

การปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลือง ของมะเขือเทศ

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/}

Abstract: Improvement of tomato for resistance to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) was 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. In F₂ generation showed moderately level of resistance with scores ranging from 1.58 - 3.21. Segregation of disease resistance was observed among the population. The F₂ populations (scoring 1 or 2) showed absorbance ranging from 0.247 - 0.2565 which were not statistically different from H24 and showed lower virus titer. However, they were significantly different from CT-1,CT-2 and susceptible control. The absorbance of inbred were 0.3851 1.3825 and 1.5820, respectively. The disease severity and virus titer in infected plants of F₂ populations showed positive correlation. From this breeding experiment, 6 lines selected from F₂CT-1xH-24 and 5 lines selected from F₂ CT-2xH-24 showing TYLCV resistance with the score of 1 were obtained.

Keywords: Tomato, TYLCV

^{1/}ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

^{2/}ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

^{1/}Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

^{2/}Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

บทคัดย่อ: การปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศให้ต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลือง (Tomato Yellow Leaf Curl Virus; TYLCV) โดยใช้วิธีผสมผสานระหว่างการจดบันทึกประวัติ และการผสมกลับระหว่างพันธุ์เฮ 24 ซึ่งต้านทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองผสมกับพันธุ์อ่อนแอ คือ พันธุ์ซีที 1 และพันธุ์ซีที 2 โดยถ่ายทอดเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวและใช้วิธี sandwich ELISA ในการตรวจวินิจฉัยโรค ในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) พบว่า ให้ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคระดับปานกลางอยู่ระหว่าง 1.58-3.21 และยังมีการกระจายตัวของความต้านทานโรคอยู่ในลูกผสม ชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 และ 2 มีปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบน้อย ให้ค่าการดุกกลืนแสงอยู่ระหว่าง 0.247-0.2565 ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากพันธุ์เฮ 24 แต่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์ซีที 1 พันธุ์ซีที 2 และพันธุ์ควบคุม ซึ่งมีปริมาณไวรัสที่ตรวจพบมาก มีค่าการดุกกลืนแสง คือ 0.3851 1.3825 และ 1.5820 ตามลำดับ การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของอาการโรคกับปริมาณเชื้อไวรัสที่พบในต้นพืช พบว่า ความรุนแรงของอาการโรคมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืช ผลการศึกษา สามารถคัดเลือกพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองระดับคะแนน 1 ดังนี้ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของซีที1xเฮ 24 จำนวน 6 สายพันธุ์ และพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของซีที2xเฮ24 จำนวน 5 สายพันธุ์

คำสำคัญ: มะเขือเทศ ไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ

บทนำ

ไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศจัดเป็นกลุ่ม geminivirus อยู่ในวงศ์ Geminiviridae สกุล Begomovirus สามารถถ่ายทอดโดยแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci* (Gennadius) (Czosnek and Laterrot, 1997) โรคไวรัสใบหงิกเหลืองสร้างความเสียหายอย่างมากให้กับการปลูกมะเขือเทศ โรคชนิดนี้พบการแพร่ระบาดทั่วไปทั้งในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน รวมทั้งประเทศไทยด้วย พบว่าถ้ามะเขือเทศถูกแมลงหวี่ขาวที่มีเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองเข้าทำลายอาจทำให้ผลผลิตมะเขือเทศลดลงมากหรือสูญเสียถึง 100% โดยเฉพาะถ้าเชื้อเข้าทำลายในช่วงแรกของการเจริญเติบโต (Moriones, 2000) ลักษณะอาการของโรคโดยทั่วไปที่พบคือ อาการใบหงิกเหลืองและขอบใบม้วน ผิวใบไม่เรียบ ใบอ่อนที่แตกใหม่จะมีขนาดเล็กงอและหงิกงอ ต้นแคระแกร็น และชะงักการเจริญเติบโต ดอกเป็นหมันและร่วง ส่งผลทำให้ผลผลิตลดลง (อรรณ, 2544) การควบคุมโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศมีหลายวิธี เช่น การใช้สารเคมีควบคุมแมลงพาหะ การปลูกพืชหมุนเวียน และการใช้พันธุ์ต้านทานโรค (Nakhla *et al.*, 1994) วิธีการที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด คือ การใช้สายพันธุ์ทนทานหรือต้านทาน (Kasrawi *et al.*, 1988) Lapidot and Friedmann (2002) กล่าวว่า วิธีการที่มี

ประสิทธิภาพที่สุด เพื่อลดความเสียหายเนื่องจากเชื้อเจมิโนไวรัส คือ การปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อไวรัส โดยใช้การปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) และหรือการใช้พันธุวิศวกรรม (genetic engineering) การตรวจวินิจฉัยโรคที่มีประสิทธิภาพเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานต่อไวรัส (อรรณ, 2544) ดังนั้น งานทดลองครั้งนี้ จึงเป็นงานที่ศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศให้ต้านทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยคัดเลือกความต้านทานด้วยเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว (whiteflies-transmitted inoculation) และตรวจสอบการติดเชื้อด้วยวิธี sandwich ELISA ซึ่งคาดหวังว่าจะได้พันธุ์มะเขือเทศที่ต้านทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ เพื่อใช้เป็นสายพันธุ์ตั้งต้นในการสร้างลูกผสมที่ต้านทานต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การปรับปรุงพันธุ์ โดยใช้วิธีผสมผสานระหว่างการจดบันทึกประวัติ (pedigree method) ร่วมกับการผสมกลับ (backcrossing) ระหว่างพันธุ์ต้านทานคือพันธุ์เฮ 24 (H-24) ใช้เป็นสายพันธุ์พ่อ มียืนต้านทาน Ty-2 ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 11 มีลักษณะความต้านทานเป็น

แบบยีนเด่น (dominant gene) (Hanson *et al.*, 2000) ซึ่งได้รับการถ่ายทอดความต้านทานมาจากมะเขือเทศสายพันธุ์ป่า *L. hirsutum* f. *glabatum* accession B6013 (Kalloo and Banerjee, 1990) โดยผสมเข้ากับสายพันธุ์แม่คือ พันธุ์ซีที 1 (CT1) และพันธุ์ซีที 2 (CT2) ที่อ่อนแอต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลือง และคัดเลือกความต้านทานโรคด้วยวิธีการปลูกเชื้อด้วยแมลงหมีขาว โดยคัดเลือกลูกผสมเฉพาะต้นที่มีความต้านทานระดับคะแนน 1 ให้ผสมกลับเข้าไปยังสายพันธุ์แม่ทำการผสมกลับ 2 ครั้ง เพื่อถ่ายทอดลักษณะทางพืชสวนจากสายพันธุ์แม่มายังลูกผสม จากนั้นให้ผสมตัวเองเพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) (ภาพที่ 1) นำลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) มาคัดเลือกความต้านทานโรคด้วยเทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหมีขาว และตรวจวินิจฉัยโรคโดยใช้วิธี sandwich ELISA (อรประไพ และคณะ, 2544) โดยนำมามะเขือเทศลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 10 สายพันธุ์ ประกอบด้วย ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที 1xเอช 24 และลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที 2xเอช 24 ระดับคะแนน 1 อย่างละ 5 สายพันธุ์ (line) เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อ (H24) พันธุ์แม่ (CT1 และ CT 2) และพันธุ์ควบคุม ซีแอลเอ็น 2026ดี (CLN 2026D) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) 3 ซ้ำ ๆ ละ 15 ตัวอย่าง รวม 45 ตัวอย่าง ต่อสายพันธุ์

การปลูกเชื้อด้วยแมลงหมีขาว โดยนำมามะเขือเทศทั้ง 14 สายพันธุ์ มาเพาะกล้าในโรงเรือนตาข่ายกันแมลง ขนาดช่อง 40 ช่องต่อมิลลิเมตร เพาะกล้าในกระถางขนาด 2 นิ้ว ใช้วัสดุพีทมอส (peat moss) การปลูกเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศในสายพันธุ์ทดสอบ โดยนำแมลงหมีขาวที่ปลอดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศที่เลี้ยงไว้บนต้นมันเทศในโรงเรือนเลี้ยงแมลง ย้ายมาไว้บนต้นมะเขือเทศที่ติดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ เพื่อให้ดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นเป็นโรค ปล่อยให้ดูดกินน้ำเลี้ยงในกระถางตาข่ายกันแมลงหมีขาวนาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นย้ายแมลงมาไว้บนต้นกล้ามะเขือเทศสายพันธุ์ทดสอบ อายุ 14 วัน หลังหยอดเมล็ด โดยใช้แมลงหมีขาวจำนวน 10-15 ตัวต่อต้น ปล่อยให้ดูดกินน้ำเลี้ยงนาน 8 ชั่วโมง จากนั้นจึงพ่นสารฆ่าแมลง ได้แก่ อะบาเม็กติน และเมโทมิล เก็บรักษาต้นกล้ามะเขือเทศไว้ 3 สัปดาห์

