บทที่ 5

วิจารณ์

จากการทดลอง พบว่า พันธุ์ซีที 1 และพันธุ์ซีที 2 มีลักษณะทางพืชสวนที่ใกล้เคียงกับพันธุ์เอช 24 แต่มีลักษณะการเจริญเติบโต และลักษณะทางพืชสวนที่ดีกว่า เหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาพันธุ์เพื่อรับประทานผลสด หรือ table tomato จึงนำมาใช้เป็นสายพันธุ์ผู้รับยีนต้านทาน ทั้งสองพันธุ์นี้เมื่อนำมาทดสอบความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว เปรียบเทียบกับพันธุ์เอช 24 และใช้พันธุ์ซีแอลเอ็น 2026ดี เป็นพันธุ์ควบคุมซึ่งอ่อนแอต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลือง พบว่าทั้งสองพันธุ์ อ่อนแอต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ แต่พันธุ์ซีที 1 จะแสดงอาการของโรคช้ากว่าพันธุ์ซีที 2 อาจเนื่อง มาจากพันธุ์นี้มีขนตามลำต้นและใบจำนวนมากกว่าพันธุ์ซีที 2 ทำให้แมลงหวี่ขาวเลือกที่จะเข้าทำลายพันธุ์อื่นก่อน ซึ่งกฤษฎา (2546) ได้กล่าวว่า เป็นลักษณะของการไม่ชอบกิน (non-preference) เป็นพืชที่แมลงจะไม่เข้าทำลาย ถ้ามีให้เลือก ทำให้เข้าใจผิดว่าเป็นพันธุ์ต้านทาน แต่อาจถูกทำลายอย่างรุนแรง เมื่ออยู่ในสภาพที่ไม่มีพันธุ์อื่นให้เลือก ทั้งสองพันธุ์นี้นำมาใช้เป็นสายพันธุ์ผู้รับยีนต้านทาน หรือ receptor parent โดยใช้พันธุ์เอช 24 เป็นสายพันธุ์ผู้ให้ยีนต้านทานโรค หรือ donor parent

ในงานทดลองครั้งนี้ ได้คัดเลือกการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีจดบันทึกประวัติร่วมกับการผสมกลับ โดยทำการผสมกลับ 2 ชั่ว เพื่อถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคจากพันธุ์ผู้ให้ยีนต้านทาน คือ พันธุ์เอช 24 โดยผสมกลับไปยังพันธุ์ซีที 1 และพันธุ์ซีที 2 และการผสมกลับทุกครั้งจะคัดเลือกเฉพาะต้นที่ต้านทานโรคเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับกฤษฎา (2546) กล่าวว่า การผสมกลับ โดยทั่วไปมักจะทำกัน 1-2 ครั้ง แล้วปล่อยให้ผสมตัวเอง เพื่อคงลักษณะความต้านทานโรค ที่รับมาให้อยู่ในระดับที่มากพอ และคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ เพื่อคัดลักษณะที่ต้องการ เช่นเดียวกับงานทดลองของ Pico *et al.* (1999) ได้พัฒนาสายพันธุ์ของมะเขือเทศให้ต้านทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยใช้การจดบันทึกประวัติร่วมกับการผสมกลับ พบว่า สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีระดับความต้านทานสูงต่อไวรัส TYLCV-Sr จำนวน 6 สายพันธุ์ คือ Ty 1 3 6 9 17 และ 53 และในทำนองเดียวกับงานของ Pilowsky *et al.* (1993) ได้ปรับปรุงพันธุ์ทนทานต่อไวรัส TYLCV โดยวิธีการผสมกลับ 3 ครั้ง และคัดเลือกความทนทานด้วยการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวที่ติดเชื้อไวรัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การศึกษาลักษณะผลผลิตของลูกผสมชั่วที่ 1 เปรียบเทียบพันธุ์พ่อแม่ พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 ลักษณะองค์ประกอบของผลผลิต และจำนวนผลผลิตต่อต้นดีกว่าพันธุ์พ่อแม่ โดยเฉพาะลูกผสมชั่วที่ 1 ซีที1 x เอช 24 และ ซีที 2 x เอช 24 เมื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าความดีเด่นของลูกผสม (heterosis) พบว่า ซีที 1 x เอช 24 และ ซีที 2 x เอช 24 มีลักษณะที่ดีทางพืชสวนและให้ค่าความดีเด่นเหนือกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ทุกลักษณะที่เปรียบเทียบ และยังให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต่อต้นเหนือกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ที่ดีกว่าด้วย ค่าความเหนือระดับส่วนใหญ่ มีผลมาจากปฏิกิริยายีนข่มและส่วนน้อยที่มาจาก epistasis และ pleiotropism ดังนั้น ค่าความเหนือระดับของลูกผสม จึงเป็นผลมาจากผลบวกสะสม (cumulative effect) ของยีนข่มแต่ละตัวจากยีนแต่ละชุด ที่ต่างก็มีระดับการข่มที่ไม่เท่ากัน

สำหรับความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองในลูกผสมชั่วที่ 1 โดยคัดเลือกความต้านทานด้วยเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว และประเมินผลความรุนแรงของการเกิดโรค พบว่า ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของอาการโรคของลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้งสองพันธุ์ เทียบกับพันธุ์เอช 24 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสายพันธุ์ซีที 1 พันธุ์ซีที 2 และพันธุ์ควบคุม และเมื่อตรวจวินิจฉัยโรคด้วยเทคนิค sandwich ELISA พบว่า ลูกผสมชั่วที่ 1 ซีที 1 x เอช 24 และ ซีที 1 x เอช 24 ระดับคะแนน 1 และ 2 ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์เอช 24 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์ซีที 1 ซีที 2 และพันธุ์ควบคุม ซึ่งเห็นได้ว่าเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว สามารถนำมาใช้ในการคัดเลือกความต้านทานโรคได้ และพันธุ์เอช 24 สามารถใช้เป็นสายพันธุ์ถ่ายทอดความต้านทานโรคได้ สังเกตจากการตอบสนองของระดับความต้านทานของพันธุ์ลูกผสมอยู่ในระดับสูงใกล้เคียงกับพันธุ์เอช 24 สอดคล้องกับงานทดลองของ Pico *et al*. (1998) พบว่า เทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวสามารถนำมาใช้ในการคัดเลือกความต้านทานโรคได้ โดยการปลูกเชื้อเทียมใน artificial cage และ artificial mass มีการติดเชื้อที่สูงมาก และการปลูกเชื้อเทียมใน artificial cage มีประสิทธิภาพที่สุด โดยให้แมลงหวี่ขาวที่มีเชื้อไวรัสดูดกินอาหารนาน 48 ชั่วโมง และใช้แมลงหวี่ขาว 15-20 ตัวต่อต้น เช่นเดียวกับงานของ Vidavsky and Czosnek (1998) ใช้วิธีการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวในการคัดเลือกความต้านทานโรค โดยให้แมลงหวี่ขาวดูดกินอาหาร (acquisition feeding) บนต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคไวรัสใบหงิกเหลืองนาน 48 ชั่วโมง แล้วย้ายไปบนในต้นกล้าอายุ 20 วัน จำนวน 10-20 ตัวต่อต้น ปล่อยให้ดูดกินอาหารนาน 5 วัน หลังจากเพาะเชื้อ 14 วัน จึงตรวจเชื้อไวรัสด้วย squash blot hybridization สอดคล้องกับงานของ Santana *et al.* (2000) ใช้การเพาะเชื้อเทียมในกรง (artificial cage inoculation) โดยใช้แมลงหวี่ขาวที่มีเชื้อไวรัส 20 ตัวต่อต้น ให้ดูดกินอาหารบนต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กล้าในระยะที่มีใบเลี้ยง 2 ใบ และยืนยันการติดเชื้อไวรัสโดยสังเกตจากการพัฒนาของอาการโรค และตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยวิธี dot-blot or squash-blot hybridization

จากการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่า พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้งสองพันธุ์ คือ พันธุ์ซีที1 x เอช24 และพันธุ์ซีที 2 x เอช 24 ได้รับการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคมาจากพันธุ์เอช 24

การศึกษาความต้านทานโรคในพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 พบว่า ระดับความรุนแรงของอาการโรค มีการกระจายตัวในลูกผสมกลับชั่วที่ 2 โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ทนทาน ระดับคะแนน 1 และ 2 และกลุ่มที่อ่อนแอระดับคะแนน 3 และ 4 สอดคล้องกับงานของ Vadavsky and Czosnek (1998) พบว่า ประชากรลูกผสมกลับชั่วที่ 1 มีการกระจายลักษณะออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ทนทานและอ่อนแอ จากการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกลุ่มที่ทนทานกับพันธุ์เอช 24 พบว่า ทุกพันธุ์ให้ผลผลิตน้ำหนักผลต่อต้นไม่แตกต่างจากพันธุ์เอช 24 ระดับคะแนน 1 แต่ให้ผลผลิตน้ำหนักผลต่อต้นสูงกว่าพันธุ์ควบคุม ระดับคะแนน 4 อย่างมีนัยสำคัญ จึงคัดเลือกต้นที่ให้ระดับความทนทาน ระดับคะแนน 1 และมีลักษณะทางพืชสวนตรงตามความต้องการ เพื่อนำไปคัดเลือกในชั่วที่ 2 ถัดไป จำนวน 10 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 ซีที1xเอช24 ระดับคะแนน 1 จำนวน 5 ต้น ได้แก่ต้นที่ 1-12 1-24 2-15 2-20 และ 3-4 และพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 ซีที2xเอช24 ระดับคะแนน 1 จำนวน 5 ต้น ได้แก่ ต้นที่ 1-9 1-12 2-6 3-1 และ 3-4

