บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 ข้าวโพด

2.1.1 ความสำคัญของข้าวโพด

ข้าวโพด (Maize หรือ Corn) เป็นธัญพืช (cereal crop) ที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Zea mays* Linn. จัดอยู่ในตระกูล Gramineae ที่ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ หลังจากที่ข้าวโพดกำเนิดขึ้นในประเทศเม็กซิโกและอเมริกากลาง ข้าวโพดได้กลายเป็นพืชอาหารหลักทดแทนพืชอาหารพื้นเมืองเดิม การกระจายตัวของข้าวโพดเข้าสู่ประเทศไทย ชาวโปรตุเกสได้นำข้าวโพดไปปลูกในแอฟริกา อินเดีย และแพร่เข้าไปในประเทศจีน และจากการติดต่อค้าขายของชาวโปรตุเกสและประเทศไทยในปี พ.ศ. 2118 จึงอาจเป็นไปได้ว่ามีการนำข้าวโพดเข้ามาปลูกในตอนนั้น การปลูกข้าวโพดเพื่อการค้าในประเทศไทย เริ่มในปี พ.ศ. 2463 โดย หม่อมเจ้าสิทธิพร กฤษดากร ได้สั่งข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ชนิดหัวบุบจากสหรัฐอเมริกามาทดลองปลูก 2 พันธุ์ คือ Nicholson Yellow Dent เมล็ดสีเหลือง และพันธุ์ Maxican June เมล็ดสีขาว ปลูกที่ฟาร์มบางเบิด อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพื่อใช้เลี้ยงไก่และสุกร (สมศรี และอำนาจ, 2551) ในปี 2551/52 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวโพดประมาณ 5.9 ล้านไร่ ผลผลิตรวมประมาณ 3.7 ล้านตัน ผลผลิตต่อไร่ประมาณ 629 กิโลกรัม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร , 2551) แต่การปลูกข้าวโพดมักจะประสบปัญหาจาก โรค และแมลงสำหรับโรคที่สร้างความเสียหายมาก คือ โรคใบไหม้แผลใหญ่ (Northern Corn Leaf Blight: NCLB) ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *E. turcicum* (จุฑาพร และคณะ, 2556) การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโพดที่ต้านทานโรคเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด ปัจจุบันการศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลของโรคใบไหม้แผลใหญ่ ได้เข้ามามีส่วนร่วมในการปรับปรุงพันธุ์

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าวโพด

ราก (Roots) เป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) ซึ่งสามารถแผ่ออกไปโดยรอบได้กว้างประมาณ 1 เมตร และลึกลงในแนวดิ่ง ประมาณ 3 เมตร รากที่มีเส้นใหญ่และแตกจากข้อล่าง ๆ ของลำต้นที่อยู่เหนือดิน จะทำหน้าที่ช่วยค้ำจุนลำต้น เรียกว่า aerial root

ลำต้น (Stalk) มีลักษณะแข็ง และไม่มีกิ่งก้าน ข้าวโพด ส่วนใหญ่จะไม่มีการแตกกอ ยกเว้นข้าวโพดบางพันธุ์ที่อาจแตกกอได้ 3 - 4 ต้น ลำต้นจะประกอบด้วยข้อ (node) และปล้อง (internode) ในขณะที่ปล้องกำลังอยู่ในระยะยืดตัว ปลายยอดสุดของลำต้นเป็นช่อดอกตัวผู้

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ใบ (Leaf) มีระหว่าง 8 - 21 ใบ เกิดที่ข้อของลำต้นอย่างสลับ ประกอบด้วยกาบใบ (leaf sheath) และแผ่นใบ (leaf blade) ฐานของกาบใบเรียบและหุ้มรอบข้อของลำต้น แผ่นใบมีลักษณะแบนและยาวเรียว มีเส้นใบแบบขนาน ที่ผิวด้านบนของแผ่นใบมีขนขึ้นปกคลุม ที่รอยต่อระหว่างแผ่นใบและกาบใบ จะมีเยื่อกันฝน (ligule) ซึ่งเป็นเยื่อบางใส และมีหูใบ (auricle) ซึ่งมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยม

ช่อดอกตัวผู้ (Male inflorescence) ช่อดอกตัวผู้อยู่ที่ส่วนยอดของลำต้น เป็นช่อแบบ panicle ซึ่งเรียกว่า tassel ดอกหนึ่งๆ ประกอบด้วยดอกย่อย (florets) 2 ดอกย่อย อับเรณูอาจมีสีม่วง สีชมพู สีเหลือง หรือสีเขียว อับเรณูหนึ่งๆ มีละอองเกสร (pollen grain) ได้ถึง 2,500 ละอองเกสร การโปรยละอองเกสรจะเกิดขึ้นก่อนการออกไหม ต้นเดียวกัน ประมาณ 1 - 3 วัน การบานของดอกตัวผู้และการโปรยละอองเกสรจะเกิดขึ้นจากปลายช่อก่อน แล้วส่วนล่างลงมาก็จะทะยอยบาน

ช่อดอกตัวเมีย (Female inflorescence) คือ ฝัก (ear) ซึ่งเป็นช่อดอกแบบ spike มีแกนช่อดอกใหญ่เรียกว่า cob บนก้านช่อดอกตามข้อจะมีใบซึ่งเปลี่ยนแปลงลักษณะโดยมีกาบใบใหญ่แต่ไม่มีแผ่นใบ หากแต่มี เยื่อกันฝนอยู่ที่ปลายใบซึ่งอยู่ตามข้อของก้านช่อดอกเหล่านี้จะอยู่ซ้อนเหลื่อมกันหุ้มช่อดอกไว้ ทำหน้าที่เป็นเปลือกหุ้มฝัก (husk) ขณะเดียวกันฐานของก้านช่อดอกจะมีใบที่แปลงลักษณะอีกแบบหนึ่งคือ มีกาบใบใหญ่เช่นกัน ไม่มีแผ่นใบและมีสันสองสันอยู่บนกาบใบ ใบที่แปลงลักษณะนี้จะอยู่ชั้นนอกสุดของกาบหุ้มฝักและจะกั้นระหว่างฝักกับลำต้น ไหมที่ทำหน้าที่รับละอองเกสรตัวผู้ จะมีความยาวระหว่าง 15 - 30 เซนติเมตร และจะโผล่พ้นกาบหุ้มฝักออกมาทางปลายฝัก ทุกจุดบนเส้นไหมสามารถที่จะรับละอองเกสรตัวผู้เข้าผสมได้ การผสมระหว่างละอองเกสรกับไข่จะเกิดขึ้นภายใน 12 - 28 ชั่วโมงนับตั้งแต่ละอองเกสรสัมผัสเส้นไหม เมื่อเมล็ดพัฒนาขึ้นมาจำนวนแถวของเมล็ดในฝักจะเป็นจำนวนคู่เสมอ หลังจากผสมแล้ว 20 - 40 วัน รังไข่จะเจริญเป็นเมล็ดที่แก่เต็มที่

เมล็ด (grain) คือผลชนิด caryopsis หลังจากดอกตัวเมียได้รับการผสม รังไข่ก็จะเจริญเป็นผล ผนังรังไข่ที่สุกจะเจริญเป็น pericarp pericarp นี้จะอยู่เชื่อมติดกับ testa แต่ชั้นของ testa มักจะไม่ปรากฏในเมล็ดข้าวโพด เนื้อเยื่อที่อยู่ชั้นในถัดจาก pericarp และ testa เข้ามาคือ aleurone layer ซึ่งจะห่อหุ้ม endosperm และคัพภะ (embryo) endosperm จะประกอบ ด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่

คัพภะ ประกอบด้วย ยอดอ่อน (plumule) และรากอ่อน (radicle) เป็นส่วนที่อยู่ติดกับ endosperm และทำหน้าที่ดูดอาหารจาก endosperm มาเลี้ยงคัพภะ ที่ฐานของเมล็ดทางด้านนอกจะเป็นส่วนของก้านดอกสั้นๆ ที่เรียกว่า pedicel (โอวาท, 2513)

สถาบันวิจัยพืชไร่กำแพงแสน

2.1.3 ชนิดของข้าวโพด

1) ข้าวโพดไร่ชนิดหัวบุบ (dent corn) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays indentata* มีลักษณะเด่น คือ มีรอยบุบ (depression หรือ dent) ตรงส่วนหัวของเมล็ด แป้งทางด้านข้างของเมล็ดเป็นแป้งแข็ง (hard หรือ corneous starch) แป้งตรงส่วนกลางและส่วนหัวของเมล็ดเป็นแป้งอ่อน (soft starch) เมื่อเมล็ดแห้ง แป้งอ่อนจะยุบตัวลงทำให้เกิดรอยบุบตรงส่วนหัว

2) ข้าวโพดไร่ชนิดหัวแข็ง (flint corn) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays indurata* เมล็ดข้าวโพดชนิดนี้จะมีแป้งอ่อนเพียงเล็กน้อยอยู่ส่วนกลางของเมล็ด รอบนอกทั้งด้านข้างและส่วนหัวเป็นแป้งแข็ง ทำให้เมล็ดมีผิวเรียบและแข็ง

3) ข้าวโพดหวาน (sweet corn) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays saccharata* เมื่อเมล็ดยังไม่แก่จะทึบแสง แต่เมื่อแก่เมล็ดจะใสและเหี่ยวย่น ผิวไม่เรียบ ข้าวโพดหวานต่างจากข้าวโพดไร่ชนิดหัวบุบเนื่องจากมียีน (gene) คอยควบคุมไม่ให้น้ำตาลเปลี่ยนเป็นแป้ง

4) ข้าวโพดข้าวเหนียว (waxy corn) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays certain* เมล็ดมีลักษณะเหมือนขี้ผึ้ง แป้งของข้าวโพดชนิดนี้จะเป็นแป้งชนิด amylopectin ทั้งหมด ในขณะที่แป้งข้าวโพดชนิดอื่นจะมี amylopectin ประมาณ 72 – 78 เปอร์เซ็นต์ และมี amylose 22 – 28 เปอร์เซ็นต์

5) ข้าวโพดแป้ง (flour corn) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays amylacea* เมล็ดจะมีแป้งเป็นแป้งอ่อนเป็นส่วนมาก เนื่องจากเมล็ดเป็นแป้งอ่อนทั่วทั้งเมล็ด เมื่อแห้งจึงไม่เกิดรอยบุบ หรือมีรอยบุบตรงส่วนหัวเพียงเล็กน้อย

6) ข้าวโพดคั่ว (pop corn) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays everta* มีแป้งแข็งเป็นส่วนใหญ่ มีแป้งอ่อนอยู่เพียงเล็กน้อย แป้งแข็งซึ่งอยู่ตอนกลางของเมล็ดห่อหุ้มด้วยสารที่ค่อนข้างเหนียวและยืดหยุ่น เมื่อเมล็ดถูกความร้อนจะเกิดความดันภายในเมล็ด และระเบิดออก ข้าวโพดคั่วจะแบ่งออกเป็น 2 พวก ตามรูปร่างของเมล็ดคือ rice pop corn มีลักษณะหัวเมล็ดแหลม และ pearl pop corn มีเมล็ดค่อนข้างกลม

7) ข้าวโพดป่า (pod corn) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays tunicate* ลักษณะของข้าวโพดป่าก็คือ แต่ละเมล็ดจะมีเปลือกหุ้ม (pod หรือ husk) และฝักก็จะมีเปลือกหุ้มฝักอีกชั้นหนึ่ง เมล็ดจะมีลักษณะต่างๆ กัน ได้แก่ เมล็ดหัวบุบ เมล็ด หัวแข็ง ข้าวโพดแป้ง ข้าวโพดหวาน (กรมวิชาการเกษตร, 2524)

สถาบันวิทยบริการ

2.2 โรคใบไหม้แผลใหญ่ (Northern Corn Leaf Blight: NCLB) และเชื้อราสาเหตุ

2.2.1 ความสำคัญของโรคใบไหม้แผลใหญ่

โรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด มีรายงานว่ามีอยู่ในปะเทศไทยแต่ว่าไม่เคยระบาดรุนแรง ส่วนหนึ่งเป็นเพราะสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมหรือการเปลี่ยนระบบการปลูกซึ่งปัจจุบันมีการปลูกข้าวโพดต่อเนื่อง แต่โรคนี้ในสหรัฐอเมริกาเป็นโรคที่ระบาดมานานแล้ว ในประเทศไทยพบการระบาด ที่มีผลกระทบต่อผลผลิตในพื้นที่เพาะปลูกทางภาคเหนือ ซึ่งมีสภาพอากาศหนาวเย็นและความชื้นสูง ส่วนในเขตภาคกลางก็พบการระบาดกระจายทั่วบริเวณแต่ยังไม่รุนแรงมากนัก เช่น ในพื้นที่ปลูกจังหวัดปทุมธานีซึ่งเคยเป็นสวนส้มมาก่อน เกษตรกรหันมาปลูกข้าวโพดหวานกันมาก ในขณะที่ในเขตจังหวัดลพบุรีสระบุรีแทบไม่พบการระบาด สิ่งหนึ่งที่เห็นชัดก็คือ โรคจะระบาดได้เร็วและรุนแรงเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการกระจายของเชื้อคือ อุณหภูมิค่อนข้างเย็นและมีความชื้นสูง ยิ่งมีลมแรง การกระจายของโรคก็มากขึ้น (Swartz, 2009)

2.2.2 ลักษณะอาการของโรคใบไหม้แผลใหญ่

โรคใบไหม้แผลใหญ่ลักษณะแผลจะมีรูปร่างรีคล้ายกระสวยเกิดที่ใบ ขนาดยาว 2 - 15 เซนติเมตร บริเวณแผลมีสีเขียวซีดถึง สีน้ำตาล แผลมักจะเริ่มเกิดที่ใบล่างก่อน บางครั้งถ้าแผลมีปริมาณมาก แผลอาจจะรวมกันเป็นผืน สีน้ำตาล และในที่สุดทำลายพื้นที่สีเขียวทั้งหมด โรคใบไหม้แผลใหญ่จะกระทบผลผลิตก็ต่อเมื่อใบบนเหนือฝักถูกทำลายหรือเกิดก่อนการผสมเกสร แต่มักมีผลน้อยถ้าแผลเกิดหลังผสมเกสรแล้ว

2.2.3 เชื้อราสาเหตุ และสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

โรคใบไหม้แผลใหญ่เกิดจาก เชื้อรา *Exserohilum turcicum* เชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ต้องการอุณหภูมิที่ค่อนข้างต่ำโดยเฉพาะเวลากลางคืน (18 - 27 องศาเซลเซียส) ร่วมกับสภาพความชื้นในอากาศที่สูง (ร้อยละ 80 - 90) ในสภาพตรงกันข้ามคือ แห้งและร้อน จะเป็นตัวสกัดกั้นการเจริญของเชื้อ เชื้อสามารถอยู่ได้ในเศษซากพืชที่ตายแล้ว เมื่อฝนตก หรือมีความชื้น เชื้อจะสร้างเส้นใยและสปอร์ซึ่งสปอร์จะลอยไปตามลมหรือโดยการกระเซ็นของน้ำ สาเหตุที่ทำให้มีการแพร่ระบาดของโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดอย่างรุนแรง และติดต่อไปเรื่อยๆ คือ การปลูกพืชที่ไม่ต้านทานโรคติดต่อกันและไม่มีการจัดการแปลงปลูกที่ถูกต้องเป็นระยะเวลานานซึ่งในกรณีของโรคใบไหม้แผลใหญ่นี้เริ่มแรกที่เกิดอาจจะไม่รุนแรง เนื่องจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นยังไม่มากซึ่งส่วนใหญ่ยังไม่มีผลต่อผลผลิต และหลังจากเก็บเกี่ยวก็ใช้วิธีไถกลบแล้วปลูกข้าวโพดครั้งต่อไป ทำให้เชื้อมีพืชอาศัยอยู่ตลอดเวลาและต่อเนื่อง (Lipps *et al*., 1997)

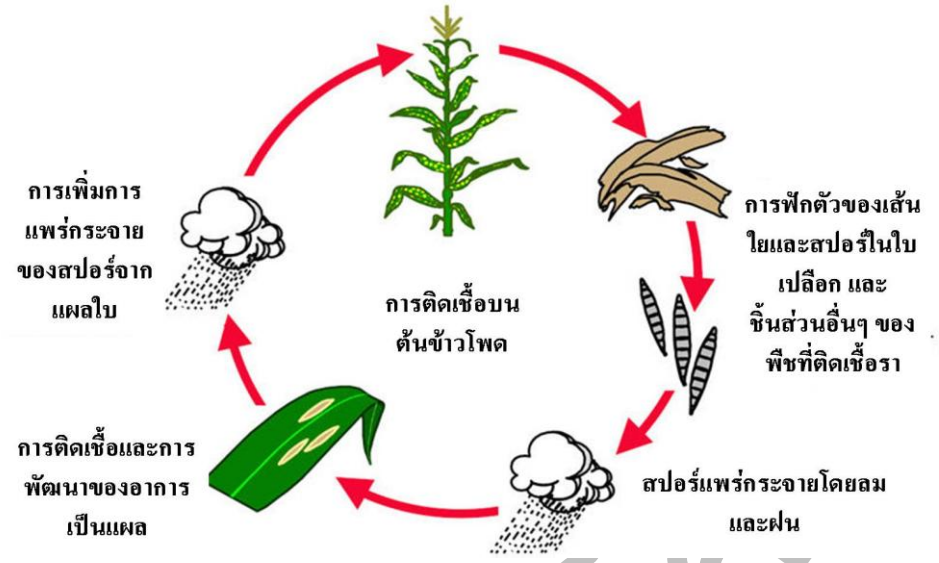
ปัจจัยสำคัญของการเกิดโรคที่รู้จักกันดีในชื่อ สามเหลี่ยมโรคพืช (Disease triangle) ซึ่งประกอบด้วย พืชอาศัย (Host) เชื้อสาเหตุ (Pathogen) สภาพแวดล้อม (Environment) และ เวลา

(Time) ระยะเวลาที่พืชอาศัยและเชื้อโรคสัมผัสกัน ในขณะที่อุณหภูมิเหมาะสมต่อ การเกิดโรค ระยะเวลาที่เหมาะสม ต่อการแพร่กระจายของสปอร์ การงอกของสปอร์ และการติดเชื้อ เป็นต้น หากขาดส่วนใดส่วนหนึ่งแล้วการเกิดโรคจะไม่สมบูรณ์หรือไม่อาจเกิดโรค (สืบศักดิ์, 2540)

2.2.4 วัฏจักรของโรคใบไหม้แผลใหญ่และการเกิดโรค

ราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่หลังจากเข้าทำลายข้าวโพดสามารถอยู่ได้ข้ามฤดูโดยใช้ส่วนข้องเส้นใย (mycelia) และสปอร์ (spore) บนเศษซากพืชที่อยู่บนผิวดิน ในบริเวณแปลงปลูกข้าวโพดทั้งในและระหว่างฤดูกาลปลูกข้าวโพด จากนั้นสปอร์มีการเปลี่ยนรูปร่างให้มีผนังหนาขึ้นเรียกว่า chlamydospore (Lipps and Mills, 2002) สปอร์ของเชื้อราหลังจากการเข้าทำลายข้าวโพดสามารถอยู่ได้เป็นระยะเวลา 1 ปี ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความชื้น 40-60 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ความชื้น 60 เปอร์เซ็นต์ (Levy, 1984) เมื่อถึงช่วงต้นฤดูร้อนที่มีอากาศอบอุ่นความชื้นสูง เชื้อจะสร้างสปอร์ใหม่บนซากข้าวโพดที่ตกค้างอยู่ในแปลง หลังจากนั้น สปอร์จะแพร่กระจายไปยังต้นอ่อนข้าวโพดที่เพาะปลูกใหม่โดยอาศัยลมหรือน้ำฝน Leach et al. (1977) พบว่าในธรรมชาติการปลดปล่อยสปอร์ออกจากแผลบนใบสามารถแบ่งออกเป็น 3 วิธี ได้แก่ การปลดปล่อยออกมาโดยมีพลังงานช่วยขับออกมา จากการกระตุ้นด้วยความชื้นที่ลดลงอย่างรวดเร็ว อาศัยลมและฝน จากนั้นเข้าทำลายโดยสปอร์งอกบนผิวใบข้าวโพดซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 18-27 องศาเซลเซียส แผลจะปรากฏขึ้นหลังจากเชื้อราเข้าทำลาย 7-12 วัน และมีการสร้างสปอร์บนแผล ซึ่งการสร้างสปอร์บนแผลในธรรมชาตินั้นจะเกิดขึ้นเมื่อมีความชื้นในบรรยากาศมาก (RH>90%) อย่างต่อเนื่องเป็นเวลาอย่างน้อย 7 ชั่วโมง ในช่วงที่อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างสปอร์ของเชื้อนั้นจะถูกยับยั้งโดยแสง และสปอร์ที่เกิดขึ้นบนแผลเหล่านี้ เป็นแหล่งของ inoculums ในการแพร่ระบาดในฤดูต่อไปโดยเฉพาะอย่างยิ่งในแปลงปลูกที่ไม่ได้ทำการไถพรวนดิน (Lipps and Mills, 2002 and Pedersen and Oldham, 1992)

สถาบันวิจัยพืชไร่กำแพงแสน



ภาพที่ 2.1 วัฏจักรของโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด
ดัดแปลงจาก http://natres.psu.ac.th, โรคพืชวิทยา ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 21 มค 57

2.3 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *E. turcicum*

Weikert-Oliveira et al. (2002) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ ในธัญพืช ได้แก่ *Bipolaris oryzae* ที่แยกได้จากข้าว, *B. sorokiniana* ที่แยกได้จากข้าวสาลี, *B. maydis* และ *E. turcicum* ที่แยกได้จากข้าวโพด โดยใช้เทคนิค PCR-RFLP ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ พบว่ามีความแปรปรวนทั้งระหว่างสปีชีส์และภายในสปีชีส์ (inter and intra specific) และเมื่อใช้เทคนิค RAPD พบว่าระดับความแตกต่างระหว่างสปีชีส์มีมากกว่าภายในสปีชีส์เดียวกัน เมื่อนำมาจัดกลุ่มพบว่าเชื้อราแต่ละไอโซเลทมีความสัมพันธ์กับพืชอาศัย แต่เชื้อราบางไอโซเลท (*B. sorokiniana* และ *B. oryzae*) ไม่แสดงความสัมพันธ์กับพื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง

Simcox et al. (1995) ศึกษาความหลากหลายของไอโซไซม์ race ชนิดต่างๆ ซึ่งเก็บรวบรวมจากแหล่งปลูกข้าวโพดในสหรัฐอเมริกา เพื่อดูรูปแบบของไอโซไซม์มีความสัมพันธ์กับ race หรือไม่ พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ที่เก็บตัวอย่าง กับรูปแบบของไอโซไซม์มี 2 รูปแบบ ในขณะที่หลายไอโซเลทที่ใช้ทดสอบให้รูปแบบของไอโซไซม์คล้ายคลึง

2.4 การประเมินระดับอาการเกิดโรค

ศิวิไล และคณะ (2556) ได้ศึกษา การประเมินพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในปี 2551 - 53 ได้นำข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ 12 สายพันธุ์ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์ก้าว

จำนวน 18 พันธุ์ และพันธุ์การค้า 3 พันธุ์ มาประเมินความต้านทานต่อโรคภายใต้สภาพการปลูกเชื้อให้กับพันธุ์อ่อนแอในแถวแพร่เชื้อ ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ เมื่อข้าวโพดอายุ 80 วัน ประเมินความรุนแรงของโรคโดยให้ระดับ 1 - 5 ซึ่ง 5 หมายถึงเป็นโรคมาก ผลการประเมินการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในปี 2551 - 53 พบว่า ข้าวโพดลูกผสมจากศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ และลูกผสมพันธุ์การค้า รวม 21 พันธุ์ ต้านทานต่อโรค 5 พันธุ์ ต้านทานต่อโรคปานกลาง 16 พันธุ์ การประเมินข้าวโพดสายพันธุ์แท้ในปี 2552 - 53 พบว่า ทั้ง 12 สายพันธุ์มีความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ในระดับปานกลาง

วิธีการการประเมินระดับอาการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่มีอยู่หลายวิธี ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์และเวลาที่ใช้ในการทดสอบ การประเมินการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่แยกเป็นสองแบบคือ ให้คะแนนต้นที่ได้รับการปลูกถ่ายเชื้อ และให้คะแนนต้นที่ไม่ได้ปลูกถ่ายเชื้อแต่ได้รับการแพร่กระจายเชื้อตามธรรมชาติจากต้นที่ได้รับการปลูกถ่ายเชื้อ โดยให้คะแนนตามหลักเกณฑ์ดังนี้ ดัดแปลงจาก Lipps *et al*., 1997

0 = ไม่มีการแสดงอาการของโรคเลย

1 = แสดงอาการโรค < 20 % ของพื้นที่ใบรวม พบอาการโรคบางใบ

2 = แสดงอาการโรค 21 - 40 % ของพื้นที่ใบรวม พบอาการโรคกระจาย

3 = แสดงอาการโรค 41 - 60 % ของพื้นที่ใบรวม พบอาการโรคเกือบทุกใบ

4 = แสดงอาการโรค 61 - 80 % ของพื้นที่ใบรวม พบอาการโรคทั่วทั้งต้น

5 = แสดงอาการโรค 81 - 100 % ของพื้นที่ใบรวม พบอาการโรครุนแรงทั่วทั้งต้น

2.5 ลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่

ลักษณะความต้านทานโรค (resistance) หมายถึง ความสามารถของพืชที่จะคงสภาพจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหาย โดยเชื้อโรคจะไม่สามารถเข้าทำลายพืชได้ หรือเมื่อเข้าทำลายแล้วทำให้พืชเป็นโรคน้อย หรือเป็นโรคไม่รุนแรง ในทางกลับกัน ลักษณะอ่อนแอต่อโรค (susceptible) หมายถึง การที่พืชแสดงอาการของโรคอย่างรุนแรง เมื่อถูกเชื้อโรคเข้าทำลาย ทั้งนี้ลักษณะความต้านทานโรคของพืชสามารถแบ่งได้หลายแบบตามที่ (กฤษฎา, 2546: ณรงค์, 2529: Nelson, 1977) ได้รายงานไว้ดังนี้

1. การแบ่งโดยอาศัยรูปแบบการถ่ายทอดทางพันธุกรรม ซึ่งแบ่งย่อยเป็น 3 แบบ ได้แก่ ลักษณะความต้านทานโรคที่ถูกควบคุมด้วยยีนเพียงหนึ่งตัว (monogenic resistance) ลักษณะความต้านทานโรคที่ถูกควบคุมด้วยยีน 2 - 3 ตัว (oligogenic resistance) และลักษณะความต้านทานโรค ที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลายตัว (polygenic resistance) เมื่อยีนหนึ่งตัวหรือมากกว่า

สถาบันวิจัยพืชไร่นครสวรรค์

แสดงผลของลักษณะความต้านทานโรค เรียกยีนนั้นว่าเป็นยีนหลัก (major gene) แต่ถ้าลักษณะความต้านทานโรคเป็นผลของยีนหลายตัว ซึ่งแต่ละตัวมีผลต่อการแสดงออกเพียงเล็กน้อย เรียกยีนนั้นว่ายีนย่อย (minor gene)

2. การแบ่งลักษณะความต้านทานโรคแบ่งได้ 2 แบบ ได้แก่ ลักษณะความต้านทานจำเพาะต่อเชื้อใดเชื้อหนึ่งซึ่งก่อให้เกิดโรค (vertical resistance) หรืออาจเรียกอีกอย่างว่า race specific resistance และลักษณะความต้านทานแบบไม่จำเพาะ (horizontal resistance) หรืออาจเรียกอีกอย่างว่า non-race specific resistance, general resistance, field resistance, partial resistance และ minor gene resistance หรือ tolerance พืชที่มีความต้านทานแบบนี้มักแสดงความต้านทานโรคได้หลายสายพันธุ์ แต่ความต้านทานมักจะไม่สมบูรณ์เท่าแบบจำเพาะ โดยจะมีอาการของโรคปรากฏอยู่บ้างเล็กน้อย (สุทัศน์, 2552)

3. การแบ่งความต้านทานโรคโดยอาศัยกลไก (mechanism) ความต้านทานโรคของพืชซึ่งแบ่งย่อยเป็น 2 แบบ ได้แก่ ความต้านทานโรคที่เกิดขึ้นหลังจากเชื้อโรคเข้าสู่พืชแล้ว (active resistance) และความต้านทานที่พืชมีอยู่แล้วก่อนที่เชื้อโรคจะเข้าทำลายพืช (passive resistance)

4. การแบ่งความต้านทานโรคโดยอาศัยการแสดงออกในระยะต่างๆ ของการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งแบ่งย่อยเป็น 2 แบบ ได้แก่ ลักษณะความต้านทานโรคที่พืชแสดงออกในระยะต้นกล้า (seedling resistance) ทั้งนี้ เมื่อพืชเจริญเติบโตเต็มที่ก็อาจแสดงลักษณะอ่อนแอต่อโรคได้ และลักษณะความต้านทานที่เกิดขึ้นเมื่อพืชเจริญเติบโตเต็มที่เท่านั้น (adult plant resistance)

5. การแบ่งความต้านทานโรคโดยอาศัยการกระจายตัวของลักษณะในประชากรพืช ซึ่งแบ่งย่อยเป็น 2 แบบ ได้แก่ ลักษณะความต้านทานที่มีการกระจายตัวของลักษณะต้านทานและอ่อนแอต่อโรคในประชากรแบบไม่ต่อเนื่อง (qualitative resistance) ซึ่งง่ายต่อการแบ่งแยกลักษณะความต้านทานหรืออ่อนแอต่อโรค และลักษณะความต้านทานที่มีการกระจายตัวของลักษณะอย่างต่อเนื่อง (quantitative resistance) ซึ่งประชากรจะมีความต้านทานโรคหลายระดับตั้งแต่ต้านทานมากจนถึงอ่อนแอต่อโรค

2.6 การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่

การปรับปรุงพันธุ์พืชต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่มีการดำเนินงาน 4 ขั้นตอน คือ 1. การหาเชื้อพันธุกรรมความต้านทานโรค 2. การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมความต้านทานโรค 3. การถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคให้กับสายพันธุ์ดี (elite line) และ 4. การคัดเลือกลักษณะความต้านทานโรค (สุทัศน์ , 2552) การดำเนินงานจะประสบผลสำเร็จมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของการทดสอบโรค ซึ่งมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ การเลือกสถานที่

สถาบันวิจัยพืชไร่กำแพงแสน

ทดสอบโรค และการเลือกฤดูกาลทดสอบที่มีความเหมาะสมต่อการเกิดโรค เช่น การทดสอบความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในฤดูหนาว ซึ่งอุณหภูมิและความชื้นเอื้อต่อการระบาดของโรค เป็นต้น

จิรานันท์ และคณะ (2540) การจัดแปลงทดสอบให้เหมาะสมต่อการระบาดของโรค เพื่อให้เป็นสภาพที่เหมาะสมที่สุดในการคัดเลือกลักษณะความต้านทานโดยวิธีทั่วไปในการกระตุ้นให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคคือ การปลูกพืชที่อ่อนแอต่อโรคระหว่างสายพันธุ์ที่ทดสอบหรือล้อมรอบแปลงทดสอบ เพื่อใช้เป็นแถวแพร่เชื้อ (spreader row) จากนั้นจึงปลูกเชื้อให้กับแถวแพร่เชื้อ เพื่อส่งเสริมให้เกิดการระบาดขึ้นในแปลง การคัดเลือกลักษณะความต้านทานโรคอาจสามารถทาได้อย่างมีประสิทธิภาพในสภาพแปลงปลูกตามธรรมชาติ ถ้าหากมีการระบาดของโรคเกิดขึ้นอย่างรุนแรง (Nelson, 1977)

การปรับปรุงลักษณะความต้านทานโรคโดยถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคจากสายพันธุ์ต้านทานให้กับสายพันธุ์ดีที่ไม่ต้านทานโรคนั้น การปลูกเชื้อโรคให้กับสายพันธุ์ต่างๆ จะช่วยให้สามารถคัดทิ้งพวกที่ไม่ต้านทานได้ (สุทัศน์ , 2552) ทั้งนี้ การทดสอบความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในสภาพแปลงปลูกตามธรรมชาติ โดยปลูกสายพันธุ์ข้าวโพดที่อ่อนแอต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ระหว่างสายพันธุ์ที่ทดสอบและล้อมรอบสายพันธุ์ที่ทดสอบ เพื่อใช้เป็นแถวแพร่เชื้อโรค จากนั้นฉีดพ่น spore suspension ที่ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในแถวแพร่เชื้อในระยะที่ข้าวโพดมีใบจริง 9 - 10 ใบ (ระยะเริ่มออกดอก) และประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่จากเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบเป็นโรคและลักษณะของแผลที่เกิดขึ้นตามสเกลการเกิดโรคมาตรฐาน (Bailey *et al*., 1987)

การตรวจสอบประชากรของพืชที่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะที่ต้องการคัดเลือกอยู่เพียงพอหรือไม่นั้น ทำได้โดยใช้แผนการผสมพันธุ์ (mating design) แบบใดแบบหนึ่งเพื่อประเมินหาชนิดและปริมาณความแปรปรวนทางพันธุกรรมแบบต่างๆ ในกรณีที่ประชากรที่จะนำมาคัดเลือกพันธุ์มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะที่ต้องการคัดเลือกอยู่แล้ว สามารถนำไปใช้เป็นประชากรพื้นฐานได้ แต่ถ้าประชากรนั้นไม่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะที่ต้องการคัดเลือก จำเป็นที่จะต้องสร้างความแปรปรวนทางพันธุกรรมขึ้นมาโดยใช้วิธี ผสมพันธุ์หรือชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ พันธุ์พืชที่ควรจะนำมาใช้เป็นประชากรพื้นฐาน ได้แก่

1. พันธุ์พื้นบ้านหรือพันธุ์ท้องถิ่นที่มีอยู่ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีอยู่แล้วหรือพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

2. ลูกผสมรุ่นที่ 2 (F_2) ที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างพันธุ์การค้าจากต่างประเทศกับพันธุ์พื้นบ้านของไทย พันธุ์การค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศซึ่งมีคุณภาพดีและทนโรคที่สำคัญบางโรค อยู่แล้ว แต่อาจจะมีปัญหาในเรื่องการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของเมืองไทย และไม่ทนโรคที่เป็นปัญหาอยู่ในเมืองไทย

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ลูกผสมรุ่นที่ 2 (F_2) ที่เกิดจากการผสมข้ามระหว่างพันธุ์การค้าจากต่างประเทศที่ไม่มีบรรพบุรุษร่วมกันมาก่อนเช่น พันธุ์ของญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกาและไต้หวัน ซึ่งลูกผสมนี้อาจจะผสมขึ้นเองหรือนำมาจากสถาบันปรับปรุงพันธุ์พืชระหว่างชาติ

4. พันธุ์ผสมเปิด (open-pollinated cultivar) พันธุ์ผสมรวม (composite cultivar) หรือพันธุ์สังเคราะห์ (synthetic cultivar) ที่ใช้เป็นการค้าอยู่ในปัจจุบัน (กมล, 2532)

2.7 การถ่ายทอดพันธุกรรมความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่

การปรับปรุงพันธุ์พืชต้านทานโรคนั้น นอกจากมีเชื้อพันธุกรรมความต้านทานที่ดีแล้ว การศึกษารูปแบบการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมความต้านทานจะมีส่วนช่วยให้การปรับปรุงพันธุ์พืชประสบความสำเร็จเร็วขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากทราบว่าลักษณะความต้านทานโรคที่ต้องการนั้นเป็นลักษณะข่มหรือลักษณะด้อย ถูกควบคุมโดยยีนคู่เดียวหรือยีนหลายคู่ ยีนต้านทานนั้นเชื่อมโยง (Linkage) อยู่กับยีนควบคุมลักษณะที่ไม่ดีอื่นๆ หรือไม่ และมีความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรม (heritability) สูงหรือต่ำ ซึ่งข้อมูลทางพันธุกรรมเหล่านี้ จะนำมาใช้เพื่อการตัดสินใจเลือกวิธีการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์พืชต้านทานโรคที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ (กฤษฎา, 2546: สุทัศน์, 2552: Nelson, 1977)

สุกัญญา (2549) ได้ศึกษา ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *E. turcicum* สาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดจากพื้นที่ปลูกบางแห่งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยการเก็บตัวอย่างใบข้าวโพดที่ติดเชื้อ แยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยวิธี tissue transplanting และทำการแยกโคโลนีเดี่ยวได้ทั้งหมด 32 ไอโซเลท เมื่อทำการศึกษาทางสัณฐานวิทยาและอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) พบว่า โคโลนีเชื้อรามีสีเขียวขี้ม้า เขียวน้ำตาล เขียวเทา เทา และเทาเข้มเกือบดำ โคโลนีมีสีเขียวขี้ม้าหรือเขียวน้ำตาล ลักษณะ obclavate ตรงหรือโค้งเล็กน้อย ขนาดกว้างและยาวเฉลี่ย 17.5 - 23.6 µm และ 80.6 - 95.6 µm ตามลำดับ มีผนังกั้นตามขวาง 3 - 7 อัน และเมื่อนำทั้ง 8 ไอโซเลทมาทดสอบความสามารถในการเกิดโรคในข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์แท้สายพันธุ์ 209 , 216 และ 241 และข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 และไฮบริกซ์ 17 พบว่า ไอโซเลท L1/1 และ SN1/3 รูปแบบความรุนแรงของเชื้อเหมือนกัน เชื้อรุนแรงต่อข้าวโพดสายพันธุ์ 216 แต่ไม่รุนแรงต่อข้าวโพดสายพันธุ์อื่น การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยการอาศัยข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเทคนิค Amplified fragment length polymorphism (AFLP) พบได้แถบดีเอ็นเอที่ให้ความแตกต่าง (polymorphic band) จำนวน 36 แถบ คิดเป็นร้อยละ 34. 3 ของจำนวนดีเอ็นเอทั้งหมด และเมื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์โดยวิธี UPGMA (unweighted pair group method by arithmetic mean) ทำให้สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อราได้ 5 กลุ่ม

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พีระวรรณ และคณะ (2553) ได้ศึกษา โรคใบไหม้แผลใหญ่ที่เกิดจากเชื้อรา *E. turcicum* เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด การจำแนกระดับความต้านทานของข้าวโพดแต่ละสายพันธุ์ และนำพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคมาใช้ประโยชน์เป็นแหล่งพันธุกรรมในการพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม การประเมินผลในระดับการเปรียบเทียบในท้องถิ่น จำนวน 18 พันธุ์ และพันธุ์การค้า 3 พันธุ์ มาประเมินความต้านทานต่อโรคภายใต้สภาพที่มีการระบาดของโรคจากแถวแพร่เชื้อ โดยมีพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 เป็นพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอต่อโรคดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ อำเภอตากฟ้า จังหวัดนครสวรรค์ ให้คะแนนการเกิดโรค 1 - 5 (1 หมายถึง มีพื้นที่ใบเป็นโรคน้อย และ 5 คือ มีพื้นที่ใบเป็นโรคมาก) พบว่า ข้าวโพดลูกผสมดีเด่นทนทานแล้งจากศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ และลูกผสมพันธุ์การค้า รวม 21 พันธุ์ สามารถจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ต้านทานต่อโรค 5 พันธุ์ ต้านทานต่อโรคปานกลาง 16 พันธุ์ ในปี 2552 - 53 ข้าวโพดสายพันธุ์แท้ รวม 12 สายพันธุ์ จำแนกปฏิกิริยาต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ออกเป็น 1 กลุ่ม คือ ต้านทานต่อโรคปานกลางทั้ง 12 สายพันธุ์

2.8 การใช้โมเลกุลเครื่องหมายในการคัดเลือกความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่

จุฑาพร (2551) ได้ศึกษาการใช้เครื่องหมายโมเลกุลและศึกษาตำแหน่งยีนควบคุมลักษณะปริมาณที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดข้าวเหนียวสายพันธุ์แท้ 6 สายพันธุ์ โดยการปลูกเชื้อ *E. turcicum* ในสภาพแปลงทดลอง พบว่า สายพันธุ์แท้ 241W และ 209W เป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานและอ่อนต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ จึงได้นำมาใช้เป็นพันธุ์พ่อและแม่ เพื่อสร้างประชากร การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลโดยวิธี Bulked Segregate Analysis (BSA) ในประชากรรุ่นที่ 2 โดยใช้ Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) จำนวน 222 ชนิด พบว่า RAPD marker จำนวน 4 ตำแหน่ง ได้แก่ $OPA07_{521}$ $OPA16_{457}$ $OPB09_{520}$ และ $OPE20_{536}$ มีความเกี่ยวข้องกับลักษณะต้านทานโรค ศึกษาตำแหน่งยีนควบคุมลักษณะปริมาณที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดข้าวเหนียว โดยใช้ประชากรรุ่น $F_{2:3}$ จำนวน 187 Lines ให้ระดับคะแนนการเกิดโรคจาก 0 ถึง 5 (ระดับความต้านทานมากสุดถึงระดับอ่อนแอสุด) พบว่า สัดส่วนความแปรปรวนของลักษณะปรากฏที่เกิดขึ้นจากพันธุกรร (Heritability) มีค่า 0.5 ศึกษาข้อมูลลักษณะทางพันธุกรรมจากการใช้ Simple Sequence Repeat (SSR) marker จำนวน 912 คู่ ให้วามแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างพันธุ์พ่อและแม่ จำนวน 77 คู่ ตรวจสอบประชากรรุ่น F_2 ทั้งหมด วิเคราะห์และสร้างแผนที่จีโนม จำนวน 71 คู่ กระจายตัวครอบคลุมทั้ง 10 โครโมโซม เป็นระยะ 892.03 cM เมื่อวิเคราะห์ตำแหน่งยีนควบคุมลักษณะปริมาณโดยวิธี composite interval mapping พบว่า มียีนควบคุมลักษณะปริมาณจำนวน 5 ตำแหน่ง บนโครโมโซม 1.01 5.05 6.05 7.03 และ 8.05 (LOD≥3.16) โดยยีนควบคุมลักษณะปริมาณแต่ละตำแหน่งมีผลต่อการแสดงความ

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ต้านทานโรคระหว่าง 7.7 เปอร์เซ็นต์ ถึง 13.6 เปอร์เซ็นต์ อัลลีลของ ยีนควบคุมลักษณะปริมาณทั้ง 5 ตำแหน่งได้รับการถ่ายทอดมาจากสายพันธุ์ต้านทาน 241W คาดว่าสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดที่มีความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่

Jones and Begun (2005) แบ่งลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ออกเป็น 2 แบบ ได้แก่ ความต้านทานแบบจำเพาะ (race specific resistance) และความต้านทานแบบไม่จำเพาะ (general resistance) ความต้านทานแบบจำเพาะจะเป็นลักษณะความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่เฉพาะเชื้อสายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่ง (race) เท่านั้น และถูกควบคุมด้วยยีนน้อยคู่ (major gene) เช่น การค้นพบยีน Ht1 Ht2 Ht3 และ Htn ที่ควบคุมลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ความต้านทานดังกล่าวเป็นความต้านทานของพืชต่อการติดเชื้อของโรค (hypersensitivity) เช่น การจำกัดบริเวณที่มีการติดเชื้อหรือกระบวนการเข้าทำลายของเชื้อ เป็นต้น อย่างไรก็ตามความต้านทานแบบจำเพาะจะมีข้อจำกัด เนื่องจากไม่มีเสถียรภาพและระยะเวลาความต้านทานสั้น ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากการกลายพันธุ์ (mutation) หรือมีการพัฒนาเกิดเป็นเชื้อชนิดใหม่ที่สามารถเข้าทำลายพืชได้ ทำให้การระบาดของโรคเกิดขึ้นอีก (Keller *et al*., 2000) ส่วนความต้านทานแบบไม่จำเพาะต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ (general resistance) หรือเรียกอีกอย่างว่า slow-rusting เป็นความต้านทานต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรคใบไหม้แผลใหญ่หลังจากที่เชื้อเข้าสู่พืชแล้ว เช่น การลดจำนวนของแผลและการจำกัดขนาดของแผลบนผิวใบ และการลดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อบน ต้นพืช เป็นต้น (Bailey *et al*., 1987) ลักษณะความต้านทานแบบไม่จำเพาะมักถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ (polygenic resistance) ซึ่งยีนแต่ละคู่จะมีผลต่อการแสดงออกเพียงเล็กน้อย (minor gene) โดยสภาพแวดล้อมจะมีอิทธิพลอย่างมากต่อการแสดงออกของลักษณะ เช่น กลุ่มยีนควบคุมลักษณะปริมาณ (quantitative trait loci; QTL) ควบคุมลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ซึ่งมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 2 , 7, 8 และ 9 (Holland *et al*., 1998: Jiang *et al*., 1999)

ปัจจุบันการสร้างพันธุ์ข้าวโพดต้านทานเป็นวิธีการที่ดีที่สุดที่ใช้ในการป้องกันความเสียหายที่เกิดจาก *E. turcicum* เชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ วิธี Marker-assisted selection (MAS) ถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวโพดต้านทานของนักปรับปรุงพันธุ์ การพัฒนาโมเลกุลเครื่องหมายแบบ random amplified polymorphic (RAPD) และ sequence characterized amplified region (SCAR) ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ด้วยวิธีการ Bulked segregate analysis (BSA) ของประชากร F_2 ของข้าวโพดข้าวเหนียว พบว่าโมเลกุลเครื่องหมาย ชนิด OPA07521, OPA16457, OPB09520, และ OPE20536 มีเกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค โมเลกุลเครื่องหมายดังกล่าวถูกเปลี่ยนเป็น SCAR markers : SCA07496 ,

SCA16420, SCB09464 และ SCE20429 ซึ่งโมเลกุลเครื่องหมายชนิด RAPD และ SCAR markers พัฒนาไปใช้คัดเลือกพันธุกรรมต้านทานโรค NCLB ด้วยวิธีการ MAS ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ (Khampila *et al*., 2008) จากนั้นยังทำการวางตำแหน่งยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณจากประชากร 209W x 241W ในประชากร ชั่วที่ $F_{2:3}$ ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ พบตำแหน่งยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณหลักจำนวน 4 ตำแหน่งที่ โครโมโซม 1.01 , 7.03, 6.04 และ 8.05 ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานได้

Welz and Geiger (2000) พบว่าแหล่งยีนต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ มีทั้งเป็นยีนเดียว (Ht gene) และเป็นยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณแต่ยีน Ht ยังแสดงความแปรปรวน ทำให้เกิดอ่อนแอต่อโรคได้ในบางสภาพแวดล้อม จึงศึกษาความแน่นอนของตำแหน่งยีนต้านทานแบบยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณของหลายประชากร และเปรียบเทียบและจัดกลุ่มของยีนต้านทานที่ตำแหน่งต่างๆ ทั้งเชื้อ *Setosphaeria turcica* และเชื้อราอื่นๆ พบว่า ระยะฟักตัวของโรค (Incubation period: IP) และ พื้นที่กราฟใต้เส้นโค้งแสดงเปอร์เซ็นต์ต้นที่เป็นโรค (area under the disease progress curve: AUDPC) ภายใต้การทดสอบโรคหลายโรคพร้อมกัน เป็นองค์ประกอบที่มีความสำคัญต่อการหาความต้านทานที่แท้จริงยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณของ IP and AUDPC ถูกวางตำแหน่งโดยใช้ 3 ประชากร และทดสอบใน 3 แหล่งปลูก โมเลกุลเครื่องหมายชนิด RFLP และ SSR ถูกใช้ในการวางตำแหน่งยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณพบ 12 - 13 QTLs ที่เกี่ยวข้องและแสดงปฏิกิริยาแบบผลบวก แต่ไม่แสดงยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณที่แสดงผลเป็นหลัก พบยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณวางตัวบน chromosomes 0 ถึง 8 และแสดง 3 QTLs ที่เหมือนกันทั้ง 3 ประชากรที่ตำแหน่ง chromosomes 3 (bin 3.06/07), 5 (bin 5.04) และ 8 (bin 8.05/06) ตำแหน่งยีนหลัก Ht2 and Htn1 อยู่ที่ bin 8.05 และ 8.06 ส่วน chromosomes 3 (bin 3.06/07), 5 (bin 5.04) จะเกี่ยวข้องกับเชื้อราอื่นๆ อีก 8 ชนิด และมียีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณที่เฉพาะเจาะจงกับประชากรแต่ละประชากร

สถาบันวิจัยพืชไร่กำแพงแสน

ตารางที่ 2.1 ตำแหน่งยีนที่ควบคุมลักษณะปริมาณ และชนิดของโมเลกุลเครื่องหมายที่วางตัวใกล้ตำแหน่งยีนในประชากรต่างๆ ที่มีการรายงานบางส่วนที่สามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์เบื้องต้นการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ และโรคไวรัสใบด่างอ้อย

ลักษณะ	QTLs/ยีน	โมเลกุลเครื่องหมาย	โครโมโซม	ประชากร	
NCLB	Ht2	bmc1812	8.05	209W x 241W ($F_{2:3}$)	Khampila, 2008
		nc009	6.04		
		phi114	7.03		
SCMV	Scmv1a	phi053, bnlg1432,	6	FAP1360A x F7	Xia *et al*., 1999,
		bnlg1600, phi077		(NILs)	Xing *et al*., 2006
	Scmv1b	phi423796	6		Xia *et al*., 1999,
					Xing *et al*., 2006
	Scmv2	phi062,bnlg1035,	3		Xia *et al*., 1999,
		bnlg1456			Xing *et al*., 2006

2.9 การใช้โมเลกุลเครื่องหมายในการคัดเลือกและการปรับปรุงพันธุ์

ประเภทของโมเลกุลเครื่องหมาย สามารถแบ่งออกได้ 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1) Hybridization-based marker เป็นโมเลกุลเครื่องหมาย ซึ่งพัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการเข้าคู่ของลำดับเบสดีเอ็นเอที่เป็นคู่สมกันระหว่างดีเอ็นเอตรวจสอบ (probe) กับดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบ โดยใช้เทคนิคไฮบริไดเซชัน (hybridization) ได้แก่ เครื่องหมายอาร์เอฟแอลพี (RFLP marker) (Kochert, G., 1994, McCouch and Tankslay, 1991, Tanksley et al., 1989)

2) PCR-based marker เป็นโมเลกุลเครื่องหมาย ที่พัฒนาขึ้น โดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัวดีเอ็นเอ หรือ เทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction (PCR) technique) โมเลกุลเครื่องหมาย ที่นิยมใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์พืช ได้แก่ เครื่องหมายอาร์เอพีดี (RAPD marker) (William et al., 1990) เครื่องหมายเอเอฟแอลพี (AFLP marker) (Vos et al., 1995), และเครื่องหมายไมโครแซทเทล-ไลท์ (Microsatellite) หรือเอสเอสอาร์ (SSR marker) (Brown et al., 1996, Powell et al., 1996) เป็นต้น

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีการเกษตร