Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

การประเมินพริกพันธุ์ปรับปรุง (*Capsicum annuum* L.) ที่ได้รับยีนต้านทานโรคแอนแทรกโนสจากพริกพันธุ์ PBC80 และ PBC932 ต้านทานต่อเชื้อ *Colletotrichum acutatum*

Evaluation of chili pepper progressive lines (*Capsicum annuum* L.) derived anthracnose resistant genes from PBC80 and PBC932 varieties resistance to *Colletotrichum acutatum*

หทัยภัทร อินทร์ประเสริฐ[1], พัชราภรณ์ สุวอ[1]*, สุชีลา เตชะวงค์เสถียร[2,3], นครินทร์ จี้อาทิตย์[4], อรวรรณ ชัชวาลการพาณิชย์[5], น้ำทิพย์ พิรณฤทธิ์[5] และ สมศักดิ์ ครามโชติ[1]

Hataipat Inprasert[1], Patcharaporn Suwor[1]*, Suchila Techawongstien[2,3], Nakarin Jeeatid[4], Orawan Chatchawankanphanich[5], Namthip Phironrit[5] and Somsak Kramchote[1]

[1] *ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขต ลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520*
[1] *Department of Plant Production Technology, School of Agriculture Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520, Thailand*
[2] *ศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 4002*
[2] *Plant Breeding Research Center for Sustainable, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand*
[3] *สาขาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002*
[3] *Horticulture section, Faculty of Agriculture Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002, Thailand*
[4] *ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200*
[4] *Department of Plant and soil Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand*
[5] *ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ จ.ปทุมธานี 12120*
[5] *National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), Nation Science and Technology Development Agency (NSTDA), Pathum Thani, 12120, Thailand*

บทคัดย่อ: โรคแอนแทรกโนสส่งผลให้พริกเกิดอาการผลเน่าเสียทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินพันธุ์พริกต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสในพริกพันธุ์ที่ผ่านการปรับปรุงพันธุ์ (progressive line) ที่ได้รับยีนจากแหล่งเชื้อพันธุกรรมต้านทาน 2 แหล่งคือ PBC80 และ PBC932 เปรียบเทียบกับพันธุ์การค้า และพันธุ์อ่อนแอ จำนวน 21 สายพันธุ์ ในระยะผลเขียว ผลสุกห่าม และผลแดง ด้วยเชื้อแอนแทรกโนส *C. acutatum* (Ca_KK) โดยวิธีการปลูกเชื้อแบบพ่นสปอร์เชื้อแขวนลอย (spore suspension) ลงบนต้นพริกที่อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ต้น ประเมินการเกิดโรคที่ 14 วันหลังปลูกเชื้อ และนำค่าคะแนนการเกิดโรคมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค (DI) สำหรับการตรวจสอบยีนต้านทานโรคโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR-HpmsE032 และ SCAR-Indel ผลการทดลองพบว่าพริก 21 สายพันธุ์มีการตอบสนองต่อเชื้อ Ca_KK ในระยะผลเขียว ผลสุกห่าม และผลแดง แตกต่างกันในทางสถิติ โดยพบจำนวนพันธุ์ต้านทานในระยะผลเขียว จำนวน 5 สายพันธุ์ คือ ANT4 ANT6 ANT9 ANT17 และ ANT18 และระยะผลแดงจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ ANT4 และ ANT12 ในขณะที่ระยะผลสุกห่ามไม่พบพันธุ์ที่ต้านทาน และเมื่อศึกษาสหสัมพันธ์ของการเกิดโรคแอนแทรกโนสในระยะสุกแก่ของผลพริก 3 ระยะคือ ระยะผลเขียว ผลห่าม และระยะผลแดงพบว่ามีความสัมพันธ์กับในทางบวกแต่มีค่าต่ำอยู่ระหว่าง 0.41-0.56 การตรวจสอบยีนต้านทานพบพริกจำนวน 2 สายพันธุ์คือ ANT4 ANT17 ที่แสดงยีนต้านทานโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR-HpmsE032 และ พริกจำนวน 3 สายพันธุ์คือ ANT1 ANT9 และ ANT10 ที่แสดงยีนต้านทานด้วย เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SCAR-Indel และเครื่องหมายโมเลกุลมีประสิทธิภาพในการคัดเลือกอยู่ระหว่างร้อยละ 71.42-90.47

คำสำคัญ: เชื้อรา; *Capsicum baccatum*; *C. chinense*; การปรับปรุงพันธุ์; เครื่องหมายโมเลกุล

* Corresponding author: patcharaporn.su@kmitl.ac.th

Received: date; August 16, 2021 Accepted: date; January 5, 2022 Published: date; June 30, 2022

ABSTRACT: Chili anthracnose disease caused chili fruit rot both preharvest and postharvest. Therefore, this study aimed to evaluate resistance of chili pepper to anthracnose disease in the 21 chili progressive lines derived from PBC80 and PBC932 compared with commercial variety and susceptible check. Three chili fruit stages (green breaking and ripe) were inculcated *C. accutatum* (Ca_KK) isolate with a spore suspension of anthracnose to chili plant at 75 days after transplant by sprayed on hold plant inoculation. The experiments were designed by randomized complete block design (RCBD) with three replications and three plants per each. The disease was evaluated at 14 days after inoculation, and the disease was calculated to a percentage of disease index (DI%). For the genotypic data, two DNA markers SSR-HpmsE032 and SCAR-Indel, were used. All chili genotypes showed significantly different responses to Ca_KK in three fruit stages (green breaking and ripe). Five progressive lines (ANT4, ANT6, ANT9, ANT17, and ANT18) showed resistance in the green fruit stage, two lines (ANT 4 ANT 12) were resistant in the ripe fruit stage, while all lines showed susceptibility in the breaking fruit stage. The correlation of resistance to anthracnose among three different fruit mutuality stages, i.e., green, breaking, and ripe fruit stages were found ranging from 0.41-0.56%. For the genotypic evaluation, SSR-HpmE032 detected the resistant gene in two chilli progressive lines (ANT 4 ANT 17), while SCAR-Indel was detected in three progressive lines (ANT1 ANT9 and ANT10). Both markers were associated for selection with *C. accutatum* (Ca_KK) ranging percentage of 71.42-90.47.
Keywords: fungi; *Capsicum baccatum*; *C. chinense*; breeding; molecular marker

บทนำ

การผลิตพริกในเขตสภาพภูมิอากาศร้อนชื้นมักประสบปัญหาการเข้าทำลายของโรคและแมลง โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส โรคแอนแทรกโนสเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา ซึ่งสามารถทำความเสียหายให้แก่พืชเศรษฐกิจได้หลายชนิด เช่นพริก เป็นต้น โดยเชื้อสามารถเข้าทำลายพริกได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า ระยะผลพริกก่อนการเก็บเกี่ยวและหลังการเก็บเกี่ยว โรคดังกล่าวพบการระบาดและสร้างความเสียหายอย่างรุนแรงในพื้นที่การผลิตพริกเขตร้อนและเขตร้อนชื้น เช่น สหรัฐอเมริกา (Harp et al., 2008; Lewis et al., 2004) และเอเชีย (Park, 2007) โรคแอนแทรกโนสมีสาเหตุมาจากเชื้อราในจีนัส *Colletotrichum* sp. โดยเชื้อสปีชีส์ที่แพร่ระบาดอย่างรุนแรงในการผลิตพริกของประเทศไทย คือ *C. acutatum* และ *C. capsici* และในปัจจุบันได้มีการจำแนกเชื้อใหม่ขึ้นมาชื่อ *C. truncatum* และ *C. scoville* (Damm et al., 2012) ซึ่งใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลำดับโมเลกุล และการวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอในการคัดแยกเชื้อ (Than et al., 2008) เมื่อพริกถูกเชื้อราสาเหตุเข้าทำลายอาการของโรคที่พบ คือ ในระยะต้นพริกจะเกิดอาการจุดสีดำบนใบ ก้าน และโรคจะแสดงอาการอย่างรุนแรงในระยะผลคือผลพริกจะมีจุดด่างสีดำ เนื้อเยื่อเน่าและแผลฉ่ำน้ำเป็นรอยบุ๋ม แผลมีลักษณะเป็นวงแหวนอาการของโรคจะเห็นชัดเจนในระยะที่ผลเริ่มสุก โดยลักษณะการเกิดโรคที่ฉ่ำน้ำ อาจเป็นสาเหตุทำให้ผลพริกมีความชื้นและอาจส่งผลให้ชักนำให้เกิดอะฟลาท็อกซินในผลพริกแห้งได้ (Than et al., 2008) โดยจากการรายงานที่ผ่านมาพบว่าโรคแอนแทรกโนสทำความเสียหายให้แก่ผลผลิตมากถึง 80% การป้องกันกำจัดโรคดังกล่าวมักใช้สารเคมีซึ่งไม่ปลอดภัยกับผู้ผลิต ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามการใช้พันธุ์ต้านทานโรคเป็นวิธีที่สามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน การประเมินและคัดเลือกสายพันธุ์พริกที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสได้ถูกระบุครั้งแรกโดย Worldveg ถูกค้นพบในพริกของกลุ่ม *C. baccatum* พันธุ์ “PBC80, PBC81 , PI594137, PI497985-1 และ PI260550” และ พริกในกลุ่ม *C. chinense* คือพริกพันธุ์ “PBC932” และยังมีรายงานระบุยีนที่ควบคุมความต้านทานนั้นยังขึ้นอยู่กับระยะการสุกแก่ของผล และเทคนิควิธีการปลูกเชื้อ (Lin et al., 2005; Suwor et al., 2017) โดยสายพันธุ์ที่กล่าวมานั้นพบกลไกความต้านทานที่ทำงานแตกต่างกันนอกจากนี้ยังค้นพบว่าระยะการสุกแก่ของผลพริกมีผลต่อความต้านทานต่อโรคสาเหตุ และยีนต้านทานถูกควบคุมด้วยยีนหลายตำแหน่ง (polygenic gene) วางอยู่คนละตำแหน่งและแสดงลักษณะความต้านทานที่แตกต่างกัน โดยความต้านทานในระยะผลเขียวถูกควบคุมด้วยยีนด้อยและระยะผลแดงถูกควบคุมด้วยยีนเด่น นอกจากนี้ Mahasuk et al. (2009), Kim et al. (2008) ได้ศึกษาการแสดงออกยีนต้านทานในพริกพันธุ์ PBC932 พบว่ามีการแสดงออกยีนในลักษณะ ยีนด้อย 1 ตำแหน่ง แต่ Park et al. (1990) กลับพบการแสดงออกของยีนเป็นแบบ ยีนเด่น 1 ตำแหน่ง ปัจจุบันมีรายงานพันธุ์ต้านทานในพริกกลุ่ม *C. annuum* (‘Daepoong-cho’ PBC398 และ PBC758) ที่ได้รับการถ่ายยีนความต้านทานมาจากพริกพันธุ์ต้าน PBC80 และ PBC932 สามารถต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสได้ (Kim et al., 2008) นอกจากนี้การใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการแทนการคัดเลือกแบบมาตรฐานยังช่วยเพิ่มความแม่นยำและ ประสิทธิภาพในการคัดเลือกลักษณะที่

