บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นพืชที่จัดอยู่ในอันดับ(order) Polemoniales พืชในตระกูลนี้จำแนกเป็น75 สกุล (genera) และ 2,000 ชนิด (species) จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae มีแหล่งกำเนิดในทวีปอเมริกากลางบริเวณประเทศประเทศเม็กซิโกและเปรู หรือแถบลาตินอเมริกา และนำมาเผยแพร่ในทวีปยุโรปและเอเชียโดยชาวสเปนและชาวโปรตุเกต ซึ่งต่อมาได้กระจายไปทวีปแอฟริกาโดยชาวยุโรป (AVRDC, 1979) มะเขือเทศมีลักษณะใบเป็นแบบ alternate มีทั้งแบบใบธรรมดา ใบหยัก และใบกว้าง เส้นใบไม่ขนาน ดอกออกเป็นช่อ และเป็นดอกแบบสมบูรณ์เพศ ผลเป็นแบบ berry และ capsule การผสมเกสร ผสมตัวเองเป็นส่วนใหญ่ (มณีฉัตร, 2538) สำหรับมะเขือเทศมีจำนวนโครโมโซม 2n = 24 คู่ เป็นพืชผสมตัวเองตามธรรมชาติและมีการผสมข้าม 2-5 เปอร์เซนต์ (จานุลักษณ์ , 2541)

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะเขือเทศ มีดังนี้

1. ดอก มะเขือเทศมีดอกเป็นแบบสมบูรณ์เพศ ประกอบด้วยเกสรตัวเมียคือ รังไข่ (ovary) และก้านเกสรตัวเมีย (style) ส่วนเกสรตัวผู้ประกอบด้วยอับละอองเกสรตัวผู้ (anther) 5-6 อัน มีลักษณะเป็นแท่งเชื่อมติดกันเป็นรูปกรวย เรียกว่า anther cap หรือ anther cone ซึ่งอยู่ล้อมรอบส่วนของเกสรตัวเมีย กลีบดอกและกลีบเลี้ยงมี 5-7 กลีบ และมีสีเหลืองล้อมรอบส่วนของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย มะเขือเทศจะออกดอกเป็นช่อแบบ raceme ช่อดอกเจริญจากลำต้นบริเวณข้อ หรือระหว่างข้อ ช่อดอกมีดอกย่อย 4-50 ดอก (จานุลักษณ์, 2541) ดอกมีรังไข่อยู่เหนือส่วนอื่นของดอก (hypogenous) รังไข่เป็น แบบ superior (Bailey,1951)

2. ผล มะเขือเทศมีผลเป็นแบบ berry ประกอบด้วยช่องแบ่งภายในผล (locule) 2-25 ช่อง ปกติมักมี 2-9 ช่อง มีรูปร่างแตกต่างกัน ส่วนที่ใช้เป็นอาหารได้แก่ pericarp, placenta tissue และเมล็ด สีแดงของผลมะเขือเทศเกิดจากมี lycopene ซึ่งเป็น xantrophyll pigment ให้สีแดง และมี β-carotene ซึ่งเป็น carotenoid ให้ pigment ที่เป็นสีเหลือง (มณีฉัตร, 2538)

3. ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนก ที่มีใบย่อยตรงปลายใบเดียว (odd-pinnate) มีใบเล็กๆ เกิดระหว่างใบประกอบ ใบยาว 6-18 นิ้ว มีใบหลัก 5-9 ใบ ใบเป็นรูปไข่หรือรียาว ใบยาว 2-3 นิ้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปลายใบค่อยๆ เรียวลงทีละน้อยจนถึงปลายแหลมและขอบข้างเว้าเข้าจนถึงปลาย (accuminate) ขอบใบหยักไม่สม่ำเสมอ ขอบใบอ่อนถึงม้วนลง (Bailey, 1951)

4. ลำต้น ลำต้นมะเขือเทศ สูง 0.7-2 ม. ลำต้นแข็งตั้งตรงหรือแผ่ขยายราบไปกับพื้น มีรากแก้วแข็งแรง มักหักเสียหายตอนย้ายกล้าและเกิดระบบรากแขนงที่แข็งแรง ฐานของลำต้นเป็นแบบกิ่งเดียว (monopodial) มีขน ที่เป็นต่อมครึ่งวงกลมเล็กๆและขนรียาวแหลมเกิดบนลำต้นก้านใบและก้านผล มีต่อมกลิ่นรุนแรง

2.2 การจำแนกลักษณะการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

จานุลักษณ์ (2541) ได้จำแนกลักษณะการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ โดยแบ่งออกเป็น 3 ลักษณะ คือ

1. การเจริญแบบพุ่มหรือแบบไม่ทอดยอด (determinate type) ประกอบด้วยช่อดอกข้าง (axillary raceme) และช่อดอกปลายยอด (terminal raceme) การเจริญของช่อดอกสลับกับการเจริญเติบโตของทุกใบ หรือช่อดอกข้างจะออกดอกข้อเว้นข้อ แตกแขนงมาก และมีลำต้นเป็นพุ่มแน่น

2. การเจริญแบบเลื้อยหรือแบบทอดยอด (indeterminate type) ประกอบด้วยช่อดอกข้างเท่านั้น ส่วนปลายยอดยังเจริญทางกิ่งก้านและใบ มีการเจริญของช่อดอกสลับกับการเจริญของใบทุก 2-3 ใบ หรือมากกว่านี้ การเจริญเติบโตของดอกและติดผลช้า ทรงต้นโปร่งและไม่เป็นพุ่ม ลำต้นสูง 2-3 เมตร

3. การเจริญแบบกึ่งเลื้อย (semi-determinate type) มีการเจริญของช่อดอกสลับกับการเจริญของใบทุก 1-2 ใบ ลำต้นสูงกว่าการเจริญแบบพุ่ม ช่วงเวลาการเก็บเกี่ยวนานกว่าแบบพุ่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3 การปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศ

มะเขือเทศเป็นพืชที่ผสมตัวเองตามธรรมชาติและผสมข้ามได้บ้าง โดยแมลงหรือเกิดมีการกลายพันธุ์ได้โดยธรรมชาติ สำหรับการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศจะเหมือนกับพืชผสมตัวเองโดยทั่วไป ซึ่งจะเน้นไปที่การปรับปรุงสายพันธุ์แท้ (pure line) วิธีการในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน ได้แก่ การปรับปรุงพันธุ์แบบบันทึกประวัติ (pedigree method) เพื่อพัฒนาคุณภาพและผลผลิตของพันธุ์ให้เหมาะสมต่อความต้องการของ

ผู้บริโภค วิธีผสมกลับ (backcross method) นิยมใช้ในการผสมข้าม ชนิดของมะเขือเทศสายพันธุ์ป่ามายังมะเขือเทศสายพันธุ์ปลูก เพื่อถ่ายทอดยีนต้านทานโรค ต้านทานแมลง ต้านทานไส้เดือนฝอย และถ่ายทอดยีนกลายพันธุ์อื่นๆ ด้วย การคัดเลือกแบบเมล็ดเดี่ยว เหมาะสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ที่มีงบประมาณน้อยในการคัดเลือกสายพันธุ์ เป็นต้น (มณีฉัตร, 2538) ซึ่งนักปรับปรุงพันธุ์พืชอาจเลือกใช้วิธีการใดวิธีการหนึ่งที่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ที่ได้ตั้งไว้

การประยุกต์รูปแบบการปรับปรุงพันธุ์พืช จะผสมผสานวิธีการคัดเลือกและวิธีการปรับปรุงพันธุ์ต่างๆ เข้าด้วยกัน เพื่อให้เหมาะสมกับสภาพและสถานการณ์ของแต่ละโครงการ เนื่องจากไม่มีวิธีการใดวิธีการหนึ่งสามารถแก้ปัญหาทุกสถานการณ์ได้ (กฤษฎา, 2546) โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิธีบันทึกประวัติ มีการประยุกต์ใช้อย่างหลากหลาย เช่น วิธีการผสมผสานของการคัดเลือกสายพันธุ์และการคัดเลือกแบบเมล็ดเดี่ยว (pedigree method and single seed descent) วิธีการผสมผสานของการคัดเลือกสายพันธุ์และการผสมกลับ (pedigree method and backcross method) เป็นต้น ดังนั้น นักปรับปรุงพันธุ์ต้องทราบวัตถุประสงค์ในการปรับปรุงพันธุ์ที่แน่ชัดก่อน แล้วจึงเลือกวิธีการปรับปรุงพันธุ์ที่เหมาะสม เพื่อให้บรรลุถึงเป้าหมายที่วางไว้

จากที่กล่าวมาข้างต้น วิธีการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศมีอยู่หลายวิธี แต่ที่นิยมใช้กันอย่างมากเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคมีอยู่ 3 วิธี ดังนี้

1. การปรับปรุงพันธุ์แบบบันทึกประวัติ (pedigree method) เป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีการบันทึกประวัติอย่างมีขั้นตอน สามารถติดตามประวัติของพืชแต่ละสายพันธุ์ได้อย่างละเอียด แบ่งการคัดแยกออกเป็น 2 แบบ คือ การคัดแยกสายพันธุ์ (line selection) และการคัดแยกครอบครัว (family selection) เป็นวิธีการปรับปรุงพันธุ์ที่นิยมใช้ในมะเขือเทศมากที่สุด ข้อดี คือ ใช้ศึกษาความดีเด่น (heterosis) ใช้ฝึกความชำนาญในการคัดเลือก และใช้ในการศึกษาความสามารถในการถ่ายทอดยีน (genetic inheritance) ของลักษณะที่สำคัญๆ ข้อเสียของวิธีการนี้ คือ ใช้งบประมาณและแรงงานมาก ทำให้สามารถคัดเลือกคู่ผสมได้น้อยคู่ ตัวอย่าง สายพันธุ์มะเขือเทศที่ผ่านการคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ ได้แก่ พันธุ์ทนร้อน แอล22 และพันธุ์เอสวีอาร์ดีซี 4 (มณีฉัตร, 2538)

2. การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมกลับ (backcross method) เป็นวิธีการที่นิยมใช้ในพืชผสมตัวเอง เช่น มะเขือเทศ พริก มะเขือ มากกว่าพืชผสมข้าม การผสมกลับเป็นการถ่ายทอดยีนจากพืชชนิดหนึ่งไปยังพืชอีกชนิดหนึ่ง (gene introgression) ประกอบไปด้วย สายพันธุ์ผู้ให้ (donor parent) คือ สายพันธุ์ที่ให้ยีนบางส่วนไปยังสายพันธุ์ผู้รับ (recipient parent) หรือสายพันธุ์ผสมซ้ำ (recurrent parent) ลูกผสมที่เกิดขึ้น เรียกว่า ลูกผสมกลับ (backcross hybrid) ในการผสมกลับแต่ละครั้งพันธุกรรมของผู้ให้จะลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ขณะเดียวกันพันธุกรรมของผู้รับก็จะเพิ่มขึ้น 50 เปอร์เซ็นต์ (กฤษฎา, 2546)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีผสมผสานวิธีจดบันทึกประวัติร่วมกับการผสมกลับ (pedigree and backcross method) นิยมนำมาใช้กันมากในการถ่ายยีนต้านทานโรค ซึ่งนักปรับปรุงพันธุ์พืชจะต้องทราบถึงแหล่งที่มาของยีนต้านทาน ลักษณะยีนที่ควบคุมว่าเป็นยีนเด่นหรือยีนด้อย เพื่อกำหนดวิธีการในการคัดเลือกและผสมกลับ อย่างไรก็ตาม การผสมกลับจะให้ผลดีนั้น ควรกำหนดจำนวนครั้งในการผสมกลับที่มากพอเพื่อรักษาลักษณะของพันธุ์รับไว้ได้ การถ่ายยีนต้านทานโรคโดยทั่วไป วิธีผสมกลับ มักจะทำกัน 1-2 ครั้ง แล้วปล่อยให้ผสมตัวเอง เพื่อคงลักษณะความต้านทานโรคที่ได้รับมาไว้ให้อยู่ในระดับที่มากพอ จากนั้น ควรทำการคัดเลือกแบบจดบันทึกประวัติ เพื่อคัดลักษณะที่ต้องการ ตัวอย่างการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีแบบผสมผสานนี้ ได้แก่ สายพันธุ์ H24 ที่ได้รับการถ่ายทอดความต้านทานไวรัสใบหงิกจากมะเขือเทศพันธุ์ป่า *L. hirsutum* f. *glabatum* accession B6013 (Kalloo *et al*., 1990)

2.4 ความดีเด่นของลูกผสม (heterosis)

