การปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ

Varietal improvement of tomato for tomato yellow leaf curl virus resistance

กัลยาณี ชัยชนะ[1], ประสาทพร สมิตะมาน[2] และ มณีฉัตร นิกรพันธุ์[1*]

Kanlayanee Chaichana[1], Prasartporn smitamana[2] and Maneechat Nikronpun[1*]

บทคัดย่อ: การปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศให้ต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลือง (Tomato Yellow Leaf Curl Virus; TYLCV) โดยใช้วิธีผสมผสานระหว่างการจดบันทึกประวัติและการผสมกลับระหว่างพันธุ์ H 24 ซึ่งต้านทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองผสมกับพันธุ์อ่อนแอ คือ พันธุ์ CT1 และพันธุ์ CT2 โดยถ่ายทอดเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวและใช้วิธี sandwich ELISA ในการตรวจวินิจฉัยโรค ในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 (F2) พบว่า ให้ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคในระดับปานกลางอยู่ระหว่าง 1.58-3.21 และยังมีการกระจายตัวของความต้านทานโรคอยู่ในระดับคะแนน 1 และ 2 มีปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบน้อย ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากพันธุ์ H 24 แต่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์ CT 1 พันธุ์ CT 2 และพันธุ์ควบคุม ซึ่งมีปริมาณไวรัสที่ตรวจพบมาก การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของอาการโรคกับปริมาณเชื้อไวรัสที่พบในต้นพืชพบว่า ความรุนแรงของอาการโรคมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืช ผลการศึกษาสามารถคัดเลือกพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองระดับคะแนน 1 ดังนี้ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT1 x H 24 จำนวน 6 สายพันธุ์ และพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT2 x H 24 จำนวน 5 สายพันธุ์

คำสำคัญ: มะเขือเทศ, ไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ

ABSTRACT: Improvement of tomato for resistance to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) were carried out by using a pedigree and backcrossing methods and crossing between resistant parent H-24 with susceptible parents CT-1 and CT-2. The virus was transmitted by viruliferous whiteflies and virus infection was detected by sandwich ELISA. F_2 generation showed moderate resistance with scores ranging from 1.58-3.21. Segregation of disease resistance was observed among the population. Virus detection of the F_2 populations (scoring 1 or 2) showed virus titer which were not statistically different from H24 but were significantly different from CT-1, CT-2 and susceptible control. The disease severity and virus titer in infected plants of F_2 populations showed positive correlation. From this breeding experiment, 6 lines selected from F_2CT-1 x H-24 and 5 lines selected from F_2 CT-2xH-24 showing TYLCV resistance which the score of 1 were obtained.

Keywords: Tomato, TYLCV

[1] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

[2] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

* Corresponding author: m.nikorn@chiangmai.ac.th

บทนำ

ไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศจัดเป็นกลุ่ม geminivirus อยู่ในวงศ์ geminiviridae สกุล begomo virus สามารถถ่ายทอดโดยแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci* (gennadius) (Czosnek and Laterrot, 1997) โรคไวรัสใบหงิกเหลืองสร้างความเสียหายอย่างมากให้กับการปลูกมะเขือเทศ โรคชนิดนี้พบการแพร่ระบาดทั่วไปทั้งในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน รวมทั้งประเทศไทยด้วย พบว่า ถ้ามะเขือเทศถูกแมลงหวี่ขาวที่มีเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองเข้าทำลายอาจทำให้ผลผลิตมะเขือเทศลดลงมากหรือสูญเสียถึง 100% โดยเฉพาะถ้าเชื้อเข้าทำลายในช่วงแรกของการเจริญเติบโต (Moriones, 2000) ลักษณะอาการของโรคโดยทั่วไปที่พบคือ อาการใบหงิกเหลืองและขอบใบม้วน ผิวใบไม่เรียบ ใบอ่อนที่แตกใหม่จะมีขนาดเล็กลงและหงิกงอ ต้นแคระแกร็น และชะงักการเจริญเติบโต ดอกเป็นหมันและร่วง ส่งผลทำให้ผลผลิตลดลง (อรวรรณ, 2544) การควบคุมโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศมีหลายวิธี เช่น การใช้สารเคมีควบคุมแมลงพาหะ การปลูกพืชหมุนเวียน และการใช้พันธุ์ต้านทานโรค (Nakhla et al., 1994) วิธีการที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด คือ การใช้สายพันธุ์ทนทานหรือต้านทาน (Kasrawi et al., 1988) Lapidot and Friedmann (2002) กล่าวว่า วิธีการที่มีประสิทธิภาพที่สุดเพื่อลดความเสียหายเนื่องจากเชื้อเจมิไนไวรัส คือ การปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อไวรัส โดยใช้การปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) และหรือการใช้พันธุวิศวกรรม (genetic engineering) การตรวจวินิจฉัยโรคที่มีประสิทธิภาพเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานต่อไวรัส (อรประไพ และคณะ, 2544) ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้เป็นงานที่ศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศให้ต้านทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยคัดเลือกความต้านทานด้วยเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว (whiteflies-transmitted inoculation) และตรวจสอบการติดเชื้อด้วยวิธี sandwich ELISA ซึ่งคาดหวังว่าจะได้พันธุ์มะเขือเทศที่ต้านทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศเพื่อใช้เป็นสายพันธุ์ตั้งต้นในการสร้างลูกผสมที่ต้านทานต่อไป