ต้องการโดยเฉพาะลักษณะที่คัดเลือกได้ยาก (อรรัตน์, 2548) เพราะการเกิดโรคแอนแทรกโนสต้องอาศัยหลายปัจจัย พบว่า Voorrips et al. (2004) วิเคราะห์ quantitative trait loci (QTL) เพื่อระบุตำแหน่งของยีนต้านทานโรคแอนแทรกโนส โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด amplified fragment length polymorphism (AFLP) ในประชากร F_2 [Jatilaba (*C. annuum*) x PRI95030 *(C. chinense*)] ในพริกระยะผลแดง พบ 1 major และ 3 minor QTLs ที่สัมพันธ์กับความต้านทานโรคและสามารถอธิบายความแปรปรวนของ การเกิดโรคได้ 40 เปอร์เซ็นต์ การใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด AFLP และ SSR (simple sequence repeat) วิเคราะห์ QTL ในประชากร BC_1F_2 [SP26 (*C. annuum*) × (SP26 × PBC81 (*C. baccatum*)] ในระยะผลเขียวและผลแดง พบหลายตำแหน่งที่สัมพันธ์กับการต้านทานโรคแอนแทรกโนส (Lee et al., 2010) ในการประเมินประชากรลูกผสมที่ได้รับยีนต้านทานต่อเชื้อแอนแทรกโนสต่างแหล่งพันธุกรรมใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR-HpmsE032, SSR-HpmsE143 และ SCAR-Indel ทดสอบในพริกที่ได้รับพันธุกรรมความต้านทานจากพริกพันธุ์ PBC80 และ PBC932 สามารถให้แถบ DNA ที่สามารถแยกความแตกต่างของพันธุ์ต้านทานกับพันธุ์อ่อนแอได้อย่างชัดเจน (Suwor et al., 2015) อย่างไรก็ตามการปรับปรุงพันธุ์พริกต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสในประเทศได้ยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควรเนื่องจากในสภาพธรรมชาติเชื้อมีหลายสปีชีส์ และพันธุ์พริกที่พัฒนายังพบ มีการกระจายตัวในลักษณะทางการเกษตรและความต้านทานต่อโรคจึงไม่สามารถนำไปใช้เป็นพันธุ์พ่อแม่เพื่อผลิตพริกในเชิงการค้าได้ ดังนั้นงานทดลองนี้จึงนำพันธุ์พริกที่ผ่านการปรับปรุงพันธุ์จากพริก PBC80 (*C. baccatum*) และพริก PBC932 (*C. chinense*) มาประเมินและคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส (phenotype) และประเมินการแสดงออกของยีน (genotype) เพื่อใช้เป็นพันธุ์พ่อแม่ในการผลิตลูกผสมในการทางค้าต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมสายพันธุ์พริก

นำเชื้อพันธุกรรมพริกสายพันธุ์ที่ได้รับยีนต้านทานโรคแอนแทรกจากพันธุ์ PBC 932 จำนวน 12 สายพันธุ์ เชื้อพันธุกรรมที่ได้รับยีนต้านทานจาก PBC80 จำนวน 5 สายพันธุ์ และพันธุ์การค้าที่ไม่มีรายงานความต้านทานจำนวน 3 สายพันธุ์ มาทดสอบเปรียบเทียบกับพันธุ์อ่อนแอทดสอบคือ พริกมันบางช้าง รวมทั้งหมด 21 สายพันธุ์ **Table 1** วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) ปลูกสายพันธุ์ละ 9 ต้น แบ่งเป็น 3 ซ้ำ รวมเป็น 180 ต้น เริ่มจากเพาะต้นกล้าพริกในวัสดุเพาะกล้าพีทมอสในถาดเพาะขนาด 60 หลุม เป็นระยะเวลานาน 1 เดือน แล้วย้ายต้นกล้าปลูกในกระถางขนาด 10 นิ้ว ในวัสดุปลูกผสม ดิน:ขุยมะพร้าว:ขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1:1 และทุกกระถางมีการดูแลรักษาดังนี้ ใส่ปุ๋ยรองพื้น 16-16-16 อัตรา 5 กรัม/กระถางร่วมกับปุ๋ยคอกอัตรา 10 กรัม/กระถางให้น้ำช่วงเช้าวันละ 1 ครั้ง และให้ปุ๋ยสูตร 15-0-0 ร่วมกับปุ๋ย 18-46-0 ในช่วงระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น ส่วนในระยะออกดอก และติดผลให้ปุ๋ยสูตร 15-0-0 ร่วมกับปุ๋ย 18-46-0 และ 0-0-60 อัตรา 10 กรัม /กระถาง ในโรงเรือนคลุมหลังคาพลาสติกและป้องกันแมลงด้วยผ้ามุ้งขนาด 32 ตา เมื่อต้นพริกอายุ 75 วัน (มีผลเขียวต่อผลแดงอัตราส่วน 1:1) จึงนำต้นพริกมาปลูกเชื้อ

Table 1 Twenty-one chili genotypes used for screening resistance to anthracnose (*Colletotrichum acutatum*) disease

No.	Code screening	Code	Pedigree Name	resistant source	Source
1	ANT1	KM-14-7-1	R1-2	PBC932	Worldveg.
2	ANT2	KM-07-12-1	28-7-5-1-1	PBC932	KKU
3	ANT3	KM-17-3-2	28-2-4-2-1	PBC932	KKU
4	ANT4	KM-06-2-1	R2-1-1	PBC80	KKU
5	ANT5	KM-02-14-2	14-9-2-2-1	PBC932	KKU
6	ANT6	KM-13-3-1	28-7-3-1-1-1	PBC932	KKU
7	ANT7	KM-02-14-1	14-9-2-2-1	PBC932	KKU
8	ANT8	KM-13-3-2	28-7-3-1-1-1	PBC932	KKU
9	ANT9	KM-01-10-2	28-2-2-1-1	PBC932	KKU
10	ANT10	KM-01-9-1	28-2-2-1-1	PBC932	KKU
11	ANT11	KM-05-11-1	CWYS	-	KKU
12	ANT12	KM-18-5-1	28-2-2-3-1	PBC932	KKU
13	ANT13	KM-01-5-2	28-2-2-1-1	PBC932	KKU
14	ANT14	KM-18-5-1	28-2-2-3-1	PBC932	KKU
15	ANT15	KM-12-6-1	R2-7-1-1-1	PBC80	KKU
16	ANT16	KM-10-10-2	R2-1-1	PBC80	KKU
17	ANT17	KM-06-4-1	R2-1-1	PBC80	KKU
18	ANT18	KM-06-2-2		PBC80	KKU
19	pep14	PP04377506		-	Worldveg.
20	pep22	Yodson Khem80		-	KKU
21	-	-	Mun bangchang 365	-	TGRC

Remark: worldveg. = The World Vegetable Center, KKU = Khon Kaen University, TGRC = Tropical Genetic Research Center

การเตรียมเชื้อและสารแขวนลอยเชื้อ

นำเชื้อรา *Colletotrichum acutatum* ไอโซเลต Ca_KK (เป็นสายพันธุ์ที่ระบาดในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือและมีความรุนแรงในการเกิดโรค) ที่ได้รับการอนุเคราะห์จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ จัดเก็บในสภาพแห้งบนกระดาษกรองนำไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง potato dextrose agar (PDA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงจากหลอดไฟ fluorescent อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 7 วัน จนเชื้อราปรากฏจุดสีดำเล็ก ๆ (acervuli) ซึ่งภายในบรรจุสปอร์ของเชื้อรา เก็บเกี่ยวสปอร์โดยการเติมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อ นับจำนวนสปอร์ใน spore suspension ด้วย haemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ปรับความเข้มข้นของ spore suspension ให้ได้ประมาณ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จำนวน 20 ลิตร

วิธีการปลูกเชื้อและการประเมินผล

การปลูกเชื้อลงบนต้นพริกด้วยวิธีการพ่นสปอร์เชื้อแขวนลอย และการประเมินโรค

เตรียมต้นพริกระยะพร้อมทดสอบที่มีระยะผลเขียว ผลสุกห่าม และระยะผลแดง อายุ 75 วันหลังย้ายปลูก แล้วปลูกเชื้อ *Colletotrichum* sp. ลงบนต้นพริกโดยการพ่นสปอร์เชื้อแขวนลอย ความเข้มข้น10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตรต่อต้น

โดยใช้เครื่องพ่นสารทำการพ่นสปอร์เชื้อแขวนลอย ลงบนต้นพริกให้ทั่วทั้งต้น หลังจากพ่นสปอร์เชื้อแขวนลอย แล้วคลุมต้นพริกด้วยถุงดำเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ในสภาพโรงเรือนที่มีความชื้น 96% (วัดด้วยเครื่อง Hygrometer) มีการเปิดพ่นหมอกด้านบนทุก ๆ 1 ชั่วโมง และให้น้ำที่บริเวณพื้นให้ชุ่มตลอดเวลา จากนั้นนำถุงดำที่คลุมออก การประเมินอาการของโรคทำหลังจากพ่นสปอร์เชื้อแขวนลอยเป็นเวลา 14 วัน โดยประเมินจากจำนวนผลที่เกิดโรคแต่ละระยะ (ผลเขียว ผลสุกห่าม ผลแดง) ต่อจำนวนผลทั้งหมด ที่กำหนดความรุนแรง 3 ระดับ คือ ระดับ 0 ไม่เกิดแผลที่ผล ระดับ 1 เกิดจุดแผลขนาดเล็กกว่า 1 มิลลิเมตร 1-3 จุด และระดับ 2 เกิดจุดแผลที่ผลขนาดใหญ่กว่า 1 มิลลิเมตร จากนั้นนำค่าคะแนนการเกิดโรคมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค (disease index, %DI) **Table 2** โดยใช้สูตร $\%\text{Disease index} = \frac{\Sigma(Ni \times Vi)}{N \times V} \times 100$, เมื่อ Ni= จำนวนผลที่แสดงการเกิดโรคในแต่ละระดับ, Vi= ระดับการเกิดโรค, V= ระดับการเกิดโรคสูงสุด, N= จำนวนผลทั้งหมดที่นำมาทดสอบเพื่อนำไประบุลักษณะความต้านทานของพริกแต่ละสายพันธุ์ต่อเชื้อที่นำมาทดสอบ

Table 2 Anthracnose severities on chili fruits, symptom description, and disease response of chili pepper inoculated by spraying method

Disease index (%DI)	Symptoms description	Disease response
0	No infection	HR
0.1-5	1-5% of the fruit area shows necrotic lesion or a larger water-soaked lesion surrounding the infection site	R
5.1-15	>5-15% of the fruit area shows necrotic lesion, acervuli may be present, or water-soaked lesion up to 6% of the fruit surface	MR
15.1-25	>15-25% of the fruit area shows necrotic lesion, acervuli present, or water-soaked lesion up to 25% of the fruit surface	MS
25.1-50	>25-50%of the fruit area shows a necrotic lesion with acervuli	S
>50	>50 % of the fruit area shows necrosis, lesion often encircling the fruit; abundant acervuli	HS

adapted from Montri et al. (2009)

การสกัด DNA และการตรวจสอบยีนต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส

นำ DNA Primer ที่มีรายงานว่าสามารถแยกความแตกต่างของพริกพันธุ์ที่ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสจำนวน 2 primer คือ SSR-HpmsE032 และ SCAR-Indel มาใช้ร่วมคัดเลือกการตรวจยีนต้านทาน **Table 3** นำใบส่วนยอดของพริกจำนวน 2-3 ใบของพริกสายพันธุ์ทดสอบจำนวน 21 สายพันธุ์มาสกัดดีเอ็นเอด้วยเทคนิค CTAB method (Mongkolporn et al., 2004) นำดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) แต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วย 10x PCR buffer ปริมาตร 1 µl genomic DNA ปริมาตร 1 µl dNTP ปริมาตร 0.8 µl Primer forward และ reverse อย่างละ 0.3 µl dH_2O ปริมาตร 6.5 µl และ Taq DNA polymerase 1 unit ปริมาตร 1 µl นำ PCR product มาแยกขนาดของดีเอ็นเอโดยเทคนิค electrophoresis ด้วย 1.5 % agarose gel ใน 0.5 X TBE buffer ด้วยเครื่อง gel electrophoresis (BIO-RAD, DNA SUB CELL Tm และ BIO-RAD, PROTEIN ®II Xi CELL) กระแสไฟ 100 โวลต์ (BIO-RAD Modell 1000/500 power supply) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และถ่ายภาพภายใต้แสง

อัลตราไวโอเลตบันทึกภาพด้วยกล้อง รุ่น Alpha Imager 3300 system และบันทึกผลตามขนาดของดีเอ็นเอที่ปรากฏ นำแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในพริกแต่ละสายพันธุ์หาความสัมพันธ์กับการเกิดโรคแอนแทรกโนส (Validation) คือ SSR-HpmsE032 ที่ตำแหน่ง 231 bp เป็นตำแหน่งต้านทาน และ 240 bp เป็นตำแหน่งอ่อนแอ และใน SCAR-Indel ที่ตำแหน่ง 100 bp และ 90 bp เป็นตำแหน่งต้านทานและอ่อนแอตามลำดับ **Table 3**

Table 3 Targeted resistant genes, linked molecular marker sequences used in marker-assisted selection

Marker	Position	Product size and sources	Primer sequence	Reference
SSR-HpmsE032	LG12	231 bp (R); 240 bp (S) (PBC80)	F:ATGCGCAAAGGGAGAAAATTCA R:CGAACTAACCGTTCATGGTGGA	Wang (2011), Suwor et al. (2015)
SCAR-Indel	P5	100 bp (R); 90 bp (S) (PBC932)	F:GGTATCTTATTTCATAGGGACCAGGCA R:TTTGCGGTAGTGACAACAACTTTACAGCCA	Lee et al. (2010), Suwor et al. (2015)

Remark: R = resistant position, S = susceptible position

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของการตอบสนองของพริก 21 สายพันธุ์ต่อเชื้อ *Colletotrichum acutatum* ไอโซเลต Ca_KK ในระยะ ผลเขียว ผลสุกห่าม และผลแดง พบว่าพริกมีการตอบสนองต่อเชื้อแตกต่างกัน โดยพริกในระยะผลเขียวมีการตอบสนองต่อการเกิดโรค 5 ระดับ คือ 1) ระดับต้านทาน (R) จำนวน 1 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 1.2 % คือ พันธุ์ ANT4 2) ระดับต้านทานปานกลาง (MR) จำนวน 4 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 4.88-5.72 % คือ พันธุ์ ANT6 ANT9 ANT17 และ ANT18 3) ระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) 7 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 8.14-22.82 % คือ พันธุ์ ANT1, ANT5, ANT8, ANT10, ANT 11, ANT12 และ ANT16 4) ระดับอ่อนแอ (S) 4 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 18.74-21.81 % คือ พันธุ์ ANT7, ANT13, ANT14 และ pep22 5) ระดับอ่อนแอมาก (HS) 5 สายพันธุ์มีการดัชนีการเกิดโรค 27.71-59.75 % คือ พันธุ์ ANT2, ANT3, ANT15, pep14 และมันบางช้าง **Table 4** พริกในระยะผลสุกห่ามมีการตอบสนองต่อการเกิดโรค 3 ระดับ คือ 1) ระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) 1 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 6.56 % คือ พันธุ์ ANT4 2) ระดับอ่อนแอ (S) 1 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 24.26% คือ พันธุ์ pep22 3) ระดับอ่อนแอมาก (HS) 19 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 32.1-99.32 % คือ พันธุ์ ANT1, ANT2, ANT3, ANT5, ANT6, ANT7, ANT8, ANT9, ANT10, ANT11, ANT12, ANT13, ANT14, ANT15, ANT16, ANT17, ANT18, pep14 และมันบางช้าง **Table 4** พริกในระยะผลแดงมีการตอบสนองต่อการเกิดโรค 5 ระดับ คือ 1) ระดับต้านทานมาก (HR) 1 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 0.5 % คือ พันธุ์ ANT4 2) ระดับต้านทานปานกลาง (MR) 1 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 4.48 % คือ พันธุ์ ANT12 3) ระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) 8 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 5.53-14.35 % คือ พันธุ์ ANT3, ANT6, ANT7, ANT9, ANT10, ANT11, ANT13 และ ANT18 4) ระดับอ่อนแอ (S) 3 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 15.18-21.95 % คือ พันธุ์ ANT1, ANT5 และ ANT17 5) ระดับอ่อนแอมาก (HS) 8 สายพันธุ์มีดัชนีการเกิดโรค 26.1-92.83 % คือ พันธุ์ ANT2, ANT8, ANT14, ANT15, ANT16, pep14, pep22 และมันบางช้าง **Table 4** จากการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยที่ได้นั้นแสดงให้เห็นภาพรวมการตอบสนองต่อโรคของพริกทั้ง 3 ระยะคือ ระยะผลเขียวและระยะผลแดงมีระดับการเกิดโรคที่ระดับอ่อนแอ และระยะผลสุกห่ามมีระดับการเกิดโรคที่ระดับอ่อนแอมาก

Table 4 Anthracnose disease response of 21 chili seedlings in green fruit stage breaking fruit stage and ripe fruit stage inoculation by spray method

No.	Code screening	Percent of disease index (DI %)					
		Green	DR	Breaking	DR	Ripe	DR
1	ANT1	20.4^{b-e}	MS	80.57^{a-c}	HS	21.95^{c-h}	S
2	ANT2	34.61^{ab}	HS	91.73^{a}	HS	34.65^{c}	HS
3	ANT3	27.71^{b-d}	HS	86.41^{a}	HS	8.6^{f-i}	MS
4	ANT4	1.22^{e}	R	6.56^{g}	MS	0.5^{i}	HR
5	ANT5	22.82^{b-e}	MS	65.77^{a-d}	HS	16.31^{c-i}	S
6	ANT6	5.72^{de}	MR	36.11^{d-g}	HS	13.5^{d-i}	MS
7	ANT7	19.36^{b-e}	S	76.52^{a-c}	HS	14.35^{d-i}	MS
8	ANT8	8.27^{de}	MS	66.39^{a-d}	HS	26.1^{c-g}	HS
9	ANT9	5.23^{de}	MR	33.45^{e-g}	HS	8.01^{g-i}	MS
10	ANT10	8.14^{de}	MS	34.53^{e-g}	HS	9.67^{e-i}	MS
11	ANT11	10.09^{c-e}	MS	55.59^{a-e}	HS	7.17^{g-i}	MS
12	ANT12	12.2^{b-e}	MS	56.74^{a-e}	HS	4.48^{hi}	MR
13	ANT13	21.55^{b-e}	S	45.05^{c-f}	HS	5.53^{hi}	MS
14	ANT14	18.74^{b-e}	S	53.15^{b-f}	HS	29.49^{c-e}	HS
15	ANT15	32.98^{a-c}	HS	50.75^{c-f}	HS	30.9^{cd}	HS
16	ANT16	13.79^{b-e}	MS	72.74^{a-c}	HS	30.25^{c-e}	HS
17	ANT17	4.88^{de}	MR	32.1^{e-g}	HS	15.18^{d-i}	S
18	ANT18	5.61^{de}	MR	37.28^{c-f}	HS	11.52^{e-i}	MS
19	pep14	59.75^{a}	HS	99.32^{a}	HS	92.83^{a}	HS
20	pep22	21.81^{b-e}	S	24.26^{fg}	S	27.19^{c-f}	HS
21	Mun bangchang	58.71^{a}	HS	83.33^{ab}	HS	66.46^{b}	HS
mean		19.69		56.59		22.60	

Remark: DR = Disease responses, HR = highly resistant R = resistant, MR = moderate resistant, MS = moderate susceptible, S = susceptible, HS = highly susceptible

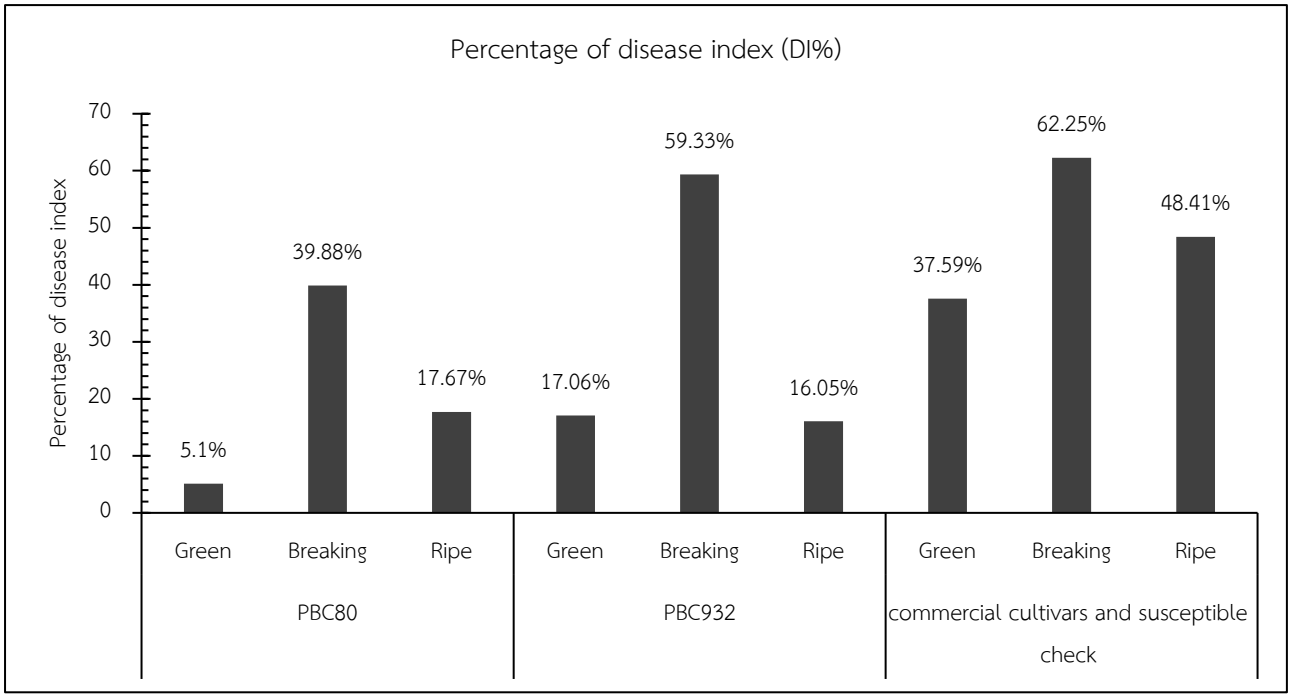

Figure 1 Percentage of disease responses of three groups of chili progressive lines derived from PBC80, PBC932, and commercial cultivars and susceptible check at the green, breaking, and ripe fruit stages inoculation by spray method

การศึกษาการแสดงออกของยีนต้านทานพบว่าพริก progressive line ที่พัฒนามาจากพริก PBC80 แสดงความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสในระยะผลเขียว และผลห่ามได้มากกว่า progressive line ที่พัฒนามาจากพริก PBC932 และพันธุ์การค้า อย่างไรก็ตามยังพบว่าพริก progressive line ที่พัฒนามาจากพริก PBC932 แสดงความต้านในระยะผลแดงมากกว่า progressive line จาก PBC80 โดยพริกในกลุ่ม progressive line จากพริก PBC80 แสดงค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคแอนแทรกโนสในระยะผลเขียว และผลห่าม 5.1 และ 39.88 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่พริกกลุ่มที่พัฒนาจาก PBC932 แสดงดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ย 17.67 และ 59.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามในพริกกลุ่มพันธุ์การค้าพบค่าเฉลี่ยการเกิดโรคสูงกว่าพริกพันธุ์ progressive line ทั้งสองกลุ่ม ความต้านทานต่อเชื้อ Ca_KK ของพริกในระยะผลแดงพบว่า กลุ่มพริก progressive line จาก PBC932 แสดงค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคต่ำที่สุด คือ 16.05 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ progressive line จาก PBC80 แสดงค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคที่ 17.06 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่พันธุ์การค้าเกิดสูงที่สุดคือ 48.41 เปอร์เซ็นต์ **Figure 1**

จากการศึกษาค่าสหสัมพันธ์ของการตอบสนองต่อการเกิดโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum acutatum* ไอโซเลต Ca_KK ด้วยวิธีการปลูกเชื้อแบบพ่นสปอร์เชื้อแขวนลอยลงบนต้นพริกใน 3 ระยะ คือ ระยะผลเขียว (SG) ระยะผลสุกห่าม (SB) ระยะผลแดง (SR) ในพริกจำนวน 21 สายพันธุ์ พบว่าค่าสหสัมพันธ์ไปในทางบวก ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงค่าสหสัมพันธ์ ระหว่าง SG กับ SB SG กับ SR และ SB กับ SR เป็น 0.56 0.46 และ 0.41 ตามลำดับ **Table 5** ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mahasuk et al. (2013) ที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ความต้านทานของพริกพันธุ์ PBC80 PBC81 และ PBC932 ในระยะการสุกแก่ของผลที่ต่างกัน อย่างไรก็ตามค่าสหสัมพันธ์ของความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสในแต่ละระยะนั้นแสดงค่าต่ำเนื่องจากยีนที่ควบคุมความต้านทานต่อโรคนั้นอยู่คนละตำแหน่งจึงส่งให้เมื่อเกิดการเข้าคู่กันของยีนอย่างอิสระยีนจึงทำยีนกระจายตัวอย่างอิสระส่งผลให้ต้นพริกแสดงความต้านทานต่อโรคที่แตกต่างกัน (Lin et al., 2007; Kim et al., 2008a)

Table 5 Correlation of 21 chili progressive lines to *Colletotrichum acutatum* isolate Ca_KK at three fruit stages by hold plant sprayed inoculation method

Correlation	SG	SB
SB	0.56**	
SR	0.46**	0.41**

Remark; SG = green fruit stage, SB = breaking fruit stage and SR = ripe fruit stage

**, highly significant difference

การศึกษาการแสดงออกของยีนต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้ยีนต้านทานจำนวน 2 primers คือ SSR-HpmsE032 และ SCAR-Indel ผลการทดลองพบว่า primer ชนิด SSR-HpmsE032 สามารถแยกความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอได้ 2 ขนาดคือ 231 bp (resistant band) และ 240 bp (susceptible band) จากพริกจำนวน 21 สายพันธุ์พบ resistant band จำนวน 2 สายพันธุ์คือ ANT4 และ ANT17 ซึ่งเป็น progressive line ที่พัฒนามาจาก PBC80 เนื่องจากเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่พัฒนามาจากพริก PBC81 ที่อยู่ในพริก *Capsicum baccatum* สปีชีส์เดียวกันและอาจเป็นกลุ่มยีนต้านทานต่อแอนแทรกโนสเช่นเดียวกันกับ PBC80 นอกจากนั้นยังพบว่าพันธุ์พริกที่พบตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอที่ 231 bp สัมพันธ์กับความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum acutatum* ในระยะผลเขียว (Suwor et al., 2015) และยีนที่ต้านต่อโรคดังกล่าวนั้นแสดงออกแบบยีนด้อย (recessive gene) ในระยะผลเขียว (Mahasuk, 2009) เมื่อถ่ายทอดมาให้รุ่นลูกจึงส่งผลให้พริกแสดงความต้านทานได้ สำหรับเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SCAR-Indel สามารถแยกความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอได้ 2 ขนาด คือ 100 bp (resistant band) และ 90 bp (susceptible band) จากผลการทดลองพบในพริกที่แสดงแถบดีเอ็นเอ resistant band จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ ANT1 ANT9 และ ANT10 ซึ่งเป็นพันธุ์ progressive line ที่พัฒนาพันธุ์มาจากพริก PBC932 (Wang et al., 2010; Suwor et al., 2015) และยีนที่ตำแหน่งดังกล่าวมีรายงานว่าถูกควบคุมด้วยยีนด้อย (Suwor et al., 2015) พริกสายพันธุ์อื่น ๆ ที่เหลือรวมทั้งพริกพันธุ์อ่อนแอเปรียบเทียบ มันบางช้าง พบที่ตำแหน่ง susceptible band

อย่างไรก็ตามเมื่อนำข้อมูลการแสดงออกของยีนและความต้านทานต่อโรคมาศึกษาความสัมพันธ์พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR-HpmsE032 มีความสัมพันธ์กับความต้านทานต่อเชื้อ Ca_KK มากกว่าการใช้ SCAR-Indel ที่ระยะผลเขียว ผลห่ามและผลแดง ที่ร้อยละ 85.71 90.47 และ 90.47 ตามลำดับ ในขณะที่ SCAR-Indel แสดงความสัมพันธ์ระยะผลเขียว ผลห่ามและผลแดงร้อยละ 71.42 85.71 และ 76.20 ตามลำดับ **Table 6** ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวจะพบว่าเครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR-HpmsE032 มีความสัมพันธ์ต่อความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสมากกว่า SCAR-Indel (Mahasuk et al., 2009)

Table 6 Reproducibility of markers and their validation with phenotypic data of anthracnose resistance

No.	Code screening	Green	Breaking	Ripe	Genotype		validate					
					SSR-Hpms032	SCAR-Indel	SSR-Hpms032 Green	SCAR-Indel Green	SSR-Hpms032 Breaking	SCAR-Indel Breaking	SSR-Hpms032 Ripe	SCAR-Indel Ripe
1	ANT1	MS	HS	S	-	+	+	-	+	-	+	-
2	ANT2	HS	HS	HS	-	-	+	+	+	+	+	+
3	ANT3	HS	HS	MS	-	-	+	+	+	+	+	+
4	ANT4	R	MS	HR	+	-	+	-	-	+	+	-
5	ANT5	MS	HS	S	-	-	+	+	+	+	+	+
6	ANT6	MR	HS	MS	-	-	-	-	+	+	+	+
7	ANT7	S	HS	MS	-	-	+	+	+	+	+	+
8	ANT8	MS	HS	HS	-	-	+	+	+	+	+	+
9	ANT9	MR	HS	MS	-	+	-	+	+	-	+	-
10	ANT10	MS	HS	MS	-	+	+	-	+	-	+	-
11	ANT11	MS	HS	MS	-	-	+	+	+	+	+	+
12	ANT12	MS	HS	MR	-	-	+	+	+	+	-	-
13	ANT13	S	HS	MS	-	-	+	+	+	+	+	+
14	ANT14	S	HS	HS	-	-	+	+	+	+	+	+
15	ANT15	HS	HS	HS	-	-	+	+	+	+	+	+
16	ANT16	MS	HS	HS	-	-	+	+	+	+	+	+
17	ANT17	MR	HS	S	+	-	+	-	-	+	-	+
18	ANT18	MR	HS	MS	-	-	-	-	+	+	+	+
19	pep14	HS	HS	HS	-	-	+	+	+	+	+	+
20	pep22	S	S	HS	-	-	+	+	+	+	+	+
21	พริกมันบางช้าง	HS	HS	HS	-	-	+	+	+	+	+	+
mean							85.71%	71.42%	90.47%	85.71%	90.47	76.20%

1/ Anthracnose resistance and presence (+) or absence (–) was determined by molecular markers SSR (PBC80) and SCAR (PBC932)

2/ was determined to validate (+), non-validate (–) to anthracnose response, and marker