การศึกษาความต้านทานโรคโดยใช้เทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว ในพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 (F_2) เปรียบเทียบกับพันธุ์ต้านทานเอช 24 และพันธุ์แม่ ซีที1 และ ซีที 2 และสายพันธุ์ควบคุม ซีแอลเอ็น 2026ดี พบว่า ในประชากรลูกผสมตัวเองชั่วที่ 2 ยังมีการกระจายตัวของความต้านทานโรค ซึ่งในลูกผสมตัวเองชั่วที่ 2 นี้ ให้ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของอาการโรคอยู่ในระดับปานกลาง อยู่ระหว่าง 1.58-3.21 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์เอช 24 และส่วนใหญ่มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าพันธุ์ซีที 1 พันธุ์ซีที 2 และพันธุ์ควบคุม เป็นไปในทางเดียวกันกับงานทดลองของ Vadavsky and Czosnek (1998) ประชากรลูกผสมตัวเองชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของลักษณะของความต้านทานโรคเช่นกัน โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ต้านทาน กลุ่มที่ทนทาน และกลุ่มที่อ่อนแอ และในประชากรลูกผสมตัวเองชั่วที่ 4 มีความคงตัวของลักษณะความต้านทานและทนทานโรค ซึ่งพบว่าลักษณะที่ต้านทานถูกควบคุมด้วยยีนด้อย 2-3 ยีน เป็นแบบยีนผลบวก ส่วนลักษณะทนทานถูกควบคุมด้วยยีนข่มหลัก

ดังนั้น จึงคัดเลือกต้นที่ต้านทานระดับคะแนน 1 และ 2 นำไปตรวจวินิจฉัยโรค โดยใช้เทคนิค sandwich ELISA เพื่อสนับสนุนความต้านทานที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบกับพันธุ์เอช 24 ระดับคะแนน 1 พันธุ์ซีที 1 ระดับคะแนน 3 พันธุ์ซีที 2 ระดับคะแนน 4 และพันธุ์ควบคุม ระดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คะแนน 4 พบว่า เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ประชากรลูกผสมตัวเองชั่วที่ 2 ให้ค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์เอช 24 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์แม่ทั้งสองและพันธุ์ควบคุม จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธุ์ระหว่างระดับความรุนแรงของอาการโรค กับปริมาณเชื้อไวรัสที่พบในต้นพืชของพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 พบว่า ความรุนแรงของอาการโรคมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Rubio *et al.* (2003) พบว่า ความรุนแรงของอาการโรคมีสหสัมพันธ์ในแง่บวกกับปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืช โดยตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค tissue-printing hybridization และเทคนิคนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการประเมินความทนทานในช่วงแรกได้ ในทำนองเดียวกัน Lapidot *et al.* (2001) ศึกษาอัตราการถ่ายทอดโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศโดยแมลงหวี่ขาว พบว่า อัตราการถ่ายทอดเชื้อไวรัสมีสหสัมพันธ์ทางลบกับระดับความต้านทาน พืชที่มีระดับความต้านทานสูงมีอัตราการถ่าย ทอดเชื้อต่ำ และการสะสมของดีเอ็นเอไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศในพืชที่ต้านทานมีปริมาณต่ำกว่าพืชที่อ่อนแอด้วย เช่นเดียวกับงานทดลองของ Lapidot *et al.* (1997) เปรียบ เทียบความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศระหว่างสายพันธุ์การค้าและสายพันธุ์แท้ พบว่า ระดับความต้านทานไวรัสมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับการสะสมดีเอ็นเอไวรัสเช่นกัน โดยตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอไวรัสด้วยวิธี dot blot hybridization พบว่า พันธุ์ TY 172 และ TY 197 มีระดับความต้านทานโรคสูงที่สุดและมีปริมาณดีเอ็นเอไวรัสที่ระดับต่ำสุดด้วย

จากการปลูกเปรียบเทียบผลผลิตในมะเขือเทศพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 และ 2 กับสายพันธุ์พ่อแม่ และพันธุ์ควบคุม พบว่า ทุกสายพันธุ์มีการพัฒนาอาการโรคเพิ่มขึ้น แต่พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ยังสามารถให้ผลผลิตได้ในระดับปานกลาง ในขณะที่พันธุ์แม่และพันธุ์ควบคุม ไม่สามารถให้ผลผลิตได้เลย

งานทดลองครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกความต้านทานโรคได้ และสนับสนุนสายพันธุ์ เอช 24 ว่าสามารถใช้เป็นสายพันธุ์ถ่ายทอดยีนต้านทาน Ty-2 ได้ ซึ่งได้รับความต้านทานมาจาก *L. hirsutum* f. *glabatum* accession B6013 (Kalloo and Banerjee., 1990) Hanson *et al.* (2000) พบว่า มีตำแหน่งยีนต้านทานตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 11 ระหว่าง TG 36 ถึง TG 393 มีระยะห่าง 14.6 เซนติมอร์แกน จากการศึกษาครั้งนี้ ผู้เขียนขอแนะนำว่า ควรนำพันธุ์ที่ได้คัดเลือกไปตรวจสอบยีนเครื่องหมาย เพื่อยืนยันความต้านทานที่ได้รับมาอีกครั้งหนึ่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved