ความต้านทานต่อเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศบนยีน *Ty-2* ในมะเขือเทศรุ่น F1 และ BC1F1 ระหว่างสายพันธุ์ป่า *Solanum habrochaites* 'L06112' และสายพันธุ์การค้าสีดาทิพย์3

Ty-2 resistance to *Tomato yellow leaf curl virus* in F1 and BC1F1 crosses between wild species tomato, *Solanum habrochaites* 'L06112' and a commercial cultivar, Seedathip3

อรอุบล ชมเดช [1,2], อุไรวรรณ พงษ์พยัคเลิศ[1], นริศา เจือจุน[1], อิสระยศ สินบุญยะมะ[1,2] และจุลภาค คุ้นวงศ์[1,2,3]
Ornubol Chomdej[1,2], Uraiwan Pongpayaklers[1], Narisa Juejun[1], Itsarayot Sinbunyama[1,2] and Julapark Chunwongse[1,2,3]

Abstract

Tomato yellow leaf curl disease is caused by *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (TYLCV). Disease can spread by whiteflies throughout areas where tomatoes are planted commercially. Complete genome of 4 isolates of TYLCV from Thailand were sequenced, cloned and named TYLCTHV-[Chiang Mai], TYLCTHV-[Nong Khai], TYLCTHV-[Sakhon Nakhon] and TYLCTHV-[2] (found in Nakhon Pathom). This study aimed to improve a commercial tomato cultivar, Seedathip3 for TYLCV resistance by using *Ty-2* gene from wild tomato *Solanum habrochaites* 'L06112' introgression. The results showed that 3 markers detecting *Ty-2* gene on chromosome 11 were related to a TYLCV-resistant trait. The donor parental line showed complete resistance in all isolates while the F_1 and BC_1F_1 cross expressed lower level of TYLCV resistance during stepwise selection. This indicated that resistance was quantitatively inherited from donor parent and controlled by a concert of multiple genes.

Keywords: Tomato yellow leaf curl disease, TYLCTHV, *Solanum habrochaites*, Seedathip3

---

[1] ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140
[2] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900
Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: ZAG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok, Thailand
[3] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
Department of Horticulture, Faculty of Agriculture Kamphaeng Saen, Kasertsart University, Nakhon Pathom 73140
รับเรื่อง : มีนาคม 2559
รับตีพิมพ์ : เมษายน 2559
*Corresponding author : ornubol@gmail.com

บทคัดย่อ

โรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศเกิดจากเชื้อ *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) แพร่ระบาดได้โดยแมลงหวี่ขาวในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกมะเขือเทศเป็นการค้า ในประเทศไทยมีรายงานการพบและศึกษาจีโนมของเชื้อไวรัส TYLCV 4 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลทเชียงใหม่ หนองคาย สกลนคร และ นครปฐม การวิจัยนี้ต้องการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศให้ต้านทานต่อเชื้อ TYLCV โดยสร้างสายพันธุ์มะเขือเทศลูกผสม ระหว่างสายพันธุ์ป่า *Solanum habrochaites* 'L06112' และสายพันธุ์การค้าสีดาทิพย์ 3 แล้วทดสอบความต้านทานของลูกผสมในรุ่น F_1 และ BC_1F_1 พบว่าลักษณะต้านทานมีความสัมพันธ์กับโมเลกุลเครื่องหมาย 3 ตำแหน่งที่ใช้ตรวจสอบยีน *Ty-2* บนโครโมโซมที่ 11 และต้นลูกผสมกลับรุ่น BC_1F_1 และรุ่น F_1 มีระดับความต้านทานที่ต่ำกว่าต้นพ่อ จึงเป็นไปได้ว่าการถ่ายทอดความต้านทานโรคเป็นแบบเชิงปริมาณและมียีนต้านทานมากกว่า 1 ยีนที่ช่วยในการควบคุมลักษณะต้านทานโรค

คำสำคัญ : โรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ เชื้อไวรัสสายพันธุ์ไทย มะเขือเทศสายพันธุ์ป่า สีดาทิพย์3

คำนำ

เชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ (*Tomato Yellow Leaf Curl Virus*: TYLCV) จัดอยู่ในกลุ่ม Begomovirus วงศ์ Geminivirus เป็นสาเหตุของโรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ ซึ่งถ่ายทอดโรคด้วยแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci*) โรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ เป็นโรคที่สร้างความเสียหายเป็นอย่างมากในการผลิตมะเขือเทศของประเทศในแถบเขตร้อน และกึ่งร้อน รวมถึงประเทศไทย ในประเทศไทยพบว่ามีการแพร่ระบาดของโรคในหลายพื้นที่ เช่น นครปฐม เชียงใหม่ นครราชสีมา ประจวบ-คีรีขันธ์ หนองคาย สกลนคร และขอนแก่น (Sawangjit *et al*., 2005) อาการโดยทั่วไปของมะเขือเทศที่เป็นโรคจะแสดงอาการที่ใบอ่อนทำให้ใบมีขนาดเล็กและหงิกงอ ขอบใบแก่จะม้วนขึ้นหรือลง ผิวใบไม่เรียบและมีสีเหลือง (chlorosis) ยอดแตกเป็นพุ่ม ต้นชะงักการเจริญเติบโต และแคระแกร็น อย่างไรก็ตามลักษณะอาการและความรุนแรงของไวรัสอาจแตกต่างกันขึ้นกับฤดูปลูก สายพันธุ์ของไวรัส สายพันธุ์ของพืช ระยะที่พืชถูกเข้าทำลาย รวมถึงความสมบูรณ์ของพืชในช่วงที่ถูกเข้าทำลาย หากมีการเข้าทำลายของเชื้อตั้งแต่ระยะต้นกล้า จะแสดงอาการรุนแรง อาจทำให้ผลผลิตลดลงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (Pico *et al*., 1996; Lapidot *et al*., 1997; Moriones and Navas-Castillo, 2000)

การป้องกันการเกิดโรคไวรัสนั้น อาจทำได้โดยวิธีเขตกรรม เช่น การใช้ต้นกล้าปลอดเชื้อ การหลีกเลี่ยงปลูกในพื้นที่ที่มีการระบาด การใช้ตาข่ายกันแมลง หรือการใช้สารเคมีเพื่อควบคุมประชากรของแมลงหวี่ขาวที่เป็นพาหะนำโรค ซึ่งมักมีปัญหาแมลงดื้อยา และยังมีผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม ถ้าใช้ไม่ถูกเวลาและอัตรา อีกวิธีที่ได้ผลในการป้องกันการเกิดโรคคือ การใช้สายพันธุ์ต้านทาน (Pico *et al*., 1996; 1999; Lapidot and Friedmann, 2002) ซึ่งวิธีการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศต้านทานไวรัสนั้น โดยทั่วไปจะใช้แหล่งพันธุกรรมจากมะเขือเทศสายพันธุ์ป่า เช่น *Solanum pimpinellifolium*, *S. cheesmanii*, *S.*

habrochaites, *S. peruvianum*, *S. chilense* (Cohen and Nitzany, 1996; Zacay *et al.*, 1991) อย่างไรก็ตามในการปรับปรุงพันธุ์ขึ้นกับหลายปัจจัยเช่น ประสิทธิภาพในการถ่ายเชื้อและวิธีการคัดเลือกมะเขือเทศ นอกจากนี้ยังพบว่าจากแหล่งความต้านทานเดียวกัน พืชจะมีการตอบสนองต่อไวรัสแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน

การใช้สายพันธุ์ป่าเป็นแหล่งพันธุกรรมของความต้านทานโรคและแมลง เป็นวิธีหนึ่งของการปรับปรุงพันธุ์พืช จากรายงานของ Rick และ Chetelat (1995) มะเขือเทศสายพันธุ์ป่า *Solanum habrocaites* เป็นแหล่งรวมของความต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไส้เดือนฝอย ไวรัส และแมลงอีกหลายชนิด รวมทั้งโรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ การปรับปรุงสายพันธุ์มะเขือเทศให้มีความต้านทานต่อโรคและแมลงโดยการใช้แหล่งความต้านทานจากสายพันธุ์ป่า เป็นวิธีหนึ่งที่นักปรับปรุงพันธุ์นิยมใช้เพื่อลดปัญหาการใช้สารเคมีในการกำจัดโรคและแมลง แต่วิธีนี้ค่อนข้างยุ่งยากและใช้เวลาในการคัดเลือกเพื่อให้ได้ต้นที่มีลักษณะตรงกับความต้องการ

Hanson *et al.* (2000) ได้ทำการศึกษาตำแหน่งของยีนต้านทานเชื้อไวรัสสายพันธุ์ไต้หวัน (TYLCV-TW) ศรีลังกา (TYLCV-SL) และอินเดีย (TYLCV-Ban2) จากการผสม *Solanum harborchaites* (ชื่อเดิม *L. hirsutum*) f. *glabrotum* accession B6013 กับสายพันธุ์การค้า และจากการใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิด RFLP 90 ตำแหน่งพบว่า *S. harbrochaites* มียีนที่แสดงความต้านทานอยู่บนโครโมโซมที่ 11 และตั้งชื่อว่า *Ty-2* ตั้งอยู่ระหว่างดีเอ็นเอเครื่องหมาย TG36 และ TG393 มีระยะห่างระหว่างกัน 14.6 เซนติมอร์แกน ซึ่งเป็นครั้งแรกที่มีการรายงานว่าพบความต้านทานโรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศบนโครโมโซม 11

Chomdej *et al.* (2008) ได้ปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศสีดาทิพย์ 3 จากการใช้สายพันธุ์ป่า *Solanum habrochaites* accession 'L06112' clone no. 1 ที่แสดงความต้านทานต่อเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศสายพันธุ์ไทย (TYLCTHV-[2]) ในระดับสูง จึงทำการทดสอบความต้านทานของมะเขือเทศในรุ่น F_1 และ BC_1F_1 กับเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศสายพันธุ์อื่นๆ ที่รายงานการพบในประเทศไทยอีก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ นครปฐม สกลนคร หนองคาย และเชียงใหม่ ซึ่งแต่ละเชื้อมีความแตกต่างกันในระดับโมเลกุล (Sawangjit *et al.*, 2005) เพื่อปรับปรุงสายพันธุ์มะเขือเทศให้มีความต้านทานต่อเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศและสามารถนำไปปลูกเพื่อเป็นการค้าได้ในหลายพื้นที่ปลูกของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

สายพันธุ์มะเขือเทศที่ใช้ทดสอบ

มะเขือเทศสายพันธุ์พ่อคือ *Solanum habrochaites* accession 'L06112' clone No. 1 เป็นมะเขือเทศป่าที่มีลักษณะต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ และมะเขือเทศสายพันธุ์แม่คือสีดาทิพย์ 3 (SD3) เป็นมะเขือเทศพันธุ์การค้า ที่มีลักษณะอ่อนแอต่อโรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ สายพันธุ์มะเขือเทศลูกผสมรุ่น F_1 และลูกผสมกลับรุ่น BC_1F_1 ปลูกเลี้ยงในโรงเรือน เพิ่มจำนวนต้นด้วยการตัดชำสายต้นละ 5 ซ้ำ

เชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ

เชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ 4 ไอโซเลท ได้แก่ นครปฐม เชียงใหม่ สกลนคร และหนองคาย เก็บรักษาเชื้อไวรัสในต้นมะเขือเทศสีดาทิพย์3 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ต้นมะเขือเทศที่มีเชื้อไวรัสจาก ดร.อรวรรณ ชัชวาลการพานิชย์ ห้องปฏิบัติการวิจัยด้านพืช ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เพิ่มปริมาณต้นมะเขือเทศที่มีเชื้อด้วยการตัดชำและเสียบยอด มะเขือเทศที่มีเชื้อไวรัสแต่ละไอโซเลทจะปลูกแยกกันในกรงกันแมลงที่บุด้วยผ้าลินิน

แมลงหวี่ขาวและการถ่ายเชื้อ

เลี้ยงแมลงหวี่ขาวที่ปลอดเชื้อบนต้นมะเขือเปราะ ในโรงเรือนกันแมลงที่บุด้วยผ้าลินินเพื่อเพิ่มปริมาณแมลงหวี่ขาว ก่อนจะทำการถ่ายเชื้อเข้าสู่พืชที่ต้องการทดสอบจะนำแมลงหวี่ขาวไปเลี้ยงในกรงกันแมลงที่ปลูกมะเขือเทศที่เป็นโรคไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศทั้ง 4 ไอโซเลทเป็นเวลา 1 สัปดาห์ แยกกันแต่ละไอโซเลท เพื่อใช้เป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไปยังพืชสายพันธุ์ทดสอบ ในการถ่ายเชื้อจะนำต้นมะเขือเทศทดสอบสายพันธุ์ละ 5 ซ้ำใส่ในกรงเลี้ยงแมลงหวี่ขาวของเชื้อ 4 ไอโซเลทที่เตรียมไว้ โดยวางต้นมะเขือเทศทดสอบไว้ตรงกลางล้อมด้วยต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ โดยทำการถ่ายเชื้อเป็นเวลา 30 วัน จากนั้นฉีดยาฆ่าแมลงและนำต้นมะเขือเทศออกไว้ในโรงเรือนนอกกรงแมลง

การให้คะแนนการเกิดโรค

ประเมินความต้านทานด้วยการให้คะแนนการเกิดโรคทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ โดยแบ่งการให้คะแนนเป็นระดับจาก 0- 4 (ภาพที่ 1) ดังนี้

0 = ไม่แสดงอาการของโรค

1 = แสดงอาการเส้นใบเหลืองเล็กน้อย

2 = แสดงอาการใบเหลือง ปลายใบหงิกงอ

3 = แสดงอาการใบเหลืองหงิกงอ ขอบใบม้วนและลดรูป

4 = แสดงอาการใบเหลืองมาก ใบหงิกงอ ขอบใบม้วน ลดรูป ต้นแคระแกร็น และหยุดการเจริญเติบโต

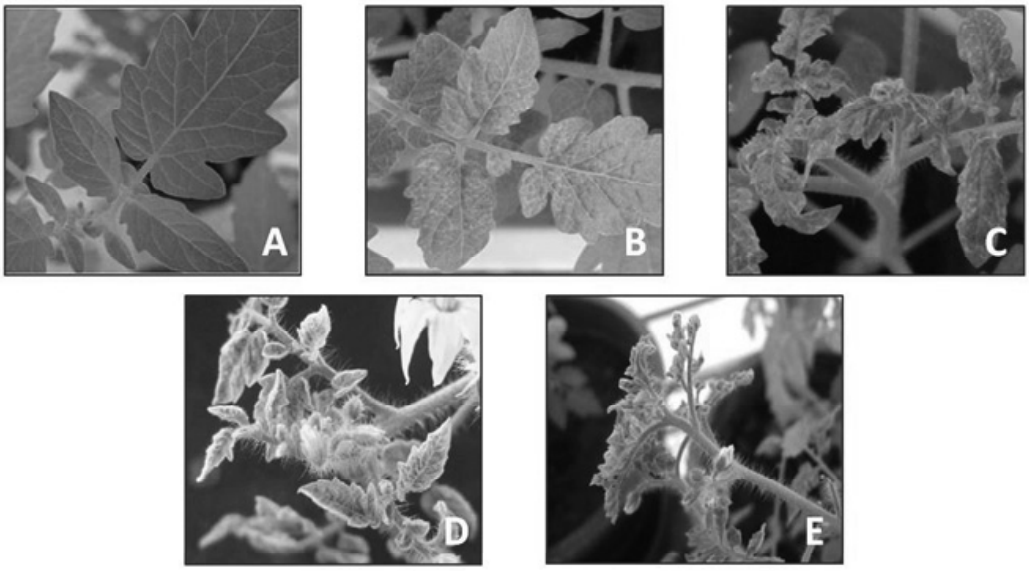

Figure 1 Symptom development was evaluated according to the following scale: 0= no visible symptoms (A), 1= Slight yellowing but no curling (B); 2= Some yellowing and minor curling (C); 3= Leaf yellowing, curling and cupping and some reduction in size (D) and 4= Very severe plant stunting and growth stopping (E)

การตรวจยีน *Ty-2* ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล

สกัดดีเอ็นเอมะเขือเทศด้วยวิธีของ Fulton (1995) แล้วเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยปฏิกิริยา Polymeres Chain Reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ TG400, T0302 และTG105A ดังมีลำดับเบสด้านล่าง

Primer TG400

TG400F : 5'- TCC AAA TCC ACC ACC TAT CC -3'

TG400R : 5'- AGC ATT GCT CCC TGC TAA AG -3'

Primer T0302

TG0302F : 5'- TGG CTC ATC CTG AAG CTG ATA GCG C -3'

TG0302R : 5'- AGT GTA CAT CCT TGC CAT TGA CT -3'

Primer TG105A

TG105AF : 5'- CTT CAG AAT TCC TGT TTT AGT CAG TTG AAC C -3'

TG105AR : 5'- ATG TCA CAT TTG TTG CTT GGA CCA TCC -3'

จากนั้นตรวจสอบผล ด้วยเทคนิค electrophoresis แยกความแตกต่างของดีเอ็นเอด้วย 3% agarose gel ที่ 50 โวลท์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 30 นาที

ผลการทดลอง

การทดสอบความต้านทานใช้สายต้นในรุ่นพ่อ (*S. habrochaites* accession 'L06112' clone No. 1) แม่ (สีดาทิพย์ 3) ลูกผสมรุ่น F_1 (สายต้น B) และลูกผสมกลับรุ่น BC_1F_1 (สายต้น B10 และ B7) ต่อเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ 4 ไอโซเลท ได้แก่ เชียงใหม่ นครปฐม หนองคาย และสกลนคร พบว่ามะเขือเทศเริ่มแสดงอาการของโรคหลังสัปดาห์ที่ 2 และแสดงอาการรุนแรงขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 – 6 หลังจากนั้นสายต้นที่ต้านทานจะแสดงอาการของโรคไม่รุนแรง เห็นได้จากใบที่แตกออกมาใหม่แสดงอาการของโรคเพียงเล็กน้อย ในขณะที่สายต้นที่อ่อนแอจะแสดงอาการของโรครุนแรงขึ้นเรื่อยๆ (Figure 2)

มะเขือเทศสายพันธุ์สีดาทิพย์ 3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคเริ่มแสดงอาการเด่นชัดในสัปดาห์ที่ 4 หลังการถ่ายเชื้อไวรัสในทั้ง 4 ไอโซเลท โดยมีระดับความรุนแรงอยู่ระหว่าง 0.71 – 1.69 และแสดงอาการรุนแรงขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น แสดงอาการของโรคสูงสุด ระดับ 4 ในสัปดาห์ที่ 8 ยกเว้นไอโซเลทหนองคายที่แสดงอาการของโรคสูงสุดในสัปดาห์ที่ 10 ส่วนมะเขือเทศสายพันธุ์ป่า L06112 ไม่แสดงอาการของโรคเลยหรือแสดงเพียงเล็กน้อยในช่วงสัปดาห์ที่ 6 (ระดับต่ำกว่า 0.5) จากนั้นมีอาการของโรคลดลง และต้นไม่แสดงอาการเมื่อสิ้นสุดการทดสอบ (Figure 2)

ลูกผสมรุ่น F_1 แสดงความต้านทานอยู่ในระดับสูง โดยมีคะแนนการเกิดโรคอยู่ในช่วง 1.27 – 1.73 ในสัปดาห์ที่ 6 และลดต่ำลงอยู่ที่ 0-1 เมื่อสิ้นสุดการทดสอบในสัปดาห์ที่ 10 ส่วนลูกผสมกลับในรุ่น BC_1F_1 พบว่าสาย B10 มีความต้านทานที่สูงกว่าสาย B7 ในเชื้อไวรัสทั้ง 4 ไอโซเลท (Figure 2)

เมื่อนำต้นมะเขือเทศมาตรวจหายีน *Ty-2* ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล 3 ตำแหน่ง ได้แก่ TG400 T0302 และ TG105A ที่มีรายงานความสัมพันธ์กับลักษณะความต้านทานโรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศบนโครโมโซม 11 พบว่าลูกผสมกลับรุ่น BC_1F_1 สายต้น B10 มีแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกับสายพันธุ์พ่อ และลูกผสมรุ่น F_1 (สายต้น B) ส่วนในสายต้น B7 ที่อ่อนแอต่อโรค ไม่พบแถบดีเอ็นเอที่แสดงความสัมพันธ์กับลักษณะความต้านทานดังกล่าว

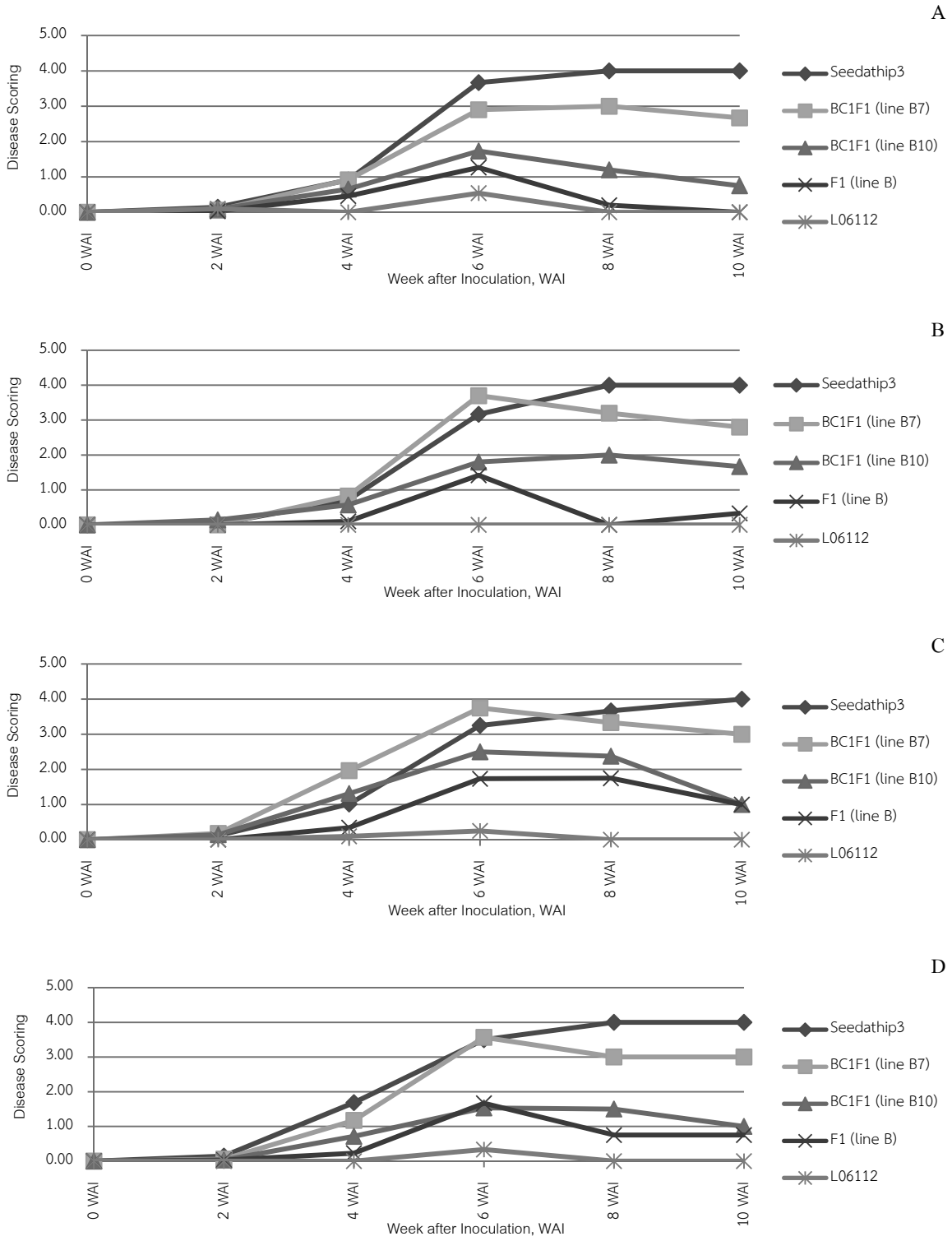

Figure 2 Progress curve of disease severity in S. habrochaites accession 'L06112' clone No.1, F1hybrid (line B), BC1F1 (line B10), BC1F1 (line B7) and Seedathip3 to TYLCTHV 4 isolates; Nakhon Pathom (A), Chiang Mai (B), Nong Khai (C) and Sakhon Nakhon (D) for 10 Week post inoculation.

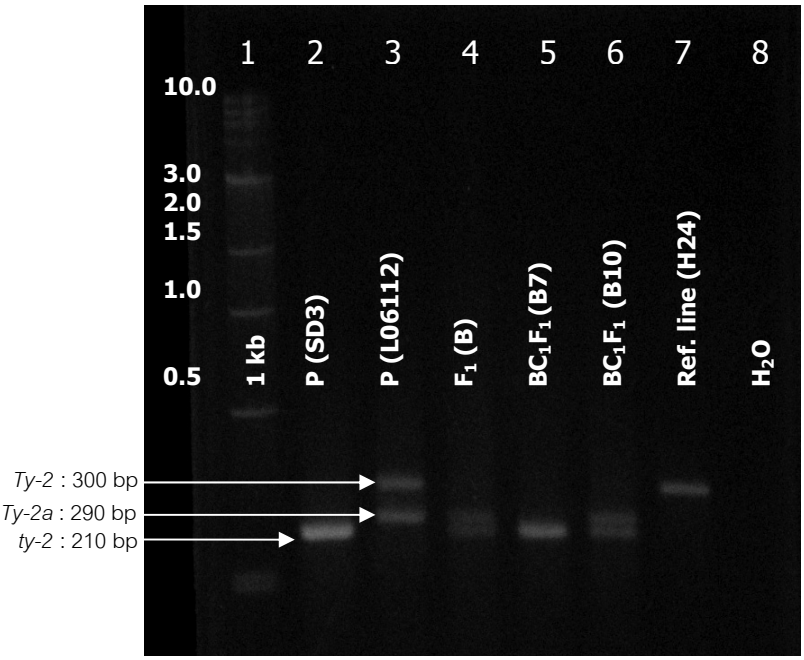

Figure 3 Detection of Ty-2 gene using marker TG105A on a 3%agarose gel electrophoresis at 50V for 150 minutes. (Lane 1: DNA Ladders 1 Kb, Lane 2: Seedathip3, Lane 3: S. habrochaites accession 'L06112' clone No. 1, Lane4: F1 hybrid (line B), Lane 5: BC1F1 (line B7), Lane 6: BC1F1 (line B10), Lane 7: Reference line H24 and Lane 8: Negative control H2O)

วิจารณ์

Ji *et al*. (2009) ได้ยืนยันการถ่ายทอดลักษณะเด่นในการควบคุมความต้านทานโรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศของยีน *Ty-2* จากการวิเคราะห์การกระจายตัวของประชากรรุ่น F_2 ในสายพันธุ์การค้าลูกผสม H9205 พบว่ายีนดังกล่าวตั้งอยู่ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย C_2-At1g07960 กับ C_2-At4g32930 โดยมีระยะห่างระหว่างกันประมาณ 5.5 cM และในสายพันธุ์ลูกผสม E959 ในประชากรรุ่น F_3 ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย C_2-At1g07960 กับ cLEN-11-F24 ซึ่งมีระยะห่างระหว่างกันประมาณ 4.5 cM และ Yang *et al*. (2014) ได้ทำแผนที่ละเอียดของโครโมโซม (Fine mapping) ของยีน *Ty-2* บนโครโมโซมที่ 11 จาก *S. harborchaites* f. *glabrotum* accession B6013 โดยพบว่ามีตำแหน่งอยู่ระหว่าง เครื่องหมายโมเลกุล C2_At1g07960 กับ T0302 ซึ่งมีระยะห่างเท่ากับ 6.5 cM หรือ 491 kb

ลูกผสมจากมะเขือเทศสายพันธุ์ป่า *S. harbrochaites* accession 'L06112' clone no. 1 กับสายพันธุ์สีดาทิพย์ 3 จากการเพาะเลี้ยงออวุลบนอาหารสังเคราะห์ (Whankaew *et al*., 2005) เมื่อนำมาทดสอบความต้านทานโรคใบหงิกเหลืองมะเขือเทศสายพันธุ์ไทย (TYLCTHV-[2]) พบว่ามีความต้านทานในระดับสูง ไม่แสดงอาการของโรค และมีปริมาณเชื้อต่ำเพื่อตรวจด้วยเทคนิคทางอิมูโนวิทยา (Chomdej *et al*., 2008) และเมื่อนำมาทดสอบเพิ่มในเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองอีก 4 ไอโซเลทที่พบในประเทศไทย ได้แก่ นครปฐม เชียงใหม่ หนองคาย และสกลนคร พบว่ามะเขือเทศสายพันธุ์พ่อมีความต้านทานระดับสูง ส่วนในรุ่น F_1 และในรุ่น BC_1F_1 (สายต้น B10) มีความต้านทานต่ำกว่าสายพันธุ์ป่าเล็กน้อย แต่ยังคงอยู่ในระดับสูง ซึ่งผลการทดสอบเป็นไปในทิศทางเดียวกับการทดสอบในเชื้อ TYLCTHV-[2] ส่วนสายต้น B7 แสดงอาการของโรครุนแรงในสัปดาห์ที่ 6 หลังการถ่ายทอดโรค โดยมีอาการใกล้เคียงกับสายพันธุ์แม่ เมื่อนำมาตรวจหายีนต้านทาน *Ty-2* ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล 3 ตำแหน่งได้แก่ TG400, T0302 และ TG105A พบว่ายีนได้ถ่ายทอดจากสายพันธุ์ป่ามาสู่รุ่น F_1 (สายต้น B) แต่ในรุ่น BC_1F_1 พบเฉพาะในสายต้น B10 เท่านั้น ไม่พบในสายต้น B7 นอกจากนี้จะพบว่าเมื่อตรวจสอบในเครื่องหมายโมเลกุล TG105A และ T0302 สายพันธุ์พ่อ 'L06112' มีดีเอ็นเอ 2 แถบ ในขณะที่ลูกผสม F_1 (สายต้น B) นั้นได้รับการถ่ายทอดมาแค่แถบเดียว เนื่องจากพ่อที่เป็นสายพันธุ์ป่านั้นมีความเป็น Heterozygocity ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ที่ใช้เป็นการค้า *S. lycopersicum* (Bauchet and Causse, 2012) และอาจเป็นสาเหตุให้มะเขือเทศลูกผสมในรุ่น F_1 และ BC_1F_1 มีความต้านทานน้อยกว่าต้นพ่อ และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อ้างอิง H24 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่พัฒนาจาก Hanson *et al.,* 2000 และเป็นสายพันธุ์ที่มีรายงานของการพบยีน *Ty-2* และมีความต้านทานต่อเชื้อ TYLCTHV-[2] ในระดับปานกลาง (Chomdej *et al*., 2007; Chomdej *et al*., 2012) ตรวจพบว่ามีแถบดีเอ็นเออีกแถบซึ่งเป็นขนาดที่พบในสายพันธุ์ 'L06112' ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการรวมอัลลีล (allele) ทั้งสองเข้ามาอยู่ในต้นเดียวกัน อาจทำให้ระดับความต้านทานของมะเขือเทศต่อเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศนั้นสูงขึ้น

สรุป

จากการทดสอบเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อสายพันธุ์เชียงใหม่ หนองคาย สกลนคร และ นครปฐม ในมะเขือเทศลูกผสมรุ่น F_1 และ BC_1F_1 ระหว่างสายพันธุ์ป่า *Solanum habrochaites* 'L06112' และสายพันธุ์การค้าสีดาทิพย์ 3 พบว่า ลูกผสมรุ่น F_1 และลูกผสมกลับรุ่น BC_1F_1 สายต้น B10 ซึ่งตรวจพบโมเลกุลเครื่องหมายที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานที่ใช้ตรวจสอบยีน *TY-2* บนโครโมโซมที่ 11 มีระดับความต้านทานค่อนข้างสูงแต่ต่ำกว่าสายพันธุ์พ่อเล็กน้อยในเชื้อ TYLCV ทั้ง 4 ไอโซเลท

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจิยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (AG-BIO/PERDO-CHE) และฝ่ายบริหารคลัสเตอร์และโปรแกรมวิจัย ด้านบริหารจัดการการวิจัย สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

การอ้างอิง

Bauchet, G. and M. Causse. 2012. Genetic Diversity in Tomato (*Solanum lycopersicum*) and Its Wild Relatives in Genetic Diversity in Plants Edited by Prof. Mahmut Caliskan. InTech Published. 498 pages.

Chomdej, O., O. Chatchawankanpanich, W. Kositratana and J. Chunwongse. 2007. Response of resistant breeding lines of tomato germplasm and their progenies with Seedathip3 to *Tomato Yellow Leaf Curl Virus*, Thailand isolate (TYLCTHV-[2]). Songklanakarin J. Sci. Technol. 29: 1469 – 1477.

Chomdej, O., S. Whankaew, O. Chatchawankanpanich, W. Kositratana and J. Chunwongse. 2008. Resistance to *Tomato Yellow Leaf Curl Virus*, TYLCTHV-[2] from *Solanum habrochaites* accession 'L06112' in F_1 and BC_1F_1 generations. Songklanakarin J. Sci. Technol. 30: 441 – 446.

Chomdej, O., U. Pongpayaklers and J. Chunwongse. 2012. Resistance to *Tomato Yellow Leaf Curl Virus*-Thailand

isolate (TYLCTHV-[2]) and markers loci association in BC_2F_1 population from a cross between Seedathip3 and a wild tomato, *Solanum habrochaites* accession 'L06112' clone no.1. Songklanakarin J. Sci. Technol. 34: 31 – 36.

Cohen, S. and F.E. Nitzany. 1996. Transmission and host range of the tomato yellow leaf curl virus. Phytopathology 56: 1127 – 1131.

Fulton, T.M., J. Chunwongse and S.D. Tanksley, 1995: Microprep protocol for extraction DNA from tomato and other herbaceous plants. Plant Mol. Biol. Report. 13: 207 – 209.

Hanson, M.P., D. Bernacchi, S. Green, S.D. Tanksley, V. Muniyappa, A.S. Padmaja, H. Chen, G. Kuo, D. Fang and J. 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: 15 – 20.

Ji, Y., J.W. Scott and D.J. Schuster. 2009. Toward fine mapping of the *tomato yellow leaf curl virus* resistance gene *Ty-2* on chromosome 11 of tomato. HortScience 44:614-618.

Lapidot, M. and M. Friedmann. 2002. Breeding for resistance to whitefly-transmitted geminiviruses. Ann. Appl. Biol. 140: 109 – 127.

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

Moriones, E. and J. Navas-Castillo. 2000. Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidermis worldwide. Virus Research 71: 123 – 134.

Pico, B., M. Ferriol, M.J. Diez and F. Nuez. 1999. Developing tomato breeding lines resistant to tomato yellow leaf curl virus. Plant Breeding 118: 537 – 542.

Pico, B., M.J. Diez and F. Nuez. 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. II. The tomato yellow leaf curl virus – a review. Sci. Hortic. 67: 151 – 196.

Sawangjit, S., O. Chatchawankanphanich, P. Chiemsombat, T. Attathom, J. Dale and S. Attathom. 2005. Molecular characterization of tomato-infecting begomoviruses in Thailand. Virus Research 109: 1 – 8.

Whankaew, S., S. Dumrongkittikule, S. Chanprame and J. Chunwongse. 2005. The ovule culture and hybrid testing crosses between *Lycopersicon esculentum* with *L. hirsutum* and *L.*

chilense using microsattleite marker of interspecific. Agricultural Sci. J. 36: 327 – 325. (in Thai)

Yang, X., M. Caro, S.F. Hutton, J.W. Scott, Y. Guo, X. Wang, Md H. Rashid, D. Szinay, H. de Jong, R.G.F. Visser, Y. Bai and Y. Du. 2014. Fine mapping of tomato yellow leaf curl virus resistance gene *Ty-2* on chromosome 11 of tomato. Mol. Breeding 34: 749 – 760.

Zakay, Y., N. Navot, M. Zeidan, N. Kedar, H. Rabinowich, H. Czosnek and D. Zamir. 1991. Screening Lycopersicon accessions for resistance to tomato yellow leaf curl virus: presence of viral DNA and symptom development. Plant Dis. 75: 279 – 281.