สรุป

พริก 21 สายพันธุ์แสดงความต้านทานต่อเชื้อ Ca_KK ด้วยวิธีการพ่นสปอร์เชื้อแขวนลอยลงบนต้นแตกต่างกัน พบพันธุ์ที่สามารถต้านทานได้ในระยะผลเขียวและผลแดง จำนวน 1 พันธุ์ คือ ANT4 และพบสายพันธุ์ที่ต้านทานในระยะผลเขียว จำนวน 5 คือ ANT4 ANT6 ANT9 ANT17 และ ANT18 และในระยะผลแดงจำนวน 2 สายพันธุ์คือ ANT4 และ ANT12 ส่วนใหญ่ progressive line ที่พัฒนาพันธุ์มาจากพริก PBC80 แสดงความต้านทานมากกว่า progressive line จาก PBC932 และในพริกระยะผลเขียวจะแสดงความต้านทานมากกว่าระยะผลแดง ในขณะที่พริกในระยะเริ่มเปลี่ยนสี หรือระยะผลห่ามแสดงความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสทุกสายพันธุ์ เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR-HpmsE032 แสดงความสัมพันธ์และประสิทธิภาพในการคัดเลือกความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสมากกว่า SCAR-Indel ดังนั้นพันธุ์พริกที่ต้านทาน ANT4 ที่ถูกพัฒนาพันธุ์มาจากพริก PBC80 และการใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR-HpmsE032 จะถูกนำมาใช้ในการสร้างลูกผสมพริกการค้าต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติที่ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องของเชื้อแอนแทรกโนส และขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เอื้อเฟื้อสถานที่เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

อรรัตน์ มงคลพร. 2548. เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช. จรัญสนิทวงศ์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

AVRDC. 1999. AVRDC Progress Report 1998. AVRDC-the World Vegetable Center. Shanhua. Taiwan.

Bailey, J. A., and M. J. Jeger. 1992. *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. Walling Ford. Commonwealth Mycological Institute.

Damm, U., P. F. Cannon, J. H. C. Woudenberg, P. R. Johnston, B. S. Weir, Y. P. Tan, R. G. Shivas, and P. W. Crous. 2012. The *Colletotrichum boninense* species complex. Studies in Mycology. 73: 1–36.

Harp, T. L., K. Pernezny, M. L. Lewis-Ivey, S. A. Miller, P. J. Kuhn, and L. Datnoff. 2008. The etiology of recent pepper anthracnose outbreaks in Florida. International Association for the Plant Protection Sciences. 27: 1380–1384.

Kim, S. H., J. B. Yoon, and H. G. Park. 2008. Inheritance of anthracnose resistance in a new genetic resource, *Capsicum baccatum* PI 594137. Journal of Crop Science and Biotechnology. 11: 13–16.

Kim, S. H., J. B. Yoon, J. W. Do, and H. G. Park. 2008. A major recessive gene associated with anthracnose resistance to *Colletotrichum capsici* in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). Breeding Science. 58: 137-141.

Ko, M. K., W. B. Jeon, K. S. Kim, H. H. Lee, H. H. Seo, Y. S. Kim, and B. J. Oh. 2005. A *Colletotrichum gloeosporioides* induced esterase gene of non climacteric pepper (*Capsicum annuum*) fruit during ripening plays a role in resistance against fungal infection. Plant Molecular Biology. 58: 529–541.

Lee, J., J. H. Hong, J. W. Do, and J. B. Yoon. 2010. Identification of QTLs for resistance to anthracnose to two Colletotrichum species in pepper. Journal of Crop Science and Biotechnology 13 (4): 227-233.

Lee, J., J. W. Do, and J. B. Yoon. 2011. Development of STS markers linked to the major QTLs for resistance to the pepper anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. capsici*. Horticulture Environment Biotechnology. 52: 596–601.

Lewis-Ivey, M. L., C. Nava-Diaz, and S. Miller. 2004. Identification and management of *Colletotrichum acutatum* on immature bell peppers. Plant Disease. 88: 1198–1204.

Mahasuk, P., J. Chinthaisong, and O. Mongkolporn. 2013. Differential resistances to anthracnose in *Capsicum baccatum* as responding to two *Colletotrichum* pathotypes and inoculation methods. Breeding Science. 63 (3): 333–338.

Mahasuk, P., P. W. J. Taylor, and O. Mongkolporn. 2009. Identification of two new genes Conferring resistance to *Colletotrichum acutatum* in *Capsicum baccatum.* Phytopathology. 99: 1100–1104.

Montri, P. P., P. W. J. Taylor, and O. Mongkolporn. 2009. Pathotypes of *Colletotrichum capsici* the causal agent of chili anthracnose in Thailand. Plant Disease. 93(1): 17–20.

Park, H. G., B. S. Kim, and W. S. Kim. 1990. Inheritance of resistance to anthracnose (*Colletotrichum* spp.) in pepper (*Capsicum annuum* L.). II. Genetics analysis of resistance to *Colletotrichum dematium.* Korean Journal of Horticultural Science and Technology. 31: 207-212.

Park, H. G. 2007. Problems of anthracnose in pepper and prospects for its management, pp.19. In The First International Symposium on Chili Anthracnose, Convention Center, Seoul National University, Korea.

Suwor, P., P. Thummabenjapone, J. Sanichon, S. Kumar, and S. Techawongstien. 2015. Phenotypic and genotypic responses of chili (*Capsicum annuum* L.) progressive lines with different resistant genes against anthracnose pathogen (*Colletotrichum* spp.). European Journal of Plant Pathology. 143: 725-736.

Suwor, P., J. Sanitchona, P. Thummabenjapone, S. Kumar, and S. Techawongstien. 2017. Inheritance analysis of anthracnose resistance and marker-assisted selection in introgression populations of chili (*Capsicum annuum* L.). Scientia Horticulturae. 220: 20-26.

Than, P. P., R. Jeewon, K. D. Hyde, S. Pongsupasamit, O. Mongkolporn, and P. W. J. Taylor. 2008. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. Journal of Plant Pathology. 57: 562–572.

Voorrips, R.E., R. Finkers, L. Sanjaya, and R. Groenworld. 2004. QTL mapping of anthracnose (Colletotrichum spp.) resistance in a cross between *Capsicum annuum* and *C. chinense*. Theoretical and Applied Genetics 109: 1275-1282.