum* ได้ดี แต่การแยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting method ไม่สามารถแยกเชื้อได้ เนื่องจากเชื้อมีอัตราการเจริญเติบโตช้ากว่าเชื้อชนิดอื่นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อย่างไรก็ตาม ขนิษฐา มากรุง (2548) กล่าวรายงานการแยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting โดยการชักนำให้เชื้อเจริญออกมาจากเนื้อเยื่อที่เป็นโรค โดยระยะแรกนำเนื้อเยื่อที่เป็นโรควางบนอาหาร WA หลังจากนั้น 3 วัน เชื้อเส้นใยที่เจริญออกไปเลี้ยงบนอาหาร PDA วิธีนี้สามารถทำให้เชื้อเจริญแข่งขันกับเชื้ออื่น ๆ ที่ปนเปื้อนมากับเนื้อเยื่อพืชได้ดี จากการทดลองใช้วิธีการแยกเชื้อด้วย tissue transplanting สามารถแยกเชื้อได้สำเร็จ 80 เปอร์เซ็นต์ เทคนิคในการแยกเชื้อที่สำคัญคือ เลือกเก็บตัวอย่างเฉพาะส่วนที่มีอาการชัดเจน ตัวอย่างที่ดีต้องสดและเก็บไม่เกิน 2 วัน ถ้าเป็นไปได้ควรทำการแยกเชื้อทันที เพราะเชื้อ *S. ampelinum* เป็นปรสิตพืชเพียงอย่างเดียวและเจริญเติบโตได้ช้า จึงไม่อาจแข่งขันกับเชื้อใด ๆ ในสภาพห้องปฏิบัติการได้ (กรรณิการ์ เพียนภักตร์และคณะ, 2545) ในการแยกเชื้อต้องทำอย่างระมัดระวัง และควรปฏิบัติในตู้ปลอดเชื้อ ไม่ควรตัดเนื้อเยื่อที่เป็นโรคขนาดใหญ่เกินไป ควรเลือกแผลใหม่ ๆ แล้วเขี่ยแผลมาเพียงเล็กน้อยวางบนอาหาร WA

การศึกษาการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *S. ampelinum*

จากการสังเกตการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อ *S. ampelinum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตมีความสามารถในการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดแตกต่างกัน โดยการเจริญเติบโตเป็นไปอย่างช้า ๆ ไอโซเลตจากภาคเหนือมีการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อช้าที่สุด ส่วนไอโซเลตจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือเจริญดีที่สุด อาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกันมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแตกต่างกัน โดยอาหาร CA และ CCA ทำให้เชื้อส่วนใหญ่มีขนาดโคโลนีใหญ่ที่สุด วัดที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์ 1.1-5.0 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร JCCA ยกเว้นไอโซเลต

Rc5-1 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Cheema et al. (1978) ที่รายงานว่าเชื้อ *S. ampelinum* แต่ละไอโซเลตมีความสามารถในการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดได้ต่างกัน โดยไอโซเลตส่วนใหญ่จะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในอาหาร PDB แต่บางไอโซเลตจะมีการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek's medium หรือ yeast extract ได้ดีกว่า ส่วนอาหารแข็ง เชื้อทุกไอโซเลตจะมีการเจริญเติบโตบนอาหาร yeast extract agar ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร PDA, Czapek's agar และ leaf extract agar และเนื่องจากเชื้อ *S. ampelinum* เจริญเติบโตช้ามากบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด จึงทำให้ทราบการปนเปื้อนของเชื้ออื่นได้ง่าย เช่นเดียวกับกานต์ คำทรัพย์ (2546) ซึ่งพบว่าการเจริญเติบโตบนอาหาร PDA เป็นประโยชน์ในการแยกความแตกต่างระหว่างเชื้อ *S. ampelinum* จากเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* เนื่องจากเชื้อชนิดนี้มีการเจริญเติบโตช้า โคลนที่เจริญขึ้นมามีลักษณะอัดตัวแน่น ไม่เป็นเส้นใยฟู ส่วนการศึกษากการเจริญเติบโตของเชื้อ *Sphaceloma* สปีชีส์อื่น กรรณิการ์ เพียนภักตร์ และคณะ (2544) รายงานว่าเชื้อ *S. psidii* สาเหตุโรคสแคบของฝรั่งในประเทศไทย ไม่สร้าง fruiting body บนอาหารชนิดใด ๆ เลย เชื้อเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA และเป็นไปอย่างช้า ๆ ทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนเชื้อชนิดอื่น ๆ ได้ง่าย ในปี ค.ศ. 2000 Alvarez และ Molina ศึกษาเชื้อ *S. manihoticola* รายงานว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตเจริญเติบโตบนอาหาร PDA แตกต่างกัน ส่วน Butin and Kehr (2004) ศึกษาเชื้อ *S. murrayae* พบว่าโคลนที่เจริญเติบโตช้าบนอาหาร 2% MEA ที่อุณหภูมิ 21°C โดยเชื้อที่อายุ 3 สัปดาห์ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ซม.

เมื่อพิจารณาลักษณะสีของโคลนเชื้อ *S. ampelinum* แต่ละไอโซเลต พบว่าขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อและอายุของโคลนที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Alvarez and Molina (2000) ในเชื้อ *S. manihoticola* และ Van Zyl et al. (2002) ในเชื้อ *Coniothyrium zuluense* โดยพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกันทำให้สีของโคลนแตกต่างกัน อาหาร CA และ CCA เหมาะสำหรับการใช้แยกสีของโคลนเพราะทำให้โคลนของเชื้อมีหลายสี ส่วนอาหาร PDA และ JCCA ไม่เหมาะสมสำหรับการใช้แยกสีของโคลน และสามารถแยกความแตกต่างของสีโคลนได้ชัดเจนที่สุดเมื่อเชื้อมีอายุได้ 5 สัปดาห์ ในอาหาร CA และ CCA สามารถจัดกลุ่มเชื้อ *S. ampelinum* 19 ไอโซเลตออกเป็น 5 กลุ่มในอาหารทั้งสองชนิด ซึ่งหลากหลายกว่าการจัดกลุ่มเชื้อ *S. ampelinum* เป็น 3 กลุ่มคือ สีเหลืองอ่อน สีเหลืองเข้มถึงส้ม และสีแดง ในอาหาร PDA โดยขนิษฐา มากรุง (2548) ในการทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์จะแยกความแตกต่างของสีโคลนไม่ชัดเจนเพราะแต่ละโคลนมีเพียง 1-2 สี คือ น้ำตาลอ่อน เหลือง-แดง เหลือง-เทา และเหลือง ส่วนที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ เชื้อเริ่มหยุดการเจริญเติบโต สีของโคลนเข้มขึ้นทำให้แยกสีได้ไม่ชัดเจน เชื้อในภาควัดเดียวกันจะมีสีโคลนไม่แตกต่างกันมาก ยกเว้นเชื้อจากภาคตะวันออกจะมีความหลากหลายของสีโคลนมากกว่าภาคอื่น สอดคล้องกับอังสนา อัครพิศาล และคณะ (ม.ม.ป) ที่พบว่าสีของเส้นใยจะเข้มขึ้นตามอายุของเชื้อรา และผลการศึกษาเชื้อ *S. symphoricarpi* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของสโนเบอรี่ในสาธารณรัฐเช็ก

ของ Kudela และ Krejza (2006) ซึ่งกล่าวว่าสีโคโลนีที่ยังเล็กอยู่จะเป็นสีน้ำตาลอ่อน ขอบเขตของการเปลี่ยนสีโคโลนีจะแพร่จาก mycelium เข้าไปในอาหารและเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาล และโคโลนีที่มีอายุ 4 สัปดาห์หรือมากกว่าจะมีสีน้ำตาลค่อนข้างแดง

เมื่อพิจารณาการมีหรือไม่มี aerial mycelium ณรงค์ สิงห์บุระอุดม (2547) ได้รายงานว่าการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ 2 ลักษณะ คือ ลักษณะการเจริญที่เป็น mycelial form และลักษณะการเจริญที่ไม่สร้างเส้นใย (non mycelial form หรือ yeast like form) ซึ่งลักษณะโคโลนีที่ไม่สร้างเส้นใยจะมีเมือกเยิ้มเจริญบนอาหารเหมือนการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งจากการทดลองอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ PDA, CA, CCA และ JCCA พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิดทำให้เชื้อสร้าง aerial mycelium ได้ แม้ว่าอาหาร CA และ CCA โคโลนีของเชื้อบางโคโลนีจะมีเมือกเยิ้ม โดยเชื้อจะสร้าง aerial mycelium ได้ดีที่สุดในการอาหาร PDA รองลงมาคือ อาหาร JCCA ส่วนอาหาร CA และ CCA ทำให้เชื้อสร้าง aerial mycelium ได้น้อยที่สุดและไม่แตกต่างกัน และยังพบว่าเชื้อจะสร้าง aerial mycelium จำนวนมากเมื่อเชื้อมีอายุมากขึ้น ในปี ค.ศ. 2000 Alvarez และ Molina พบว่าเชื้อ *S. manihoticola* สร้าง aerial mycelium บนอาหาร PDA ที่ระยะเวลา 3-4 สัปดาห์ และในปี พ.ศ. 2548 ขนิษฐา มากรุง รายงานการสร้างโคโคเนดของเชื้อ *S. ampelinum* บนอาหาร PDA ที่ระยะเวลา 6-8 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาปัจจัยที่มีผลต่อการสร้าง aerial mycelium พบว่าชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อและความเข้มข้นของอาหารเป็นปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ อาหารบางชนิดที่ใช้เลี้ยงเชื้อมีผลทำให้เชื้อมีการสร้างเส้นใยมากกว่าการสร้างสปอร์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยมักกว้างกว่าการสร้างสปอร์ (Anonymus, 2007) Mortensen (1981) รายงานว่าเชื้อ *E. ampelina* เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 28°C บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และหยุดการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 35°C กานต์ คำทรัพย์ (2546) กล่าวว่าอุณหภูมิ 30°C เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. ampelinum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และหยุดการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 0°C ซึ่งในการทดลองได้เลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง 28°C นอกจากนี้ เชื้อมักเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ค่อนข้างเป็นกรด pH 5.5-6.0 (Anonymus, 2007) จากการพิจารณา pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, CA, CCA และ JCCA พบว่ามีค่าเท่ากับ 5.85, 5.75, 5.76 และ 6.03 ซึ่งอยู่ในช่วงที่เชื้อราเจริญเติบโตได้ นอกจากนี้ ยังพบว่าเชื้อจะสร้างเส้นใย (hyphae) ได้ดีบนอาหารที่มีองค์ประกอบของน้ำตาล polysaccharides และ β -glucosides และสร้างเส้นใยน้อยที่สุดบนอาหารที่มีองค์ประกอบของน้ำตาล monosaccharides (Engelkes et al., 1997) ต่อมา Goa et al. (2007) พบว่าอัตราส่วน C:N มีอิทธิพลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรามากกว่าความเข้มข้นของคาร์บอน เช่น การผลิตแอสโคสปอร์ของเชื้อ *Talaromyces flavus* เพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วน C:N เพิ่มขึ้น จากการทดลองใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลเดกโตส 2 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร PDA และน้ำตาลกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร CA, CCA และ JCCA เมื่อวัดอัตราส่วน C:N ของอาหารดังกล่าว มีค่าเท่ากับ 10.9:1, 5:1,

6.7:1 และ 6.5:1 ตามลำดับ อาหาร PDA มีอัตราส่วน C:N สูงที่สุด เชื้อ *S. ampelinum* เจริญเติบโตได้ไม่ดี แต่สามารถสร้าง aerial mycelium และโคนิเดียมากที่สุด ในทางตรงกันข้ามอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วน C:N ต่ำ ได้แก่ อาหาร CA และ CCA ส่งเสริมให้โคโลนีเจริญเติบโตดีที่สุด แต่สร้าง aerial mycelium ได้ไม่ดี ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการสร้าง aerial mycelium และสปอร์ของเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งอัตราส่วน C:N และสปีชีส์ของเชื้อรา (Rajderkar, 1965; Jackson and Bothast, 1990) เช่น อัตราส่วน C:N ที่เหมาะสมสำหรับการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Paccilomyces lilacinus* อยู่ระหว่าง 10:1 และ 20:1 ขณะที่อัตราส่วน C:N ที่เหมาะสมในการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* และ *Trichoderma viride* คือ 160:1 (Goa et al., 2007) ในเชื้อราบางชนิด อัตราส่วน C:N สูงหรือต่ำมากเกินไปยับยั้งการสร้างโคนิเดีย สอดคล้องกับการศึกษาของ Jackson และ Bothast (1990) ซึ่งรายงานว่าเชื้อ *C. truncatum* (Schwein.) สร้างโคนิเดียบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วน C:N เท่ากับ 15:1 ได้ดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วน C:N เท่ากับ 40:1 และ 5:1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม องค์ประกอบอื่นในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและการสร้าง aerial mycelium ของเชื้อมากกว่าอัตราส่วน C:N โดยพบว่าอาหาร JCCA มีอัตราส่วน C:N ต่ำเหมือนอาหาร CA และ CCA แต่สร้าง aerial mycelium ได้รองจากอาหาร PDA และพบการสร้างโคนิเดียของเชื้อที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ก่อนอาหารชนิดอื่น โดยการสุ่มดูจากการสร้างโคนิเดียของเชื้อ จำนวน 2 ไอโซเลต (ไอโซเลต Cb2-1 และ Rc1-1) ซึ่งเป็นไปได้ว่าเมล็ดบัวและถั่วเหลืองเป็นปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมการสร้าง aerial mycelium และโคนิเดียของเชื้อ Rajderkar (1965) เสนอว่าอาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกันอาจมีปริมาณธาตุอาหารรวมทั้งวิตามินต่างกัน การสร้างสปอร์อาจถูกยับยั้งโดยการขาดหรือมีธาตุอาหารมากเกินไปและอาจเป็นไปได้ว่าความผันแปรของโปรตีนและไขมันมีผลต่อปริมาณและคุณภาพของการสร้างสปอร์ ในทำนองเดียวกัน สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ (2545) รายงานว่าการเลี้ยงเชื้อบนอาหารที่มีสารอาหารน้อยจะช่วยกระตุ้นการสร้างสปอร์

จากการตรวจโคนิเดีย พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดทำให้เชื้อสร้างโคนิเดียได้มากหรือน้อยต่างกัน อาหารเลี้ยงเชื้อที่เชื้อมีการสร้างเส้นใยสีขาวปกคลุมอยู่จะพบโคนิเดียจำนวนมากกว่า โดยโคนิเดียของเชื้อมีลักษณะใส เซลล์เดี่ยว ทรงกระบอก เช่นเดียวกับการศึกษาของชนิษฐา มากรุง (2548) นอกจากนี้ วรรณิกักร์ เพ็ญภักตร์ และคณะ (2536) ยังพบลักษณะของเชื้อ *S. ampelinum* ซึ่งแตกต่างจากเชื้อชนิดอื่น คือ โคนิเดียที่งอกบนอาหาร WA ระยะหนึ่งจะสร้าง secondary conidia โดยไม่มี fruiting body ห่อหุ้ม มีจุดสีครีมเล็ก ๆ เกิดขึ้น และค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นกลุ่มเยิ้มสีแดงสด (gummy growth) เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดโคนิเดียของเชื้อ *S. ampelinum* ที่แยกได้จาก 4 ภาคของประเทศไทย ($4.20-5.51 \times 1.58-2.07$ ไมครอน) พบว่ามีขนาดอยู่ในช่วงเดียวกับขนาดโคนิเดียของเชื้อ *S. ampelinum* ซึ่ง Sutton (1973) ($4.0-7.5 \times 2.0-3.5$ ไมครอน) และ Sing (2000) ($5-6 \times 2-3$

ไมครอน) ศึกษาไว้อ้างถึงใน กานต์ คำทรัพย์ (2546) แต่ขนาดเล็กกว่าที่รายงานไว้โดยนิษฐา มากรุง (2548) ($5.24-6.83 \times 2.17-3.35$ ไมครอน) และกรณีการ เพี้ยนกัณฑ์ และคณะ (2537) ($6.37-8.75 \times 2.61-4.77$ ไมครอน)

จากการศึกษารูปร่างโคโลนี จะสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงได้อย่างชัดเจนเมื่อเชื้ออายุได้ 2 สัปดาห์ โดยกรณีการ เพี้ยนกัณฑ์ และคณะ (2536) กล่าวว่าลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นแบบ พอกพูนขึ้นด้านบน ซึ่งจากการทดลองนี้ พบว่าการเจริญเป็นแบบที่กล่าวมาเฉพาะในอาหาร PDA และ JCCA แต่อาหาร CA และ CCA ลักษณะการเจริญเติบโตสามารถแบ่งได้เป็น 4 ลักษณะ คือ นูน ผิวย่น นูน ผิวเรียบ แบน ผิวเรียบ และแบน ผิวย่น ซึ่งส่วนใหญ่เชื้อจะเจริญแบบนูน ผิวเรียบ และนูน ผิวย่น แสดงว่า อาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกันมีผลทำให้เชื้อมีรูปร่างโคโลนีแตกต่างกัน

ในการจัดกลุ่มเชื้อ *S. ampelinum* จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถแบ่งแยกเชื้อเป็น กลุ่มใหญ่ ๆ อย่างชัดเจน ซึ่งเชื้อในภาคเดียวกันจะมีความเหมือนกันทางสัณฐานวิทยามากกว่าเชื้อ จากต่างภาค เนื่องจากสภาพแวดล้อมมีผลต่อการเจริญเติบโตและความมีชีวิตของเชื้อ ซึ่งสอดคล้อง กับศิริลักษณ์ ลิตรกร และคณะ (2547) ที่พบว่าเชื้อ *Ustilago scitaminea* สาเหตุโรคเส้ดำของอ้อย มีความเหมือนกันทางพันธุกรรมภายในจังหวัดเดียวกันมากกว่าระหว่างจังหวัด โดยโคโลนีของเชื้อ ทั้งหมด 7 ไอโซเลต จาก จ.ชลบุรี มีความเหมือนกันทางสัณฐานวิทยาที่สัมพันธ์ความใกล้ชิด (similarity coefficient) ตั้งแต่ 0.58-1.00 และ 8 ไอโซเลตจาก จ.อุดรธานีจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันที่ สัมพันธ์ความใกล้ชิดตั้งแต่ 0.57-1.00

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. ampelinum* โดยใช้เครื่องหมาย RAPD

จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. ampelinum* ทั้ง 19 ไอโซเลต ด้วย ไพรมเมอร์ RAPD จำนวน 6 ไพรมเมอร์ พบว่าสามารถจัดกลุ่มใหญ่ได้ 4 กลุ่ม คือกลุ่มที่ I ประกอบด้วย ไอโซเลตจากภาคตะวันออก จำนวน 4 ไอโซเลต (Cb1-1, Cb2-1, Cb3-1 และ Cb4-1) ภาคตะวันตก จำนวน 1 ไอโซเลต (Rc4-1) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 1 ไอโซเลต (Nk5-1) กลุ่มที่ II ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคเหนือ จำนวน 4 ไอโซเลต (Cr1-1, Cr2-1, Pr4-1 และ Pr5-1) กลุ่มที่ III ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 ไอโซเลต (Nk2-1 Nk3-1 และ Nk4-1) และกลุ่มที่ IV ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคตะวันตก จำนวน 2 ไอโซเลต (Rc1-1 และ Rc2-1) ส่วน ไอโซเลตที่เหลือ 4 ไอโซเลต ประกอบด้วยไอโซเลตจากภาคตะวันตก จำนวน 2 ไอโซเลต (Rc3-1 และ Rc5-1) ไอโซเลตจากภาคเหนือ จำนวน 1 ไอโซเลต (Cr3-1) และไอโซเลตจากภาคตะวันออก จำนวน 1 ไอโซเลต (Cb5-1) ไม่สามารถแบ่งกลุ่มได้ แสดงว่าไอโซเลตภายในภาคเดียวกันมีความ เหมือนกันทางพันธุกรรมมากกว่าไอโซเลตจากต่างภาค ซึ่งไอโซเลตเหล่านี้อาจเป็นเชื้อ *Sphaceloma*

สปีชีส์อื่นที่ไม่ใช่ *S. ampelinum* นอกจากนี้ยังพบว่าบางไอโซเลตจากภาคหนึ่งมีความเหมือนกันทางพันธุกรรมกับบางไอโซเลตจากอีกภาคหนึ่ง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเคลื่อนย้ายต้นหรือกิ่งพันธุ์องุ่นที่เป็นโรคสแคบ จากแหล่งปลูกหนึ่งไปปลูกในอีกแหล่งปลูกที่อยู่ต่างภาค ทำให้ประชากรของเชื้อเกิดการกระจายตัว

ค่า PIC แสดงความหลากหลายของอัลลีลในตำแหน่งนั้น ช่วงของค่า PIC ในการศึกษานี้คือ 0.23 (OPA-2) ถึง 0.34 (MUNG-1) โดยมีค่าเฉลี่ย 0.30 เนื่องจาก RAPD เป็นเครื่องหมายชนิดข่ม ค่า PIC ของไพรเมอร์ใดก็ตามมีค่าสูงสุดเพียง 0.5 เท่านั้น ดังนั้น การที่เครื่องหมาย RAPD 3 จาก 6 เครื่องหมายที่ใช้ในการทดลองนี้มีค่า $PIC \geq 0.3$ แสดงว่าเครื่องหมายนี้เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. ampelinum*

จากการเปรียบเทียบระหว่างการจัดกลุ่มตามลักษณะทางสัณฐานวิทยากับเครื่องหมาย RAPD พบว่าการใช้เครื่องหมายทั้งสองไม่มีความสัมพันธ์กัน โดยเครื่องหมายทั้งสองสามารถแบ่งแยกเชื้อ *S. ampelinum* ทั้ง 19 ไอโซเลต ออกเป็นกลุ่มใหญ่ตามภาค แต่ไอโซเลตในแต่ละกลุ่มแตกต่างกัน ซึ่งเครื่องหมาย RAPD มีความถูกต้องแม่นยำและเหมาะสมมากกว่า เนื่องจากเครื่องหมาย RAPD ตรวจสอบความแตกต่างโดยสุ่มที่หลายตำแหน่งในจีโนมพร้อมกัน ในขณะที่เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยาตรวจสอบความแตกต่างเฉพาะในยีนที่ควบคุมลักษณะเพียงไม่กี่ตำแหน่ง ดังนั้น RAPD จึงมีประสิทธิภาพสูงกว่าในการจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับสปีชีส์ และสามารถประเมินค่าความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่างไอโซเลตได้ดีกว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยา นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของเชื้อโดยให้ผลลงที่ เพราะใช้ส่วนที่เป็นดีเอ็นเอในการวิเคราะห์ ส่วนเครื่องหมายทางสัณฐานวิทยาเป็นเครื่องหมายที่ผันแปรไปตามสภาพแวดล้อม และบางเครื่องหมายไม่สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อบางไอโซเลตที่เหมือนกันมากได้

การวิเคราะห์ความต้านทานขององุ่นต่อเชื้อ *S. ampelinum* ในห้องปฏิบัติการ

จากการสังเกตวันแรกของการปรากฏแผลบนเนื้อเยื่อใบองุ่นภายใต้กล้องสเตอริโอ เมื่อใช้ความเข้มข้นของเชื้อขนาด 1×10^6 โคโรเนีย/มล. พบว่าองุ่นพันธุ์ Black Queen, Carolina Black Rose, Early , Italia, NY88.0517.01 และ NY65.0551.05 ปรากฏแผลแรกในวันที่ 2 ของการปลูกเชื้อในเชื้อทุกไอโซเลต (Cb1-1, Cr1-1, Nk4-1, Nk5-1 และ Rc2-1) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Tharapreuksapong (2009) ซึ่งรายงานว่าองุ่นพันธุ์ Black Queen, Carolina Black Rose และ Italia ปรากฏแผลแรกในวันที่ 2 ของการปลูกเชื้อ ส่วนองุ่นพันธุ์ต้านทาน 4 สายพันธุ์ (Wilcox 321, NY 88.0507.01, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1) ปรากฏแผลแรกแตกต่างกันในเชื้อแต่ละไอโซเลต โดยปรากฏแผลแรกระหว่างวันที่ 4-6 ของการปลูกเชื้อ และพบว่าองุ่นพันธุ์ NY65.0550.04 ไม่

ปรากฏแผลเมื่อปลูกเชื้อด้วยไอโซเลต Nk5-1 แสดงว่าองุ่นสายพันธุ์นี้มีถิ่นต้านทานต่อไอโซเลต Nk5-1 ก่อนข้างสูง ส่วนองุ่นลูกผสม F₁ ทั้ง 12 คู่ผสม ปรากฏแผลแรกในวันที่ 2 ของการปลูกเชื้อ

เมื่อพิจารณาความสามารถในการต้านทานโรคสแคบในองุ่น พบว่าองุ่นพันธุ์ Black Queen อ่อนแอต่อโรคสแคบมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับขนิษฐา มากรุง (2548) ซึ่งรายงานว่าการเชื้อเกือบทุกไอโซเลตจะแสดงอาการก่อนข้างเร็วบนองุ่นพันธุ์ Black Queen จากการทดลองนี้ พบว่าองุ่นพันธุ์ Wilcox 321, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1 ต้านทานโรคสแคบดีที่สุดที่สุด Mortensen (1981) และ Patil et al. (1990) รายงานว่าแหล่งความต้านทานโรคสแคบขององุ่น *Vitis* หลายสปีชีส์ ได้แก่ *V. simpsoni* Mun., *V. smalliana* Bailey, *V. shuttleworthii* House, *V. labrusca* L., *V. rotundifolia* Michx และ *V. munsoniana* Simp. นอกจากนี้ Fennell (1948) ยังพบว่าความต้านทานโรคสแคบในองุ่นพื้นเมืองอเมริกาอีก 2 สปีชีส์ คือ *V. rufofomentosa* Small และ *V. gigas* Fennell สำหรับในประเทศไทย มีการรายงานการค้นพบองุ่นหลายพันธุ์/สายพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคสแคบ ได้แก่ Beichun (*V. vinifera* × *V. amurensis*), Shuangyou (*V. amurensis* Rupr.), Yanshan-2 (*V. yanshanensis* J.X. Chen), Heilongjiang (*V. amurensis* Rupr.), Pingli-5 (*V. qinlingensis* P.C. He), Jiangxi-3 (*V. hancockii* Hance), and Jiangxi-2 (*V. romanetii* Roman) (Tian et al., 2008) จากประวัติสายพันธุ์ (Pedigree) ขององุ่น 3 สายพันธุ์ พบว่าองุ่น Wilcox 321 (Blue Jay × MN 242) มีองุ่น *V. riparia* และ *V. labrusca* NY65.0550.04 (III796-1 × III271-1) มีองุ่น *V. riparia* และ *V. rupestris* และ *V. labrusca* และ Illinois 547-1 (B38 × B9) มีองุ่น *V. rupestris* และ *V. cinerea* ในประวัติสายพันธุ์ ซึ่งจากการพิจารณาระดับความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อต่างไอโซเลต พบว่าองุ่นสายพันธุ์ Wilcox 321, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1 น่าจะมีถิ่นต้านทานต่อเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลตหลายยีน (polygenic resistance) แต่องุ่นสายพันธุ์ NY88.0517.01 และ NY65.0551.05 อาจมีถิ่นต้านทานแบบข่มเพียงยีนเดียว (monogenic resistance) ต่อไอโซเลต Nk5-1 ขณะที่องุ่นสายพันธุ์ NY88.0507.01 มีถิ่นต้านทานโรคสแคบหลายยีน แต่ไม่มีถิ่นที่ต้านทานต่อไอโซเลต Cr1-1 แสดงว่าการเลือกใช้อองุ่นพันธุ์พืชมที่มีถิ่นต้านทานเพียงยีนเดียวอาจได้ผลกับเชื้อบางไอโซเลตเท่านั้น เนื่องจากเชื้อ *S. ampelimum* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของขนิษฐา มากรุง (2548) ที่พบว่าเชื้อ *S. ampelimum* ในประเทศไทยมีความแตกต่างกันทั้งทางสัณฐานวิทยาและปฏิกิริยาต่อสายพันธุ์องุ่น

ซึ่งจากการทดลองนี้ พบว่าเชื้อ *S. ampelimum* ทั้ง 5 ไอโซเลต มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคสแคบแตกต่างกัน โดยไอโซเลต Cr1-1 และ Nk4-1 มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคสูงสุด ส่วนไอโซเลต Nk5-1 มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคน้อยที่สุด ทั้งนี้ไอโซเลต Nk5-1 อาจเป็นเชื้อ *Sphaceloma* สปีชีส์อื่น จากการทดลองได้เลือกไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 เนื่องจากมีระดับความรุนแรงในการก่อโรคสูง และจากแผนภาพ dendrogram ของลักษณะทางพันธุกรรม เชื้อทั้งสองไอโซเลตมีความห่างกันทางพันธุกรรมมากกว่าไอโซเลต Cb1-1, Cr1-1 และ Nk5-1 นำมาทดสอบกับองุ่น

ลูกผสม F_1 ทั้งหมด 133 ลูกผสมจาก 12 คู่ผสม พบว่าองุ่นลูกผสม F_1 ทั้งหมดแสดงความต้านทานโรคสแคบไม่แตกต่างกันเมื่อปลูกเชื้อด้วยไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 โดยพบ 29 และ 36 ลูกผสมต้านทานไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 ตามลำดับ ซึ่งมีเพียง 14 ลูกผสม ที่ต้านทานหรือต้านทานมากต่อเชื้อทั้งสองไอโซเลต คิดเป็น 10.5 เปอร์เซ็นต์ของลูกผสมทั้งหมด และคู่ผสมที่มีความเหมาะสมสำหรับใช้ในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบ คือ คู่ผสมระหว่าง Black Queen $\times$ Wilcox 321, Black Queen $\times$ NY88.0517.01 และ Carolina Black Rose $\times$ NY65.0550.04 เนื่องจากให้ค่าเฉลี่ยของระดับความต้านทานโรคสแคบดีกว่าคู่ผสมอื่นอีก 9 คู่ผสม และให้ลูกผสมบางต้นที่มีความต้านทานโรคสแคบสูง ได้แก่ SUT0402.13, SUT0404.40, SUT0406.02, SUT0406.28, SUT0408.06, SUT0409.06 และ SUT0411.47

ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรคสแคบขององุ่นในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการเกิดโรคสแคบในสภาพห้องปฏิบัติการ ซึ่งทดสอบด้วยไอโซเลต Nk4-1 (จ.นครราชสีมา) และไอโซเลต Rc2-1 (จ.ราชบุรี) กับการเกิดโรคสแคบตามธรรมชาติ พบว่าให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากองุ่นที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่นลูกผสม F_1 จำนวน 24 ลูกผสม ส่วนใหญ่อ่อนแอต่อโรคสแคบ อย่างไรก็ตามพบองุ่นลูกผสม F_1 ที่น่าสนใจคือ SUT0404.40 เนื่องจากมีความสามารถในการต้านทานโรคสแคบทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ รองลงมาคือ SUT0403.09, SUT0404.11 และ SUT0401.19 เนื่องจากแสดงความต้านทานโรคสแคบในสภาพไร่ สามารถนำลูกผสมเหล่านี้ไปทดสอบคุณภาพผลผลิตต่อไป หรือใช้เป็นแหล่งของยีนต้านทานโรคสแคบ เมื่อพิจารณาการเกิดโรคสแคบ พบองุ่นสายพันธุ์ NY88.0517.01 และลูกผสม SUT0403.09 กับ SUT0404.11 อ่อนแอต่อไอโซเลต Nk4-1 และต้านทานปานกลางต่อไอโซเลต Rc2-1 แต่ต้านทานโรคสแคบที่เกิดตามธรรมชาติในสภาพไร่ โดยพบว่าเซลล์ที่ตาย มีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาลดำ บริเวณรอบจุดเป็นสีเหลือง ไม่เป็นรูทะลุแห่งตายเหมือนอาการของโรคสแคบ ทำให้เชื้อบริเวณเนื้อเยื่อของผลที่ตายไม่ได้รับสารอาหารจากเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ และเชื้อตายในที่สุด แสดงว่าความต้านทานขององุ่นทั้ง 3 พันธุ์/สายพันธุ์นี้ อาศัยการกระตุ้นจากเชื้อแบบ hypersensitivity (ไพโรจน์ จ้วงพานิช, 2525) นอกจากนี้ยังสามารถพบลักษณะ hypersensitivity ได้ในองุ่นพันธุ์ต้านทาน NY65.0550.04 ในช่วงที่มีฝนตกหนัก และมีการระบาดของโรคสแคบรุนแรง โดยรวมการประเมินความต้านทานในห้องปฏิบัติการสอดคล้องกันกับความต้านทานในสภาพไร่ และเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกลูกผสมเบื้องต้น โดยเฉพาะเมื่อมีลูกผสมจำนวนมาก เพราะง่ายและรวดเร็ว แต่ในบางกรณี ระดับความต้านทานในสภาพไร่อาจแตกต่างจากการประเมินในสภาพห้องปฏิบัติการ เช่น องุ่นลูกผสม SUT0404.15 ซึ่งอ่อนแอต่อเชื้อ

ไอโซเลต Nk4-1 และ Rc2-1 เป็นโรคสแคปปานกลางในสภาพไร่ และพบว่าอู่นลูกผสม SUT0405.02 ซึ่งต้านทานปานกลางต่อเชื้อทั้งสองไอโซเลต กลับอ่อนแอต่อเชื้อสแคปในสภาพไร่ ดังนั้นจึงไม่ควรทำการทดลองเฉพาะในห้องปฏิบัติการ แต่ควรยืนยันผลในสภาพไร่ และควรทดสอบในหลายพื้นที่ เพราะประชากรเชื้ออาจมีพันธุกรรมแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ส่วนสายพันธุ์ของอู่นที่น่าสนใจในการถ่ายทอดยีนต้านทานโรคสแคปคือ Wilcox 321, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1 เนื่องจากสามารถต้านทานโรคสแคปได้ดีทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่

และเมื่อพิจารณาการเกิดโรคสแคปในสภาพไร่เป็นระยะเวลา 3 ปี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550, 2551 และ 2552 ซึ่งปี พ.ศ. 2550 พบว่าอู่นลูกผสม F_1 ได้แก่ SUT0401.19, SUT0404.15 และ SUT0407.06 แสดงความแปรปรวนในการต้านทานโรคสแคป ทั้งนี้อาจเนื่องจากอู่นลูกผสมเหล่านี้มียีนต้านทานแบบยีนเดี่ยว กล่าวคืออู่นจะแสดงความต้านทานต่อเชื้อเฉพาะเมื่อยีนต้านทาน (R gene) สามารถจับตัวกับยีนไม่ก่อโรค (avirulence gene) ของเชื้อได้ ดังนั้นอู่นลูกผสมเหล่านี้จึงแสดงความต้านทานและอ่อนแอต่อเชื้อในแต่ละปีแตกต่างกัน เพราะสัดส่วนของสายพันธุ์เชื้ออาจเปลี่ยนแปลงในแต่ละปี โดยเฉพาะในลูกผสม SUT0401.19 และ SUT0407.06 ซึ่งแสดงระดับการเกิดโรคเพิ่มขึ้นมากในปี พ.ศ. 2552 อาจเป็นผลจากการมีเชื้อสายพันธุ์ก่อโรค (virulent race) ในสัดส่วนสูงขึ้น เมื่อพิจารณาการเก็บข้อมูล วันที่ 11 และ 31 กรกฎาคม พบว่ามีปริมาณน้ำฝนที่ตกใน จ.นครราชสีมา จำนวน 141.9 มม. อุณหภูมิอากาศ 28.8°C ในปี พ.ศ. 2551 เก็บข้อมูลเมื่อวันที่ 22 และ 31 ตุลาคม ซึ่งเดือนนี้มีปริมาณน้ำฝน จำนวน 153.9 มม. ความชื้นสัมพัทธ์ 81.1% และอุณหภูมิอากาศ 27°C ส่วนปี พ.ศ. 2552 เก็บข้อมูลวันที่ 19 กรกฎาคม พบว่าเดือนนี้มีปริมาณน้ำฝนที่ตกมีจำนวน 174.3 มม. ความชื้นสัมพัทธ์ 72.5% และอุณหภูมิอากาศ 28.3°C ขณะที่วันที่ 16 ตุลาคม เดือนนี้มีปริมาณน้ำฝน จำนวน 181.3 มม. ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ 75% และอุณหภูมิอากาศ 27.2°C (ศูนย์การทดลองใช้น้ำชลประทานที่ 3 (ห้วยบ้านยาง) จ.นครราชสีมา) เมื่อวิเคราะห์ผลในสภาพไร่พบว่า คะแนนการเกิดโรคสแคปในอู่นทั้ง 3 ปีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แสดงว่าปริมาณน้ำฝนในช่วง 141.9-181.3 มม. ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิอากาศ เพียงพอต่อการเกิดโรคสแคป และยีนต้านทานในลูกผสมส่วนใหญ่ของประชากรนี้มีความเสถียรอย่างน้อย 3 ปี ซึ่งจากการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการเกิดโรคสแคปในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้การประเมินโรคสแคปในห้องปฏิบัติการเข้ามาช่วยในการคัดเลือกพันธุ์อู่นต้านทานโรคสแคปได้ แต่เพื่อความถูกต้องแม่นยำควรทดลองในสภาพไร่หลายสภาพแวดล้อมด้วย เนื่องจากอู่นบางพันธุ์/สายพันธุ์มีความต้านทานโรคแบบ hypersensitivity และมีความจำเพาะต่อสายพันธุ์ของเชื้อ

การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน โดยการศึกษาสมรรถนะการรวมตัวทั่วไป (gca) และสมรรถนะการรวมตัวจำเพาะ (sca)

ผลการวิเคราะห์หาเรียนซ์เมื่อเปรียบเทียบคะแนนการเกิดโรคระหว่างงุ่นลูกผสม F_1 และพันธุ์พ่อแม่ พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่าไม่มีลูกผสมดีเด่น (heterosis) เหนือพ่อแม่ เมื่อพิจารณาพันธุ์แม่ทั้ง 2 พันธุ์ (Black Queen และ Carolina Black Rose) พบว่าอ่อนแอต่อโรคสแคบ และพันธุ์พ่อ NY65.0550.04 มีความต้านทานโรคสแคบมากที่สุด ส่วนงุ่นลูกผสม F_1 ทั้ง 6 กลุ่มผสมจำนวน 85 ลูกผสม ส่วนใหญ่อ่อนแอต่อโรคสแคบ อย่างไรก็ตาม เพื่อความน่าเชื่อถือของข้อมูลการทดลอง ควรใช้จำนวนพันธุ์พ่อแม่ 8-10 พันธุ์ (Hayman, 1960; Hayward, 1979) เมื่อพิจารณา gca พบว่าการตอบสนองต่อการเข้าทำลายของโรคสแคบส่วนใหญ่เป็นการแสดงออกของยีนแบบบวก (additive gene action) มากกว่าแบบที่ไม่ใช่แบบบวก (non-additive gene action) ส่วนความสัมพันธ์ระหว่าง mean square ของ gca และ sca คือ 25.50:1, 4.43:1 และ 0.17:1 (gca (พันธุ์พ่อ): gca (พันธุ์แม่), gca (พันธุ์พ่อ): sca และ gca (พันธุ์แม่): sca ตามลำดับ) แสดงว่างุ่นพันธุ์พ่อยีนเพิ่มลักษณะมากกว่าหรือมีผลของยีนแบบบวกมากกว่า เมื่อพิจารณา sca พบว่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าไม่มีกลุ่มผสมใดที่ให้ลักษณะดีเด่นเมื่อเปรียบเทียบกับผลเฉลี่ย แต่อย่างไรก็ตาม อัตราพันธุกรรมอย่างแคบ ซึ่งมีค่า 79.21 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าอัตราการถ่ายทอดลักษณะจากพ่อแม่ไปยังลูกหลานสูง การถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคสแคบเกิดจากผลของยีนแบบบวกมากกว่าสภาพแวดล้อม ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคสแคบน่าจะมีโอกาสประสบความสำเร็จสูง ซึ่งพันธุ์พ่อที่มีความต้านทานต่อโรคสแคบมากที่สุด ซึ่งสมควรนำไปใช้ในอนาคต คือ NY65.0550.04 และจากผลการทดลองนี้พบว่าค่าอัตราพันธุกรรมอย่างแคบมีค่าสูง แสดงว่าสามารถใช้วิธี detached leaf ในห้องปฏิบัติการช่วยในการคัดเลือกพันธุ์งุ่นต้านทานโรคสแคบเบื้องต้นในประชากรนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RAPD และยีนต้านทานโรคสแคบในงุ่น

ในปัจจุบันวิวัฒนาการด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชได้ก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว จากวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิมที่ต้องใช้เวลานานหลายปี สามารถใช้เวลาไม่ถึงปีเพื่อคัดเลือกพืชต้านทานโรคที่เราต้องการ โดยใช้วิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาช่วยในการคัดเลือกพันธุ์พืช ซึ่งเครื่องหมายที่นิยมใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคคือ เครื่องหมายที่สร้างจากเทคนิคพีซีอาร์ ชนิดที่เป็น multi-locus ได้แก่ RAPD, AFLP, และ ISSR (อรรถน์ มงคลพร, 2548) ในการทดลองนี้ได้เลือกใช้เครื่องหมาย RAPD เนื่องจากมีการรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการศึกษาพันธุกรรมของงุ่น *V. quinquangularis* และสปีชีส์อื่น ๆ (Luo et al., 2002) ซึ่งในประเทศจีน พบว่าเครื่องหมาย RAPD OPJ13-300, OPV02-600 และ OPS03-1,300 สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคสแคบในงุ่นที่ตำแหน่ง 300, 600 และ 1,300 bp ตามลำดับ (Wang et al., 2000a; Wang et al., 2000b; Wang et al.,

2001) จึงได้นำเครื่องหมายทั้ง 3 นี้มาใช้ในการตรวจสอบความต้านทานโรคสแคบในองุ่นลูกผสม F_1 จำนวน 7 กลุ่ม และจากการทดลองพบว่า เครื่องหมาย OPV02-600 เป็นเครื่องหมายเดียวที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในองุ่นพันธุ์พ่อแม่ที่ตำแหน่ง 600 bp ซึ่งมีเพียงพันธุ์ต้านทาน 4 สายพันธุ์ ที่มีแถบดีเอ็นเอ ได้แก่ Wilcox 321, NY88.0517.01, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1 ส่วน NY 88.0507.01 แสดงความต้านทานต่อไอโซเลต NK4-1 และ Rc2-1 แต่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง 600 bp แสดงว่าไม่สามารถใช้เครื่องหมายนี้ในการตรวจสอบลูกผสมได้ อย่างไรก็ตาม อาจใช้องุ่นสายพันธุ์นี้เป็นพันธุ์พ่อแม่ได้ ต้องใช้เครื่องหมายอื่นในการตรวจสอบ เมื่อนำเครื่องหมายนี้ มาทดสอบกับองุ่นลูกผสม F_1 ทั้งหมด พบว่าเครื่องหมาย OPV02-600 ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคสแคบในองุ่น เนื่องจากไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคสแคบ โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สามารถนำมาใช้คัดเลือกลักษณะใด ๆ ได้นั้น ต้องมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับลักษณะนั้น ๆ (closely linked) มากที่สุด มีค่าเปอร์เซ็นต์ recombination หรือลูกผสมที่ให้แถบดีเอ็นเอต่างจากเดิม ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ หรือไม่มี recombination จึงเหมาะสมที่สุด (อรรถนันทมงคลพร, 2548) ซึ่งในการทดลองนี้จำเป็นต้องพัฒนาเครื่องหมายชนิดนี้ให้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับลักษณะต้านทานโรคสแคบมากขึ้น จากการประเมินเปอร์เซ็นต์ต้านทานทั้งหมด 7 กลุ่มนี้ พบว่ากลุ่มระหว่าง Black Queen $\times$ NY88.0517.01 มีเปอร์เซ็นต์ต้านทานโรคสแคบทั้งสองไอโซเลตมาก โดยมีจำนวนต้นลูกผสมต้านทาน 50 เปอร์เซ็นต์ ต้านทานปานกลาง 16.7 เปอร์เซ็นต์ และอ่อนแอ 33.3 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ากลุ่มนี้สามารถใช้ในการผลิตและคัดเลือกองุ่นลูกผสมที่มีความต้านทานโรคสแคบได้ในอนาคต แต่จำเป็นต้องผลิตลูกผสมสำหรับคัดเลือกรุ่นมากขึ้น

ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSCP และยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่น

จากการนำลำดับเบสของ RGAs ที่โคลนได้จาก Tuntasawat et al. (unpublished data) มาใช้ในการออกแบบไพรเมอร์จำเพาะ จำนวน 3 ไพรเมอร์ ได้แก่ rgVvinBQ_47, rgVhybNY507_11 และ rgVhybNY507_28 ซึ่งตั้งชื่อว่าเครื่องหมาย BQ47, NY11 และ NY28 ตามลำดับ เพื่อใช้ประเมินหาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายกับยีนต้านทานโรคสแคบในองุ่นลูกผสม F_1 ที่พบความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอในองุ่นพันธุ์พ่อแม่ที่ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคสแคบ พบว่าเครื่องหมาย SSCP ทั้ง 3 เครื่องหมายนี้อาจไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคสแคบ เนื่องจากไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคสแคบ ยกเว้นกลุ่มระหว่าง Italia $\times$ NY65.0550.04 เมื่อทดสอบด้วยไอโซเลต Rc2-1 ($R^2 = 0.96$; $P < 0.01$) แต่จำเป็นต้องยืนยันผลการทดลองอีกครั้งด้วยการใช้จำนวนลูกผสมที่มากขึ้น และทดสอบกับไอโซเลตอื่น ๆ อย่างไรก็ตาม เครื่องหมายทั้งสามนี้อาจเป็นประโยชน์ในการกำหนดตำแหน่งยีนต้านทานในแผนที่ยีนเมื่อใช้เครื่องหมายโมเลกุลเพิ่มขึ้นในอนาคต

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาความหลากหลายของเชื้อ ความต้านทาน และการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล สำหรับยีนต้านทานเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ (แอนแทรคโนส) ในองุ่น พบว่า

1. การแยกเชื้อ *S. ampelinum* จากชิ้นส่วนองุ่นที่เป็นโรค ด้วยวิธี tissue transplanting โดยทำการชักนำให้เชื้อเจริญออกมาจากเนื้อเยื่อที่เป็นโรคบนอาหาร WA แล้วบ่มทิ้งไว้ 3-5 วัน สามารถแยกเชื้อได้ดี

2. การศึกษาการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *S. ampelinum* ช่วยให้เข้าใจธรรมชาติของเชื้อราชนิดนี้มากขึ้น กล่าวคือ เชื้อแต่ละไอโซเลตเจริญเติบโตช้า อาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกันมีผลทำให้การเจริญเติบโต ลักษณะสี การสร้าง aerial mycelium และรูปร่างโคโลนีของเชื้อแตกต่างกัน สีของโคโลนีจะเข้มข้นตามอายุของเชื้อ และหยุดการเจริญเติบโตเมื่อเชื้อมีอายุได้ 8 สัปดาห์ เชื้อแต่ละไอโซเลตมีขนาดโคโลนีใกล้เคียงกัน อยู่ในช่วง $4.20-5.51 \times 1.58-2.07$ ไมครอน

3. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. ampelinum* โดยการใช้เครื่องหมาย RAPD ทำให้สามารถแบ่งเชื้อ จำนวน 19 ไอโซเลต ออกเป็น 4 กลุ่มตามภาค ได้แก่ ภาคตะวันออกเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ และตะวันตก แสดงให้เห็นว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตมีความเหมือนกันทางพันธุกรรมภายในภาคมากกว่าต่างภาค

4. การวิเคราะห์ความต้านทานขององุ่นต่อเชื้อ *S. ampelinum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าองุ่นส่วนใหญ่แสดงอาการของโรคในวันที่ 2 ของการปลูกเชื้อ ยกเว้น องุ่นพันธุ์ต้านทาน (Wilcox 321, NY88.0507.01, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1) ซึ่งองุ่นแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีระดับความต้านทานโรคแตกต่างกัน องุ่นสายพันธุ์ Wilcox 321, NY65.0550.04 และ Illinois 547-1 ต้านทานมากที่สุด ส่วนองุ่นพันธุ์ Black Queen อ่อนแอมากที่สุด และพบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลตมีระดับความรุนแรงในการก่อโรคต่างกัน และมีปฏิสัมพันธ์กับพันธุ์องุ่น ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์องุ่นให้ต้านทานโรคสแคบ จำเป็นต้องทดสอบความต้านทานโรคหลายปี หลายสถานที่ หรือรวมยีนต้านทานหลาย ๆ ยีนไว้ในพันธุ์เดียวกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านทานโรคสแคบอย่างยั่งยืน

5. ความสัมพันธ์ระหว่างความต้านทานโรคสแคบขององุ่นในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพไร่มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน แสดงว่าสามารถใช้การประเมินโรคสแคบในสภาพห้องปฏิบัติการช่วยในการคัดเลือกพันธุ์องุ่นต้านทานโรคสแคบเบื้องต้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ควรยืนยันด้วยการทดสอบในสภาพไร่หลายสภาพแวดล้อม จากการทดลองนี้พบลูกผสม F_1 ที่น่าสนใจ

มากที่สุด คือ SUT0404.40 เนื่องจากด้านทานเชื้อทั้งสองไอโซเลตในสภาพห้องปฏิบัติการและมีความต้านทานในระดับสูงในสภาพไร่ ซึ่งควรศึกษาปริมาณและคุณภาพผลผลิตของลูกผสมนี้เพื่อพัฒนาเป็นพันธุ์การค้า หรือใช้เป็นแหล่งของยีนต้านทานโรคสแคบในอนาคต

6. การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนโดยศึกษา gca และ sca พบว่าองุ่นที่เหมาะสมในการถ่ายทอดยีนต้านทานโรคสแคบมากที่สุด คือ NY65.0550.04 ซึ่งการแสดงออกของยีนเป็นแบบบวกและอัตราพันธุกรรมอย่างแคบ มีค่า 79.2 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่ายีนต้านทานโรคสแคบสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมจากพ่อแม่ไปยังลูกหลานได้สูง

7. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย RAPD และลักษณะต้านทานโรคสแคบองุ่น พบว่าเครื่องหมาย OPV02 เป็นเครื่องหมายเดียวที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง 600 bp แต่ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคสแคบในองุ่นเหล่านี้ เนื่องจากไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคสแคบ

8. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมาย SSCP และลักษณะต้านทานโรคสแคบองุ่น พบว่าเครื่องหมาย SSCP ทั้ง 2 เครื่องหมาย คือ BQ47 และ NY11 ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคสแคบในองุ่นเหล่านี้ ยกเว้นเครื่องหมาย NY28_1 ที่สัมพันธ์กับลักษณะต้านทานในกลุ่มผสมระหว่าง Italia $\times$ NY65.0550.04 ซึ่งปลูกเชื้อด้วยไอโซเลต Rc2-1 ($R^2 = 0.96$; $P < 0.01$) แต่จำเป็นต้องยืนยันผลการทดลองด้วยการใช้จำนวนลูกผสมที่มากขึ้น

รายการอ้างอิง

- กิตติพงษ์ ศรีตรียานนท์. (2544). การตัดแต่งกิ่งองุ่น: ภูมิปัญญาชาวบ้าน. วารสาร ส.ก.ว. 8(1): 35.
- กานต์ คำทรัพย์. (2546). ชีววิทยา ความสามารถในการก่อให้เกิดโรค และการควบคุมโดยใช้สารเคมีของเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* de Bary สาเหตุโรคสแคบขององุ่น. วิทยานิพนธ์ระดับมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กนกวรรณ จารุกัจฉ และวรัญญา จตุพรประเสริฐ. (2550). สนิป: ความรู้พื้นฐานต่อการประยุกต์ใช้. **Thai Phram. Health Sci. J.** 2(2): 166-174.
- กนิษฐ์ ธนุเทพ สุนทร เสียงชอบ และทรงพันธ์ กุลคิดกรัตน์. (ม.ม.ป.). การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชเบลคัท® (iminoctadine tris [albesilate]) 40%WP ในการป้องกันกำจัดโรคสแคบ (*Sphaceloma ampelinum* de Bary) ในองุ่น [ออนไลน์]. ได้จาก: http://plantpro.doae.go.th/disease_research/B-16.pdf.
- กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร. (2542). การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตองุ่นพันธุ์ดีเพื่อการค้า [ออนไลน์]. ได้จาก: <http://pirun.ku.ac.th/~rdgkpt/grape-news-training46.html>
- กรรณิการ์ เพียนภักตร์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. (2533). โรคเชื้อราขององุ่นที่พบใหม่. **หนังสือพิมพ์กสิกร** 66(5): 444-447.
- กรรณิการ์ เพียนภักตร์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน (2536). โรคสแคบขององุ่น (*Sphaceloma ampelinum* de Bary). **ว. วิชาการเกษตร** 11(2): 66-72.
- กรรณิการ์ เพียนภักตร์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. (2537). “อินุบ ไม่ใช่ เต่าเผา” หนังสือพิมพ์ **กสิกร** 67(2): 125-127.
- กรรณิการ์ เพียนภักตร์ วิรัช ชูบำรุง และอภิรัชต์ สมฤทธิ์. (2541). มะม่วงกับโรคสแคบ. **ว. เกษะเกษตร**. 22(10): 101-104.
- กรรณิการ์ เพียนภักตร์ วิรัช ชูบำรุง และอภิรัชต์ สมฤทธิ์. (2544). การศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคสแคบของฝรั่งในประเทศไทย. **ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา** 11(3): 2-12.
- กรรณิการ์ เพียนภักตร์ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และชนิดย์ ปล่องบรรจง. (2545). เทคนิคการแยกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบของพืชต่าง ๆ ในประเทศไทย. **ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา** 12(1): 14-19.
- กรรณิการ์ (ลาชโรจน์) เพียนภักตร์. (2547). *Sphaceloma* spp. สาเหตุโรคสแคบของพืชต่าง ๆ ในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. หจก. ฟันนี้ พับบลิชชิง กรุงเทพฯ. 67 หน้า.
- ขนิษฐา มากรุง. (2548). การพัฒนาวิธีการตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อ *Sphaceloma ampelinum*

