เครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับคัดเลือกพันธุ์พืชต้านทานโรค
DNA Marker for Selection of Plant Disease Resistance Variety

จีราพร แก่นทรัพย์[1/*] ประเสริฐ วงศ์วัฒนารัตน์[2/] ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์[1/]
Jeeraporn Kansup[1] Prasert Wongwathanarat[2] Khanitha Wongwathanarat[1]

Received 8 Jan 2020/Revised 12 Mar 2020/Accepted 31 Mar 2020

ABSTRACT

Plant diseases are important factor in plant production. They reduce yield and lead to heavy use of chemicals to keep them under control. Genetic resistance is a potent alternative and environmental friendly disease control approach. One of the important tools used to establish genetic resistance of plant is DNA marker. The uses of DNA markers related to targeted agricultural traits, such as high productivity, resistance to disease and insect, as tools for selection will improve the efficiency of plant breeding. Disease resistance of plants can be divided into 2 types. Type 1 is complete resistance controlled by major gene(s) such as Resistance gene (*R* gene). *R* gene plays an important role in the recognition of gene products from the pathogen. Type 2 is partial resistance controlled by multiple minor genes, which is quantitative in characteristic. Pyramiding of major and minor genes together is a strategy to develop durable resistance to meet the challenge that pathogens often adapt and overcome genetic resistance. In this review, the information about the uses of DNA markers in plant breeding, major and minor genes responsible for plant disease resistance systems as well as strategies for establishing durable disease resistance is presented. In addition, examples of marker-assisted selection in order to develop resistant varieties for certain diseases in soybean, cassava and potato are presented.

Keywords: DNA marker, disease resistance, major gene, minor gene, gene pyramiding

[1/] สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110
[1/] Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, Thanyaburi, Pathumthani, 12110
[2/] ข้าราชการบำนาญ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ม.ธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
[2/] Pensioner Biotechnology Branch, Faculty of Science and Technology, Thummasat University Rangsit Center, Khlong Luang, Pathumthani 12120
*** Corresponding author: jkansupthdoa@gmail.com**

บทคัดย่อ

โรคพืชเป็นสาเหตุสำคัญที่ส่งผลต่อการผลิตพืช ทำให้ผลผลิตลดลง และนำไปสู่การใช้สารเคมีอย่างกว้างขวางเพื่อควบคุมโรค พันธุกรรมความต้านทานของพืช เป็นอีกทางเลือกที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งหนึ่งในเครื่องมือสำคัญที่ใช้ในการสร้างพันธุกรรมความต้านทานของพืช ได้แก่ เครื่องหมายดีเอ็นเอ การนำเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับลักษณะทางการเกษตรที่สนใจ เช่น ผลผลิตสูง ต้านทานต่อโรคและแมลง มาใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกพันธุ์ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีความต้านทานต่อโรค ซึ่งความต้านทานแบ่งออกได้เป็น 2 ลักษณะ ได้แก่ 1) ลักษณะต้านทานแบบสมบูรณ์ที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลักได้แก่ ยีน *R* (Resistance gene) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการรับรู้ผลิตภัณฑ์ของยีนเชื้อโรคและ 2) ลักษณะต้านทานแบบบางส่วนที่ถูกควบคุมด้วยยีนรองหลายยีน ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ การพีระมิดยีนหลักและยีนรองเข้าด้วยกันเป็นกลยุทธ์ในการพัฒนาพันธุ์ต้านทานให้มีความคงทนยั่งยืน เพื่อรองรับกับความท้าทายที่เชื้อสาเหตุโรคพืชมักปรับตัวและเอาชนะความต้านทานทางพันธุกรรมของพืช ในบทปริทัศน์นี้ได้ทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับการใช้เทคโนโลยีเครื่องหมายดีเอ็นเอในการปรับปรุงพันธุ์พืช ยีนหลักและยีนรองที่ทำหน้าที่ในระบบความต้านทานโรคของพืช และกลยุทธ์ในการสร้างความต้านทานโรคอย่างยั่งยืน นอกจากนี้ ได้นำเสนอตัวอย่างงานวิจัยการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคบางชนิดในถั่วเหลือง มันสำปะหลัง และมันฝรั่ง เพื่อพัฒนาพันธุ์ต้านทานสำหรับนำไปแก้ปัญหาการสูญเสียผลผลิตจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช

คำสำคัญ: เครื่องหมายดีเอ็นเอ, ความต้านทานโรค, ยีนหลัก, ยีนรอง, พีระมิดยีน

บทนำ

การเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากรโลกอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้ความต้องการอาหารเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน ซึ่งเป็นความท้าทายหลักที่นักวิจัยด้านการเกษตรต้องเผชิญ เพื่อจะตอบโจทย์ดังกล่าว นักปรับปรุงพันธุ์พืชต้องพยายามอย่างต่อเนื่องในการพัฒนาพันธุ์พืชใหม่ ๆ ให้มีลักษณะทางพันธุกรรมตามที่ต้องการ และมีผลผลิตมากขึ้นด้วย เครื่องหมายดีเอ็นเอ สามารถใช้ในการพัฒนาพันธุกรรมโดยการคัดเลือกลักษณะที่ดีต่าง ๆ เช่น ผลผลิตสูง คุณค่าทางโภชนาการสูง รวมถึงความต้านทานโรค ด้วยการตรวจสอบจีโนไทป์หรือรูปแบบพันธุกรรม และใช้ในการติดตามยีนที่สนใจในการพีระมิดยีน หรือการรวมยีนตั้งแต่สองยีนขึ้นไปจากพันธุ์พ่อแม่ที่หลากหลายให้อยู่ในจีโนไทป์เดียว เพื่อพัฒนาสายพันธุ์หรือพันธุ์ยอดเยี่ยม ซึ่งเครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยเพิ่มความแม่นยำในการคัดเลือก และช่วยลดระยะเวลาในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ได้

โรคพืชเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตทางการเกษตร การป้องกันพืชจากโรคส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพและปริมาณอาหาร ผลผลิตของพืชที่ได้จากการเพาะปลูกมักถูกคุกคามโดยการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อปลูกแบบพืชเชิงเดี่ยวขนาดแปลงใหญ่ หรือใช้ปุ๋ยในปริมาณมาก แม้ว่ามีรายงานการจัดการโรคโดยใช้สารเคมี แต่วิธีการดังกล่าวไม่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพต่อทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค ถ้าใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม รวมถึงส่งผลต่อคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตรอีกด้วย ขณะที่การปรับปรุงพันธุ์พืช

ให้มีความต้านทานโรค เป็นทางเลือกที่คุ้มค่าและมีศักยภาพในการควบคุมโรคพืชอย่างยั่งยืน และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ดังนั้น เครื่องหมายดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคจึงเป็นเครื่องมือสำคัญในการคัดเลือกและพัฒนาลักษณะทางพันธุกรรมของความต้านทานโรคของพืช