วิธีการศึกษา

ปรับปรุงพันธุ์ โดยใช้วิธีผสมผสานระหว่างการจดบันทึกประวัติ (pedigree method) ร่วมกับการผสมกลับ (backcrossing) ระหว่างพันธุ์ต้านทาน คือ พันธุ์ H-24 ใช้เป็นสายพันธุ์พ่อ มียีนต้านทาน Ty-2 ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 11 มีลักษณะความต้านทานเป็นแบบยีนข่ม (dominant gene) (Hanson *et al*., 2000) ซึ่งได้รับการถ่ายทอดความต้านทานมาจากมะเขือเทศสายพันธุ์ป่า *L.hirsutum* f. *glabatum* accession B6013 (Kalloo and Banerjee, 1990) โดยผสมเข้ากับสายพันธุ์แม่ คือ พันธุ์ CT1 และพันธุ์ CT2 ที่อ่อนแอต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลือง และคัดเลือกความต้านทานโรคด้วยวิธีการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว โดยคัดเลือกลูกผสมเฉพาะต้นที่มีความต้านทานระดับคะแนน 1 คือ แสดงอาการเล็กน้อย (ขอบใบเหลืองและม้วนเล็กน้อย) ให้ผสมกลับเข้าไปยังสายพันธุ์แม่ ทำการผสมกลับ 2 ครั้ง เพื่อถ่ายทอดลักษณะทางพืชสวนจากสายพันธุ์แม่มายังลูกผสม จากนั้นให้ผสมตัวเองเพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) **(Figure 1)** นำลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) มาคัดเลือกความต้านทานโรคด้วยเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว และตรวจวินิจฉัยโรคโดยใช้วิธี sandwich ELISA (อรประไพ และคณะ, 2544) โดยนำมะเขือเทศลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 10 สายพันธุ์ ประกอบด้วย ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT1 x H24 และลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT 2 x H24 ระดับคะแนน 1 อย่างละ 5 สายพันธุ์ (line) เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อ (H24) พันธุ์แม่ (CT1 และ CT 2) และพันธุ์ควบคุม (CLN 2026D) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) 3 ซ้ำๆ ละ 15 ตัวอย่าง รวม 45 ตัวอย่างต่อสายพันธุ์

การปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว

นำมะเขือเทศทั้ง 14 สายพันธุ์ มาเพาะกล้าในโรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาดช่อง 40 ช่องต่อมิลลิเมตร

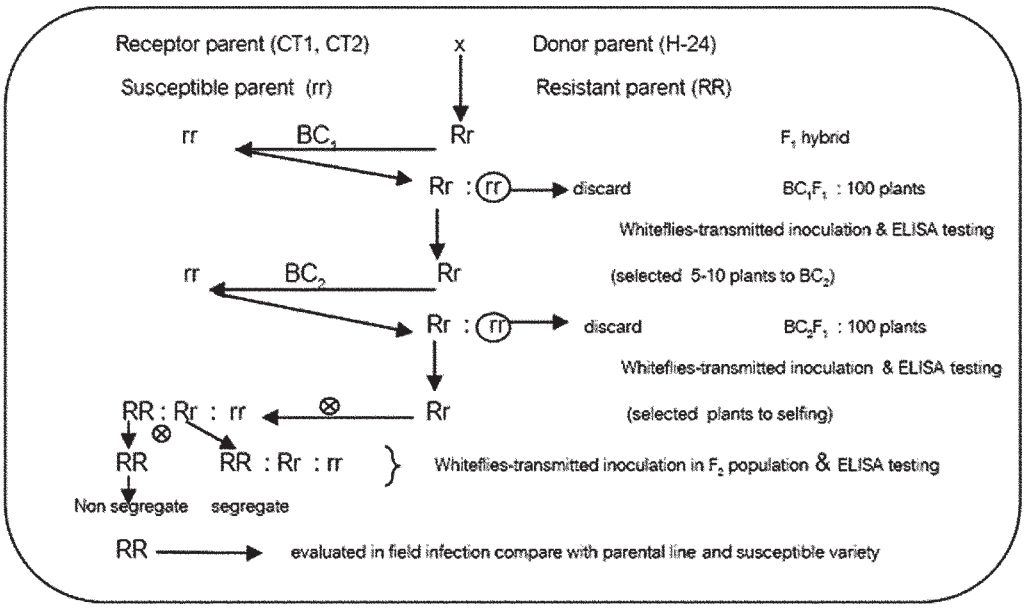


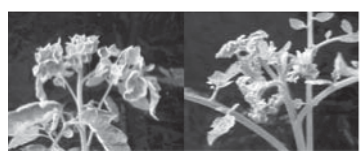
Figure 1 Diagram of tomato breeding for tomato yellow leaf curl virus resistance.

a) Symptom severity score 0 = no visible symptoms, an inoculated plant show similar growth and development as noninoculated plant.

b) Symptom severity score 1= very slightly yellowing of leaflet margins on apical leaf of an inoculated plant.

c) Symptom severity score 2 = some yellowing and minor curling of leaflet ends of an inoculated plant.

d) Symptom severity score 3 = a wide range of leaf yellowing, curling and cupping, with some reduction in size of an inoculated plant.



e) Symptom severity score 4 = very severe plant stunting and yellowing, pronounced leaf cupping and curling of an inoculated plant.

Figure 2 Symptom severity scores 0 to 4 of tomato yellow leaf curl virus in tomato.

เพาะกล้าในกระถางขนาด 2 นิ้ว ใช้วัสดุพีทมอส (peat moss) ปลูกเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศในสายพันธุ์ทดสอบ โดยนำแมลงหวี่ขาวที่ปลอดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศที่เลี้ยงไว้บนต้นมันเทศในโรงเรือนเลี้ยงแมลง ย้ายมาไว้บนต้นมะเขือเทศที่ติดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ เพื่อให้ดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นเป็นโรค ปล่อยให้ดูดกินน้ำเลี้ยงในกรงตาข่ายเลี้ยงแมลงหวี่ขาวนาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นย้ายแมลงมาไว้บนต้นกล้ามะเขือเทศสายพันธุ์ทดสอบอายุ 14 วัน หลังหยอดเมล็ด โดยใช้แมลงหวี่ขาวจำนวน 10-15 ตัวต่อต้น ปล่อยให้ดูดกินน้ำเลี้ยงนาน 8 ชั่วโมง จากนั้นจึงพ่นสารฆ่าแมลง ได้แก่ อะบาเม็กตินและเมโธมิล (abamectin and methomyl) เก็บรักษาต้นกล้ามะเขือเทศไว้ 3 สัปดาห์ จึงประเมินผลความรุนแรงของการเกิดโรค โดยแบ่งการให้คะแนนออกเป็น 5 ระดับ **(Figure 2)** ดังนี้ (Pico et al., 1998)

0 = ไม่แสดงอาการ

1 = แสดงอาการเล็กน้อย (ขอบใบเหลืองและม้วนเล็กน้อย)

2 = แสดงอาการปานกลาง (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองเล็กน้อย ใบม้วนปานกลาง)

3 = แสดงอาการรุนแรง (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองมาก ใบม้วน)

4 = แสดงอาการรุนแรงมาก (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองมาก ใบม้วนมาก ใบมีขนาดเล็กลง แคระแกร็น)

จากนั้นคัดเลือกพันธุ์ที่ผ่านการปลูกเชื้อแล้วมาปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ในสภาพแปลงทดสอบ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design: RCBD) 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัวอย่าง รวม 30 ตัวอย่าง ต่อสายพันธุ์ ประกอบด้วย พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ทั้ง 2 กลุ่ม คือ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT1 x H 24 ระดับคะแนน 1 **(Figure 3)** และระดับคะแนน 2 พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT 2 x H 24 ระดับคะแนน 1 **(Figure 4)** และระดับคะแนน 2 พันธุ์ H 24 **(Figure 5)** พันธุ์แม่ (CT 1 และ CT 2) และพันธุ์ควบคุม **(Figure 6)** โดยเปรียบเทียบการติดผลและการพัฒนาอาการของโรค

การตรวจวินิจฉัยโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศโดยใช้เทคนิค sandwich ELISA (อรประไพ และคณะ, 2544) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) มีหน่วยทดลอง คือ พันธุ์พืช 8 สายพันธุ์ แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ซ้ำๆ ละ 5 ตัวอย่าง โดยคัดเลือก ลูกผสมชั่วที่ 2 ทั้ง 2 กลุ่ม คือ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT1xH24 ระดับคะแนน 1 และ 2 พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT2xH24 ระดับคะแนน 1 และ 2 พันธุ์พ่อแม่และพันธุ์ควบคุม ซึ่งผ่านการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวแล้ว มาตรวจวินิจฉัยโรคเปรียบเทียบกับมะเขือเทศปกติที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว โดยตรวจสอบและวินิจฉัยโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศด้วยวิธี sandwich ELISA โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร

Figure 3 F_2 CT1xH24 score 1 at 39 days post inoculation.

Figure 4 F_2 CT2xH24 score 1 at 39 days post inoculation.

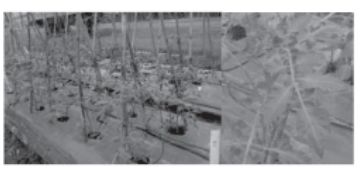


Figure 5 H24 score 1 at 39 days post inoculation.

Figure 6 CLN 2026D score 4 at 39 days post inoculation.

ผลการศึกษา

ความรุนแรงของการเกิดโรคของมะเขือเทศพันธุ์ที่ทดสอบมีระดับความรุนแรง 1.09-3.40 **(Table 1)** ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพันธุ์ H 24 มีระดับความรุนแรงของโรคต่ำสุดคือ 1.09 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกพันธุ์ ส่วนลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT1 x H24 ทั้ง 5 สายพันธุ์ คือ CT1xH24-1-12, CT1xH24-1-24, CT1xH24-2-15, CT1xH24-2-20 และ CT1xH24-3-20 มีระดับความรุนแรง 2.50 2.13 2.42 1.93 และ 2.23 ตามลำดับ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT2xH24 3 สายพันธุ์ คือ CT2xH24-2-6, CT1xH24-3-1 และ CT1xH24-3-4 มีระดับความรุนแรงของโรค 1.62 2.28 และ 1.58 ตามลำดับ ทั้งหมดมีระดับความรุนแรงของอาการโรคแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์ CT1 พันธุ์ CT2 และพันธุ์ควบคุม CLN2026D ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรค 3.11, 3.11 และ 3.40 ตามลำดับ ส่วนลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT2xH24-1-9 และ CT2xH24-1-12 มีระดับความรุนแรงของอาการโรค 2.89 และ 3.21 ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์แม่ทั้ง 2 สายพันธุ์ ส่วนพันธุ์ควบคุม CLN2026D มีระดับความรุนแรงของอาการโรคแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกสายพันธุ์ ยกเว้นลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT2xH24-1-9 ไม่มีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์ CLN 2026D

ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร **(Table 2)** พบว่า มะเขือเทศที่ทดสอบให้ค่าการดูดกลืนแสง 0.2399-1.5820 มะเขือเทศพันธุ์ H24 ระดับคะแนน 1 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.2399 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับมะเขือเทศปกติ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 CT1xH24 ระดับคะแนน 1 และ 2 และพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 CT2xH24 ระดับคะแนน 1 และ 2 ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสง 0.2410 0.2549 0.2565 0.2549 และ 0.2565 ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความ

Table 1 Disease scores on tomato plants in F_2 populations CT1 CT2 H24 and CLN 2026D by whitefly - transmitted inoculation.

line	symptom severity[1/] [21 days post inoculation]
F_2 CT1xH24-1-12	2.50 e
F_2 CT1xH24-1-24	2.13 cd
F_2 CT1xH24-2-15	2.42 e
F_2 CT1xH24-2-20	1.93 c
F_2 CT1xH24-3-4	2.23 de
F_2 CT2xH24-1-9	2.89 f
F_2 CT2xH24-1-12	3.21 gh
F_2 CT2xH24-2-6	1.62 b
F_2 CT2xH24-3-1	2.28 de
F_2 CT2xH24-3-4	1.58 b
CT 1	3.11 fg
CT 2	3.11 fg
H 24	1.09 a
CLN 2026D	3.40 h
F-test	*
$LSD_{.05}$	0.27
% CV	2.57

[1/] Mean within the same column followed by different letters were significant different according to LSD ($P<0.05$).

Table 2 Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) detection by using sandwich ELISA on tomato plants in F_2 populations CT1 CT2 H24 and CLN 2026D.

line	Absorbance at 405 nm[1/] 21 days post inoculation
F_2 CT1xH24 scored 1	0.2549 a
F_2 CT1xH24 scored 2	0.2565 a
F_2 CT2xH24 scored 1	0.2501 a
F_2 CT2xH24 scored 2	0.2472 a
CT 1 scored 3	0.3851 b
CT 2 scored 4	1.3825 c
H24 scored 1	0.2399 a
CLN 2026D scored 4	1.5820 d
Healthy plant	0.2416 a
F-test[2/]	*
$LSD_{.05}$	0.1045
% CV	7.0981

[1/] Mean within the same column followed by different letters were significant different according to LSD ($P<0.05$).

แตกต่างกับพันธุ์ CT 1 ระดับคะแนน 3 พันธุ์ CT2 ระดับคะแนน 4 และพันธุ์ควบคุม ระดับคะแนน 4 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.3851 1.3825 และ 1.5820 ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงของพันธุ์ CT1 ระดับคะแนน 3 พันธุ์ CT2 ระดับคะแนน 4 และพันธุ์ควบคุม ระดับคะแนน 4 ทั้ง 3 พันธุ์ มีค่าการดูดกลืนแสงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of correlation) ระหว่างระดับความรุนแรงของอาการโรคกับปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในต้นมะเขือเทศ โดยสังเกตจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ในมะเขือเทศพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 พบว่า ให้ค่าเท่ากับ 0.85 แสดงว่าระดับความรุนแรงของอาการโรคมีความสัมพันธ์ทางบวก (positive correlation) กับปริมาณเชื้อที่พบในต้นมะเขือเทศ แสดงให้เห็นว่าพันธุ์ที่มีระดับความรุนแรงของอาการโรคต่ำ มีปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบต่ำด้วย

จากการปลูกเปรียบเทียบพันธุ์มะเขือเทศลูกผสมชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 และ 2 ทั้ง 2 กลุ่ม เทียบกับพันธุ์พ่อแม่ และพันธุ์ควบคุม ซึ่งผ่านการปลูกเชื้อไวรัสใบหงิกเหลือง พบว่า ทุกสายพันธุ์มีการพัฒนาอาการโรคเพิ่มขึ้น แต่พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 ทั้ง 2 กลุ่ม สามารถให้ผลผลิตได้ ในขณะที่พันธุ์ H 24 การติดผลต่ำ ส่วนพันธุ์แม่และพันธุ์ควบคุมไม่สามารถให้ผลผลิตได้เลย จึงได้คัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2 ที่แสดงความทนทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลือง ระดับคะแนน 1 ดังนี้ คือ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT1xH 24 จำนวน 6 สายพันธุ์ และพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ CT2xH24 จำนวน 5 สายพันธุ์ ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้สามารถให้ผลผลิตได้ รวมถึงมีลักษณะผลผลิตทางพืชสวนที่ดีด้วย โดยให้ผลิตลูกผสมชั่วที่ 3 (F_3) เพื่อสร้างสายพันธุ์แท้ที่ทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองต่อไป

วิจารณ์

การศึกษาการคัดเลือกความต้านทานโรคโดยใช้เทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว ในลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) เปรียบเทียบกับพันธุ์ต้านทาน H24 พันธุ์ CT1 พันธุ์ CT2 และพันธุ์ควบคุม CLN2026D พบว่า ในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของความต้านทานโรค ให้ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของอาการโรค อยู่ในระดับปานกลางระหว่าง 1.58-3.21 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์

H24 และส่วนใหญ่มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าพันธุ์ CT1 พันธุ์ CT2 และพันธุ์ควบคุม เป็นไปในทางเดียวกันกับงานทดลองของ Vidavsky and Czosnek (1998) ประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของความต้านทานโรคเช่นกัน โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ต้านทาน กลุ่มที่ทนทาน และกลุ่มที่อ่อนแอ และในประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 มีความคงตัวของลักษณะความต้านทานและทนทานโรค ซึ่งพบว่าลักษณะที่ต้านทานถูกควบคุมด้วยยีนด้อย 2-3 ยีน เป็นแบบยีนผลบวก ส่วนลักษณะทนทานถูกควบคุมด้วยยีนข่มหลัก

ดังนั้น จึงคัดเลือกต้นที่ต้านทานระดับคะแนน 1 และ 2 นำไปตรวจวินิจฉัยโรค โดยใช้วิธี sandwich ELISA เพื่อสนับสนุนความต้านทานที่เกิดขึ้นของลูกผสมชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 และ 2 เปรียบเทียบกับพันธุ์ H 24 ระดับคะแนน 1 พันธุ์ CT1 ระดับคะแนน 3 พันธุ์ CT2 ระดับคะแนน 4 และพันธุ์ควบคุม ระดับคะแนน 4 พบว่าเมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ให้ค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์ H24 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์แม่ทั้งสองและพันธุ์ควบคุม แสดงให้เห็นว่าในต้นพืชที่แสดงความรุนแรงของอาการโรคระดับคะแนน 1 และ 2 มีปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบน้อย ส่วนในต้นพืชที่แสดงความรุนแรงของอาการโรค ระดับคะแนน 3 และ 4 มีปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบมาก จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของอาการโรคกับปริมาณเชื้อไวรัสที่พบในต้นพืชของลูกผสมชั่วที่ 2 พบว่าความรุนแรงของอาการโรคมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืช ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Rubio et al. (2003) พบว่า ความรุนแรงของอาการโรคมีสหสัมพันธ์ในแง่บวกกับปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืช โดยตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค tissue-printing hybridization และเทคนิคนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการประเมินความทนทานในช่วงแรกได้ ในทำนองเดียวกัน Lapidot et al. (2001) ศึกษาอัตราการถ่ายทอดโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศโดยแมลงหวี่ขาว พบว่า อัตราการถ่ายทอดเชื้อไวรัสมีสหสัมพันธ์ทางลบกับระดับความต้านทาน พืชที่มีระดับความต้านทานสูงมีอัตราการถ่ายทอดเชื้อต่ำ และการสะสมของดีเอ็นเอไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศในพืชที่ต้านทานมีปริมาณต่ำกว่าพืชที่อ่อนแอด้วย เช่นเดียวกับงานทดลองของ Lapidot et al. (1997) เปรียบเทียบความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศระหว่างสายพันธุ์การค้าและสายพันธุ์แท้ พบว่า ระดับความต้านทานไวรัสมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับการสะสมดีเอ็นเอไวรัสเช่นกัน โดยตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอไวรัสด้วยวิธี dot blot hybridization พบว่า พันธุ์ TY 172 และ TY 197 มีระดับความต้านทานโรคสูงที่สุดและมีปริมาณดีเอ็นเอไวรัสที่ระดับต่ำสุดด้วย

การศึกษาครั้งนี้สนับสนุนสายพันธุ์เอช 24 ว่า สามารถใช้เป็นสายพันธุ์ถ่ายทอดยีนต้านทานได้ ซึ่งได้รับการถ่ายทอดความต้านทานมาจาก *L. hirsutum* f. *glabatum* accession B6013 (Kalloo and Banerjee, 1990) Hanson et al. (2000) พบว่า มีตำแหน่งยีนต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 11 ระหว่าง TG 36 ถึง TG 393 มีระยะห่าง 14.6 cM โดยใช้การปรับปรุงพันธุ์แบบผสมผสานระหว่างการจดบันทึกประวัติร่วมกับการผสมกลับ และคัดเลือกความต้านทานโดยใช้การปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวร่วมกับการวินิจฉัยโรคโดยใช้วิธี ELISA สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกความต้านทานโรคได้

สรุป

ประชากรพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ยังมีการกระจายตัวของความต้านทานโรค ให้ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคอยู่ระดับปานกลางระหว่าง 1.58-3.21 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์ H24 แต่ส่วนใหญ่มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าพันธุ์ CT1 พันธุ์ CT2 และพันธุ์ CLN2026D ประชากรพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 และ 2 เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์ควบคุม พบว่า มีปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืชน้อย ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ไม่แตกต่างจากพันธุ์ H24 แต่แตกต่างจากพันธุ์แม่ทั้งสองและพันธุ์ควบคุม ซึ่งมีปริมาณเชื้อ

ไวรัสที่ตรวจพบมาก เมื่อวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของอาการโรคกับปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืช พบว่า ระดับความรุนแรงของอาการโรคที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณเชื้อไวรัส และสามารถคัดเลือกพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 จำนวน 10 สายพันธุ์ ที่สามารถให้ผลผลิตได้และมีลักษณะทางพืชสวนที่ดี ให้ผลิตลูกผสมชั่วที่ 3 เพื่อสร้างสายพันธุ์แท้ที่ทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

อรประไพ คชนันท์, นุชนาถ วารินทร์, ชาญณรงค์ ศรีภิบาล, รัชนี ฮงประยูร และสุพัฒน์ อรรถธรรม. 2544. การผลิตโมโนโคนอลแอนติบอดีต่อโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศและไวรัสในกลุ่ม. หน่วยปฏิบัติการพันธุวิศวกรรมด้านพืช ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อรวรรณ ชัชวาลการพาณิชย์. 2544. เจมิไนไวรัสที่เข้าทำลายพืช. หน่วยปฏิบัติการพันธุวิศวกรรมด้านพืช ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Czosnek, H. and H. Laterrot. 1997. A world wild survey of tomato yellow leaf curl viruses. Arch. Virol 142: 1391-1406.

Hanson, P. M., D. Bernacchi, S. K. Green, S. D. Tanksley, V. Muniyappa, A. S. Padmaja, H. M. Chen, G. Kuo, D. Fang and J. T. Chen. 2000. Mapping a wild tomato introgression associated with tomato yellow leaf curl virus resistance in a cultivated tomato line. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 125(1): 15-20.

Kalloo, G. and M. K. Banerjee. 1990. Transfer of tomato leaf curl virus resistance from *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to *L. esculentum*. Plant Breeding 105: 156-159.

Kasrawi, M.A., M.A. Suwwan and A. Mansour. 1988. Sources of resistance to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in *Lycopersicon* species. Euphytica 37: 61-64.

Lapidot, M., M. Friedmann, O. Lachman, A. Yehezkel, S. Nahon, S. Cohen and M. Pilowsky. 1997. Comparison of resistance level to tomato yellow leaf curl virus among commercial cultivars and breeding lines. Plant diseases 81: 1425-1428.

Lapidot, M., M. Friedmann, M. Pilowsky, R. Ben-Joseph and S. Cohen. 2001. Effect of host plant resistance to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) on virus acquisition and transmission by its whitefly vector. Phytopathology 91: 1209-1213.

Lapidot, M. and M. Friedmann. 2000. Breeding for resistance to whitefly-transmitted geminiviruses. Annuals of Applied Biology 140(2): 109-127.

Moriones, E. 2000. TYLCV datasheet. EWSN, Norwich.

Nakhla, M. K., D. P. Maxwell, R. T. Martinez, M. G. Carvaeho and R. L. Gilbertson. 1994. Widespread occurrence of the eastern Mediterranean strain of tomato yellow leaf curl geminivirus in tomatoes in the Dominican Republic. Plant Disease 78: 926.

Picó, B. M, J. Díez and F. Nuez. 1998. Evaluation of whitefly-mediated inoculation techniques to screen *Lycopersicon esculentum* and wild relatives for resistance to tomato yellow leaf curl virus. Euphytica 101: 259-271.

Rubio, L., J.R. Herrero, J. Sarrió, P. Moreno and J. Guerri. 2003. A new approach to evaluate relative resistance and tolerance of tomato cultivars to begomoviruses causing the tomato yellow leaf curl disease in Spain. Plant Pathology 52: 763-769.

Vidavsky, F. and H. Czosnek. 1998. Tomato breeding lines immune and tolerant to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) issued from *Lycopersicon hirsutum*. Phytopathology 88: 910-914.