- de Bary สาเหตุโรคสแคบองุ่นและความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อ. วิทยานิพนธ์ระดับ
มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- จรัส เห็นพิทักษ์ และโอฬาร ตันตทวิรุฬห์. (2549). ศักยภาพการใช้ประโยชน์พื้นที่แห้งแล้งในการ
ผลิตองุ่นเพื่อรับประทานสดและการทำไวน์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนากระบวนการผลิต
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.rdi.ku.ac.th/kasetfair49/Plant/p_14/p_14.htm
- เดือนใจ บุญหลง สุชาติ วิจิตรานนท์ และแสงมณี ชิงดวง. (2545). โรคไม้ผล. กองโรคพืชและจุล-
ชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. หน้า 62-63.
- ณรงค์ สิงห์บุระอุคม. (2547). ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของสารพิษสกัดหยาบของเชื้อรา
Sphaceloma ampelinum de Bary. [ออนไลน์]. ได้จาก: <http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4201003.pdf>
- นิพนธ์ วิสารทนนท์. (2542). โรคไม้ผลเขตกิ่งร้อน. ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
หน้า 81.
- นันทกร บุญเกิด. (2546). คู่มือการสร้างสวนองุ่น. พิมพ์ครั้งที่ 3. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนัก
วิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา. หน้า 17.
- ปรีชา ประเทพา. (2543). พันธุศาสตร์ยุคใหม่ เทคโนโลยีดีเอ็นเอ เพื่อการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรม.
อภิชาติการพิมพ์. มหาสารคาม. 105 หน้า.
- เพชรรัตน์ โยวะบุตร. (2545). คำเตือนการเฝ้าระวังการระบาดของโรคพืชในช่วงฤดูฝน. ข่าวสารโรค
พืชและจุลชีววิทยา 12(1): 31-34.
- ไพโรจน์ จัวงพานิช. (2525). หลักวิชาโรคพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. บริษัทสารมวลชน จำกัด, กรุงเทพฯ.
- วัฒนา สวรรยาธิปิติ. (2531). การปลูกองุ่น. ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม. หน้า 2-3.
- วันณรงค์ เหล่าประดิษฐ์. (2542). องุ่น (Grapes). ว. ส่งเสริมการเกษตร 29(139): 16-18.
- ศรีสุข พูนผลกุล และชนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์. (2551). การจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อรา *Phytophthora*
spp. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าโดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนา
การอารักขาพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์สุวิริยาสาสน์, กรุงเทพฯ.
- ศิริลักษณ์ ลิละคร พิศาล ศิริธร นิวัฒน์ เสนาะเมือง และ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. (2547). ความผัน-
แปรทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Ustilago scitaminea* สาเหตุโรคเส้ดำของอ้อย. วิทยานิพนธ์
ระดับมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- เศรษฐพงศ์ เลขาวัฒนะ ไพสิฐ เกตุสถิต วรรณศิริ สันติ วัฒนานะ นิยมรัฐ ไตรศรี ศรีสุตา ไททอง
และกนกวรรณ ถนอมจิตร. (2550). งานวิจัยกล้วยไม้ดินไบโหมากเพื่อการส่งออก. จดหมาย
ข่าว ส่วนส่งเสริมการผลิตผักไม้ดอกไม้ประดับ และสมุนไพร สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้า

- เกษตร 4(25): 1-21.
- สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ. (2545). การเก็บรักษาเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยเทคนิคการเก็บบนกระดาษกรอง. **ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา** 12(1): 26-28.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2545). จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 116 หน้า.
- สุริพร เกตุงาม. (2546). เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. **ว. วิชาการ ม.อ.บ.** 5(2): 37-58.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2553). สถิติส่งออก-นำเข้าสินค้าที่สำคัญของไทย [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/import_result.php
- อรรรัตน์ มงคลพร. (2548). เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. พิมพ์ครั้งที่ 1. จรัสสินทวงศ์การพิมพ์, กรุงเทพฯ. หน้า 55-66.
- อภิชาติ ศรีสอาด. (2543). **ongunjenlan kumio**การทำสวนongunoyangmooa. บริษัท นาคา อินเตอร์มีเดีย จำกัด, กรุงเทพฯ. หน้า 6.
- อังสนา อัครพิศาล ลัดดาวัลย์ ผดุงโษฐ์ และ Akimitsu, K. (ม.ม.ป.). การต้านทานของ *Sphaceloma rosarum* ต่อคาร์เบนดาซิมในแปลงปลูกกุหลาบ. **การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7**. หน้า 1050-1059.
- Adebitan, S.A. (1998). Record of new host plants for *Sphaceloma* on cowpea in Nigeria. **Mycopatho.** 143: 47-51.
- Alvarez, E. and Molina, M.L. (2000). Characterizing the *Sphaceloma* fungus, causal agent of superelongation disease in cassava. **Plant Dis.** 84: 423-428.
- Alvarez, E., Mejia, J.F. and Valle, T.L. (2003). Molecular and pathogenicity characterization of *Sphaceloma manihoticola* isolates from South-Central Brazil. **Plant Dis.** 87: 1322-1328.
- Ananthanarayanan, S. (1963). A new species of *Elsinoe* from India. Law College Buildings, Poona-4, India 16: 208-210.
- Anonymus. (2007). Vitis 'Reliance' [On-line]. Available: <http://www.Mobot.org/gardeninghelp/plantfinder/Plant.asp?code=N540>
- Biyani, M. and Nishigaki, K. (2005). Single-strand conformation polymorphism (SSCP) of oligodeoxyribonucleotides: an insight into solution structural dynamics of DNAs provided by gel electrophoresis and molecular dynamics simulations. **J. Biochem.** 138: 363-373.
- Boehm, J.-W. (2004). Protocol [On-line]. Available: <http://www.protocol-nline.org/prot/detailed/1200.html>

- Bouhassan, A., Sadiki, M. and Tivoli, B. (2004). Evaluation of a collection of faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes originating from the Magherb for resistance to chocolate spot (*Botrytis fabae*) by assessment in the field and laboratory. **Euphytica** 135: 55-62.
- Broadhurst, P.G., Lewthwaite, S.L. and Triggs, C.M. (1997). Field evaluation of sweetpotato cultivars for resistance to sclerotinia rot. **Proceedings of the 50th New Zealand plant protection conference** 50: 89-92.
- Brook, P.J. (1973). Epidemiology of grapevine anthracnose, caused by *Elsinoe ampelina*. **NZ. J. Agri. Res.** 16(3): 333-342.
- Burnett, H.C. (1974). Avocado Scab. Fla. Dept. Agr. & Consumer Serv. **Plant Pathol.** Circ. No.141. 2 p.
- Butin, H and Kehr, R. (2004). *Sphaceloma murrayae* Jenk. & Grods., a pathogen new to Europe on *Salix* spp. **For. Path.** 34: 27-31.
- CAB International. (2000). Crop Protection Compendium. CAB International, Wallingford, UK.
- Cai, Q.Q. and Touitou, I. (1993). Excess PCR primers may dramatically affect SSCP efficiency. **Nucleic Acids Res.** 21(16): 3909-3910.
- Chaube, H.S and Singh, U.S. (1991). **Plant Disease Management: Principles and Practices.** CRC Press, United States. pp: 69-75.
- Cheema, S.S., Kapur, S.P., Chohan, J.S. and Jeyarajan, R. (1978). Studies on the cultural and pathogenic variations of *Sphaceloma ampelinum*, the causal organism of the anthracnose disease of grape. **Indian Phytopath.** 31(2): 163-166.
- Chen, J.O., Chang, C.J. and Hopkins, D.L. (1995). Randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Xylella fastidiosa* Pierce's disease and oak leaf scorch pathotypes. **Appl. Environ. Microbiol.** 61(5):1688-1690.
- Chenault, K.D., Melouk, H.A. and Payton, M.E. (2005). Field reaction to sclerotinia blight among transgenic peanut lines containing antifungal genes. **Crop Sci.** 45: 511-515.
- Collard, C.Y. and Mackill, D.J. (2008). Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. **Phil. Trans. R. Soc. B.** 363: 557-572.
- Comstock, R.E. and Robinson, H.F. (1952). Estimation of average dominance of genes. In G.W. Gowen (ed.). **Heterosis.** Iowa: Iowa State College. p. 494-516.
- Diamond, H. and Cooke, B.M. (1999). Towards the development of a novel *in vitro* strategy for

- early screening of *Fusarium* ear blight resistance in adult winter wheat plants. **European J. Plant Pathol.** 105: 363-372.
- Dieters, M.J., White, T.L. and Hodge, G.R. (1995). Genetic parameters estimates for volume from full-sib tests of slash pine (*Pinus elliottii*). **Can. J. For. Res.** 25: 1397-1408.
- Di Gaspero, G. and Cipriani, G. (2002). Resistance gene analogs are candidate markers for disease resistance genes in grape (*Vitis* spp.). **Theor. Appl. Genet.** 106: 163-172.
- Di Gaspero, G. and Cipriani, G. (2003). Nucleotide binding site/leucine-rich repeats, Pto-like and receptor like kinase related to disease resistance in grapevine. **Mol. Gen. Genomics** 269: 612-623.
- Domoto, P. and Nonnecke, G. (2004). 2002 Leopold Grape Cultivar by Management System Trial. Iowa State University Extension, **Annual Fruit/ Vegetable Progress Report FG-601 (rev.)**. P. 25-29.
- Donald, T. M., Pellerone, F., Adam-Blondon, A. –F., Bouquet, A., Thomas, M. R. and Dry, I. M. (2002). Identification of resistance gene analogs linked to a powdery mildew resistance locus in grapevine. **Theor. Appl. Genet.** 104: 610-618.
- Douclevff, M., Jin, Y., Gao, F., Riaz, S. and Krivanek, A. F. (2004). A genetic linkage map of grape, utilizing *Vitis rupestris* and *Vitis arizonica*. **Theor. Appl. Genet.** 109: 1178-1187.
- Ellett, C.W. (1957). The Parasitic Fungi of Ohio plants. Department of Botany and Plant Pathology, The Ohio State University. **Ohio J. Sci.** 57(4): 236-242.
- Ellis, J., Dodds, P. and Pryor, T. (2000). Structure, function and evolution of plant disease resistance genes. **Plant Biol.** 3: 278-284.
- Engelhard, A.W. (1983). Chemical control of scab (*Sphaceloma poinsettiae*) on outdoor grown poinsettia plants in Florida. **Proc. Fla. State Hort. Soc.** 96: 285-287.
- Engelkes, C.A., Nuclo, R.L. and Fravel, D.R. (1997). Effect of carbon, nitrogen, and C:N ratio on growth, sporulation, and biocontrol efficacy of *Talaromyces flavus*. **Phytopathology** 87: 500-505.
- Evans, L.T. (1997). Adapting and improving crops: the endless task. **Phil. Trans. R. Soc. B.** 352: 901-906.
- Evans, C.K., Hunger, R.M. and Siegerist, W.C. (1999). Comparison of greenhouse and field testing to identify wheat resistant to tan spot. **Plant Dis.** 83: 269-273.
- Everett, K., Manning, M., Fullerton, B., Rees-George, J. and Hartill, B. (2007). Avocado scab not

- present in New Zealand. **Avoscene** 30-31.
- Fennell, J.L. (1948). Inheritance studies with the tropical grape. **J. Hered.** 39: 54-64.
- Flisikowski, K. and Zwierzchowski, L. (2002). Single-strand conformation polymorphism within exon7 of the bovine *STAT5A* gene. **Anim. Sci. Pap. Rep.** 20(2): 133-137.
- Fischer, B.M., Salakhutdinov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K.J., Töpfer, R. and Zyprian, E.M. (2004). Quantitative trait locus analysis of fungal disease resistance factors on a molecular map of grapevine. **Theor. Appl. Genet.** 108: 501-515.
- Fujita, K. and Silver, J. (1994). Single-strand conformational polymorphism. **Genome Res.** 4: 137-140.
- Gago-Zachert, S.P., Costa, N.B., Semorile, I., and Grau, O. (1999). Sequence variability in p27 gene of Citrus Tristeza Virus (CTV) revealed by SSCP analysis. **Elec. J. Biotech.** 2(1): 16-25.
- Gamble, E.E. (1962). Gene effects in corn (*Zea mays* L.): I. separation and relative importance of gene effects for yield. **Can. J. Plant Sci.** 42: 339-348.
- Gao, Z.S., Cai, H.W. and Liang, G.H. (2005). Field assay of seedling and adult-plant resistance to southern leaf blight in maize. **Plant Breed.** 124: 356-360.
- Gianfranceschi, L., Koller, B., Seglias, N., Kellerhals, M. and Gessler, C. (1996). Molecular selection in apple for resistance to scab caused by *Venturia inaequalis*. **Theor. Appl. Genet.** 93: 199-204.
- Goa, L., Sun, M.N., Liu, X.Z. and Che, Y.S. (2007). Effects of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi. *Mycol. Res.* III, p. 87-92.
- Goszczynski, D.E. (2007). Single-strand conformation polymorphism (SSCP), cloning and sequencing reveal a close association between related molecular variants of *Grapevine virus A* (GVA) and Shiraz disease in South Africa. **Plant Pathol.** 56: 755-762.
- Goyal, J.P., Pathak, V.N. and Sharma, H.C. (1971). Incidence of anthracnose disease on different varieties of grapes in Jobner, Rajasthan (india). *Tropical Agriculturist* OXX VII: 105-106.
- Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Austral. J. Biol. Sci.** 9: 463-493.
- Guo, H., Wang, Y., Zhang, J., Pan, X., Tang, D. and Tian, L. (2005). Development of resistant and seedless grape germplasms by embryo rescue and marker-assisted. **Acta. Bot. Boreal.**

Occident. Sin. 25(12): 2395-2401.

- Hausbeck, M.K., Woodworth, J.A. and Linderman, S.D. (2004). **Evaluation of 54 poinsettia cultivars for resistance to scab**. Michigan State University, Department of Plant Pathology East Lansing, MI48824-1311.
- Hayman, B.I. (1954). The theory and analysis of diallel-cross. **Genetics**. 39: 789-809.
- Hayman, B.I. (1960). The separation of epistatic from additive and dominance variation in generation means II. **Genetica** 31: 133-146.
- Hayward, M.D. (1979). The application of the diallel cross to outbreeding crop species. **Euphytica** 28: 729-737.
- Huaracha, E., Xu, M. and Korban, S.S. (2004). Narrowing down the region of the *Vf* locus for scab resistance in apple using AFLP-derived SCARs. **Theor. Appl. Genet.** 108: 274-279.
- Hyun, J.-W., Timmer, L.W., Lee, S.-C., Yun, S.-H., Ko, S.-W. and Kim, K.-S. (2001). Pathological characterization and molecular analysis of *Elsinoe* isolates causing scab diseases of citrus in Jeju island in Korea. **Plant Dis.** 85:1013-1017.
- Inglis, D.A., Hagedorn, D.J. and Rand, R.E. (1988). Use of dry inoculum to evaluate beans for resistance to anthracnose and angular leaf spot. **Plant Dis.** 72: 771-774.
- Jackson, D. (1999). **Temperate and Subtropical Fruit Production 2nd Edition**. CABI Publishing. New York. p. 203-207.
- Jackson, M.A. and Bothast, R.J. (1990). Carbon concentration and carbon-to-nitrogen ratio influence submerged-culture conidiation by the potential bioherbicide *Colletotrichum truncatum* NRRL 13737. **Appl. Environ. Microbiol.** 56(11): 3435-3438.
- Jayasankar, S., Li, Z. and Gray, D.J. (2000). *In-vitro* selection of *Vitis vinifera* 'Chardonnay' with *Elsinoe ampelina* culture filtrate is accompanied by fungal resistance and enhanced secretion of chitinase. **Planta** 211: 200-208.
- Jordon, S.J., Dodd, C.E.R. and Stewart, G.S.A.B. (1999). Use of single strand conformation polymorphism analysis to examine the variability of the *rpoS* sequence in environmental isolates of salmonellae. **Appl. Environ. Microbiol.** 65: 3582-3587.
- Kim, G.H., Yun, H.K., Choi, C.S., Park, J.H., Jung, Y.J., Park, K.S., Dane, F. and Kang, K.K. (2007). Identification of AFLP and RAPD markers linked to anthracnose resistance in grapes and their conversion to SCAR markers. **Plant Breed.** 127: 418-423.
- King, J.N. and Johnson, G.R. (1998). Analysis of disconnected diallel mating design II result from

- a third generation progeny test of the New Zealand radiata pine improvement programme. **Silvae. Genet.** 47: 80-87.
- Kong, P., Richardson, P.A. and Hong, C. (2005). Direct colony PCR-SSCP for detection of multiple pythiaceae oomycetes in environmental samples. **J. Micro. Met.** 61: 25-32.
- Kúdela, V. and Krejzar, V. (2006). First report of anthracnose of common snowberry caused by *Sphaceloma symphoricarpi* in the Czech Republic. **Plant Protect. Sci.** 42: 139-146.
- Kucharek, T. and Whiteside, J. (2000). Citrus Scab. Univ. of Florida, Inst. of Food and Agr. Sci., **Plant Pathol. Fact Sheet.** 5 p.
- Labruyère, R.E. (1957). [Observations on *Elsinoe veneta* (Burkh.), the perfect form of *Sphaceloma necator* (Ell. & Ev.) on raspberry.] **Tijdschrift over Platenziekten.** 63: 153-158.
- Lekawipat, N., Teerawatanasuk, K., Vanaaichit, A., Toojinda, T. and Tragoonrung, S. (2003). Evaluating the genetic relatedness of wild and cultivated *Hevea brasiliensis* accessions with SSCP markers, SABRAO **J. Breed. Gene.** 35(2): 123-134.
- Levesque, R. and SPSS Inc. (2006). SPSS Programming and Data Management, 3rd Edition. SPSS Institute, United State of America.
- Luo, S., He, P., Zhou, P. and Zheng, X. (2001). Identification of molecular genetic markers tightly linked to downy mildew resistant genes in grape. **Acta. Gen. Sin.** 28(1): 76-82.
- Luo, S., He, P., Zheng, X. and Zhou, P. (2002). Inheritance of RAPD markers in an interspecific F₁ hybrid of grape between *Vitis quinquangularis* and *V. vinifera*. **Sci. Hort.** 93: 19-28.
- Lynch, D.R., Wastie, R.L., Stewart, H.E., Mackay, G.R., Lyon, G.D. and Nachmias, A. (1991). Screening for resistance to early blight (*Alternaria solani*) in potato (*Solanum tuberosum* L.) using toxic metabolites produced by the fungus. **Potato Res.** 34: 297-304.
- Mackay, I.J. and Caligari, P.D.S. (2000). Efficiencies of F₂ and backcross generations for bulked segregant analysis using dominant markers. **Crop. Sci.** 40: 626-630.
- Mackill, D.J., Nguyen, H.T. and Zhang, J. (1999). Use of molecular markers in plant improvement programs for rainfed lowland rice. **Field Crops Res.** 64: 177-185.
- Mahanil, S. (2007). Inheritance and cloning of candidate resistance gene analogs (RGAs) for downy mildew in grapevine (*Vitis* spp.). Nakhon Ratchasima, Thailand, Suranaree University of Technology, PhD Thesis.
- Mantel, N. (1976). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Res.** 27: 209-220.

- Markoff, A., Savov, A., Vladimirov, V., Bogdanova, N., Kremensky, I. and Ganev, V. (1997). Optimization of single-strand conformation polymorphism analysis in the presence of polyethylene glycol. **Clin. Chem.** 43(1): 30-33.
- Martins-Lopes, P., Zhang, H. and Koebner, R. (2001). Detection of single nucleotide mutations in wheat using single strand conformation polymorphism gels. **Plant Mol. Bio. Rep.** 19: 159-162.
- Michelmore, R.W., Paran, I. and Kesseli, R.V. (1991). Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 88: 9828-9832.
- Miller, J.W., Seymour, C.P. and DuCharme, E.P. (1981). Sweet orange scab. Fla. Dept. Agric & Consumer Serv. **Plant Pathol.** Circ. No. 228.
- Moore, J.N., Clark, J.R. and Morris, J.R. (1989). 'Saturn' Seedless Grape. **Hort. Sci.** 24(5): 61-62.
- Mortensen, J.A. (1981). Sources and inheritance of resistance to anthracnose in *Vitis*. **J. Hered.** 72(6): 423-426.
- Munro, J.M. (1988). Cane spot (*Elsinoe veneta*) in red raspberry: infection periods and fungicidal control. **Plant Pathol.** 37: 390-396.
- Nair, S., Lin, T.K., Pang, T. and Altwegg, M. (2002). Characterization of *Salmonella* serovars by PCR single-strand conformation polymorphism analysis. **J. Clinical Microbiol.** 40(7): 2346-2351.
- Nelson, B.D., Helms, T.C. and Olson M.A. (1991). Comparison of laboratory and field evaluations of resistance in soybean to *Sclerotinia sclerotirum*. **Plant Dis.** 75: 662-665.
- Orita, M., Iwahana, H., Kanazawa, H., Hayashi, K. and Sekiya, T. (1989). Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphism. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 86: 2766-2770.
- Owen, C.L. (2003). SNP detection and genotyping in *Vitis*. **Acta. Hort.** 603: 139-140.
- Pastsart, U., Pinyopummintr, A., Kanjanapruthipong, J. and Siripholvat, V. (2006). Heat shock protein 90 (Hsp90) gene polymorphism associated with heat tolerance traits in crossbred dairy cattle and Thai native cattle. **Agri. Sci. J.** 37(5): 393-398.
- Patil, S.G., Honrao, B.K., Rao, V.G. and Patil, V.P. (1990). Field evaluation of grape germplasm for resistance against anthracnose. **Biovigyanam.** 16: 69-72.

- Pawelec, A., Dubourg, C. and Briard, M. (2006). Evaluation of carrot resistance to alternaria leaf blight in controlled environments. **Plant Pathol.** 55: 68-72.
- Pei, M.H., Ruiz, C., Bayon, C. and Hunter, T. (2004). Rust resistance in *Salix* to *Melampsora larici-epitea*. **Plant Pathol.** 53: 770-779.
- Phillips, A.J.L. (1994). Occurrence of scab *Phaseolus vulgaris* caused by *Elsinoe phaseoli* in South Africa. **Plant Pathol.** 43: 417-419.
- Pswarayi, I.Z. (1993). **Genetic parameters and selection indices for a population of *Pinus elliottii* Engelm. Var *elliottii***. PhD thesis, Linacre College, Oxford University, Oxford.
- Rademacher, W. (1992). Inhibition of gibberellin production in the fungi *Gibberella fujikuroi* and *Sphaceloma manihoticola* by plant growth retardants. **Plant Physiol.** 100: 625-629.
- Rajderkar, N.R. (1965). Certain chemical requirements for growth and sporulation of *Alternaria* species. **Mycopath.** 30:172-176.
- Ray, P.K. (2002). **Breeding Tropical and Subtropical Fruits**. Department of Horticulture Rajendra Agricultural University Pusa-848125 (Samasti pur), India. p. 173-200.
- Rohlf, F.J. (1993). NTSYSpc v. 2.2 Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System ver. 2.2. Exeter Software, Setauket, New York.
- Sambrook, J. and Russell, D.W. (2001). **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Schilder, A.C. (2004). **Biology and control of anthracnose in grapes**. Department of Plant Pathology, 104 CIPS Building, Michigan State University. p. 1-4.
- Shattuck, V.I., Christie, B. and Corso, C. (1993). Principles for Griffing's combining ability analysis. **Genetica** 90: 70-77.
- Shear, C.L. (1929). The life history of *Sphaceloma ampelinum* de Bary and *Gloeosporium ampelophagum* Sac. **Phytopathol.** 19(7): 673-679.
- Simone, G.W. (1999). **Disease Management in Grape (*Vitis* spp.)**. Department of Plant Pathology 3: 1-5.
- Sing, R.S. (2000). **Disease of fruit crops**. Print Enfield, N.H.: Science.
- Slafer, G.A., Araus, J.L., Royo, C. and Del Moral, L.F.G. (2005). Promising eco-physiological traits for genetic improvement of cereal yields in Mediterranean environments. **Ann. Appl. Biol.** 146: 61-70.
- Spare, G.E. and Tatum, L.A. (1942). General vs specific combining ability in single cross of corn.

- J. Amer. Soc. Agron.** 34: 923-932.
- Spearman, C. (1904). The proof and measurement of association between two things. **Am. J. Psycho.** 15: 72-101.
- Spiers, A.G. (1992). Some electron microscope observations of conidium ontogeny of *Sphaceloma murrayae* on Salix. **NZ. J. Bot.** 30: 353-358.
- St. Amand, P.C. and Wehner, T.C. (1995). Greenhouse, detached-leaf, and field testing methods to determine cucumber resistance to gummy stem blight. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 120(4): 673- 680.
- Steele, K.A., Edwards, G., Zhu, J. and Witcombe, J.R. (2004). Marker-evaluated selection in rice: shifts in allele frequency among bulks selected in contrasting agricultural environments identify genomic regions of importance to rice adaptation and breeding. **Theor. Appl. Genet.** 109: 1247-1260.
- Stewart, H.E., Flavelle, P.H., McCalmont, D.C. and Wastie, R.L. (1983). Correlation between glasshouse and field tests for resistance to foliage blight caused by *Phytophthora infestans*. **Potato Res.** 26: 41-48.
- Suhag, L.S, Grover, R.K. and Kaushik, I.C. (1982). Variability in *Sphaceloma ampelinum* and the performance of grapevine cultivars against the pathogen. **Indian Phytopath.** 35(3): 526-528.
- Sunnucks, P., Wilson, A.C.C., Beheregaray, L.B., Zenger, K., French, J. and Taylor, A.C. (2000). SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. **Mol. Ecol.** 9: 1699-1710.
- Šv Ábová, L. and Lebeda, A. (2005). *In vitro* selection for improved plant resistance to toxin-producing pathogens. **Phytopathol.** 153: 52-64.
- Tabor, G.M., Kubisiak, T.L., Klopfenstein, N.B., Hall, R.B. and McNabb Jr, H.S. (2000). Bulk segregant analysis identifies molecular markers linked to *Melampsora medusae* resistance in *Populus deltoids*. **Phytopathol.** 90: 1039-1042.
- Tahi, G.M., Kébé, B.I., Sangare, A., Cilas, C. and Eskes, A.B. (2007). Foliar resistance of cacao (*Theobroma cacao*) to *Phytophthora palmivora* as an indicator of pod resistance in the field: the effect of light intensity and time of day of leaf collection. **Plant Pathol.** 56: 219-226.
- Tartarini, S. (1996). RAPD markers linked to the *Vf* gene for scab resistance in apple. **Theor. Appl.**

Genet. 92: 803-810.

- Tasugi, H. and Mogi, S. (1958). Resistance of soybean leaves to scab, caused by *Sphaceloma glycines*. **Ann. Phytopath. Soc. Japan** 23(4): 159-164.
- Tharapreuksapong, A., Poolsawat, O., Jenweerawat, S., Wongkaew, S. and Thipyapong, P. (2009). Molecular, morphological and pathogenicity characterization of *Sphaceloma ampelinum* isolates from Thailand. **Acta. Hort.** 827: 611-618.
- Tian, L., Wang, Y., Niu, L. and Tang, D. (2008). Breeding of disease-resistant seedless grapes using Chinese wild *Vitis* spp. I. *In vitro* embryo rescue and plant development. **Sci. Hort.** 117: 136-141.
- Tourjee, K.R. (2004). Anthracnose in the vineyard. December 2004 Kabul, Afghanistan [On-line]. Available: http://www.Rootsofpeace.orgabout_us
- Trethowan, R.M., Reynolds, M., Sayre, K. and Ortiz-Monasterio, I. (2005). Adapting wheat cultivars to resource conserving farming practices and human nutritional needs. **Ann. Appl. Biol.** 146: 405-413.
- Ukoskit, K. (2001). Detection of single nucleotide polymorphisms in cattle genes using automated DNA sequencing and dideoxy fingerprinting. **Thammasat Int. J. Sc. Tech.** 6(3): 6-12.
- Van Zyl, L.M., Coutinho, T.A., Wingfield, M.J., Pongpanich, K. and Wingfield, B.D. (2002). Morphological and molecular relatedness of geographically diverse isolates of *Coniothyrium zuluense* from South Africa and Thailand. **Mycol. Res.** 106(1): 51-59.
- Vuong, T.D., Hoffman, D.D., Diers, B.W., Miller, J.F., Steadman, J.R. and Hartman, G.L. (2004). Evaluation of soybean, dry bean, and sunflower for resistance to *Sclerotinia sclerotirum*. **Crop Sci.** 44: 777-783.
- Wain, J., Diep, T.S., Chinh, N.T., Vinh, H., Fortune, S., Hoa, N.T.T., White, N.J., Piddock, L.J.V., Parry, C.M. and Farrar, J.F. (1998). Resistance to antimicrobial agents in *Salmonella typhi* in Vietnam: clinical response to therapy and molecular mechanisms. **Med. J. Indonesia Suppl.** 1: 5-8.
- Wang, X., Wang, Y., Xu, Y., Wang, S. and Qin, Y. (2000a). Study on the grape cultivar resistance to the anthracnose disease. **J. Fru. Sci.** 17(3): 188-191.
- Wang, X., Wang, Y., Zhou, P. and Zhang, X. (2000b). RAPD analysis of *Vitis* to anthracnose resistant gene. **J. Agric. Bio.** 8(4): 361-364.
- Wang, Y., Wang, X., Zhou, P. and Zheng, X. (2000c). A RAPD marker linked to anthracnose

- resistant gene of wild grapes native to China. **Acta. Hort. Sin.** 27(5): 321-325.
- Wang, X., Wang, Y., Zhou, P. and Zheng, X. (2001). Identification of specific RAPD markers linked to anthracnose resistant gene in native wild grapes of China. **Chi. Agri. Sci.** p. 35-39.
- Wang, X., Li, Y., Li, H., Zhang, Y., Zhao, L. and Yu, Y. (2003). RAPD analysis of genuineness on source of *Bupleurum chinense*. **Zhong Yao Cai** 26: 855-856.
- Wehlburg, C. (1968). Poinsettia scab. Flo. Depart. **Agric. Plant Pathol.** Circ. No. 65. 2 p.
- Weising, K., Nybom, H., Wolff, K. and Kahl, G. (2005). **DNA fingerprinting in plants: principles, methods, and applications**. Boca Raton: CRC Press. 472 pp.
- Widjoatmodjo, M.N., Fluit, A.C. and Verhoet. J. (1994). Rapid identification of bacteria by PCR single-strand conformation polymorphism. **J. Clin. Microbiol.** 32: 3002-3007.
- Wikipedia. (2009). Grape (online). Available : <http://en.wikipedia.org/wiki/Grape>.
- Witcombe, J.R. and Virk, D.S. (2001). Number of crosses and population size for participatory and classical plant breeding. **Euphytica** 122: 451-462.
- Wu, W. and Huang, B. (2006). Strategy for the mapping of interactive genes using bulked segregant analysis method and Mapmaker/Exp software. **Chin. Sci. Bull.** 51(21): 2619-2623.
- Xie, J., Wehner, T.C. and Conkling, M.A. (2002). PCR-based single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis to clone nine aquaporin genes in cucumber. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 127(6): 925-930.
- Yamamoto, T., Iketani, H., Ieki, H., Nishizawa, Y., Notsuka, K., Hibi, Ti, Hayashi, T. and Matsuta, N. (2000). Transgenic grapevine plants expressing a rice chitinase with enhanced resistance to fungal pathogens. **Plant Cell Rep.** 19: 639-646.
- Yang, X.B., Lundeen, P. and Uphoff, M.D. (1999). Soybean varietal response and yield loss caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Dis.** 83: 456-461.
- Zeigler, R.S. and Lozano, J.C. (1983). The relationships of some *Elsinoe* and *Sphaceloma* species pathogenic on cassava and other Euphorbiaceae in Central and South America. **Phytopathol.** 73: 293-300.
- Zhang, J., Wang, Y., Zhou, P., Wang, X. and Zheng, X. (2001). RAPD marker of resistance gene to anthracnose in Chinese wild *Vitis*. **J. Fru. Sci.** 18(2): 68-71.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ค่าการวิเคราะห์ความแปรปรวนของขนาดโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่อายุ 2, 5 และ 8 สัปดาห์

- ระยะเวลา 2 สัปดาห์

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Isolate	18	27.82	1.55	23.28 **	0.0001
Medium	3	21.29	7.10	106.88 **	0.0001
Isolate × medium	54	21.43	0.40	5.98 **	0.0001
Error	302	20.05	0.07		
Corrected Total	377	90.59			

** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01

CV (%) = 24.30

- ระยะเวลา 5 สัปดาห์

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Isolate	18	607.56	33.75	69.56 **	0.0001
Medium	3	396.33	132.11	272.25 **	0.0001
Isolate × medium	54	394.74	7.31	15.06 **	0.0001
Error	299	145.09	0.49		
Corrected Total	374	1543.73			

** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01

CV (%) = 15.82

- ระยะเวลา 8 สัปดาห์

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Isolate	18	952.91	52.94	30.36 **	0.0001
Medium	3	1320.72	440.24	252.50 **	0.0001
Isolate × medium	54	687.39	12.73	7.30 **	0.0001
Error	293	510.85	1.74		
Corrected Total	368	3471.87			

** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01

CV (%) = 16.94

ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่าการวิเคราะห์หว่าเรียนซ์ของขนาดโคนิเดียของเชื้อ *S. ampelimum*

-ความยาวโคนิเดีย

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Isolate	18	123.10	6.84	22.53 **	0.0001
Error	931	282.65	0.30		
Corrected Total	949	405.75			

** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01 CV (%) = 11.45

-ความกว้างโคนิเดีย

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Isolate	18	19.09	1.06	23.44 **	0.0001
Error	931	42.12	0.05		
Corrected Total	949	61.21			

** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01 CV (%) = 11.75

ตารางภาคผนวกที่ 3 ค่าการวิเคราะห์หว่าเรียนซ์ของความต้านทานโรคสแคบในองุ่นพันธุ์พ่อแม่ 10 พันธุ์/สายพันธุ์

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Isolate	4	7.90	1.97	80.74 **	0.0001
Grape	9	60.17	6.69	273.43 **	0.0001
Isolate x grape	36	8.15	0.23	9.26 **	0.0001
Error	431	10.54	0.02		
Corrected Total	480	86.76			

** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01 CV (%) = 8.39

ตารางภาคผนวกที่ 4 ค่าเฉลี่ยคะแนนการเกิดโรคสแคบบนใบองุ่นลูกผสม F_1 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

องุ่นลูกผสม F_1	ไอโซเลต	
	Nk4-1	Rc2-1
Black Queen × Wilcox 321	2.85 ± 0.23	2.59 ± 0.23
Black Queen × NY 88.0517.01	2.85 ± 0.33	2.21 ± 0.25
Black Queen × NY 65.0550.04	2.98 ± 0.37	3.07 ± 0.34
Black Queen × NY 65.0551.05	3.99 ± 0.19	3.39 ± 0.20
Carolina Black Rose × Wilcox 321	2.83 ± 0.46	3.05 ± 0.54
Carolina Black Rose × NY 88.0517.01	3.38 ± 0.38	3.18 ± 0.34
Carolina Black Rose × NY 65.0550.04	2.64 ± 0.44	2.62 ± 0.39
Carolina Black Rose × NY 65.0551.05	3.58 ± 0.29	3.09 ± 0.30
Early Muscat × NY 65.0551.05	3.58 ± 0.29	3.26 ± 0.41
Italia × NY 88.0517.01	3.03 ± 0.68	3.12 ± 0.70
Italia × NY 65.0550.04	3.06 ± 0.53	3.28 ± 0.31
Italia × NY 65.0551.05	3.54 ± 0.90	3.35 ± 0.69

^{1/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

ตารางภาคผนวกที่ 5 ค่าการวิเคราะห์หว่าเรียนซ์ของความต้านทานโรคสแคบบนใบองุ่นลูกผสม F_1

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Isolate	1	0.37	0.37	4.22 *	0.0411
hybrid	11	2.71	0.25	2.78 **	0.0020
Isolate x hybrid	11	0.32	0.03	0.33 ns	0.9780
Error	242	21.45	0.09		
Corrected Total	265	24.86			

* = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01 ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ CV (%) = 4.89

ตารางภาคผนวกที่ 6 ค่าการวิเคราะห์หว่าเรียนซ์ของความต้านทานโรคสแคบงุ่นในสภาพห้องปฏิบัติการ

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Isolate	1	1.69	1.69	107.10 **	0.0001
Grape	33	57.49	1.74	110.51 **	0.0001
Isolate x grape	33	4.41	0.13	8.48 **	0.0001
Error	601	9.47	0.05		
Corrected Total	668	73.06			

** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01 CV (%) = 6.03

ตารางภาคผนวกที่ 7 ค่าการวิเคราะห์หว่าเรียนซ์ของความต้านทานโรคสแคบงุ่นในสภาพไร่ระยะเวลา 3 ปี

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F
Year	2	0.16	0.08	0.66 ns	0.5182
Error	99	11.84	0.12		
Corrected Total	101	12.00			

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ CV (%) = 16.90

ตารางภาคผนวกที่ 8 ค่าการวิเคราะห์หว่าเรียนซ์ของความต้านทานโรคสแคบไอโซเลต Nk4-1 ในองุ่นพันธุ์พ่อแม่ และลูกผสม F₁

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	F-table	
					5%	1%
Treatment	10	7.57	0.76	11.65 **	1.91	2.49
Parent × hybrid	1	0.03	0.03	0.46 ns	3.93	6.87
Parent	4	6.27	1.57	24.12 **	2.45	3.49
Hybrid	5	1.27	0.25	3.91 **	2.30	3.19
Error	117	7.64	0.07			
Corrected Total	127	15.21				

** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01 ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ CV (%) = 11.94

ตารางภาคผนวกที่ 9 ค่าการวิเคราะห์หว่าเรียนซ์ของแผนการผสมแบบที่ 2 ของการทดสอบความต้านทานโรคสแคบไอโซเลต Nk4-1 ระหว่างพันธุ์พ่อ 3 สายพันธุ์ กับพันธุ์แม่ 2 พันธุ์

Source of variance	df	Sum of squares	Mean squares	F-value	Pr > F	EMS
Hybrid	5	1.27	0.25	2.88 *	0.0194	
gca (พันธุ์แม่)	1	0.02	0.02	0.17 ns	0.6816	$\sigma_w^2 + nm \sigma_f^2$
gca (พันธุ์พ่อ)	2	1.02	0.51	5.78 **	0.0046	$\sigma_w^2 + nf \sigma_m^2$
sca	2	0.24	0.12	1.33 ns	0.2691	$\sigma_w^2 + n \sigma_{mf}^2$
Error	79	6.95	0.09			σ_w^2
Corrected Total	84	8.22				

* = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01 ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ CV (%) = 13.86

ตารางภาคผนวกที่ 10 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Cb1-1, Cr1-1 และ Nk5-1 ในองุ่น
10 พันธุ์/สายพันธุ์ หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ไอโซเลต	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cb1-1	Wilcox 321	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	NY88.0517.01	31	6	0	16	61	5	1	68	2	5
	NY88.0507.01	0	2	3	3	0	0	4	0	0	-
	NY65.0550.04	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	Illinois 547-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	NY65.0551.05	>100	>100	90	89	>100	>100	>100	>100	>100	>100
	Black Queen	>100	>100	46	>100	>100	>100	>100	73	>100	>100
	Carolina Black Rose	35	21	>100	83	85	66	>100	>100	>100	>100
	Early Muscat	30	41	40	43	25	35	13	59	57	46
	Italia	>100	>100	92	>100	>100	>100	>100	94	72	81
Cr1-1	Wilcox 321	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	NY88.0517.01	25	77	23	23	21	2	16	>100	>100	>100
	NY88.0507.01	7	51	75	42	94	>100	-	-	-	-
	NY65.0550.04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	Illinois 547-1	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-
	NY65.0551.05	81	51	87	78	62	13	107	21	5	81
	Black Queen	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
	Carolina Black Rose	>100	>100	>100	36	>100	61	>100	>100	>100	>100
	Early Muscat	45	13	22	36	17	28	25	54	66	22
	Italia	37	94	72	81	82	83	73	>100	>100	>100
Nk5-1	Wilcox 321	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	NY88.0517.01	0	0	0	26	2	0	3	9	5	1
	NY88.0507.01	1	0	0	0	3	0	0	0	-	-
	NY65.0550.04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Illinois 547-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	NY65.0551.05	1	35	0	6	0	0	0	0	-	-
	Black Queen	>100	>100	>100	>100	24	98	14	-	-	-
	Carolina Black Rose	30	33	16	53	16	18	33	32	47	-
	Early Muscat	8	11	23	5	31	35	44	29	34	32
	Italia	9	21	3	3	41	12	2	1	5	9

ตารางภาคผนวกที่ 12 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Rc2-1 ในอุณหภูมิ 10 พันธุ์/สายพันธุ์
หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ไอโซเลต	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Rc2-1 ครั้งที่ 1	Wilcox 321	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	NY88.0517.01	>100	51	23	88	>100	89	>100	23	33	45
	NY88.0507.01	20	0	0	4	0	0	0	0	0	0
	NY65.0550.04	0	4	0	0	1	0	0	0	0	0
	Illinois 547-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	NY65.0551.05	30	91	92	76	99	62	>100	61	53	87
	Black Queen	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	76	>100
	Carolina Black Rose	>100	41	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
	Early Muscat	15	39	3	52	45	32	12	24	6	3
	Italia	47	60	>100	>100	88	33	25	39	>100	60
Rc2-1 ครั้งที่ 2	Wilcox 321	1	0	13	2	1	3	2	1	7	8
	NY88.0517.01	20	18	13	24	7	6	9	-	-	-
	NY88.0507.01	15	6	9	2	2	5	1	0	-	-
	NY65.0550.04	6	4	4	11	8	4	2	6	5	-
	Illinois 547-1	10	5	4	6	7	5	3	2	2	1
	NY65.0551.05	>100	>100	92	>100	76	>100	87	-	-	-
	Black Queen	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	66	75	>100
	Carolina Black Rose	81	87	96	>100	58	>100	>100	>100	>100	>100
	Early Muscat	87	99	95	95	>100	44	19	>100	>100	>100
	Italia	62	76	>100	66	>100	>100	70	>100	>100	>100

ตารางภาคผนวกที่ 13 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Nk4-1 ในอุ้งนูกผสม Black Queen
Wilcox 321 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Black Queen × Wilcox 321	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0411.01	11	14	15	96	55	58	30	58	62	33
2	SUT0411.04	84	54	45	39	55	31	23	43	38	46
3	SUT0411.06	55	43	68	42	49	60	>100	79	55	40
4	SUT0411.07	23	34	29	38	51	18	40	30	32	38
5	SUT0411.09	29	7	27	9	10	20	50	6	3	2
6	SUT0411.12	40	78	36	30	>100	42	71	27	67	63
7	SUT0411.18	18	20	11	28	12	22	38	59	26	36
8	SUT0411.22	81	69	41	45	48	22	33	19	35	28
9	SUT0411.23	20	24	13	17	20	17	14	21	24	27
10	SUT0411.28	67	20	23	14	31	72	98	>100	76	84
11	SUT0411.30	18	7	2	2	1	4	3	3	17	15
12	SUT0411.35	8	5	6	4	1	2	3	2	13	4
13	SUT0411.37	12	17	7	10	20	22	27	16	17	17
14	SUT0411.38	40	65	31	14	10	8	12	23	33	-
15	SUT0411.39	11	15	28	70	43	23	13	21	9	6
16	SUT0411.43	14	48	15	9	6	34	19	22	20	54
17	SUT0411.45	73	60	85	>100	>100	>100	>100	>100	80	100
18	SUT0411.46	40	52	54	32	44	-	-	-	-	-
19	SUT0411.47	2	2	1	0	1	1	0	2	3	0
20	SUT0411.50	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
21	SUT0411.56	59	>100	>100	46	>100	79	>100	56	70	54

ตารางภาคผนวกที่ 14 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Nk4-1 ในอนุ่งนลูกผสม Black Queen
× NY88.0517.01 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Black Queen × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0401.06	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	100
2	SUT0401.07	3	10	26	17	7	7	10	8	3	25
3	SUT0401.08	>100	>100	>100	59	>100	>100	>100	>100	74	100
4	SUT0401.09	8	12	5	6	15	2	1	0	0	1
5	SUT0401.13	5	8	6	6	10	6	7	7	20	34
6	SUT0401.14	60	83	77	56	>100	30	50	-	-	-
7	SUT0401.15	>100	>100	>100	60	71	45	53	-	-	-
8	SUT0401.18	7	21	11	8	30	12	23	3	5	4
9	SUT0401.19	6	6	11	9	35	43	5	13	45	38
10	SUT0401.20	93	95	38	29	79	46	-	-	-	-
11	SUT0401.24	7	2	0	2	17	4	2	12	19	28
12	SUT0401.27	28	37	35	29	35	30	33	>100	32	23
13	SUT0401.29	4	12	18	13	12	10	15	28	28	13
14	SUT0401.30	8	16	59	6	4	22	61	4	25	4
15	SUT0401.32	6	11	10	14	9	7	12	3	12	3
16	SUT0401.33	>100	>100	>100	>100	>100	-	-	-	-	-

ตารางภาคผนวกที่ 15 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Nk4-1 ในอนุ่งนลูกผสม Black Queen
× NY65.0550.04 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Black Queen × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0402.01	>100	50	>100	>100	86	>100	-	-	-	-
2	SUT0402.04	13	4	18	6	13	11	11	7	24	20
3	SUT0402.05	31	49	48	23	18	36	24	42	13	>100
4	SUT0402.06	16	12	12	7	4	26	6	57	28	48
5	SUT0402.08	>100	>100	>100	41	>100	>100	>100	>100	48	27
6	SUT0402.11	59	60	47	62	38	55	77	61	74	41
7	SUT0402.12	19	4	10	17	12	9	11	2	4	4
8	SUT0402.13	6	2	2	1	0	0	0	0	0	0
9	SUT0402.14	16	30	55	69	>100	>100	>100	28	51	-
10	SUT0402.30	>100	38	65	>100	>100	39	44	79	>100	>100
11	SUT0402.54	1	9	31	26	44	22	51	-	-	-

ตารางภาคผนวกที่ 16 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Nk4-1 ในองุ่นลูกผสม Black Queen
× NY65.0551.05 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Black Queen × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0410.01	54	38	29	36	15	14	15	34	48	15
2	SUT0410.02	56	>100	>100	>100	47	>100	70	60	>100	>100
3	SUT0410.03	55	58	33	64	59	>100	>100	>100	80	>100
4	SUT0410.05	35	46	80	34	20	26	10	-	-	-
5	SUT0410.07	15	57	90	66	>100	51	>100	>100	-	-
6	SUT0410.08	33	66	73	92	49	>100	>100	>100	-	-
7	SUT0410.09	59	>100	>100	>100	>100	74	89	68	76	71
8	SUT0410.10	>100	>100	>100	41	>100	30	54	-	-	-
9	SUT0410.11	>100	>100	>100	>100	>100	-	-	-	-	-
10	SUT0410.16	23	35	21	16	35	38	49	18	31	-
11	SUT0410.17	>100	>100	90	75	82	40	>100	65	65	50
12	SUT0410.18	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
13	SUT0410.19	36	13	18	69	41	30	47	32	78	>100
14	SUT0410.20	93	73	73	44	33	30	51	63	24	55
15	SUT0410.21	95	78	84	49	81	84	49	-	-	-
16	SUT0410.24	>100	>100	>100	>100	>100	48	62	43	-	-
17	SUT0410.25	72	>100	24	87	>100	68	69	72	95	28
18	SUT0410.27	>100	>100	>100	>100	>100	55	>100	>100	>100	>100
19	SUT0410.28	6	15	14	1	7	2	9	15	10	13
20	SUT0410.31	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
21	SUT0410.32	>100	>100	>100	>100	61	76	44	-	-	-
22	SUT0410.47	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

ตารางภาคผนวกที่ 17 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Nk4-1 ในองุ่นลูกผสม Carolina
Black Rose × Wilcox 321 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Carolina Black Rose × Wilcox 321	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0403.03	4	14	7	15	22	9	6	9	11	23
2	SUT0403.06	12	22	29	48	39	20	38	19	-	-
3	SUT0403.09	>100	>100	65	60	47	45	>100	>100	45	36
4	SUT0403.10	44	57	51	36	13	18	51	14	39	33

ตารางภาคผนวกที่ 18 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Nk4-1 ในองุ่นลูกผสม Carolina Black Rose × NY88.0517.01 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0404.01	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
2	SUT0404.02	10	11	2	1	1	1	3	3	1	10
3	SUT0404.03	23	36	52	8	13	45	34	24	52	39
4	SUT0404.08	18	59	27	49	19	51	55	38	28	23
5	SUT0404.11	>100	>100	>100	>100	100	69	78	>100	>100	92
6	SUT0404.12	20	25	50	42	18	20	17	36	34	-
7	SUT0404.14	55	45	84	57	64	-	-	-	-	-
8	SUT0404.15	89	>100	57	>100	75	91	99	78	88	>100
9	SUT0404.21	39	52	>100	51	38	48	48	25	>100	>100
10	SUT0404.36	67	>100	>100	61	>100	>100	60	>100	>100	>100
11	SUT0404.40	1	6	27	6	8	5	12	21	4	4

ตารางภาคผนวกที่ 19 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Nk4-1 ในองุ่นลูกผสม Carolina Black Rose × NY65.0550.04 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0405.02	1	1	2	0	0	0	3	22	7	5
2	SUT0405.03	26	16	17	30	34	-	-	-	-	-
3	SUT0405.05	49	81	73	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
4	SUT0405.06	31	52	58	35	50	42	58	24	62	33
5	SUT0405.13	>100	>100	>100	46	33	40	37	49	50	-
6	SUT0405.14	5	14	13	11	7	8	7	13	2	15
7	SUT0405.17	>100	>100	>100	46	47	52	28	29	60	>100
8	SUT0405.19	2	1	1	4	3	7	2	4	4	3
9	SUT0405.25	8	5	8	14	4	5	7	2	5	1

ตารางภาคผนวกที่ 20 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Nk4-1 ในองุ่นลูกผสม Carolina Black Rose × NY65.0551.05 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0406.01	>100	>100	80	71	78	94	42	46	>100	>100
2	SUT0406.02	2	0	0	0	0	0	1	4	2	1
3	SUT0406.03	41	55	50	65	70	40	70	45	75	86
4	SUT0406.04	11	45	38	68	44	>100	78	>100	84	60
5	SUT0406.05	8	30	35	65	14	37	24	30	20	43
6	SUT0406.07	72	33	72	77	52	>100	>100	44	57	>100
7	SUT0406.08	38	64	40	27	41	29	20	35	44	6
8	SUT0406.11	>100	>100	>100	>100	>100	-	-	-	-	-
9	SUT0406.12	47	65	67	57	63	68	75	59	71	91
10	SUT0406.18	33	>100	>100	46	58	63	39	31	13	-
11	SUT0406.20	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
12	SUT0406.21	>100	>100	>100	39	>100	87	>100	>100	>100	>100
13	SUT0406.22	83	>100	75	49	34	53	44	29	81	-
14	SUT0406.27	84	52	84	63	98	>100	69	82	80	64
15	SUT0406.28	19	3	37	6	0	1	3	0	0	0
16	SUT0406.29	70	47	22	74	55	>100	>100	88	>100	94

ตารางภาคผนวกที่ 21 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Nk4-1 ในองุ่นลูกผสม Early Muscat × NY65.0551.05 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Early Muscat × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0412.01	>100	>100	96	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
2	SUT0412.02	59	65	>100	79	64	48	>100	-	-	-
3	SUT0412.05	84	>100	>100	46	52	75	61	36	45	23
4	SUT0412.06	63	80	73	>100	32	>100	49	49	59	-
5	SUT0412.09	16	12	22	18	16	32	9	14	6	20
6	SUT0412.10	44	35	45	42	34	21	64	44	35	19
7	SUT0412.15	>100	>100	98	99	78	78	>100	>100	61	77
8	SUT0412.16	59	41	61	52	21	49	-	-	-	-
9	SUT0412.17	19	50	25	30	45	46	28	50	55	51

ตารางภาคผนวกที่ 22 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Nk4-1 ในอุณหภูมิผสม Italia × NY88.0517.01 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Italia × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0407.03	0	22	0	7	4	1	7	3	4	1
2	SUT0407.06	82	59	55	52	83	82	51	65	22	16
3	SUT0407.14	8	30	35	65	14	37	24	30	20	43
4	SUT0407.17	>100	80	85	70	>100	65	72	>100	>100	>100

ตารางภาคผนวกที่ 23 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Nk4-1 ในอู่นกฟสม Italia × NY65.0550.04 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Italia × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0408.02	83	27	56	55	30	65	46	46	56	59
2	SUT0408.06	2	2	1	2	1	1	1	0	0	0
3	SUT0408.12	53	>100	100	42	70	38	31	62	>100	-
4	SUT0408.15	41	52	59	48	55	51	87	79	43	38
5	SUT0408.18	86	55	>100	29	26	28	20	18	39	33

ตารางภาคผนวกที่ 24 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Nk4-1 ในอู่นปลูกผสม Italia × NY65.0551.05 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

[illegible]

ตารางภาคผนวกที่ 25 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Rc2-1 ในอ่อนลูกผสม Black Queen
× Wilcox 321 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Black Queen × Wilcox 321	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0411.01	39	49	37	36	38	41	46	74	31	20
2	SUT0411.04	73	49	49	36	37	17	22	16	8	14
3	SUT0411.06	29	19	10	3	3	4	4	3	-	-
4	SUT0411.07	17	29	15	4	2	3	1	4	3	2
5	SUT0411.09	21	46	8	17	2	10	4	3	14	6
6	SUT0411.12	12	6	10	2	6	10	6	-	-	-
7	SUT0411.18	29	53	24	51	42	11	54	52	41	19
8	SUT0411.22	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	-
9	SUT0411.23	29	70	53	29	39	71	-	-	-	-
10	SUT0411.28	64	69	>100	12	9	17	21	5	35	35
11	SUT0411.30	69	34	37	42	28	30	32	23	-	-
12	SUT0411.35	10	13	17	14	9	3	8	13	23	11
13	SUT0411.37	3	2	2	2	2	14	20	2	4	16
14	SUT0411.38	0	2	1	2	1	0	3	4	8	3
15	SUT0411.39	11	17	8	8	1	2	6	2	4	6
16	SUT0411.43	27	>100	57	>100	91	77	78	28	29	34
17	SUT0411.45	80	85	90	>100	>100	92	80	>100	75	>100
18	SUT0411.46	28	25	26	28	25	34	98	6	14	8
19	SUT0411.47	81	33	35	58	57	46	77	34	84	>100
20	SUT0411.50	18	8	31	29	52	58	30	20	61	-
21	SUT0411.56	24	8	30	29	52	27	22	-	-	-

ตารางภาคผนวกที่ 26 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Rc2-1 ในอุนุ่นลูกผสม Black Queen
× NY88.0517.01 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Black Queen × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0401.06	18	24	19	10	20	25	14	24	-	-
2	SUT0401.07	0	3	2	0	5	3	0	5	2	17
3	SUT0401.08	48	39	51	48	43	42	34	41	51	23
4	SUT0401.09	53	72	43	54	61	-	-	-	-	-
5	SUT0401.13	72	0	28	15	15	1	0	5	1	2
6	SUT0401.14	31	17	9	11	11	17	4	19	10	1
7	SUT0401.15	63	45	30	21	24	42	>100	43	18	-
8	SUT0401.18	4	29	24	7	29	27	18	25	10	2
9	SUT0401.19	8	5	13	2	28	3	8	4	4	5
10	SUT0401.20	8	3	3	1	2	0	15	10	5	8
11	SUT0401.24	28	10	8	4	4	5	2	4	1	1
12	SUT0401.27	5	>100	>100	49	63	61	7	32	9	41
13	SUT0401.29	>100	>100	88	>100	89	>100	>100	70	>100	48
14	SUT0401.30	6	7	2	2	0	18	25	25	46	59
15	SUT0401.32	6	8	2	5	1	4	3	1	1	1
16	SUT0401.33	66	50	3	5	5	2	1	2	4	20

ตารางภาคผนวกที่ 27 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Rc2-1 ในอุนุ่นลูกผสม Black Queen
× NY65.0550.04 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Black Queen × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0402.01	68	>100	>100	81	>100	>100	>100	>100	13	>100
2	SUT0402.04	62	71	83	32	58	83	42	47	-	-
3	SUT0402.05	20	18	9	17	10	30	25	-	-	-
4	SUT0402.06	>100	68	>100	>100	>100	47	76	84	43	>100
5	SUT0402.08	>100	83	69	99	54	49	49	65	58	56
6	SUT0402.11	7	8	3	16	1	10	4	7	2	5
7	SUT0402.12	47	13	6	24	1	0	11	9	54	69
8	SUT0402.13	40	43	39	46	38	58	25	76	56	37
9	SUT0402.14	8	3	3	2	2	2	7	5	6	6
10	SUT0402.30	70	63	36	84	55	69	98	64	97	57
11	SUT0402.54	84	41	27	31	40	79	27	27	43	78

ตารางภาคผนวกที่ 28 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Rc2-1 ในอ่อนลูกผสม Black Queen
× NY65.0551.05 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Black Queen × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0410.01	>100	14	38	62	64	50	55	61	70	36
2	SUT0410.02	>100	>100	>100	>100	78	81	62	37	76	63
3	SUT0410.03	>100	53	88	56	26	55	48	30	37	35
4	SUT0410.05	34	28	41	80	>100	>100	73	91	55	>100
5	SUT0410.07	62	63	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
6	SUT0410.08	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
7	SUT0410.09	45	90	>100	25	68	39	34	>100	25	63
8	SUT0410.10	12	23	17	17	20	35	29	22	27	-
9	SUT0410.11	66	56	67	76	>100	73	76	46	26	68
10	SUT0410.16	2	20	3	14	4	27	1	19	3	13
11	SUT0410.17	40	25	38	22	49	22	38	68	-	-
12	SUT0410.18	7	19	17	30	13	20	37	24	29	23
13	SUT0410.19	65	56	51	56	15	34	3	59	59	-
14	SUT0410.20	11	>100	92	69	58	29	65	>100	>100	-
15	SUT0410.21	2	21	9	6	16	39	9	20	11	30
16	SUT0410.24	47	30	33	53	41	27	37	18	35	57
17	SUT0410.25	33	19	87	91	49	>100	>100	32	18	-
18	SUT0410.27	53	23	56	12	40	57	55	59	56	-
19	SUT0410.28	3	6	8	8	12	10	10	6	29	34
20	SUT0410.31	23	37	76	36	47	43	23	32	-	-
21	SUT0410.32	>100	>100	55	46	76	>100	>100	>100	-	-
22	SUT0410.47	>100	>100	>100	80	80	35	>100	62	-	-

ตารางภาคผนวกที่ 29 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Rc2-1 ในอ่อนลูกผสม Carolina
Black Rose × Wilcox 321 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Carolina Black Rose × Wilcox 321	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0403.03	55	63	79	32	50	>100	51	>100	64	67
2	SUT0403.06	7	6	27	25	8	17	4	12	3	7
3	SUT0403.09	21	12	21	22	28	13	36	35	28	36
4	SUT0403.10	>100	71	50	84	84	>100	60	34	48	56

ตารางภาคผนวกที่ 30 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Rc2-1 ในอ่อนลูกผสม Carolina Black Rose × NY88.0517.01 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0404.01	65	50	50	>100	65	>100	80	43	71	40
2	SUT0404.02	45	73	55	58	18	12	13	13	39	60
3	SUT0404.03	12	22	10	7	11	10	23	13	45	19
4	SUT0404.08	50	46	81	>100	>100	>100	96	93	-	-
5	SUT0404.11	50	20	45	25	20	19	15	19	18	19
6	SUT0404.12	29	48	37	63	67	49	57	67	28	16
7	SUT0404.14	46	70	71	50	15	61	37	37	37	25
8	SUT0404.15	98	76	>100	>100	56	80	73	67	62	55
9	SUT0404.21	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
10	SUT0404.36	3	12	19	22	53	69	>100	58	57	71
11	SUT0404.40	2	0	0	1	1	0	1	6	3	6

ตารางภาคผนวกที่ 31 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Rc2-1 ในอ่อนลูกผสม Carolina Black Rose × NY65.0550.04 หลังปลูกเชื้อ 4

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0405.02	44	63	22	46	25	40	25	23	26	-
2	SUT0405.03	3	2	13	4	2	2	4	17	18	1
3	SUT0405.05	29	41	14	54	88	71	-	-	-	-
4	SUT0405.06	>100	>100	>100	>100	>100	>100	48	71	78	48
5	SUT0405.13	55	26	40	>100	>100	>100	>100	-	-	-
6	SUT0405.14	31	11	34	44	20	27	8	10	7	5
7	SUT0405.17	17	8	16	27	28	21	17	21	19	19
8	SUT0405.19	0	5	1	4	3	0	6	5	5	10
9	SUT0405.25	33	25	14	14	5	-	-	-	-	-

ตารางภาคผนวกที่ 32 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Rc2-1 ในอ่อนลูกผสม Carolina
Black Rose × NY65.0551.05 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0406.01	51	67	47	52	60	47	47	55	-	-
2	SUT0406.02	1	3	5	1	7	8	1	3	1	5
3	SUT0406.03	96	43	57	100	67	58	71	48	-	-
4	SUT0406.04	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	-
5	SUT0406.05	24	33	17	17	10	4	2	1	10	5
6	SUT0406.07	62	59	50	73	56	59	67	23	48	43
7	SUT0406.08	25	55	72	63	61	82	85	47	-	-
8	SUT0406.11	26	21	83	38	55	33	36	26	57	46
9	SUT0406.12	7	29	12	99	35	30	43	30	31	55
10	SUT0406.18	15	76	24	25	55	15	15	13	-	-
11	SUT0406.20	57	36	56	55	34	40	42	50	35	46
12	SUT0406.21	25	5	22	20	10	15	19	14	16	-
13	SUT0406.22	17	24	38	56	79	37	47	29	54	24
14	SUT0406.27	81	64	78	72	62	87	51	95	>100	-
15	SUT0406.28	3	4	0	2	5	1	2	3	5	3
16	SUT0406.29	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

ตารางภาคผนวกที่ 33 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดจากไอโซเลต Rc2-1 ในอ่อนลูกผสม Early
Muscat × NY65.0551.05 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Early Muscat × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0412.01	19	30	74	>100	63	34	49	42	44	>100
2	SUT0412.02	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
3	SUT0412.05	7	6	3	6	7	29	10	1	5	5
4	SUT0412.06	4	1	2	9	2	10	23	8	13	-
5	SUT0412.09	17	10	16	29	22	12	27	36	40	32
6	SUT0412.10	62	>100	77	98	88	70	>100	59	66	59
7	SUT0412.15	28	31	23	53	48	83	93	70	60	>100
8	SUT0412.16	>100	86	57	77	90	>100	>100	>100	-	-
9	SUT0412.17	41	13	9	24	31	48	83	69	53	-

ตารางภาคผนวกที่ 34 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Rc2-1 ในอุณหภูมิผสม Italia × NY88.0517.01 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Italia × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0407.03	1	9	2	2	7	3	3	-	-	-
2	SUT0407.06	>100	>100	>100	36	80	65	46	50	66	>100
3	SUT0407.14	44	35	42	34	21	64	24	35	23	36
4	SUT0407.17	85	70	76	80	70	60	92	>100	>100	>100

ตารางภาคผนวกที่ 35 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Rc2-1 ในอุณหภูมิผสม Italia × NY65.0550.04 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Italia × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0408.02	>100	>100	>100	56	82	72	>100	50	41	70
2	SUT0408.06	57	12	30	30	18	27	13	35	33	24
3	SUT0408.12	12	29	29	26	42	62	81	36	40	13
4	SUT0408.15	36	20	25	43	35	46	-	-	-	-
5	SUT0408.18	69	97	35	59	68	53	-	-	-	-

ตารางภาคผนวกที่ 36 จำนวนแผลโรคสแคบที่เกิดขึ้นจากไอโซเลต Rc2-1 ในอุณหภูมิผสม Italia × NY65.0551.05 หลังปลูกเชื้อ 4 วัน

ลำดับที่	Italia × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	SUT0409.03	>100	67	48	>100	75	62	30	64	62	-
2	SUT0409.04	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
3	SUT0409.05	5	1	6	9	1	1	2	2	2	1
4	SUT0409.06	52	53	54	87	76	87	>100	53	-	-
5	SUT0409.21	45	49	28	20	12	25	29	13	-	-

ตารางภาคผนวกที่ 37 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Cb1-1 ใน
องุ่น 10 พันธุ์/สายพันธุ์

ไอโซเลต	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับ ความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Cb1-1	Wilcox 321	1 ^{1/}	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก ^{2/}
	NY88.0517.01	3	1	1	2	4	1	1	4	1	1	1.90	ต้านทาน
	NY88.0507.01	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1.00	ต้านทานมาก
	NY65.0550.04	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
	Illinois 547-1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
	NY65.0551.05	5	5	4	4	5	5	5	5	5	5	4.80	อ่อนแอมาก
	Black Queen	5	5	3	5	5	5	5	4	5	5	4.70	อ่อนแอมาก
	Carolina Black Rose	3	2	5	4	4	4	5	5	5	5	4.20	อ่อนแอมาก
	Early Muscat	3	3	3	3	2	3	2	4	4	3	3.00	ต้านทานปานกลาง
	Italia	5	5	4	5	5	5	5	4	4	4	4.60	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย		2.72											ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 ผล, คะแนน 2 = 7-25 ผล, คะแนน 3 = 26-50 ผล, คะแนน 4 = 51-100 ผล และคะแนน 5 = > 100 ผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 38 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Cr1-1 ใน
องุ่น 10 พันธุ์/สายพันธุ์

ไอโซเลต	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับ ความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Cr1-1	Wilcox 321	1 ^{1/}	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก ^{2/}
	NY88.0517.01	2	4	2	2	2	1	1	5	5	5	2.90	ต้านทานปานกลาง
	NY88.0507.01	2	4	4	3	4	5	-	-	-	-	3.67	อ่อนแอ
	NY65.0550.04	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
	Illinois 547-1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	1.00	ต้านทานมาก
	NY65.0551.05	4	4	4	4	4	2	5	2	1	4	3.40	อ่อนแอ
	Black Queen	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
	Carolina Black Rose	5	5	5	3	5	4	5	5	5	5	4.70	อ่อนแอมาก
	Early Muscat	3	2	2	3	2	3	2	4	4	2	2.70	ต้านทานปานกลาง
	Italia	3	4	4	4	4	4	4	5	5	5	4.20	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย		2.96											ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 ผล, คะแนน 2 = 7-25 ผล, คะแนน 3 = 26-50 ผล, คะแนน 4 = 51-100 ผล และคะแนน 5 = > 100 ผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 39 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในองุ่น 10 พันธุ์/สายพันธุ์

ไอโซเลต	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Nk4-1	Wilcox 321	1.0 ^{1/}	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.00	ต้านทานมาก ^{2/}
	NY88.0517.01	3.0	3.0	4.0	3.5	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	3.05	อ่อนแอ
	NY88.0507.01	1.5	2.5	1.5	1.5	3.0	2.5	2.0	2.0	1.0	1.0	1.95	ต้านทาน
	NY65.0550.04	1.0	1.0	1.0	1.0	1.5	2.0	1.5	1.5	1.5	1.0	1.33	ต้านทาน
	Illinois 547-1	1.0	1.0	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	2.0	1.0	1.0	1.35	ต้านทาน
	NY65.0551.05	4.5	5.0	5.0	5.0	4.5	5.0	5.0	5.0	4.0	-	4.83	อ่อนแอมาก
	Black Queen	5.0	4.0	4.0	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5	5.0	-	4.48	อ่อนแอมาก
	Carolina Black Rose	4.0	3.5	5.0	4.0	4.0	4.5	5.0	4.5	4.0	5.0	4.34	อ่อนแอมาก
	Early Muscat	3.5	3.5	3.0	4.0	3.5	3.0	3.5	3.0	4.0	4.0	3.52	susceptible
	Italia	5.0	4.5	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	4.95	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย		3.08										3.08	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 ผล, คะแนน 2 = 7-25 ผล, คะแนน 3 = 26-50 ผล, คะแนน 4 = 51-100 ผล และคะแนน 5 = > 100 ผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 40 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk5-1
ในองุ่น 10 พันธุ์/สายพันธุ์

ไอโซเลต	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Nk5-1	Wilcox 321	1 ^{1/}	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก ^{2/}
	NY88.0517.01	1	1	1	3	1	1	1	2	1	1	1.30	ต้านทาน
	NY88.0507.01	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	1.00	ต้านทานมาก
	NY65.0550.04	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
	Illinois 547-1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
	NY65.0551.05	1	3	1	1	1	1	1	1	-	-	1.25	ต้านทาน
	Black Queen	5	5	5	5	2	4	2	-	-	-	4.00	อ่อนแอ
	Carolina Black Rose	3	3	2	4	2	2	3	3	3	-	2.78	ต้านทานปานกลาง
	Early Muscat	2	2	2	1	3	3	3	3	3	3	2.50	ต้านทานปานกลาง
	Italia	2	2	1	1	3	2	1	1	1	2	1.60	ต้านทาน
เฉลี่ย		1.74										1.74	ต้านทาน

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 ผล, คะแนน 2 = 7-25 ผล, คะแนน 3 = 26-50 ผล, คะแนน 4 = 51-100 ผล และคะแนน 5 = > 100 ผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 41 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสลับ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
องุ่น 10 พันธุ์/สายพันธุ์

ไอโซ เลต	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับ ความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
	Wilcox 321	1 ^{1/}	1.0	1.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.5	1.5	1.15	ต้านทาน ^{2/}
	NY 88.0517.01	3.5	3.0	2.0	3.0	3.5	2.5	3.5	2.0	3.0	3.0	2.78	ต้านทานปานกลาง
	NY 88.0507.01	2.0	1.0	1.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.18	ต้านทาน
	NY 65.0550.04	1.0	1.0	1.0	1.5	1.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.11	ต้านทาน
	Illinois 547-1	1.5	1.0	1.0	1.0	1.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.10	ต้านทาน
Rc2-1	NY 65.0551.05	4.0	4.5	4.0	4.5	4.0	4.5	4.5	4.0	4.0	4.0	4.29	อ่อนแอมาก
	Black Queen	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	4.5	4.0	5.0	4.85	อ่อนแอมาก
	Carolina Black												
	Rose	4.5	3.5	4.5	4.0	4.5	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	4.60	อ่อนแอมาก
	Early Muscat	3.0	3.5	2.5	4.0	4.0	3.0	2.0	3.5	3.0	3.0	3.15	อ่อนแอ
	Italia	3.5	4.0	5.0	4.5	4.5	4.0	3.0	4.0	5.0	4.5	4.20	อ่อนแอมาก
	เฉลี่ย											2.84	ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 ผล, คะแนน 2 = 7-25 ผล, คะแนน 3 = 26-50 ผล, คะแนน 4 = 51-100 ผล และคะแนน 5 = > 100 ผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 42 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในอุนุ่นลูกผสม Black Queen × Wilcox 321

ลำดับที่	Black Queen × Wilcox 321	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0411.01	2 ^{1/}	2	2	4	4	4	3	4	4	3	3.20	อ่อนแอ ^{2/}
2	SUT0411.04	4	4	3	3	4	3	2	3	3	3	3.20	อ่อนแอ
3	SUT0411.06	4	3	4	3	3	4	5	4	4	3	3.70	อ่อนแอ
4	SUT0411.07	2	3	3	3	4	2	3	3	3	3	2.90	ต้านทานปานกลาง
5	SUT0411.09	3	2	3	2	2	2	3	1	1	1	2.00	ต้านทาน
6	SUT0411.12	3	4	3	3	5	3	4	3	4	4	3.60	อ่อนแอ
7	SUT0411.18	2	2	2	3	2	2	3	4	3	3	2.60	ต้านทานปานกลาง
8	SUT0411.22	4	4	3	3	3	2	3	2	3	3	3.00	ต้านทานปานกลาง
9	SUT0411.23	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2.10	ต้านทานปานกลาง
10	SUT0411.28	4	2	2	2	3	4	4	5	4	4	3.40	อ่อนแอ
11	SUT0411.30	2	2	1	1	1	1	1	1	2	2	1.40	ต้านทาน
12	SUT0411.35	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1.20	ต้านทาน
13	SUT0411.37	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2.10	ต้านทานปานกลาง
14	SUT0411.38	3	4	3	2	2	2	2	2	3	-	2.56	ต้านทานปานกลาง
15	SUT0411.39	2	2	3	4	3	2	2	2	2	1	2.30	ต้านทานปานกลาง
16	SUT0411.43	2	3	2	2	1	3	2	2	2	4	2.30	ต้านทานปานกลาง
17	SUT0411.45	4	4	4	5	5	5	5	5	4	5	4.60	อ่อนแอมาก
18	SUT0411.46	3	4	4	3	3	-	-	-	-	-	3.40	อ่อนแอ
19	SUT0411.47	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
20	SUT0411.50	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
21	SUT0411.56	4	5	5	3	5	4	5	4	4	4	4.30	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย		2.85											ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 43 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในงุ่นลูกผสม Black Queen × NY88.0517.01

ลำดับที่	Black Queen × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0401.06	5 ^{1/}	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4.90	อ่อนแอมาก ^{2/}
2	SUT0401.07	1	2	3	2	2	2	2	2	1	2	1.90	ต้านทาน
3	SUT0401.08	5	5	5	4	5	5	5	5	4	5	4.80	อ่อนแอมาก
4	SUT0401.09	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1.30	ต้านทาน
5	SUT0401.13	1	2	1	1	2	1	2	2	2	3	1.70	ต้านทาน
6	SUT0401.14	4	4	4	4	5	3	3	-	-	-	3.86	อ่อนแอ
7	SUT0401.15	5	5	5	4	4	3	4	-	-	-	4.29	อ่อนแอมาก
8	SUT0401.18	2	2	2	2	3	2	2	1	1	1	1.80	ต้านทาน
9	SUT0401.19	1	1	2	2	3	3	1	2	3	3	2.10	ต้านทานปานกลาง
10	SUT0401.20	4	4	3	3	4	3	-	-	-	-	3.50	อ่อนแอ
11	SUT0401.24	2	1	1	1	2	1	1	2	2	3	1.60	ต้านทาน
12	SUT0401.27	3	3	3	3	3	3	3	5	3	2	3.10	อ่อนแอ
13	SUT0401.29	1	2	2	2	2	2	2	3	3	2	2.10	ต้านทานปานกลาง
14	SUT0401.30	2	2	4	1	1	2	4	1	2	1	2.00	ต้านทาน
15	SUT0401.32	1	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1.70	ต้านทาน
16	SUT0401.33	5	5	5	5	5	-	-	-	-	-	5.00	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย												2.85	ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 ผล, คะแนน 2 = 7-25 ผล, คะแนน 3 = 26-50 ผล, คะแนน 4 = 51-100 ผล และคะแนน 5 = > 100 ผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 44 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในอณูพันธุ์ผสม Black Queen × NY65.0550.04

ลำดับที่	Black Queen × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0402.01	5 ^{1/}	3	5	5	4	5	-	-	-	-	4.50	อ่อนแอมาก ^{2/}
2	SUT0402.04	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2	1.80	ต้านทาน
3	SUT0402.05	3	3	3	2	2	3	2	3	2	5	2.80	ต้านทานปานกลาง
4	SUT0402.06	2	2	2	2	1	3	1	4	3	3	2.30	ต้านทานปานกลาง
5	SUT0402.08	5	5	5	3	5	5	5	5	3	3	4.40	อ่อนแอมาก
6	SUT0402.11	4	4	3	4	3	4	4	4	4	3	3.70	อ่อนแอ
7	SUT0402.12	2	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1.60	ต้านทาน
8	SUT0402.13	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
9	SUT0402.14	2	3	4	4	5	5	5	3	4	-	3.89	อ่อนแอ
10	SUT0402.30	5	3	4	5	5	3	3	4	5	5	4.20	อ่อนแอมาก
11	SUT0402.54	1	2	3	3	3	2	4	-	-	-	2.57	ต้านทานปานกลาง
เฉลี่ย												2.98	ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกมที่ใช้การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 45 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในอุนุ่นลูกผสม Black Queen × NY65.0551.05

ลำดับที่	Black Queen × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0410.01	4 ^{1/}	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2.70	ต้านทานปานกลาง ^{2/}
2	SUT0410.02	4	5	5	5	3	5	4	4	5	5	4.50	อ่อนแอมาก
3	SUT0410.03	4	4	3	4	4	5	5	5	4	5	4.30	อ่อนแอมาก
4	SUT0410.05	3	3	4	3	2	3	2	-	-	-	2.86	ต้านทานปานกลาง
5	SUT0410.07	2	4	4	4	5	4	5	5	-	-	4.13	อ่อนแอมาก
6	SUT0410.08	3	4	4	4	3	5	5	5	-	-	4.13	อ่อนแอมาก
7	SUT0410.09	4	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4.40	อ่อนแอมาก
8	SUT0410.10	5	5	5	3	5	3	4	-	-	-	4.29	อ่อนแอมาก
9	SUT0410.11	5	5	5	5	5	-	-	-	-	-	5.00	อ่อนแอมาก
10	SUT0410.16	2	3	2	2	3	3	3	2	3	-	2.56	ต้านทานปานกลาง
11	SUT0410.17	5	5	4	4	4	4	5	4	4	3	4.20	อ่อนแอมาก
12	SUT0410.18	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
13	SUT0410.19	3	2	2	4	3	3	3	3	4	5	3.20	อ่อนแอ
14	SUT0410.20	4	4	4	3	3	3	4	4	2	4	3.50	อ่อนแอ
15	SUT0410.21	4	4	4	3	4	4	3	-	-	-	3.71	อ่อนแอ
16	SUT0410.24	5	5	5	5	5	3	4	3	-	-	4.38	อ่อนแอมาก
17	SUT0410.25	4	5	2	4	5	4	4	4	4	3	3.90	อ่อนแอ
18	SUT0410.27	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	4.90	อ่อนแอมาก
19	SUT0410.28	1	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1.70	ต้านทาน
20	SUT0410.31	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
21	SUT0410.32	5	5	5	5	4	4	3	-	-	-	4.43	อ่อนแอมาก
22	SUT0410.47	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย		3.99										3.99	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 46 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ใน อนุพันธุ์ผสม Carolina Black Rose × Wilcox 321

ลำดับที่	Carolina Black Rose × Wilcox 321	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0403.03	1 ^{1/}	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1.80	ต้านทาน ^{2/}
2	SUT0403.06	2	2	3	3	3	2	3	2	-	-	2.50	ต้านทานปานกลาง
3	SUT0403.09	5	5	4	4	3	3	5	5	3	3	4.00	อ่อนแอ
4	SUT0403.10	3	4	4	3	2	2	4	2	3	3	3.00	ต้านทานปานกลาง
เฉลี่ย												2.83	ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 47 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ใน อนุพันธุ์ผสม Carolina Black Rose × NY88.0517.01

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0404.01	5 ^{1/}	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก ^{2/}
2	SUT0404.02	2	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1.30	ต้านทาน
3	SUT0404.03	2	3	4	2	2	3	3	2	4	3	2.80	ต้านทานปานกลาง
4	SUT0404.08	2	4	3	3	2	4	4	3	3	2	3.00	ต้านทานปานกลาง
5	SUT0404.11	5	5	5	5	4	4	4	5	5	4	4.60	อ่อนแอมาก
6	SUT0404.12	2	2	3	3	2	2	2	3	3	-	2.44	ต้านทานปานกลาง
7	SUT0404.14	4	3	4	4	4	-	-	-	-	-	3.80	อ่อนแอ
8	SUT0404.15	4	5	4	5	4	4	4	4	4	5	4.30	อ่อนแอมาก
9	SUT0404.21	3	4	5	4	3	3	3	2	5	5	3.70	อ่อนแอ
10	SUT0404.36	4	5	5	4	5	5	4	5	5	5	4.70	อ่อนแอมาก
11	SUT0404.40	1	1	3	1	2	1	2	2	1	1	1.50	ต้านทาน
เฉลี่ย												3.38	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 48 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในอณูพันธุ์ผสม Carolina Black Rose × NY65.0550.04

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0405.02	1 ^{1/}	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1.20	ต้านทาน ^{2/}
2	SUT0405.03	3	2	2	3	3	-	-	-	-	-	2.60	ต้านทานปานกลาง
3	SUT0405.05	3	4	4	5	5	5	5	5	5	5	4.60	อ่อนแอมาก
4	SUT0405.06	3	4	4	3	3	3	4	2	4	3	3.30	อ่อนแอ
5	SUT0405.13	5	5	5	3	3	3	3	3	3	-	3.67	อ่อนแอ
6	SUT0405.14	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1.80	ต้านทาน
7	SUT0405.17	5	5	5	3	3	4	3	3	4	5	4.00	อ่อนแอ
8	SUT0405.19	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1.10	ต้านทาน
9	SUT0405.25	2	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1.50	ต้านทาน
เฉลี่ย												2.64	ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 49 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในอณูพันธุ์ผสม Carolina Black Rose × NY65.0551.05

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0406.01	5 ^{1/}	5	4	4	4	4	3	3	5	5	4.20	อ่อนแอมาก ^{2/}
2	SUT0406.02	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
3	SUT0406.03	3	4	3	4	4	3	4	3	4	4	3.60	อ่อนแอ
4	SUT0406.04	2	3	3	4	3	5	4	5	4	4	3.70	อ่อนแอ
5	SUT0406.05	2	3	3	4	2	3	2	3	2	3	2.70	ต้านทานปานกลาง
6	SUT0406.07	4	3	4	4	4	5	5	3	4	5	4.10	อ่อนแอมาก
7	SUT0406.08	3	4	3	3	3	3	2	3	3	1	2.80	ต้านทานปานกลาง
8	SUT0406.11	5	5	5	5	5	-	-	-	-	-	5.00	อ่อนแอมาก
9	SUT0406.12	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3.90	อ่อนแอ
10	SUT0406.18	3	5	5	3	4	4	3	3	2	-	3.56	อ่อนแอ
11	SUT0406.20	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
12	SUT0406.21	5	5	5	3	5	4	5	5	5	5	4.70	อ่อนแอมาก
13	SUT0406.22	4	5	4	3	3	4	3	3	4	-	3.67	อ่อนแอ

ตารางภาคผนวกที่ 49 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในองุ่นลูกผสม Carolina Black Rose × NY65.0551.05 (ต่อ)

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
14	SUT0406.27	4	4	4	4	4	5	4	4	4	4	4.10	อ่อนแอมาก
15	SUT0406.28	2	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1.30	ต้านทาน
16	SUT0406.29	4	3	2	4	4	5	5	4	5	4	4.00	อ่อนแอ
เฉลี่ย		3.58											อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 50 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในองุ่นลูกผสม Early Muscat × NY65.0551.05

ลำดับที่	Early Muscat × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0412.01	5 ^{1/}	5	4	5	5	5	5	5	5	5	4.90	อ่อนแอมาก ^{2/}
2	SUT0412.02	4	4	5	4	4	3	5	-	-	-	4.14	อ่อนแอมาก
3	SUT0412.05	4	5	5	3	4	4	4	3	3	2	3.70	อ่อนแอ
4	SUT0412.06	4	4	4	5	3	5	3	3	4	-	3.89	อ่อนแอ
5	SUT0412.09	2	2	2	2	2	3	2	2	1	2	2.00	ต้านทาน
6	SUT0412.10	3	3	3	3	3	2	4	3	3	2	2.90	ต้านทานปานกลาง
7	SUT0412.15	5	5	4	4	4	4	5	5	4	4	4.40	อ่อนแอมาก
8	SUT0412.16	4	3	4	4	2	3	-	-	-	-	3.33	อ่อนแอ
9	SUT0412.17	2	3	2	3	3	3	3	3	4	4	3.00	ต้านทานปานกลาง
เฉลี่ย		3.58											อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 51 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในอนุพันธุ์ผสม Italia × NY88.0517.01

ลำดับที่	Italia × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0407.03	1 ^{1/}	2	1	2	1	1	2	1	1	1	1.30	ต้านทาน ^{2/}
2	SUT0407.06	4	4	4	4	4	4	4	4	2	2	3.60	อ่อนแอ
3	SUT0407.14	2	3	3	4	2	3	2	3	2	3	2.70	ต้านทานปานกลาง
4	SUT0407.17	5	4	4	4	5	4	4	5	5	5	4.50	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย		3.03											ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 52 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ในอนุพันธุ์ผสม Italia × NY65.0550.04

ลำดับที่	Italia × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0408.02	4 ^{1/}	3	4	4	3	4	3	3	4	4	3.60	อ่อนแอ ^{2/}
2	SUT0408.06	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
3	SUT0408.12	4	5	4	3	4	3	3	4	5	-	3.89	อ่อนแอ
4	SUT0408.15	3	4	4	3	4	4	4	4	3	3	3.60	อ่อนแอ
5	SUT0408.18	4	4	5	3	3	3	2	2	3	3	3.20	อ่อนแอ
เฉลี่ย		3.06											อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 53 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Nk4-1
ใน อนุพันธุ์ผสม Italia × NY65.0551.05

ลำดับที่	Italia × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0409.03	5 ^{1/}	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก ^{2/}
2	SUT0409.04	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
3	SUT0409.05	1	1	1	1	2	2	2	3	2	2	1.70	ต้านทาน
4	SUT0409.06	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
5	SUT0409.21	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย		3.54										3.54	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 54 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
อนุพันธุ์ผสม Black Queen × Wilcox 321

ลำดับที่	Black Queen × Wilcox 321	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0411.01	3 ^{1/}	3	3	3	3	3	3	4	3	2	3.00	ต้านทานปานกลาง ^{2/}
2	SUT0411.04	4	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2.60	ต้านทานปานกลาง
3	SUT0411.06	3	2	2	1	1	1	1	1	-	-	1.50	ต้านทาน
4	SUT0411.07	2	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1.40	ต้านทาน
5	SUT0411.09	2	3	2	2	1	2	1	1	2	1	1.70	ต้านทาน
6	SUT0411.12	2	1	2	1	1	2	1	-	-	-	1.43	ต้านทาน
7	SUT0411.18	3	4	2	4	3	2	4	4	3	2	3.10	อ่อนแอ
8	SUT0411.22	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-	5.00	อ่อนแอมาก
9	SUT0411.23	3	4	4	3	3	4	-	-	-	-	3.50	อ่อนแอ
10	SUT0411.28	4	4	5	2	2	2	2	1	3	3	2.80	ต้านทานปานกลาง
11	SUT0411.30	4	3	3	3	3	3	3	2	-	-	3.00	ต้านทานปานกลาง
12	SUT0411.35	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1.90	ต้านทาน
13	SUT0411.37	1	1	1	1	1	2	2	1	1	2	1.30	ต้านทาน
14	SUT0411.38	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1.10	ต้านทาน
15	SUT0411.39	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1.40	ต้านทาน
16	SUT0411.43	3	5	4	5	4	4	4	3	3	3	3.80	อ่อนแอ
17	SUT0411.45	4	4	4	5	4	5	4	3	4	3	4.00	อ่อนแอ
18	SUT0411.46	3	2	3	3	2	3	4	1	2	2	2.50	ต้านทานปานกลาง
19	SUT0411.47	4	3	3	4	4	3	4	3	4	5	3.70	อ่อนแอ

ตารางภาคผนวกที่ 54 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสลับ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
 อนุกรมผสม Black Queen × Wilcox 321 (ต่อ)

ลำดับที่	Black Queen × Wilcox 321	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
20	SUT0411.50	2	2	3	3	4	4	3	2	4	-	3.00	ต้านทานปานกลาง
21	SUT0411.56	2	2	3	3	4	3	2	-	-	-	2.71	ต้านทานปานกลาง
เฉลี่ย												2.59	ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 55 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสลับ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
 อนุกรมผสม Black Queen × NY88.0517.01

ลำดับที่	Black Queen × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0401.06	2 ^{1/}	2	2	2	2	2	2	2	-	-	2.00	ต้านทาน ^{2/}
2	SUT0401.07	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1.10	ต้านทาน
3	SUT0401.08	3	3	4	3	3	3	3	3	4	3	3.20	อ่อนแอ
4	SUT0401.09	4	4	3	4	4	-	-	-	-	-	3.80	อ่อนแอ
5	SUT0401.13	4	1	3	2	2	1	1	1	1	1	1.70	ต้านทาน
6	SUT0401.14	3	2	2	2	2	2	1	2	2	1	1.90	ต้านทาน
7	SUT0401.15	4	3	3	2	2	3	5	3	2	-	3.00	ต้านทานปานกลาง
8	SUT0401.18	1	3	2	2	3	3	2	2	2	1	2.10	ต้านทานปานกลาง
9	SUT0401.19	2	1	2	1	3	1	2	1	1	1	1.50	ต้านทาน
10	SUT0401.20	2	1	1	1	1	1	2	2	1	2	1.40	ต้านทาน
11	SUT0401.24	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1.40	ต้านทาน
12	SUT0401.27	1	5	5	3	4	4	2	3	2	3	3.20	อ่อนแอ
13	SUT0401.29	5	5	4	5	4	5	5	4	5	3	4.50	อ่อนแอมาก
14	SUT0401.30	1	2	1	1	1	2	2	2	3	4	1.90	ต้านทาน
15	SUT0401.32	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1.10	ต้านทาน
16	SUT0401.33	4	3	1	1	1	1	1	1	1	2	1.60	ต้านทาน
เฉลี่ย												2.21	ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 56 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสลับ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
อุน้ลูกผสม Black Queen × NY65.0550.04

ลำดับที่	Black Queen × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0402.01	4 ^{1/}	5	5	4	5	5	5	5	2	5	4.50	อ่อนแอมาก ^{2/}
2	SUT0402.04	4	4	4	3	4	4	3	3	-	-	3.63	อ่อนแอ
3	SUT0402.05	2	2	2	2	2	3	2	-	-	-	2.14	ต้านทานปานกลาง
4	SUT0402.06	5	4	5	5	5	3	4	4	3	5	4.30	อ่อนแอมาก
5	SUT0402.08	5	4	4	4	4	3	3	4	4	4	3.90	อ่อนแอ
6	SUT0402.11	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1	1.50	ต้านทาน
7	SUT0402.12	3	2	1	2	1	1	2	2	4	4	2.20	ต้านทานปานกลาง
8	SUT0402.13	3	3	3	3	3	4	2	4	4	3	3.20	อ่อนแอ
9	SUT0402.14	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1.20	ต้านทาน
10	SUT0402.30	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	3.90	อ่อนแอ
11	SUT0402.54	4	3	3	3	3	4	3	3	3	4	3.30	อ่อนแอ
เฉลี่ย												3.07	อ่อนแอ

^{1/} เกมที่การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 ผล, คะแนน 2 = 7-25 ผล, คะแนน 3 = 26-50 ผล, คะแนน 4 = 51-100 ผล และคะแนน 5 = > 100 ผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 57 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสลับ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
อุน้ลูกผสม Black Queen × NY65.0551.05

ลำดับที่	Black Queen × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0410.01	5 ^{1/}	2	3	4	4	3	4	4	4	3	3.60	อ่อนแอ ^{2/}
2	SUT0410.02	5	5	5	5	4	4	4	3	4	4	4.30	อ่อนแอมาก
3	SUT0410.03	5	4	4	4	3	4	3	3	3	3	3.60	อ่อนแอ
4	SUT0410.05	3	3	3	4	5	5	4	4	4	5	4.00	อ่อนแอ
5	SUT0410.07	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	4.80	อ่อนแอมาก
6	SUT0410.08	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
7	SUT0410.09	3	4	5	2	4	3	3	5	2	4	3.50	อ่อนแอ
8	SUT0410.10	2	2	2	2	2	3	3	2	3	-	2.33	ต้านทานปานกลาง
9	SUT0410.13	4	4	4	4	5	4	4	3	3	4	3.90	อ่อนแอ
10	SUT0410.16	1	2	1	2	1	3	1	2	1	2	1.60	ต้านทาน
11	SUT0410.17	3	2	3	2	3	2	3	4	-	-	2.75	ต้านทานปานกลาง
12	SUT0410.18	2	2	2	3	2	2	3	2	3	2	2.30	ต้านทานปานกลาง

ตารางภาคผนวกที่ 57 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
 อนุพันธุ์ผสม Black Queen × NY65.0551.05 (ต่อ)

ลำดับที่	Black Queen × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
13	SUT0410.19	4	4	4	4	2	3	1	4	4	-	3.33	อ่อนแอ
14	SUT0410.20	2	5	4	4	4	3	4	5	5	-	4.00	อ่อนแอ
15	SUT0410.21	1	2	2	1	2	3	2	2	2	3	2.00	ต้านทาน
16	SUT0410.24	3	3	3	4	3	3	3	2	3	4	3.10	อ่อนแอ
17	SUT0410.25	3	2	4	4	3	5	5	3	2	-	3.44	อ่อนแอ
18	SUT0410.27	4	2	4	2	3	4	4	4	4	-	3.44	อ่อนแอ
19	SUT0410.28	1	1	2	2	2	2	2	1	3	3	1.90	ต้านทาน
20	SUT0410.31	2	3	4	3	3	3	2	3	-	-	2.88	ต้านทานปานกลาง
21	SUT0410.32	5	5	4	3	4	5	5	5	-	-	4.50	อ่อนแอมาก
22	SUT0410.47	5	5	5	4	4	3	5	4	-	-	4.38	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย		3.39										3.39	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 58 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
 อนุพันธุ์ผสม Carolina Black Rose × Wilcox 321

ลำดับที่	Carolina Black Rose × Wilcox 321	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0403.03	4 ^{1/}	4	4	3	3	5	4	5	4	4	4.00	อ่อนแอ ^{2/}
2	SUT0403.06	2	1	3	2	2	2	1	2	1	2	1.80	ต้านทาน
3	SUT0403.09	2	2	2	2	3	2	3	3	3	3	2.50	ต้านทานปานกลาง
4	SUT0403.10	5	4	3	4	4	5	4	3	3	4	3.90	อ่อนแอ
เฉลี่ย		3.05										3.05	ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 59 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
องุ่นลูกผสม Carolina Black Rose × NY88.0517.01

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0404.01	4 ^{1/}	3	3	5	4	5	4	3	4	3	3.80	อ่อนแอ ^{2/}
2	SUT0404.02	3	4	4	4	2	2	2	2	3	4	3.00	ต้านทานปานกลาง
3	SUT0404.03	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2.10	ต้านทานปานกลาง
4	SUT0404.08	3	3	4	5	5	5	4	4	-	-	4.13	อ่อนแอมาก
5	SUT0404.11	3	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2.20	ต้านทานปานกลาง
6	SUT0404.12	3	3	3	4	4	3	4	4	3	2	3.30	อ่อนแอ
7	SUT0404.14	3	4	4	3	2	4	3	3	3	2	3.10	อ่อนแอ
8	SUT0404.15	4	4	5	5	4	4	4	4	4	4	4.20	อ่อนแอมาก
9	SUT0404.21	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
10	SUT0404.36	1	2	2	2	4	4	5	4	4	4	3.20	อ่อนแอ
11	SUT0404.40	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
เฉลี่ย		3.18										3.18	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 60 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
องุ่นลูกผสม Carolina Black Rose × NY65.0550.04

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0405.02	3 ^{1/}	4	2	3	2	3	2	2	3	-	2.67	ต้านทานปานกลาง ^{2/}
2	SUT0405.03	1	1	2	1	1	1	1	2	2	1	1.30	ต้านทาน
3	SUT0405.05	3	3	2	4	4	4	-	-	-	-	3.33	อ่อนแอ
4	SUT0405.06	5	5	5	5	5	5	3	4	4	3	4.40	อ่อนแอมาก
5	SUT0405.13	4	3	3	5	5	5	5	-	-	-	4.29	อ่อนแอมาก
6	SUT0405.14	3	2	3	3	2	3	2	2	2	1	2.30	ต้านทานปานกลาง
7	SUT0405.17	2	2	2	3	3	2	2	2	2	2	2.20	ต้านทานปานกลาง
8	SUT0405.19	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1.10	ต้านทาน
9	SUT0405.25	3	2	2	2	1	-	-	-	-	-	2.00	ต้านทาน
เฉลี่ย		2.62										2.62	ต้านทานปานกลาง

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 61 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสลับ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
 อุ่นลูกผสม Carolina Black Rose × NY65.0551.05

ลำดับที่	Carolina Black Rose × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0406.01	4 ^{1/}	4	3	4	4	3	3	4	-	-	3.63	อ่อนแอ ^{2/}
2	SUT0406.02	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1.20	ต้านทาน
3	SUT0406.03	4	3	4	4	4	4	4	3	-	-	3.75	อ่อนแอ
4	SUT0406.04	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-	5.00	อ่อนแอมาก
5	SUT0406.05	2	3	2	2	2	1	1	1	2	1	1.70	ต้านทาน
6	SUT0406.07	4	4	3	4	4	4	4	2	3	3	3.50	อ่อนแอ
7	SUT0406.08	2	4	4	4	4	4	4	3	-	-	3.63	อ่อนแอ
8	SUT0406.11	3	2	4	3	4	3	3	3	4	3	3.20	อ่อนแอ
9	SUT0406.12	2	3	2	4	3	3	3	3	3	4	3.00	ต้านทานปานกลาง
10	SUT0406.18	2	4	2	2	4	2	2	2	-	-	2.50	ต้านทานปานกลาง
11	SUT0406.20	4	3	4	4	3	3	3	3	3	3	3.30	อ่อนแอ
12	SUT0406.21	2	1	2	2	2	2	2	2	2	-	1.89	ต้านทาน
13	SUT0406.22	2	2	3	4	4	3	3	3	4	2	3.00	ต้านทานปานกลาง
14	SUT0406.27	4	4	4	4	4	4	4	4	5	-	4.11	อ่อนแอมาก
15	SUT0406.28	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1.00	ต้านทานมาก
16	SUT0406.29	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย												3.09	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 62 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
องุ่นลูกผสม Early Muscat × NY65.0551.05

ลำดับที่	Early Muscat × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0412.01	2 ^{1/}	3	4	5	4	3	3	3	3	5	3.50	อ่อนแอ ^{2/}
2	SUT0412.02	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
3	SUT0412.05	2	1	1	1	2	3	2	1	1	1	1.50	ต้านทาน
4	SUT0412.06	1	1	1	2	1	2	2	2	2	-	1.56	ต้านทาน
5	SUT0412.09	2	2	2	3	2	2	3	3	3	3	2.50	ต้านทานปานกลาง
6	SUT0412.10	4	5	4	4	4	4	5	4	4	4	4.20	อ่อนแอมาก
7	SUT0412.15	3	3	2	4	3	4	4	4	4	5	3.60	อ่อนแอ
8	SUT0412.16	5	4	4	4	4	5	5	5	-	-	4.50	อ่อนแอมาก
9	SUT0412.17	3	2	2	2	3	3	4	4	4	-	3.00	ต้านทานปานกลาง
เฉลี่ย												3.26	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 63 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
องุ่นลูกผสม Italia × NY88.0517.01

ลำดับที่	Italia × NY88.0517.01	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0407.03	1 ^{1/}	2	1	1	2	1	1	-	-	-	1.29	ต้านทาน ^{2/}
2	SUT0407.06	5	5	5	3	4	4	3	3	4	5	4.10	อ่อนแอมาก
3	SUT0407.14	3	3	3	3	2	4	2	3	2	3	2.80	ต้านทานปานกลาง
4	SUT0407.17	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	4.30	อ่อนแอมาก
เฉลี่ย												3.12	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 64 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
อุนุ่นลูกผสม Italia × NY65.0550.04

ลำดับที่	Italia × NY65.0550.04	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0408.02	5 ^{1/}	5	5	4	4	4	5	3	3	4	4.20	อ่อนแอมาก ^{2/}
2	SUT0408.06	4	2	3	3	2	3	2	3	3	2	2.70	ต้านทานปานกลาง
3	SUT0408.12	2	3	3	3	3	4	4	3	3	2	3.00	ต้านทานปานกลาง
4	SUT0408.15	3	2	2	3	3	3	-	-	-	-	2.67	ต้านทานปานกลาง
5	SUT0408.18	4	4	3	4	4	4	-	-	-	-	3.83	อ่อนแอ
เฉลี่ย												3.28	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 65 คะแนนการเกิดโรคและระดับความต้านทานโรคสแคบ ไอโซเลต Rc2-1 ใน
อุนุ่นลูกผสม Italia × NY65.0551.05

ลำดับที่	Italia × NY65.0551.05	จำนวนซ้ำ										เฉลี่ย	ระดับความต้านทานโรค
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	SUT0409.03	5 ^{1/}	4	3	5	4	4	3	4	4	-	4.00	อ่อนแอมาก ^{2/}
2	SUT0409.04	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5.00	อ่อนแอมาก
3	SUT0409.05	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1.10	ต้านทาน
4	SUT0409.06	4	4	4	4	4	4	5	4	-	-	4.13	อ่อนแอมาก
5	SUT0409.21	3	3	3	2	2	2	3	2	-	-	2.50	ต้านทานปานกลาง
เฉลี่ย												3.35	อ่อนแอ

^{1/} เกณฑ์การให้คะแนนตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-6 แผล, คะแนน 2 = 7-25 แผล, คะแนน 3 = 26-50 แผล, คะแนน 4 = 51-100 แผล และคะแนน 5 = > 100 แผล

^{2/} ระดับความต้านทานประยุกต์จากการประเมินโรคราน้ำค้างของ Mahanil (2007) ดังนี้ 1.0 = ต้านทานมาก, 1.1-2.0 = ต้านทาน, 2.1-3.0 = ต้านทานปานกลาง, 3.1-4.0 = อ่อนแอ และ 4.1-5.0 = อ่อนแอมาก

ตารางภาคผนวกที่ 66 สถิติปริมาณน้ำฝนในเดือน ม.ค.-ธ.ค. ปี พ.ศ. 2540-2552 จากศูนย์การทดลอง
ใช้น้ำชลประทานที่ 3 (ห้วยบ้านยาง) จ.นครราชสีมา

พ.ศ.	เดือน												รวม (มม.)	เฉลี่ย (มม.)
	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.		
2540	10.4	10.3	56.4	63.4	172.8	19.8	81.0	147.8	88.2	117.0	15.7	-	782.8	71.2
2541	-	21.2	6.0	23.3	115.2	100.4	114.3	227.6	157.7	147.8	41.7	1.6	956.8	87.0
2542	0.7	-	68.6	170.0	150.1	128.6	156.5	178.4	146.9	219.4	25.5	0.7	1245.4	124.5
2543	0.4	48.9	36.7	141.4	225.0	242.7	262.7	361.1	190.0	200.1	4.8	-	1713.8	155.8
2544	3.6	-	70.6	0.2	226.1	128.5	33.5	123.6	95.6	150.9	14.8	-	847.4	94.1
2545	-	32.5	52.1	60.9	122.3	32.2	60.8	191.7	386.3	113.8	23.7	22.5	1098.8	99.9
2546	-	3.4	147.0	53.0	131.5	116.0	159.9	166.6	142.9	116.2	-	-	1036.5	115.2
2547	6.8	38.9	1.3	116.4	124.0	187.7	165.4	67.8	214.9	0.8	19.5	-	943.5	111.4
2548	-	-	78.2	7.5	102.3	53.7	200.3	114.8	246.5	118.1	84.6	0.4	1006.4	100.6
2549	-	1.5	51.6	90.9	120.8	91.0	67.2	56.6	206.3	253.8	-	-	939.7	104.4
2550	-	0.9	24.6	179.5	162.7	85.2	141.9	231.6	197.6	249.5	1.1	-	1274.6	127.5
2551	2.0	-	1.0	260.9	236.5	78.8	116.7	114.5	290.9	153.9	37.4	1.5	1294.1	117.6
2552	-	2.1	90.6	172.0	172.9	93.5	174.3	153.5	244.3	181.3	4.7	5.5	1294.7	117.7

ตารางภาคผนวกที่ 67 สถิติ % ความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิอากาศ เดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2550
จากศูนย์การทดลองใช้น้ำชลประทานที่ 3 (ห้วยบ้านยาง) จ.นครราชสีมา