Heterosis คือ ความดีเด่นของลูกผสม เป็นปรากฏการณ์ที่ลูกผสมแสดงความดีเด่นและมีความสม่ำเสมอของลักษณะต่างๆ เช่น การเจริญเติบโต ความแข็งแรง ผลผลิต ความต้านทานต่อโรคและแมลง และอื่นๆ ดีเด่นมากกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อแม่ ซึ่งค่าความดีเด่นของลูกผสมนี้ มีความผกผันกับค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ นั่นคือ พ่อแม่ที่มีผลผลิตสูงทั้งคู่ มักให้ค่าความดีเด่นของลูกผสมต่ำ แต่ก็สามารถให้ลูกผสมที่มีผลผลิตสูงได้เช่นกัน กฤษฎา (2546) กล่าวว่า ความเหนือระดับของลูกผสมส่วนใหญ่ มาจากปฏิกิริยายีนข่มและส่วนน้อยมากมาจาก epistasis และ pleiotropism แต่เพราะว่าพืชที่มีผลกระทบในทางลบจากปฏิสัมพันธุ์ทั้ง 2 แบบ จะถูกคัดทิ้งไปโดยธรรมชาติ สรุปแล้ว ค่าความเหนือระดับหรือความดีเด่นของคู่ผสมเป็นผลมาจากผลบวกสะสม (cumulative effect) ของยีนข่มแต่ละตัวจากยีนแต่ละชุด ที่ต่างก็มีระดับการข่มไม่เท่ากัน Bruce (1910) เสนอทฤษฎียีนข่ม (dominance theory) โดยให้เหตุผลว่า ยีนแฝงเป็นยีนที่มีประสิทธิภาพต่ำ และถูกบดบังด้วยยีนข่ม ความเหนือระดับของลูกผสมจึงขึ้นอยู่กับจำนวนยีนข่มที่ไปบดบังยีนแฝงไว้ Fehr (1987) กล่าวว่า heterosis จะแสดงออกเมื่อพ่อแม่ของลูกผสมมีคู่ยีน (alleles) ที่ตำแหน่ง (locus) เดียวกันแตกต่างกันและมีการข่มกันขึ้นระหว่างยีนที่เป็นคู่กันที่ตำแหน่งเดียวกัน และมี 2 ทฤษฎีที่อธิบายเกี่ยวกับความดีเด่นของลูกผสม คือ ทฤษฎีการข่มเกิน (over dominance theory) และทฤษฎีการข่มปกติ (dominance theory) กล่าวว่า ทฤษฎีการข่มเกินเป็นปรากฏการณ์ที่ลูกผสมที่เป็นพันธุ์ทางมีลักษณะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ดีเด่นกว่าพันธุ์พ่อแม่ทั้งสอง เกิดการรวมตัวของยีนในสภาพที่เป็นพันธุ์ทาง ซึ่งกระตุ้นให้กิจกรรมทางสรีรวิทยาของพืชเพิ่มขึ้น แต่จะหมดไปเมื่อผสมตัวเองจนเป็นพันธุ์แท้ ส่วนทฤษฎีการข่มปกติ heterosis เป็นผลมาจากการข่มสมบูรณ์หรือไม่สมบูรณ์ ในพืชผสมข้ามนั้นยีนด้อยจะถูกข่มไว้ด้วยยีนเด่น เมื่อพืชผสมตัวเองทำให้มีโอกาสที่ยีนด้อยจับคู่กันเป็นพันธุ์แท้เกิดการเสื่อมถอยของลักษณะ เมื่อผสมข้ามกันอีกครั้งยีนด้อยจะถูกข่มไว้เกิด heterosis อีกครั้ง (กมล, 2536)

2.5 ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุ์กรรม (heritability)

ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุ์กรรม หมายถึงอัตราส่วนอันเนื่องจากพันธุกรรมและความแปรปรวนทั้งหมดของลักษณะที่ศึกษาในประชากรของพืชที่ศึกษา อัตราทางพันธุกรรมเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมจากรุ่นพ่อแม่ไปสู่รุ่นลูกหลาน แบ่งออกเป็น 2 แบบ ความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบกว้าง (broad sense heritability) และความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบแคบ (narrow sense heritability)

ความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบกว้าง หมายถึงอัตราส่วนของความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variance) ที่เกิดจากยีนทุกรูปแบบกับความแปรปรวนทั้งหมดของประชากร (phenotypic variance) ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความอ่อนไหวของการแสดงออกโดยรวมของยีนที่ควบคุมลักษณะนั้นๆ ภายใต้สภาพแวดล้อมที่กำหนด

ความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบแคบ หมายถึงอัตราส่วนของความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจากยีนที่แสดงผลบวก (additive gene)รวมทั้งอัตรายีนผลบวกที่แสดงผลแบบข่มและข่มข้ามคู่กับความแปรปรวนทั้งหมดของประชากร (พีระศักดิ์, 2525) เนื่องจากพันธุกรรมผลบวกสามารถคาดการณ์ได้สูงจากรุ่นหนึ่งไปยังอีกรุ่นหนึ่ง เพราะว่าลักษณะของลูกจะอยู่กึ่งกลางระหว่างพ่อแม่เสมอ จึงนิยมใช้ความแปรปรวนทางพันธุกรรมผลบวกเป็นเกณฑ์ในการหาความสามารถในการถ่ายทอด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6 โรคไวรัส ใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) และความสำคัญต่อการเพาะปลูกมะเขือเทศ

โรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ หรือ TYLCV เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ที่ถ่ายทอดโดยแมลงหวี่ขาว (*Bamisia tabaci* Gennadius.) (Czosnek and Laterrot, 1997) โรคนี้สร้างความเสียหายอย่างมากทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่นของโลก พบการระบาดอย่างมากในฤดูร้อน ทำให้ผลผลิตลดลงมากและอาจสูญเสียถึง 100 % ถ้าเชื้อเข้าทำลายในช่วงแรกของการเจริญเติบโต (Moiones, 2000) โรคนี้พบครั้งแรกในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2512 พบการแพร่ระบาดในเขตเพาะปลูกมะเขือเทศในจังหวัดเชียงใหม่ ประจวบคีรีขันธ์ นครปฐม นครราชสีมา และสมุทรสาคร (อรวรรณ, 2546) ซึ่งสร้างปัญหาอย่างมากในการเพาะปลูกมะเขือเทศในฤดูร้อนและฤดูฝน และเป็นปัญหาสำคัญต่อการผลิตมะเขือเทศในฤดูนี้ด้วย เนื่องจากมีการระบาดของแมลงหวี่ขาวเป็นจำนวนมาก และการควบคุมการระบาดของแมลงหวี่ขาวโดยใช้สารเคมีก็มีประสิทธิภาพลดลง เนื่องจากแมลงหวี่ขาวมีความสามารถในการพัฒนาให้ต้านทานต่อยาฆ่าแมลงเพิ่มขึ้น (Morales, 2001) ในไต้หวัน เคยพบการติดเชื้อไวรัสนี้ในบางพื้นที่ของแปลงเกษตรกร แต่พบมากในตอนกลางและตอนใต้ของประเทศ อาการของโรค พบมากที่สุดในช่วงฤดูร้อน-ต้นฤดูฝน (เม.ย.-มิ.ย.) ซึ่งเป็นช่วงที่อุณหภูมิสูง เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแมลงหวี่ขาว (AVRDC, 1979) ในยุโรป พบการติดเชื้อในการเพาะปลูกมะเขือเทศของสเปน อิตาลี โปรตุเกตุ ฝรั่งเศส และพบทางตะวันออกของทะเลเมดิเตอร์เรเนียน (Zeiden *et al*., 1998)

ลักษณะอาการของโรคโดยทั่วไปที่พบคือ อาการใบหงิกเหลืองและขอบใบม้วน ผิวใบไม่เรียบ ใบอ่อนที่แตกใหม่จะมีขนาดเล็กลงและหงิกงอ ต้นแคระแกร็น และชะงักการเจริญเติบโต ดอกเป็นหมันและร่วง ส่งผลทำให้ผลผลิตลดลง (อรวรรณ, 2546) อาการของโรคจะขึ้นอยู่กับระยะการเจริญเติบโตของมะเขือเทศที่เชื้อเริ่มเข้าทำลาย สภาพแวดล้อม รวมถึงสายพันธุ์ของมะเขือเทศด้วย

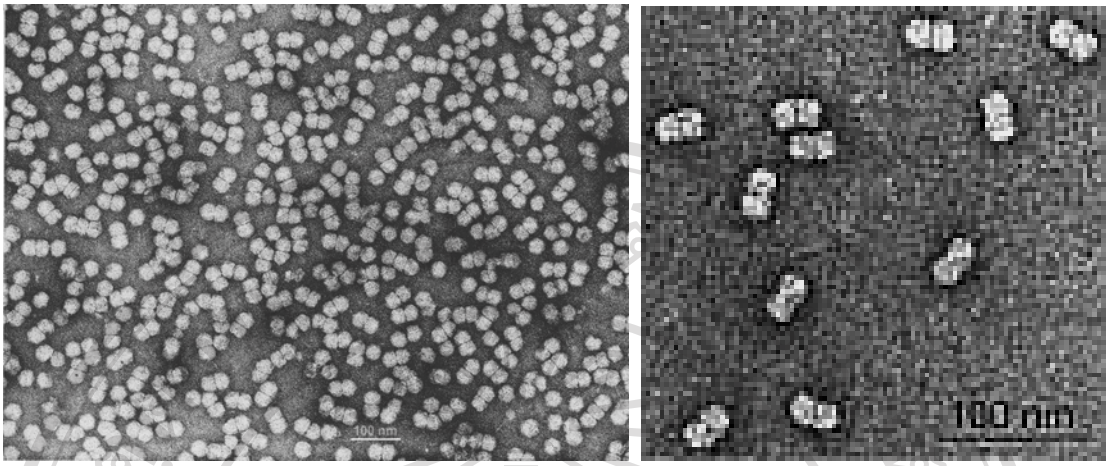
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 1 อาการของโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศสายพันธุ์ไทย (Tomato Yellow Leaf Curl Thailand Virus ;TYLCTHV)

2.6.1 การจำแนกเชื้อสาเหตุของโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ

ไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ หรือ TYLCV เป็นกลุ่มของเจมิไนไวรัส (geminivirus) ที่เป็น heterogenouse complex จัดอยู่ในสกุล Begomovirus และวงศ์ Geminiviridae (Czosnex and Antignus, 1988) ไวรัสในกลุ่มของเจมิไนไวรัสนี้มีอนุภาคเป็นแบบคู่ (twined or geminate particle) โดยจะประกอบด้วยโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคประมาณ 22 pertameric capsomers จัดเรียงตัวเป็นทรง 5 เหลี่ยมที่ไม่สมบูรณ์หรือเรียกว่า incomplete icosahedral ในลักษณะ 2 อนุภาคติดกัน ขนาดของอนุภาคโดยเฉลี่ยประมาณ 18 x 30 nm. จีโนมของไวรัสเป็นแบบดีเอ็นเอสายเดี่ยว (single stranded DNA) โดยขดเป็นวงมีขนาดประมาณ 2.5 x 3.0 กิโลเบส จีโนมของเชื้อเจมิไนไวรัส มี 2 แบบ คือ แบบ monopartite มีจีโนม 1 โมเลกุล และแบบ bipartite มีจีโนม 2 โมเลกุล เรียกว่า DNA-A หรือ component A และ DNA-B หรือ component B (อรวรรณ, 2546)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 2 ลักษณะของอนุภาคของเชื้อในกลุ่มเจมินีไวรัสที่มีลักษณะเป็น Twined or Geminate particles (Büchen-Osmond, 2006)

Zeidan *et al*. (1998) ได้จำแนกไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศออกตามลักษณะทางภูมิศาสตร์โดยอาศัยลำดับนิวคลีไทป์ได้ 4 กลุ่ม ดังนี้

1. TYLCV ที่มาจากตะวันออกกลาง (middle east) ได้แก่ อิสราเอล,อียิปส์,จอร์แดน,เลบานอน และซาอุดิอาราเบียเหนือ
2. TYLCV ที่มาจากยุโรปตะวันตกเฉียงใต้ (southwest Europe) ได้แก่ อิตาลี
3. TYLCV ที่มาจากเขตร้อนของทวีปอาฟริกา (tropical Africa) ได้แก่ เซเนกัลและเทนซาเนีย
4. TYLCV ที่มาจากเอเชียตะวันออกและตะวันออกเฉียงใต้ (southeast and east Asia) ได้แก่ ไทยและจีน

ไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศที่มาจากหมู่เกาะแคริเบียน และมาจากตะวันออกเฉียงใต้ของอเมริกา (southeast USA) มีแหล่งกำเนิดมาจากตะวันออกกลาง (middle east) ไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศที่แยกออกเป็น 4 กลุ่มนี้ มีจีโนมแบบ monopartite ยกเว้นที่มาจากประเทศไทย ซึ่งไวรัสนี้ถูกเรียกว่า Tomato Yellow Leaf Curl Thailand virus (TYLCTHV) มีจีโนมแบบ bipartite (reviewed by Rybicki,1994; Padidam *et al.,*1995) มีดีเอ็นเอ็นเอเป็นแบบดีเอเอ็นสายเดี่ยว (single stranded DNA) (Brown, 2003) โดยที่ component A มีขนาด 2,741 นิวคลีโอไทด์ และ component B มีขนาด 2,737 นิวคลีโอไทด์ และสามารถวิเคราะห์ลำดับเบสได้ (อรวรรณ, 2546) การถ่ายทอดไวรัสโดยแมลงหวี่ขาว บางครั้งอาจเรียกว่า Tomato leaf curl virus (ToLCV) มีจีโนมแบบ monopartite พบในอินเดียและออสเตรเลีย และไวรัสในกลุ่ม Begomoviruses ที่ติดเชื้อใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มะเขือเทศบางชนิด พบหลักฐานว่ามีการรวมตัวกันใหม่ (recombination) ด้วย (Chatchawankanpanich and Maxwell, 2002)

2.6.2 พืชอาศัย (host plant)ของเชื้อไวรัส TYLCV

พืชทดสอบในธรรมชาติได้แก่ *Datura stramonium ,L. esculentum , Phaseolus vulgaris* พืชที่ใช้ในการทดสอบและตรวจสอบไวรัส ได้แก่ *Datura stramonium ,L. esculentum , Nicotiana benthamiar, N. glutinosa* และ *Phaseolus vulgaris* (Brown, 2003)

2.6.3 แหล่งพันธุ์ต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ

แหล่งพันธุ์ต้านทานโรคใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ พบในมะเขือเทศพันธุ์ป่า ดังนี้ *L. pimpinellifolium* [L] Mill *L. cheesmanii* Riley *L. peruvianum* [L] Mill *L. hirsutum* Humb&Bonpl *L. chilense* (Friedman *et al*., 1998 :Hansan *et al*., 1984 :Kalloo and Banerjee, 1990 : Pilowsky and Cohen, 1974 :Scott *et al*., 1995 :Vidavsky and Czosnek, 1998: Zakay *et al*., 1991) *L. chilense* มีระดับความต้านทานที่สูงที่สุด (Zakay *et al.,*1991) *L. chilense* accession LA 1969 มียีนต้านทาน *Ty-1* เป็น single partially dominant gene ซึ่งมีตำแหน่งตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 6 แสดงลักษณะทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ Michelson *et al.* (1997) ได้พัฒนามะเขือเทศสายพันธุ์แท้ 52 ทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ มียีน *Ty-1* ซึ่งได้รับการถ่ายทอดมาจากพันธุ์ป่า *L. chilense* (Zamir *et al*., 1994) *L. pimpinellifolium* accession L121 มีความต้านทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศเป็นแบบข่มไม่สมบูรณ์ (incomplete dominance) ถูกควบคุมด้วยยีนเดี่ยว (Pilowsky and Cohen, 1973) มะเขือเทศสายพันธุ์ เอ็ม-60 ได้รับการถ่ายทอดความทนทานมาจาก *L. peruvianum* พบว่า ทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ซึ่งควบคุมด้วยยีนด้อย 5 คู่ (Pilowsky *et al*., 1993) Kalloo and Banerjee (1990) ได้พัฒนาพันธุ์ของมะเขือเทศให้ต้านทานโรคใบหงิก 6 พันธุ์ ได้แก่ เอช-2 เอช-11 เอช-17 เอช-23 เอช-24 และเอช-34 ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้ได้รับความต้านทานมาจากมะเขือเทศพันธุ์ป่า *L. hirsutum f. glabatum* และพันธุ์เอช 24 ทนทานต่อไวรัสใบหงิกในระดับปานกลาง (Kalloo and Banerjee, 2000) Hanson *et al.* (2000) ได้ศึกษาแผนที่ยีนต้านทานในมะเขือเทศสายพันธุ์เอช 24 พบว่า มีตำแหน่งยีนต้านทานไวรัสใบหงิกเหลืองตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 11 อยู่ระหว่าง TG 36 ถึง TG 393 มีระยะห่าง 14.6 เซนติมอร์แกน เป็นรายงานครั้งแรกเกี่ยวกับความต้านทานโรคไวรัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ใบหงิกเหลืองที่พบบนโครโมโซม 11 Ragupathi and Narayanaswamy (2000) พบว่า พันธุ์เอช 24 แสดงความต้านทานอยู่ที่ระดับปานกลางต่อเชื้อไวรัสใบหงิก แสดงการติดเชื้อ 18.75 เปอร์เซ็นต์ Vidavsky and Czosnek (1998) ได้พัฒนาพันธุ์ต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยถ่ายทอดลักษณะความต้านทานจากมะเขือเทศพันธุ์ป่า *L. hirsutum* accession LA 1777 และ LA 386 ไปยังมะเขือเทศพันธุ์ปลูก พบว่า ลักษณะความต้านทานที่ถ่ายทอดไปยังพันธุ์ปลูก ถูกควบคุมแบบยีนผลบวก (additive gene) 2-3 ยีน และลักษณะความทนทานถูกควบคุมด้วยยีนข่ม (dominant gene) Vidavsky *et al.* (1998) ศึกษาผลการตอบสนองของความทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศในมะเขือเทศสายพันธุ์แท้ที่ได้รับการถ่ายทอดความทนทานจากพันธุ์ป่า 3 สปีชีส์ พบว่า *L. pimpinellifolium* ความทนทานถูกควบคุมด้วยยีนหลัก (major gene) 1 ยีน *L. chilense* ความทนทานถูกควบคุมด้วย 2 ยีน และ *L. peruvianum* ความทนทานถูกควบคุมด้วย 3 ยีน ซึ่งลักษณะความทนทานที่เกิดขึ้นไม่ใช่ผลที่เกิดจาก dominant effect ความทนทานในระดับสูงที่สุดเกิดจากผลของยีนผลบวก (additive effect) ของ partly dominant gene จาก *L. pimpinellifolium* และ *L. chilense* Yuanfu *et al.* (2007) ศึกษาแผนที่ยีนต้านทานต่อไวรัสในกลุ่ม Begomoviruse ใน *Solanum lycopersicum* ซึ่งได้รับการถ่ายทอดมาจาก *S. chilense* accession LA 2779 พบว่ามียีนต้านทาน *Ty-3* ตั้งอยู่บนโครโมโซม 6 ใกล้กับตำแหน่ง *Ty-1* ที่ต้านทานไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ

2.6.4 การถ่ายทอดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ

การถ่ายทอดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองสามารถถ่ายทอดโดยแมลงหวี่ขาว (whitefly) *Bemisia tabaci* Gennadius. (Czosnek and Antignus,1988) Ghanim and Czosnek (2000) ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองสายพันธุ์อิสราเอล (TYLCV-Is) พบว่าสามารถถ่ายทอดผ่านทาง sex related manner โดยถ่ายทอดจากแมลงหวี่ขาวตัวเมียที่มีเชื้อไวรัสไปสู่ตัวผู้ปกติ หรือถ่ายทอดจากแมลงหวี่ขาวตัวผู้ที่มีเชื้อไวรัสไปสู่ตัวเมียปกติได้ Büchen-Osmond (2006) พบว่า ไวรัสใบหงิกเหลืองสามารถถ่ายทอดโดยวิธีกล (mechanical transmission) (แต่เกิดได้น้อยมาก) การเสียบยอดและแมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* วงศ์ Aleyrodidae โดยวิธี persistent circulative manner Gómes *et al.* (2004) ใช้วิธีการเสียบยอด (grafting) ในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส พบว่า ให้ผลการทดสอบดีพอๆ กับการถ่ายทอดเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวที่มีเชื้อไวรัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 3 แมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* Gennadius.

Pico *et al.* (1998) ได้ศึกษาเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศในมะเขือเทศพันธุ์ปลูกและพันธุ์ป่า โดยเปรียบเทียบระหว่างเทคนิคการปลูกเชื้อ 3 วิธี คือ การปลูกเชื้อโดยธรรมชาติ (natural field infection) การปลูกเชื้อใน artificial cage (artificial cage inoculation-individual infection) และการปลูกเชื้อใน artificial mass (artificial mass inoculation-simultaneous infection) พบว่า artificial cage inoculation เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด สามารถเชื่อถือได้ และสามารถใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานได้ทั้งมะเขือเทศสายพันธุ์ปลูกและพันธุ์ป่า การประเมินผลโดยประเมินจากอาการของโรคที่เกิดขึ้น โดยให้ค่าออกมาเป็นคะแนน และพบว่าการปลูกเชื้อเทียมทั้ง 2 วิธี ให้ผลการติดเชื้อที่สูงมาก แต่จะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับระดับความต้านทานของสายพันธุ์ การประเมินผลระดับความรุนแรงของอาการโรค (symptom severity) ดังนี้

0 = ไม่แสดงอาการเลย

1 = แสดงอาการเล็กน้อย (ขอบใบเหลืองและม้วนเล็กน้อย)

2 = แสดงอาการปานกลาง (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองเล็กน้อย ใบม้วนปานกลาง)

3 = แสดงอาการรุนแรง (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองมาก ใบม้วน)

4 = แสดงอาการรุนแรงมาก (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองมาก ใบม้วน ใบมีขนาดเล็กลง แคระแกร็น)

Pico *et al.* (1998) พบว่าเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวมีอิทธิพลต่อความต้านทานไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ และความเข้มข้นของเชื้อในปริมาณสูงจะลดระดับความต้านทานโรคลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Vidavsky and Czosnek (1998) ได้ปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศให้ต้านทานและทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลือง โดยถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคจากพันธุ์ป่า *L. hirsutum* accesion LA 1777 และ LA 386 มายังมะเขือเทศ *L. esculentum* คัดเลือกความต้านทาน โดยการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวที่ติดเชื้อไวรัส (viruliferous whiteflies) พบว่า สามารถคัดพันธุ์ต้านทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลือง คือ สายพันธุ์ 902 และพันธุ์ทนทาน คือ สายพันธุ์ 908

Pico *et al.* (1999) ได้พัฒนาสายพันธุ์มะเขือเทศให้ต้านทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลือง โดยใช้เทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว (whitefly-mediated inoculation) ในการคัดเลือกความต้านทาน *Ty-1* จาก *L. chilence* LA 1932 และ LA 1938 เข้ามายังมะเขือเทศสายพันธุ์ปลูกที่ไม่ต้านทาน ร่วมกับวิธีการผสมกลับและวิธีการจดบันทึกประวัติ พบว่า สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ 6 สายพันธุ์ ที่มีระดับความต้านทานสูงต่อ TYLCV-Sr ได้แก่ Ty 1 3 6 9 17 และ 53 มีลักษณะทางพืชสวนที่ดีเหมาะสมที่จะใช้เป็นพันธุ์ตั้งต้นในการทำลูกผสมให้ต้านทานต่อไวรัส TYLCV-Sr ต่อไป

2.6.5 การตรวจและวินิจฉัยโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศโดยใช้วิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

โรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศเป็นโรคที่สำคัญต่อการเพาะปลูกมะเขือเทศ ก่อให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิตมะเขือเทศในทั่วทุกภาคของไทย ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยโรคจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้สามารถจัดการโรคในแปลงผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงยังสามารถนำเทคนิคเหล่านี้มาช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรค เพื่อสนับสนุนความต้านทานที่เกิดขึ้นด้วย การตรวจสอบในปัจจุบันมีทั้งการตรวจดีเอ็นเอ โดยใช้เทคนิค polymerase chian reaction (PCR) ซึ่งให้ความแม่นยำสูง และสามารถตรวจหาเชื้อในปริมาณน้อยๆ ในตัวอย่างที่ตรวจสอบได้ และการตรวจสอบโปรตีนโดยวิธีทางอิมมูโนวิทยาเป็นวิธีการที่นิยมใช้กันมาก โดยเฉพาะวิธี ELISA ที่สามารถตรวจสอบตัวอย่างได้คราวละมากๆ เป็นวิธีการที่ง่าย ราคาถูก ทำได้รวดเร็ว (Halk *et al.*, 1985) Pico *et al.* (1999) ได้พัฒนาเทคนิคการตรวจสอบไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ พบว่าการตรวจสอบด้วย PCR มีความไวในการตรวจสอบสูง เหมาะสมในการคัดเลือกความต้านทานใหม่ใน *Lycopersicon* spp. สามารถตรวจสอบไวรัสในปริมาณต่ำได้ ซึ่งวิธีทางเซรุ่มวิทยา (serology) ไม่สามารถตรวจสอบได้ เทคนิค triple-antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay (TAS-ELISA) เหมาะที่จะใช้คัดเลือกสายพันธุ์มะเขือเทศที่ปรับปรุงพันธุ์แล้ว สามารถตรวจสอบตัวอย่างได้คราวละมากๆ ส่วนวิธี hybridization เหมาะที่จะใช้ในการตรวจสอบการกระจายของเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไวรัสภายในต้นพืชมากกว่า TAS-ELISA หรือ PCR ซึ่งมีโอกาสเกิด false positive หรือ false negative ได้ง่าย

ELISA เป็นวิธีการที่มีการเคลือบแอนติเจนลงบน ELISA plate แล้วให้ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ ผลของปฏิกิริยาสามารถตรวจสอบได้โดยการเติมสับสเตรท (substrate) ของเอนไซม์นั้นลงไป สีของปฏิกิริยาจะแปรผันตามปริมาณของแอนติเจนในตัวอย่าง วิธีการนี้มีความไวสูงมาก สามารถตรวจสอบปริมาณไวรัสได้ต่ำถึงระดับ 1-10 ng/ml (รัชนี, 2549)

อรประไพและคณะ (2549) ได้พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ โดยนำโมโนโคนอลแอนติบอดีที่ได้จากการโคลน M1 (mouse monoclonal antibody) ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ มาพัฒนาโดยใช้เทคนิคทางอิมมูโนวิทยา คือ western blot analysis และ sandwich ELISA พบว่า แอนติบอดี M1 ทำปฏิกิริยาจำเพาะเจาะจงกับไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ ถั่วเหลือง พริก และสาบแร้งสาบกา นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศในแมลงหวี่ขาวได้อีกด้วย

Czosnek and Antignus (1988) ตรวจและวินิจฉัยโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยใช้ วิธีทางอิมมูโนวิทยา (immunological detection) และวิธี nucleic acid hybridization assay MacIntosh *et al.* (1992) ใช้การวิเคราะห์ TAS-ELISA ในการตรวจสอบและวินิจฉัย Geminivirus

2..7 แนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ

การปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศในอดีตจะเน้นในเรื่องของเพิ่มผลผลิตและคุณภาพ เป็นหลักเพื่อให้เพียงพอต่อการบริโภคของประชากรโลก แต่เนื่องจากปัจจุบันมีการพัฒนาสายพันธุ์ใหม่ขึ้นมาจำนวนมาก การปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตเพียงอย่างเดียวจึงไม่เพียงพอ ดังนั้น นักปรับปรุงพันธุ์จึงหันมาปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรคและแมลง สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ในด้านความต้านทานโรค เช่น ต้านทานต่อโรคเหี่ยวเขียวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (*Ralstonia solanacearum*) ต้านทานต่อโรคเหี่ยวเหลืองที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) มีการพัฒนาและศึกษาค่อนข้างมากแล้ว และมีสายพันธุ์ลูกผสมใหม่ๆ ออกมาอย่างต่อเนื่อง เช่น สายพันธุ์ทีดับบิว-4 และสายพันธุ์แอล-22 (มณีฉัตร, 2538)

แต่สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคไวรัสนั้น โดยเฉพาะไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ซึ่งสร้างปัญหาอย่างมากให้กับการเพาะปลูกมะเขือเทศ มีการแพร่ระบาดไปทั่วโลก ปัจจุบันมีสายพันธุ์ลูกผสมที่ต้านทานไวรัสออกมาอย่างต่อเนื่อง แต่ระดับความต้านทานของยีนตัว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เดียวกันต่อเชื้อไวรัสในแต่ละพื้นที่ก็แสดงออกไม่เหมือนกัน เนื่องจากความแตกต่างของสภาพแวดล้อมและเชื้อที่ทำให้เกิดโรค ดังนั้น แนวทางในการปรับปรุงพันธุ์ในอนาคต จึงต้องเน้นในเรื่องของการปรับตัวของสายพันธุ์ด้วย เพื่อให้สามารถปรับตัวได้ในทุกพื้นที่ สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรค สิ่งที่ขาดไม่ได้อีกอย่างหนึ่ง คือเทคนิคในการคัดเลือกความต้านทานโรค ซึ่งต้องอาศัยความร่วมมือจากนักวิชาการด้านโรคพืชช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ จึงเป็นการทำงานร่วมระหว่างนักปรับปรุงพันธุ์และนักโรคพืช เพื่อให้บรรลุเป้าหมายได้อย่างถูกต้องและรวดเร็ว

การทำ Pyramiding เป็นแนวทางอีกทางหนึ่งที่นำมาสนับสนุนการพัฒนาสายพันธุ์เพื่อให้มีระดับความต้านทานโรคไวรัสเพิ่มขึ้น เป็นการรวมความต้านทานโรคจากหลายแหล่งความต้านทานเข้ามาไว้ในสายพันธุ์เดียว Vidavski *et al*. (2006) ได้ปรับปรุงสายพันธุ์มะเขือเทศ โดยใช้หลักการ Pyramiding ในการรวมความต้านทานโรคไวรัสจากหลายแหล่งความต้านทานเข้าด้วยกัน และศึกษาความสามารถในการรวมตัว (combining ability) ของความต้านทานจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ *L. chilense* (Israel, Florida) *L. peruvinum* (Israel) *L. pimpinellifolium* (INRA) และ *L. hirsutum* (Israel, AVRDC) ซึ่งมียีนควบคุม 1-5 คู่ ขึ้นกับแหล่งพันธุ์ต้านทานที่รับมา มีทั้งแบบยีนด้อย (recessive gene) และแบบ partial dominance ผลการศึกษา พบว่า การแสดงออกของความต้านโรคเกิดจากผลของยีนผลบวก (additive effect) และบางส่วนเกิดจากผลของยีนข่ม (dominant effect) Van de Plak (1963) กล่าวว่า ความต้านทานมีอยู่ 2 ระบบ คือ horizontal resistance เป็นความสามารถในการต้านทานโรคเดียวแต่หลาย race เป็นความต้านทานในแนวราบ ควบคุมโดยยีนหลายคู่ (polygene) ความต้านทานแบบนี้เป็นเรื่องของความทนทานมากกว่า ระดับความต้านทานมีมาก ปานกลาง และน้อย อีกระบบคือ vertical resistance เป็นความต้านทานในแนวดิ่ง เป็น specific monogenic ความต้านทานเกิดได้เพราะมียีนน้อยคู่ แนวทางการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ควบคุมทั้ง 2 ระบบ คือ การทำให้เกิด Resistance management

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.8 การใช้ประโยชน์ของเครื่องหมายระดับโมเลกุลในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์