จึงประเมินผลความรุนแรงของการเกิดโรค โดยแบ่งการให้คะแนนออกเป็น 5 ระดับ (ภาพที่ 2) ดังนี้ (Pico *et al.*, 1998)

0 = ไม่แสดงอาการ

1 = แสดงอาการเล็กน้อย (ขอบใบเหลืองและม้วนเล็กน้อย)

2 = แสดงอาการปานกลาง (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองเล็กน้อย ใบม้วนปานกลาง)

3 = แสดงอาการรุนแรง (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองมาก ใบม้วน)

4 = แสดงอาการรุนแรงมาก (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองมาก ใบม้วนมาก ใบมีขนาดเล็กลงและกระกรั่น)

จากนั้นคัดเลือกพันธุ์ที่ผ่านการปลูกเชื้อแล้วมาปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ในสภาพแปลงทดสอบ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัวอย่าง รวม 30 ตัวอย่างต่อสายพันธุ์ ประกอบด้วย พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ทั้ง 2 กลุ่ม คือ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที 1 x เอช 24 ระดับคะแนน 1 (ภาพที่ 3) และระดับคะแนน 2 พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที 2 x เอช 24 ระดับคะแนน 1 (ภาพที่ 4) และระดับคะแนน 2 พันธุ์เอช 24 (ภาพที่ 5) พันธุ์แม่ (ซีที 1 และซีที 2) และพันธุ์ควบคุม (ภาพที่ 6) โดยเปรียบเทียบการติดผลและการพัฒนาอาการของโรค

การตรวจวินิจฉัยโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยใช้เทคนิค sandwich ELISA (อรประไพ และคณะ, 2544) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) มีหน่วยทดลองคือ พันธุ์พืช 8 สายพันธุ์ แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ซ้ำ ๆ ละ 5 ตัวอย่าง โดยคัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2 ทั้ง 2 กลุ่ม คือ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที 1 x เอช 24 ระดับคะแนน 1 และ 2 พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที 2 x เอช 24 ระดับคะแนน 1 และ 2 พันธุ์พ่อแม่ และพันธุ์ควบคุม ซึ่งผ่านการปลูกเชื้อด้วยแมลงหมีขาวแล้ว มาตรวจวินิจฉัยโรคเปรียบเทียบกับมะเขือเทศปกติที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อด้วยแมลงหมีขาว โดยตรวจสอบและวินิจฉัยโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศด้วยวิธี sandwich ELISA โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร

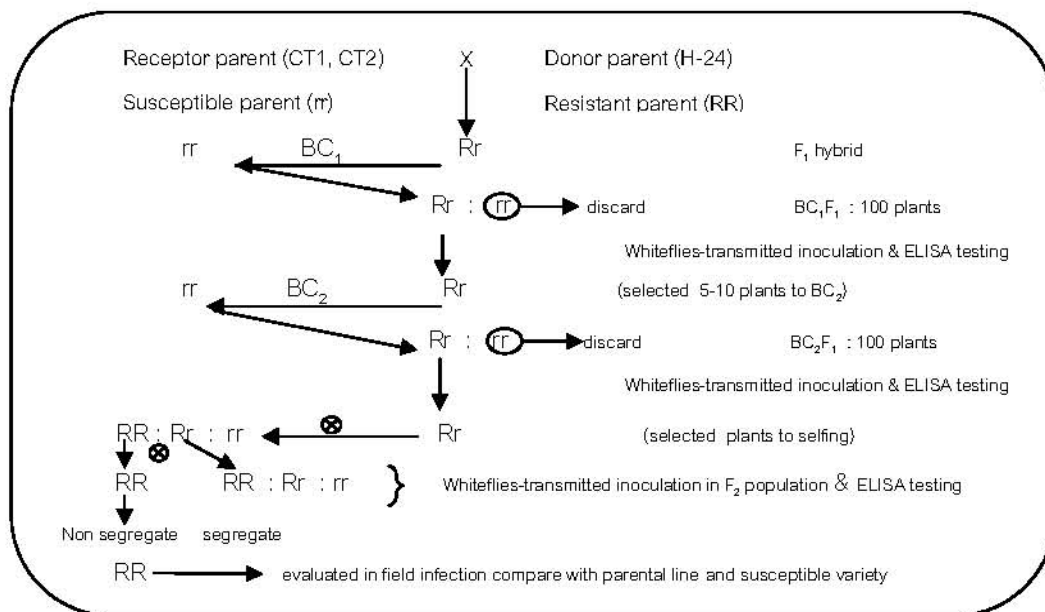


Figure 1 Diagram of tomato breeding for tomato yellow leaf curl virus resistance

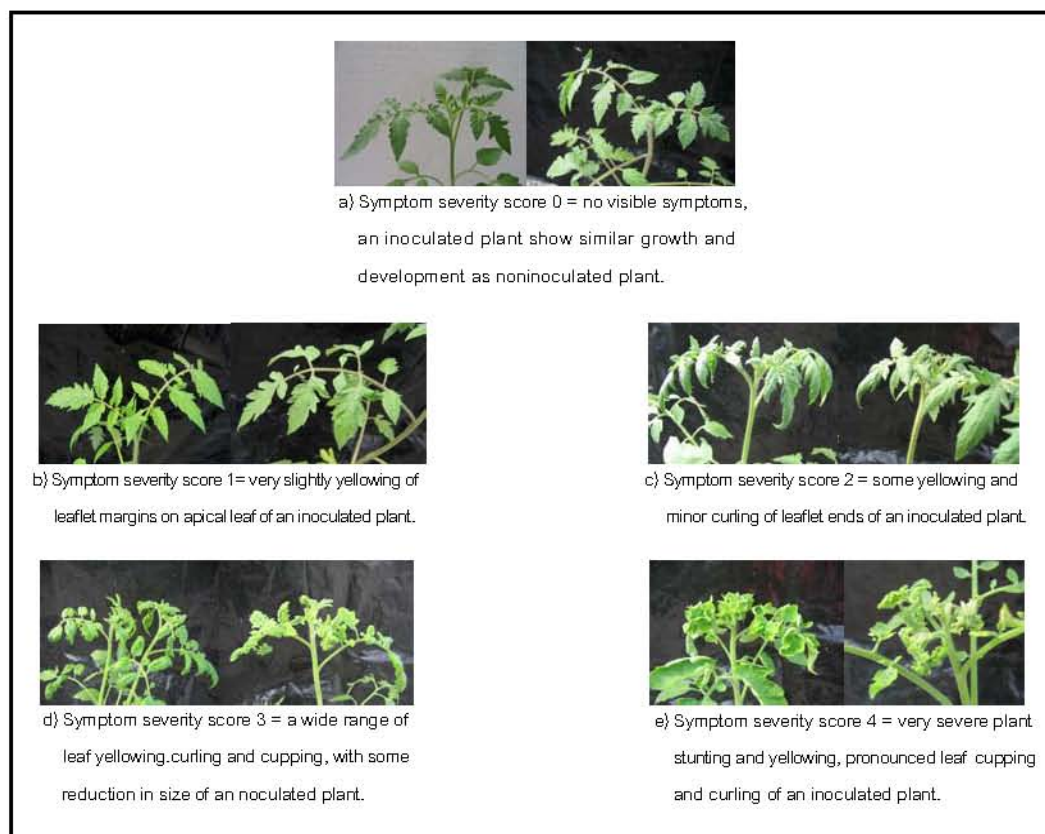


Figure 2 Symptom severity scores 0 to 4 of tomato yellow leaf curl virus in tomato



Figure 3 F₂ CT1xH24 score 1 at 39 days post inoculation.



Figure 4 F₂ 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.

ผลการทดลอง

ความรุนแรงของการเกิดโรคของมะเขือเทศพันธุ์ที่ทดสอบมีระดับความรุนแรง 1.09-3.40 (ตารางที่ 1) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพันธุ์เฮซ 24 มีระดับความรุนแรงของโรคต่ำสุดคือ 1.09 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกพันธุ์ ส่วนลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที1xเฮซ24 ทั้ง 5 สายพันธุ์ คือ ซีที1xเฮซ24-1-12, ซีที1xเฮซ24-1-24, ซีที1xเฮซ24-2-15, ซีที1xเฮซ24-2-20 และ ซีที1xเฮซ24-3-20 มีระดับความรุนแรง 2.50, 2.13, 2.42, 1.93 และ 2.23 ตามลำดับ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที2xเฮซ24 3 สายพันธุ์ คือ ซีที2xเฮซ24-2-6, ซีที1xเฮซ24-3-1 และ ซีที1xเฮซ24-3-4 มีระดับความรุนแรงของโรค 1.62, 2.28 และ 1.58 ตามลำดับ ทั้งหมดมีระดับความรุนแรงของอาการโรคแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์ซีที 1, พันธุ์ซีที 2 และพันธุ์ควบคุมซีแอลเอ็น2026ดี ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรค 3.11, 3.11 และ 3.40 ตามลำดับ ส่วนลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที2xเฮซ24-1-9 และ ซีที2xเฮซ24-1-12 มีระดับความรุนแรงของอาการโรค 2.89 และ 3.21 ตามลำดับ ไม่แตกต่างทาง

สถิติกับ พันธุ์แม่ทั้ง 2 สายพันธุ์ ส่วนพันธุ์ควบคุมซีแอลเอ็น 2026ดี มีระดับความรุนแรงของอาการโรคแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกสายพันธุ์ ยกเว้นลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที2xเฮซ24-1-9 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์ซีแอลเอ็น 2026ดี

ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร (ตารางที่ 2) พบว่า มะเขือเทศที่ทดสอบให้ค่าการดูดกลืนแสง 0.2399-1.5820 มะเขือเทศพันธุ์ เฮซ24 ระดับคะแนน 1 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.2399 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับมะเขือเทศปกติ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ซีที1xเฮซ24 ระดับคะแนน 1 และ 2 และพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ซีที2xเฮซ24 ระดับคะแนน 1 และ 2 ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสง 0.2410, 0.2549, 0.2565, 0.2549 และ 0.2565 ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างกับพันธุ์ซีที 1 ระดับคะแนน 3 พันธุ์ซีที 2 ระดับคะแนน 4 และพันธุ์ควบคุม ระดับคะแนน 4 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.3851, 1.3825 และ 1.5820 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ สำหรับค่าการดูดกลืนแสงของพันธุ์ซีที 1 ระดับคะแนน 3 พันธุ์ซีที 2 ระดับคะแนน 4 และพันธุ์ควบคุม ระดับคะแนน 4 ทั้ง 3 พันธุ์ มีค่าการดูดกลืนแสง

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

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 ในขณะที่พันธุ์เฮช 24 การติดผลต่ำ ส่วนพันธุ์แม่และพันธุ์ควบคุมไม่สามารถให้ผลผลิตได้เลย จึงได้คัดเลือกลูกผสมชั่วที่ 2 ที่แสดงความทนทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลือง ระดับคะแนน 1 ดังนี้ คือ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เฮช 24 จำนวน 6 สายพันธุ์ และพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เฮช 24 จำนวน 5 สายพันธุ์ ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้ สามารถให้ผลผลิตได้ รวมถึงมีลักษณะผลผลิตทางพืชสวนที่ดีด้วย โดยให้ผลผลิตลูกผสมชั่วที่ 3 (F_3) เพื่อสร้างสายพันธุ์แท้ที่ทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองต่อไป

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/}The means in the same column followed by different letter were significantly different at $P \leq 0.05$ by LSD.

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/}The mean in the same column followed by different letters were significant difference at $P \leq 0.05$ by LSD

วิจารณ์

การศึกษาการคัดเลือกความต้านทานโรคโดยใช้เทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหริ่งขาว ในลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) เปรียบเทียบกับพันธุ์ต้านทานเฮซ 24 พันธุ์ซีที 1 พันธุ์ซีที 2 และพันธุ์ควบคุมซีแอลเอ็น 2026 ดี พบว่า ในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 มีการกระจายตัวของความต้านทานโรค ซึ่งในลูกผสมชั่วที่ 2 นี้ ให้ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของอาการโรค อยู่ในระดับปานกลางระหว่าง 1.58-3.21 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์เฮซ 24 และส่วนใหญ่มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าพันธุ์ซีที 1 พันธุ์ซีที 2 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 เปรียบเทียบกับพันธุ์เฮซ 24 ระดับคะแนน 1 พันธุ์ซีที 1 ระดับคะแนน 3 พันธุ์ซีที 2 ระดับคะแนน 4 และพันธุ์ควบคุม ระดับคะแนน 4 พบว่า เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ให้ค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์เฮซ 24 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์แม่ทั้งสองและพันธุ์ควบคุม แสดงให้เห็นว่าในต้นพืชที่แสดงความรุนแรงของอาการโรคระดับคะแนน 1 และ 2 มีปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบน้อย ส่วนในต้นพืชที่แสดงความรุนแรงของอาการโรค ระดับคะแนน 3 และ 4 มีปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบมาก จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของอาการโรคกับปริมาณเชื้อไวรัสที่พบในต้นพืชของลูกผสมชั่วที่ 2 พบว่า ความรุนแรงของอาการโรคมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืช ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Rubio *et al.* (2003)

พบว่า ความรุนแรงของอาการโรคมีสหสัมพันธ์ในแง่บวกกับปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืช โดยตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค tissue-printing hybridization และเทคนิคนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการประเมินความทนทานในช่วงแรกได้ ในทำนองเดียวกัน Lapidot *et al.* (2001) ศึกษาอัตราการถ่ายทอดโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศโดยแมลงหวี่ขาว พบว่า อัตราการถ่ายทอดเชื้อไวรัสมีสหสัมพันธ์ทางลบกับระดับความต้านทานพืชที่มีระดับความต้านทานสูงมีอัตราการถ่ายทอดเชื้อต่ำ และการสะสมของดีเอ็นเอไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศในพืชที่ต้านทานมีปริมาณต่ำกว่าพืชที่อ่อนแอด้วย เช่นเดียวกับงานทดลองของ Lapidot *et al.* (1997) เปรียบเทียบความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศระหว่างสายพันธุ์การค้าและสายพันธุ์แท้ พบว่า ระดับความต้านทานไวรัสมีสหสัมพันธ์ทางบวกกับการสะสมดีเอ็นเอไวรัสเช่นกัน โดยตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอไวรัสด้วยวิธี dot blot hybridization พบว่า พันธุ์ TY 172 และ TY 197 มีระดับความต้านทานโรคสูงที่สุดและมีปริมาณดีเอ็นเอไวรัสที่ระดับต่ำสุดด้วย

งานทดลองครั้งนี้สนับสนุนสายพันธุ์เอช 24 ว่าสามารถใช้เป็นสายพันธุ์ถ่ายทอดยีนต้านทานได้ 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 เซนติเมอร์แกน โดยให้การปรับปรุงพันธุ์แบบผสมผสานระหว่างการจดบันทึกประวัติร่วมกับการผสมกลับ และคัดเลือกความต้านทานโดยใช้การปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวร่วมกับการวินิจฉัยโรคเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกความต้านทานโรคได้

สรุป

ประชากรพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ยังมีการกระจายตัวของความต้านทานโรค ให้ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคอยู่ระดับปานกลางระหว่าง 1.58-3.21 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์เอช 24 แต่ส่วนใหญ่มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่า

พันธุ์ที่ 1 พันธุ์ที่ 2 และพันธุ์แอลเอ็น 2026 ประชากรพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 และ 2 เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์ควบคุม พบว่ามีปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืชน้อย ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ไม่แตกต่างจากพันธุ์เอช 24 แต่แตกต่างจากพันธุ์แม่ทั้งสองและพันธุ์ควบคุม ซึ่งมีปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบมาก เมื่อวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของอาการโรคกับปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจพบในต้นพืช พบว่า ระดับความรุนแรงของอาการโรคที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณเชื้อไวรัส และสามารถคัดเลือกพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 จำนวน 10 สายพันธุ์ ที่สามารถให้ผลผลิตได้และมีลักษณะทางพืชสวนที่ดี ให้ผลผลิตลูกผสมชั่วที่ 3 เพื่อสร้างสายพันธุ์แท้ที่ทนทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- อรประไพ คนันท์, นุชนาถ วารินทร์, ชาญณรงค์ ศรีภิบาล, รัชนี, ธงประยูร และสุพัฒน์ อรรถธรรม. 2544. การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศและไวรัสในกลุ่ม. หน่วยปฏิบัติการพันธุวิศวกรรมด้านพืช ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 13 หน้า.
- อรรถธรณ ชัชวาลการพาณิชย์. 2544. เจมิโนไวรัสที่เข้าทำลายพืช. หน่วยปฏิบัติการพันธุวิศวกรรมด้านพืช ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 6 หน้า.
- 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.
- Kaloo, 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.