เครื่องหมายดีเอ็นเอกับการปรับปรุงพันธุ์พืช

เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) เป็นลำดับเบสช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอ ที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิตสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ และมีประโยชน์ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจำแนกพันธุ์ นอกจากนี้ บางเครื่องหมายดีเอ็นเอยังมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางการเกษตร เช่น ผลผลิตสูง ต้านทานโรค การนำเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับลักษณะทางการเกษตรเหล่านี้มาใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกพันธุ์ เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์ได้หรือที่เรียกว่า การคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ (marker-assisted selection, MAS) เพื่อช่วยในการคัดเลือกพันธุ์พืชหรือสัตว์ที่คาดว่ามีลักษณะนั้น ๆ (Ribaut and Hoisington, 1998; Rosyara, 2006) โดยไม่จำเป็นต้องตรวจฟีโนไทป์ของพืชหรือสัตว์ที่ต้องการ การคัดเลือกพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ มีความสะดวก รวดเร็ว และแม่นยำกว่าการสังเกตลักษณะจากภายนอกหรือลักษณะของพันธุ์ซึ่งปรากฏออกมา นอกจากนี้การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอยังสามารถช่วยลดระยะเวลา พื้นที่ และแรงงานในการปรับปรุงพันธุ์ได้ด้วย เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกมีหลายชนิด เช่น restriction fragment length polymorphism (RFLP), amplified fragment length polymorphism (AFLP), random amplified polymorphic DNA (RAPD), simple sequence repeat (SSR), sequence characterized amplified region (SCAR) และ single nucleotide polymorphism (SNP) เป็นต้น

การคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการปรับปรุงพันธุ์พืช ได้รับความสนใจอย่างต่อเนื่อง Xu and Crouch (2008) สรุปการใช้เทคโนโลยีเครื่องหมายดีเอ็นเอในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้ใน 4 กรณี ดังนี้

1) ลักษณะยากที่จะปรับปรุงผ่านการคัดเลือกฟีโนไทป์แบบเดิม เนื่องจากมีราคาสูงหรือใช้เวลานานในการวัดหรือตรวจสอบ

2) ลักษณะที่การคัดเลือกขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่เฉพาะเจาะจง หรือระยะการเจริญเติบโตที่จำเพาะสำหรับการแสดงออกของฟีโนไทป์เป้าหมาย ตัวอย่างที่ดี ตัวอย่างหนึ่ง ได้แก่ การคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังต้านทานต่อโรคใบด่าง (cassava mosaic disease :CMD) ในประเทศโคลัมเบียซึ่งเป็นประเทศที่ไม่มีการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคมาก่อน (Blair *et al*., 2007)

3) การรักษาอัลลีลด้อยให้คงอยู่ระหว่างการผสมกลับ (backcross) หรือช่วยเร่งขั้นตอนการผสมกลับ

4) การพีระมิดลักษณะทางการเกษตร (trait pyramiding) หลายลักษณะ ที่แต่ละลักษณะถูกควบคุมโดยยีนเดี่ยว เช่น ความต้านทานต่อโรคและศัตรูพืช หรือลักษณะคุณภาพ รวมถึงการพีระมิดหลาย quantitative trait loci (QTL) เพื่อลักษณะเป้าหมายเดียว เช่น ความทนแล้ง หรือลักษณะการปรับตัวอื่น ๆ ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณที่มีตำแหน่งบนโครโมโซมหลายตำแหน่งเกี่ยวข้อง

ในอดีตที่ผ่านมา การทำแผนที่ยีนหรือเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ควบคุมลักษณะปริมาณ (QTL mapping) เพื่อระบุตำแหน่งบนโครโมโซมที่เกี่ยวข้องกับลักษณะทางการเกษตรที่สนใจ จะใช้ประชากรที่เป็น biparental แต่ในปัจจุบัน มีการทำ association mapping ซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอ เพื่อใช้ในการคัดเลือกลักษณะทางการเกษตรที่สนใจนั้น ๆ โดยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลำดับเบสที่แตกต่างกันในจีโนมของกลุ่มประชากรหนึ่ง ๆ (ที่ไม่จำกัดว่าจะต้องเป็นประชากร biparental) ต่อลักษณะฟีโนไทป์หนึ่ง ๆ ที่มีความแตกต่างกัน โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดที่มีความถี่ในจีโนมสูงและมีคุณภาพสูง เช่น เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดสนิป (SNP) การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการคัดเลือกพันธุ์รุ่นแรก ๆ จะเป็นการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด RFLP, AFLP, RAPD และ SSR ซึ่งมีความถี่ในจีโนมต่ำกว่าเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดสนิป ที่นิยมใช้มากขึ้นในปัจจุบัน โดยมีเทคโนโลยีการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ยุคใหม่ (next-generation sequencing; NGS) เป็นตัวช่วยในการค้นหาเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดสนิปดังกล่าว

ความต้านทานจากยีนหลักและยีนรอง

ความต้านทานต่อโรคของพืชแบ่งออกได้เป็น 2 แบบใหญ่ ๆ คือ ความต้านทานแบบสมบูรณ์ (complete resistance หรือ total resistance) และความต้านทานแบบบางส่วน (partial resistance)

1. ความต้านทานแบบสมบูรณ์ถูกควบคุมด้วยยีนหลัก (major gene) ที่มีผลในการแสดงออกของความต้านทานอย่างชัดเจน หรือที่เรียกว่าความต้านทานเชิงคุณภาพ ซึ่งเป็นความต้านทานที่จำเพาะกับสายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุโรคพืชนั้น ๆ โดยยีนต้านทานในพืชจะยับยั้งการแสดงออกของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ ทำให้พืชไม่แสดงอาการของโรค ตัวอย่างของยีนหลัก ได้แก่ ยีน *R* (Resistance gene; *R*) โปรตีน R ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของยีน *R* มีบทบาทสำคัญในการรับรู้ผลิตภัณฑ์ของยีนเชื้อโรคที่เรียกว่า Avirulence gene (ใช้อักษรย่อ *Avr*) เมื่อโปรตีน Avr และ R ปฏิสัมพันธ์กัน จะชักนำให้เกิด Hypersensitive response (HR) ที่กระตุ้นการตอบสนองที่หลากหลาย รวมถึงการตายอย่างเฉียบพลันของเซลล์ที่ถูกบุกรุกและเซลล์ข้างเคียง เพื่อตัดการแพร่ระบาดและตัดการขนส่งอาหารไปให้เชื้อโรคนั้น ๆ ใช้ในการเจริญเติบโต เป็นการจำกัดบริเวณการทำลายของเชื้อโรค นอกจากนี้ HR ยังกระตุ้นสัญญาณส่งต่อเป็นทอด ๆ (signal cascade) เพื่อผลิตฮอร์โมนและการแสดงออกของยีน pathogenesis-related (ยีน *PR*) ที่มีคุณสมบัติในการต้านทานโรคหรือเชื้อสาเหตุโรคอย่างไม่จำเพาะ หรือลักษณะความต้านทานแบบกว้าง (broad spectrum disease resistance) อีกด้วย (Wanderley-Nogueira *et al*., 2012)

2. ลักษณะต้านทานแบบบางส่วนเป็นความต้านทานที่ถูกควบคุมด้วยยีนรอง (minor gene) หลายยีน ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณ จึงถูกเรียกว่าความต้านทานเชิงปริมาณ เป็นความต้านทานที่เกิดขึ้นแบบไม่จำเพาะต่อสายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุโรค โดยมีลักษณะการควบคุมความต้านทานต่อเชื้อแบบไม่สมบูรณ์ เนื่องจากเชื้อยังสามารถเข้าทำลายพืชได้ แต่ไม่สามารถทำความเสียหายอย่างสิ้นเชิง กล่าวคือ ไม่ได้หยุดยั้งเชื้อโรค แต่ช่วยลดการเพิ่มจำนวนของเชื้อโรค การเจริญครอบครอง (colonization) และ/หรือลดความรุนแรงของลักษณะอาการของโรค ยีนต้านทานแต่ละคู่ทำหน้าที่ลดการเข้าทำลายของเชื้อโรคในระดับที่แตกต่างกัน ยีนเหล่านี้ส่วนใหญ่จะแปล

รหัสเป็นโปรตีนที่ทำงานในระบบความต้านทานช่วงปลายน้ำ (downstream) หรือโปรตีนสำหรับป้องกันรวมถึงตัวกระตุ้นการถอดรหัส (transcription factor) ที่ส่งผลต่อการตอบสนองของฮอร์โมนป้องกันเปปไทด์ต้านเชื้อโรค (defensin) โปรตีนจากยีน *PR* และสารทุติยภูมิที่หยุดการเคลื่อนไหวของเชื้อโรคหรือการเจริญเติบโตของเชื้อโรคภายในเนื้อเยื่อพืช (Pilet-Nayel *et al*., 2017)

การรวมกันของยีนรองหลายยีนหรือ QTL ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคหลายตำแหน่งสามารถทำให้ระดับความต้านทานโรคของพืชสูงขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อยีนรองหรือ QTL นั้น ๆ มีผลกระทบมาก (strong effect) ตัวอย่างเช่น Stall *et al*. (2009) รายงานว่า QTL 3 ตำแหน่งประกอบด้วย *rx1*, *rx2* และ *rx3* สร้างความต้านทานระดับสูงต่อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* ในมะเขือเทศ

กลยุทธ์ในการสร้างความต้านทานโรคอย่างยั่งยืน

ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา ได้มีการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบทวีคูณ ทำให้สามารถตรวจพบยีนหลักและยีนรองหรือ QTL ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคได้อย่างแม่นยำมากขึ้น และถูกนำมาใช้ร่วมกับกลยุทธ์การปรับปรุงพันธุ์สำหรับพัฒนาพันธุ์ต้านทานโรค ที่มีความคงทนยั่งยืน (durability) เนื่องจาก เชื้อโรคมักปรับตัวและเอาชนะความต้านทานทางพันธุกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อความต้านทานนั้นถูกกำหนดโดยยีนหลัก ดังนั้น ความต้านทานเชิงปริมาณหรือยีนรองจึงได้รับความสนใจเพิ่มขึ้น เพื่อรับมือกับความท้าทายต่อประเด็นความคงทนยั่งยืนของความต้านทานทางพันธุกรรม

ความคงทนยั่งยืนที่เพิ่มขึ้นของความต้านทานเชิงปริมาณอาจเกิดจากสาเหตุต่าง ๆ ดังนี้ (Pilet-Nayel *et al*., 2017)

1. ผลของความต้านทานแบบบางส่วนทำให้เกิดแรงกดดันในการคัดเลือกต่ำ (low selection pressure) ต่อประชากรของเชื้อสาเหตุโรค
2. วิวัฒนาการที่ขัดแย้งกันระหว่างเชื้อสาเหตุโรคและพืชอาศัย ซึ่งในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ความรุนแรงของเชื้อจะสูง แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปยาวนานขึ้น ความรุนแรงของเชื้อจะต่ำ เนื่องจากเชื้อตัวหนึ่งอาจมีความรุนแรงสูงในการก่อโรคต่อพืชอาศัย แต่พอระยะเวลานานขึ้นประกอบกับได้รับอิทธิพลจากปัจจัยแวดล้อมอื่น ๆ เช่น ความสามารถของเชื้อในการคงอยู่และการแพร่กระจายไปยังพืชอาศัย ความแข็งแรงหรืออ่อนแอของพืชอาศัย และการติดเชื้อพร้อมกันของพืชอาศัย (multiple infection) ทำให้เชื้อตัวเดียวกันนี้อาจมีวิวัฒนาการของความรุนแรงในการก่อโรคที่ไม่รุนแรงได้ (ความรุนแรงต่ำ)
3. ความน่าจะเป็นที่ต่ำ(low probability) ของการกลายพันธุ์ของเชื้อโรคหลายครั้งเพื่อเอาชนะ QTL หลายตำแหน่ง
4. การรวมกันของกลไกที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานที่แตกต่างกัน ซึ่งยากที่จะเอาชนะได้
5. การรวมกันของกลไกความต้านทานซึ่งทำหน้าที่อย่างต่อเนื่องในช่วงเวลาที่แตกต่างกันในวงจรชีวิตของเชื้อโรค หรือตลอดการเจริญเติบโตของพืช

การปรับใช้ยีนหลักและ QTL ของลักษณะความต้านทานโรค เพื่อเพิ่มความคงทนยั่งยืนของความต้านทานต่อเชื้อโรคของพืช มีวิธีการที่หลากหลาย เช่น การใช้พันธุ์หลากหลายที่มียีนหลักและ QTL ที่ต้านทานโรคที่แตกต่างกัน (multiline and mixed variety) การหมุนเวียนเชิงพื้นที่หรือช่วงเวลาของยีนต้านทานต่าง ๆ (rotation in space or time of various *R* genes) และการรวมกัน

หรือพีระมิดยีนต้านทานหลายยีนในจีโนไทป์เดียวกัน (gene pyramiding) ซึ่งมีการรวมยีนหลักและยีนรองหรือ QTL ของความต้านทานเข้าด้วยกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของความต้านทานโรคโดยการรวมกลไกความต้านทานต่าง ๆ ในจีโนไทป์เดียวกัน การพีระมิดยีนโดยใช้ MAS ส่งผลให้เกิดความสำเร็จในการสร้างสายพันธุ์ต้านทานในพืชหลายชนิด เช่น ถั่วแขกต้านทานต่อโมเสคไวรัส ถั่วแขกต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ข้าวต้านทานต่อโรคไหม้ และถั่วเหลืองต้านทานโรคราสนิม เป็นต้น (Vigan *et al*., 2018)

นอกจากการใช้ประโยชน์จากยีนหลักและยีนรองแล้ว ยังมีการศึกษาวิจัยเพื่อค้นหาตำแหน่งบนโครโมโซมที่เกี่ยวข้องกับลักษณะต้านทานโรคได้หลายชนิด หรือตำแหน่งที่ควบคุมลักษณะทางการเกษตรหลายลักษณะ เพื่อที่จะได้ยีนหรือโลคัสที่ประกอบด้วยหลายคุณลักษณะในยีนหรือโลคัสเดียว เช่น Krattinger and Keller (2016) รายงานว่า QTL *Lr34* และ *Lr67* ที่ให้ความต้านทานต่อทั้งโรคราสนิมและโรคราแป้งในข้าวสาลี Hu *et al*. (2017) พบว่า ยีนหลัก *Xa4* ในข้าวที่แปลรหัสเป็นโปรตีนไคเนส สามารถปรับปรุงลักษณะสำคัญทางการเกษตรหลายประการโดยไม่ทำให้ผลผลิตข้าวลดลง โดยยีนหลัก *Xa4* จะไปทำให้ผนังเซลล์แข็งแรงขึ้นด้วยการส่งเสริมการสังเคราะห์เซลลูโลส และยับยั้งการคลายผนังเซลล์ การเสริมความแข็งแรงของผนังเซลล์ โดยโปรตีน Xa4 ช่วยเพิ่มความต้านทานต่อการติดเชื้อแบคทีเรียและยังเพิ่มความแข็งแรงเชิงกลของลำต้นอีกด้วย

MAS สำหรับคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคในถั่วเหลือง

ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) ความต้านทานทางพันธุกรรมเป็นกลยุทธ์สำคัญสำหรับการจัดการโรคในถั่วเหลือง ตลอดระยะเวลา 50 ปีที่ผ่านมา มีการศึกษาฟีโนไทป์ของพันธุกรรมถั่วเหลืองด้านความต้านทานต่อเชื้อก่อโรคหลายชนิด ทำให้เกิดการพัฒนาสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคและพันธุ์เชิงพาณิชย์ โรคที่สำคัญในถั่วเหลือง ได้แก่ โรคราสนิม โรคราน้ำค้าง และโรคใบจุดนูน เป็นต้น

โรคราสนิมถั่วเหลือง (Figure 1) มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phakopsora pachyrhizi* ปัจจุบันมียีนต้านทานต่อโรคราสนิมถั่วเหลืองชื่อ resistance to *P. pachyrhizi* (*Rpp*) และถูกค้นพบแล้วอย่างน้อย 10 ยีนหรืออัลลีล โดยอยู่บน 6 โครโมโซม (Chang *et al*., 2016) และมีรายงานการพีระมิดยีน *Rpp* เพื่อพัฒนาพันธุ์ถั่วเหลืองต้านทานโรคราสนิม เช่น Yamanaka *et al*, (2008) ได้พีระมิดยีน *Rpp2* กับ *Rpp4* และ Lemos *et al*, (2011) ได้พีระมิดยีน *Rpp2*, *Rpp4* และ *Rpp5* ในถั่วเหลือง โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด SSR สำหรับในประเทศไทย ประสบความสำเร็จในการค้นหาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะความต้านทานโรคราสนิม ซึ่งเป็นความร่วมมือในการทำงานวิจัยระหว่างกรมวิชาการเกษตร และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยสมศักดิ์และคณะ (2548) ได้ศึกษาวิจัยหาตำแหน่งยีนที่ควบคุมลักษณะความต้านทานโรคราสนิม บนโครโมโซมในประชากรถั่วเหลืองรุ่น F2 และ F3 จากคู่ผสม CM60–10KR–71–PS–21 (ต่อมารับรองพันธุ์เป็นพันธุ์เชียงใหม่ 5) กับพันธุ์สุโขทัย 2 จากผลงานวิจัยนี้ พบเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคราสนิม จำนวน 3 เครื่องหมาย ได้แก่ Satt472 Satt288 และ Satt012 (Table1) โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอเหล่านี้มีตำแหน่งบนโครโมโซมอยู่บริเวณเดียวกับยีน *Rpp4* เมื่อนำทั้ง 3 เครื่องหมายมาทดสอบกับถั่วเหลืองพันธุ์ต่าง ๆ พบว่า เครื่องหมายดีเอ็นเอ

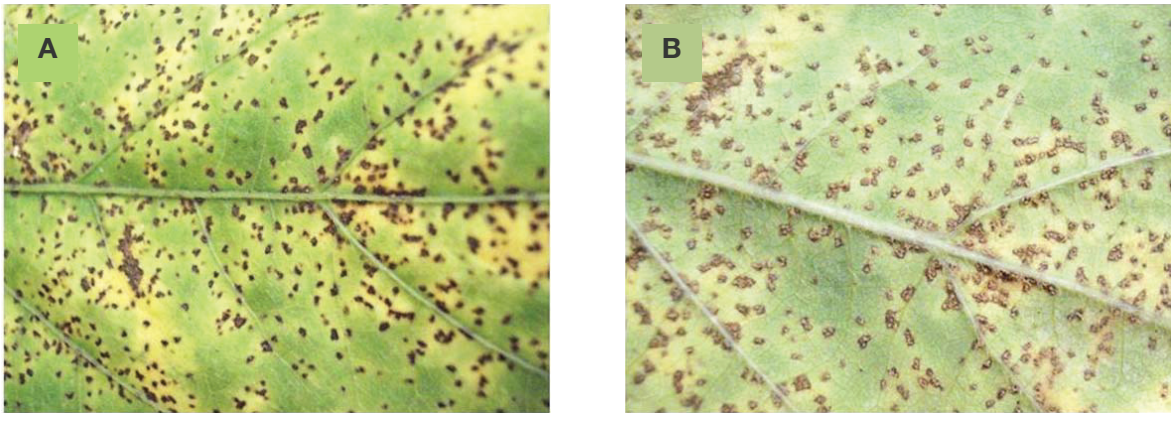

Figure 1 Upper (A) and lower (B) surface of soybean leaf showing soybean rust symptoms caused by *Phakopsora pachyrhizi*. Tan or reddish-brown lesions (spots) appear on the leaf. (Photos were taken by Ratchanee Sopa (Chiangmai Field Crop Research Center, Department of Agriculture)

Table 1 List and sequence of the primers used in marker-assisted selection for resistance to soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi,* T. P. Syd.)

Primer name	Marker type	Sequence (5' – 3')	Annealing temperature (C)	Expected allele size (bp)
Satt472	SSR	F : GCGAATACATAAAACTCAAAT-TCAAATCATA	55	210
		R : GCGTTCTATAAATTTCAT-TCATAGTTTCAAT		
Satt288	SSR	F : GCGGGGTGATTTAGTGTTTG-ACACCT	55	270
		R : GCGCTTATAATTAAGAG-CAAAAGAAG		
Satt012	SSR	F : GCAATTAGTTTTAAAATGTTTC	50	110
		R : AGAATAGAGCCTACATATAAT-CATA		

Source : Somsak *et al.* (2005)

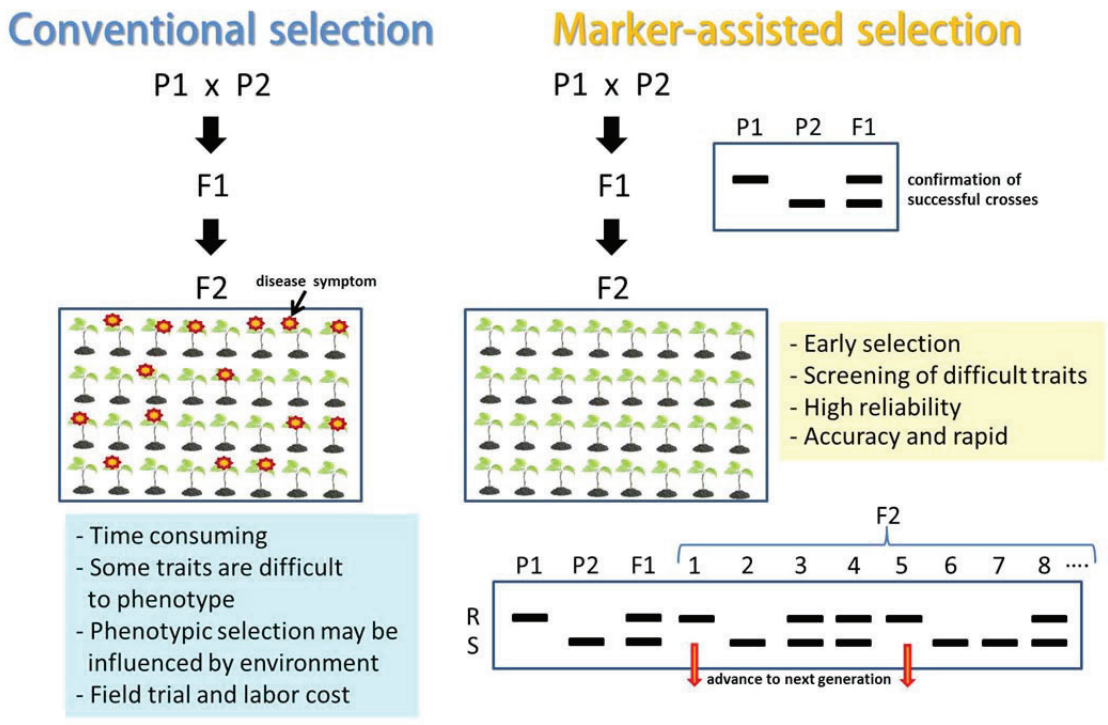

Figure 2 Comparison of conventional and marker-assisted selection (MAS). The fundamental advantages of MAS compared to conventional selection are: (1) MAS can be carried out at early stage of plant (2) MAS is simpler than conventional phenotypic screening (3) single plant can be selected by MAS with high reliability without the Influence of environmental factors on field trials (4) accuracy and rapid

Source: modified from www.knowledgebank.irri.org

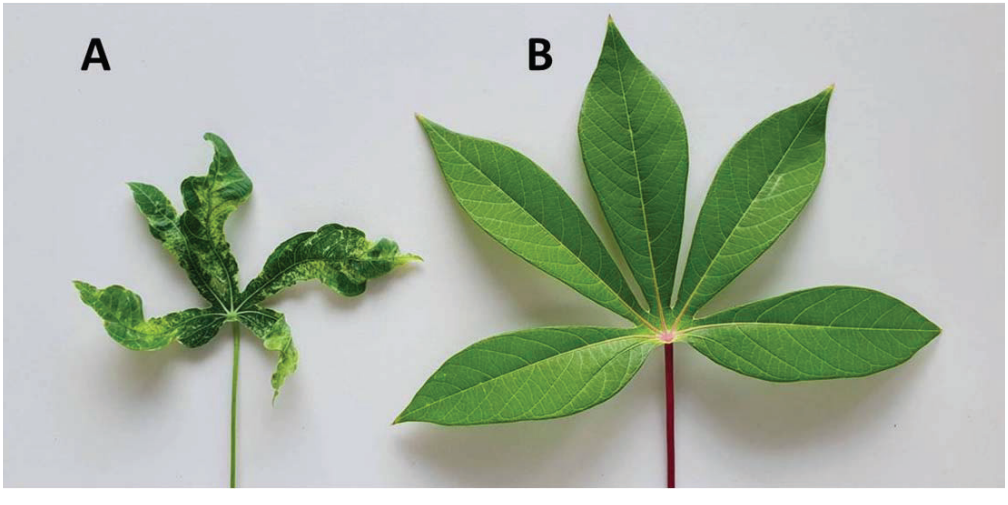

Figure 3 Symptoms of CMD on cassava. Leaf of CMD-infected plant produces misshapen and twisted leaf with mosaic and mottling symptoms (A) compared to a healthy leaf (B) Photo was taken by Suwaluk Amawan (Rayong Field Crops Research Center, Department of Agriculture)

ดังกล่าวสามารถใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีเชื้อสายจากพันธุ์เชียงใหม่ 5 ให้ต้านทานโรคราสนิมได้อย่างมีประสิทธิภาพ (จีราพรและคณะ, 2554)

โรคราน้ำค้าง ในถั่วเหลืองเกิดจากเชื้อรา *Peronospora manshurica* ถั่วเหลืองที่เป็นโรคนี้ใบจะร่วงก่อนเวลา ทำให้เมล็ดที่ได้มีขนาดเล็ก คุณภาพไม่ดี และผลผลิตลดลง Chowdhury *et al.* (2002) ได้ค้นหาเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด RAPD ที่สัมพันธ์กับลักษณะความต้านทานต่อโรคราน้ำค้างในถั่วเหลือง พบเครื่องหมายดีเอ็นเอ OPH-02_{1250} และ OPP-10_{831} ที่เชื่อมโยงกับยีน *Rpmx* ที่ควบคุมลักษณะความต้านทานต่อโรคราน้ำค้างด้วยระยะห่างทางพันธุกรรม 4.9 และ 23.1 เซนติมอร์แกน ตามลำดับ

โรคใบจุดนูน มักพบระบาดรุนแรงมากในช่วงฤดูฝน โรคนี้มีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *Glycines* ตำแหน่งยีนหลักต้านทานโรคใบจุดนูนอยู่บนโครโมโซมที่ 17 ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด SSR (Satt486 และ Satt372) โดยเป็นอัลลีลด้อย (Hartwig and Lehman 1951; Narvel *et al.*, 2001) อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่า ยีนรองหรือ QTL ของลักษณะความต้านทานที่มีผลเล็กน้อย มีตำแหน่งในโครโมโซม 4, 5, 10, 13, 17 และ 19 เกี่ยวข้องกับความต้านทานต่อโรคใบจุดนูนด้วยเช่นกัน (Kim *et al.*, 2011; Van *et al.*, 2004)

MAS สำหรับคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคในมันสำปะหลัง

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz.) การปรับปรุงพันธุ์ใหม่โดยทั่วไปจะใช้เวลาประมาณ 10 ปี เนื่องจาก มันสำปะหลังมีวงจรการเจริญเติบโตประมาณ 12-18 เดือน การใช้ MAS สามารถเพิ่มความแม่นยำในการคัดเลือกพันธุ์ได้อย่างมาก นำไปสู่การเพิ่มขึ้นทางพันธุกรรมอย่างรวดเร็ว และรอบการประเมินฟีโนไทป์ที่น้อยลง ส่งผลให้ลดระยะเวลาในการพัฒนาพันธุ์ (Figure 2) ซึ่งภายใต้โครงการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ สามารถพัฒนาและส่งเสริมพันธุ์มันสำปะหลังพันธุ์ใหม่ได้ภายในเวลา 6 ปี นอกจากนี้ การใช้ MAS ในระยะต้นกล้า จะช่วยลดขนาดประชากรลงอย่างมาก ทำให้ประหยัดงบประมาณในการปลูก (Ferguson *et al.*,2012) จนถึงปัจจุบัน ตัวอย่างที่ประสบความสำเร็จในการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลัง คือ การคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง Cassava Mosaic Dissase: CMD (Figure 3) ทั้งในประเทศที่มีการระบาดของโรค และในประเทศที่ไม่มีการระบาด (Okogbenin *et al.* 2007) ซึ่งในประเทศที่ไม่มีการระบาดจะเป็นการปรับปรุงพันธุ์เชิงรุกในสภาพแวดล้อมที่มีความเครียดแบบจำเพาะ (specic stress) เช่น โรค CMD หรือโรคเส้นสีน้ำตาลมันสำปะหลัง (Cassava Brown Streak Disease: CBSD) เป็นโรคที่ไม่มีอยู่ในปัจจุบัน แต่เป็นภัยคุกคามที่สำคัญ จึงต้องเตรียมการรับมือไว้ล่วงหน้า (Ceballos *et al.*, 2015)

ปัจจุบันได้มีการค้นพบยีนต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง CMD จำนวน 3 ยีน (โลคัส) ได้แก่ *CMD1 CMD2* และ *CMD3* ซึ่ง *CMD1* เป็น QTL ความต้านทานที่เป็นยีนด้อยและมีที่มาจากมันสำปะหลังพันธุ์ป่า *Manihot glaziovii* Muell. Arg. โดยหนึ่งในเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับ *CMD1* คือ SSRY40 และข้อมูลลำดับเบสของไพรเมอร์เครื่องหมายดีเอ็นเอ แสดงใน Table 2 (Fregene and Puonti-Kaerlas, 2002) *CMD2* เป็นโลคัสเดี่ยวที่เป็นตัวหลักที่ควบคุม

Table 2 List and sequence of the primers used in marker-assisted selection for resistance to cassava mosaic disease (CMD)

Primer name	Marker type	Sequence (5' – 3')	Annealing temperature (C)	Expected allele size (bp)
SSRY40	SSR	F : TGCATCATGGTCCACTCACT	55	293
(Mba *et al*., 2001)		R : CATTCTTTTTCGGCATTCCAT		
RME1	SCAR	F : ATGTTAATGTAATGAAAGAGC	56	700
(Fregene *et al*., 2006)		R : AGAAGAGGGTAGGAGTTATGT		
NS158	SSR	F : GTGCGAAATGGAAATCAATG	55	166
(Fregene *et al*., 2006)		R : TGAAATAGTGATACATG-CAAAAGGA		
SSRY28	SSR	F : TTGACATGAGTGATATTTTCTT-GAG	55	180
(Akano *et al*., 2002)		R : GCTGCGTGCAAAACTAAAAT		
NS169	SSR	F : GTGCGAAATGGAAATCAATG	55	319
(Okogbenin *et al*., 2012)		R : GCCTTCTCAGCATATGGAGC		
NS198	SSR	F : TGCAGCATATCAGGCATTTC	55	196
(Okogbenin *et al*., 2012)		R : TGGAAGCATGCATCAAATGT		

ลักษณะความต้านทานต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง (Akano *et al*., 2002) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานว่าโลคัส *CMD2* นั้น มียีนชนิดใดบรรจุอยู่ โลคัส *CMD2* มาจากมันสำปะหลังพันธุ์ TME3 และมีการพบเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด SCAR และ SSR ที่ขนาบข้างอยู่ใกล้กับโลคัส *CMD2* จำนวน 4 เครื่องหมาย ได้แก่ RME1, NS158, SSRY28 และ NS169 (Table 2) Ribeiro *et al*. (2012) และ Carmo *et al*. (2015) รายงานความสำเร็จในการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอเหล่านี้ในการคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังต้านทานต่อโรคใบด่างสำหรับในประเทศไทย กรมวิชาการเกษตรใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังต้านทานต่อโรคใบด่าง โดยมีการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอเหล่านี้ร่วมกับเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด EST และ SNP มาใช้ในการคัดเลือกเชื้อพันธุ์มันสำปะหลังจากศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง กรมวิชาการเกษตร ซึ่งพบพันธุ์ที่แสดงแถบดีเอ็นเอและมีลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายคลึงกับพันธุ์ต้านทาน TME3 จำนวน 14 พันธุ์ โดยทั้ง 14 พันธุ์นี้ อยู่ระหว่างการตรวจสอบฟีโนไทป์ลักษณะความต้านทานโรคในสภาพจริง หากตรวจสอบพบว่า พันธุ์ที่คัดเลือกได้แสดงฟีโนไทป์ต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง ก็จะสามารถช่วยแก้ปัญหาการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลัง และลดการสูญเสียผลผลิตรวมถึงรายได้ของเกษตรกร สำหรับ *CMD3* เป็น QTL

ของลักษณะความต้านทานหรือยีนรองซึ่งถูกค้นพบในพันธุ์ TMS 97/2205 โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับ *CMD3* คือ NS198 (Table 2) (Okogbenin *et al*., 2012) ซึ่งปัจจุบันมีการดำเนินการรวมแหล่งความต้านทานโรค CMD จากโลคัสหลัก *CMD2* กับความต้านทานจากยีนรองต่าง ๆ เข้าด้วยกัน เพื่อเพิ่มความคงทนยั่งยืนของลักษณะความต้านทานโรคดังกล่าว (Ceballos *et al*., 2015)

MAS สำหรับคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคในมันฝรั่ง

มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) เป็นพืชที่พบว่า มีการเข้าทำลายของศัตรูพืชและโรคต่าง ๆ หลายชนิด เช่น โรคใบไหม้ โรคเกิดจากสาเหตุเชื้อไวรัสและไส้เดือนฝอย เป็นต้น ทำความเสียหายให้กับมันฝรั่งมากที่สุด เนื่องจากเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิต คือ หัวมันฝรั่งเสียหายโดยโรคใบไหม้เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora infestans* และทำให้ผลผลิตลดลงได้ถึง 50% ในส่วนของไวรัสที่ก่อโรคในมันฝรั่ง คือ ไวรัสมันฝรั่ง Y (potato virus Y: PVY) ให้เกิดการสูญเสียสูงถึง 80% สำหรับกรณีของไส้เดือนฝอย *Globodera* spp. ทำให้เกิดความสูญเสียต่อผลผลิตมันฝรั่งสูง 50%

มีการค้นพบแหล่งที่มาของความต้านทานต่อโรคใบไหม้ในมันฝรั่งชนิด *Solanum phureja* ซึ่งเป็นมันฝรั่งแบบดิพลอยด์ และมีต้นกำเนิดจากหุบเขา Andean ในอเมริกาใต้ liwka *et al*, (2006) ค้นพบยีนต้านทานชื่อ *Rpi-phu1* และเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับยีนดังกล่าว ได้แก่ phu6 ซึ่งเป็นเครื่องหมายชนิด SCAR (Table 3) นอกจากนี้ Muktar *et al*, (2015) รายงานว่า เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดสนิป ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้ของมันฝรั่งมีตำแหน่งอยู่ในยีนต่าง ๆ เช่น ยีน *Avr9/Cf-9 rapidly elicited protein20* ยีน *Pectin methyl esterase* และยีน *Biotin carboxylase carrier protein* เป็นต้น

ไวรัสมันฝรั่ง Y (PVY) เป็นไวรัสที่จัดอยู่ในกลุ่ม Potyvirus สามารถก่อให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตและคุณภาพของมันฝรั่งอย่างมาก ขณะที่ในมันฝรั่งสายพันธุ์ป่า ซึ่งมีการรายงานว่ามียีนหลายตัวที่ต้านทานต่อ PVY และยีนเหล่านี้ได้ถูกถ่ายทอดไปยังมันฝรั่งพันธุ์ปลูก โดยการผสม

Table 3 List and sequence of the primers associated with *Rpi-phu1*, Ry_{adg} and *H1* gene in marker-assisted selection for disease resistance in potato

Gene	Primer name	Marker type	Sequence (5' – 3')	Annealing temperature (C)	Expected allele size (bp)
Rpi-phu1	phu6 (liwka *et al.*, 2013)	SCAR	F : AGAGACCCTGGATATATTTCATAGCTCT R : CGCTCTAGGCACAGGGCTCAATGCTGAT	65	298
Ryadg	RYSC3 (Kasai *et al.*, 2000)	SCAR	F : ATACACTCATCTAAATTTGATGG R : AGGATATACGGCATCATTTTTCCGA	55	321
H1	57R (Finkers-Tomczak *et al.*, 2011)	SCAR	F : TGCCTGCCTCTCCGATTTCT R : GGTTCAGCAAAAGCAAGGACGTG	63	450

ข้ามเช่น ยีน Ry_{adg} จาก *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* (Kasai *et al*., 2000) ยีน Ry_{sto} จาก *S. stoloniferum* (Brigneti *et al*., 1997) และยีน $Ry\text{-}f_{sto}$ จาก *S. stoloniferum* (Flis *et al*., 2005) โดยยีน Ry_{adg} ให้ความต้านทานสูงต่อ PVY และมีการกระจายตัวแบบกระจายตัวร่วม (co-segregate) กับเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด SCAR ชื่อ RYSC3 (Table 3) (Kasai *et al*., 2000) นอกจากนี้ การศึกษาโดย Whitworth *et al*, (2009) แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมาย RYSC3 สามารถใช้ระบุโคลน (clone) ที่มีความต้านทานต่อสายพันธุ์ PVY ทั้งหมดที่มีอยู่ในอเมริกาเหนือได้

ในส่วนของไส้เดือนฝอยซีสต์มันฝรั่ง แหล่งที่มาของความต้านทานที่ใช้กันมากที่สุดมาจากมันฝรั่งชนิด *S. tuberosum* spp.*andigena* ซึ่งมียีนต้านทานต่อไส้เดือนฝอย *Globodera rostochiensis* ชื่อ *H1* โดยมีเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด SCAR ที่สัมพันธ์กับยีน *H1* ได้แก่ 57R (Table 3) และเครื่องหมายดีเอ็นเอนี้ ถูกนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ด้วย (Finkers-Tomczak *et al*., 2011) ในปัจจุบัน มีงานวิจัยการพีระมิดยีนเพื่อพัฒนาพันธุ์มันฝรั่งที่มีความต้านทานต่อหลายโรคโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก เนื่องจาก เครื่องหมายดีเอ็นเอสามารถใช้ในการคัดเลือกโคลนมันฝรั่งที่ต้านทานจากประชากรรุ่นแรก ๆ ได้และยังเป็นวิธีที่ประหยัดและมีประสิทธิภาพช่วยลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์รุ่นแรก ๆ และเพิ่มประสิทธิภาพของการปรับปรุงพันธุ์ได้ ในปัจจุบันการพีระมิดยีนหลักและยีนรองเข้าด้วยกัน เป็นอีกกลยุทธ์ที่ได้รับความนิยมในการพัฒนาความต้านทานโรคที่มีความคงทนยั่งยืน นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาวิจัยเพื่อค้นหาตำแหน่งบนโครโมโซมที่เกี่ยวข้องกับลักษณะต้านทานโรคได้หลายชนิดเรียกว่า multiple disease resistance (MDR) loci หรือตำแหน่งที่ควบคุมลักษณะทางการเกษตรหลายลักษณะ เพื่อที่จะได้ยีนหรือโลคัสที่ประกอบด้วยหลายคุณลักษณะในยีนหรือโลคัสเดียวอีกด้วย ในการวางกลยุทธ์การปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อสร้างความต้านทานโรคให้ประสบความสำเร็จ การศึกษาเพื่อทำความเข้าใจปัจจัยทางพันธุกรรม ทางนิเวศวิทยาและทางการเกษตรในการปรับตัวของเชื้อโรคที่เกี่ยวข้องกับการพังทลาย (Break down) ของยีนหรือ QTL ต้านทานโรคเป็นสิ่งจำเป็น โดยต้องมีความรู้เพิ่มเติมเกี่ยวกับความสามารถในการวิวัฒนาการของสายพันธุ์เชื้อสาเหตุโรค ซึ่งจะขึ้นอยู่กับอัตราการกลายพันธุ์ วิธีการสืบพันธุ์ ความสามารถในการแพร่กระจายและขนาดของประชากรที่มีประสิทธิภาพในการก่อโรค รวมถึงควรศึกษานิเวศวิทยา และกลไกการต้านทานโรคของพืชอาศัยด้วย เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคและพืชอาศัยมีวิวัฒนาการร่วมกันมา และมีความสัมพันธ์กันในด้านต่าง ๆ เพื่อจะได้วางแผนปรับปรุงพันธุ์พืช ให้มีลักษณะที่ไม่เอื้อหรือทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้

บทสรุปและมุมมอง

การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอได้นำไปสู่การใช้ประโยชน์ของยีนหลักและยีนรองที่เกี่ยวกับความต้านทานโรค ในการปรับปรุงพันธุ์โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมโยงกับยีนต้านทานโรค สามารถใช้คัดเลือกต้นหรือสายพันธุ์ต้านทานโรคในประชากร

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางรัชนี โสภา นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และนางสุวลักษณ์ อะมะวัลย์ นักวิชาการเกษตรชำนาญการ ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง ที่ให้ความอนุเคราะห์รูปภาพโรคราสนิมถั่วเหลือง และ

รูปภาพโรคใบด่างมันสำปะหลัง สำหรับนำมาประกอบบทปริทัศน์

เอกสารอ้างอิง

จีราพร แก่นทรัพย์ สมศักดิ์ ศรีสมบุญ และจุลภาค คุ้นวงศ์. 2554. การคัดเลือกถั่วเหลืองพันธุ์ถั่วเหลืองต้านทานโรคราสนิม (*Phakopsora pachyrhizi,* T. P. Syd.) โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล. *วารสารวิชาการเกษตร.* (29)1: 2-11.

สมศักดิ์ ศรีสมบุญ มณฑา นันทพันธ์ จุลภาค คุ้นวงศ์ ฉัฐพร คุ้นวงศ์ อาภาณี โภคประเสริฐ สิทธิ์ แดงประดับ วิระศักดิ์ เทพจันทร์ ให้พร กิตติกูล ศุภชัย แก้วมีชัย ธนิต โสภโณดร เทวา เมาลานนท์ และอลงกรณ์ กรณ์ทอง. 2548. การใช้ DNA Marker ในการศึกษาตำแหน่งยีนต้านทานโรคราสนิมถั่วเหลือง. หน้า 101-110. ใน: *ผลงานวิจัยเพื่อพิจารณาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2547 และผลงานวิจัยโครงการวิจัยระดับดีที่ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้านการเกษตรประจำปี 2547.* กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Akano, A.O., A.G.O. Dixon, C. Mba, E. Barrera and M. Fregene. 2002. Genetic mapping of a dominant gene conferring resistance to cassava mosaic disease. *Theor. Appl. Genetics*. 105: 521-525.

Blair, M.W., M.A. Fregene, S.E. Beebe and H. Ceballos. 2007. Marker assisted selection in common beans and cassava. pp. 81–115. *In*: *Marker-assisted selection (MAS) in crops, livestock, forestry and sh: current status and the way forward*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.

Brigneti, G., J. Garcia-Mas and D.C. Baulcombe. 1997. Molecular mapping of the potato virus Y resistance gene Ry sto in potato. *Theor. Appl. Genet*. 94: 198–203.

Carmo, C.D., M.S. Silva, G.A.F. Oliveira and E.J. Oliveira. 2015. Molecular-assisted selection for resistance to cassava mosaic disease in *Manihot esculenta* Crantz. *Sci. Agric*. 72(6): 520-527.

Ceballos, H., R.S. Kawuki, V.E. Gracen, G.C. Yencho and C.H. Hershey. 2015. Conventional breeding, marker-assisted selection, genomic selection and inbreeding in clonally propagated crops: a case study for cassava. *Theor. Appl. Genet*. 28(9):1647–1667.

Chang, H.X., A.E. Lipka, L.L. Domier and G.L. Hartman. 2016. Characterization of disease resistance loci in the USDA soybean germplasm collection using genome-wide association studies. *Phytopathology*. *106*(10): 1139-1151.

Chowdhury, A.K., P. Srinives, P. Saksoong and P. Tongpamnak. 2002. RAPD markers linked to resistance to downy mildew disease in soybean. *Euphytica*. 128: 55-60.

Ferguson, M., I. Rabbi, D.J. Kim, *et al*. 2012. Molecular markers and their application to cassava breeding: past, present and future. *Trop Plant Biol*. 5: 95-109.

Finkers-Tomczak, A., E. Bakker, J. de Boer, *et al*. 2011. Comparative sequence analysis of the potato cyst nematode resistance locus H1 reveals a major lack of co-linearity between three haplotypes in potato (*Solanum tuberosum* ssp.). *Theor.Appl.Genet*. 122(3): 595–608.

Flis, B., J. Hennig, D. Strzelczyk-yta, C. Gebhardt and W. Marczewski. 2005. The *Ry-f*$_{sto}$ gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistant to Potato virus Y maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP122$_{718}$ in PVY resistant potato cultivars. *Mol. Breed*. 15: 95-101.

Fregene, M. and J. Puonti-Kaerlas. 2002. Cassava biotechnology. pp. 179–207. *In*: *Cassava: Biology, Production and Utilization*. CABI Publishing, Walling ford.

Fregene, M., N. Morante, T. Snchez, *et al*. 2006. Molecular markers for introgression of useful traits from wild Manihot relatives of cassava, marker-assisted selection (MAS) of disease and root quality traits. *J. Root Crops*. 32: 1-31.

Hartwig, E. E. and S.G. Lehman. 1951. Inheritance of resistance to the bacterial pustule disease in soybeans. *Agron. J*. 43:226-229.

Hu, K., J. Cao, J. Zhang, *et al*. 2017. Improvement of multiple agronomic traits by a disease resistance gene via cell wall reinforcement. *Nat. Plants*. 3: 17009–17018.

Kasai, K., Y. Morikawa, V. Sorri, J. Valkonen, C. Gebhardt and K. Watanabe. 2000. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ry*$_{adg}$ based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genome*. 43: 1-8.

Kim, K., J. Park, M. Kim, S. Heu and S. Lee. 2011. Genetic mapping of novel symptom in response to soybean bacterial leaf pustule in PI 96188. *J. Crop Sci. Biotechnol*. 14:119-123.

Krattinger, S.G. and B. Keller. 2016. Trapping the intruder-immune receptor domain fusions provide new molecular leads for improving disease resistance in plants. *Genome Biol*. 19, 23.

Lemos, N. G., A.L. Braccini, R.V. Abdelnoor, M.C.N. Oliveira, K. Suenaga and N. Yamanaka. 2011. Characterization of genes *Rpp2*, *Rpp4* and *Rpp5* for resistance to soybean rust. *Euphytica*. *182*(53): 53-64.

Mba, R.E.C., P. Stephenson, K. Edwards, *et al*. 2001. Simple Sequence Repeat (SSR) markers survey of the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genome: towards an SSR-based molecular genetic map of cassava. *Theor. Appl. Genet*. 102: 21-31.

Muktar, M.S., J. Lbeck, J. Strahwald and C. Gebhardt. 2015. Selection and validation of potato candidate genes for maturity corrected resistance to *Phytophthora infestans* based on differential expression combined with SNP association and linkage mapping. *Front Genet*. 6:294.

Narvel, J. M., L.R. Jakkula, D.V. Phillips, T. Wang, S.H. Lee and H.R. Boerma. 2001. Molecular mapping of *Rxp* conditioning reaction to bacterial pustule in soybean. *J. Hered*. 92:267-270.

Okogbenin, E., C.N. Egesi, B. Olasanmi, *et al*. 2012. Molecular marker analysis and validation of resistance to cassava mosaic disease in elite cassava genotypes in Nigeria. *Crop Sci*. 52(6): 2576–2586.

Okogbenin, E., M.C.M. Porto, C. Egesi, *et al*. 2007. Marker aided introgression of CMD resistance in Latin American germplasm for genetic improvement of cassava in Africa. *Crop. Sci*. 47: 1895-1904.

Pilet-Nayel, M.L., B. Moury, V. Cafer, J. Montarry, M.C. Kerlan, S. Fournet, C.E. Durel and R. Delourme. 2017. Quantitative resistance to plant pathogens in pyramiding strategies for durable crop protection. *Front Plant Sci*. 8:1838.

Ribaut, J.M. and D.A. Hoisington. 1998. Marker-assisted selection: new tools and strategies. *Trends. Plant. Sci*.3(6): 236–239.

Ribeiro, P.F., R. Akromah and J. Manu-Aduening. 2012. Using marker assisted selection to hasten screening of cassava cultivars developed through introgression of Cassava Mosaic Disease (CMD) resistance into cassava landraces in Ghana. *J. Agr. Sci. Tech. B* 2: 74-80.

Rosyara, U.R. 2006. Mini-Review: Requirement of robust molecular marker technology for plant breeding applications. *J. Plant Breed. Gr*. 1: 67-72.

liwka, J., H. Jakuczun, R. Lebecka, W. Marczewski, C. Gebhardt and E. Zimnoch-Guzowska. 2006. A novel late blight resistance gene *Rpi-phu1* mapped to potato chromosome IX is not related to long vegetation period. *Theor. Appl. Genet*. 113: 685-695.

liwka, J., M.wiątek, i., Tomczyska E. Stefaczyk,E. M., Chmielarz, M., and E. Zimnoch-Guzowska 2013. Influence of genetic background and plant age on expression of the potato late blight resistance gene *Rpi-phu1* during incompatible interaction with *Phytophthora infestans*. *Plant Pathol*. 62:1072-1080.

Stall, R.E., J.B. Jones and G.V. Minsavage. 2009. Durability of resistance in tomato and pepper to *Xanthomonas* causing bacterial spot. *Annu. Rev. Phytopathol*. 47:265–284.

Van, K., B. K.Ha, M. Y.Kim, J. K.Moon, N. C.Paek, S.Heuand S. H. Lee. 2004. SSR mapping of genes conditioning soybean resistance to six isolates of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. *Korean J. Genet*. 26:47-54.

Vigan, J., A.D. Braccini, I. Schuster and V.M. Menezes. 2018. Microsatellite molecular marker-assisted gene pyramiding for resistance to Asian soybean rust (ASR). *Acta Sci. Agron*. 40: e39619.

Wanderley-Nogueira, A. C., L.C. Belarmino, N. Soares-Cavalcanti, J.P. Bezerra-Neto, *et al*. 2012. An overall evaluation of the Resistance (R) and Pathogenesis-Related (PR) superfamilies in soybean, as compared with *Medicago* and *Arabidopsis*. *Genet. Mol. Biol*. 35(1): 260–271.

Whitworth, J.L., R.G. Novy, D.G. Hall, J.M. Crosslin and C.R. Brown. 2009. Characterization of broad spectrum potato virus Y resistance in a *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*-derived population and select breeding clones using markers, grafting, and field inoculations. *Am. J. Pot. Res*. 86: 286–296.

www.knowledgebank.irri.org (accessed on March 7, 2020)

Xu, Y. and J.H. Crouch. 2008. Marker-Assisted Selection in Plant Breeding: From Publications to Practice. *Crop Sci*. 48: 391-407.

Yamanaka, N., D.C.G. Silva, A. L. L. Passianotto, *et al*. 2008. Identification of DNA markers and characterization of the genes for resistance against Asian soybean rust. pp. 99-107. *In*: *JIRCAS working rep no. 58: facing the challenge of soybean rust in South America,* Tsukuba, Japan.