วันที่	% ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ			อุณหภูมิของอากาศ (°ซ)		
	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย
1	0.0	0.0	0.0	32.4	24.3	28.4
2	0.0	0.0	0.0	32.4	24.3	28.4
3	0.0	0.0	0.0	33.1	24.2	28.7
4	0.0	0.0	0.0	34.2	24.6	29.4
5	0.0	0.0	0.0	33.0	24.4	28.7
6	0.0	0.0	0.0	31.5	24.5	28.0
7	0.0	0.0	0.0	34.4	24.0	29.2
8	0.0	0.0	0.0	34.0	23.0	28.5
9	0.0	0.0	0.0	35.7	22.8	29.3
10	0.0	0.0	0.0	35.0	23.0	29.0
11	0.0	0.0	0.0	34.8	24.0	29.4
12	0.0	0.0	0.0	35.4	25.5	30.5
13	0.0	0.0	0.0	34.8	26.0	30.4
14	0.0	0.0	0.0	34.7	23.6	29.2
15	0.0	0.0	0.0	35.4	25.0	30.2
16	0.0	0.0	0.0	35.5	22.5	29.0
17	0.0	0.0	0.0	33.0	22.7	27.9
18	0.0	0.0	0.0	33.8	23.3	28.6
19	0.0	0.0	0.0	32.7	24.0	28.4
20	0.0	0.0	0.0	34.4	23.1	28.8
21	0.0	0.0	0.0	33.7	23.5	28.6
22	0.0	0.0	0.0	33.5	23.5	28.5
23	0.0	0.0	0.0	35.0	23.4	29.2
24	0.0	0.0	0.0	32.2	23.0	27.6
25	0.0	0.0	0.0	33.5	22.5	28.0
26	0.0	0.0	0.0	34.6	23.2	28.9
27	0.0	0.0	0.0	34.7	23.1	28.9
28	0.0	0.0	0.0	33.0	23.5	28.3
29	0.0	0.0	0.0	33.4	23.5	28.5
30	0.0	0.0	0.0	34.2	22.0	28.1
31	0.0	0.0	0.0	32.5	23.1	27.8
เฉลี่ย	0.0	0.0	0.0	33.9	23.6	28.8

ตารางภาคผนวกที่ 68 สถิติ % ความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิอากาศ เดือนตุลาคม ปี พ.ศ. 2551
จากศูนย์การทดลองใช้น้ำชลประทานที่ 3 (ห้วยบ้านยาง) จ.นครราชสีมา

วันที่	% ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ			อุณหภูมิของอากาศ (°ซ)		
	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย
1	95.0	74.0	84.5	30.4	23.0	26.7
2	95.0	73.0	84.0	30.8	22.6	26.7
3	95.0	70.5	82.8	31.6	22.6	27.1
4	95.0	61.0	78.0	32.9	22.5	27.7
5	94.0	60.0	77.0	33.6	23.1	28.4
6	94.0	66.0	80.0	32.7	23.2	28.0
7	95.0	67.5	81.3	31.4	22.1	26.8
8	95.0	65.0	80.0	32.0	22.7	27.4
9	95.0	68.0	81.5	30.7	22.5	26.6
10	94.5	65.0	79.8	31.5	24.5	28.0
11	95.0	66.0	80.5	31.5	23.0	27.3
12	95.0	61.0	78.0	31.7	22.7	27.2
13	95.0	63.0	79.0	31.7	22.9	27.3
14	95.0	62.0	78.5	31.5	22.3	26.9
15	95.0	62.0	78.5	32.0	22.0	27.0
16	95.0	67.0	81.0	31.8	23.1	27.5
17	94.0	65.0	79.5	29.0	23.5	26.3
18	95.0	77.5	86.3	28.4	22.7	25.6
19	94.0	66.0	80.0	31.5	23.5	27.5
20	94.0	68.0	81.0	31.1	24.1	27.6
21	95.0	68.0	81.5	31.4	22.7	27.1
22	95.0	65.0	80.0	32.5	21.8	27.2
23	95.0	62.0	78.5	33.1	22.1	27.6
24	95.0	75.0	85.0	29.5	23.3	26.4
25	94.0	71.0	82.5	30.3	23.7	27.0
26	95.0	75.5	85.3	29.1	21.8	25.5
27	95.0	69.0	82.0	32.8	23.4	28.1
28	95.0	71.0	83.0	29.9	22.9	26.4
29	94.0	65.0	79.5	30.9	23.5	27.2
30	94.0	72.0	83.0	29.5	23.2	26.4
31	94.0	72.0	83.0	30.1	22.7	26.4
เฉลี่ย	94.7	67.5	81.1	31.2	22.9	27.0

ตารางภาคผนวกที่ 69 สถิติ % ความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิอากาศ เดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2552
จากศูนย์การทดลองใช้น้ำชลประทานที่ 3 (ห้วยบ้านยาง) จ.นครราชสีมา

วันที่	% ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ			อุณหภูมิของอากาศ (°ซ)		
	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย
1	88.0	56.0	72.0	33.7	24.3	29.0
2	90.0	56.0	73.0	33.9	22.8	28.4
3	90.0	65.0	77.5	34.2	24.0	29.1
4	87.0	55.0	71.0	34.6	25.2	29.9
5	90.0	65.0	77.5	30.2	22.9	26.6
6	90.0	60.0	75.0	32.4	22.2	27.3
7	90.0	57.0	73.5	31.2	23.2	27.2
8	90.0	56.0	73.0	33.4	22.0	27.7
9	85.0	52.0	68.5	34.5	23.5	29.0
10	85.0	53.0	69.0	34.6	24.6	29.6
11	80.0	55.0	67.5	35.4	25.2	30.3
12	90.0	55.0	72.5	35.7	24.0	29.9
13	84.0	60.0	72.0	35.1	24.4	29.8
14	85.5	65.0	75.3	30.2	24.0	27.1
15	77.0	58.0	67.5	32.8	25.4	29.1
16	80.0	67.0	73.5	30.0	25.0	27.5
17	84.0	61.0	72.5	32.5	23.1	27.8
18	86.0	60.0	73.0	32.5	22.6	27.6
19	85.0	59.0	72.0	32.4	23.4	27.9
20	89.0	60.0	74.5	32.9	23.5	28.2
21	90.0	58.0	74.0	33.6	23.5	28.6
22	87.0	60.0	73.5	32.6	23.7	28.2
23	85.0	60.0	72.5	32.2	23.3	27.8
24	87.5	55.0	71.3	34.2	22.8	28.5
25	87.0	57.0	72.0	33.0	23.2	28.1
26	86.0	55.0	70.5	34.0	23.2	28.6
27	82.0	55.0	68.5	34.5	24.5	29.5
28	80.0	57.0	68.5	34.0	25.5	29.8
29	75.0	65.0	70.0	29.8	25.1	27.5
30	90.0	65.0	77.5	30.4	22.9	26.7
31	90.0	70.0	80.0	29.0	23.3	26.2
เฉลี่ย	86.0	59.1	72.5	32.9	23.8	28.3

ตารางภาคผนวกที่ 70 สถิติ % ความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิอากาศ เดือนตุลาคม ปี พ.ศ. 2552
จากศูนย์การทดลองใช้น้ำชลประทานที่ 3 (ห้วยบ้านยาง) จ.นครราชสีมา

วันที่	% ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ			อุณหภูมิของอากาศ (°ซ)		
	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย
1	90.0	85.0	87.5	26.4	22.0	24.2
2	90.0	65.0	77.5	31.0	23.5	27.3
3	90.0	61.0	75.5	32.1	23.2	27.7
4	90.0	65.0	77.5	32.2	23.8	28.0
5	90.0	58.0	74.0	32.0	23.0	27.5
6	90.0	56.0	73.0	31.8	23.4	27.6
7	90.0	58.0	74.0	32.2	22.0	27.1
8	90.0	54.0	72.0	32.4	21.5	27.0
9	90.0	54.0	72.0	32.7	23.0	27.9
10	90.0	52.0	71.0	33.0	23.5	28.3
11	90.0	76.0	83.0	28.2	22.7	25.5
12	90.0	61.0	75.5	31.6	23.1	27.4
13	90.0	60.0	75.0	32.4	24.0	28.2
14	90.0	60.0	75.0	32.0	23.5	27.8
15	90.0	63.0	76.5	31.4	24.0	27.7
16	89.0	60.0	74.5	31.8	23.3	27.6
17	90.0	59.0	74.5	31.5	23.8	27.7
18	90.0	58.0	74.0	31.5	24.0	27.8
19	90.5	60.0	75.3	32.5	22.0	27.3
20	90.0	55.0	72.5	33.2	23.0	28.1
21	90.0	62.0	76.0	31.9	23.0	27.5
22	90.0	64.0	77.0	31.1	24.0	27.6
23	91.0	64.0	77.5	30.7	22.5	26.6
24	90.0	58.0	74.0	33.0	22.6	27.8
25	90.0	58.0	74.0	33.2	23.2	28.2
26	91.0	57.0	74.0	33.1	22.5	27.8
27	90.0	60.0	75.0	32.0	22.0	27.0
28	90.0	50.0	70.0	30.8	21.8	26.3
29	90.0	56.0	73.0	31.7	21.0	26.4
30	91.0	55.0	73.0	31.0	19.5	25.3
31	90.0	52.0	71.0	31.1	20.0	25.6
เฉลี่ย	90.1	59.9	75.0	31.7	22.7	27.2

ตารางภาคผนวกที่ 71 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F₁ จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ปี พ.ศ. 2550 ครั้งที่ 1

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
1	Wilcox 321	1 ^{2/}	1	1	1	1	1.00
2	NY88.0517.01	2	2	1	1	2	1.60
3	NY88.0507.01	1	2	4	4	2	2.60
4	NY65.0550.04	1	1	1	1	1	1.00
5	Illinois 547-1	1	1	1	1	1	1.00
6	NY65.0551.05	2	2	2	4	5	3.00
7	Black Queen	5	5	5	5	5	5.00
8	Carolina Black Rose	4	3	5	2	5	3.80
9	Early Muscat	4	5	5	5	5	4.80
10	Italia	5	2	5	5	5	4.40
11	SUT0401.08 ^{1/}	4	5	5	4	5	4.60
12	SUT0401.15	5	5	5	4	5	4.80
13	SUT0401.19	2	3	3	2	1	2.20
14	SUT0403.09	1	1	2	3	2	1.80
15	SUT0404.11	1	2	2	3	1	1.80
16	SUT0404.15	3	5	4	4	5	4.20
17	SUT0404.40	1	1	1	1	1	1.00
18	SUT0405.02	5	4	4	5	5	4.60
19	SUT0406.01	2	5	5	4	5	4.20
20	SUT0406.20	5	2	4	2	4	3.40
21	SUT0406.21	4	5	5	5	5	4.80
22	SUT0406.27	2	2	3	2	3	2.40
23	SUT0407.06	3	2	4	2	4	3.00
24	SUT0408.02	2	2	5	2	2	2.60
25	SUT0409.03	3	5	3	3	4	3.60

ตารางภาคผนวกที่ 71 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F_1 จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ปี พ.ศ. 2550 ครั้งที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
26	SUT0409.04	5	5	5	5	3	4.60
27	SUT0410.08	2	4	5	2	3	3.20
28	SUT0410.24	3	4	5	2	2	3.20
29	SUT0410.31	3	2	4	4	2	3.00
30	SUT0410.47	5	5	4	5	5	4.80
31	SUT0411.28	4	5	5	4	4	4.40
32	SUT0412.01	5	5	3	2	3	3.60
33	SUT0412.05	5	5	5	5	3	4.60
34	SUT0412.15	5	3	2	5	5	4.00

^{1/} SUT0403 และ SUT0411 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ Wilcox 321 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0401, SUT0404 และ SUT0407 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY88.0517.01 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0405 และ SUT0408 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY 65.0550.04 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0406, SUT0409, SUT0410 และ SUT0412 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY65.0551.05 เป็นพันธุ์พ่อ

^{2/} เกณฑ์การประเมินโรคสแคบ ตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-3 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 2 = 4-12 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 3 = 13-25% ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 4 = 26-50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค และคะแนน 5 = > 50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค

ตารางภาคผนวกที่ 72 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F₁ จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ ปี พ.ศ. 2550 ครั้งที่ 2

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
1	Wilcox 321	1 ^{2/}	1	1	1	1	1.00
2	NY88.0517.01	1	1	1	1	1	1.00
3	NY88.0507.01	1	2	2	1	1	1.40
4	NY65.0550.04	1	1	1	1	1	1.00
5	Illinois 547-1	1	1	1	1	1	1.00
6	NY65.0551.05	4	5	5	4	5	4.60
7	Black Queen	5	4	5	5	3	4.40
8	Carolina Black Rose	5	4	4	4	4	4.20
9	Early Muscat	3	3	4	4	4	3.60
10	Italia	4	5	5	4	5	4.60
11	SUT0401.08 ^{1/}	4	5	3	5	5	4.40
12	SUT0401.15	5	4	4	5	4	4.40
13	SUT0401.19	5	3	2	2	2	2.80
14	SUT0403.09	2	2	2	3	4	2.60
15	SUT0404.11	3	3	3	4	2	3.00
16	SUT0404.15	3	3	4	5	3	3.60
17	SUT0404.40	1	1	1	1	1	1.00
18	SUT0405.02	4	4	3	4	4	3.80
19	SUT0406.01	2	5	5	4	5	4.20
20	SUT0406.20	5	3	5	5	5	4.60
21	SUT0406.21	5	5	4	5	5	4.80
22	SUT0406.27	2	2	5	5	2	3.20
23	SUT0407.06	2	1	4	2	1	2.00
24	SUT0408.02	5	3	3	1	1	2.60
25	SUT0409.03	3	5	4	3	5	4.00

ตารางภาคผนวกที่ 72 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F₁ จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ปี พ.ศ. 2550 ครั้งที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
26	SUT0410.08	4	5	5	4	2	4.00
27	SUT0410.24	3	5	5	4	2	3.80
28	SUT0410.31	3	5	4	3	4	3.80
29	SUT0410.47	4	5	5	5	3	4.40
30	SUT0411.28	5	4	4	5	4	4.40
31	SUT0409.04	5	4	5	3	3	4.00
32	SUT0412.01	4	4	2	5	5	4.00
33	SUT0412.05	4	3	3	3	3	3.20
34	SUT0412.15	5	5	5	5	3	4.60

^{1/} SUT0403 และ SUT0411 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ Wilcox 321 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0401, SUT0404 และ SUT0407 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY88.0517.01 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0405 และ SUT0408 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY 65.0550.04 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0406, SUT0409, SUT0410 และ SUT0412 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY65.0551.05 เป็นพันธุ์พ่อ

^{2/} เกณฑ์การประเมินโรคสแคบ ตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-3 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 2 = 4-12 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 3 = 13-25% ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 4 = 26-50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค และคะแนน 5 = > 50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค

ตารางภาคผนวกที่ 73 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F₁ จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ ปี พ.ศ. 2551 ครั้งที่ 1

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
1	Wilcox 321	1 ^{2/}	1	1	-	-	1.00
2	NY88.0517.01	1	1	1	1	1	1.00
3	NY88.0507.01	3	1	1	1	1	1.40
4	NY65.0550.04	1	1	1	-	-	1.00
5	Illinois 547-1	1	2	1	1	-	1.25
6	NY65.0551.05	4	5	4	-	-	4.33
7	Black Queen	5	4	5	5	5	4.80
8	Carolina Black Rose	4	5	5	4	5	4.60
9	Early Muscat	3	1	1	4	-	2.25
10	Italia	5	3	4	5	-	4.25
11	SUT0401.08 ^{1/}	3	2	3	3	5	3.20
12	SUT0401.15	4	4	4	5	4	4.20
13	SUT0401.19	2	2	1	3	-	2.00
14	SUT0403.09	1	1	1	2	1	1.20
15	SUT0404.11	2	4	2	1	2	2.20
16	SUT0404.15	-	2	2	2	2	2.00
17	SUT0404.40	1	1	1	1	1	1.00
18	SUT0405.02	1	2	1	2	-	1.50
19	SUT0406.01	4	5	4	4	5	4.40
20	SUT0406.20	4	3	4	3	-	3.50
21	SUT0406.21	4	4	4	4	-	4.00
22	SUT0406.27	2	4	3	2	4	3.00
23	SUT0407.06	3	4	4	-	-	3.67
24	SUT0408.02	1	1	3	5	-	2.50
25	SUT0409.03	5	5	3	5	4	4.40

ตารางภาคผนวกที่ 73 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F₁ จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ปี พ.ศ. 2551 ครั้งที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
26	SUT0409.04	3	5	3	2	5	3.60
27	SUT0410.08	5	4	4	3	5	4.20
28	SUT0410.24	3	2	4	4	5	3.60
29	SUT0410.31	5	1	3	5	-	3.50
30	SUT0410.47	4	4	5	2	-	3.75
31	SUT0411.28	3	4	4	5	3	3.80
32	SUT0412.01	5	4	5	5	2	4.20
33	SUT0412.05	3	4	4	2	5	3.60
34	SUT0412.15	3	5	5	4	1	3.60

^{1/} SUT0403 และ SUT0411 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ Wilcox 321 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0401, SUT0404 และ SUT0407 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY88.0517.01 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0405 และ SUT0408 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY 65.0550.04 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0406, SUT0409, SUT0410 และ SUT0412 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY65.0551.05 เป็นพันธุ์พ่อ

^{2/} เกณฑ์การประเมินโรคสแคบ ตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-3 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 2 = 4-12 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 3 = 13-25% ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 4 = 26-50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค และคะแนน 5 = > 50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค

ตารางภาคผนวกที่ 74 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F₁ จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ ปี พ.ศ. 2551 ครั้งที่ 2

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
1	Wilcox 321	1 ^{2/}	1	1	-	-	1.00
2	NY88.0517.01	1	1	1	1	-	1.00
3	NY88.0507.01	3	1	1	1	1	1.40
4	NY65.0550.04	1	1	1	-	-	1.00
5	Illinois 547-1	1	1	1	1	-	1.00
6	NY65.0551.05	5	5	5	-	-	5.00
7	Black Queen	5	4	5	5	5	4.80
8	Carolina Black Rose	5	5	4	5	4	4.60
9	Early Muscat	5	4	5	4	-	4.50
10	Italia	5	5	5	-	-	5.00
11	SUT0401.08 ^{1/}	2	2	4	5	3	3.20
12	SUT0401.15	4	4	2	5	3	3.60
13	SUT0401.19	1	3	1	2	-	1.75
14	SUT0403.09	1	1	1	1	-	1.00
15	SUT0404.11	2	1	1	1	-	1.25
16	SUT0404.15	3	1	1	1	-	1.50
17	SUT0404.40	1	1	1	1	1	1.00
18	SUT0405.02	1	1	1	1	2	1.20
19	SUT0406.01	4	5	3	5	-	4.25
20	SUT0406.20	4	5	5	3	-	4.25
21	SUT0406.21	4	4	3	4	-	3.75
22	SUT0406.27	2	3	3	5	-	3.25
23	SUT0407.06	3	1	4	-	-	2.67
24	SUT0408.02	5	5	4	5	-	4.75
25	SUT0409.03	4	5	5	5	-	4.75

ตารางภาคผนวกที่ 74 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F₁ จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ ปี พ.ศ. 2551 ครั้งที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
26	SUT0409.04	5	5	3	5	-	4.50
27	SUT0410.08	5	3	5	3	-	4.00
28	SUT0410.24	5	4	5	5	5	4.80
29	SUT0410.31	5	4	4	5	-	4.50
30	SUT0410.47	5	5	5	4	-	4.75
31	SUT0411.28	5	5	3	5	5	4.60
32	SUT0412.01	5	5	4	5	4	4.60
33	SUT0412.05	5	5	5	5	5	5.00
34	SUT0412.15	5	3	5	5	-	4.50

^{1/} SUT0403 และ SUT0411 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ Wilcox 321 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0401, SUT0404 และ SUT0407 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY88.0517.01 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0405 และ SUT0408 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY 65.0550.04 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0406, SUT0409, SUT0410 และ SUT0412 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY65.0551.05 เป็นพันธุ์พ่อ

^{2/} เกณฑ์การประเมินโรคสแคบ ตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-3 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 2 = 4-12 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 3 = 13-25% ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 4 = 26-50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค และคะแนน 5 = > 50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค

ตารางภาคผนวกที่ 75 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F₁ จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ ปี พ.ศ. 2552 ครั้งที่ 1

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
1	Wilcox 321	1 ^{2/}	1	1	-	-	1.00
2	NY88.0517.01	1	1	1	1	1	1.00
3	NY88.0507.01	1	1	1	1	1	1.00
4	NY65.0550.04	1	1	1	-	-	1.00
5	Illinois 547-1	1	1	1	1	1	1.00
6	NY65.0551.05	4	3	4	5	-	4.00
7	Black Queen	5	4	5	5	5	4.80
8	Carolina Black Rose	4	5	3	5	4	4.20
9	Early Muscat	4	3	3	-	-	3.33
10	Italia	4	5	5	-	-	4.67
11	SUT0401.08 ^{1/}	5	5	5	5	4	4.80
12	SUT0401.15	5	3	5	4	5	4.40
13	SUT0401.19	5	4	4	5	-	4.50
14	SUT0403.09	1	1	2	1	1	1.20
15	SUT0404.11	2	1	3	3	2	2.20
16	SUT0404.15	3	3	2	3	4	3.00
17	SUT0404.40	1	1	1	1	1	1.00
18	SUT0405.02	4	2	3	4	5	3.60
19	SUT0406.01	3	3	4	-	-	3.33
20	SUT0406.20	5	4	5	4	-	4.50
21	SUT0406.21	3	5	3	5	-	4.00
22	SUT0406.27	4	4	3	5	-	4.00
23	SUT0407.06	5	3	4	-	-	4.00
24	SUT0408.02	2	3	1	-	-	2.00
25	SUT0409.03	5	5	5	-	-	5.00

ตารางภาคผนวกที่ 75 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F_1 จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ปี พ.ศ. 2552 ครั้งที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
26	SUT0409.04	2	4	4	3	-	3.25
27	SUT0410.08	2	4	3	5	2	3.20
28	SUT0410.24	4	5	2	-	-	3.67
29	SUT0410.31	3	5	5	-	-	4.33
30	SUT0410.47	4	3	4	-	-	3.67
31	SUT0411.28	3	5	5	5	4	4.40
32	SUT0412.01	4	3	2	3	-	3.00
33	SUT0412.05	5	3	4	4	5	4.20
34	SUT0412.15	5	5	2	2	-	3.50

^{1/} SUT0403 และ SUT0411 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ Wilcox 321 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0401, SUT0404 และ SUT0407 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY88.0517.01 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0405 และ SUT0408 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY 65.0550.04 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0406, SUT0409, SUT0410 และ SUT0412 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY65.0551.05 เป็นพันธุ์พ่อ

^{2/} เกณฑ์การประเมินโรคสแคบ ตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-3 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 2 = 4-12 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 3 = 13-25% ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 4 = 26-50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค และคะแนน 5 = > 50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค

ตารางภาคผนวกที่ 76 คะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่น จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และองุ่น
ลูกผสม F₁ จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ ปี พ.ศ. 2552 ครั้งที่ 2

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
1	Wilcox 321	1 ^{2/}	1	1	-	-	1.00
2	NY88.0517.01	1	1	1	1	1	1.00
3	NY88.0507.01	2	3	4	3	-	3.00
4	NY65.0550.04	2	1	1	1	-	1.25
5	Illinois 547-1	1	1	1	-	-	1.00
6	NY65.0551.05	5	4	4	-	-	4.33
7	Black Queen	5	5	5	5	5	5.00
8	Carolina Black Rose	5	5	5	4	5	4.80
9	Early Muscat	4	5	4	-	-	4.33
10	Italia	4	5	5	-	-	4.67
11	SUT0401.08 ^{1/}	4	3	3	4	5	3.80
12	SUT0401.15	5	4	5	2	4	4.00
13	SUT0401.19	5	5	4	5	-	4.75
14	SUT0403.09	1	1	3	2	-	1.75
15	SUT0404.11	1	1	1	2	2	1.40
16	SUT0404.15	3	3	5	5	3	3.80
17	SUT0404.40	1	1	1	1	1	1.00
18	SUT0405.02	5	5	5	5	4	4.80
19	SUT0406.01	5	5	4	-	-	4.67
20	SUT0406.20	3	4	5	4	-	4.00
21	SUT0406.21	5	4	4	-	-	4.33
22	SUT0406.27	5	4	5	4	-	4.50
23	SUT0407.06	5	5	4	-	-	4.67
24	SUT0408.02	4	4	4	-	-	4.00
25	SUT0409.03	5	4	4	-	-	4.33

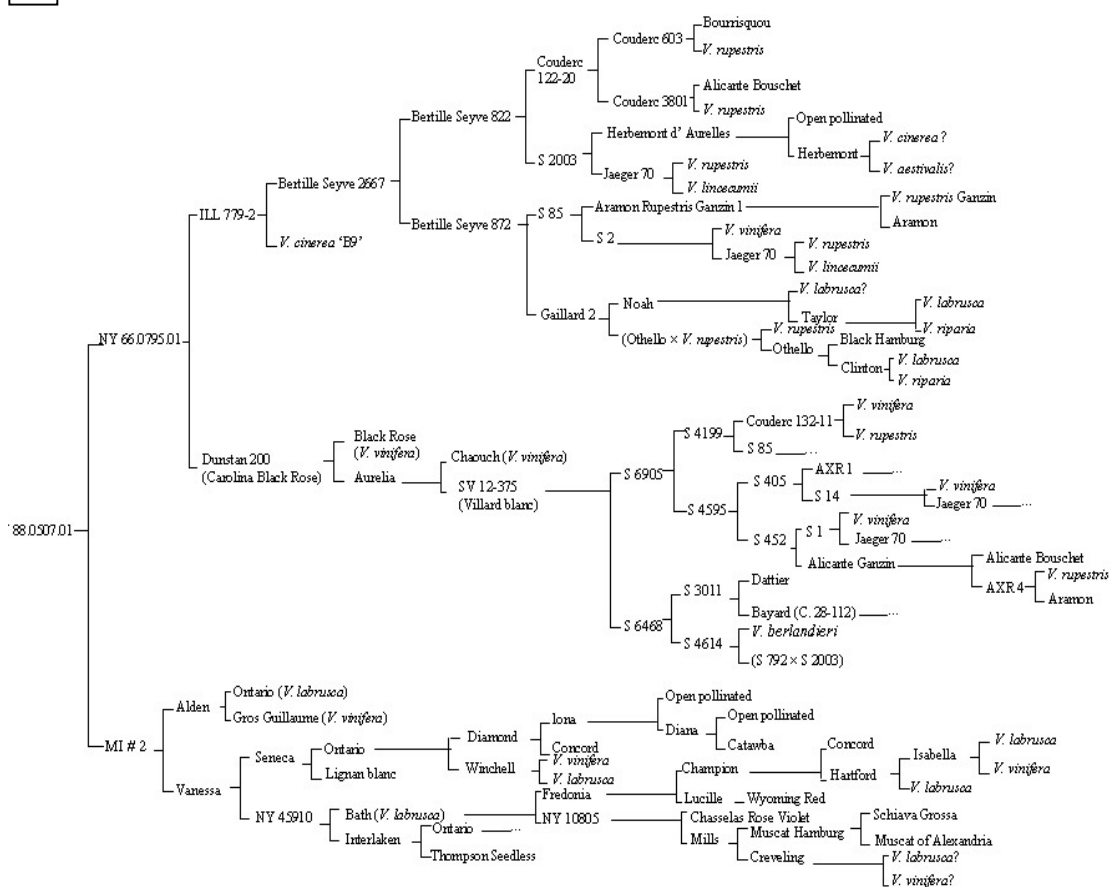
ตารางภาคผนวกที่ 76 คะแนนการเกิดโรคสแคบในอ่อน จำนวน 10 พันธุ์/สายพันธุ์ และอ่อน
ลูกผสม F_1 จำนวน 24 ลูกผสม ในสภาพไร่ปี พ.ศ. 2552 ครั้งที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนซ้ำ					ค่าเฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
26	SUT0409.04	4	5	5	4	-	4.50
27	SUT0410.08	5	4	5	-	-	4.67
28	SUT0410.24	5	5	5	5	-	5.00
29	SUT0410.31	5	5	5	-	-	5.00
30	SUT0410.47	5	5	5	-	-	5.00
31	SUT0411.28	5	5	5	5	4	4.80
32	SUT0412.01	5	5	5	4	5	4.80
33	SUT0412.05	5	5	5	5	-	5.00
34	SUT0412.15	4	5	5	5	-	4.75

^{1/} SUT0403 และ SUT0411 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ Wilcox 321 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0401, SUT0404 และ SUT0407 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY88.0517.01 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0405 และ SUT0408 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY 65.0550.04 เป็นพันธุ์พ่อ SUT0406, SUT0409, SUT0410 และ SUT0412 = ลูกผสมที่มีสายพันธุ์ NY65.0551.05 เป็นพันธุ์พ่อ

^{2/} เกณฑ์การประเมินโรคสแคบ ตั้งแต่ 1-5 คะแนน โดยคะแนน 1 = 0-3 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 2 = 4-12 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 3 = 13-25% ของพื้นที่ใบเป็นโรค คะแนน 4 = 26-50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค และคะแนน 5 = > 50 % ของพื้นที่ใบเป็นโรค

ก



ภาพภาคผนวกที่ 1 ประวัติสายพันธุ์องุ่นด้านทานโรคจากโครงการปรับปรุงพันธุ์องุ่นของมหาวิทยาลัย Cornell (ต่อ)

ก : Wilcox 321

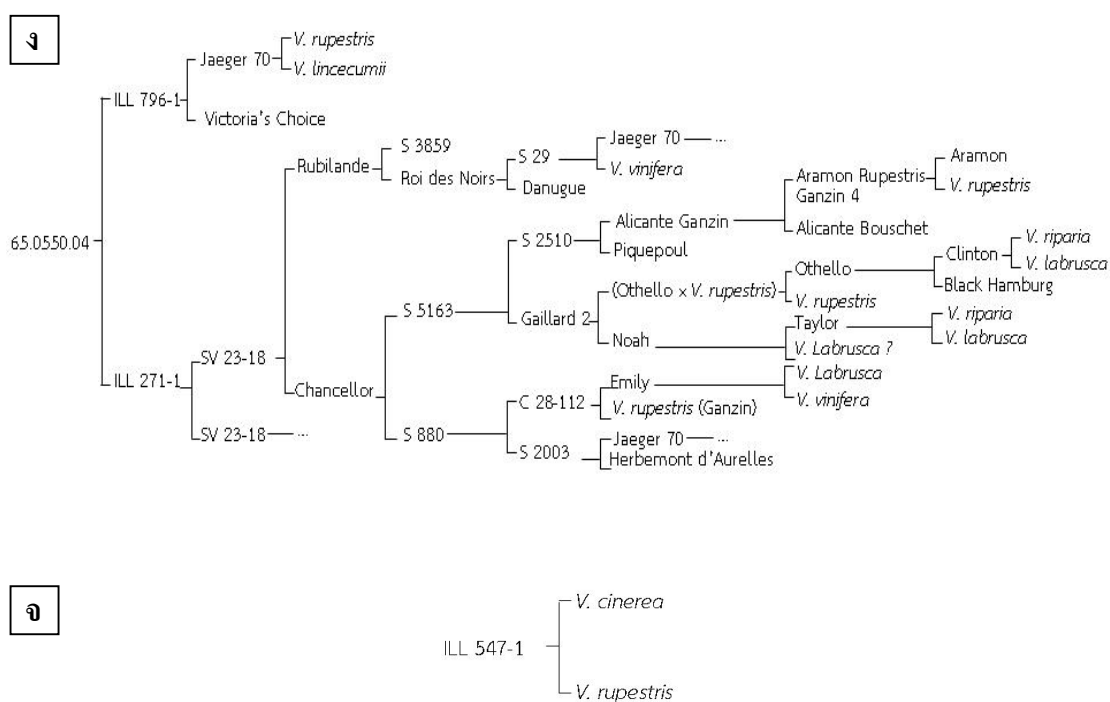
ข : NY 88.0517.01

ค : NY 88.0507.01

ง : NY 65.0550.04

จ : Illinois 547-1

ฉ : NY 65.0551.05

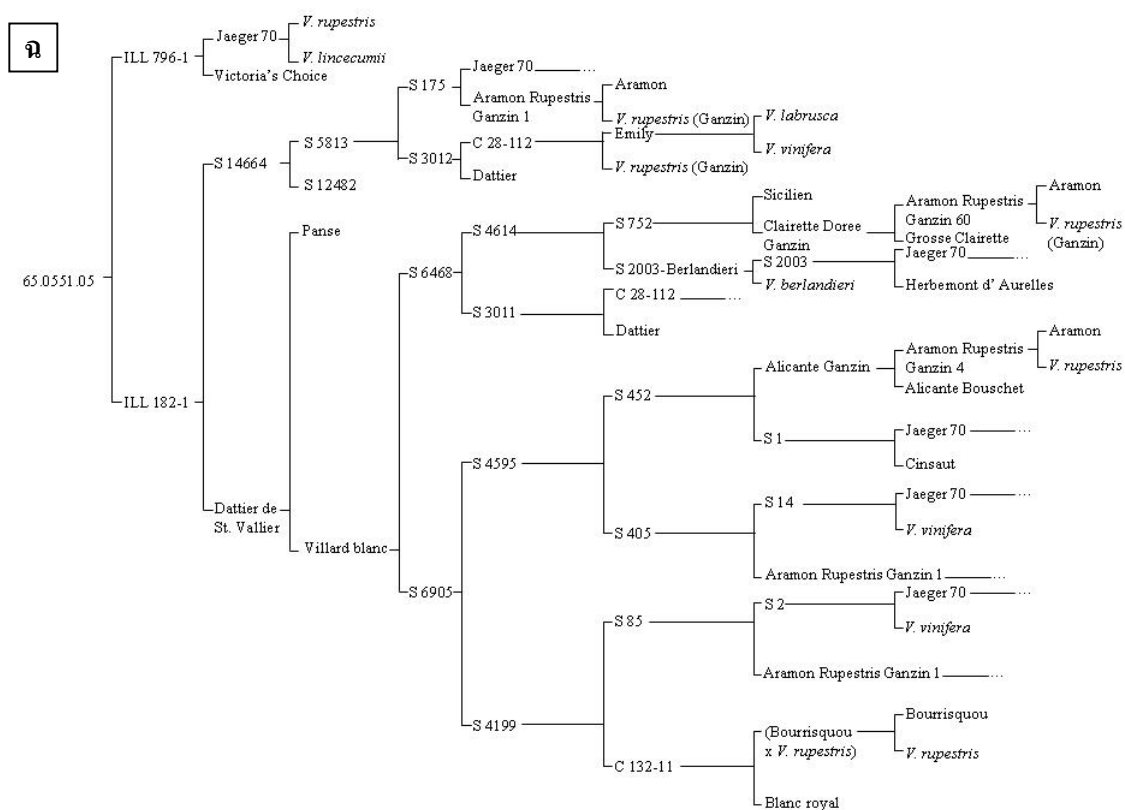


ภาพภาคผนวกที่ 1 ประวัติสายพันธุ์องุ่นด้านทานโรคจากโครงการปรับปรุงพันธุ์องุ่นของมหาวิทยาลัย Cornell (ต่อ)

ก : Wilcox 321 ข : NY 88.0517.01

ค : NY 88.0507.01 ง : NY 65.0550.04

จ : Illinois 547-1 ฉ : NY 65.0551.05

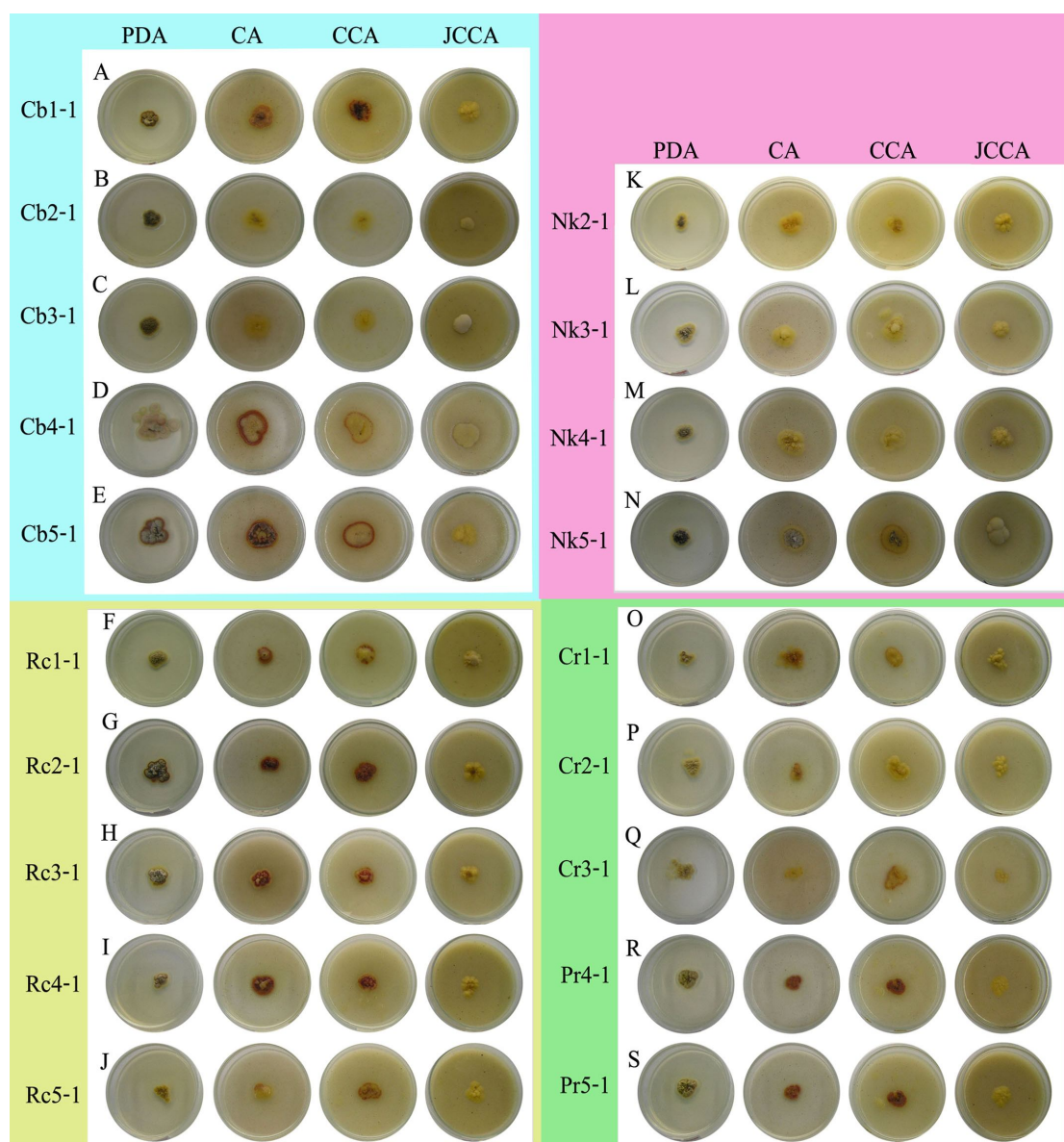


ภาพภาคผนวกที่ 1 ประวัติสายพันธุ์องุ่นด้านทานโรคจากโครงการปรับปรุงพันธุ์องุ่นของมหาวิทยาลัย Cornell (ต่อ)

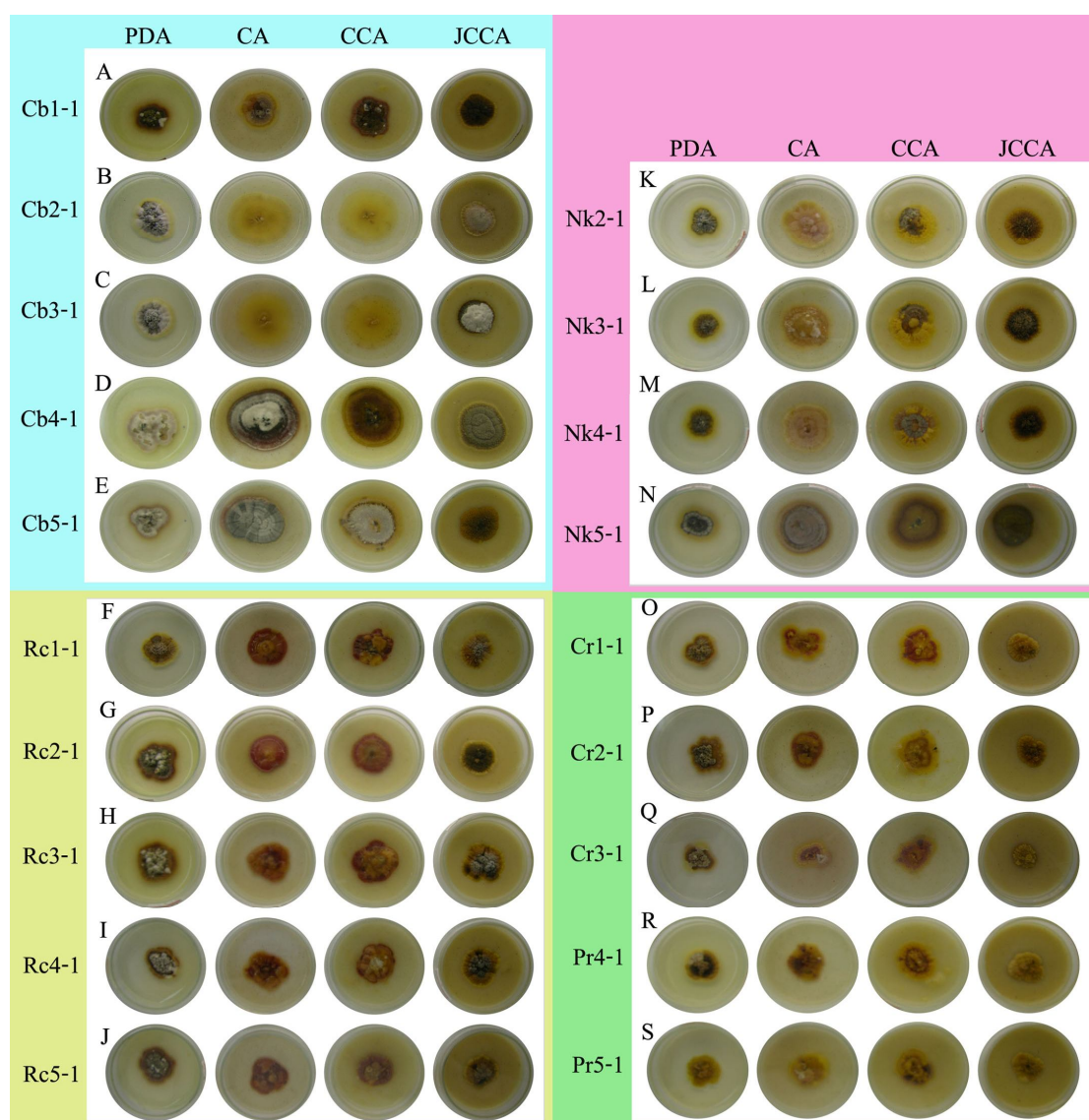
ก : Wilcox 321 ข : NY 88.0517.01

ค : NY 88.0507.01 ง : NY 65.0550.04

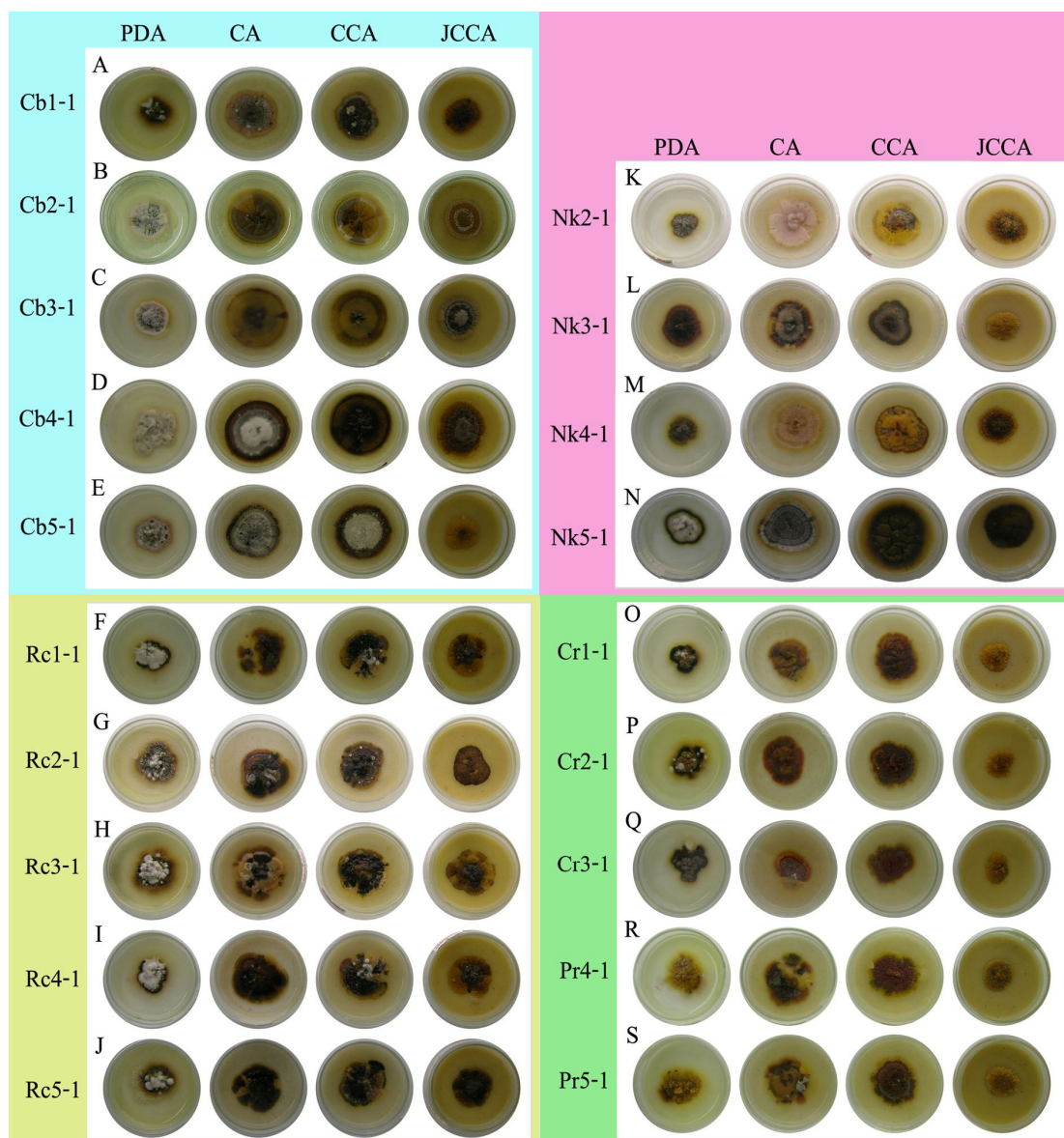
จ : Illinois 547-1 ฉ : NY 65.0551.05



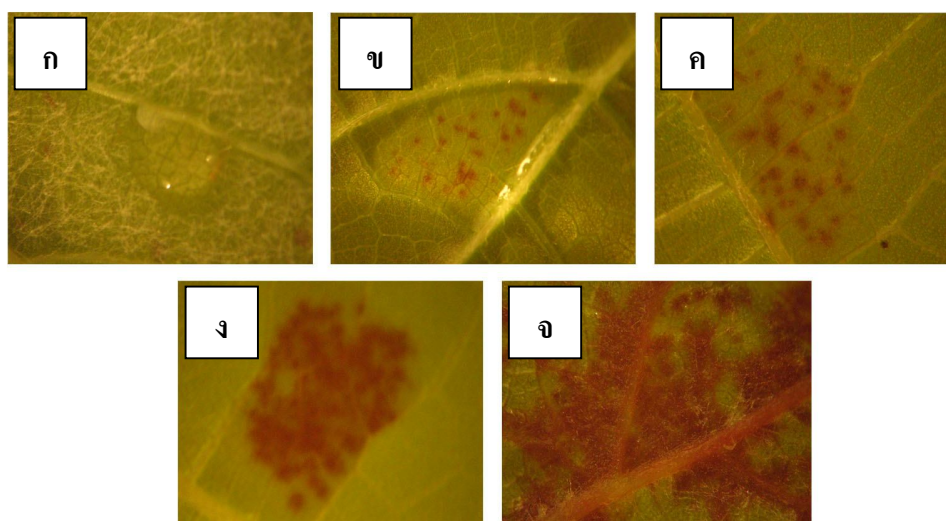
ภาพภาคผนวกที่ 2 ลักษณะสีโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* อายุ 2 สัปดาห์ จำนวน 19 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด



ภาพภาคผนวกที่ 3 ลักษณะสีโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* อายุ 5 สัปดาห์ จำนวน 19 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด



ภาพภาคผนวกที่ 4 ลักษณะสีโคโลนีของเชื้อ *S. ampelinum* อายุ 8 สัปดาห์ จำนวน 19 ไอโซเลต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด



ภาพภาคผนวกที่ 5 เกณฑ์การให้คะแนนการเกิดโรคสแคบในสภาพห้องปฏิบัติการ ตั้งแต่ 1-5
คะแนน

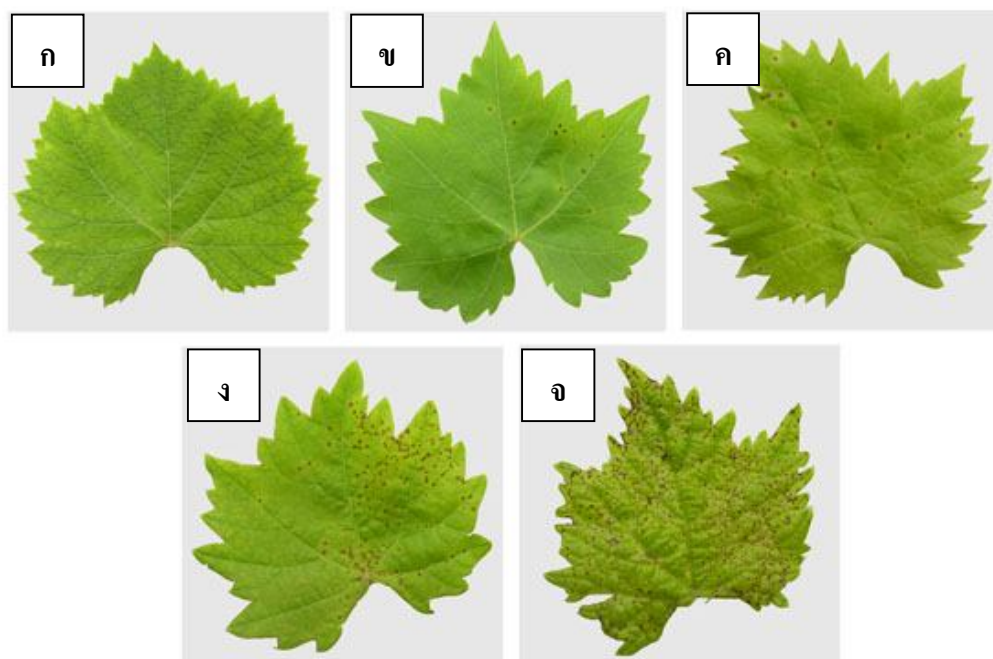
ก : คะแนน 1 = 0-6 แผล

ข : คะแนน 2 = 7-25 แผล

ค : คะแนน 3 = 26-50 แผล

ง : คะแนน 4 = 51-100 แผล

จ : คะแนน 5 = > 100 แผล



ภาพภาคผนวกที่ 6 เกณฑ์การประเมินโรคสแคบในสภาพไร่ ตั้งแต่ 1-5 คะแนน

ก : คะแนน 1 = 0-3% ของพื้นที่ใบเป็นโรค

ข : คะแนน 2 = 4-12% ของพื้นที่ใบเป็นโรค

ค : คะแนน 3 = 13-25% ของพื้นที่ใบเป็นโรค

ง : คะแนน 4 = 26-50% ของพื้นที่ใบเป็นโรค

จ : คะแนน 5 = > 50% ของพื้นที่ใบเป็นโรค

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอ้อยทิพย์ พูลสวัสดิ์ เกิดเมื่อวันที่ 10 ตุลาคม 2524 ที่ตำบลองครักษ์ อำเภองครักษ์ จังหวัดนครนายก สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนคริสตสงเคราะห์ และมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนองครักษ์ จังหวัดนครนายก และได้เข้าศึกษาในระดับปริญญาตรี ปีการศึกษา 2544 สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา และได้สำเร็จการศึกษาในภาคการศึกษาที่ 2 ปีการศึกษา 2547 และศึกษาต่อในระดับปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งในขณะที่ศึกษาได้รับทุนเรียนดีจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และทุนการศึกษาในโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาอีกส่วนหนึ่งจากศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม นอกจากนี้ ยังได้รับทุนการวิจัย ที่เมืองตูลูส ประเทศฝรั่งเศส ภายใต้โครงการ SUT-ENSAT (INP-Toulouse) Joint M.Sc and Ph.D Programs in Agricultural Sciences ระหว่างวันที่ 12 พฤษภาคม-11 กันยายน 2549 เป็นเวลา 4 เดือน