การปรับปรุงพันธุ์พืชยุคใหม่ใช้ศักยภาพของเทคโนโลยีดีเอ็นเอในการพัฒนาพันธุ์พืชให้มีลักษณะพึงประสงค์ เช่น ความต้านทานโรคและศัตรูพืช เทคนิคต่างๆของเทคนิคดีเอ็นเอได้เป็นเครื่องมือชนิดใหม่ของงานปรับปรุงพันธุ์พืชและถูกใช้ในหลายขั้นตอน เช่น การระบุยีโนไทป์ การติดตามยีน การคัดเลือกพันธุ์ที่มียีนที่พึงประสงค์ และการสร้างพืชแปลงพันธุ์ (transgenic plant)

เป็นต้น ดังนั้นเทคโนโลยีดีเอ็นเอจึงส่งเสริมวิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชดั้งเดิมให้มีประสิทธิภาพ (Tanksley *et al*., 1992)

เครื่องหมายระดับโมเลกุล (molecular marker หรือ DNA marker) คือการใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายหรือตัวบ่งบอกที่มีความเฉพาะเจาะจง โดยอาศัยรูปแบบเฉพาะตัวของดีเอ็นเอที่ประกอบไปด้วยยีนที่มีความแตกต่างกันแต่ละยีน เนื่องจากลักษณะของพืชที่มองเห็นภายนอก (phenotype) ถูกควบคุมด้วยยีน ความรู้ทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลจึงมีความสำคัญมากในการปรับปรุงพันธุ์พืช และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบและแยกสายพันธุ์พืช ปัจจุบันเทคนิคนี้ถูกนำมาใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์พืชอย่างมากมาย ได้แก่ RFLP RAPD AFLP CAPS SCAR MAS เป็นต้น Chague *et al*. (1997)ได้ศึกษามะเขือเทศด้วยวิธี bulked segregant analysis (BSA) โดยใช้เครื่องหมาย random ampliflied polymorphic DNA (RAPD) เพื่อบ่งชี้ตำแหน่ง quantitative trait locus (QTL) ที่สัมพันธุ์ต่อความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ในมะเขือเทศชั่วที่ 4 แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ต้านทานและกลุ่มที่อ่อนแอมาก ในการตรวจสอบเครื่องหมาย RAPD ด้วย primer 600 ชนิด พบว่า มีตำแหน่ง QTL 4 ตำแหน่ง ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน ตั้งอยู่บนโครโมโซม 6 การทำแผนที่ยีน restriction fragment length polymorphism (RFLP mapping) พบว่า เครื่องหมายทั้ง 4 ตำแหน่ง เป็น linkage group มีระยะห่าง 17.3 เซนติมอร์แกน Hanson *et al.* (2000) ได้ศึกษาการทำแผนที่ (mapping) ยีนต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศพันธุ์ป่าที่ถ่ายทอดมายังพันธุ์ปลูก คือ เอช24 โดยใช้เทคนิค RFLP ในการตรวจหายีนเครื่องหมาย ซึ่งศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ จากสายพันธุ์เอช 24 สู่ประชากรรุ่น F_2/F_3 โดยการผสมระหว่างมะเขือเทศสายพันธุ์ปลูกซีแอล 5915 (พันธุ์อ่อนแอ) x เอช24 (พันธุ์ต้านทาน) และนำประชากรรุ่น F_2 มาทำ electrophoresis dot blotted hybridization และตรวจหายีนเครื่องหมายโดยใช้เทคนิค RFLP ในประชากรลูกรุ่น F_2 จากนั้นให้ผสมตัวเองเพื่อผลิตประชากรลูกรุ่น F_3 แล้วนำไปเพาะเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวที่มีเชื้อไวรัส พบว่าประชากรรุ่นที่ 3 ที่เป็น homozygous มีตำแหน่งยีนต้านทานตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 11 เช่นกัน มีระยะห่าง 14.6 เซนติมอร์แกน อยู่ระหว่าง TG 36 ถึง TG 393

ปัจจุบันมีการนำเอาลำดับนิวคลีโอไทป์ของยีนมาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายระดับโมเลกุลกันมากขึ้น การใช้ marker assisted selection (MAS) เป็นเทคนิคอีกอย่างหนึ่งที่ประยุกต์ใช้เครื่องหมายระดับโมเลกุลในการคัดเลือกประชากร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบมาตรฐาน (conventional breeding) นำมาช่วยให้คัดเลือกได้แม่นยำมากขึ้น เครื่องหมายดีเอ็นเอเปรียบเสมือนแทค (tag) ของลำดับนิวคลีโอไทป์ตำแหน่งหนึ่งของดีเอ็นเอของพืช จึงบ่งบอกความแตกต่างระหว่างพันธุ์พืชได้ เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ติดอยู่ในยีนหรือด้านข้างของยีนสามารถใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ติดตามการเคลื่อนย้ายยีนจากพันธุ์หนึ่งเข้าสู่อีกพันธุ์หนึ่งได้ ข้อดีคือมีจำนวนมากและกระจายทั่วดีเอ็นเอพืช อีกทั้งไม่เปลี่ยนแปลงตามระยะพัฒนาการของพืชและสิ่งแวดล้อม สามารถตรวจเครื่องหมายดีเอ็นเอได้ตั้งแต่ระยะเมล็ดหรือต้นกล้า ซึ่งสามารถกำจัดเมล็ดหรือต้นอ่อนที่ไม่มีลักษณะพันธุกรรมที่ต้องการออกไปได้รวดเร็วโดยไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการปลูกและดูแลรักษา อีกทั้งการคัดเลือกโดยใช้ลักษณะภายนอกเพียงอย่างเดียว อาจทำให้ผลผิดพลาดได้ง่าย เช่น การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโดยการสังเกตอาการของโรคที่แสดงออกมาเพียงอย่างเดียวนั้น อาจจะเกิดการเล็ดลอด (escape) ของต้นพืชได้ ดังนั้นการใช้เครื่องหมายระดับโมเลกุลมาช่วยสนับสนุนการคัดเลือกโดยสายตา ก็จะทำให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น

ความสำเร็จของ MAS ในงานปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศให้ต้านทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ พบว่า Peña (2006) ได้พัฒนา MAS เพื่อใช้ในการตรวจหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับยีน *Ty-2* โดยอาศัยหลักการทาง polymerase chain reaction (PCR) จากการวิเคราะห์ลิงค์เกจโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอนี้ พบว่า มีความสัมพันธุ์ใกล้ชิดกับยีน *Ty-2* ที่ได้รับมาจากพันธุ์ป่า อยู่ที่ระยะประมาณ 10 เซนติมอร์แกน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved