บทบาทของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidases) ในมะเขือเทศต่อการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้าย [*Heliothis armigera* (Hübner)] และหนอนกระทู้หอม [*Spodoptera exigua* (Hübner)]

นางสาวอนงค์นุช ผลวงษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2548
ISBN 974-533-568-1

DEFENSIVE ROLE OF TOMATO POLYPHENOL OXIDASES AGAINST COTTON BOLLWORM [*Heliothis armigera* (Hübner)] AND BEET ARMYWORM [*Spodoptera exigua* (Hübner)]

Anongnut Bhonwong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Crop Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2005

ISBN 974-533-568-1

บทบาทของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidases) ในมะเขือเทศต่อการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้าย [*Heliothis armigera* (Hübner)] และหนอนกระทู้หอม [*Spodoptera exigua* (Hübner)]

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(อ. ดร. โสภณ วงศ์แก้ว)
ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร.ปิยะดา ทิพยผ่อง)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(รศ. ดร.จุฑารัตน์ อรรถจารุสิทธิ์)
กรรมการ

(ผศ. ดร.ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร)
กรรมการ

(รศ. ดร.เสาวณีย์ รัตนพานี)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

อนงค์นุช ผลวงษ์ : บทบาทของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidases) ในมะเขือเทศต่อการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้าย [*Heliothis armigera* (Hübner)] และหนอนกระทู้หอม [*Spodoptera exigua* (Hübner)] [DEFENSIVE ROLE OF TOMATO POLYPHENOL OXIDASES AGAINST COTTON BOLLWORM [*Heliothis armigera* (Hübner)] AND BEET ARMYWORM [*Spodoptera exigua* (Hübner)]] อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา ทิพยผ่อง, 130 หน้า. ISBN 974-533-568-1

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญ ซึ่งมีสารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพหลายชนิด ในมะเขือเทศเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidases; PPOs) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเปลี่ยนฟีนอลลิก (phenolics) เป็นควิโนน (quinones) และอาจเกี่ยวข้องในการต้านทานแมลง แต่บทบาทนี้ยังไม่ได้รับการพิสูจน์อย่างแน่ชัดในมะเขือเทศ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) คัดเลือกพืชดัดแปลงพันธุกรรมซึ่งถูกดัดแปลงให้มีระดับ PPO activity ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ประเมินบทบาทในการต้านทานแมลง 2) ศึกษาการแสดงออกของ PPO ในสภาพปกติและเมื่อถูกแมลงเข้าทำลาย 3) ศึกษาบทบาทของ PPO ในการต้านทานต่อการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้าย [*Heliothis armigera* (Hübner)] และหนอนกระทู้หอม [*Spodoptera exigua* (Hübner)] โดยการเปรียบเทียบการเข้าทำลาย อัตราการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การตาย น้ำหนักดักแด้ และระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ ของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม เมื่อนำมาเลี้ยงด้วยใบและผลของมะเขือเทศที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมให้มีระดับ PPO สูงขึ้น (overexpressing PPO; OP) และลดลง (underexpressing PPO; UP) เปรียบเทียบกับมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม (nontransformed; NT)

จากการคัดเลือกมะเขือเทศดัดแปลงพันธุกรรมโดยวิธี PPO activity assay ซึ่งเป็นวิธีที่ถูกต้องและแม่นยำที่สุด พบว่าได้ต้น UP19-3 ที่มีระดับ PPO activity ในใบต่ำกว่า NT 1.2-30.5 เท่า ได้ต้น OP18 ที่มีระดับ PPO activity สูงกว่า NT 1.6-25.3 เท่า และได้ต้น OP28 ที่มีระดับ PPO activity สูงกว่า NT 1.6-11.4 เท่า โดยระดับ PPO activity ในใบของมะเขือเทศทุกจีโนไทป์มีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุของต้นมะเขือเทศ และพบว่าระดับ PPO activity ในผลอายุ 4 สัปดาห์ ของ OP18 มีค่าสูงกว่า NT และ UP 3.4 และ 29.8 เท่า ตามลำดับ ส่วน UP19-3 มีระดับ PPO activity ต่ำที่สุด (ต่ำกว่า NT 8.7 เท่า) รูปแบบการแสดงออกของ PPO ในผลของมะเขือเทศต่างจีโนไทป์มีความแตกต่างกัน ในผลของ UP พบการแสดงออกของ PPO เฉพาะที่บริเวณ epidermis ใน NT นอกจากจะพบการแสดงออกของ PPO ที่บริเวณ epidermis แล้วยังพบ PPO ที่ pericarp, placenta, embryo และ seed coat ด้วย ส่วนใน OP มีการแสดงออกของ PPO สูงกว่า NT ในทุกเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะที่บริเวณ seed coat และ embryo เมื่อใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศทุกจีโนไทป์ถูกหนอนกระทู้หอม

กัดกิน พบว่ามีการกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity 1.7-21.3 เท่า เฉพาะในใบที่เกิดบาดแผล (local induction) แต่ไม่พบการกระตุ้นเพิ่มระดับในใบข้อที่ 6 (systemic induction)

จากการประเมินความต้านทานของใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย พบว่าพืช UP มีพื้นที่ใบข้อที่ 8 ที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกินสูงกว่า NT และ OP และหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของพืช UP มี simple growth rate สูงกว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของพืช NT และ OP มากถึง 3.0 และ 2.9 เท่า ตามลำดับ และพบว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของพืช OP มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุด นอกจากนี้พบว่าระดับ PPO activity มีความสัมพันธ์ในทางลบกับ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายและพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน เป็นการยืนยันบทบาทของ PPO ในการต้านทานแมลงชนิดนี้ ส่วนการประเมินความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน โดยพบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศข้อที่ 4 และ 8 ของมะเขือเทศ UP มี simple growth rate สูงกว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของมะเขือเทศ NT และ OP มากถึง 2.4 และ 3.8 เท่าตามลำดับ และใบของต้น UP มักถูกกัดกินมากกว่าจีโนไทป์อื่น จากการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมในผลมะเขือเทศ พบว่า UP19-4 มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการกัดกินสูงกว่าจีโนไทป์อื่น ส่วน simple growth rate และ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินผลมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดลองนี้บ่งชี้ว่า PPO ในมะเขือเทศมีบทบาทสำคัญในการต้านทานการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม โดยความต้านทานอาจเกิดจากการสร้างเอนไซม์ PPO ขึ้นตลอดเวลา (constitutive defense) ในต้นมะเขือเทศ และ/หรือมีการชักนำให้สร้างเพิ่มขึ้น (induced defense) เมื่อถูกหนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้ายเข้าทำลาย ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศให้มี PPO activity สูงขึ้นอาจเพิ่มความต้านทานต่อแมลงศัตรูพืช และลดปริมาณการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่เป็นพิษ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2548

ลายมือชื่อนักศึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

ANONGNUT BHONWONG : DEFENSIVE ROLE OF TOMATO POLYPHENOL OXIDASES AGAINST COTTON BOLLWORM [*Heliothis armigera* (Hübner)] AND BEET ARMYWORM [*Spodoptera exigua* (Hübner)]. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PIYADA THIPYAPONG, Ph.D. 130 PP. ISBN 974-533-568-1

POLYPHENOL OXIDASE/ TOMATO/ *Lycopersicon esculentum* Mill./ COTTON BOLLWORM/ *Heliothis armigera* (Hübner)/ BEET ARMYWORM/ *Spodoptera exigua* (Hübner)/ DEFENSIVE ROLE/ INSECT RESISTANCE

Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) is an economically important vegetable crop with numerous health-beneficial compounds. Tomato polyphenol oxidases (PPOs) catalyze the oxidation of phenolics to quinones and have been implicated in insect resistance. This defensive role, however, has not been conclusively proven in tomato. The objectives of this study were 1) to select transgenic tomato plants with modified PPO activity levels suitable for use as a platform for defensive role against insect evaluation, 2) to examine PPO expression under normal condition and in response to insect infestation and 3) to evaluate the defensive role of PPO against cotton bollworm [*Heliothis armigera* (Hübner)] and beet armyworm [*Spodoptera exigua* (Hübner)]. The foliage consumption, larval growth rate, mortality percentage, pupal weight and larval life-span of cotton bollworms and beet armyworms feeding on foliar and fruits of transgenic tomato overexpressing PPO (OP) and underexpressing PPO (UP) were evaluated in comparison with those feeding on

nontransformed (NT) plants.

Selection of transgenic tomato using PPO activity assay, the most accurate and precise method, allowed efficient obtainment of UP19-3 plants with 1.2-30.5 fold lower foliar PPO activity levels than NT, OP18 plants with 1.6-25.3 fold higher foliar PPO activity than NT, and OP28 plants with 1.6-11.4 fold higher foliar PPO activity than NT. The foliar PPO activity levels of all genotypes appeared to increase as tomato plants aged. In 4-week-old fruits, it was found that OP18 had 3.4 and 29.8 fold higher PPO activity than those of NT and UP, respectively whereas UP19-3 had the lowest PPO activity (8.7 fold lower than NT). Differential PPO expression patterns were observed in fruits of various tomato genotypes. In UP only the epidermis showed PPO expression. This epidermal expression was also observed in NT. In addition, PPO was also detectable in pericarp, placenta, embryo, and seed coat of this genotype. Similarly, OP fruits expressed PPO in all of these tissues, but at higher levels than NT, especially in seed coat and embryo. When node 4 leaflets of all tomato genotypes were infested by beet armyworm, their PPO activity levels were locally induced by 1.7-21.3 fold. No systemic induction was observed at node 6 leaves.

Evaluation of cotton bollworm resistance in foliar of UP, NT and OP plants showed that more foliage was consumed in node 8 leaves of UP than NT and OP. And simple growth rates of cotton bollworms feeding on node 8 leaves of UP plants were upto 3.0 and 2.9 times higher than on NT and OP leaves, respectively. Moreover, percent mortality was the highest in larvae feeding on node 8 leaves of OP plants. In addition, PPO activity levels were found to be negatively correlated with simple growth rate of cotton bollworm and leaf area consumed, substantiating the defensive role of PPO against this insect. Similar results were obtained when these plants

were evaluated for beet armyworm resistance. Simple growth rates of beet armyworms feeding on both nodes 4 and 8 leaves of UP plants were upto 2.4 and 3.8 times higher than on NT and OP leaves, respectively. And more UP foliage was usually consumed than others. The beet armyworm resistance evaluation in fruits found significantly higher percent weight loss due to larval consumption in UP19-4 compared to other genotypes. However, no significant difference in simple and relative growth rates was found among tomato genotypes with varied PPO activity levels.

These results indicate that tomato PPO provides a crucial role in resistance to both cotton bollworm and beet armyworm. The resistance may be contributed by constitutive PPO and/or PPO induced in response to cotton bollworm and beet armyworm infestation. Therefore, breeding of tomato to increase PPO activity levels may increase resistance to insect pests and minimize the usage of toxic pesticides.

School of Crop Production Technology Student's Signature _____

Academic Year 2005 Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร.ปิยะดา ทิพยผ่อง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ผู้ให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือ เอาใจใส่อย่างดียิ่ง และเป็นแบบอย่างนักวิจัยที่ดีแก่ข้าพเจ้า ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ รศ. ดร.จุฑารัตน์ อรรถจารุสิทธิ์ ดร.โสภณ วงศ์แก้ว ผศ. ดร.ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร และ Assoc. Prof. Michael J. Stout ที่กรุณาให้คำปรึกษาในวิทยานิพนธ์และแก้ปัญหาการวิจัย ตลอดจนช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณครูและอาจารย์ทุกท่าน ที่ให้การประสิทธิ์ประสาทสติปัญญา วิชาความรู้ และอบรมสั่งสอนตลอดมา คุณเอกวัฒน์ ธาราพฤกษพงศ์ คุณอรทัย นาชิน คุณนวลปรางค์ อุทัยดา คุณสมยง พิมพ์พรม และเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่กรุณาอำนวยความสะดวกและให้คำปรึกษาในการใช้เครื่องมือที่เกี่ยวข้องในการดำเนินการวิจัย

ขอขอบคุณศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร ที่ให้การสนับสนุนทุนการศึกษา สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยภายใต้โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้การสนับสนุนทุนสำหรับการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณศูนย์บริหารศัตรูพืช จ. นครราชสีมา, สวนผักบ้านตะคองเก่า จ. นครราชสีมา และไร่ฝ้าย จ. ลพบุรี ที่ให้การอนุเคราะห์หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้หอม

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การเลี้ยงดู ส่งเสริมและสนับสนุนด้านการศึกษาเป็นอย่างดีตลอดมา ท้ายนี้ขอขอบคุณเพื่อน พี่ น้อง ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีเสมอมา

อนงค์นุช ผลวงษ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง…. .....ฌ

สารบัญภาพ..... ..... ฎ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฐ

บทที่

1. บทนำ 1

1.1 ความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ 3

1.3 สมมุติฐานการวิจัย.....3

1.4 ขอบเขตการวิจัย 4

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

2. ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

2.1 ความสำคัญของมะเขือเทศ.....5

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะเขือเทศ 6

2.3 สภาพแวดล้อม การปลูก และการดูแลรักษามะเขือเทศ.....6

2.4 พันธุ์มะเขือเทศ.....8

2.5 โรคของมะเขือเทศ 9

2.6 แมลงศัตรูมะเขือเทศ.....9

2.7 หนอนเจาะสมอฝ้าย.....10

2.8 หนอนกระทู้หอม 12

2.9 กลไกการต้านทานแมลง 13

2.10 เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส 15

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.11 การกระตุ้นเพิ่มระดับเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในมะเขือเทศ 16
2.12 กลไกของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในการต้านทานแมลง 17
3. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย 20
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ 20
3.2 สถานที่ทำการทดลอง 21
3.3 ระยะเวลาการทดลอง 21
3.4 วิธีการทดลอง 21
3.4.1 การคัดเลือกพืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม 22
3.4.2 การศึกษาระดับการแสดงออกของ PPO ในใบและผลของพืช UP, NT และ OP 26
3.4.3 การศึกษาการกระตุ้นเพิ่มระดับของ PPO activity เมื่อได้รับความเสียหายจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม 29
3.4.4 การประเมินความต้านทานต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย 30
3.4.5 การประเมินความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม 32
4. ผลการทดลอง 37
4.1 การคัดเลือกพืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม 37
4.2 การศึกษาระดับการแสดงออกของ PPO ในใบและผลของพืช UP, NT และ OP 42
4.3 การศึกษาการกระตุ้นเพิ่มระดับของ PPO activity เมื่อได้รับความเสียหายจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม 47
4.4 การประเมินความต้านทานต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย 49
4.5 การประเมินความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม 53
5. วิจารณ์ผลการทดลอง 66
6. สรุปผลการทดลอง 73
รายการอ้างอิง 74
ภาคผนวก 80
ประวัติผู้เขียน 130

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1 จำนวนต้นมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 ที่ปลูกทั้งหมด จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลงหรือสูงขึ้น และจำนวนเท่าของระดับ PPO activity ที่สูงหรือต่ำกว่า NT จากการคัดเลือกครั้งที่ 1 38

2 จำนวนต้นมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 ที่ปลูกทั้งหมด จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลงหรือสูงขึ้น และจำนวนเท่าของระดับ PPO activity ที่สูงหรือต่ำกว่า NT จากการคัดเลือกครั้งที่ 2 38

3 จำนวนต้นมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 ที่ปลูกทั้งหมด จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลงหรือสูงขึ้น และจำนวนเท่าของระดับ PPO activity ที่สูงหรือต่ำกว่า NT จากการคัดเลือกครั้งที่ 3 39

4 จำนวนต้นมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 ที่ปลูกทั้งหมด จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลงหรือสูงขึ้น และจำนวนเท่าของระดับ PPO activity ที่สูงหรือต่ำกว่า NT จากการคัดเลือกครั้งที่ 4 39

5 ระดับ PPO activity ในใบมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 43

6 ระดับ PPO activity ในผลมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 44

7 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกิน simple growth rate และ relative growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 4 และ 8 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ (4 ตุลาคม 2547) 51

8 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน simple growth rate, relative growth rate และ เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 1 (23 ตุลาคม 2547) 60

9 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน simple growth rate, relative growth rate น้ำหนักดักแด้ ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548) 61

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

10 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน simple growth rate, relative growth rate น้ำหนักดักแด้ ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)..... 62

11 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน simple growth rate และ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)..... 63

12 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน simple growth rate, relative growth rate น้ำหนักดักแด้ ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)..... 64

13 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียในผลมะเขือเทศ จากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม simple growth rate และ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินผลมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ 65

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 วงจรชีวิตของหนอนเจาะสมอฝ้าย 11

2 วงจรชีวิตของหนอนกระทู้หอม 13

3 แถบดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณยีนคัดเลือก *nptII* ใน UP19-3 (แถบที่ 3-6, 9), OP18 (แถบที่ 7-8, 10-11), NT (แถบที่ 1-2) และ 1 kb plus DNA ladder (แถบที่ 12) ..... .36

4 การตรวจสอบระดับ PPO ของ OP18 [จุดที่ 4-24 (A) และ 28-48 (B)] เปรียบเทียบกับ NT [จุดที่ 1-3 (A) และ 25-27 (B)] ด้วยวิธี dot blot analysis 40

5 รูปแบบการแสดงออกของ PPO ในผลของ UP13-3(A), UP19-4 (B), NT (C), OP18 (D) และ OP28 (E) ที่มีอายุ 4 สัปดาห์; Ep: Epidermal, Sc: Seed coat, Em: Embryo, Pc: Placenta, Pr: Pericarp 45

6 ระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 ของพืช UP, NT และ OP ก่อนและหลังการเข้าทำลายโดยหนอนกระทู้หอม 47

7 ระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 6 ของพืช UP, NT และ OP ก่อนและหลังการเข้าทำลายโดยหนอนกระทู้หอม 47

8 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้าย 51

9 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับพื้นที่ใบที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกิน 51

10 หนอนกระทู้หอม อายุ 10 วัน ที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP19-3 (A), UP19-4 (B), NT (C), OP18 (D) และ OP28 (E) ในการทดสอบความต้านทานครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548) 58

11 หนอนกระทู้หอมอายุ 10 วัน ที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-3 (A), UP19-4 (B), NT (C), OP18 (D) และ OP28 (E) ในการทดสอบความต้านทานครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน2548) 59

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

12 หนอนกระทู้หอมอายุ 10 วัน ที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-3 (A), UP19-4 (B), NT (C), OP18 (D) และ OP28 (E) ในการทดสอบความต้านทานครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน2548) 59

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CTAB	=	cetylmethylammonium bromide
IgG	=	immunoglobulin
NT plant	=	nontransformed plant
OP plant	=	overexpressing PPO plant
PCR	=	polymerase chain reaction
PPO	=	polyphenol oxidase
SDS	=	sodium dodecylsulfate
TBS	=	tris-buffered saline
UP plant	=	underexpressing PPO plant

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นพืชผักที่นิยมปลูกกันมากในเกือบทุกประเทศ มีความสำคัญเป็นอันดับสองรองจากมันฝรั่ง ผลของมะเขือเทศมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น สารจำพวกแคโรทีนอยด์ วิตามิน นอกจากนี้ยังประกอบด้วยแร่ธาตุ และกรดอะมิโน ในประเทศไทยมะเขือเทศสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ตั้งแต่การบริโภคผลสด ปรุงอาหาร ไปจนถึงเป็นวัตถุดิบสำหรับอุตสาหกรรมการเกษตร และเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้กับประเทศเป็นอย่างดี (เมฆ จันทน์ประยูร, 2548; Jones, 1999) ปัญหาที่มักจะพบในการผลิตมะเขือเทศ ได้แก่ การไม่มีพันธุ์ที่ทนต่อโรคเหี่ยวเขียว-เหี่ยวเหลือง หนอนเจาะทำลายใบและผล และพันธุ์เหมาะสมที่สามารถปลูกได้ตลอดปี เป็นต้น (ศุภลักษณ์ ฮอกะวัต, 2536) แมลงศัตรูพืชเป็นปัญหาที่สำคัญปัญหาหนึ่งของเกษตรกร โดยทำให้ต้นทุนการผลิตของเกษตรกรเพิ่มขึ้นกว่า 40 ล้านบาทต่อปี (Ayedh, 1997) ซึ่งแมลงศัตรูมะเขือเทศที่สำคัญมี 4 ชนิด คือ หนอนเจาะสมอฝ้าย [*Heliothis armigera* (Hübner)] หนอนกระทู้หอม [*Spodoptera exigua* (Hübner)] หนอนกระทู้ผัก [*Spodoptera litura* (Fabricius)] และแมลงหวี่ขาว [*Bemisia tabaci* (Gennadius)] (นงพร กิจบำรุง และคณะ, 2543) หนอนเจาะสมอฝ้ายเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งของมะเขือเทศ พบระบาดในแอฟริกา และเอเชีย ในประเทศไทยหนอนชนิดนี้ระบาดรุนแรงทั่วทุกแห่ง ส่วนหนอนกระทู้หอม พบระบาดตามแหล่งปลูกผัก เช่น จังหวัดราชบุรี นนทบุรี ปทุมธานี เป็นต้น เนื่องจากทั้งหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอมมีพืชอาหารที่เป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจเกือบทุกชนิด หนอนทั้งสองชนิดทำความเสียหายให้กับมะเขือเทศ โดยการกัดกินส่วนต่างๆ เช่น ใบ ดอก และผล ถ้าหนอนกัดกินผลจะเจาะเข้าไปใกล้ๆ กับขั้วผล แล้วเข้าไปกัดกินอยู่ในผลขณะที่ผลยังอ่อนอยู่ ทำให้ผลเน่าเสียและหลุดร่วง ถ้าไม่ร่วงและอยู่จนแก่จะทำให้ผลมะเขือเทศไม่มีคุณภาพ การป้องกันและกำจัดแมลงสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้วิธีกล การใช้สารเคมี การใช้เชื้อจุลินทรีย์ หรือ การใช้การจัดการแบบผสมผสาน เป็นต้น (เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์, 2538; กองกีฏและสัตววิทยา, 2542; Ciba plant protection vegetables, 1996) นอกจากนี้การใช้พันธุ์ต้านทานยังเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการลดการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืช ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศให้ต้านทานแมลงจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถลดความเสียหาย

ที่เกิดจากแมลงศัตรูมะเขือเทศได้ นอกจากนี้ยังเป็นการลดต้นทุนต่อหน่วยการผลิตของเกษตรกรด้วย เพราะสามารถลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้

มะเขือเทศมีกลไกในการป้องกันและต้านทานการเข้าทำลายของแมลงทั้งทางกายภาพและทางเคมี เช่น การมีขนใบ (trichome) การสร้างสารที่เป็นพิษต่อแมลงโดยตรงหรือสร้างสารที่มีผลในการลดคุณค่าทางอาหารต่อแมลง ได้แก่ tomatine, catecholic, phenolic, polyphenol oxidase, proteinase, inhibitors และ lipoxygenase (Duffey and Stout, 1996) กลไกทางเคมีเหล่านี้มีการสร้างขึ้นตลอดเวลา (constitutive defense) ในต้นมะเขือเทศ และนอกจากนี้ในสภาวะที่มีโรคและแมลงเข้าทำลาย หรือในสภาพเครียด กลไกทางเคมีเหล่านี้ยังสามารถถูกชักนำให้มีการสร้างเพิ่มขึ้นได้ด้วย (induced defense; Rickman et al., 2003)

โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidases; PPOs) เป็นเอนไซม์ที่มีการสร้างขึ้นตลอดเวลา และสามารถกระตุ้นให้สร้างเพิ่มขึ้นได้ PPO เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเปลี่ยนสารฟีนอลลิก (phenolics) เป็นควิโนน (quinones) ซึ่งควิโนนจะทำปฏิกิริยา polymerization อย่างรวดเร็วทำให้เกิดเม็ดสีสีน้ำตาล ซึ่งพบในผักและผลไม้เมื่อเกิดบาดแผล ถูกโรค-แมลงเข้าทำลาย หรือเกิดการชราภาพ (senescence) มีงานวิจัยหลายงานที่บ่งชี้ถึงความสำคัญของ PPO ต่อการต้านทานโรคและแมลงหลายชนิด อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีงานวิจัยใดแสดงหลักฐานโดยตรงที่ระบุอย่างแน่ชัดถึงบทบาทของ PPO ในมะเขือเทศต่อการต้านทานแมลง เนื่องจากมะเขือเทศมีเอนไซม์เพอรอกซิเดส (peroxidase; PO) ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารฟีนอลลิกได้เช่นเดียวกับ PPO และงานวิจัยบางงานไม่ได้แบ่งแยกบทบาทของ PPO และ PO นอกจากนี้การศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณ PPO ในสายพันธุ์ต่างๆ หรือเมื่อได้รับและไม่ได้รับสารกระตุ้นกับการต้านทานแมลงนั้น แต่ยังไม่สามารถแยกบทบาทของ PPO ออกจากปัจจัยอื่นๆ ที่แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์และสภาพแวดล้อมได้ สำหรับการทดลองโดยใช้อาหารสังเคราะห์นั้นอาจไม่สะท้อนถึงบทบาทที่แท้จริงของ PPO ในต้นพืช ดังนั้น Li and Steffens (2002) และ Thipyapong et al. (2004) จึงทำการเปลี่ยนแปลงเฉพาะปริมาณ PPO ในต้นมะเขือเทศโดยวิธีพันธุวิศวกรรมเพื่อให้มะเขือเทศมีปริมาณ PPO สูงขึ้นและต่ำลง โดยมีลักษณะทางพันธุกรรมอื่นๆ เหมือนเดิมจากการตัดต่อ นำ PPO cDNA ของมันฝรั่งที่มีการเรียงตัวแบบ sense และ antisense เข้าไปในพืชตามลำดับ พบว่าพืชดัดแปลงพันธุกรรม sense PPO มีความต้านทานต่อโรคใบจุด *Pseudomonas syringae* pv. tomato สูงขึ้น ส่วนพืช antisense PPO มีความต้านทานต่ำลง แสดงถึงบทบาทโดยตรงของ PPO ในการต้านทานโรค การนำพืชเหล่านี้มาใช้ศึกษาเปรียบเทียบระดับความต้านทานต่อแมลงศัตรูพืชจะทำให้สามารถสรุปบทบาทของ PPO ในการต้านทานแมลงได้โดยตรง

การศึกษาบทบาทของ PPO ในมะเขือเทศต่อการต้านทานการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอมนี้ นอกจากจะนำไปสู่ความเข้าใจถึงกลไกการต้านทาน

ของมะเขือเทศต่อการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชมากขึ้น ยังสามารถนำไปใช้ปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศ และพืชอื่น โดยการใช้ปริมาณ PPO เป็นลักษณะคัดเลือก หรือโดยวิธีพันธุวิศวกรรมในอนาคต เนื่องจาก PPO มีบทบาทสำคัญในการต้านทานโรคใบจุดของมะเขือเทศ และมีแนวโน้มที่จะทำให้เกิดความต้านทานต่อโรคและแมลงได้หลายชนิด การปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศหรือพืชอื่นเพื่อเพิ่มระดับ PPO จึงเป็นหนทางสำคัญในการควบคุมศัตรูพืช เพื่อลดต้นทุนการผลิต ลดความเป็นพิษ และการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อม

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อคัดเลือกพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่มีระดับ PPO activity เหมาะสมในการใช้ทดสอบความต้านทาน และศึกษาการแสดงออกของ PPO

1.2.2 เพื่อศึกษาการแสดงออกของ PPO ในมะเขือเทศจีโนไทป์ต่างๆ ทั้งในสภาพปกติและเมื่อถูกหนอนกระทู้หอมเข้าทำลาย

1.2.3 เพื่อศึกษาบทบาทของ PPO ในการต้านทานต่อการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม โดยเปรียบเทียบการเข้าทำลาย อัตราการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การตาย น้ำหนักดักแด้ และระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม เมื่อนำมาเลี้ยงด้วยใบพืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมให้มีระดับ PPO สูงขึ้นและลดลง เปรียบเทียบกับพืชที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม

1.2.4 เพื่อนำความรู้ที่ได้ไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศหรือพืชอื่นให้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม โดยการใช้ปริมาณ PPO เป็นลักษณะคัดเลือก หรือโดยวิธีพันธุวิศวกรรมในอนาคต

1.3 สมมุติฐานการวิจัย

1.3.1 PPO เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการต้านทานแมลงขนาดเล็ก โดยการตรึงแมลงขนาดเล็กให้ไม่สามารถเคลื่อนไหว และกินอาหารได้สะดวก นอกจากนี้ควิโนนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของ PPO อาจไป cross link กับกรดอะมิโนชนิด nucleophilic ส่งผลให้ความสามารถในการย่อย ความน่ากิน และคุณค่าทางอาหาร ของเนื้อเยื่อพืชต่อสิ่งมีชีวิตอื่นลดลง ดังนั้นมะเขือเทศที่มีระดับ PPO สูงกว่าปกติ น่าจะมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอมลดลง และ/หรือ ทำให้เปอร์เซ็นต์การตายสูงขึ้น และทำให้เนื้อเยื่อพืชได้รับความเสียหายลดลง ในขณะที่หนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม ที่กัดกินมะเขือเทศที่มีระดับ PPO ต่ำกว่าปกติ น่าจะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่ามะเขือเทศที่มีระดับ PPO ปกติ และทำให้เนื้อเยื่อพืชได้รับความเสียหายมากขึ้น

1.3.2 เมื่อต้นพืชได้รับความเสียหายจากปัจจัยสิ่งมีชีวิต (biotic) หรือ สิ่งไม่มีชีวิต (abiotic) จะมีการกระตุ้นเพิ่มระดับของ PPO ซึ่งอาจมีการควบคุมที่ระดับการลอกรหัสพันธุกรรม (transcription) การแปลรหัสพันธุกรรม (translation) หรือหลังการแปลรหัสพันธุกรรม (post-translation)

1.3.3 ความต้านทานที่ได้จาก PPO มีผลมาจาก PPO ที่สร้างขึ้นในสภาพปกติ และ/หรือ PPO ที่ถูกกระตุ้นให้สร้างเพิ่มขึ้นเมื่อต้นพืชได้รับความเสียหาย

1.4 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นศึกษาถึง ผลของ PPO ในใบมะเขือเทศ ที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมให้มีระดับ PPO สูงขึ้นและลดลง เปรียบเทียบกับมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม ที่มีผลต่ออัตราการเข้าทำลาย อัตราการเจริญเติบโต และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม รวมถึงการศึกษาการเพิ่มขึ้นของระดับ PPO activity เมื่อต้นพืชได้รับการกระตุ้น หรือเกิดความเสียหายจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม โดยทำการทดลองเฉพาะในห้องปฏิบัติการ เพื่อที่จะสามารถนำความรู้ที่ได้มาใช้ปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศหรือพืชชนิดอื่น ให้มีความต้านทานต่อแมลงด้วยวิธีดั้งเดิม หรือวิธีพันธุวิศวกรรมในอนาคตได้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 เป็นงานวิจัยที่สามารถพิสูจน์บทบาทของ PPO ในมะเขือเทศต่อการต้านทานแมลงอย่างแน่ชัด โดยเฉพาะในเรื่องกลไกความต้านทานของมะเขือเทศต่อการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม เป็นความรู้พื้นฐานที่นักวิชาการในวงการปรับปรุงพันธุ์พืช พันธุวิศวกรรม และอณูชีววิทยาสามารถนำไปใช้ได้

1.5.2 สามารถนำความรู้ที่ได้มาใช้ปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศหรือพืชชนิดอื่นให้มีความต้านทานต่อแมลงด้วยวิธีดั้งเดิม หรือวิธีพันธุวิศวกรรม เป็นการใช้พืชพันธุ์ต้านทานแมลงเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเพื่อลดความเป็นพิษ และการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม และลดมูลค่าการนำเข้าที่ส่งผลไปถึงการขาดดุลการค้าของประเทศ

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะเขือเทศ (tomato) เป็นพืชผักที่อยู่ในวงศ์ Solanaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill. อาจมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น เช่น ในภาคเหนือเรียก มะเขือส้ม ในจังหวัดสุรินทร์ เรียก ตรอบ หรือจังหวัดเชียงใหม่เรียก น้ำเนอ เป็นต้น ในทวีปยุโรป อิตาลีเป็นประเทศแรกที่รู้จักมะเขือเทศเมื่อประมาณ ต้นปี ค.ศ. 1544 ต่อมาประเทศอื่นรู้จักจึงมีการปลูกกันอย่างกว้างขวาง จนแพร่หลายเข้าไปในเอมริกา มะเขือเทศจึงกลายเป็นพืชพื้นเมืองของอเมริกา (เมฆ จันทน์ประยูร, 2548)

2.1 ความสำคัญของมะเขือเทศ

มะเขือเทศเป็นพืชผักที่มีความสำคัญทั้งในแง่ผักอุตสาหกรรมและบริโภคสด จากการสำรวจในปี 2545 พบว่าทั่วโลก มีการปลูกมะเขือเทศรวมทั้งสิ้นประมาณ 24.7 ล้านไร่ ให้ผลผลิต 52.48 ล้านตัน ส่วนในประเทศไทย จากสถิติการเพาะปลูกปี 2548 มีพื้นที่การเพาะปลูกมะเขือเทศทั้งสิ้น 11,500 ไร่ ผลผลิตทั้งหมด 270,000 ตัน (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006) พื้นที่เพาะปลูกส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดที่มีการปลูกมะเขือเทศมาก ได้แก่ หนองคาย สกลนคร นครพนม ขอนแก่น อุดรธานี เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง เป็นต้น มะเขือเทศที่ปลูกในปัจจุบันแบ่งได้เป็นมะเขือเทศรับประทานผลสด และมะเขือเทศอุตสาหกรรมเพื่อส่งโรงงานทำผลิตภัณฑ์มะเขือเทศแปรรูป เช่น มะเขือเทศเข้มข้น (paste) ซอสมะเขือเทศ และน้ำมะเขือเทศ ซึ่งเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้กับประเทศไทย เช่น ในปี พ.ศ. 2547 มีมูลค่าการส่งออกถึง 160.4 ล้านบาท แบ่งเป็นมะเขือเทศสดหรือแช่เย็น 40.9 ล้านบาท และมะเขือเทศปรุงแต่ง 119.5 ล้านบาท ตามลำดับ (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006) ในผลมะเขือเทศยังมีสารจำพวก แคโรทีนอยด์ ชื่อไลโคพีน (Lycopene) ซึ่งเป็นสารสีแดง และวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามิน บี 1 บี 2 วิตามิน เค โดยเฉพาะวิตามิน เอ และวิตามิน ซี มีในปริมาณสูง มีกรดมาลิค กรดซิตริก ซึ่งให้รสเปรี้ยว และมีกลูตามิค (Glutamic) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนช่วยเพิ่มรสชาติให้อาหาร นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารเบต้า-แคโรทีน และแร่ธาตุหลายชนิด เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณทางยาด้วย กล่าวคือในผลมะเขือเทศมีรสเปรี้ยว ช่วยดับกระหาย ทำให้เจริญอาหาร บำรุงและกระตุ้นกระเพาะอาหาร ลำไส้ ไต ให้

ทำงานได้ดี ช่วยขับพิษในร่างกาย เป็นยาระบายอ่อน ๆ และเหมาะที่จะเป็นอาหารสำหรับคนเป็นโรคนิ่ว วัณโรค ไทฟอยด์ หูอักเสบ และเยื่อตาอักเสบ โดยรับประทานผลสด ผู้ที่รับประทานมะเขือเทศเป็นประจำ จะช่วยลดอัตราการเกิดโรคมะเร็งในลำไส้ และมะเร็งต่อมลูกหมาก ช่วยเป็นยารักษาโรคผิวหนังที่ถูกแดดเผาโดยใช้ใบตำให้ละเอียดทาบริเวณที่ถูกแดด ช่วยแก้อาการปวดฟันโดยนำราก ลำต้น และใบแก่ต้มกับน้ำรับประทาน นอกจากนี้ยังช่วยรักษาสิว สมานผิวหน้าให้เต่งตึงได้ด้วย (เมฆ จันทน์ประยูร, 2548; อร่าม คุ้มทรัพย์, 2543) นอกจากนี้มะเขือเทศยังคุณสมบัติเป็นสารดึงดูดและขับไล่แมลง ทำให้แมลงไม่วางไข่ ยับยั้งการกินอาหารของด้วงหมัดผัก ด้วงหน่อไม้ฝรั่ง หนอนเจาะลำต้น หนอนใยผัก หนอนผีเสื้อ และใส้เดือนฝอยชนิด *Tylenchorhychus* sp. โดยใช้ใบสด 2 กรัมต่อน้ำ 5 ลิตร หรือใบสด 2 กำมือพูน ๆ แช่ลงในน้ำร้อน 2 ลิตร ประมาณ 5 ชั่วโมง กรองแล้วนำไปฉีด หรือใช้ใบแห้ง 20 กรัม ต้มในน้ำ 1 ลิตร จนเปื่อย ทิ้งไว้ให้เย็นจึงเอาไปทาต้นไม้ป้องกันแมลง หรือใช้วิธีปลูกแซม หรือจะใช้ทั้งใบ ต้น และผลบดให้ละเอียดแล้วคลุกขี้เถ้า ตั้งทิ้งไว้สักครู่ กรองแล้วนำไปฉีดพ่น (กระทรวงการคลัง, 2543)

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะเขือเทศ

เมล็ด มะเขือเทศมีเมล็ดลักษณะคล้ายรูปไข่ แบน มีขนสั้นสีน้ำตาลอ่อนปกคลุมอยู่ที่เปลือกหุ้มเมล็ด มีความยาว 3-5 มม.

ราก เป็นระบบรากแก้ว และมีการสร้างรากแขนงและรากขนอ่อนออกมาเมื่อรากแก้วถูกทำลาย แต่ระบบการปลูกย่อมมีผลต่อระบบรากด้วยเช่นกัน คือหากปลูกด้วยเมล็ดจะเป็นระบบรากแก้ว แต่ถ้าเป็นการปลูกด้วยการย้ายปลูกรากแก้ว จะถูกทำลายและจะมีการสร้างรากแขนงขึ้นมาเป็นจำนวนมากอย่างรวดเร็ว มะเขือเทศยังสามารถสร้างรากพิเศษบนลำต้นได้ด้วย หากรากเดิมถูกทำลาย ดังนั้นจึงสามารถทำให้มะเขือเทศสร้างรากใหม่ได้โดยการพูนดินบนโคนต้น

ลำต้นและกิ่งก้าน ในระยะแรกที่เริ่มงอกลำต้นจะกลม อ่อนเปราะ แต่จะเป็นเหลี่ยมและแข็งแรงขึ้น และมีการแตกกิ่งก้านสาขาออกจากตาที่ลำต้นเรื่อย ๆ และอาจมีขนาดเท่ากับลำต้นเดิมได้

ดอก มะเขือเทศมีดอกสีเหลืองขนาดเล็ก มีกลีบดอก 5 กลีบ และกลีบเลี้ยง 5 กลีบ การเกิดดอกจะเกิดบริเวณข้อของลำต้นเป็นช่อ ช่อละ 4-5 ดอก เมื่อดอกบานกลีบเลี้ยงและกลีบดอกจะโค้งออก เกสรตัวผู้มี 5 อัน ประกอบด้วยอับเรณูใหญ่และอับเรณูสั้นอยู่รอบเกสรตัวเมีย

ผล ลักษณะและรูปทรงของผลขึ้นอยู่กับพันธุ์ มีตั้งแต่กลมไปถึงรี ผลมีทั้งขนาดเล็กและใหญ่ มีทั้งสีเหลือง เหลืองเข้ม และส้มแดงขึ้นอยู่กับเม็ดสี ซึ่งมี 2 ชนิด คือแคโรทีน และไลโคพีน (เกียรติ เกษตร กาญจนพิสุทธิ์, 2538; เมฆ จันทน์ประยูร, 2548; อร่าม คุ้มทรัพย์, 2543)

2.3 สภาพแวดล้อม การปลูกและการดูแลรักษามะเขือเทศ

2.3.1 สภาพอากาศที่เหมาะสม

มะเขือเทศเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 18-28 °ซ ดังนั้นฤดูหนาวจึงเป็นฤดูที่เหมาะสมในการปลูกมะเขือเทศ เพราะมะเขือเทศจะแข็งแรงและให้ผลผลิตสูง ถ้าความชื้นของอากาศและอุณหภูมิสูงจะทำให้ผลผลิตและคุณภาพลดลง และทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ง่าย ปัญหาการปลูกมะเขือเทศในฤดูฝนคือ ในฤดูฝนมีความชื้นและอุณหภูมิเหมาะแก่การเจริญเติบโตของโรคหลายชนิด และมะเขือเทศบางพันธุ์ผลจะแตกง่ายเมื่อฝนตก แต่ถ้าต้องการจะปลูกมะเขือเทศในฤดูฝนสิ่งที่ควรคำนึงถึงคือการเลือกพื้นที่ปลูกซึ่งควรเป็นที่สูงมีการระบายน้ำดีเป็นพิเศษ ดินมีสภาพเป็นกลาง คือมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 6.5-6.8 ใช้พันธุ์ที่เหมาะสมคือให้ผลดกในฤดูฝนและฤดูร้อน มีการปฏิบัติรักษาอย่างถูกต้องคือ เตรียมดินใส่ปุ๋ยถูกต้อง ฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างถูกต้องและบ่อยครั้งเป็นพิเศษ

2.3.2 การเตรียมดิน

ดินที่เหมาะสมในการปลูกมะเขือเทศควรเป็นดินร่วนมีอินทรีย์วัตถุสูงและมีการระบายน้ำดี ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน (pH) ประมาณ 6.5-6.8 ถ้าดินเป็นกรดหรือด่างมากเกินไปจะทำให้ดินขาดธาตุอาหารบางอย่างได้ หรือธาตุอาหารบางชนิดสามารถละลายออกมาได้มากเกินไปจนเป็นเหตุให้เป็นพิษต่อต้นพืช การปลูกมะเขือเทศโดยทั่วไปไม่ควรปลูกซ้ำที่เดิมหรือในพื้นที่ปลูกพืชในตระกูลเดียวกันกับมะเขือเทศมาก่อน เช่น พริก มะเขือและยาสูบ เป็นต้น เพราะอาจมีเชื้อโรคต่าง ๆ สะสมอยู่ในดิน ซึ่งเป็นโอกาสให้มะเขือเทศเป็นโรคได้ง่าย ควรเตรียมดินให้ลึก 30-40 เซนติเมตร ถ้าใช้เครื่องทุ่นแรงหรือรถไถควรไถ 2-3 ครั้ง โดยไถกลบดินไปมาและตากดินให้แห้ง 3-4 สัปดาห์ แล้วย่อยดินให้ละเอียดพอควร อย่าให้ละเอียดมากเกินไป เพราะมะเขือเทศต้องการสภาพดินที่มีการระบายน้ำและถ่ายเทอากาศได้ ถ้าหากดินเป็นกรดให้ใช้ปูนขาวหว่านในอัตราประมาณ 100-300 กิโลกรัมต่อไร่ โดยใช้ปูนขาวหว่านและคลุกเคล้ากับดินหรืออาจจะหว่านก่อนการเตรียมดินครั้งสุดท้าย แต่อย่างไรก็ตามควรใส่ปูนขาวก่อนปลูก 2-3 สัปดาห์

2.3.3 วิธีการปลูก

แปลงปลูกควรไถพรวนและปรับระดับดินให้เรียบสม่ำเสมอกันแล้วยกแปลงให้สูงประมาณ 30 ซม. กว้าง 100 ซม. ปลูกเป็นแถวคู่ระยะระหว่างแถว 70 ซม. ระหว่างต้น 50 ซม. วิธีการปลูกมะเขือเทศสามารถทำได้ 2 วิธี คือ การเพาะกล้าแล้วย้ายปลูก และการหยอดเมล็ดลงแปลงโดยตรง

1. การเพาะกล้าแล้วย้ายปลูก โดยอาจเพาะในกะบะเพาะในกรณีที่ต้องการต้นกล้าจำนวนไม่มากนัก หรือในกรณีที่ต้องการต้นกล้าเป็นจำนวนมากควรทำแปลงเพาะกล้าแล้วหยอดเมล็ดในแปลงห่างกัน 10 ซม. ใช้ฟางคลุมแปลง รดน้ำสม่ำเสมอในช่วง 3 วันแรก เมื่อกล้าอายุ 22-25 วัน (มี

ใบจริง 3-4 ใบ จึงย้ายปลูก ก่อนย้าย 1 สัปดาห์ ควรให้น้ำน้อยลง แต่ก่อนย้ายจะต้องรดน้ำในแปลงชำให้ชุ่มเสียก่อน เพื่อความสะดวกในการถอนต้นกล้า และรากต้นกล้าจะไม่ขาดและไม่ถูกกระทบกระเทือน ก่อนปลูกควรรองก้นหลุมปลูกด้วยปุ๋ยคอก และปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 1 กรัมต่อต้น คลุกเคล้าให้เข้ากันแล้วจึงย้ายกล้าลงหลุมปลูกหลุมละ 1-2 ต้น กลบดินให้เสมอระดับผิวดินอย่าให้เป็นแอ่งหรือเป็นหลุม เพราะจะทำให้น้ำขังและต้นกล้าเน่าตายได้ ถ้าปลูกขณะที่ฤดูฝนยังไม่สิ้นสุด แต่ถ้าปลูกในฤดูหนาวหรือฤดูแล้งควรจะกลบดินให้ต่ำกว่าระดับหลุมเล็กน้อย ควรย้ายปลูกในเวลาที่อากาศไม่ร้อนคือในตอนบ่ายหรือตอนเย็น เมื่อย้ายเสร็จให้รีบรดน้ำตามทันที

2. หยอดเมล็ดลงแปลงโดยตรง โดยทำแปลงเป็นร่อง แล้วนำเมล็ด 3-5 เมล็ด หยอดในหลุมปลูกแล้วคลุมด้วยฟาง เมื่อเป็นต้นกล้าก็ทำการถอนให้เหลือหลุมละ 1-2 ต้น

2.3.4 การดูแลรักษา

มะเขือเทศเป็นพืชที่ต้องการน้ำสม่ำเสมอ ตั้งแต่เริ่มปลูกไปจนถึงผลเริ่มแก่ หลังจากนั้นควรลดการให้น้ำลง เพราะอาจทำให้ผลแตกได้ การรดน้ำมากเกินไปจะทำให้ดินชื้น ซึ่งทำให้เชื้อราที่ทำให้เกิดโรคเน่าเจริญได้ดี แต่หากมะเขือเทศขาดน้ำ และให้น้ำอย่างกะทันหันก็จะทำให้ผลแตกได้เช่นกัน สำหรับการใส่ปุ๋ยนั้นขึ้นอยู่กับสภาพของดินแต่ละแห่ง เช่น ถ้าดินเป็นดินเหนียว ปุ๋ยเคมีที่ใช้ควรมีไนโตรเจนและโปแตสเซียมเท่ากัน ส่วนฟอสฟอรัสให้มีอัตราสูง เช่น สูตร 12-24-12 หรือ 15-30-15 ถ้าเป็นดินร่วนควรให้ปุ๋ยที่มีโปแตสเซียมสูงขึ้น แต่ไม่สูงกว่าฟอสฟอรัส เช่นสูตร 10-20-15 ส่วนดินทรายเป็นดินที่มีโปแตสเซียมต่ำ จึงควรให้ปุ๋ยที่มีธาตุโปแตสเซียมสูงกว่าตัวอื่น เช่นสูตร 15-20-20, 13-13-21 และ 12-12-17 เป็นต้น สำหรับการปลูกมะเขือเทศนอกฤดูจะต้องใช้ปุ๋ยที่มีธาตุไนโตรเจนสูง เนื่องจากมะเขือเทศจะใช้ปุ๋ยไนโตรเจนมากถ้าหากอุณหภูมิของอากาศสูง แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าไม่สามารถหาปุ๋ยสูตรดังกล่าวข้างต้นได้ก็สามารถใช้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ในอัตรา 100 กิโลกรัมต่อไร่ โดยการแบ่งใส่ 3 ครั้ง ครั้งที่ 1 หลังจากย้ายปลูก 7 วัน ครั้งที่ 2 หลังจากครั้งที่หนึ่ง 15 วัน และครั้งที่ 3 หลังจากครั้งที่สอง 20 วัน (เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์, 2538; เมฆ จันทน์ประยูร, 2548; อร่าม คุ้มทรัพย์, 2543)

2.4 พันธุ์มะเขือเทศ

พันธุ์มะเขือเทศแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ พันธุ์สำหรับปลูกขายตลาดสด และพันธุ์สำหรับส่งโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งแต่ละชนิด สามารถแบ่งได้ดังนี้

1. พันธุ์สำหรับปลูกขายตลาดสด แบ่งตามขนาดผลและการใช้ได้ 2 ชนิด คือ พันธุ์ผลโตและพันธุ์ผลเล็ก พันธุ์ผลโตมีลักษณะทรงผลกลมแบบแอปเปิล ผลอ่อนมีสีผลเขียว มีไหล่เขียว ผลสุกมีสีแดงจัด มีจำนวนช่องในผลมากและไม่กลวง รสดี เนื้อหนาแข็ง เปลือกไม่เหนียว นิยมนำมาใช้ทำสลัดและประดับจานอาหาร เช่น พันธุ์ฟลอราเดล และมาสเตอร์เบอร์ 3 เป็นต้น ส่วน

พันธุ์ผลเล็ก มีลักษณะผลเล็ก เมื่อผลสุกมีสีชมพูหรือสีแดง มีรสเปรี้ยวไม่ขื่น นิยมนำมาใช้ประกอบอาหารพื้นบ้าน ได้แก่ พันธุ์สีดา พันธุ์ห้างฉัตร พันธุ์แอล-22 พันธุ์เอสวีอาร์ดีซี 4

2. พันธุ์สำหรับส่งโรงงานอุตสาหกรรม ควรเป็นพันธุ์ที่สุกพร้อมกันเป็นส่วนใหญ่ ขั้วผลควรหลุดจากผลได้ง่ายเมื่อปลิดผล ผลสุกมีสีแดงจัดตลอดผล ไส้กลางของผลสั้น เล็กและไม่แข็ง เนื้อมาก น้ำน้อย มีปริมาณกรดสูง ผลแน่น แข็ง เปลือกหนาและเหนียว สามารถขนส่งได้ในระยะทางไกล ๆ และเก็บไว้ได้นานโดยไม่เน่าเสีย ได้แก่พันธุ์ วี เอฟ 134-1-2, พี 502, พี 600, ปีโต 94, เซตเตอร์ เป็นต้น (เมฆ จันทน์ประยูร, 2548; อร่าม คุ้มทรัพย์, 2543)

2.5 โรคของมะเขือเทศ

โรคที่ทำความเสียหายให้กับมะเขือเทศมีทั้งโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และการขาดธาตุอาหาร ซึ่งโรคที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา คือ โรคใบไหม้ (late blight) สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Phytophthora infestans* โรคใบจุดวง (early blight) สาเหตุเกิดจาก *Alternaria solani* โรคเหี่ยวเหลือง (wilt) สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* และ *Sclerotium rolfsii* โรคราเขม่า (grey leaf mold) สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Cercospora fuligena* โรครากำมะหยี่ (leaf mold) สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Cladosporium fulvum* โรคราแป้ง (powdery mildew) สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Oidiopsis* sp. โรคกล้าเน่าตายหรือโรคเน่าคอดิน (damping off) สาเหตุเกิดจาก เชื้อราและเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Rhizoctonia solani, Pythium* sp. และ *Pseudomonas solanacearum* โรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัส คือ โรคใบหงิกเหลือง (tomato yellow leaf curl) และโรคใบด่างเรียวเล็ก (cucumber mosaic virus) ส่วนโรคที่มีสาเหตุมาจากการขาดธาตุอาหาร คือ โรคผลเน่าสีดำหรือโรคปลายผลเน่าดำ (blossom end rot) ซึ่งเกิดจากการขาดธาตุแคลเซียม

2.6 แมลงศัตรูมะเขือเทศ

มะเขือเทศมีแมลงศัตรูเข้าทำลายได้ทุกส่วน คือ

1. ใบและยอดอ่อน แมลงที่เข้าทำลาย คือ หนอนเจาะสมอฝ้าย (cotton bollworm; *Heliothis armigera* (Hübner)) หนอนกระทู้หอม (beet armyworm; *Spodoptera exigua* (Hübner) หนอนกระทู้ผัก (commom cutworm; *Spodoptera litura* (F.)) หนอนแมลงวันชอนใบ (leaf miner; *Liriomyza* sp.) ซึ่งจะกัดกินใบและยอดอ่อน แมลงหวี่ขาว (tobacco whitefly*; Bemisia tabaci* (Gennadius)) ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใบ และเป็นพาหนะนำโรคที่เกิดจาก tomato yellow leaf curl virus เพลี้ยอ่อน (aphid; *Myzus persicae* (Sulzer)) เพลี้ยจักจั่น (leafhopper; *Empoasca* sp.) มวนมะเขือเทศ (lygeid bug; *Ligaeus pandurus* Scopoli) และมวนเขียวข้าว (Green stink bug; *Nezara viridura* (Linnaeus)) ซึ่งดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใบ และยอด

2. ลำต้น แมลงที่เข้าทำลาย คือมวนเขียวข้าว ดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณลำต้น หนอนเจาะลำต้น (corn stem borer*; Ostrinia furnacalis* (Guenee)) ทำความเสียหายโดยเจาะลำต้นมะเขือเทศ และหนอนกระทู้ดำ (black cutworm; *Agrotis ipsilon* (Hufnagel)) จะกัดกินลำต้นอ่อน

3. ดอก แมลงที่เข้าทำลาย คือมวนเขียวข้าว ดูดกินน้ำเลี้ยงจากดอก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอม ซึ่งจะกัดกินดอกของมะเขือเทศ

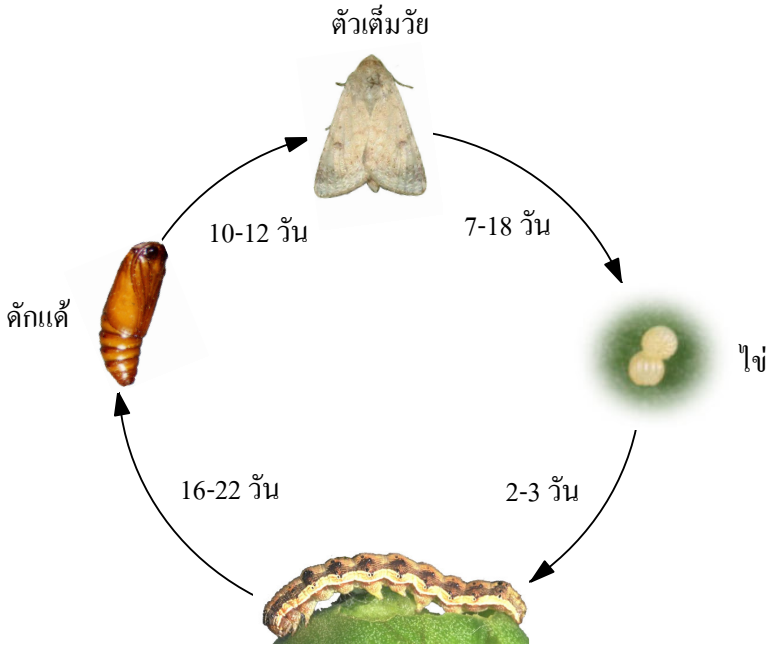
4. ผล แมลงที่เข้าทำลาย คือหนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอม ซึ่งจะกัดกินที่ผิวของผลและเจาะเข้าไปกัดกินในผล ส่วนมวนมะเขือเทศดูดกินน้ำเลี้ยงจากผล (กรมวิชาการเกษตร, 2542)

2.7 หนอนเจาะสมอฝ้าย (cotton bollworm)

หนอนเจาะสมอฝ้ายจัดอยู่ในอันดับ Lepidoptera อยู่ในวงศ์ Noctuidae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Heliothis armigera* (Hübner) หรือ *Helicoverpa armigera* (Hübner) บางครั้งอาจเรียกแตกต่างกันไปตามชื่อพืชอาหาร เช่น หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (american bollworm) หนอนเจาะฝักข้าวโพด (corn earworm) หนอนเจาะผลมะเขือเทศ (tomato fruitworm) เป็นต้น

2.7.1 รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ ตัวเต็มวัยเพศเมียของหนอนเจาะสมอฝ้ายจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยว ๆ ไข่มีลักษณะกลมคล้ายฝาชี ไข่ที่วางใหม่ ๆ จะมีสีขาวนวลเป็นมัน ระยะไข่ 2-3 วัน จึงฟักออกเป็นตัวหนอน ตัวหนอนมีสีต่างกันไปบ้าง ลำตัวอาจมีสีดำ เทาเขียว เขียวปนเหลือง หรือชมพูปนน้ำตาล หัวเล็กสีเขียว หรือน้ำตาลอ่อน มีเส้นเล็ก ๆ สีเหลืองอยู่ข้างลำตัว 2 เส้น และสีน้ำตาลแก่อยู่ด้านบน 1 เส้น หนอนลอกคราบ 5 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 2-5 วัน ระยะหนอนประมาณ 16-22 วัน แล้วเข้าดักแด้ในดิน ลักษณะเป็นกระสวยหัวมนปลายแหลม (obtect type) ดักแด้มีสีน้ำตาลไหม้ ขนาด 1.8 เซนติเมตร อายุดักแด้ประมาณ 10-12 วัน จึงออกเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งเป็นผีเสื้อกลางคืน ตัวเมียปีกคู่หน้าสีน้ำตาลปนแดง ส่วนตัวผู้สีน้ำตาลอมเขียว เลยกึ่งกลางปีกคู่หน้าไปทางหน้าเล็กน้อยมีจุดสีน้ำตาลเข้ม ขนาดโตกว่าหัวเข็มหมุดปีกละจุด ถัดจากปีกเล็กน้อยมีแถบสีน้ำตาลเข้มพาดตามขวางและมีจุดสีดำเรียงรายตามแถบนี้ ปีกคู่หลังมีแถบสีน้ำตาลที่ปลายปีกพาดต่อกับปีกคู่หน้า สีของปีกคู่หน้าเข้มกว่าปีกคู่หลัง อายุตัวเต็มวัยประมาณ 7-18 วัน รวมวงจรชีวิตประมาณ 29-38 วัน (ภาพที่ 1; กองกีฏและสัตววิทยา, 2542)

2.7.2 พืชอาหาร หนอนเจาะสมอฝ้ายมีพืชอาหารที่เป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจเกือบทุกชนิด ทำความเสียหายให้กับมะเขือเทศโดยการกัดกินใบและผล ทั้งพืชไร่ พืชผักต่าง ๆ ไม้ผล ไม้ดอกและไม้ประดับ ได้แก่ ถั่วลันเตา ถั่วฝักยาว พริก มะเขือเทศ หน่อไม้ฝรั่ง กระเจี๊ยบเขียว ส้มเขียวหวาน มะม่วงหิมพานต์ สตรอเบอรี่ กุหลาบ เบญจมาศ คาร์เนชั่น เยอบีร่า ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ข้าวโพด ยาสูบ ฝ้าย และปอกระเจา เป็นต้น ตลอดจนวัชพืชหลายชนิด ทำให้มีอาหารตลอดปี สามารถแพร่พันธุ์ได้อย่างต่อเนื่องและกว้างขวาง (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542)



ภาพที่ 1 แสดงวงจรชีวิตของหนอนเจาะสมอฝ้าย (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542)

2.7.3 ลักษณะการทำลาย หนอนชนิดนี้ทำลายมะเขือเทศ โดยการกัดกินส่วนต่าง ๆ ของมะเขือเทศ เช่น ใบ ดอก และ ผล ตัวเต็มวัยชอบวางไข่ตามยอดอ่อนและดอกอ่อน เมื่อหนอนฟักออกจากไข่จะกัดกินใบอ่อน กลีบดอก หรือก้านดอกเป็นอาหาร ถ้าเป็นผลแล้วหนอนก็จะเจาะเข้าไปใกล้ ๆ กับขั้วผลแล้วเข้าไปกัดกินอยู่ในผล ขณะที่ผลยังอ่อนอยู่ทำให้ผลเน่าเสียและร่วง ถ้าไม่ร่วงอยู่จนแก่จะทำให้ผลมะเขือเทศไม่มีคุณภาพ (เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์, 2538)

2.7.4 ศัตรูธรรมชาติ ศัตรูธรรมชาติที่สำคัญที่พบทำลายหนอนเจาะสมอฝ้าย ได้แก่ โรคทำลายแมลง เช่น โรคไวรัส NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้าย ซึ่งเป็นไวรัสที่พบระบาดอยู่ตามธรรมชาติในแหล่งที่มีหนอนเจาะสมอฝ้ายระบาด ไวรัสชนิดนี้พบว่ามีประสิทธิภาพสูงมากในการทำลาย

2.7.5 วิธีการป้องกันกำจัด ใช้เชื้อจุลินทรีย์ ไวรัส NPV หรือใช้สารฆ่าแมลงประเภทกลุ่มไพรีทรอยด์, กลุ่มเมทโธมิล, สารระงับการลอกคราบ คลอฟลูอะซูรอน หรือสารกลุ่มอื่นๆ คือ ไซเพอร์เมทริน / ฟอสซาโลน (สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, 2526; กองกีฏและสัตววิทยา, 2542)

2.8 หนอนกระทู้หอม (Beet armyworm)

หนอนกระทู้หอมอยู่ในอันดับ Lepidoptera อยู่ในวงศ์ Noctuidae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Spodoptera exigua* (Hübner) บางครั้งอาจเรียกหนอนหลอดหอม หนอนหอม หรือหนอนหนังเหนียว

2.8.1 รูปร่างลักษณะและชีวประวัติ หนอนกระทู้หอมเพศเมียวางไข่เป็นกลุ่มที่บริเวณใต้ใบ กลุ่มละประมาณ 20-80 ฟอง และมีขนสีขาวปกคลุม วางไข่ระหว่าง 18.00 - 20.00 น. ไข่จะฟักเป็นตัวหนอนภายใน 72 ชั่วโมง เมื่อหนอนฟักออกจากไข่ใหม่ ๆ จะอยู่รวมตัวกันเป็นกลุ่ม จากนั้นจะกระจายตัวไปกัดกินบนใบและผลมะเขือเทศ ในเวลากลางวันตัวเต็มวัยของหนอนกระทู้หอมจะทิ้งตัวลงมาอาศัยอยู่ในดินและออกมาหากินในเวลากลางคืน หนอนมี 6 วัย ตัวหนอนมีลำตัวตรงเท่ากันตลอดตั้งแต่หัวถึงท้ายลำตัว มีแถบสีขาวข้างลำตัว หนอนกระทู้หอมมีได้หลายสีด้วยกัน บางครั้งอาจสับสนกับหนอนเจาะสมอฝ้าย แต่หนอนกระทู้หอมไม่มีขนที่ลำตัวและมีสีไม่สดใสเหมือนหนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนโตเต็มที่ยาว 2.5 เซนติเมตร ระยะหนอน 14-17 วัน เข้าดักแด้ในดิน 5-7 วัน ผีเสื้อมีขนาด 2.0-2.5 เซนติเมตร ปีกคู่หน้ามีสีน้ำตาลแก่ปนเทา มีจุดสีน้ำตาลอ่อน 2 จุดตรงกลางปีก ปีกคู่หลังมีสีขาวขุ่น(ภาพที่ 2) เพศเมียวางไข่ได้หลายร้อยฟอง (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542; Ciba plant protection vegetables, 1996)

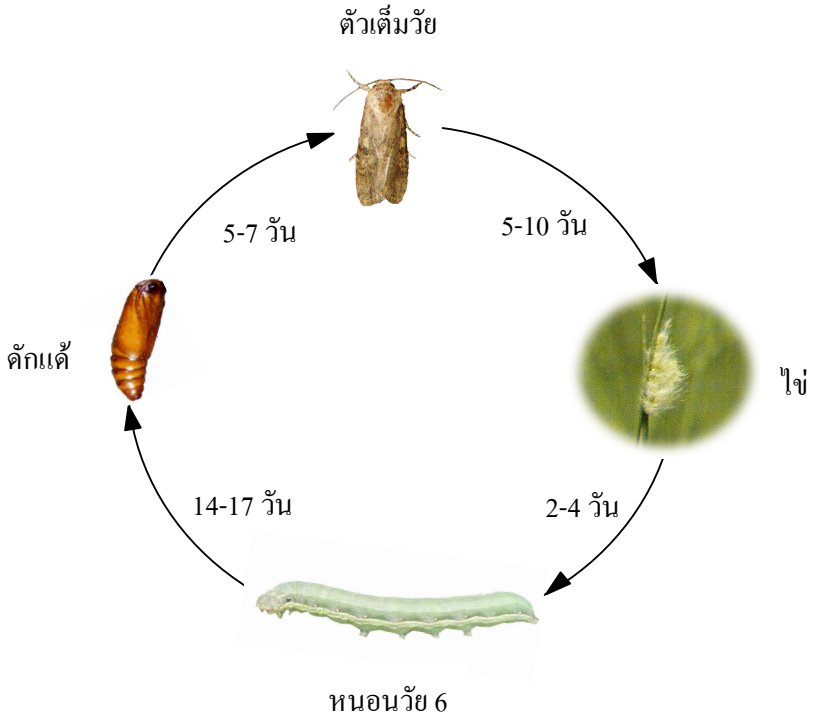
2.8.2 พืชอาหาร หนอนกระทู้หอมทำลายพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด มีพืชอาหารมากมาย ในไม้ดอกเช่น กุหลาบ ดาวเรือง เบญจมาศ กล้วยไม้ มะลิ เยอบีร่า แกลดิโอลัสฯ ในพืชผักตระกูลกระหล่ำ ตระกูลแตง ตระกูลถั่ว ตระกูลพริก-มะเขือเทศ มะเขือ หน่อไม้ฝรั่ง ในพืชไร่ เช่น ข้าวโพด ถั่วต่าง ๆ แม้กระทั่งในองุ่น (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542)

2.8.3 ลักษณะการทำลาย หนอนกระทู้หอมทำลายมะเขือเทศโดยการกัดกินส่วนต่าง ๆ ของมะเขือเทศ เช่นเดียวกับหนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอมจะกัดกินที่บริเวณผิวของผลจนเป็นรอยแผล บางครั้งอาจเป็นรูลึกลงไปในผลแต่ไม่มีมูล และแห้งกว่าลักษณะการทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้าย ถ้ามีการระบาดรุนแรงจะกัดกินใบจนหมด (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542; Ciba plant protection vegetable, 1996)

2.8.4 ศัตรูธรรมชาติ ศัตรูธรรมชาติที่พบทำลายหนอนกระทู้หอมในพืชผัก พบแตนเบียน 2 ชนิด ได้แก่ *Cotesia (Apanteles)* sp. (Hymenoptera : Braconidae) , *Charop* sp. (Hymenoptera : Ichneumonidae) และ Diptera : Tachinidae นอกจากนี้ยังพบตัวห้ำ *Eocanthecona furcellata* (Wolff) และโรคที่ทำลายแมลงเป็นศัตรูธรรมชาติประเภทเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ Nuclear Polyhedrosis Virus (NPV) ซึ่งได้นำมาพัฒนาใช้กำจัดหนอนกระทู้หอมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.8.5 วิธีการป้องกันกำจัด ใช้วิธีกลโดยเก็บกลุ่มไข่และหนอนมาทำลาย หรือใช้กับดักแสงไฟช่วงเวลา 18.00-22.00 น. เพื่อกำจัดผีเสื้อหนอนกระทู้หอม ใช้มุ้งตาข่ายไนล่อนคลุมแปลง แต่

เป็นการลงทุนสูง ใช้เชื้อไวรัส (NPV) ฉีดพ่นที่พืชเพื่อให้หนอนกระทู้หอมกิน จะใช้เวลา 2-3 วัน จึงเห็นผล ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ซึ่งมีหลายสกุล โดยฉีดพ่นที่พืชแล้วให้หนอนกิน หรือการใช้สารเคมี ซึ่งสารเคมีที่แนะนำให้ใช้กับหนอนกระทู้หอม ได้แก่ ไดอะเฟไทยูรอน เทบูฟีโนไซด์ คลอร์ฟลูอาซูรอน หรือคลอร์ฟีนาเฟอร์ ฟลูเฟนนอกซูรอน (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542)



ภาพที่ 2 แสดงวงจรชีวิตของหนอนกระทู้หอม (กองกีฏและสัตววิทยา, 2542)

2.9 กลไกการต้านทานแมลง (mechanism of resistance)

ปกติพืชมีกลไกการต้านทานแมลงโดยมีพื้นฐานมาจากลักษณะทางพันธุกรรม โดยสภาพแวดล้อมอาจมีผลกระทบต่อการแสดงออกของยีนที่ควบคุมความต้านทานนั้น ๆ และความต้านทานบางลักษณะอาจถูกชักนำให้เกิดขึ้นโดยสภาพแวดล้อมได้ ดังนั้น Panda and Khush (1995) จึงแบ่งความต้านทานออกเป็น 2 ลักษณะคือ ความต้านทานเนื่องมาจากพันธุกรรม (genetic resistance) ซึ่งหมายถึง ลักษณะที่พืชต้านทานแมลงโดยมีปัจจัยทางพันธุกรรมเป็นตัวควบคุม ส่วนความต้านทานอีกแบบหนึ่ง คือ ความต้านทานเนื่องมาจากสภาพแวดล้อม (ecological resistance) เป็นลักษณะความต้านทานที่ถูกควบคุมโดยสภาพแวดล้อม

2.9.1 ความต้านทานเนื่องมาจากพันธุกรรม (genetic resistance)

ปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดความต้านทานของพืชที่มีต่อความเหมาะสมของการเป็นแหล่งอาหารของแมลงนั้นครอบคลุมถึงการมีโครงสร้างที่ไม่เหมาะสม มีสารเคมีที่เป็นพิษ (allelochemicals) ความไม่สมดุลของสารอาหาร ความต้านทานนี้เป็นลักษณะปริมาณที่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้และยังมีลักษณะอื่น ๆ เข้ามาร่วมด้วย ซึ่งทำให้พืชมีลักษณะที่ไม่เหมาะสมต่อแมลง ความต้านทานเนื่องมาจากพันธุกรรมนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ

1. Antixenosis เป็นกลไกความต้านทานที่พืชใช้ยับยั้งหรือลดการเข้ามาอยู่อาศัยบนพืชนั้น โดยปกติแล้วแมลงจะใช้พืชเป็นแหล่งอาหาร ใช้เป็นที่อยู่อาศัย และเป็นที่วางไข่ ซึ่งลักษณะของความต้านทานแบบ antixenosis นี้จะทำให้แมลงไม่สามารถอยู่อาศัยบนพืชนั้นได้และบางครั้งยังอาจทำให้แมลงขาดอาหารและตายได้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่พืชมีปัจจัยที่ยับยั้งการวางไข่หรือการกินซึ่งได้แก่ 1) การมีสารยับยั้งหรือสารดึงดูด 2) การมีสารไล่ หรือ 3) ความไม่สมดุลระหว่างสารไล่และสารดึงดูด ซึ่งอาจเป็นลักษณะทางกายภาพ (biophysical) หรือลักษณะทางเคมี (biochemical) หรือทั้งสองลักษณะร่วมกัน ซึ่งพันธุ์ต้านทานจะทำให้การเพิ่มปริมาณของแมลงลดลงเมื่อเทียบกับพันธุ์อ่อนแอ

2. Antibiosis กลไกความต้านทานที่เกิดขึ้นหลังจากที่พืชได้เข้าไปอยู่อาศัยและใช้ประโยชน์จากพืชนั้นแล้ว เมื่อแมลงกัดกินพืชพันธุ์ต้านทานจะมีผลกระทบต่อกลไกทางสรีรวิทยาของแมลงตั้งแต่ระดับอ่อนถึงขั้นรุนแรงมาก ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อแมลงดังนี้ 1) ทำให้หนอนในวัยต้นๆ ตาย เนื่องจากในพืชอาศัยมีสาร antibiotic 2) มีผลกระทบต่อลักษณะทางสรีรวิทยาทำให้ขนาดและน้ำหนักของหนอนหรือตัวอ่อนลดลง ทำให้ช่วงระยะเวลาที่ปีนตัวอ่อนยาวขึ้น ความสมบูรณ์ของตัวเต็มวัยลดลง ทำให้ตัวเต็มวัยมีอายุสั้นลงและทำให้ระยะเวลาที่ตัวเต็มวัยเพศเมียจะผสมพันธุ์และวางไข่มีจำกัด 3) มีผลกระทบต่อลักษณะทางสัณฐาน ทำให้เข้าดักแด้เร็วขึ้นแต่เป็นดักแด้ที่ไม่สมบูรณ์ และทำให้ประชากรของแมลงลดลง 4) สารอาหารลดลง ซึ่งส่งผลกระทบถึงความสามารถในการมีชีวิตรอดข้ามฤดูหนาว 5) มีพฤติกรรมที่เปลี่ยนไปและมีลักษณะทางสรีรวิทยาที่ผิดปกติ ซึ่งสิ่งต่าง ๆ เหล่านี้อาจเกิดขึ้นเนื่องจากพืชพันธุ์ต้านทานมีสารพิษ มีสารยับยั้งการเจริญเติบโต มีสารอาหารที่ไม่สมดุล หรือมีปัจจัยทางโครงสร้างที่ไม่เหมาะสม เช่น มีเนื้อเยื่อที่เหนียว ผนังเซลล์มีโครงสร้างที่แมลงไม่ชอบ เป็นต้น

3. Tolerance เป็นลักษณะทางพันธุกรรมของพืชที่ป้องกันตัวเองจากแมลงซึ่งสามารถทำความเสียหายให้กับพันธุ์อ่อนแอได้ ดังนั้นจึงไม่ทำให้เกิดความสูญเสียกับผลผลิตหรือไม่ลดคุณภาพของผลผลิต กลไกของ tolerance นี้จะไม่มีผลกระทบต่ออัตราการเพิ่มจำนวนของประชากรแมลง แต่เป็นกลไกการปรับตัวเพื่อให้พืชสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาวะที่ถูกแมลงเข้าทำลายและจะมากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับผลกระทบที่เกิดจากแมลง ซึ่งความต้านทานแบบ

Tolerance นี้ไม่เป็นที่ต้องการนัก เพราะอาจเป็นแหล่งสะสมแมลงได้ แต่พันธุ์ทนทาน (tolerance) มีประโยชน์ในกรณีที่พันธุ์ที่เคยต้านทานสูญเสียความต้านทานลงแต่ยังไม่มีพันธุ์ต้านทานใดที่ดีกว่าพันธุ์ทนทานนี้ (Panda and Khush, 1995)

2.9.2 ความต้านทานเนื่องมาจากสภาพแวดล้อม (ecological resistance)

เป็นลักษณะความต้านทานที่ไม่ได้ถ่ายทอดมาจากลักษณะทางพันธุกรรมของพืชอาศัย แต่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงไปเพียงชั่วคราวในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ในขณะที่พืชอาศัยที่อ่อนแอไม่สามารถปรับตัวได้ ความต้านทานเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมมี 2 ประเภท คือ

1. Pseudoresistance คือการเปลี่ยนแปลงในรูปแบบของการเจริญเติบโตของพืชอาศัย ซึ่งในพืชพันธุ์เดียวกันแต่มีความสามารถในการเจริญเติบโตผ่านระยะเวลาที่อ่อนแอไปได้อย่างรวดเร็วทำให้รอดพ้นจากการทำลายของแมลงศัตรูพืชได้ แต่อย่างไรก็ตามพืชที่หลีกเลี่ยงการทำลายของแมลงโดยวิธีนี้อาจถูกแมลงทำลายได้ถ้าแมลงมีการเพิ่มจำนวนประชากรอย่างรวดเร็ว

2. Induced resistance เป็นกลไกการป้องกันตัวของพืชจากการบุกรุกของสิ่งมีชีวิตที่เป็นอันตรายต่อพืช จากสิ่งแวดล้อมภายนอกหรือการกระตุ้นจากสารเคมีที่เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมเช่น การใส่ปุ๋ย การใช้สารกำจัดวัชพืช สารฆ่าแมลง ฮอร์โมน การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ความยาวของวัน หรือถูกโรค แมลงเข้าทำลาย ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ต่อพืชอาศัยชั่วคราว เนื่องจากปัจจัยเหล่านี้อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อเยื่อพืช และมีผลกระทบถึงความเป็นประโยชน์ต่อแมลงด้วย (Panda and Khush, 1995)

2.10 เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidases; PPOs)

เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidases; PPOs) เป็นเอนไซม์ที่เป็น copper metalloprotein (Steffens et al., 1994) ในมะเขือเทศ PPO เป็นกลุ่มยีนที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 8 ประกอบด้วยสมาชิกยีน PPO 7 สมาชิก คือ PPO A, A′, B, C, D, E และ F โปรตีนของ PPO มีขนาด 52 – 62 kDa. (Newman et al., 1993) PPO พบอยู่ทั่วไปในพืชชั้นสูง พบมากในใบ ราก รากสะสมอาหาร หัว ส่วนของดอก และผล ส่วนในมะเขือเทศมีการสะสม ในใบ ราก ลำต้น ดอก และผล แต่พบการแสดงออกสูงในใบอ่อน ดอกอ่อน เช่น ใน microspore mother cells ส่วนในผลอ่อนจะพบใน ovule โดยสมาชิกยีน PPO มีการแสดงออกแตกต่างกันในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในใบและดอกอ่อน พบว่า PPO B และ E/F มีการแสดงออกในระดับ RNA สูง ในขนใบ type I และ type IV พบการแสดงออกของ PPO A/C ส่วน PPO D มีการแสดงออกในขนใบ type VI เท่านั้น (Thipyapong et al., 2004) ในสภาพปกติ PPOs ถูกเก็บอยู่ใน thylakoid ของคลอโรพลาสต์ ส่วนฟีนอลลิกซึ่งเป็น substrate อยู่ใน vacuole แต่เมื่อถูกโรคแมลงเข้าทำลายหรือเกิดการชราภาพ (senescence) จะทำให้เซลล์แตกออก และทำให้ออกซิเจนและสารฟีนอลลิก มาทำปฏิกิริยากันโดย

มี PPOs เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน กลายเป็นควิโนน (quinones) โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ PPOs มี 2 ปฏิกิริยา คือ

1. ปฏิกิริยา hydroxylation เป็นปฏิกิริยาที่เปลี่ยน monophenol ไปเป็น *o*-diquinone (cresolase, tyrosinase หรือ monophenol oxidase activity [EC 1.14.18.1]) ปฏิกิริยานี้เริ่มจากการที่ *o*-diphenol ไปจับตัวกับ mettyrosinase โดยมี binuclear copper cluster เป็นตัวให้อิเลคตรอน ทำให้เกิดเป็น deoxytyrosinase และมีการปลดปล่อยควิโนนออกมา และ deoxytyrosinase จะมารวมตัวกับออกซิเจน เกิดเป็น oxytyrosinase จากนั้น *o*-diphenol อีกโมเลกุลจะเข้ามาทำปฏิกิริยากับเพอรอกซิเดส เกิดเป็นโมเลกุลของน้ำและควิโนน

2. ปฏิกิริยา dehydrogenation เปลี่ยน *o*-dihydroxy phenol ไปเป็น *o*-quinone (catecholase หรือ diphenol oxygen oxidoreductase activity [EC 1.10.3.2]) เริ่มต้นจากการที่ monophenol มาจับกับ copper อะตอมหนึ่งที่อยู่ในโมเลกุลของ oxytyrosinase ทำให้โมเลกุลนี้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่เพื่อให้เกิดเสถียรภาพในโมเลกุลโดยปลดปล่อยโปรตอนออกมาแล้วมาจับตัวกับ copper อีกอะตอมที่เหลืออยู่ จากนั้น binuclear copper cluster ปลดปล่อยอิเลคตรอนออกมาเกิดเป็น deoxytyrosinase และ *o*-diquinone และเมื่อ deoxytyrosinase เกิดการรวมตัวกับออกซิเจนจึงเกิดเป็น oxytyrosinase อีกครั้ง

ควิโนนที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสนี้เป็นโมเลกุลที่สามารถเกิดปฏิกิริยา covalent และ crosslink กับ nucleophiles ภายในเซลล์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งได้แก่ sulfhydryl, amine, amide, indole และ imidazole เนื่องจากควิโนนที่เกิดขึ้นนี้เมื่ออยู่ในสภาพที่มีความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 4 ควิโนนจะทำปฏิกริยา reversed disproportionation กับ ฟีนอลลิก ได้เป็น semiquinone radicals ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับออกซิเจนจะเกิดเป็น reactive oxygen species (ROS) ส่วนในสภาพที่มีความเป็นกรดด่างสูงขึ้นควิโนนจะเกิดปฏิกิริยา nucleophilic michael addition ทำให้เกิดเม็ดสี สีน้ำตาลซึ่งพบในผักและผลไม้เมื่อ ถูกโรคแมลงเข้าทำลาย เกิดบาดแผลหรือเกิดการชราภาพ ผลของปฏิกิริยาทุติยภูมินี้อาจทำให้เกิดความเสียหายกับดีเอ็นเอ โปรตีนหรือไขมันได้ (ภาพผนวกที่ 2; Vámos-Vigyázó, 1981; Steffens et al., 1994)

2.11 การกระตุ้นเพิ่มระดับเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในมะเขือเทศ

ระดับ PPO ในต้นพืชสามารถผันแปรไปตามสภาพแวดล้อมได้ ซึ่งโดยปกติในต้นมะเขือเทศมีการสร้าง PPO อยู่ตลอดเวลา แต่เมื่อได้มีบาดแผล หรือได้รับสารกระตุ้นบางชนิด หรือเกิดความเสียหายจากโรคและแมลง ระดับ PPO จะเพิ่มสูงขึ้นโดยสามารถตรวจพบได้ที่ระดับการลอกรหัสพันธุกรรม (transcription) (Moore and Flurkey, 1990; Constabel et al., 1995; Thipyapong et al., 1995; Thipyapong and Steffens, 1997) เมื่อใช้ฮอร์โมนจาสโมนิคเอสิด (jasmonic acid; JA)

กระตุ้นให้พืชผลิต PPOs เพิ่มขึ้น พบว่าพืชจะได้รับความเสียหายจากแมลงศัตรูพืชน้อยลง และทำให้อัตราการเจริญเติบโตของหนอนหงอนยาสูบ (*Manduca sexta*) และ หนอนกระทู้หอม (*S. exigua)* ลดลง เมื่อเทียบกับพืชที่ไม่ได้รับการกระตุ้น (Stout et al., 1998a; Cipollini et al., 1999; Thaler, 1999) Stout et al. (1998b) ยังพบว่า มะเขือเทศต้นที่ถูกทำลายโดยหนอนกระทู้ข้าวโพด (*H. zea*) ซึ่งมีปริมาณ PPO และ โปรตีเนสอินฮิบิเตอร์ (proteinase inhibitor; PI) สูงกว่าต้นที่ไม่ถูกทำลาย จะสามารถต้านทานการทำลายในภายหลังของเพลี้ยอ่อน *Macrosiphum euphorbiae* ไรสองจุด (*Tetranychus urticae*) หนอนกระทู้หอม (*S. exigua*) และเชื้อ *P. syringae* pv. *tomato* ได้ดีกว่าต้นที่ไม่ถูกทำลาย Haruta et al. (2001) ได้ทดลองกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO ในต้น aspen โดยการทำให้เกิดบาดแผล การให้เมทิลจาสโมเนท (Methyl jasmonate) และการให้หนอนผีเสื้อ forest tent (*Malacosoma disstria*) กัดกินใบเป็นเวลา 36 ชั่วโมง พบว่ามีการแสดงออกของ PtPPO mRNA เพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก ในขณะที่ในสภาพปกติมีการแสดงออกของ PtPPO mRNA เพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยพบว่าสามรถตรวจพบ PtPPO mRNA ในใบที่เกิดบาดแผลได้ใน 6 ชั่วโมงหลังทำให้เกิดบาดแผล และพบสูงสุดที่ 12 และ 24 ชั่วโมง ส่วนในใบที่ไม่เกิดบาดแผลจะตรวจพบ PtPPO mRNA หลังจาก 36 ชั่วโมง และพบในระดับที่น้อยกว่าในใบที่เกิดบาดแผล เช่นเดียวกับการทดลองของ Rickman et al. (2003) ที่ทดลองให้หนอนกระทู้หอมกัดกินใบมะเขือเทศ เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ในใบมะเขือเทศที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินมีระดับ PPO สูงกว่าใบที่ไม่ถูกกัดกิน

2.12 กลไกของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในการต้านทานแมลง

มีงานวิจัยที่ศึกษากลไกของ PPO ในการต้านทานโรคและแมลง และได้มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่ามะเขือเทศที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมให้มีระดับ PPO สูงขึ้นสามารถต้านทานต่อโรคใบจุดที่มีสาเหตุจาก *P. syringae* pv. tomato ได้ดีกว่ามะเขือเทศที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม และที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมให้มีระดับ PPO activity ต่ำลง (Li and Steffens, 2002; Thipyapong et al., 2004) โดยพบว่า PPO F เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการเข้าทำลายของ *P. syringae* pv. tomato และ *Alternaria solani* (Thipyapong and Steffens, 1997) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยหลายงานที่ศึกษากลไกของ PPOs ในการต้านทานแมลง และมีผู้ตั้งสมมุติฐานเกี่ยวกับกลไกของ PPOs ในการต้านทานแมลงไว้ 2 กลไก คือ

1. การสร้างสารโพลีเมอร์เหนียวสีน้ำตาลจากการออกซิเดชันของ trichome exudate สารโพลีเมอร์เหนียวสีน้ำตาลนี้สามารถตรึงแมลงขนาดเล็กทำให้เคลื่อนไหวและกินอาหารไม่ได้จึงตายในที่สุด พบว่าขนใบ type A ในตระกูล *Solanum* หรือ type VI ในตระกูล *Lycopersicon* มีการสะสม PPOs และสามารถดักจับแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci*), ไรแมงมุม (*Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval)), เพลี้ยอ่อน (*Myzus persicae* (Sulzer)) และ potato leafhopper

(*Empoasca fabae* (Harris))ได้ (Stoner et al.,1968; Kisha, 1981; Tingey et al., 1982; Tingey and Sinden, 1982; Ryan et al., 1983; Steffens and Walter, 1991) นอกจากนี้จากการทดลองของ Simmons et al. (2004) ยังพบว่ามะเขือเทศพันธุ์ที่มีความหนาแน่นของขนใบ type VI สูงสามารถตรึงตัวอ่อนของหนอนเจาะสมอฝ้ายได้สูง และมีอัตราการตายสูง เนื่องจากเมื่อต่อมที่ขนใบแตกจะปลดปล่อย PPOs ออกมาเร่งปฏิกิริยา polymerization ของ trichome exudate เป็นสารเหนียวสีน้ำตาล นอกจากนี้ขนใบ type B ในตระกูล *Solanum* หรือ Type IV ในตระกูล *Lycopersicon* ยังสามารถปลดปล่อย sugar ester ที่เป็นสารใสและเหนียวออกมาได้ด้วย สารเหล่านี้จะไปเคลือบอยู่ที่ปากและขาของแมลงทำให้แมลงถูกตรึงอยู่กับที่และขัดขวางการกินอาหารของแมลงทำให้แมลงตายในที่สุด (Steffens, 1997)

2. การลดคุณภาพทางอาหาร หรือความน่ากินของเนื้อเยื่อพืชที่มีต่อแมลง เนื่องจาก ควิโนนที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา alkylation กับกรดอะมิโนชนิด nucleophilic เช่น lysine, histidine, cystein และ methionine ของโปรตีนต่าง ๆ ในพืช จึงอาจมีผลให้ความสามารถในการย่อย (digestibility) ความน่ากิน (palatability) และคุณค่าทางอาหาร (nutritive value) ของเนื้อเยื่อพืชต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นลดลง (Mayer and Harel, 1979; Felton et al., 1989; Duffey and Felton, 1991) โดยพบว่าหนอนกระทู้หอม (*S. exigua*) ที่กินอาหารสังเคราะห์ที่มี chlorogenic acid (CHA) และ PPOs เป็นส่วนประกอบมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง (Felton et al, 1991) แต่กลไกดังกล่าวใช้ไม่ได้ผลกับ Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) เนื่องจากความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหารต่างกัน (Felton et al., 1992) Li et al. (2002) ได้ทดลองเลี้ยงไรสองจุดบนใบมะเขือเทศพันธุ์กลาย (isogenic mutant line; *defenseless-1 [def-1]*) ที่ไม่สามารถสังเคราะห์ JA ได้ ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการสร้าง PI และ PPO พบว่าพืช *def-1* มีการสะสมของ JA และการแสดงออกของยีน PI ลดลง และมีความต้านทานต่อไรสองจุดน้อยกว่ามะเขือเทศพันธุ์การค้าปกติ และจากการทดลองของ Wang and Constabel (2004) พบว่า forest tent carterpillar (*M. disstria*) ที่กัดกินใบของต้น poplar ที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมให้มีระดับ PPO สูงขึ้นมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงและมีอัตราการตายสูงกว่าพืชที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม ซึ่งให้ผลการทดลองสอดคล้องกับ Thipyapong et al. (2003) ที่ทดลองให้หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) กัดกินใบมะเขือเทศที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมให้มีระดับ PPO สูงขึ้นและต่ำลง โดยพบว่าหนอนกระทู้ผักที่กัดกินใบมะเขือเทศที่มีระดับ PPO สูงมีอัตราการตายสูงกว่าหนอนที่กินพืชที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมและพืชที่มีระดับ PPO ต่ำลง และพบว่าหนอนกระทู้ผักที่กัดกินใบพืชที่มีระดับ PPO สูง มีค่าประสิทธิภาพในการเปลี่ยนอาหารที่ได้รับไปเป็นโครงสร้างของร่างกาย (efficiency of conversion of digested biomass; ECD) และความสามารถในการใช้อาหารที่กินเข้าไปเพื่อการเจริญเติบโต (efficiency of conversion of ingest food; ECI) ต่ำ

กว่าหนอนที่กินใบพืชที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมและพืชที่มีระดับ PPO ต่ำลง (Mahanil et al., unpublished)

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้แบ่งเป็น 5 ส่วน คือ

1. การคัดเลือกพืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมโดยวิธีพันธุวิศวกรรม เพื่อให้ได้ต้นมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity เหมาะสมสำหรับการทดลอง

2. การศึกษาระดับการแสดงออกของ PPO ในใบและผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP เพื่อเปรียบเทียบระดับ PPO activity หรือรูปแบบการแสดงออกของ PPO ในมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ

3. การศึกษาการกระตุ้นเพื่อเพิ่มระดับของ PPO activity เมื่อได้รับความเสียหายจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม เพื่อเปรียบเทียบการเกิด local induction และ systemic induction ในมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ

4. การประเมินความต้านทานของมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ ต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย โดยทดสอบความต้านทานในใบและหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity และการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้าย

5. การประเมินความต้านทานของมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ ต่อหนอนกระทู้หอม โดยการทดสอบทั้งในใบและผล

3.1 วัสดุ อุปกรณ์

1. มะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity ต่างกัน (มะเขือเทศ UP, NT และ OP) 5 จีโนไทป์ คือ มะเขือเทศที่มีระดับของ PPO activity ต่ำกว่าพืชที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม (underexpressing PPO plants; UP plants) ซึ่งได้รับการตัดต่อยีน PPO ของมันฝรั่งเข้าไปในทิศทางการเรียงตัวแบบ antisense (antisense PPO plants) โดยใช้ 35S CaMV เป็นโปรโมเตอร์ และมี *nptII* เป็นยีนคัดเลือก มี 2 สายพันธุ์ คือ UP19-3 และ UP19-4, มะเขือเทศที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม (nontransformed plants; NT plants) 1 จีโนไทป์, และมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity สูงกว่ามะเขือเทศที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม (overexpressing PPO plants; OP plants) ได้รับการตัดต่อยีน PPO ของมันฝรั่งเข้าไปในทิศทางการเรียงตัวแบบ sense (sense PPO plants) โดย

ใช้ 35S CaMV เป็นโปรโมเตอร์ และมี *nptII* เป็นยีนคัดเลือก มี 2 จีโนไทป์ คือ OP18 และ OP28 โดยเมล็ดพันธุ์นี้ได้จาก Li and Steffens (2002) และ Thipyapong et al. (2004)

2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
3. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงใน microtiter plate (spectra count microplatephotometer)
4. เครื่องดูดถ่ายสารละลายปริมาตรน้อย (adjustable pipettes)
5. เครื่องเขย่าสารละลาย (shaker)
6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
7. เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer)
8. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
9. เครื่องส่องดูเจล พร้อมชุดบันทึกภาพลงแผ่นดิสก์ (UV transluminator)
10. เครื่องแยกขนาดดีเอ็นเอแนวนอน (horizontal gel electrophoresis apparatus)
11. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (thermal cycler)
12. เครื่อง dot blot microfiltration manifold
13. เครื่อง vacuum pump
14. เครื่องวัดพื้นที่ใบ (leaf area meter)
15. ชั้นสำหรับเลี้ยงต้นไม้
16. ถ้วยอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม
17. ขันน้ำพลาสติก ผ้าขาวบาง ยางรัดของ พู่กัน ปากคีบ สำลี
18. อุปกรณ์การเกษตร
19. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

3.2 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการกีฏวิทยาและโรคพืช	ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3
ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์	ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3
ห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์พืช	ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3
ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาพืช	ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3

3.3 ระยะเวลาการทดลอง

ธันวาคม 2546–เมษายน 2549

3.4 วิธีการทดลอง

เริ่มทำการทดลองโดยการเตรียมต้นมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity ต่างกัน โดยทำการเพาะเมล็ดมะเขือเทศในกระบะเพาะเมล็ดด้วยวัสดุปลูกคือ peat moss เมื่อต้นกล้ามีอายุ 4-6 สัปดาห์ ย้ายลงปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 6 นิ้ว โดยใช้ดินปลูกผสมกับ peat moss อัตราส่วน 1:1 ใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 16-16-16

3.4.1 การคัดเลือกพืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมโดยวิธีพันธุวิศวกรรม

มะเขือเทศ UP19-4 ได้รับการคัดเลือกจนได้สายพันธุ์แท้ (homozygous line) แล้ว (Thipyapong, 1997) แต่มะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 นั้นยังมีความเป็นพันธุ์ทาง (heterozygosity) อยู่ (Li and Steffens, 2002; Thipyapong et al., 2004) จึงต้องทำการคัดเลือกมะเขือเทศ UP19-3 และ OP ที่มีระดับการแสดงออกของ PPO ต่ำลงหรือสูงขึ้นตามลำดับมาใช้ในการทดลอง โดยใช้วิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อคัดเลือกมะเขือเทศที่มียีนที่ต้องการ เป็นการคัดเลือกที่ระดับพันธุกรรมสามารถคัดเลือกได้ตลอดเวลาไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม จากนั้นนำต้นที่มียีนที่ต้องการ มาคัดเลือกเฉพาะ ที่มีระดับ PPO activity สูง (ต้น OP) และ ที่มีระดับ PPO activity ต่ำ (ต้น UP) มาใช้ในการทดลอง โดยใช้วิธี PPO activity assay หรือ dot blot analysis

1. การคัด เลือกโดยใช้วิธี PCR
   1.1 สกัดดีเอ็นเอจากยอดอ่อนมะเขือเทศ โดยบดใบอ่อนในโกร่งที่มีไนโตรเจนเหลวให้ละเอียด ตักใส่ microcentrifuge tube เติม Extraction buffer [3% CTAB, 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0), 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2% PVP และ 0.2% β-mercaptoethanol (เติมก่อนใช้)] 700 µl ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer นำไปบ่ม ที่ 65 ° ซ เป็นเวลา 30 นาที (กลับหลอดทุก 10 นาที) เติม chloroform : isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตรหนึ่งเท่าตัว (700 µl) ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที ถ่ายน้ำใสส่วนบนใส่ใน microcentrifuge tube หลอดใหม่ เติม 5 M NaCl 0.5 เท่าของปริมาตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม isopropanol แช่เย็น ปริมาตร 1 เท่าตัว กลับหลอดไปมาอย่างนุ่มนวล เก็บไว้ที่ -20 ° ซ ข้ามคืน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทน้ำใสส่วนบนทิ้ง จากนั้นล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% ethanol นำไปปั่นเหวี่ยงแล้วเทน้ำใสส่วนบนทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเออีกรอบด้วย 70% ethanol นำไปปั่นเหวี่ยงแล้วเทน้ำใสส่วนบนทิ้ง ตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้ง จากนั้นละลาย

ตะกอนดีเอ็นเอใน TE buffer [Tris-EDTA buffer; 10 mM Tris-HCl และ 1 mM EDTA (pH 8.0)] 40 µl เติม RNAse A 10 µl (1 mg/ml) แล้วนำไปบ่ม ที่ 37 ° ซ เป็นเวลา 30 นาที เก็บที่ 4 หรือ -20 ° ซ เพื่อใช้ในการทดสอบโดยวิธี PCR

1.2 วิธี PCR เพื่อเพิ่มปริมาณยีนคัดเลือก neomycin phosphotransferase (*nptII*) โดยใช้ *nptII* primers (forward primer 5'ATGACTGGGCACAACAGACAATCG GCTGCT 3' และ reverse primer 5'CGGGTAGCCAACGCTATGTCCTGA TAGCGG3') และใช้ reaction mix (10 µl/reaction) ซึ่งมีองค์ประกอบ ดังนี้

DNA (50 ng/µl)	2.0 µl
4 µM forward primer	1.0 µl
4 µM reverse primer	1.0 µl
2 mM dNTP	1.0 µl
10x buffer	1.0 µl
25 mM $MgCl_2$	0.6 µl
2 unit/ µl Tag DNA	0.5 µl
ddH_2O	2.9 µl

โดยใช้ สภาวะในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ดังนี้

94 ° ซ นาน 5 นาที	1 รอบ
94 ° ซ นาน 1 นาที 60 ° ซ นาน 1 นาที 72 ° ซ นาน 4 นาที	35 รอบ
72 ° ซ นาน 10 นาที	1 รอบ

1.3 ตรวจสอบดีเอ็นเอที่ต้องการเพิ่มปริมาณโดยการทำ Agarose gel electrophoresis ใน 1% agarose ที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วตรวจสอบแถบดีเอ็นเอโดยการย้อมด้วย ethidium bromide ส่องดูภายใต้เครื่อง UV transluminator มะเขือเทศที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมจะปรากฏแถบดีเอ็นเอของยีน *nptII* ซึ่งมีขนาด 612 bp (Meiyalaghan et.al., 2004)

2. การคัดเลือกโดยใช้วิธี Dot blot analysis และ PPO activity assay เป็นการคัดเลือกที่ระดับหลังแปรรหัสพันธุกรรม วิธี Dot blot analysis ตรวจวัด PPO ในระดับโปรตีนแบบ semi quantitative โดยใช้ antibody ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับ PPO ส่วน PPO activity

assay เป็นการตรวจวัด PPO ในระดับ enzyme activity แบบ quantitative โดยวัดจากปริมาณของ substrate ที่ถูกใช้ไปในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน รายละเอียดวิธีการมีดังนี้

2.1 การสกัดโปรตีน ทำการสกัดโปรตีนโดยใช้ใบมะเขือเทศข้อที่ 4 หรือ 8 มาบดใน homogenization buffer [0.1 M Tris-HCl, pH 7.0, 0.1 M KCl, 1 mM PMSF, 1 μg/ml leupeptin, 1% (v/v) Triton X-100, 3% (w/v) PVPP] ดังนี้

2.1.1 ใส่ Homogenization buffer 1 ml ลงในโกร่งที่แช่เย็นอยู่บนน้ำแข็ง บดใบพืชให้ละเอียด แล้วเทใส่ microcentrifuge tube จากนั้นวางไว้บนน้ำแข็ง

2.1.2 ปั่นแยกตกตะกอนชิ้นส่วนพืช ในเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 ° ซ นาน 30 นาที

2.1.3 ถ่ายสารละลายส่วนบน (supernatant) ใส่ในหลอดใหม่ เก็บที่ 4 ° ซ

2.2 การตรวจหาความเข้มข้นของโปรตีนรวม โดยวิธีของ Bradford (1976) มีขั้นตอน ดังนี้

2.2.1 เตรียม BSA standard ที่ความเข้มข้น 0, 1, 2, 5, 10, 15 และ 20 μg/ml ดังรายละเอียดในตารางภาคผนวกที่ 1

2.2.2 เตรียม Homogenate 2 ความเข้มข้น ในแต่ละตัวอย่าง คือ 5 และ 10 μl ในปริมาตร 1,000 μl ดังรายละเอียดในตารางภาคผนวกที่ 2

2.2.3 ดูด BSA standard และ Homogenate แต่ละความเข้มข้นมาใส่หลอดใหม่ ตัวอย่าง ละ 400 μl

2.2.4 เติม protein assay dye reagent concentrate (Bio-rad Laboratories, Inc., CA) 100 μl แล้วผสมให้เข้ากัน

2.2.5 ดูดใส่ microtiter plate หลุมละ 200 μl ตัวอย่างละ 2 หลุม แล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 5 นาที แต่ไม่เกิน 1 ชม.

2.2.6 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 590 nm ด้วยเครื่อง spectra count microplatephotometer

2.2.7 สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ BSA และ ค่าการดูดกลืนแสง หาสมการความสัมพันธ์เชิงเส้น (linear regression)

2.2.8 คำนวณหาปริมาณโปรตีนในแต่ละตัวอย่างโดยแทนค่าลงในสมการความสัมพันธ์เชิงเส้น (linear regression) แล้วจึงนำมาคำนวณหาความเข้มข้นของโปรตีนโดยใช้สูตร

$$\text{ความเข้มข้นของโปรตีน (µg/µl)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีน (µg)}}{\text{ปริมาตรของ homogenate (µl)}}$$

2.3 Dot blot analysis

2.3.1 แช่แผ่น nitrocellulose membrane (NYTRAN®, Keene, NH) ใน 1x TBS เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นย้ายแผ่น nitrocellulose membrane ที่แช่ใน 1x TBS มาวางบนเครื่อง dot blot microfiltration manifold เปิด vacuum pump แล้วหยด homogenate ปริมาตร 20 µL บนแผ่น nitrocellulose membrane

2.3.2 นำแผ่น nitrocellulose membrane มาล้างใน 1x TBS และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 10 นาที นำไปบ่มร่วมกับ sodium m-periodate 3% (w/v) และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 20 นาที ล้าง blot ใน ddH_2O 3 ครั้ง แล้วล้างใน 1x TBS และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 10 นาที

2.3.3 นำ nitrocellulose membrane มาแช่ใน blocking solution (1% skim milk) และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.3.4 แช่ nitrocellulose membrane ใน blocking solution บ่มร่วมกับ 1^{o} antibody solution (rabbit anti-*Solanum berthaultii* trichome PPO (IgG) เจือจาง 1: 1000 ใน blocking solution) และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 45 นาที

2.3.5 ล้าง blot ใน 1x TBS และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 5 นาที 3 ครั้ง

2.3.6 บ่มร่วมกับ 2^{o} antibody solution (goat anti-rabbit IgG alkaline phosphatase conjugate เจือจาง 1: 1000 ใน blocking solution) และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 45 นาที

2.3.7 ล้าง blot ใน 1x TBS และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 5 นาที 3 ครั้ง

2.3.8 เติม developer [5-bromo-4-chloro-3-indoyl-phosphate 150 mg/L และ nitroblue tetrasolium chloride 300 mg/L ใน AP buffer (100 mM Tris-HCl (pH 9.5), 100 mM NaCl, 5 mM $MgCl_2$)] 20 ml จนกระทั่ง ปรากฏสีน้ำตาล ในระดับความเข้มที่เหมาะสม แล้วเทออก และล้างด้วยน้ำ จากนั้นนำมาวางบนกระดาษกรองปล่อยให้แห้ง เรียงลำดับปริมาณ PPO โดยดูจากความเข้มของจุด ถ้าเข้มมากแสดงว่ามีระดับ PPO สูง

2.4 PPO activity assay

2.4.1 เตรียม homogenate ที่สกัดได้ที่ 4 ความเข้มข้น โดยใช้อัตราส่วน homogenate/homogenization buffer 10/30, 20/20, 30/10 และ 40/0 ใน UP19-3 และ UP19-4 ส่วน OP18 และ OP28 ใช้ระดับความเข้มข้น 5/15, 10/10, 15/5 และ 20/0 และ NT ใช้ระดับความเข้มข้น 10/15, 15/10, 20/10 และ 25/0

2.4.2 เติม catalase (84 unit/μl) 5 μl ลงใน homogenate ก่อนวัดค่าการดูดกลืนแสง 15 นาที แล้วนำ homogenate ในแต่ละความเข้มข้นใส่ใน substrate solution (96 μM 2-nitro-5-thiobenzoic acid และ 1.77 mM 4-methylcatechol (หรือ 25 mM 3,4-dihydroxyphenylalanine) ใน 0.1 M Tris-HCl, pH 7.0) ปริมาตร 1 ml

2.4.3 ทำการตรวจวัดระดับ substrate ที่ถูกใช้ไปในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน ต่อหนึ่งหน่วยเวลา (1 นาที) โดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง วัดค่าที่ 412 nm ทุก ๆ 5 วินาที เป็นเวลา 30 นาที แล้วบันทึกการลดลงของค่าการดูดกลืนแสง (Thipyapong, 1995)

2.4.4 นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟเส้น เพื่อคำนวณหาค่า PPO activity (ΔOD $min.^{-1} ml^{-1}$ leaf homogenate) จากสมการความสัมพันธ์เชิงเส้น (linear regression) แล้วทำการ standardize ด้วยปริมาณโปรตีนรวม จากนั้นเปลี่ยนค่าของ PPO activity เป็น μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein โดยนำค่าที่ได้มาคูณ 0.272

3.4.2 การศึกษาระดับการแสดงออกของ PPO ในใบและผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

1. การศึกษาระดับ PPO activity ในใบของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับ PPO activity ในใบของมะเขือเทศ UP, NT และ OP 5 จีโนไทป์ คือ UP19-3, NT, OP18 และ OP28 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการศึกษา 3 ครั้ง ดังนี้

1.1 ทำการทดลองวันที่ 23 ตุลาคม 2547 ใช้ใบมะเขือเทศข้อที่ 4 ของต้นที่มีอายุ 16 สัปดาห์ จำนวน 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยมะเขือเทศ 1 ต้น ทำการสกัดโปรตีน ตรวจหาความเข้มข้นของระดับโปรตีนรวม และตรวจวัดระดับ PPO activity ตามวิธีการในข้อ 2.1, 2.2 และ 2.4 ตามลำดับ โดยการตรวจวัดระดับ PPO activity ใช้ 96 μm 2-nitro-5-thiobenzoic acid และ 25 mM 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) ใน 0.1 M Tris-HCl, pH 7.0 เป็น substrate

1.2 ทำการทดลองวันที่ 7 มีนาคม 2548 โดยใช้ใบมะเขือเทศข้อที่ 8 ของต้น ที่มีอายุ 14 สัปดาห์ จำนวน 8 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยมะเขือเทศ 2 ต้น ทำการสกัดโปรตีน ตรวจหาความเข้มข้นของระดับโปรตีนรวม และตรวจวัดระดับ PPO activity ตามวิธีการในข้อ 2.1, 2.2 และ 2.4 ตามลำดับ โดยการตรวจวัดระดับ PPO activity ใช้ 96 μM 2-nitro-5-thiobenzoic acid และ 1.77 mM 4-methylcatechol ใน 0.1 M Tris-HCl, pH 7.0 เป็น substrate

1.3 ทำการทดลองวันที่ 10 เมษายน 2549 โดยใช้ใบมะเขือเทศข้อที่ 4 และ 6 ของต้น ที่มีอายุ 6 สัปดาห์ จำนวน 8 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยมะเขือเทศ 2 ต้น ทำการสกัดโปรตีน ตรวจหาความเข้มข้นของระดับโปรตีนรวม และตรวจวัดระดับ PPO activity ตามวิธีการในข้อ 2.1, 2.2 และ 2.4 ตามลำดับ โดยการตรวจวัดระดับ PPO activity ใช้ 96 μm 2-nitro-5-thiobenzoic acid และ 1.77 mM 4-methylcatechol ใน 0.1 M Tris-HCl, pH 7.0 เป็น substrate

1.4 วิเคราะห์วาเรียนซ์ของระดับ PPO activity ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 โดยใช้ F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ PPO activity ในมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์

2. การศึกษาระดับการแสดงออกของ PPO ในผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

2.1 การศึกษาระดับ PPO activity ในผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับ PPO activity ในผลของมะเขือเทศ 5 จีโนไทป์ คือ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ผล ใช้ผลมะเขือเทศที่มีอายุ 4 สัปดาห์ โดยทำการทดลองวันที่ 8 เมษายน 2548

2.1.1 ทำการสกัดโปรตีน และตรวจหาความเข้มข้นของระดับโปรตีนรวมตามวิธีการในข้อ 2.1 และ 2.2 ตามลำดับ

2.1.2 ตรวจวัดระดับ PPO activity ตามวิธีการในข้อ 2.4 โดยใช้ 96 μM 2-nitro-5-thiobenzoic acid และ 1.77 mM 4-methylcatechol ใน 0.1 M Tris-HCl, pH 7.0 เป็น substrate และใช้ความเข้มข้นของ homogenate/homogenization buffer 30/40, 40/10 และ 50/0 ใน UP19-3 และ UP19-4 ส่วน NT ใช้ความเข้มข้นของ homogenate/homogenization buffer 30/40, 40/10 และ 50/0 สำหรับ

OP18 และ OP28 ใช้ความเข้มข้นของ homogenate/homogenization buffer 10/20, 20/10 และ 30/0

2.1.3 วิเคราะห์วาเรียนซ์ของระดับ PPO activity ในผลมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 โดยใช้ F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ PPO activity ในผลมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์

2.2 ศึกษารูปแบบการแสดงออก (expression pattern) ของ PPO ในผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับและรูปแบบการแสดงออกของ PPO ในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ในผลมะเขือเทศ UP, NT และ OP อายุ 4 สัปดาห์ โดยวิธี tissue printing ซึ่งทำการทดลองวันที่ 25 มกราคม 2549 ดังนี้

2.2.1 แช่แผ่น nitrocellulose membrane ใน 1x TBS เป็นเวลา 10 นาที

2.2.2 ย้ายแผ่น nitrocellulose membrane ที่แช่ใน 1x TBS มาผึ่งให้หมาด

2.2.3 ผ่าผลมะเขือเทศตามแนวยาวของผล แล้วพิมพ์ลงบน nitrocellulose membrane โดยกดลงเพียงครั้งเดียวด้วยแรงและเวลาที่เท่ากันในแต่ละตัวอย่าง จากนั้นผึ่งให้หมาด

2.2.4 นำแผ่น nitrocellulose membrane มาล้างใน 1x TBS และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 10 นาที

2.2.5 นำไปบ่มร่วมกับ sodium m-periodate 3% (w/v) และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 20 นาที

2.2.6 ล้างแผ่น nitrocellulose membrane ใน ddH_2O 3 ครั้ง แล้วล้างใน 1x TBS และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 20 นาที

2.2.7 นำ nitrocellulose membrane มาแช่ใน blocking solution (1% skim milk) และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.2.8 บ่มร่วมกับ 1^{o} antibody solution (rabbit anti-*Solanum berthaultii* trichome PPO (IgG) เจือจาง 1: 1000 ใน blocking solution) และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 45 นาที

2.2.9 ล้าง nitrocellulose membrane ใน 1x TBS และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 5 นาที ล้าง 3 ครั้ง

2.2.10 บ่มร่วมกับ 2^{o} antibody solution (goat anti-rabbit IgG alkaline phosphatase conjugate เจือจาง 1: 1000 ใน blocking solution) และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 45 นาที

2.2.11 ล้าง blot ใน TBS และเขย่าบน shaker เป็นเวลา 5 นาที ล้าง 3 ครั้ง

2.2.12 เติม developer (5-bromo-4-chloro-3-indoyl-phosphate 150 mg/l และ nitroblue tetrasolium chloride 300 mg/l ใน 0.1 M $NaHCO_3$, pH 9.8) 20 ml นาน 20 นาที แล้วเทออก และล้างด้วยน้ำ จากนั้นนำมาวางบนกระดาษกรองปล่อยให้แห้ง แล้วเก็บไว้ในที่มืด

2.2.13 เปรียบเทียบความเข้มของสีที่ปรากฏบนเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ในผลมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 plants เนื้อเยื่อส่วนที่มีสีเข้มแสดงว่ามีระดับ PPO สูง

3.4.3 การศึกษาการกระตุ้นเพิ่มระดับของ PPO activity เมื่อได้รับความเสียหายจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม

ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 และ 6 ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอม โดยวางแผนการทดลองแบบ paired t-test มีทั้งหมด 8 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยมะเขือเทศ 1 ต้น และเพื่อเปรียบเทียบระดับ PPO activity ระหว่าง UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 ก่อนได้รับการกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO และหลังจากได้รับกระกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO จากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มีทั้งหมด 8 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยมะเขือเทศ 1 ต้น ทำการตรวจวัดระดับ PPO activity ในใบของพืช NT, UP และ OP (ที่มีระยะการพัฒนาเหมือนกัน) ก่อนและหลังการเข้าทำลายโดยหนอนกระทู้หอม

1. เก็บตัวอย่างใบย่อยคู่ที่ 1 ของใบข้อที่ 4 และ 6 จากมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ จำนวนข้อละ 1 ใบ นำใบหนึ่งมาสกัดโปรตีนก่อนทดลองเพื่อทดสอบหาค่า PPO activity ก่อนการกระตุ้นเพิ่มระดับ (ภาพผนวกที่ 1)
2. ปล่อยหนอนอายุ 5 วัน ลงบนใบย่อยคู่ที่ 1 ของใบข้อที่ 4 ที่เหลือ แล้วคลุมด้วยถุงผ้า ปล่อยให้หนอนกัดกินนาน 48 ชั่วโมง
3. เก็บใบที่ถูกหนอนกัดกินและใบย่อยคู่ที่ 1 ของใบข้อที่ 6 ที่เหลือมาสกัดโปรตีนเพื่อทดสอบหาค่า PPO activity หลังได้รับการกระตุ้นเพิ่มระดับจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม

4. วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอม โดยใช้ paired t-test เพื่อตรวจสอบการกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity ที่เกิดขึ้นในมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์
5. วิเคราะห์วาเรียนซ์ของระดับ PPO activity ของพืช UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 ก่อนและหลังการเข้าทำลาย โดยใช้ F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายโดยหนอนกระทู้หอมในแต่ละจีโนไทป์

3.4.4 การประเมินความต้านทานต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย

ทำการสำรวจและเก็บหนอนเจาะสมอฝ้ายจากแปลงเกษตรกรมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณและเตรียมหนอนเจาะสมอฝ้ายเพื่อใช้ในการทดลอง โดยใช้หนอนเจาะสมอฝ้ายที่เก็บจากแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีปลูกไว้โดยไม่พ่นยาฆ่าแมลง) และเนื่องจากในช่วงเดือนตุลาคม 2547 หนอนเจาะสมอฝ้ายไม่ระบาดในแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และรอบ ๆ มหาวิทยาลัย จึงต้องเดินทางไปเก็บหนอนเจาะสมอฝ้ายจากแปลงฝ้ายของเกษตรกร อ. ลำนารายณ์ จ. ลพบุรี มาเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (ตารางผนวกที่ 1) จนถึงระยะดักแด้ แล้วนำออกมาฟักเป็นผีเสื้อ จากนั้นให้ผีเสื้อผสมกันโดยสุ่มและวางไข่ แล้วจึงนำไข่มาใช้ในการทดลองต่อไป เมื่อทำการเลี้ยงหนอนเจาะสมอฝ้าย ประมาณ 3-4 รุ่น จะเกิด inbreeding depression ซึ่งจะทำให้หนอนรุ่นลูกอ่อนแอ ดังนั้นจึงต้องเก็บหนอนในธรรมชาติ (จากแปลงข้าวโพดเลี้ยงสัตว์) มาเลี้ยงร่วมด้วย

1. การประเมินความต้านทานของใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย

ทำการทดลองวันที่ 4 ตุลาคม 2547 วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี คือมะเขือเทศ 4 จีโนไทป์ ได้แก่ พืช UP19-3, UP19-4, NT และ OP18 ทำการทดลองโดยใช้ใบข้อที่ 4 และ 8 จำนวน 5 ซ้ำ ใน 1 ซ้ำ ประกอบด้วยหนอน 3 ตัว หรือใบมะเขือเทศ 3 ใบ

1.1 นำไข่ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่ฟักเป็นตัวมาเลี้ยงในอาหารเทียมนาน 4 วัน

1.2 วัดพื้นที่ใบก่อนกัดกินของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ แล้วพันด้วยสำลีชุบน้ำใส่ในกล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงแมลง กล่องละ 1 ใบ

1.3 นำหนอนเจาะสมอฝ้ายอายุ 4 วัน มาชั่งน้ำหนัก แล้วนำมาใส่ในกล่องพลาสติกที่มีใบมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์อยู่ จากนั้นปล่อยให้หนอนกัดกินใบเป็นเวลา 7 วัน (ทำการเปลี่ยนใบพืชเมื่อใบเหี่ยว หรือใส่ใบเพิ่มเมื่อใบถูกหนอนกัดกินหมด) เมื่อครบ 7 วัน วัดพื้นที่ใบหลังกัดกิน และชั่งน้ำหนักหนอนที่อายุ 11 วัน

1.4 คำนวณ simple growth rate relative growth rate และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอน และพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน โดยใช้สูตร

1. Simple growth rate (มก.วัน$^{-1}$) = $\frac{\text{น้ำหนักหนอนที่เพิ่มขึ้น}}{\text{ระยะเวลา}}$

น้ำหนักหนอนที่เพิ่มขึ้น (มก.) = น้ำหนักหนอนที่อายุ 11 วัน(มก.) - น้ำหนักหนอนที่อายุ 4 วัน(มก.)

2. Relative growth rate (มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$)

$$= \frac{\text{simple growth rate}}{[\text{น้ำหนักหนอนที่อายุ } 4 + 11 \text{ วัน (มก.)}]/2}$$

3. เปอร์เซ็นต์การตาย = $\frac{\text{จำนวนหนอนที่ตาย} \times 100}{\text{จำนวนหนอนทั้งหมด}}$

* ถ้าหนอนที่กินมะเขือเทศ NT ตายเกิน 5 เปอร์เซ็นต์ ให้ปรับเปอร์เซ็นต์การตายโดย ใช้ Abbott's formulation คือ

$$\% \text{ corrected mortality} = \frac{Ca - Ta}{Ca} \times 100$$

Ca = จำนวนหนอนที่รอดชีวิตใน control

Ta = จำนวนหนอนที่รอดชีวิตใน treatment

4. พื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน (ซม.^{2})

= พื้นที่ใบก่อนกัดกิน(ซม.^{2}) - พื้นที่ใบหลังกัดกิน (ซม.^{2})

1.5 วิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate และ relative growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้าย และพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน โดยใช้ F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range test (DMRT)

2. การหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ระหว่างระดับ PPO activity กับ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายและระหว่างระดับ PPO activity กับพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน

ทำการทดลองวันที่ 7 พฤษภาคม 2547 ทดลองหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับsimple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้าย และระหว่างระดับ PPO activity กับพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน ดังนี้

2.1 คัดเลือกต้นมะเขือเทศ UP19-3 จำนวน 22 ต้น และ OP18 จำนวน 26 ต้น รวม 48 ต้น ซึ่งมีระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 สูงต่ำต่าง ๆ กัน

2.2 นำใบมะเขือเทศข้อที่ 4 พันด้วยสำลีชุบน้ำใส่ในถ้วยพลาสติก จากนั้นปล่อยหนอนที่ฟักออกจากไข่ลงบนใบมะเขือเทศแต่ละต้น ใบละ 10 ตัว ปล่อยให้หนอนกัดกินเป็นเวลา 2 วัน

2.3 เมื่อครบ 2 วัน สุ่มหนอนจากแต่ละใบมา 5 ตัว ชั่งน้ำหนักหนอนเพื่อแยกใส่ถ้วย ถ้วยละ 1 ตัว เพื่อให้กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศต้นเดิมต่อไปอีก 7 วัน โดยวัดพื้นที่ใบก่อนและหลังถูกหนอนกัดกิน และเปลี่ยนใบเมื่อใบเหี่ยวหรือถูกหนอนกัดกินหมด

2.4 เมื่อครบ 7 วัน ชั่งน้ำหนักหนอนเจาะสมอฝ้ายหลังทดลอง แล้วคำนวณ simple growth rate จากนั้นนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับsimple growth rate และระหว่างระดับ PPO activity กับพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน

3.4.5 การประเมินความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม

ทำการสำรวจและเก็บหนอนกระทู้หอม จากแปลงเกษตรกรมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณและเตรียมหนอนกระทู้หอม เพื่อใช้ในการทดลอง โดยใช้หนอนกระทู้หอมจากแปลงหอมของเกษตรกรบ้านตะคองเก่า อ. เมือง จ. นครราชสีมา มาเลี้ยงด้วยอาหารเทียม (ตารางผนวกที่ 1) จนเข้าดักแด้ แล้วนำออกมาฟักเป็นผีเสื้อ จากนั้นให้ผีเสื้อผสมกันโดยสุ่มและวางไข่ แล้วจึงนำไข่มาใช้ในการทดลองต่อไป เมื่อทำการเลี้ยงหนอนกระทู้หอมประมาณ 3-4 รุ่น จะเกิด inbreeding depression ซึ่งจะทำให้หนอนรุ่นลูกอ่อนแอ ดังนั้นจะต้องเก็บหนอนในธรรมชาติ (จากแปลงหอมของเกษตรกร) มาเลี้ยงร่วมด้วย

1. การประเมินความต้านทานของใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ต่อหนอนกระทู้หอม

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี คือมะเขือเทศ 5 จีโนไทป์ ได้แก่ พืช UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 ทำการทดลองโดยใช้ ใบข้อที่ 4 และ/หรือ 8 เพื่อ

เปรียบเทียบความต้านทานในใบข้อที่ 4 และ 8 ต่อหนอนกระทู้หอม เพราะในใบข้อที่ 4 มีระดับ PPO activity สูง และ ใบข้อที่ 8 มีระดับ PPO activity ต่ำกว่าในใบข้อที่ 4 เนื่องจากมีข้อจำกัดในเรื่องจำนวนหนอนและจำนวนต้นมะเขือเทศที่ใช้ในการทดลองไม่เพียงพอ ในบางการทดลองจึงต้องแยกทดลองในใบข้อที่ 4 และ 8 จึงทำการทดลอง 4 ครั้ง ดังนี้

1.1 การทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 1 ทดลองวันที่ 23 ตุลาคม 2547 ทำการทดลอง 14 ซ้ำ หนึ่งซ้ำประกอบด้วยหนอน 3 ตัวโดยเริ่มเลี้ยงหนอนกระทู้หอมแรกฟักรวมกันในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ เมื่อหนอนอายุได้ 5 วัน จึงแยกทดลองถ้วยละ 1 ตัวโดยชั่งน้ำหนักหนอนที่อายุ 5 วัน และ 12 วัน

1.2 การทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 2 ทดลองวันที่ 7 มีนาคม 2548 ทำการทดลอง 15 ซ้ำ หนึ่งซ้ำประกอบด้วยหนอน 3 ตัวโดยเริ่มเลี้ยงหนอนกระทู้หอมแรกฟักรวมกันในใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ เมื่อหนอนอายุได้ 5 วัน จึงแยกทดลองถ้วยละ 1 ตัวโดยชั่งน้ำหนักหนอนที่อายุ 5 วัน และ 10 วัน

1.3 การทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 ทดลองวันที่ 6 ตุลาคม 2548 ทำการทดลอง 7 ซ้ำ หนึ่งซ้ำประกอบด้วยหนอน 2 ตัวโดยเริ่มเลี้ยงหนอนกระทู้หอมแรกฟักรวมกันในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ เมื่อหนอนอายุได้ 5 วัน จึงแยกทดลองถ้วยละ 1 ตัว โดยชั่งน้ำหนักหนอนที่อายุ 5 วัน และ 12 วัน

1.4 การทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 ทดลองวันที่ 27 พฤศจิกายน 2548 ทำการทดลอง 15 ซ้ำ หนึ่งซ้ำประกอบด้วยหนอน 3 ตัวโดยเริ่มเลี้ยงหนอนกระทู้หอมแรกฟักรวมกันในใบข้อที่ 4 และ 8 เมื่ออายุได้ 5 วัน จึงแยกทดลองใส่จานพลาสติก (plastic petridish) จานละ 3 ตัวโดยชั่งน้ำหนักหนอนที่อายุ 5 วัน และ 11 วัน

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการประเมินความต้านทานต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย แต่เริ่มเลี้ยงเลี้ยงหนอนในใบมะเขือเทศตั้งแต่ฟักออกจากไข่ จึงสามารถคำนวณ simple growth rate ได้ที่ 2 ระยะเวลา คือที่ 0-5 วัน และ 5 วัน-สิ้นสุดการทดลอง และทำการเลี้ยงจนถึงระยะดักแด้ จึงสามารถชั่งน้ำหนักดักแด้ หลังเข้าดักแด้ 24 ชม. และบันทึกจำนวนวันตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ (ยกเว้นการทดสอบความต้านทานครั้งที่ 1)

2. การประเมินความต้านทานของผลมะเขือเทศ UP, NT และ OP ต่อหนอนกระทู้หอม

ทำการทดลองวันที่ 8 เมษายน 2548 วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี คือมะเขือเทศ 5 จีโนไทป์ ได้แก่ พืช UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 ทดลอง 7 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมที่เลี้ยงในอาหารเทียมอายุ 7 วัน และใช้ผลมะเขือเทศที่มีอายุประมาณ 4 สัปดาห์ (ปลูกในเดือนพฤษภาคม 2547) โดยมะเขือเทศ 1 ผลให้หนอนกัดกิน 3 ตัว โดยมีกรรมวิธีควบคุมคือ ผลมะเขือเทศที่เก็บไว้ในกล่องพลาสติกโดยไม่ให้หนอนกัดกิน

2.1 ชั่งน้ำหนักผลมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ก่อนทดลอง แล้วใส่ในถ้วยพลาสติก ถ้วยละ 1 ผล

2.2 ชั่งน้ำหนักหนอนอายุ 7 วัน แล้วนำหนอนใส่ในถ้วยพลาสติกที่มีผลมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์อยู่ โดยใส่หนอนถ้วยละ 3 ตัว ปล่อยให้หนอนกัดกินนาน 3 วัน

2.3 ชั่งน้ำหนักหนอนที่อายุ 10 วัน และชั่งน้ำหนักผลหลังการกัดกินของหนอนกระทู้หอม

2.4 คำนวณ simple growth rate และ relative growth rate เช่นเดียวกับการทดลองในใบ

2.5 คำนวณเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียในผลจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม โดยใช้สูตร

2.5.1 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียในผลมะเขือเทศจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม (%)

= เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลที่สูญเสียไปหลังจาก 3 วัน – CF

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลที่สูญเสียไปหลังจาก 3 วัน} = \frac{\text{น้ำหนักผลก่อนการทดลอง} - \text{น้ำหนักผลหลังการทดลอง}}{\text{น้ำหนักผลก่อนการทดลอง}} \times 100$$

Correction Factor (CF) คือ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียในผลมะเขือเทศจากการคายน้ำของกรรมวิธีควบคุม

$$= \frac{\text{น้ำหนักผลก่อนการทดลองของกรรมวิธีควบคุม} - \text{น้ำหนักผลหลังการทดลองของกรรมวิธีควบคุม}}{\text{น้ำหนักผลก่อนการทดลอง}} \times 100$$

2.6 วิเคราะห์วาเรียนซ์ของเปอร์เซ็นต์ simple growth rate และ relative growth rate น้ำหนักผลที่ถูกกัดกิน ของหนอนกระทู้หอม โดยใช้ F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

โดยสรุปแล้วทำการศึกษาทั้ง 5 ส่วนนี้ จำนวน 9 ครั้ง แสดงรายละเอียด ดังนี้

วันที่ทดลอง	การคัดเลือกพืชดัดแปลงพันธุกรรม	การศึกษาระดับการแสดงออกของ PPO	การทดลอง	ชนิดของเนื้อเยื่อพืช
07-05-2547	PPO activity assay	PPO activity assay	หาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้าย และระหว่างระดับ PPO activity กับพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน	ใบข้อที่ 8
04-10-2547	PPO activity assay	PPO activity assay	การประเมินความต้านทานในหนอนเจาะสมอฝ้าย	ใบข้อที่ 4 และ 8
23-10-2547	Dot blot, PPO activity assay	PPO activity assay	การประเมินความต้านทานในหนอนกระทู้หอม	ใบข้อที่ 4
07-03-2548	PPO activity assay	PPO activity assay	การประเมินความต้านทานในหนอนกระทู้หอม	ใบข้อที่ 8
08-04-2548	PPO activity assay	PPO activity assay	การประเมินความต้านทานในหนอนกระทู้หอม	ผล
06-10-2548	PPO activity assay	PPO activity assay	การประเมินความต้านทานในหนอนกระทู้หอม	ใบข้อที่ 4
27-11-2548	PPO activity assay	PPO activity assay	การประเมินความต้านทานในหนอนกระทู้หอม	ใบข้อที่ 4 และ 8
25-01-2549	PPO activity assay	Tissue printing	การศึกษาระดับการแสดงออกในผลมะเขือเทศ	ผล
10-04-2549	PCR, PPO activity assay	PPO activity assay	การกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO โดยหนอนกระทู้หอม	ใบข้อที่ 4 และ 6

บทที่ 4

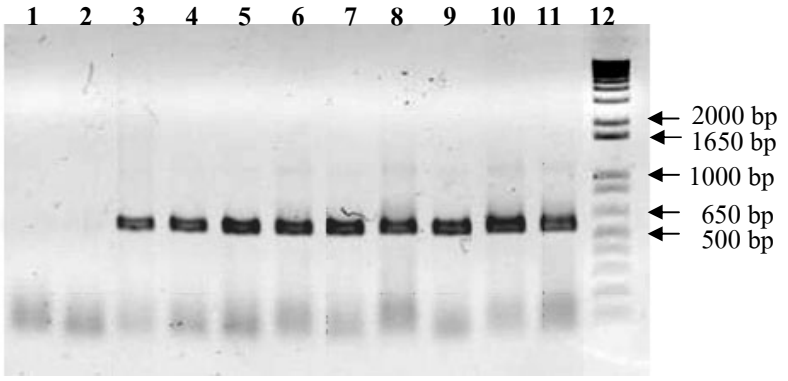
ผลการทดลอง

4.1 การคัดเลือกพืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมโดยวิธีพันธุวิศวกรรม

จากการคัดเลือกพืช UP19-3, OP18 และ OP28 ที่มีระดับการแสดงออกของ PPO activity ต่ำลงหรือสูงขึ้นตามลำดับ เพื่อใช้ในการทดลอง โดยใช้วิธี Polymerase Chain Reaction (PCR), PPO activity assay และ dot blot analysis ได้ผลการทดลองดังนี้

4.1.1 การคัดเลือกโดยวิธี PCR

ทำการคัดเลือกมะเขือเทศดัดแปลงพันธุกรรม โดยวิธี PCR เพื่อเพิ่มปริมาณ ยีนคัดเลือก neomycin phosphotransferase (*nptII*) ในการทดลอง 2 ครั้ง ภาพที่ 3 แสดงตัวอย่างของผลการเพิ่มปริมาณยีนคัดเลือก *nptII* ในการคัดเลือกครั้งที่ 2 (วันที่ 10 เมษายน 2549) พบว่าจาก UP19-3 จำนวน 51 ต้น มีต้นที่มีแถบดีเอ็นเอ *nptII* ขนาด 612 bp จำนวน 49 ต้น (96.07%) จาก UP19-4 จำนวน 70 ต้น มีต้นที่มีแถบดีเอ็นเอ *nptII* จำนวน 69 ต้น (98.57%) และจากการคัดเลือก OP18 จำนวน 81 ต้น และ OP28 จำนวน 39 ต้น พบว่ามีแถบดีเอ็นเอ *nptII* ทุกต้น (100%) ในขณะที่มะเขือเทศที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม (NT) ไม่พบแถบดีเอ็นเอ ส่วนในการทดลองครั้งที่ 1 ซึ่งยังมีการกระจายตัวของยีน *nptII* และ PPO พบว่าได้เปอร์เซ็นต์ต้นที่มีแถบดีเอ็นเอ *nptII* น้อยกว่านี้ (60-100%)



ภาพที่ 3 แถบดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณยีนคัดเลือก *nptII* ใน UP19-3 (แถบที่ 3-6, 9), OP18 (แถบที่ 7-8, 10-11), NT (แถบที่ 1-2) และ 1 kb plus DNA ladder (แถบที่ 12)

แม้ว่าต้นมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, OP18 และ OP28 ที่คัดเลือกโดยวิธีนี้จะมียีนที่ได้รับการตัดต่ออย่างน้อย 1 อัลลีลทุกต้น แต่เนื่องจากมะเขือเทศเหล่านี้มีระดับการแสดงออกที่แตกต่างกันตามลักษณะพันธุกรรม (การเป็น heterozygote หรือ homozygote ของยีน PPO) ดังนั้นจึงต้องทำการคัดเลือกต้น UP19-3 ที่มีระดับ PPO activity ต่ำสุด และ OP18 และ OP28 ที่มีระดับ PPO activity สูงสุดโดยวิธี PPO activity assay หรือ dot blot analysis ด้วย

4.1.2 การคัดเลือกโดยวิธี PPO activity assay

จากการปลูกคัดเลือกมะเขือเทศจำนวน 4 ครั้ง (เฉพาะครั้งที่ 4 มีการคัดเลือกโดยวิธี PCR ก่อน) พบว่าในการคัดเลือกแต่ละครั้งได้ต้น UP19-3 ที่มีระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 ต่ำกว่าต้น NT และได้ต้น OP ที่มีระดับ PPO activity สูงกว่า NT ดังนี้

การคัดเลือกครั้งที่ 1 (3 พฤษภาคม 2547) คัดเลือกมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 โดยวิธี PPO activity assay โดยตรง พบว่าจากมะเขือเทศ UP19-3 จำนวน 93 ต้น ได้ต้นที่มี PPO activity ต่ำ จำนวน 51 ต้น (54.84%) โดยมีระดับ PPO activity ต่ำกว่า NT 3.19-18.07 เท่า จากการคัดเลือก OP18 จำนวน 85 ต้น พบต้นที่มี PPO activity สูง จำนวน 18 ต้น (21.18%) โดยมีระดับ PPO activity สูงกว่า NT 1.91-6.53 เท่า และ จากการคัดเลือก OP28 จำนวน 59 ต้น พบต้นที่มี PPO activity สูง จำนวน 17 ต้น (28.81%) โดยมีระดับ PPO activity สูงกว่า NT 1.93-4.59 เท่า (ตารางที่ 1)

การคัดเลือกครั้งที่ 2 (20 ธันวาคม 2547) คัดเลือกมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 โดยวิธี PPO activity assay โดยตรง พบว่าจากมะเขือเทศ UP19-3 จำนวน 103 ต้น ได้ต้นที่มี PPO activity ต่ำ จำนวน 60 ต้น (58.25%) โดยมีระดับ PPO activity ต่ำกว่า NT 1.21-9.50 เท่า จากการคัดเลือก OP18 จำนวน 65 ต้น พบต้นที่มีระดับ PPO activity สูง จำนวน 55 ต้น (84.62%) โดยมีระดับ PPO activity สูงกว่า NT 1.95-25.23 เท่า และจาก OP28 จำนวน 46 ต้นพบต้นที่มีระดับ PPO activity สูง จำนวน 44 ต้น (95.65%) โดยมีระดับ PPO activity สูงกว่า NT 1.73-11.39 เท่า (ตารางที่ 2)

การคัดเลือกครั้งที่ 3 (19 ตุลาคม 2548) คัดเลือกมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 โดยวิธี PPO activity assay โดยตรง พบว่าจากมะเขือเทศ UP19-3 จำนวน 43 ต้น ได้ต้นที่มี PPO activity ต่ำ จำนวน 35 ต้น (81.40%) โดยมีระดับ PPO activity ต่ำกว่า NT 1.26-30.46 เท่า จากการคัดเลือก OP18 จำนวน 47 ต้น พบต้นที่มี PPO activity สูง จำนวน 36 ต้น (76.60%) โดยมีระดับ PPO activity สูงกว่า NT 1.85-13.46 เท่า และ จากการคัดเลือก OP28 จำนวน 54 ต้น พบต้นที่มี PPO activity สูง จำนวน 35 ต้น (64.81%) โดยมีระดับ PPO activity สูงกว่า NT 1.67-9.27 เท่า (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 จำนวนต้นมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 ที่ปลูกทั้งหมด จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลงหรือสูงขึ้น และจำนวนเท่าของระดับ PPO activity ที่สูงหรือต่ำกว่า NT จากการคัดเลือกครั้งที่ 1

จีโนไทป์	จำนวนต้นที่ปลูกทั้งหมด	จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลง/สูงขึ้น	จำนวนเท่าของระดับ PPO activity
UP19-3	93	51	< NT 3.19-18.07
OP18	85	18	> NT 1.91-6.53
OP28	59	17	> NT 1.93-4.59

ตารางที่ 2 จำนวนต้นมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 ที่ปลูกทั้งหมด จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลงหรือสูงขึ้น และจำนวนเท่าของระดับ PPO activity ที่สูงหรือต่ำกว่า NT จากการคัดเลือกครั้งที่ 2

จีโนไทป์	จำนวนต้นที่ปลูกทั้งหมด	จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลง/สูงขึ้น	จำนวนเท่าของระดับ PPO activity
UP19-3	103	60	< NT 1.21-9.50
OP18	65	55	> NT 1.95-25.23
OP28	46	44	> NT 1.73-11.39

ตารางที่ 3 จำนวนต้นมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 ที่ปลูกทั้งหมด จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลงหรือสูงขึ้น และจำนวนเท่าของระดับ PPO activity ที่สูงหรือต่ำกว่า NT จากการคัดเลือกครั้งที่ 3

จีโนไทป์	จำนวนต้นที่ปลูกทั้งหมด	จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลง/สูงขึ้น	จำนวนเท่าของระดับ PPO activity
UP19-3	43	35	< NT 1.26-30.46
OP18	47	36	> NT 1.85-13.46
OP28	54	35	> NT 1.67-9.27

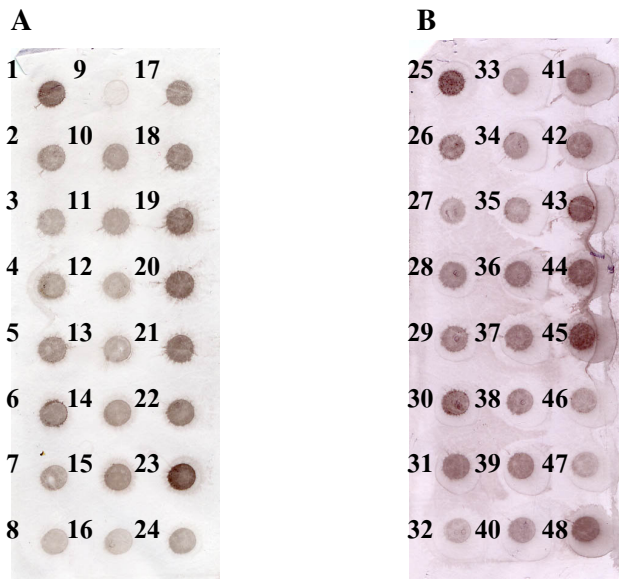
ตารางที่ 4 จำนวนต้นมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 ที่ปลูกทั้งหมด จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลงหรือสูงขึ้น และจำนวนเท่าของระดับ PPO activity ที่สูงหรือต่ำกว่า NT จากการคัดเลือกครั้งที่ 4

จีโนไทป์	จำนวนต้นที่ปลูกทั้งหมด	จำนวนต้นที่มีระดับ PPO activity ต่ำลง/สูงขึ้น	จำนวนเท่าของระดับ PPO activity
UP19-3	48	36	< NT 2.38-19.63
UP19-4	43	22	< NT 1.97-75.97
OP18	35	18	> NT 1.64-8.64
OP28	37	15	> NT 1.64-5.93

การคัดเลือกครั้งที่ 4 (เมษายน 2549) คัดเลือกมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 ที่ได้รับการคัดเลือกโดยวิธี PCR ก่อน แล้วจึงคัดเลือกโดยวิธี PPO activity assay พบว่าจากมะเขือเทศ UP19-3 จำนวน 48 ต้น ได้ต้นที่มี PPO activity ต่ำ จำนวน 36 ต้น (75.00%) โดยมีระดับ PPO activity ต่ำกว่า NT 2.38-19.63 เท่า จากการคัดเลือก UP19-4 จำนวน 43 ต้น พบต้นที่มี PPO activity ต่ำ จำนวน 22 ต้น (51.16%) โดยมีระดับ PPO activity ต่ำกว่า NT 1.97-75.97 เท่า จากการคัดเลือก OP18 จำนวน 35 ต้น พบต้นที่มี PPO activity สูง จำนวน 18 ต้น (51.43%) โดยมีระดับ PPO activity สูงกว่า NT 1.64-8.64 เท่า และจากการคัดเลือก OP28 จำนวน 37 ต้น พบต้นที่มี PPO activity สูง จำนวน 15 ต้น (40.54%) โดยมีระดับ PPO activity สูงกว่า NT 1.64-5.93 เท่า (ตารางที่ 4)

4.1.3 การคัดเลือกพืชดัดแปลงพันธุกรรมโดยวิธี dot blot analysis

ทำการคัดเลือกมะเขือเทศ UP19-3, OP18 และ OP28 ที่ระดับโปรตีนโดยตรงด้วยวิธี dot blot analysis ในการทดลอง 2 ครั้ง ภาพที่ 4 แสดงการตรวจสอบระดับ PPO ของ OP18 และ NT ด้วยวิธี dot blot analysis (การทดลองครั้งที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบความเข้มของสีระหว่างตัวอย่าง OP18 กับ NT พบว่าจาก OP18 ทั้งหมด 42 ต้น มีต้นที่มีระดับ PPO สูงกว่า NT อย่างเด่นชัดจำนวน 6 ต้น โดย OP18 ที่มีระดับ PPO สูงกว่า NT คือตัวอย่างที่ 19, 23, 43, 44, 45 และ 48



ภาพที่ 4 การตรวจสอบระดับ PPO ของ OP18 [จุดที่ 4-24 (A) และ 28-48 (B)] เปรียบเทียบกับ NT [จุดที่1-3 (A) และ 25-27 (B)] ด้วยวิธี dot blot analysis

ส่วนในการคัดเลือกครั้งที่ 2 (เดือนกรกฎาคม 2548) พบว่าจาก OP18 ทั้งหมด 45 ต้น มีต้นที่มีระดับ PPO สูงกว่า NT อย่างเด่นชัดจำนวน 21 ต้น (46.67%) จากการคัดเลือก OP28 ทั้งหมด 24 ต้น มีต้นที่มีระดับ PPO สูงกว่า NT อย่างเด่นชัดจำนวน 15 ต้น (62.5%) และจากการคัดเลือก UP19-3 จำนวน 30 ต้น พบต้นที่มีระดับ PPO ต่ำกว่า NT อย่างเด่นชัดจำนวน 20 ต้น (66.67%)

4.2 การศึกษาระดับการแสดงออกของ PPO ในใบและผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

4.2.1 การศึกษาระดับ PPO avtivity ในใบของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

จากการทดลองวันที่ 23 ตุลาคม 2547 โดยใช้ใบมะเขือเทศข้อที่ 4 ของต้นที่มีอายุ 16 สัปดาห์ พบว่าใบมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ มีระดับ PPO activity ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,31} = 22.89$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 5) โดย UP19-4 มีระดับ PPO activity ต่ำที่สุด (0.83 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein) ซึ่งต่ำกว่า NT 2.7 เท่า และ OP18 มีระดับ PPO activity สูงที่สุด (6.32 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein) ซึ่งสูงกว่า NT 2.8 เท่า โดย NT มีระดับ PPO activity ปานกลาง คือ 2.23 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein (ตารางที่ 5)

สำหรับการทดลองวันที่ 7 มีนาคม 2548 ใช้ใบมะเขือเทศข้อที่ 8 ของต้นที่มีอายุ 14 สัปดาห์ พบว่า OP28 และ OP18 มีระดับ PPO activity สูงกว่า UP19-3, UP19-4 และ NT อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,28} = 48.29$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 7; ตารางที่ 5) โดย OP28 และ OP18 มีระดับ PPO activity 14.06 และ 10.05 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein ซึ่งสูงกว่า NT 4.5 และ 3.4 เท่าตามลำดับ เมื่อพิจารณามะเขือเทศ UP19-3, UP19-4 และ NT พบว่ามีระดับ PPO activity ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แม้ว่ามะเขือเทศ UP ยังคงมีระดับ PPO activity ต่ำกว่า NT 2.7-2.9 เท่า โดย NT มีระดับ PPO activity ปานกลาง คือ 3.11 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein (ตารางที่ 5)

จากการทดลองวันที่ 10 เมษายน 2549 โดยใช้มะเขือเทศที่มีอายุ 6 สัปดาห์ พบว่าระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ OP สูงกว่า UP และ NT อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ($F_{4,28}$ = 30.34; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 9; ตารางที่ 5) โดยมะเขือเทศ OP28 และ OP18 มีระดับ PPO activity 7.37 และ 7.16 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า NT 6.3 และ 6.1 เท่า ตามลำดับ ส่วน UP19-3, UP19-4 และ NT มีระดับ PPO activity ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แม้ว่า UP19-4 ยังคงมีระดับ PPO activity ต่ำที่สุด เมื่อพิจารณาใบข้อที่ 6 พบว่าระดับ PPO activity ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์เป็นไปในทางเดียวกันกับในข้อที่ 4 คือ OP มีระดับ PPO activity สูงกว่า UP และ NT อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,25}$ = 10.47; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 11; ตารางที่ 5) โดยพบว่า OP18 และ OP28 มีระดับ PPO activity (5.39 และ 5.02 μmol quinone

formed min^{-1} mg^{-1} protein ตามลำดับ) สูงกว่า NT 5.6 และ 5.2 เท่าตามลำดับ ส่วน UP19-3, UP19-4 และ NT มีระดับ PPO activity ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบระดับ PPO activity ระหว่างใบข้อที่ 4 และใบข้อที่ 6 ในแต่ละจีโนไทป์ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่ระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 มีแนวโน้มสูงกว่าในใบข้อที่ 6 (ตารางที่ 5)

4.2.2 การศึกษาระดับการแสดงออกของ PPO ในผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

1. การศึกษาระดับ PPO activity ของ PPO ในผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

ทำการทดลองวันที่ 8 เมษายน 2548 ใช้ผลมะเขือเทศ ที่มีอายุ 4 สัปดาห์ พบว่าผลของ OP18 มีระดับ PPO activity สูงกว่า UP, NT และ OP28 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,12}$ = 28.52; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 13; ตารางที่ 6) โดย OP18 มีระดับ PPO activity 24.21 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein ซึ่งสูงกว่า NT 3.4 เท่า ส่วนระดับ PPO activity ในผลของ UP19-3 มีค่าต่ำที่สุด คือ 0.81 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein ซึ่งต่ำกว่า NT 8.7 เท่า ในขณะที่ NT มีระดับ PPO activity ปานกลาง คือ 7.07 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein (ตารางที่ 6)

2. การศึกษารูปแบบการแสดงออก (expression pattern) ของ PPO ในผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

จากการศึกษารูปแบบการแสดงออกของ PPO ในผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ด้วยวิธี tissue printing พบว่าในผลของมะเขือเทศ UP มีการแสดงออกของ PPO เฉพาะที่บริเวณ epidermis และ seed coat (ภาพที่ 5A, B) ใน NT พบการแสดงออกของ PPO ที่บริเวณ epidermis เช่นเดียวกับ UP และมีการแสดงออกใน placenta, pericarp, embryo และ seed coat ด้วย (ภาพที่ 5C) สำหรับใน OP พบว่ามีการแสดงออกของ PPO สูงกว่า UP และ NT ในเนื้อเยื่อทุกส่วน โดยเฉพาะใน embryo และ seed coat ซึ่งมีระดับการแสดงออกสูงสุด (ภาพที่ 5D, E)

ตารางที่ 5 ระดับ PPO activity ในใบมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28

วันที่ทำการทดลอง	อายุ (สัปดาห์)	จีโนไทป์	ระดับ PPO activity[1/] (μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein)	
			ข้อที่ 4	ข้อที่ 6 หรือ 8
23-10-2547	16	UP19-3	1.596 ± 0.243 cd[2/]	-
		UP19-4	0.825 ± 0.147 d	
		NT	2.234 ± 0.286 cb	
		OP18	6.323 ± 0.903 a	
		OP28	3.388 ± 0.536 b	
07-03-2548	14	UP19-3	-	1.506 ± 0.162 c[3/]
		UP19-4		1.061 ± 0.132 c
		NT		3.106 ± 0.408 c
		OP18		10.490 ± 1.500 b
		OP28		14.059 ± 0.988 a
10-04-2549	6	UP19-3	1.493 ± 0.221 b	1.962 ± 0.452 b[4/]
		UP19-4	0.631 ± 0.280 b	0.419 ± 0.245 b
		NT	1.168 ± 0.288 b	0.964 ± 0.267 b
		OP18	7.157 ± 1.090 a	5.386 ± 0.660 a
		OP28	7.369 ± 1.010 a	5.022 ± 1.130 a

[1/] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

[2/] ค่าเฉลี่ยจาก 10 ซ้ำ วิเคราะห์ระดับ PPO activity โดยใช้ 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) เป็น substrate

[3/] ใช้ใบข้อที่ 8 /ค่าเฉลี่ยจาก 8 ซ้ำ วิเคราะห์ระดับ PPO activity โดยใช้ 4-methylcatechol เป็น substrate

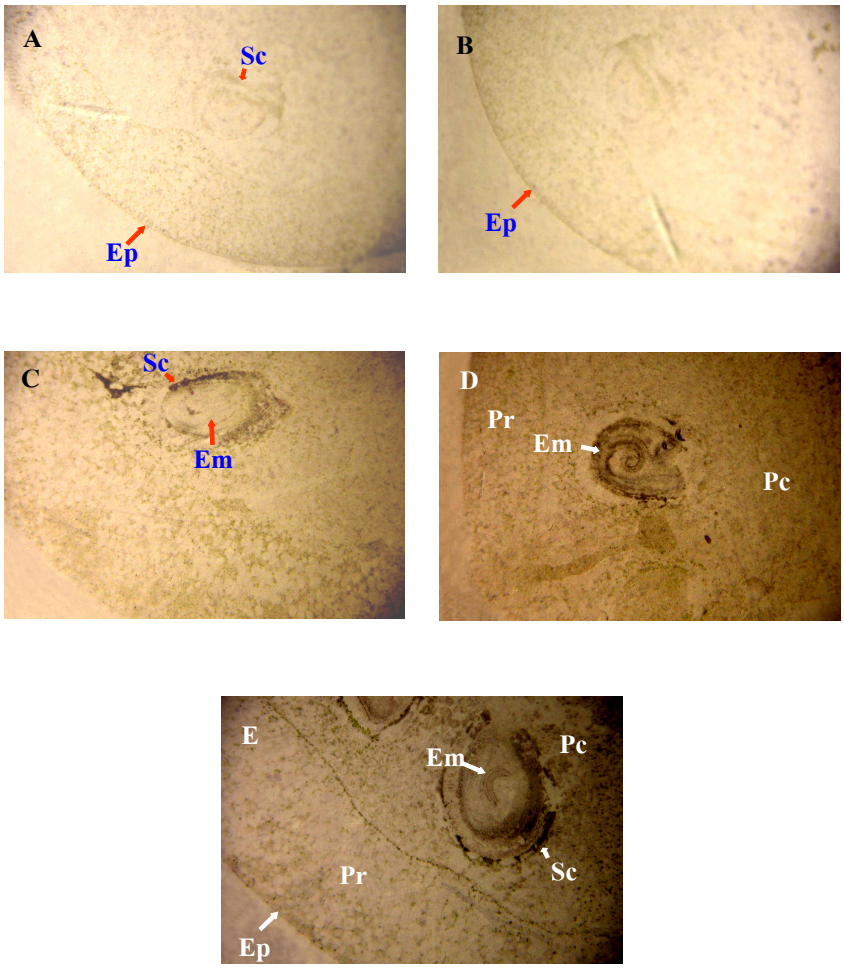
[4/] ใช้ใบข้อที่ 6 /ค่าเฉลี่ยจาก 8 ซ้ำ วิเคราะห์ระดับ PPO activity โดยใช้ 4-methylcatechol เป็น substrate

ตารางที่ 6 ระดับ PPO activity ในผลมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28

จีโนไทป์	ระดับ PPO activity[1/] (μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein)
UP19-3	0.812 ± 0.371 c[1/]
UP19-4	2.419 ± 1.286 bc
NT	7.074 ± 1.124 b
OP18	24.209 ± 6.185 a
OP28	7.777 ± 4.695 b

[1/] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. จาก 4 ซ้ำ ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

วิเคราะห์ระดับ PPO activity โดยใช้ 4-methylcatechol เป็น substrate



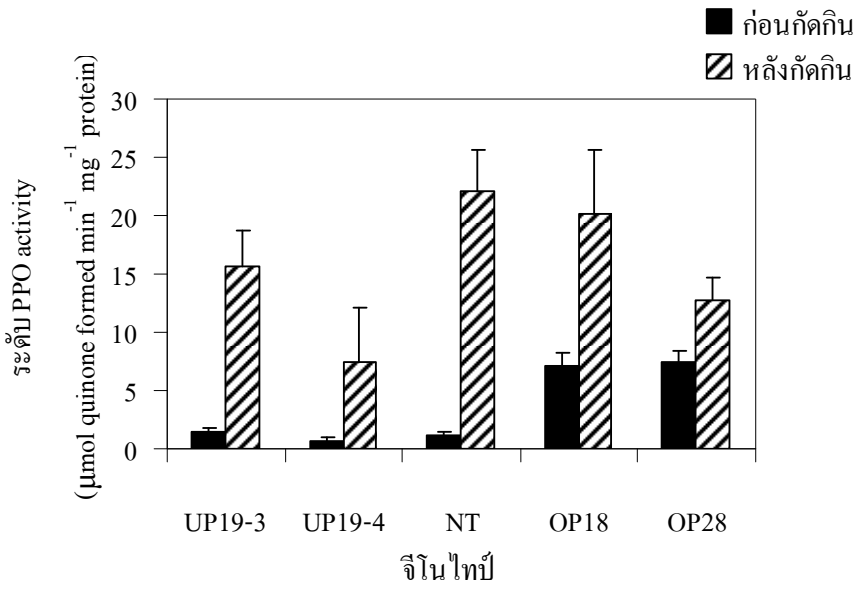
ภาพที่ 5 รูปแบบการแสดงออกของ PPO ในผลของ UP19-3 (A), UP19-4 (B), NT (C), OP18 (D) และ OP28 (E) ที่มีอายุ 4 สัปดาห์

Ep, epidermis; Sc, seed coat; Em, embryo; Pc, placenta; Pr, pericarp

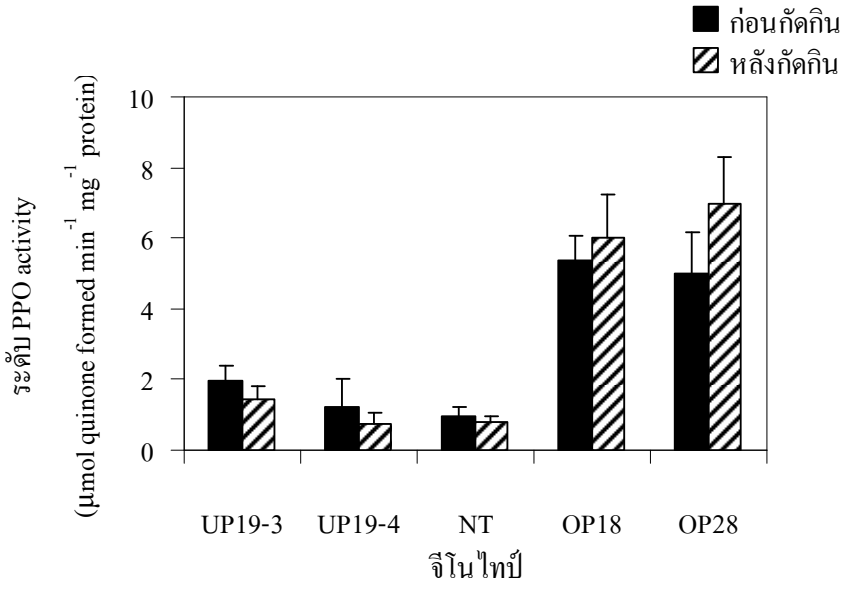
4.3 การศึกษาการกระตุ้นเพิ่มระดับของ PPO activity เมื่อได้รับความเสียหายจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม

จากการทดลองให้หนอนกระทู้หอมกัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบการกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 และ 6 พบว่าระดับ PPO activity หลังถูกกัดกินในใบข้อที่ 4 ของทุกจีโนไทป์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ยกเว้น UP19-4 (ตารางภาคผนวกที่ 16, 17, 18, 19 และ 20) โดย NT มีระดับ PPO activity เพิ่มขึ้นสูงที่สุด คือ 21.3 เท่า รองลงมาคือ UP19-3 และ OP18 มีระดับ PPO activity เพิ่มขึ้น 14.2 และ 13.0 เท่า ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 28; ภาพที่ 6) แต่เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเท่าของระดับ PPO activity ที่เพิ่มขึ้นในแต่ละจีโนไทป์พบว่าไม่แตกต่างทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบระดับ PPO activity ของ UP, NT และ OP หลังถูกกัดกิน พบว่าระดับ PPO activity ของ NT และ UP เพิ่มขึ้นจนทำให้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับ OP (ตารางภาคผนวกที่ 26) อย่างไรก็ตาม UP19-4 ยังคงมีระดับ PPO activity ต่ำที่สุด (ภาพที่ 6) เมื่อพิจารณาใบข้อที่ 6 พบว่า PPO activity ก่อนถูกกัดกินและหลังถูกกัดกินในจีโนไทป์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 21, 22, 23, 24 และ 25) เมื่อเปรียบเทียบระดับ PPO activity ของ UP, NT และ OP ในใบข้อที่ 6 ก่อนการกัดกินของหนอนกระทู้หอม พบว่าระดับ PPO activity ของ OP สูงกว่า NT และ UP อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,25} = 10.47$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 11) โดย OP28 และ OP18 มีระดับ PPO activity (5.02 และ 5.34 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein ตามลำดับ) สูงกว่า NT (0.96 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein) 5.2 และ 5.8 เท่า ตามลำดับ ส่วน PPO activity ใน UP และ NT ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 29) เมื่อพิจารณาระดับ PPO activity ของ UP, NT และ OP ในใบข้อที่ 6 หลังการกัดกินของหนอนกระทู้หอม พบว่าพืช OP ยังคงมีระดับ PPO activity สูงกว่าพืช NT และ UP อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,25} = 11.47$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 27) โดย OP18 และ OP28 มีระดับ PPO activity (6.02 และ 6.98 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein ตามลำดับ) สูงกว่า NT (0.79 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein) 8.8 และ 7.6 เท่า ตามลำดับ และเช่นเดียวกับก่อนการกัดกิน คือ PPO activity ของ UP และ NT หลังการกัดกินไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 29)



ภาพที่ 6 **ระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 ของพืช UP, NT และ OP ก่อนและหลังการเข้าทำลายโดยหนอนกระทู้หอม**



ภาพที่ 7 **ระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 6 ของพืช UP, NT และ OP ก่อนและหลังการเข้าทำลายโดยหนอนกระทู้หอม**

4.4 การประเมินความต้านทานต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย

4.4.1 การประเมินความต้านทานของใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย (4 ตุลาคม 2547)

ทำการเลี้ยงหนอนเจาะสมอฝ้ายในอาหารเทียม เมื่อหนอนเจาะสมอฝ้ายมีอายุ 4 วัน จึงย้ายมาเลี้ยงในใบมะเขือเทศข้อที่ 4 และ 8 ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT และ OP18 เป็นเวลา 7 วัน ในการทดลองนี้ใบข้อที่ 4 ของต้น OP มีระดับ PPO activity สูงกว่า NT ประมาณ 1.5-2.8 เท่า ส่วน UP มีระดับ PPO activity ต่ำกว่า NT ประมาณ 1.4-2.7 เท่า (ตารางที่ 7) จากการทดลองพบว่า ในใบข้อที่ 4 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกินไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างจีโนไทป์ เช่นเดียวกับ simple growth rate และ relative growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ (ตารางภาคผนวกที่ 31, 34 และ 37) ส่วนเปอร์เซ็นต์การตายพบว่าอยู่ระหว่าง 0-13.33 เปอร์เซ็นต์

ในใบข้อที่ 8 พบว่า พื้นที่ใบของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกินมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{3,10} = 32.96$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 32) พื้นที่ใบของ UP ที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกินมีค่าสูงกว่า NT และ OP18 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่า UP19-4 มีพื้นที่ใบที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกิน (18.28 ซม.^{2}) สูงกว่า NT 2.8 เท่า ส่วน UP19-3 มีพื้นที่ใบที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกิน(14.43 ซม.^{2}) สูงกว่า NT 2.2 เท่า ส่วนพืช NT และ OP18 มีพื้นที่ใบที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกินต่ำที่สุด คือ 6.59 และ 8.64 ซม.^{2} ตามลำดับ

ในด้านผลกระทบต่อ simple growth rate และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเจาะสมอฝ้าย พบว่า simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 8 ในมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{3,10} = 16.41$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 35) โดยหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินพืช UP มี simple growth rate สูงกว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกิน NT และ OP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบของ UP19-4 มี simple growth rate สูงที่สุด (10.20 มก. วัน$^{-1}$) โดยสูงกว่า NT 3.0 เท่า รองลงมาคือ UP19-3 มี simple growth rate (6.52 มก. วัน$^{-1}$) สูงกว่า NT 1.9 เท่า ส่วน NT และ OP18 มี simple growth rate ต่ำที่สุด คือ 3.40 และ 3.45 มก. วัน$^{-1}$ ตามลำดับ เมื่อพิจารณา relative growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 8 ในมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{3,10} = 7.07$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 38) โดยหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบของ UP มี relative growth rate สูงกว่าหนอนที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของ NT และ OP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่า relative growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบของ UP19-4 (0.28 มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$) และ UP19-3 (0.27 มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$) มีค่าสูงกว่า NT 1.1 เท่า ส่วนหนอนที่กัดกินใบ

NT และ OP18 มี relative growth rate ต่ำที่สุด (0.24 และ 0.25 มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$ ตามลำดับ) สำหรับเปอร์เซ็นต์การตาย พบว่า OP18 มี เปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุดคือ 7.14 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

4.4.2 การหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างระดับ PPO activity กับ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้าย และระหว่างระดับ PPO activity กับพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน (7 พฤษภาคม 2547)

ทำการทดลองโดยนำหนอนเจาะสมอฝ้ายอายุ 2 วัน มาเลี้ยงในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-3 และ OP18 ที่มีการกระจายตัวของระดับ PPO activity ในช่วง 1.41-10.41 μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein เป็นเวลา 7 วัน ชั่งน้ำหนักหนอนก่อนและหลังการทดลองแล้วนำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้าย พบว่าความสัมพันธ์เป็นไปในทางลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า r = - 0.540 กล่าวคือ เมื่อหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกินใบของมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity สูงจะมี simple growth rate ต่ำ (ภาพที่ 8) ส่วนการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับพื้นที่ใบที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกิน พบว่าเป็นไปในทางเดียวกันกับ simple growth rate คือมีความสัมพันธ์ในทางลบอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยมีค่า r = - 0.598 กล่าวคือ ใบมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity สูงจะถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกินน้อยกว่าใบมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity ต่ำ (ภาพที่ 9)

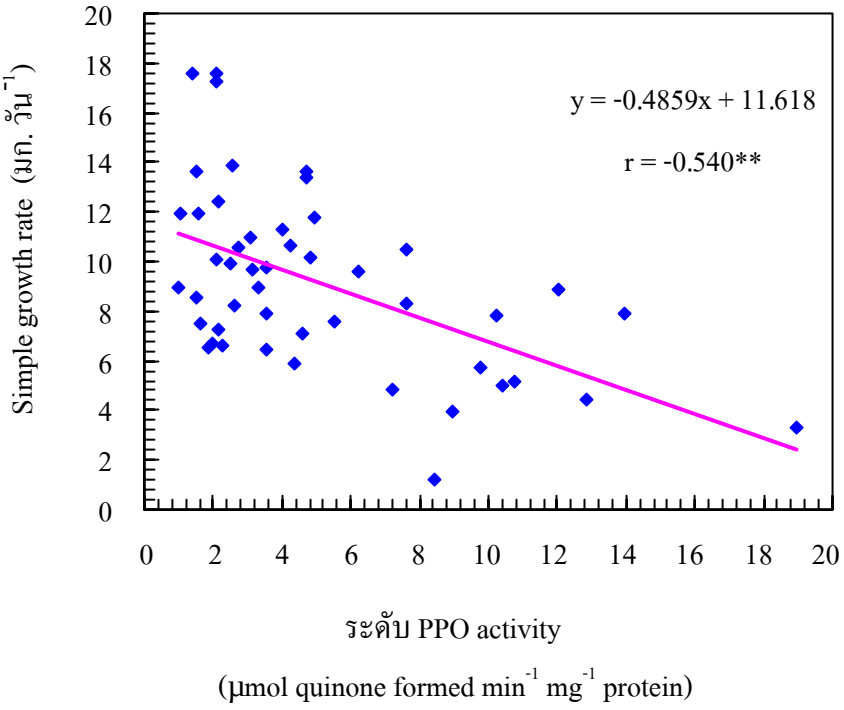
ตารางที่ 7 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกิน simple growth rate และ relative growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 4 และ 8 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ (4 ตุลาคม 2547)

ใบข้อที่	จีโนไทป์	ระดับ PPO activity (μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein)	พื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน (ซม.^{2})	SGR [1/] (มก. วัน$^{-1}$)	RGR[2/] (มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$)	เปอร์เซ็นต์การตาย
4	UP19-3	1.596 ± 0.243 cd[3/]	6.347 ± 0.739	4.217 ± 0.316	0.259 ± 0.005	0.00
	UP19-4	0.825 ± 0.147 d	7.094 ± 0.740	4.467 ± 0.514	0.260 ± 0.001	13.33
	NT	2.234 ± 0.286 cb	9.154 ± 0.787	5.916 ± 0.486	0.262 ± 0.004	0.00
	OP18	6.323 ± 0.903 a	7.234 ± 1.130	4.477 ± 0.586	0.254 ± 0.009	13.33
8	UP19-3		14.429 ± 1.047 b	6.521 ± 0.646 b	0.268 ± 0.003 a	0.00[4/]
	UP19-4		18.275 ± 1.315 a	10.203 ± 1.088 a	0.275 ± 0.001 a	0.00
	NT		6.587 ± 1.055 c	3.401 ± 0.863 c	0.243 ± 0.009 b	0.00
	OP18		8.640 ± 1.118 c	3.477 ± 0.747 c	0.249 ± 0.007 b	7.14

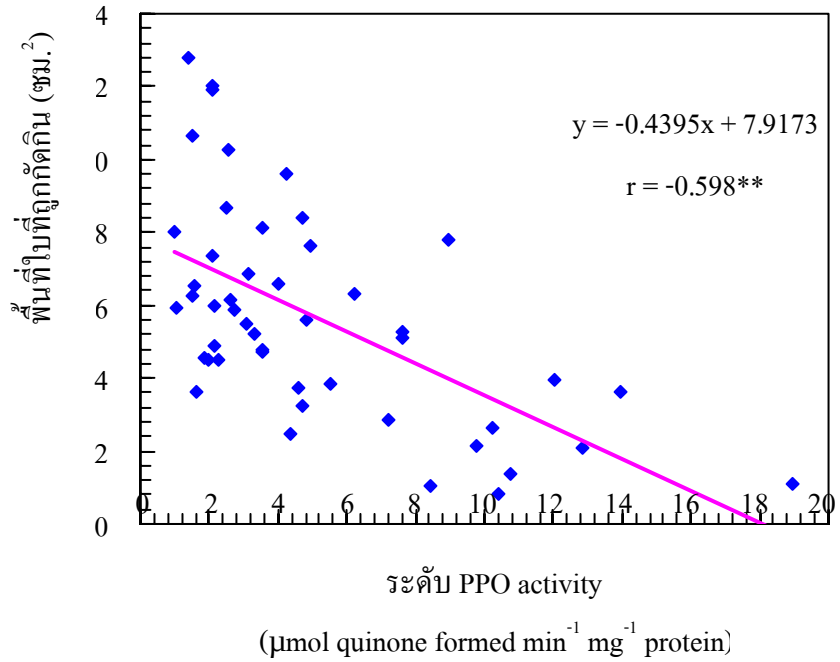
[1/]SGR: simple growth rate [2/]RGR: relative growth rate

[3/]ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

[4/]เนื่องจากหนอนกระทู้หอมที่กินใบ NT ตายเกิน 5 เปอร์เซ็นต์ จึงปรับอัตราการตายเป็น % corrected mortality โดยใช้ Abbott's formulation



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้าย



ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับ พื้นที่ใบที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกิน

4.5 การประเมินความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม

4.5.1 การประเมินความต้านทานของใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ต่อหนอนกระทู้หอม

1. การทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 1 (23 ตุลาคม 2547)

ทำการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม โดยเลี้ยงหนอนกระทู้หอมแรกฟักรวมกันในใบข้อที่ 4 เมื่ออายุได้ 5 วัน จึงแยกทดลองถ้วยละ 1 ตัวโดยชั่งน้ำหนักหนอนที่อายุ 5 วัน เมื่อหนอนอายุได้ 12 วัน จึงชั่งน้ำหนักอีกครั้ง ในการทดลองนี้ใบข้อที่ 4 ของต้น OP มีระดับ PPO activity สูงกว่า NT ประมาณ 1.5-2.8 เท่า ในขณะที่ต้น UP มีระดับ PPO activity ต่ำกว่า NT ประมาณ 1.4-2.7 เท่า (ตารางที่ 8) จากการทดลองพบว่าพื้นที่ใบของมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,43}$= 28.93; P < 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 40) โดย UP19-3 มีพื้นที่ใบที่ถูกกัดกินสูงที่สุด (21.17 ซม.^{2}) ซึ่งสูงกว่า NT 1.3 เท่า และ OP28 มีพื้นที่ใบที่ถูกกัดกินต่ำที่สุด (5.34 ซม.^{2}) ซึ่งต่ำกว่า NT 3.1 เท่า และต่ำกว่า UP19-3 4.0 เท่า ในขณะที่ NT มีพื้นที่ใบที่ถูกกัดกินปานกลาง คือ 16.55 ซม.^{2}

เมื่อพิจารณา simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่ 0-5 วัน พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของพืช UP, NT และ OP มี simple growth rate ที่ 0-5 วัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,41}$= 24.40; P<0.01; ตารางภาคผนวกที่ 42) โดยหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น UP19-4 มี simple growth rate สูงที่สุด (0.33 มก. วัน$^{-1}$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น NT (0.31 มก. วัน$^{-1}$) ส่วนหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น OP28 มี simple growth rate ต่ำที่สุด (0.10 มก. วัน$^{-1}$) ซึ่งต่ำกว่า NT และ UP19-4 3.0 และ 3.2 เท่าตามลำดับ

สำหรับ simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่ 5-12 วัน พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น UP มี simple growth rate สูงกว่า simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น NT และ OP อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,41}$= 33.67; P<0.01; ตารางภาคผนวกที่ 44; ตารางที่ 8) โดย simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น UP19-4 มีค่าสูงที่สุด(12.98 มก. วัน$^{-1}$) และไม่แตกต่างทางสถิติกับ UP19-3 (12.40 มก. วัน$^{-1}$) แต่มีค่าสูงกว่า simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น NT 1.6 เท่า ส่วนหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น OP28 มี simple growth rate ต่ำที่สุด (3.46 มก. วัน$^{-1}$) ซึ่งต่ำกว่า NT 2.3 เท่า

ในการเปรียบเทียบ relative growth rate พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้นมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์มี relative growth rate แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,41}$= 3.00; P < 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 46) โดย UP19-3 และ UP19-4 มี relative growth rate สูงที่สุด (0.275 และ 0.273 มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$ ตามลำดับ) สำหรับเปอร์เซ็นต์การตาย พบว่าหนอนกระทู้หอมที่

กัดกินใบของ OP18 มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุด คือ 15.79 เปอร์เซ็นต์ ส่วนหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของ UP19-4 มีเปอร์เซ็นต์การตายต่ำที่สุด คือ - 10.53 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8)

2. การทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)

ทำการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม โดยเลี้ยงหนอนกระทู้หอมแรกฟักรวมกันในใบข้อที่ 8 เมื่ออายุได้ 5 วัน จึงแยกทดลองถ้วยละ 1 ตัวโดยชั่งน้ำหนักหนอนที่อายุ 5 วัน เมื่อหนอนอายุได้ 10 วัน จึงชั่งน้ำหนักอีกครั้ง โดยในการทดลองนี้ ใบข้อที่ 8 ของต้น OP มีระดับ PPO activity สูงกว่า NT ประมาณ 3.4-4.5 เท่า ในขณะที่ใบของต้น UP มีระดับ PPO activity ต่ำกว่าต้น NT ประมาณ 2.1-2.9 เท่า ซึ่งระดับ PPO activity ของต้น UP และ NT แตกต่างจากระดับ PPO activity ของต้น OP อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,28}$= 48.29; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 7) จากการทดลองพบว่าพื้นที่ใบของมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,53}$= 82.44; P<0.01; ตารางภาคผนวกที่ 48) โดย UP19-3 มีพื้นที่ใบที่ถูกกัดกินสูงที่สุด (49.93 ซม.^{2}) ซึ่งสูงกว่า NT 1.6 เท่า รองลงมา คือ UP19-4 มีพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน (43.02ซม.^{2}) สูงกว่า NT 1.4 เท่า และ OP18 มีพื้นที่ใบที่ถูกกัดกินต่ำที่สุด (14.19 ซม.^{2}) ซึ่งต่ำกว่า NT 2.2 เท่า และต่ำกว่า UP19-3 และ UP19-4 3.5 และ 2.9 เท่า ตามลำดับ

Simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ ที่อายุ 0-5 วัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,53}$ = 157.30; P<0.01; ตารางภาคผนวกที่ 50) โดยหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น UP มี simple growth rate สูงกว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น NT และ OP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น UP19-3 (1.43 มก. วัน$^{-1}$) และ UP19-4 (0.98 มก. วัน$^{-1}$) มี simple growth rate สูงกว่า NT (0.80 มก. วัน$^{-1}$) 1.8 และ 1.3 เท่า ตามลำดับ ส่วนหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น OP28 และ OP18 มี simple growth rate ต่ำที่สุด (0.43-0.48 มก. วัน$^{-1}$) ซึ่งต่ำกว่า NT 2.0 และ 1.7 เท่า ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบ simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่ 5-10 วัน พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น UP มี simple growth rate สูงกว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น NT และ OP อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,53}$= 78.02; P<0.01; ตารางภาคผนวกที่ 52) โดยพบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น UP19-3 และ UP19-4 มี simple growth rate เท่ากับ 29.18 และ 30.43 มก. วัน$^{-1}$ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า NT 1.2 และ 1.3 เท่า ตามลำดับ ส่วนหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น OP18 มี simple growth rate ต่ำที่สุด (10.38 มก. วัน$^{-1}$) ซึ่งต่ำกว่า NT 2.3 เท่า และต่ำกว่า UP 2.8-2.9 เท่า สำหรับ relative growth rate พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้นมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์มี relative growth rate แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,52}$= 6.39; $P <$ 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 54) โดย OP18 มี relative growth rate ต่ำที่สุด (ตารางที่ 9; ภาพที่ 10)

ส่วนน้ำหนักดักแด้ของของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 56) แต่พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ UP19-4 มีแนวโน้มให้น้ำหนักดักแด้สูงที่สุด (81.94 มก.) และหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ OP18 มีแนวโน้มให้น้ำหนักดักแด้ต่ำที่สุด (68.34 มก.) ส่วนหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ NT มีน้ำหนักดักแด้ 71.76 มก. ในด้านระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้นมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์มีระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,23}$= 56.99; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 58) โดยหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ UP19-4 ใช้ระยะเวลาตั้งแต่ฟักจนถึงเข้าดักแด้สั้นที่สุด คือประมาณ 12 วัน ส่วนหนอนกระทู้หอมที่กินใบ OP18 ใช้ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้นานที่สุด คือ ประมาณ 15 วัน ซึ่งนานกว่า UP19-3, UP19-4, NT และ OP28 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์พบว่าอยู่ระหว่าง 0-2.22 เปอร์เซ็นต์

3. การทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)

ทำการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม โดยเลี้ยงหนอนกระทู้หอมแรกฟักรวมกันในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 จนอายุได้ 5 วัน จากนั้นแยกทดลองถ้วยละ 1 ตัวโดยชั่งน้ำหนักหนอนที่อายุ 5 วัน เมื่อหนอนอายุได้ 12 วัน จึงชั่งน้ำหนักอีกครั้ง จากการทดลองพบว่าพื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติทางสถิติ ($F_{4,21}$= 6.92; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 60) โดย UP19-3 มีพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน (31.08 ซม.^{2}) สูงกว่า UP19-4, NT และ OP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าสูงกว่า NT (21.53 ซม.^{2}) 1.4 เท่า ส่วนต้น OP มีพื้นที่ใบที่ถูกกัดกินต่ำที่สุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ NT

Simple growth rate ที่ 0-5 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้นมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,20}$= 25.14; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 62) โดย simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้นมะเขือเทศ UP19-3 (0.88 มก. วัน$^{-1}$) มีค่าสูงกว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น NT (0.36 มก. วัน$^{-1}$) และ OP (0.37 มก. วัน$^{-1}$) 2.4 เท่า และหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ UP19-4 มี simple growth rate สูงกว่าหนอนที่กัดกินใบของต้น NT และ OP 1.4 เท่า

Simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่ 5-12 วัน มีความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{4,20}$= 3.90; P<0.05; ตารางภาคผนวกที่ 64) โดยหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ UP19-3 มี simple growth rate (22.18 มก. วัน$^{-1}$) สูงกว่า NT (15.03 มก. วัน$^{-1}$) 1.5 เท่า และ สูงกว่า OP (11.82 และ 13.20 มก. วัน$^{-1}$ ใน OP18 และ OP28 ตามลำดับ) 1.7-1.9 เท่า แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ UP19-4 (17.14 มก. วัน$^{-1}$) เมื่อเปรียบเทียบ simple growth rate ระหว่างหนอนกระทู้หอมที่กัดกิน

ใบของต้น NT และ OP พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ สำหรับ relative growth rate พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้นมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์มี relative growth rate ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 66; ตารางที่ 12)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์และระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 68 และ 70) สำหรับเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์พบว่าอยู่ระหว่าง 5-15 เปอร์เซ็นต์ โดยหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ OP18 มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุด (ตารางที่ 10)

4. การทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

ทำการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม โดยเลี้ยงหนอนกระทู้หอมแรกฟักรวมกันในใบข้อที่ 4 และ 8 ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 เมื่ออายุได้ 5 วัน จึงชั่งน้ำหนัก แล้วนำมาเลี้ยงรวมกันในจานพลาสติก จานละ 3 ตัว เมื่อหนอนอายุได้ 11 วัน ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง จากการทดลองพบว่าในใบข้อที่ 4 พื้นที่ใบของมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 72)

Simple growth rate ที่ 0-5 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,45}$ = 11.44; P<0.01; ตารางภาคผนวกที่ 74) โดยหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น UP19-3 มี simple growth rate สูงที่สุด (1.12 มก. วัน$^{-1}$) รองลงมาคือ UP19-4 (0.87 มก. วัน$^{-1}$) ซึ่งสูงกว่า NT (0.53 มก. วัน$^{-1}$) 2.1 และ 1.6 เท่าตามลำดับ ส่วน simple growth rate ของหนอนที่กัดกินใบ OP ไม่แตกต่างทางสถิติกับ NT

Simple growth rate ที่ 5-10 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 76) แต่หนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น UP มีแนวโน้มให้ค่า simple growth rate สูงกว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้น NT และ OP สำหรับ relative growth rate พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของต้นมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์มี relative growth rate ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 78; ภาพที่ 11)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักดักแด้และระยะเวลาตั้งแต่ฟักจนเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 80 และ 82) หนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์มีเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 0-13.51 เปอร์เซ็นต์ โดยหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ OP28 มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุด (ตารางที่ 11)

ในใบข้อที่ 8 พบว่าพื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินในแต่ละจีโนไทป์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,38}$ = 4.25; P<0.01; ตารางภาคผนวกที่ 84) โดย UP19-3 มีพื้นที่ใบที่ถูกกัดกินสูงที่สุด (12.23 ซม.^{2}) รองลงมา คือ UP19-4 (10.28 ซม.^{2}) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ NT (8.94 ซม.^{2}) ส่วน OP18 มีพื้นที่ใบที่ถูกกัดกินต่ำที่สุด (4.73 ซม.^{2}) ซึ่งต่ำกว่า UP19-3 และ UP19-4 2.6 และ 2.2 เท่าตามลำดับ

ในด้านอัตราการเจริญเติบโต พบว่า simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ มีความแตกต่างกันทางสถิติทั้งที่อายุ 0-5 วัน ($F_{4,46}$=15.58; P < 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 86) และ 5-10 วัน ($F_{4,41}$=4.10; P < 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 88) โดยที่อายุ 0-5 วัน หนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ UP19-3 มี simple growth rate สูงที่สุด (0.99 มก. วัน$^{-1}$) ซึ่งสูงกว่าหนอนกะทู้หอมที่กัดกินใบ NT และ OP 1.6-2.2 เท่า ส่วนหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ OP18 มี simple growth rate ต่ำกว่า NT 1.4 เท่า

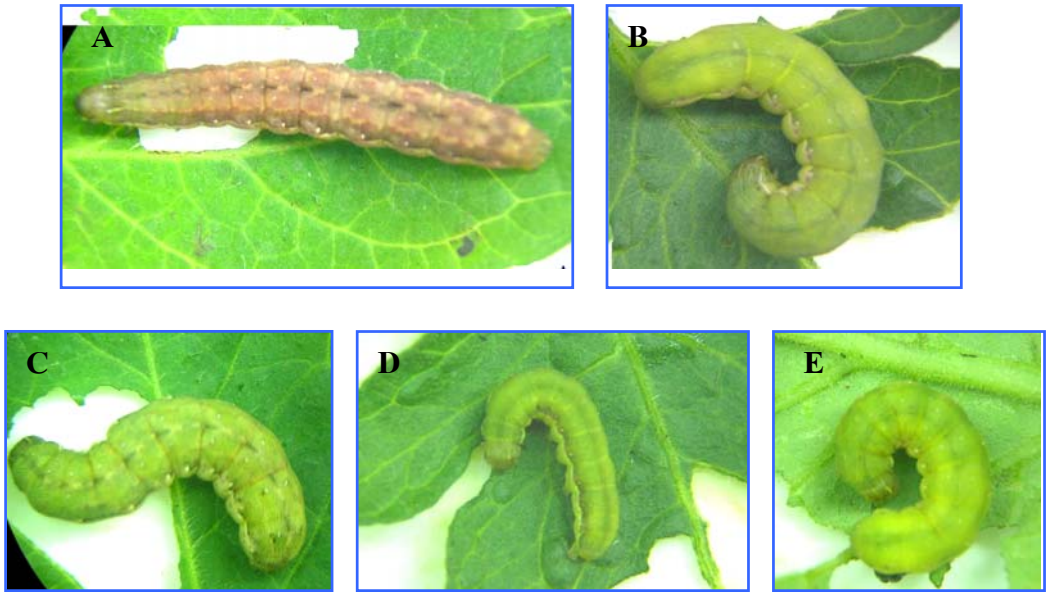
Simple growth rate ที่ 5-10 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบของ UP19-4 และ UP19-3 มีค่าสูงที่สุด (6.72 และ 6.01 มก. วัน$^{-1}$ ตามลำดับ) แม้ว่าจะไม่แตกต่างทางสถิติกับ NT (4.54 , มก. วัน$^{-1}$) แต่สูงกว่า OP 1.8-2.0 เท่า เมื่อพิจารณา relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 90; ตารางที่12; ภาพที่ 12)

ส่วนน้ำหนักดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 92) แต่หนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP19-4 มีแนวโน้มให้น้ำหนักดักแด้สูงที่สุด คือ 71.38 มก. และหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ OP28 มีแนวโน้มให้น้ำหนักดักแด้ต่ำที่สุด คือ 59.10 มก. ในด้านระยะเวลาตั้งแต่ฟักจนเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ OP18 มีระยะเวลาตั้งแต่ฟักจนเข้าดักแด้นานกว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศจีโนไทป์อื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,25}$= 6.53; P<0.01; ตารางภาคผนวกที่ 94) โดยใช้เวลาในการพัฒนาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ประมาณ 21 วัน ในขณะที่หนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศจีโนไทป์อื่นใช้เวลาในการพัฒนาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ประมาณ 17-18 วัน ส่วนเปอร์เซ็นต์การตาย พบว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบแต่ละจีโนไทป์มีเปอร์เซ็นต์การตาย 0-2.38 เปอร์เซ็นต์

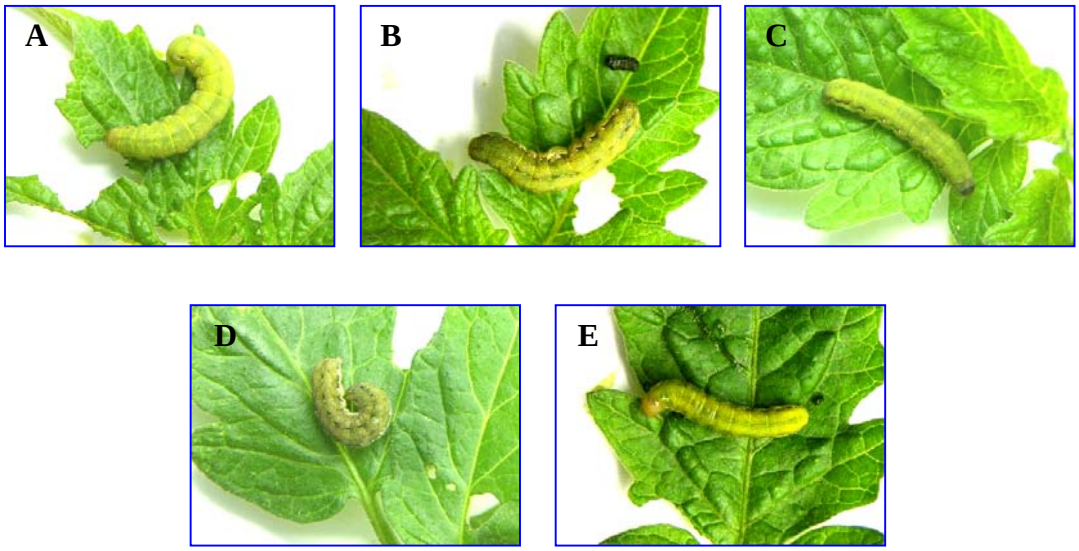
4.5.2 การประเมินความต้านทานของผลมะเขือเทศ UP, NT และ OP ต่อหนอนกระทู้หอม

ทำการทดสอบความต้านทานในผลของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 ต่อหนอนกระทู้หอม โดยให้หนอนกระทู้หอมกัดกินผลมะเขือเทศที่มีอายุประมาณ 4 สัปดาห์ ผลละ 3

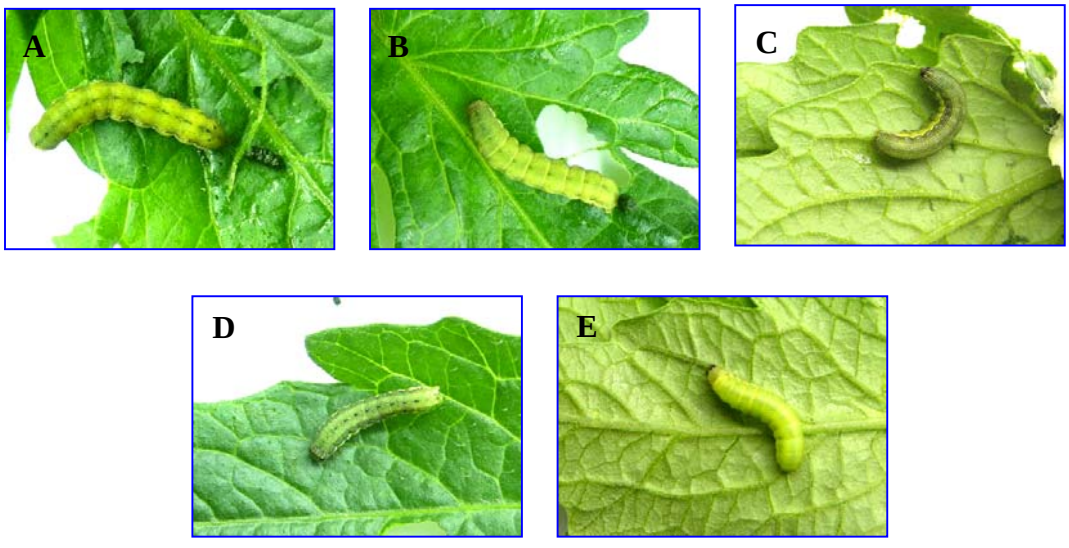
ตัว เป็นเวลา 3 วัน พบว่าผลมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4,27}$ = 6.99; P < 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 96) โดยพบว่าผลของมะเขือเทศ UP19-4 มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินสูงที่สุด (14.33 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งสูงกว่า NT (9.61 เปอร์เซ็นต์) 1.5 เท่า ส่วน OP28 มีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินต่ำที่สุด (7.88 เปอร์เซ็นต์) สำหรับ simple growth rate และ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินผลมะเขือเทศแต่ละจีโนทป์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางภาคผนวกที่ 98 และ 100; ตารางที่ 13)



ภาพที่ 10 หนอนกระทู้หอมอายุ 10 วัน ที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP19-3 (A), UP19-4 (B), NT (C), OP18 (D) และ OP28 (E) ในการทดสอบความต้านทานครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)



ภาพที่ 11 หนอนกระทู้หอมอายุ 10 วัน ที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-3 (A), UP19-4 (B), NT (C), OP18 (D) และ OP28 (E) ในการทดสอบความต้านทานครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน2548)



ภาพที่ 12 หนอนกระทู้หอมอายุ 10 วัน ที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP19-3 (A), UP19-4 (B), NT (C), OP18 (D) และ OP28 (E) ในการทดสอบความต้านทานครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน2548)

ตารางที่ 8 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน simple growth rate, relative growth rate และ เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 1 (23 ตุลาคม 2547)

จีโนไทป์	ระดับ PPO activity (µmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein)	พื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน (ซม.^{2})	SGR[1/] อายุ 0-5 วัน (มก. วัน$^{-1}$)	SGR[1/] อายุ 5-12 วัน (มก. วัน$^{-1}$)	RGR[2/] อายุ 5-12 วัน (มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$)	เปอร์เซ็นต์การตาย
UP19-3	1.596 ± 0.243 cd[3/]	21.172 ± 2.220 a	0.242 ± 0.013 b	12.400 ± 0.957 a	0.275 ± 0.002 a	10.53
UP19-4	0.825 ± 0.147 d	17.169 ± 1.930 b	0.329 ± 0.029 a	12.978 ± 1.200 a	0.273 ± 0.001 a	10.53
NT	2.234 ± 0.286 cb	16.551 ± 1.870 b	0.312 ± 0.018 a	7.987 ± 0.802 b	0.261 ± 0.006 b	0.00
OP18	6.323 ± 0.903 a	8.186 ± 0.784 c	0.196 ± 0.015 b	4.999 ± 0.633 c	0.264 ± 0.003 ab	15.79
OP28	3.388 ± 0.536 b	5.340 ± 1.040 c	0.104 ± 0.018 c	3.455 ± 0.654 c	0.265 ± 0.006 ab	2.63

[1/]SGR: simple growth rate

[2/]RGR: relative growth rate

[3/]ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 9 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน simple growth rate, relative growth rate น้ำหนักดักแด้ ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)

จีโนไทป์	ระดับ PPO activity (µmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein)	พื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน (ซม.^{2})	SGR[1/] อายุ 0-5 วัน (มก. วัน$^{-1}$)	SGR[1/] อายุ 5-10 วัน (มก. วัน$^{-1}$)	RGR[2/] อายุ 5-10 วัน (มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$)	น้ำหนักดักแด้ (มก.)	ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การตาย
UP19-3	1.506 ± 0.162 c[3/]	49.934 ± 2.274 a	1.433 ± 0.046 a	29.184 ± 1.210 a	0.362 ± 0.003 b	78.67 ± 3.57	12.583 ± 0.417 cd	0.00
UP19-4	1.061 ± 0.132 c	43.015 ± 2.278 b	0.984 ± 0.064 b	30.427 ± 1.115 a	0.374 ± 0.002 a	81.94 ± 2.77	12.333 ± 0.236 d	2.22
NT	3.106 ± 0.408 c	31.346 ± 2.126 c	0.799 ± 0.023 c	24.147 ± 1.243 b	0.374 ± 0.002 a	71.76 ± 3.11	13.067 ± 0.282 c	2.22
OP18	10.490 ± 1.500 b	14.188 ± 0.986 e	0.475 ± 0.015 d	10.382 ± 0.849 d	0.356 ± 0.007 b	68.34 ± 2.77	15.375 ± 0.157 a	0.00
OP28	14.059 ± 0.988 a	20.730 ± 1.501d	0.426 ± 0.019 d	15.939 ± 0.883 c	0.377 ± 0.002 a	73.16 ± 2.70	14.188 ± 0.132 b	0.00

[1/]SGR: simple growth rate

[2/]RGR: relative growth rate

[3/]ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 10 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน simple growth rate, relative growth rate น้ำหนักดักแด้ ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)

จีโนไทป์	พื้นที่ใบ ที่ถูกกัดกิน (ซม.^{2})	SGR[1/] อายุ 0-5 วัน (มก. วัน$^{-1}$)	SGR[1/] อายุ 5-10 วัน (มก. วัน$^{-1}$)	RGR[2/] อายุ 5-10 วัน (มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$)	น้ำหนักดักแด้ (มก.)	ระยะเวลาตั้งแต่ ฟักถึงเข้าดักแด้ (วัน)	เปอร์เซ็นต์ การตาย
UP19-3	31.076 ± 3.414 a[3/]	0.8825 ± 0.0452 a	22.180 ± 0.664 a	0.305 ± 0.002	66.40 ± 6.53	15.33 ± 0.53	0.00
UP19-4	17.110 ± 3.162 b	0.5292 ± 0.0611 b	17.141 ± 2.210 ab	0.309 ± 0.004	70.32 ± 7.08	16.55 ± 0.52	5.00
NT	21.525 ± 2.122 b	0.3648 ± 0.0627 c	15.025 ± 1.760 b	0.317 ± 0.001	72.49 ± 6.61	16.55 ± 0.19	5.26
OP18	13.085 ± 2.878 b	0.3680 ± 0.0476 c	11.822 ± 2.260 b	0.309 ± 0.003	65.94 ± 6.38	17.25 ± 0.53	15.00
OP28	13.728 ± 1.625 b	0.3653 ± 0.0456 c	13.200 ± 2.210 b	0.311 ± 0.006	71.59 ± 10.38	16.71 ± 0.41	0.00

[1/]SGR: simple growth rate

[2/]RGR: relative growth rate

[3/]ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 11 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน simple growth rate, relative growth rate น้ำหนักดักแด้ ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

จีโนไทป์	พื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน (ซม.^{2})	SGR[1/] อายุ 0-5 วัน (มก. วัน$^{-1}$)	SGR[1/] อายุ 5-10 วัน (มก. วัน$^{-1}$)	RGR[2/] อายุ 5-10 วัน (มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$)	น้ำหนักดักแด้ (มก.)	ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การตาย
UP19-3	10.734 ± 1.219[3/]	1.122 ± 0.088 a	8.070± 1.106	0.272 ± 0.002	61.94± 3.30	17.576 ± 0.587	5.14
UP19-4	9.677 ± 1.759	0.872 ± 0.099 b	6.370 ± 1.220	0.272 ± 0.002	69.14 ± 3.64	18.500 ± 0.607	0.00
NT	7.431 ± 1.216	0.534 ± 0.047 c	5.263 ± 0.816	0.263 ± 0.002	62.57 ± 2.79	18.713 ± 0.592	0.00
OP18	8.879 ± 1.289	0.543 ± 0.074 c	5.920 ± 1.680	0.272 ± 0.013	66.47± 4.17	18.833 ± 0.779	0.00
OP28	6.521 ± 1.183	0.692 ± 0.063 cb	4.909 ± 0.817	0.271 ± 0.004	61.52 ± 2.85	17.958 ± 0.750	13.51

[1/]SGR: simple growth rate

[2/]RGR: relative growth rate

[3/]ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 12 พื้นที่ใบที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน simple growth rate, relative growth rate น้ำหนักดักแด้ ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ และเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

จีโนไทป์	พื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน (ซม.^{2})	SGR[1/] อายุ 0-5 วัน (มก. วัน$^{-1}$)	SGR[1/] อายุ 5-10 วัน (มก. วัน$^{-1}$)	RGR[2/] อายุ 5-10 วัน (มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$)	น้ำหนักดักแด้ (มก.)	ระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ (วัน)	เปอร์เซ็นต์การตาย
UP19-3	12.228 ± 1.615 a[3/]	0.989 ± 0.080 a	6.013 ± 0.687 a	0.271 ± 0.029	64.02 ± 2.17	18.192 ± 0.891 b	2.38
UP19-4	10.278 ± 1.375 ab	0.758 ± 0.085 b	6.718 ± 1.260 a	0.275 ± 0.002	71.38 ± 5.72	17.830 ± 0.493 b	0.00
NT	8.939 ± 1.939 abc	0.622 ± 0.052 bc	4.544 ± 0.426 ab	0.263 ± 0.011	66.70 ± 2.53	17.476 ± 0.191 b	0.00
OP18	4.727 ± 1.014 c	0.447 ± 0.055 d	3.307 ± 0.726 b	0.271 ± 0.003	65.57 ± 7.18	21.209 ± 0.729 a	0.00
OP28	6.192 ± 0.991 bc	0.536 ± 0.054 cd	3.382 ± 0.341 b	0.273 ± 0.001	59.10 ± 3.00	18.571 ± 0.685 b	0.00

[1/]SGR: simple growth rate

[2/]RGR: relative growth rate

[3/]ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 13 **เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียในผลมะเขือเทศ จากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม simple growth rate และ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินผลมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์**

จีโนไทป์	ระดับ PPO activity (µmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein)	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสีย	SGR[1/] (มก. วัน$^{-1}$)	RGR[2/] (มก. มก.$^{-1}$ วัน$^{-1}$)
UP19-3	0.812 ± 0.371 c[3/]	10.303 ± 0.682 b	19.921 ± 2.010	0.413 ± 0.031
UP19-4	2.419 ± 1.286 bc	14.326 ± 1.470 a	16.920 ± 1.110	0.361 ± 0.030
NT	7.074 ± 1.124 b	9.609 ± 0.924 b	17.399 ± 1.000	0.387 ± 0.026
OP18	24.209 ± 6.185 a	9.262 ± 0.911 b	15.899 ± 1.570	0.378 ± 0.043
OP28	7.777 ± 4.695 b	7.880 ± 0.836 b	15.218 ± 1.440	0.347 ± 0.0340

[1/]SGR: simple growth rate

[2/]RGR: relative growth rate

[3/]ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

การคัดเลือกพืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมโดยวิธีพันธุวิศวกรรม

การคัดเลือกโดยวิธี PCR ทำให้ได้พืชที่มียีนที่ต้องการอย่างน้อย 1 อัลลีล จึงสามารถแยกต้นที่ไม่มียีนที่ต้องการทิ้งได้ เป็นการกำจัดการปลอมปนจากมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน จากการคัดเลือกต้นมะเขือเทศในชั่วหลังเมื่อสายพันธุ์มีความเป็นพันธุ์แท้สูง พบว่ามีต้นที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนปนมาน้อยมาก (1.43-3.93%) ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องใช้วิธีการนี้ในการคัดเลือกชั่วต่อ ๆ ไปอีก การคัดเลือกโดยวิธีนี้มีข้อดี คือ เป็นการคัดเลือกที่ระดับพันธุกรรมโดยตรง จึงไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างต้นที่มีพันธุกรรมเป็น heterozygote และ homozygote ซึ่งมีระดับการแสดงออกที่แตกต่างกัน สำหรับการทดลองนี้จำเป็นต้องใช้ต้นมะเขือเทศดัดแปลงพันธุกรรมที่มีระดับ PPO activity สูงขึ้นหรือต่ำลงกว่าพืช NT อย่างชัดเจน จึงไม่สามารถใช้วิธีการนี้เพียงวิธีการเดียวได้ จำเป็นต้องทำการคัดเลือกที่ระดับการแสดงออกร่วมด้วย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบวิธีการคัดเลือกที่ระดับการแสดงออก 2 วิธี คือ dot blot analysis (ตรวจสอบที่ระดับโปรตีน) และ PPO activity assay (ตรวจสอบที่ระดับ enzyme activity) พบว่า การคัดเลือกโดยวิธี dot blot analysis ในบางการทดลองได้พืชดัดแปลงพันธุกรรมน้อยมาก (19.5%) เนื่องจากเป็นการคัดเลือกที่มีคุณสมบัติเป็น semi-quantitative ใช้ตรวจหาปริมาณโปรตีนอย่างคร่าว ๆ ตัวอย่างที่คัดเลือกต้องมีระดับ PPO activity แตกต่างกันอย่างชัดเจนจึงจะสามารถแยกความแตกต่างระหว่าง NT และ OP ได้ แต่การคัดเลือกโดยวิธีนี้สะดวก และรวดเร็วกว่าวิธี PPO activity assay สามารถทำพร้อมกันได้ถึงครั้งละ 96 ตัวอย่าง ส่วนการคัดเลือกโดยวิธี PPO activity assay สามารถตรวจวัดระดับ PPO activity ในเชิงปริมาณได้ ให้ข้อมูลที่ถูกต้องแม่นยำที่สุด และสามารถตรวจสอบระดับการแสดงออกที่ผันแปรไปตามระยะการพัฒนาของพืชและสิ่งแวดล้อมได้ด้วย แต่วิธีนี้ใช้เวลาในการคัดเลือกนานและมีปริมาณงานมาก

ระดับการแสดงออกของ PPO ในใบและผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

เมื่อเปรียบเทียบระดับการแสดงออกในใบมะเขือเทศที่ทำการศึกษาทั้ง 3 ครั้ง (ตารางที่ 5) พบว่ามะเขือเทศจีโนไทป์ต่าง ๆ ที่คัดเลือกมาทำการทดลองมีระดับ PPO activity แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งที่ใบแก่ (ข้อที่ 4) และใบอ่อน (ข้อที่ 8) โดยต้น OP มีระดับ PPO activity สูงสุด

รองลงมา คือ ต้น NT ส่วน UP มีระดับ PPO activity ต่ำที่สุด ซึ่งเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้หอม

งานวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าระดับ PPO activity ขึ้นอยู่กับปัจจัยของสภาพแวดล้อมและระยะการพัฒนาเป็นสำคัญ (Steffens et al., 1994; Thipyapong et al., 1997; Thipyapong and Steffens, 1997) นอกจากนี้ Felton et al. (1991) ยังพบว่าพืชที่มีอายุมากขึ้นจะมีการแสดงออกของ PPO สูงกว่าพืชที่มีอายุน้อยกว่า จากผลการทดลองนี้พบว่า มะเขือเทศอายุ 14 สัปดาห์ (7 มีนาคม 2548) มีระดับ PPO activityสูงกว่ามะเขือเทศที่อายุ 6 สัปดาห์ (10 เมษายน 2549) เช่นกัน และเมื่อเปรียบเทียบระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 กับใบข้อที่ 6 ที่ปลูกในระยะเวลาเดียวกัน (10 เมษายน 2549) พบว่า โดยรวมแล้วระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 มีแนวโน้มสูงกว่าในใบข้อที่ 6 ซึ่งสอดคล้องกับ Thipyapong et al. (1997a) ที่พบการแสดงออกของ PPO ในระดับการลอกรหัสพันธุกรรมสูงที่สุดในใบและดอกอ่อน แต่การแสดงออกลดลงเมื่อเนื้อเยื่อมีอายุมากขึ้น

ระดับ PPO activity ในผลมะเขือเทศ OP18 มีค่าสูงกว่า NT และ UP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วน UP19-4 มีระดับ PPO activity ต่ำที่สุด ความแตกต่างของระดับ PPO activity อาจเป็นผลจากรูปแบบการแสดงออกของ PPO ซึ่งมีความแตกต่างกันในผลมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์ UP19-4 ซึ่งมีระดับ PPO activity ต่ำสุดมีการแสดงออกของ PPO เฉพาะใน epidermis และ seed coat ส่วน OP18 มีการแสดงออกของ PPO ในระดับสูงทั้งใน epidermis, placenta และ pericarp และในระดับสูงมากใน seed coat และ embryo การแสดงออกของ PPO ในผลมะเขือเทศขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนา โดยในผลอ่อนจะมีระดับ PPO activity สูงกว่าในผลแก่ (Felton et al., 1989) และมีการแสดงออกแตกต่างกันไปตามชนิดของเนื้อเยื่อ Thipyapong et al. (1997a) พบว่าผลอ่อน (อายุ 7 วัน) มีการแสดงออกของ PPO ใน ovule, embryo sac, epidermis และ idioblast แต่ในเมล็ดแก่พบการแสดงออกของ PPO ใน embryo และ endosperm

การกระตุ้นเพิ่มระดับของ PPO activity เมื่อได้รับความเสียหายจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม

จากการทดลองให้หนอนกระทู้หอมกัดกินใบข้อที่ 4 เป็นเวลา 2 วัน แล้ววัดระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 และ ข้อที่ 6 ทั้งก่อนและหลังถูกหนอนกระทู้หอมเข้าทำลาย เพื่อศึกษาการกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity ของเนื้อเยื่อพืชทั้งในบริเวณที่เกิดบาดแผล (local induction) และทั่วทั้งลำต้น (systemic induction) พบการกระตุ้นเพิ่มระดับในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศทุกจีโนไทป์ (1.7-21.3 เท่า) ซึ่งทำให้ระดับ PPO activity ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP หลังกระตุ้นเพิ่มระดับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระดับ PPO activity หลังให้หนอนกระทู้หอม

กัดกินพบว่าระดับ PPO activity ในมะเขือเทศ NT มีแนวโน้มสูงกว่ามะเขือเทศ OP ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในต้นมะเขือเทศมีกลไกในการยับยั้งการสร้าง PPO ไม่ให้สูงเกินไป เพราะในพืช OP ในสภาพปกติมีระดับ PPO activity สูงอยู่แล้ว เมื่อได้รับการกระตุ้นจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม ทำให้มีการสร้าง PPO เพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มขึ้นถึงในระดับที่มี PPO สูงเกินไป อาจมีการส่งสัญญาณยับยั้งการทำงานของยีน PPO Li and Steffens (2002) พบปรากฏการณ์ sense suppression นี้ เมื่อถ่ายยีน PPO ของมันฝรั่งไปยังมะเขือเทศเพื่อสร้างมะเขือเทศ OP โดยไม่พบต้น OP ที่มี PPO activity สูงกว่า NT แสดงว่ามะเขือเทศมะระบบควบคุมการแสดงออกของ PPO ที่เข้มงวด

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า PPO ในมะเขือเทศนอกจากจะมีการสร้างขึ้นตลอดเวลา (constitutive defense) แล้ว PPO ยังถูกชักนำให้สร้างเพิ่มขึ้นได้เมื่อถูกหนอนกระทู้หอมเข้าทำลาย (induced defense) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับหลายการทดลองที่ผ่านมาโดย Rickman et al. (2003) พบว่าเมื่อให้หนอนกระทู้หอมกัดกินใบมะเขือเทศ เป็นเวลา 3 วัน ใบมะเขือเทศที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินมีระดับ PPO สูงกว่าใบที่ไม่ถูกกัดกิน นอกจากนี้ Stout et al. (1994; 1998b) ยังพบว่ามะเขือเทศต้นที่ถูกทำลายโดยหนอนกระทู้ข้าวโพดจะมีปริมาณ PPO สูงกว่าต้นที่ไม่ถูกทำลาย ซึ่งการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง PPO ในระดับที่สูงขึ้นนี้อาจเป็นผลมาจากพืชสร้างสัญญาณจากบริเวณที่เกิดบาดแผล แล้วเกิดการกระตุ้นเอนไซม์ lipoxygenase (LOX) ซึ่งเร่งปฏิกิริยา peroxidation ของ membrane lipid เกิดการสร้าง linolenic acid เข้าสู่ octadecanoid pathway และนำไปสู่การสังเคราะห์โมเลกุลสัญญาณ ได้แก่ methyl jasmonate และ reactive oxygen species (ROS) ขึ้น ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้จะไปกระตุ้นให้ยีนต้านทาน (defense gene) ทำงาน เกิดการสร้างสารหรือโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัวรวมทั้ง PPO เพิ่มขึ้น (Orozco-Cărdenas et al., 2001; Fidantsef et al., 1999 and Koussevitzky et al., 2004; Sommer et al., 1994) ซึ่งสัญญาณที่พืชได้รับนี้อาจสร้างขึ้นโดยพืชเอง หรือมาจากแมลง เช่น จากน้ำลายของแมลงที่มี hydrolytic enzyme (Ryan et al., 1985 และ Grisham et al., 1987; อ้างโดย Stout et al., 1994) สำหรับการทดลองนี้ไม่พบการกระตุ้นเพิ่มระดับของ PPO ในใบข้อที่ 6 แสดงให้เห็นว่าการกัดกินของหนอนกระทู้หอมนี้ชักนำให้เกิดกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity ที่เฉพาะบริเวณเนื้อเยื่อที่เกิดบาดแผล (local induction) เท่านั้น ไม่ชักนำให้เกิดการกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity ทั่วทั้งลำต้น (systemic induction) การกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity เมื่อถูกแมลงเข้าทำลายพบในพืชหลายชนิด แต่ละชนิดมีการแสดงออกที่แตกต่างกัน เช่นในมันฝรั่งเมื่อใบข้อที่ 8-9 ถูกตัวอ่อนวัย 3 ของ Colorado potato beetle กัดกิน พบว่าเกิดการกระตุ้นเพิ่มระดับของ PPO activity เฉพาะในใบอ่อนข้อ 1-4 (systemic induction) แต่ไม่พบในใบข้อที่ 8-9 (local induction) ส่วนใน hybrid poplar เมื่อใบข้อที่ 5-9 ถูกหนอนผีเสื้อ forest tent (*M. disstria*) กัดกิน พบว่าเกิดการกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity ในใบอ่อนข้อที่ 1-4 (systemic induction) ในระดับที่สูง

กว่า การกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 5-9 (local induction) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากใบอ่อนมีการตอบสนองต่อความเสียหายได้ดีกว่า และ/หรือการเคลื่อนที่ของสัญญาณขึ้นสู่ยอด (Constabel et al., 2000) สำหรับการทดลองนี้การไม่พบ systemic induction ในใบแก่ อาจเป็นผลจากสัญญาณไม่สามารถเคลื่อนที่จากยอดสู่โคนต้น และ/หรือใบแก่สูญเสียความสามารถในการตอบสนองต่อสัญญาณ จึงควรทำการทดลองเพิ่มเติมในอนาคต โดยให้หนอนกัดกินใบแก่ของมะเขือเทศ และตรวจสอบ systemic induction ในใบอ่อน

นอกจากนี้ระดับ PPO activity ในต้นมะเขือเทศยังถูกกระตุ้นให้สร้างเพิ่มขึ้นได้จากปัจจัยอื่นหรือจากสิ่งไม่มีชีวิต (abiotic) โดย Stout et al. (1994) พบว่าการทำให้เกิดบาดแผลกับใบมะเขือเทศอายุ 30-40 วัน สามารถชักนำให้เกิดการสร้าง PPO เพิ่มขึ้นได้ นอกจากนี้ Constabel et al. (1995) ยังพบว่าการใช้ methyl jasmonate และการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง systemin โดยการทำให้เกิดบาดแผลกับมะเขือเทศอายุ 2 สัปดาห์ สามารถชักนำให้มีการกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity ได้

การเพิ่มระดับ PPO activity ในใบมะเขือเทศเพิ่มความต้านทานต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม

จากการทดสอบระดับความเสียหายในใบพืช NT, UP และ OP พบว่าส่วนใหญ่มะเขือเทศ OP ซึ่งมีระดับ PPO activity สูงสุดมีพื้นที่ใบที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอมเข้าทำลายต่ำกว่ามะเขือเทศ UP ซึ่งมีระดับ PPO activity ต่ำที่สุด และหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ OP มี simple growth rate ต่ำกว่าหนอนที่กัดกินใบ UP ได้มากถึง 4.1 เท่าและในบางการทดลองยังพบความแตกต่างระหว่างมะเขือเทศ OP และ NT ซึ่งมีระดับ PPO activity ปานกลางด้วย ส่วน relative growth rate ในการทดสอบส่วนใหญ่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างจีโนไทป์ นอกจากนี้เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ OP ยังมีแนวโน้มสูงกว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้าย และระหว่างระดับ PPO activity กับพื้นที่ใบที่ถูกกัดกิน ซึ่งพบว่าทั้ง simple growth rate และพื้นที่ใบที่ถูกกัดกินมีความสัมพันธ์ทางลบกับระดับ PPO activity คือเมื่อหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกินใบมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity สูง พบว่าหนอนมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ และในต้นมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity สูงพบความเสียหายของพื้นที่ใบจากการกัดกินของหนอนเจาะสมอฝ้ายต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าในบางการทดสอบ หนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ OP มีน้ำหนักดักแด้ต่ำกว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP และใช้ระยะเวลาในการพัฒนาตั้งแต่แรกฟักถึงเข้าดักแด้นานกว่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบ

มะเขือเทศ UP ผลของ PPO ต่อหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 และ 8 เป็นไปในทิศทางเดียวกัน แม้ว่าระดับความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์จะแตกต่างกัน ความแตกต่างนี้อาจเป็นผลจากความแตกต่างของระดับการแสดงออกของ PPO หรือยีนต้านทานอื่นในใบ 2 ข้อนี้ หรืออาจเกิดจากความแตกต่างของปัจจัยอื่น เช่น คุณภาพ หรือ ปริมาณโปรตีน

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ PPO activity กับ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายพบว่า ค่าความน่าเชื่อถือ (r) มีค่าค่อนข้างต่ำเนื่องจากพบว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายบางตัวที่กัดกินใบมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity สูงยังคงมี simple growth rate สูง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอาจได้รับผลกระทบจากปัจจัยอื่นด้วย ไม่ใช่ผลจาก PPO เพียงปัจจัยเดียว ปัจจัยนี้อาจเนื่องจากในการทดลองนี้ประสบปัญหาหนอนเจาะสมอฝ้ายไม่ระบาด จึงต้องเดินทางไปเก็บหนอนจากแปลงฝ้ายที่จังหวัดลพบุรีมาเลี้ยงร่วมกับหนอนเจาะสมอฝ้ายที่เก็บมาจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งแปลงฝ้ายที่จังหวัดลพบุรีเป็นแหล่งที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืช ดังนั้นหนอนเจาะสมอฝ้ายอาจมีความต้านทานสูงอยู่แล้ว นอกจากนี้หนอนเจาะสมอฝ้ายยังมีพืชอาหารที่หลากหลายแสดงให้เห็นว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายอาจสามารถปรับตัวให้ต้านทานต่อสารที่พืชสร้างขึ้นเพื่อป้องกันตัวได้ดี ซึ่งอาจรวมถึงการมีกลไกในการปรับตัวให้สามารถต้านทานต่อ PPO ได้ด้วย

เมื่อเปรียบเทียบความต้านทานระหว่างหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอม พบว่าหนอนเจาะสมอฝ้ายได้รับผลกระทบจาก PPO น้อยกว่าหนอนกระทู้หอม ทั้งนี้อาจเนื่องจาก 1)เลี้ยงหนอนเจาะสมอฝ้ายในอาหารเทียมเป็นเวลา 5 วันก่อนให้หนอนกัดกินใบมะเขือเทศ ดังนั้นหนอนเจาะสมอฝ้ายจึงไม่ได้รับผลกระทบจาก PPO มากเท่าหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศตั้งแต่แรกฟัก 2) อาจเนื่องมาจากหนอนเจาะสมอฝ้ายมีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงกว่าหนอนกระทู้หอม จากการทดสอบหลายครั้งพบว่าลักษณะภายนอก(ลักษณะทางฟีโนไทป์) ของหนอนเจาะสมอฝ้ายมีสีแตกต่างกันมากกว่าหนอนกระทู้หอม ซึ่งอาจทำให้มีการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมที่ต่างกัน นอกจากนี้หนอนที่มาจากพ่อ-แม่ต่างกันยังมีความต้านทานที่แตกต่างกันด้วย ซึ่งผีเสื้อของหนอนเจาะสมอฝ้ายไข่เป็นฟองเดี่ยว จึงไม่สามารถทราบได้ว่าไข่ฟองใดมาจากพ่อ-แม่เดียวกัน ทำให้ไม่สามารถเลือกใช้หนอนที่มาจากพ่อแม่เดียวมาใช้ในการทดลองได้ ดังนั้นหากหนอนที่มีความต้านทานมากมากัดกินใบมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity สูง อาจทำให้ไม่ได้รับผลกระทบจาก PPO ในขณะที่ผีเสื้อหนอนกระทู้หอมไข่เป็นกลุ่มจึงสามารถใช้หนอนจากกลุ่มเดียวกัน (พ่อ-แม่เดียวกัน) มาใช้ในการทดลองได้ โดยกระจายหนอนจากกลุ่มเดียวกันให้กินใบมะเขือเทศทุกจีโนไทป์ ดังนั้นหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศแต่ละจีโนไทป์จึงมีระดับความต้านทานเท่ากัน ทำให้เห็นผลกระทบของระดับ PPO activity ต่อการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้หอมได้ชัดเจนกว่า

หนอนเจาะสมอฝ้าย และจากการที่หนอนเจาะสมอฝ้ายมีพืชอาหารที่หลากหลายกว่าหนอนกระทู้หอมแสดงให้เห็นว่า หนอนเจาะสมอฝ้ายอาจมีความสามารถในการปรับตัวได้ดีกว่าหนอนกระทู้หอม

จากการประเมินความต้านทานของผลมะเขือเทศต่อหนอนกระทู้หอม เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินร่วมกับระดับ PPO activity โดยรวมแล้ว พบว่าระดับ PPO activity ในผลมะเขือเทศ UP ต่ำกว่า NT และ OP จึงทำให้ผลของมะเขือเทศ UP19-4 มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินสูงที่สุด และ OP28 มีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักจากการถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินต่ำที่สุด แต่ simple growth rate และ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินผลมะเขือเทศแต่ละจีโนทป์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เพราะแต่ละเนื้อเยื่อในผลมะเขือเทศมีระดับ PPO activity ไม่เท่ากันดังที่กล่าวมาแล้วในการศึกษาระดับการแสดงออกของ PPO ในผลของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ซึ่งโดยรวมแล้วมีการแสดงออกสูงใน epidermis และ seed coat แต่หนอนกระทู้หอมจะเจาะเข้าไปกัดกินบริเวณ placenta และ pericarp ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการแสดงออก ของ PPO ต่ำใน UP และถึงแม้ว่า ในผลของมะเขือเทศ OP จะมีระดับ PPO สูงกว่าในบริเวณ placenta และ pericarp แต่เนื้อเยื่อบริเวณนี้ไม่ได้มีระดับ PPO สูงมากและมีน้ำเป็นส่วนมากจึงอาจทำให้หนอนกระทู้หอมได้รับผลกระทบจาก PPO น้อยกว่าในใบมะเขือเทศ

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Thipyapong et al. (2004) ซึ่งพบว่าหนอนกระทู้ผัก (*S. litura*) ที่กัดกินใบมะเขือเทศดัดแปลงพันธุกรรมที่มีระดับ PPO สูง มีอัตราการเจริญเติบโต และเปอร์เซ็นต์การตายสูงกว่าหนอนกระทู้ผักที่กัดกินใบมะเขือเทศที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม และมะเขือเทศที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมให้มีระดับ PPO ต่ำลง และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Wang and Constabel (2004) ที่พบว่าหนอนผีเสื้อ forest tent ที่กัดกินใบของต้น poplar ที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมให้มีระดับ PPO สูงขึ้นมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงและมีอัตราการตายสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับพืชที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม

ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นเด่นชัดว่า PPO มีบทบาทสำคัญในการต้านทานแมลงหลายชนิด การที่หนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอมมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่อกัดกินใบมะเขือเทศที่มีระดับ PPO activity สูง อาจเป็นผลมาจากหนอนกัดกินทำให้เซลล์ของเนื้อเยื่อใบมะเขือเทศแตก จึงเป็นผลให้สารฟีนอลลิกที่เก็บอยู่ในแวคิวโอลถูกปลดปล่อยออกมาทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอย่างรวดเร็วจากการเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ PPO ที่ถูกปลดปล่อยจากคลอโรพลาสต์ เกิดเป็นควิโนนขึ้น กลไกการต้านทานอาจเกิดจาก ควิโนน cross link กับกรดอะมิโน โดยเฉพาะที่กลุ่ม sulfhydryl, amide และ amine เป็นผลให้คุณค่าทางอาหารของโปรตีนลดลง ประกอบกับ pH ในกระเพาะของแมลงในกลุ่ม lepidopteran นี้มีความเป็นด่าง (ประมาณ 7.5-10) ซึ่งเป็น

สภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยานี้ ทำให้กรดอะมิโน (His, Cys, Met, Trp, Lys) และโปรตีนที่เป็นประโยชน์ต่อแมลงเกิดการรวมตัวกับ ควิโนนโดยพันธะโควาเลนท์ได้ดีขึ้น เป็นผลให้คุณค่าทางอาหารและความน่ากินลดลง ระบบการย่อยและการดูดซึมสารอาหารของแมลงไม่สามารถนำสารอาหารเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ควิโนนที่เกิดขึ้นยังสามารถจับตัวกับดีเอ็นเอ และทำให้ดีเอ็นเสียหายได้ ส่วนควิโนนที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกรดจะเกิดปฏิกิริยาทุติยภูมิได้ ROS ซึ่งสร้างความเสียหายให้เซลล์พืชหรือแมลงได้โดยตรง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอ lipid oxidation และ protein oxidation/ fragmentation (Orozco-Cărdenas et al., 2001; Felton et al., 1989; Felton et al., 1991 and Koussevitzky et al., 2004) นอกจากนี้ ROS เช่น H_2O_2 ยังเป็นสัญญาณในการกระตุ้นเพิ่มระดับ defense protein หลายชนิด เช่น proteinase inhibitor และ PPO ซึ่งกลไกการต้านทานเหล่านี้กลไกใดกลไกหนึ่ง หรือหลายกลไกอาจทำให้อัตราการเจริญเติบโตและการพัฒนาของแมลงลดลง การผสมพันธุ์และการวางไข่ลดลง ทำให้ประชากรแมลงในรุ่นต่อไปลดลงได้ ซึ่งควรมีการประเมินผลของ PPO ต่อการผสมพันธุ์และการวางไข่ของแมลงในอนาคต ดังนั้นกลไกการต้านทานแมลงของ PPO จึงจัดได้ว่าเป็นกลไกการต้านทานแมลงแบบ antibiosis เนื่องจาก PPO ทำให้แมลงได้รับสารอาหารที่ไม่สมดุล มีผลกระทบต่อลักษณะทางกายภาพของหนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้าย สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ ทำให้ขนาดและน้ำหนักของหนอนลดลง และทำให้ช่วงระยะเวลาที่เป็นตัวอ่อนยาวขึ้น นอกจาก PPO จะมีบทบาทในการต้านทานแมลงปากกัดได้หลากหลายชนิดแล้ว ยังมีบทบาทในการต้านทานโรคใบจุดที่เกิดจาก *P. syringae* ได้ด้วย (Thipyapong et al., 2004) ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มระดับ PPO activity จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

PPO มีบทบาทต่อการต้านทานแมลงอย่างเด่นชัดในใบมะเขือเทศ โดยระดับ PPO activity มีความสัมพันธ์ในทางลบกับความเสียหายของพื้นที่ใบและ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้าย มะเขือเทศ OP ซึ่งมีระดับ PPO activity สูงที่สุดมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของหนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้หอมสูงกว่ามะเขือเทศ NT และ UP โดยความต้านทานอาจเกิดจากการสร้างเอนไซม์ PPO ขึ้นตลอดเวลา (constitutive defense) และ/หรือการกระตุ้นสร้างเพิ่มขึ้นเมื่อถูกแมลงเข้าทำลาย (induced defense) โดยการทดลองนี้พบการกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity ในบริเวณเนื้อเยื่อที่เกิดบาดแผล (local induction) เท่านั้น ไม่พบในใบที่แก่กว่า (systemic induction)

กลไกการต้านทานแมลงของ PPO อาจเกิดจากการลดคุณค่าทางอาหาร และขัดขวางระบบการย่อยและการดูดซึมสารอาหารของแมลง ทำให้ไม่สามารถนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ ROS จากปฏิกิริยาทุติยภูมิของควิโนนอาจสร้างความเสียหายให้เซลล์พืชหรือแมลงได้โดยตรง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของดีเอ็นเอ เกิด lipid oxidation และ protein oxidation/ fragmentation (Cãrdenas et al., 2001; Felton et al., 1989; Felton et al., 1991 and Koussevitzky et al., 2004) นอกจากนี้ ROS เช่น H_2O_2 ยังเป็นสัญญาณในการกระตุ้นเพิ่มระดับ defense protein หลายชนิด เช่น proteinase inhibitor และ PPO ซึ่งกลไกการต้านทานเหล่านี้กลไกใดกลไกหนึ่ง หรือหลายกลไกอาจทำให้อัตราการเจริญเติบโตและการพัฒนาของแมลงลดลง การผสมพันธุ์และการวางไข่ลดลง ทำให้ประชากรแมลงในรุ่นต่อไปลดลงได้ ดังนั้นกลไกการต้านทานแมลงของ PPO จึงจัดเป็นการต้านทานแมลงแบบ antibiosis

ความรู้ที่ได้นี้อาจนำมาใช้ปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศหรือพืชชนิดอื่นให้มีความต้านทานต่อแมลงด้วยวิธีพันธุวิศวกรรม หรือวิธีดั้งเดิม โดยใช้ระดับ PPO activity เป็นตัวคัดเลือก เป็นการผลิตพืชต้านทานแมลงเพื่อลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ซึ่งนอกจากจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้ใช้และผู้บริโภคแล้ว ยังก่อให้เกิดการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อมด้วย

รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

กระทรวงการคลัง. โรงงานยาสูบ. (2543). กำจัดแมลงโดยวิธีธรรมชาติ [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.thaitobacco.or.th/บทความทั่วไป

กองกีฏและสัตววิทยา. (2542). แมลงศัตรูผัก. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 97 หน้า.

เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์. (2538). มะเขือเทศ. นนทบุรี: ศูนย์ผลิตตำราเกษตรเพื่อชนบท. 63 หน้า.

นงพร กิจบำรุง, ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, จักรพงศ์ พิริยพล, อุทัย เกตุนุติ และ สมรวย รุ่งรัตนาวี. (2543). แมลงศัตรูมะเขือเทศและการป้องกันกำจัด. ในการประชุมแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 12.

เมฆ จันทน์ประยูร. (2548). ผักสวนครัว ก้าวสำคัญแห่การพึ่งตนเอง. พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มิติใหม่. 136 หน้า.

ศุภลักษณ์ ฮอกะวัต. (2536). โรคผักตระกูลพริกและมะเขือเทศ. กรุงเทพฯ: คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 120-122.

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ. (2526). แมลงศัตรูพืชทางการเกษตรของประเทศไทย. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอ-เดียนสโตร์. 436 หน้า.

อร่าม คุ้มทรัพย์. (2543). เกษตรธรรมชาติแบบไทยไทย: พืชผัก. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์อักษรไทย (น.ส.พ. ฟ้าเมืองไทย). 144 หน้า.

Ayedh, A.H.Y. (1997). Antixenosis: The effect of plant resistance on insect behavior. [On-line]. Available: http://www.colostate.edu/Depts/entomology/courses/en507/ papers_1997

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem**. 72: 248-254.

Ciba plant protection vegetables. (1996). Tomatoes. Switzerland: Field and Protected Crops. 63 p.

Cipollini, D.F. and Redman, A.M. (1999). Age-dependent effects of jasmonic acid treatment and wind exposure on foliar oxidase activity and insect resistance in tomato. **J. Chem. Ecol.** 25: 271-281.

Constabel, C.P., Bergey, D.R. and Ryan, C.A. (1995). Systemin activates synthesis of wound-inducible tomato leaf polyphenol oxidase via the octadecanoid defense signaling pathway. **Proc. Natl. Acad. Sci.** USA. 92: 407-411.

Constabel, C.P., Yip, L., Patton, J.J., and Christopher, M.E. (2000). Polyphenol oxidase from hybrid poplar cloning and expression in response to wounding and herbivory. **Plant Physio.** 124: 285-295.

Duffey, S.S. and Felton, G. (1991). Enzymatic antinutritive defenses of the tomato plant against insects. In. P.A. Hedin (ed.). Naturally Occurring Pest Bioregulators**.** (pp 166-197). Washington, DC: American Chemical Society.

Felton, G.W., Donato K.K., Broadway, R.M. and Duffey, S.S. (1991). Impact of oxidized plant phenolics on the nutritional quality of dietary protein to a nuctuid herbivore, *Spodotera exigua*. **J. Insect Physiol.** 38: 277-285.

Felton, G.W., Donato, K., Del Vecchio, R.J. and Duffey, S.S. (1989). Activation of plant foliar oxidases by insect feeding reduces nutritive quality of foliage for noctuid herbivores. **J. Chem. Ecol.** 15: 2667-2694.

Felton, G.W., Workman, J. and Duffey, S.S. (1992). Avoidance of antinutritive plant defense: Role of midgut pH in Colorado potato beetle. **J. Chem. Ecol.** 18: 571-583.

Fidantsef, A.L., Stout, M.J., Thaler, J.S. and Duffey, S.S. and Bostock, R.M. (1999). Signal interactions in pathogen and insect attack: expression of lipoxygenase, proteinase inhibitor II, and pathogenesis-related protein P4 in the tomato, *Lycopersicon esculentum*. **Physiol. Mol. Plant. Pathol.** 54: 97-114.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2006). Agricutural data. (FAOSTAT) [On-line]. Available: http:// faostat.fao.org/faostat/collection?subset= Agriculture

Gatehouse, J.A. (2002). Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. **New Phytol** 156: 145-169.

Grisham , M.P., Sterling, W.L., Powell, R.D., and Morgan, W. (1978). Characterization of the induction of stress ethylene in cotton caused by the cotton fleahopper (Hemiptera: Miridae) and its microorganisms. Ann. Entomol. Soc. Am. 80: 411-416. Quoted in Stout, M.J., Workman, J. and Duffey, S.S. (1994). Differential induction of tomato foliar proteins by arthropod herbivores. **J. Chem. Ecol.** 20: 2575-2594.

Haruta, M., Pedersen, J.A. and Constabel, C.P. (2001). Polyphenol oxidase and herbivore defense in trembling aspen (*Populus tremuloides*): cDNA cloning, expression, and potential substrates. **Physiol. Plant.** 112: 552-558.

Jones, J. B. (1999). Tomato plant culture: in the field, green house and home garden**.** Florida, USA: CRC Press LLC. 199 pp.

Kisha, J.S.A. (1981). Observations on the trapping of the whitefly *Bemisia tabaci* by glandular hairs on tomato leaves. **Ann. Appl. Biol**. 97: 123-127.

Koussevitzky, S., Ne'eman, E. and Harel, E. (2004). Import of polyphenol oxidase by chloroplasts is enhanced by methyl jasmonate. **Planta** 219: 412-419.

Li, L. and Steffens, J.C. (2002). Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. **Planta** 2:239-247.

Mayer, A.M. and Harel, E. (1979). Polyphenol oxidases in plants. **Phytochemis.** 18: 193-215.

Meiyalaghan, S., Davidson, M.M., Takla, M.G.F., Wratten, S.D. and Conner, A.J. (2004). Effectiveness of four *cry* genes in transgenic potato for conferring resistance to potato tuber moth. In 4th International Crop Science Congress. Brisbane, Australia.

Moore, B.M. and Flurkey, W.H. (1990). Sodium dodecylsulfate activation of a plant polyphenol oxidase**. J. Biol. Chem.** 265: 4982-4988.

Newman, S.M., Eannetta, N.T., Yu, H., Prince, J.P., Carmen de Vicente, M., Tanksley, S.D. and Steffens, J.C. (1993). Organisation of the tomato polyphenol oxidase gene family. **Plant Mol. Biol.** 21: 1035-1051.

Orozco-Cárdenas, M.L., Narváez-Vásquez, J. and Ryan, C.A. (2001). Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. **The Plant Cell** 13: 179-191.

Panda, N. and Khush, G.S. (1995). Host plant resistance to insects. The United Kingdom: Biddles Ltd. 431 pp.

Rickman, E., Edwards, L. and Wise, E. (2003). The effects of induced defenses of the tomato plant on the performance and preference of the generalist beet armyworm and the specialist tobacco hornworm. **Plant-Animal Interact.** 3: 1-7.

Ryan, C.A., Bishop, P.D., Graham, J.S., Broadway, R.M. and Duffey, S.S. (1985). Plant and fungal cell wall fragments activate the expression of protinase inhibitor genes for plant defense. **J. Chem. Ecol.** 12: 1025-1036. Quoted in Stout, M.J., Workman, J. and Duffey, S.S. (1994). Differential induction of tomato foliar proteins by arthropod herbivores. **J. Chem. Ecol.** 20: 2575-2594.

Ryan, J., Gregory, P. and Tingey, W. (1983). Glandular trichomes: enzymic browning assays for improve selection of resistance to the green peach aphid. **Amer. Pot. J**. 60: 861-868.

Simmons, A.T., Gurr, G.M., McGrath, D., Martin, P.M. and Nicol, H.I. (2004). Entrapment of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on grandular trichomes of *Lycopersicon* species. **Aust. J. of Enthomol.** 43: 196-200.

Sommer, A., Ne'eman, E., Steffens, J.C., Mayer, A.M. and Harel, E. (1994). Import, targeting, and processing of a plant polyphenol oxidase. **Plant Physiol.** 105: 1301-1311.

Steffens, J.C. Harel, E. and Hunt, M.D. (1994). Polyphenol oxidase. In B. Ellio, G.W. Kuroki, H.A. Stafford (eds.). Genetic Engineering of Plant Secondary Metabolism. Plenum Press New York: pp. 275-312.

Steffens, J.C. and Walters, D. (1991). Biochemical aspects of glandular trichome - mediated insect resistance in the Solanaceae: Naturally Occurring Pest Bioregulators In P.A. Hedin (ed.). American Chemical Society. Washington, DC. : pp.136 - 149.

Stoner, A., Frank, J.A. and Gentile, A.G. (1968). The relationship of glandular hairs on tomatoes to spider mite resistance. **Amer. Soc. Hort. Sci**. 93: 532-538.

Stout, M.J., Workman, J. and Duffey, S.S. (1994). Differential induction of tomato foliar proteins by arthropod herbivores. **J. Chem. Ecol.** 20: 2575-2594.

Stout, M.J., Workman, K.V., Bostock, R.M. and Duffey, S.S. (1998a). Stimulation and attenuation of induced resistance by elicitors and inhibitors of chemical induction in tomato (*Lycopersicon esculentum*) foliage. **Entomol. Exp. Appl.** 86: 267-279.

Stout, M.J., Workman, K.V., Bostock, R.M. and Duffey, S.S. (1998b). Specificity of induced resistance in the tomato, *Lycopersicon esculentum*. **Oecologia** 113: 74-81.

Thaler, J.S., Karban, R., Ullman Karina Boege, D.E. and Bostock, R.M. (2002). Cross-talk between jasmonate and salicylate plant defense pathways: effects on several plant parasites. **Oecologia** 131: 227-235.

Thipyapong, P., Mahanil, S., Attajarusit, J., and Steffens, J.C. (2003). Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants increase resistance to common cutworm (*Spodoptera litura* (F.)). American Society of Plant Biologists. July 25 - July 30, 2003. USA: Honolulu, Hawaii.

Thipyapong, P., Hunt, M.D. and Steffens, J.C. (1995). Systemic wound induction of potato (*Solanum tuberosum*) polyphenol oxidase. **Phytochem.** 40: 673-676.

Thipyapong, P., Hunt, M.D.and Steffens, J.C. (2004). Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility. **Planta** 220: 105-117.

Thipyapong, P., Joel, D.M. and Steffens, J.C. (1997). Differential expression and turnover of the tomato polyphenol oxidase gene family during vegetative and reproductive development. **Plant Physiol.** 113: 707-718.

Thipyapong, P. and Steffens, J.C. (1997). Tomato polyphenol oxidase (PPO): differential response of the PPO F promoter to injuries and wound signals. **Plant Physiol.** 115: 409-418.

Tingey, W., Plaisted, R., Laubengayer, J. and Mehlenbacher, S. (1982). Green peach aphid resistance by glandular trichomes in *Solanum tuberosum* × *S. berthaultii* hybrids. **Amer. Pot. J.** 59: 241 - 251.

Tingey, W. and Sinden, S. (1982). Glandular pubescence, glycoalkaloid composition, and resistance to the Green peach aphid, potato leaf hopper and potato flea beetle in *Solanum berthaultii* . **Amer. Pot. J.** 59: 95-107.

Wang, J. and Constabel, C.P. (2004). Polyphenol oxidase overexpression in transgenic *Populus* enhances resistance to herbivory by forest tent caterpillar (*Malacosoma disstria*). **Planta** 220: 87-96.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเตรียม BSA standard ที่ความเข้มข้น 0, 1, 2, 5, 10, 15 และ 20 µg/ml ในการตรวจหาความเข้มข้นของโปรตีนรวม

	ปริมาตรที่ต้องเติม (µl)						
BSA (1µg/µl)	0	1	2	5	10	15	20
Homogenization buffer	10	10	10	10	10	10	10
ddH_2O	990	989	988	985	980	975	970
ปริมาตรรวม	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

ตารางภาคผนวกที่ 2 การเตรียม Homogenate ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 µl ในปริมาตร 1,000 µl ในการตรวจหาความเข้มข้นของโปรตีนรวม

	ปริมาตรที่เติม (µl)	
Homogenate	5	10
Homogenization buffer	5	0
ddH_2O	990	990
ปริมาตรรวม	1,000	1,000

ตารางภาคผนวกที่ 3 สูตรอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้าย

ถั่วเขียวบด	130	ก.
Yeast extract	10	ก.
Casein	3.0	ก.
Formalin 40 %	3.0	ก.
Methyl parahydroxybenzoate	2.5	ก.
Sorbic acid	1.5	ก.
Ascorbic acid	3.0	ก.
Choline chloride	0.5	ก.
Vitamin stock	10.0	มล.
วุ้น	13.0	ก.
น้ำกลั่น	750/800	มล.

หมายเหตุ - อาหารสำหรับเลี้ยงหนอนวัย 1-2 เติมน้ำกลั่น 800 มล.

- อาหารสำหรับเลี้ยงหนอนวัย 3 ขึ้นไป เติมน้ำกลั่น 750 มล.

ตารางภาคผนวกที่ 4 ค่าเฉลี่ยของระดับ PPO activity ในใบมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 (วันที่ 23 ตุลาคม 2547)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	0.555	1.348	1.303	3.207	2.177
2	0.939	0.185	4.007	4.654	3.596
3	2.675	0.766	2.233	6.289	2.618
4	0.488	0.847	1.846	8.645	2.069
5	1.488	0.827	3.116	5.830	2.869
6	2.436	1.668	3.043	3.273	4.007
7	1.531	0.416	1.688	9.537	2.992
8	2.160	0.257	1.822	9.150	6.773
9	1.486	0.886	-	-	-
10	2.200	1.051	2.534	-	-
เฉลี่ย	1.596	0.825	2.399	6.323	3.388

ตารางภาคผนวกที่ 5 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 (วันที่ 23 ตุลาคม 2547)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	9	21.919	2.4355	1.42
Genotypes	4	156.871	39.218	22.89**
Error	31	53.117	17.7134	
Total	44	231.908		

CV(%) = 47.70

ตารางภาคผนวกที่ 6 ค่าเฉลี่ยของระดับ PPO activity ในใบมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 (วันที่ 7 มีนาคม 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	2.385	0.176	0.552	6.183	6.601
2	0.319	0.317	0.710	9.211	7.229
3	1.850	0.196	3.004	8.106	8.187
4	1.277	0.146	1.410	11.636	11.183
5	1.066	0.318	1.212	5.469	4.524
6	1.578	1.779	0.500	9.551	10.625
7	1.922	2.023	0.731	5.332	7.934
8	1.547	0.089	1.224	1.770	2.666
เฉลี่ย	1.493	0.631	1.168	7.157	7.369

ตารางภาคผนวกที่ 7 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระดับ PPO activity ในใบมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 (วันที่ 7 มีนาคม 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	7	32.258	4.608	0.81
Genotypes	4	1104.50	276.125	48.29**
Error	28	160.102	5.717	
Total	39	1296.861		

CV(%) = 39.56

ตารางภาคผนวกที่ 8 ค่าเฉลี่ยของระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 (วันที่ 10 เมษายน 2549)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	2.385	0.176	0.552	6.183	6.601
2	0.319	0.317	0.710	9.211	7.229
3	1.850	0.196	3.004	8.106	8.187
4	1.277	0.146	1.410	11.636	11.183
5	1.066	0.318	1.212	5.469	4.524
6	1.578	1.779	0.500	9.551	10.625
7	1.922	2.023	0.731	5.332	7.934
8	1.547	0.089	1.224	1.770	2.666
เฉลี่ย	1.493	0.631	1.168	7.159	7.369

ตารางภาคผนวกที่ 9 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 (วันที่ 10 เมษายน 2549)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	7	50.84	7.26	2.39
Genotypes	4	368.18	92.04	30.34**
Error	28	84.94	3.03	
Total	39	503.96		

CV(%) = 48.88

ตารางภาคผนวกที่ 10 ค่าเฉลี่ยของระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 6 ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 (วันที่ 10 เมษายน 2549)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	2.567	-	0.484	6.784	11.475
2	0.252	0.265	0.539	4.382	2.169
3	1.538	0.026	0.772	5.249	3.829
4	1.398	0.249	2.020	6.955	3.950
5	0.843	5.199	0.429	-	1.367
6	2.468	1.384	2.304	3.154	5.597
7	4.427	-	0.411	7.589	4.548
8	2.200	0.172	0.755	3.624	7.241
เฉลี่ย	1.962	1.216	0.964	5.386	5.022

ตารางภาคผนวกที่ 11 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 6 ของมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 (วันที่ 10 เมษายน 2549)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	7	45.61	6.52	2.05
Genotypes	4	133.28	33.32	10.47**
Error	25	79.53	3.18	
Total	36	258.41		

CV(%) = 60.78

ตารางภาคผนวกที่ 12 ค่าเฉลี่ยของระดับ PPO activity ในผลมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 (วันที่ 8 เมษายน 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	0.875	3.701	7.335	20.623	2.570
2	1.693	0.573	7.635	24.840	6.189
3	0.246	3.628	6.847	27.552	19.020
4	0.436	1.773	6.481	23.821	3.330
เฉลี่ย	0.812	2.419	7.074	24.209	7.777

ตารางภาคผนวกที่ 13 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระดับ PPO activity ในผลมะเขือเทศ UP19-3, UP19-4, NT, OP18 และ OP28 (วันที่ 8 เมษายน 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	3	64.032	21.344	1.76
Genotypes	4	1381.601	345.400	28.52**
Error	12	145.329	12.111	
Total	19	1590.963		

CV(%) = 41.14

ตารางภาคผนวกที่ 14 ค่าเฉลี่ยของระดับ PPO activity ใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP หลังการกัดกินของหนอนกระทู้หอม (10 เมษายน 2549)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	23.168	-	10.989	11.105	11.784
2	18.310	0.170	21.647	14.827	13.774
3	9.073	0.197	37.106	5.244	10.520
4	12.212	1.076	34.271	9.289	12.284
5	32.009	-	12.598	30.789	6.644
6	15.860	19.105	23.543	49.285	25.528
7	6.330	24.245	24.623	31.772	10.386
8	8.251	0.117	12.593	9.186	11.052
เฉลี่ย	15.652	7.485	22.171	20.187	12.743

ตารางภาคผนวกที่ 15 ค่าเฉลี่ยของระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 6 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP หลังการกัดกินของหนอนกระทู้หอม (10 เมษายน 2549)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	1.456	-	-	3.732	9.565
2	1.693	0.90	0.917	9.631	3.555
3	1.267	0.356	0.921	4.504	3.345
4	3.604	0.024	0.965	12.759	5.648
5	0.551	-	0.486	3.331	4.059
6	0.505	1.111	1.568	4.036	5.256
7	1.688	1.904	0.232	5.448	12.460
8	0.804	0.195	0.418	4.711	11.960
เฉลี่ย	1.446	0.763	0.787	6.019	6.981

ตารางภาคผนวกที่ 16 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-3

	N	Mean
UP19-3 ข้อ 4 ก่อนการกัดกิน	8	1.4930
UP19-3 ข้อ 4 หลังการกัดกิน	8	15.6516
Difference	8	-14.1586

95% CI for mean difference: (-21.5654, -6.7519)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -4.52 P-Value = 0.003

ตารางภาคผนวกที่ 17 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP19-4

	N	Mean
UP19-4 ข้อ 4 ก่อนการกัดกิน	6	0.75833
UP19-4 ข้อ 4 หลังการกัดกิน	6	7.48500
Difference	6	-6.72667

95% CI for mean difference: (-17.46385, 4.01052)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -1.61 P-Value = 0.168

ตารางภาคผนวกที่ 18 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ NT

	N	Mean
NT ข้อ 4 ก่อนการกัดกิน	8	0.8299
NT ข้อ 4 หลังการกัดกิน	8	22.1713
Difference	8	-21.3414

95% CI for mean difference: (-29.6949, -12.9878)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -6.04 P-Value = 0.001

ตารางภาคผนวกที่ 19 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ OP18

	N	Mean
OP18 ข้อ 4 ก่อนการกัดกิน	8	7.1573
OP18 ข้อ4 หลังการกัดกิน	8	20.1871
Difference	8	-13.0299

95% CI for mean difference: (-26.0015, -0.0582)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -2.38 P-Value = 0.049

ตารางภาคผนวกที่ 20 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ OP28

	N	Mean
OP28 ข้อ 4 ก่อนการกัดกิน	8	7.3686
OP28 ข้อ4 หลังการกัดกิน	8	12.7428
Difference	8	-5.3741

95% CI for mean difference: (-9.21625, -1.53200)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -3.31 P-Value = 0.013

ตารางภาคผนวกที่ 21 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 6 ของมะเขือเทศ UP19-3

	N	Mean
UP19-3 ข้อ 6 ก่อนการกัดกิน	8	1.96163
UP19-3 ข้อ 6 หลังการกัดกิน	8	1.44600
Difference	8	0.515625

95% CI for mean difference: (-0.880208, 1.911458)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = 0.87 P-Value = 0.411

ตารางภาคผนวกที่ 22 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 6 ของมะเขือเทศ UP19-4

	N	Mean
UP19-4 ข้อ 6 ก่อนการกัดกิน	4	0.4618
UP19-4 ข้อ 6 หลังการกัดกิน	4	0.6630
Difference	4	-0.2013

95% CI for mean difference: (-0.881068, 0.478568)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -0.94 P-Value = 0.416

ตารางภาคผนวกที่ 23 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 6 ของมะเขือเทศ NT

	N	Mean
NT ข้อ 6 ก่อนการกัดกิน	7	1.03286
NT ข้อ 6 หลังการกัดกิน	7	0.78671
Difference	7	0.24614

95% CI for mean difference: (-0.223098, 0.715384)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = 1.28 P-Value = 0.247

ตารางภาคผนวกที่ 24 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 6 ของมะเขือเทศ OP18

	N	Mean
OP18 ข้อ 6 ก่อนการกัดกิน	7	5.38586
OP18 ข้อ 6 หลังการกัดกิน	7	6.40300
Difference	7	-1.01714

95% CI for mean difference: (-4.18040, 2.14611)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -0.79 P-Value = 0.461

ตารางภาคผนวกที่ 25 การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของระดับ PPO activity ก่อนและหลังการเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 6 ของมะเขือเทศ OP28

	N	Mean
OP28 ข้อ 6 ก่อนการกัดกิน	8	5.02200
OP28 ข้อ 6 หลังการกัดกิน	8	6.98100
Difference	8	-1.95900

95% CI for mean difference: (-4.60682, 0.68882)

T-Test of mean difference = 0 (vs not = 0): T-Value = -1.75 P-Value = 0.124

ตารางภาคผนวกที่ 26 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระดับ PPO activity หลังเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอม ในใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	7	1136.16	162.30	1.64
Genotypes	4	965.58	241.40	2.43ns
Error	26	2579.48	99.21	
Total	37	4681.23		

CV(%) = 61.95

ตารางภาคผนวกที่ 27 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระดับ PPO activity หลังเข้าทำลายของหนอนกระทู้หอมในใบข้อที่ 6 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	7	38.35	5.48	0.91
Genotypes	4	277.52	69.38	11.47**
Error	25	151.21	6.05	
Total	36	467.08		

CV(%) = 72.42

ตารางภาคผนวกที่ 28 ระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 4 ของพืช UP, NT และ OP ก่อนและหลังถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน

จีโนไทป์	ระดับ PPO activity (μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein)	
	ก่อนกัดกิน	หลังกัดกิน
UP19-3	1.493 ± 0.221 b	15.652 ± 3.07
UP19-4	0.631 ± 0.280 b	7.485 ± 4.540
NT	1.168 ± 0.288 b	22.171 ± 3.500
OP18	7.157 ± 1.090 a	20.187 ± 0.546
OP28	7.369 ± 1.010 a	12.743 ± 1.960

ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's new Multiple Range Test

ตารางภาคผนวกที่ 29 ระดับ PPO activity ในใบข้อที่ 6 ของพืช NT UP และ OP ก่อนและหลังถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน

จีโนไทป์	ระดับ PPO activity (μmol quinone formed min^{-1} mg^{-1} protein)	
	ก่อนกัดกิน	หลังกัดกิน
UP19-3	1.962 ± 0.452 b	1.446 + 0.351 b
UP19-4	0.419 ± 0.245 b	0.763 + 0.289 b
NT	0.964 ± 0.267 b	0.787 + 0.217 b
OP18	5.386 ± 0.660 a	6.019 + 1.190 a
OP28	5.022 ± 1.130 a	6.981 + 1.33 a

ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

ตารางภาคผนวกที่ 30 ค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกิน

ข้อที่ / ซ้ำ / จีโนไทป์	4				8			
	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	UP19-3	UP19-4	NT	OP18
1	5.141	9.013	6.770	6.696	14.757	16.099	5.531	5.470
2	9.056	6.970	10.358	6.199	10.427	17.758	6.101	11.516
3	6.156	4.842	11.257	4.177	14.908	22.950	10.019	9.231
4	6.479	6.302	8.243	8.114	16.504	18.976	4.698	8.344
5	4.902	8.342	9.142	10.982	15.552	15.591	-	-
เฉลี่ย	6.347	7.094	9.154	7.234	14.429	18.275	6.587	8.640

ตารางภาคผนวกที่ 31 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของพื้นที่ใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกิน

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	4	9.230	2.312	0.55
Genotypes	3	21.471	7.157	1.70ns
Error	12	50.554	4.213	
Total	19	81.275		

CV(%) = 27.52

ตารางภาคผนวกที่ 32 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของพื้นที่ใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ที่ถูกหนอนเจาะสมอฝ้ายกัดกิน

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	4	53.005	13.251	3.40
Genotypes	3	384.776	128.259	32.96**
Error	10	38.918	3.892	
Total	17	476.700		

CV(%) = 15.82

ตารางภาคผนวกที่ 33 ค่าเฉลี่ยของ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 4 และ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

ซ้ำ \ ใบข้อที่	4				8			
จีโนไทป์	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	UP19-3	UP19-4	NT	OP18
1	3.557	6.229	6.557	4.252	7.133	13.250	2.629	2.110
2	5.333	3.190	7.186	4.464	4.286	7.824	3.452	5.571
3	4.414	4.864	6.236	3.071	5.910	12.281	5.771	3.405
4	4.067	4.121	4.571	3.976	7.876	8.262	1.750	2.821
5	3.714	3.929	5.029	6.621	7.400	9.400	-	-
เฉลี่ย	4.217	4.467	5.916	4.477	6.521	10.203	3.401	3.477

ตารางภาคผนวกที่ 34 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และOP

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	4	2.320	0.580	0.42
Genotypes	3	8.983	2.994	2.17ns
Error	12	16.575	1.381	
Total	19	27.878		

CV(%) = 24.64

ตารางภาคผนวกที่ 35 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของของ simple growth rate ของหนอนเจาะสมอ-ฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และOP

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	4	18.885	4.721	1.64
Genotypes	3	141.648	47.216	16.41**
Error	10	28.780	2.878	
Total	17	189.315		

CV(%) = 27.50

ตารางภาคผนวกที่ 36 ค่าเฉลี่ยของ relative growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 4 และ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP

ซ้ำ \ ใบข้อที่	4				8			
จีโนไทป์	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	UP19-3	UP19-4	NT	OP18
1	0.2586	0.263	0.263	0.257	0.276	0.278	0.246	0.232
2	0.2677	0.257	0.265	0.265	0.259	0.273	0.261	0.265
3	0.2592	0.259	0.26	0.22	0.269	0.277	0.248	0.244
4	0.2429	0.26	0.248	0.261	0.274	0.272	0.217	0.256
5	0.2686	0.263	0.273	0.266	0.263	0.278	-	-
เฉลี่ย	0.259	0.260	0.262	0.254	0.268	0.275	0.243	0.249

ตารางภาคผนวกที่ 37 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ relative growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และOP

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	4	0.00089	0.00022	1.97
Genotypes	3	0.00018	0.00006	0.54ns
Error	12	0.00136	0.00011	
Total	19	0.00244		

CV(%) = 4.12

ตารางภาคผนวกที่ 38 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของของ relative growth rate ของหนอนเจาะสมอฝ้ายที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และOP

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	4	0.00042	0.00010	0.71
Genotypes	3	0.00311	0.00010	7.07**
Error	7	0.00147	0.00015	
Total	10	0.00499		

CV(%) = 4.65

ตารางภาคผนวกที่ 39 ค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน ครั้งที่ 1 (วันที่ 23 ตุลาคม 2547)

ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	17.172	22.122	10.974	5.637	9.577
2	11.907	17.415	7.546	5.783	10.204
3	10.388	19.446	16.108	8.352	0.903
4	11.456	19.790	16.718	8.527	2.513
5	16.096	10.853	17.230	7.371	8.120
6	20.018	10.777	15.955	5.908	6.065
7	20.252	8.557	25.934	10.149	6.054
8	18.133	16.075	8.552	10.109	1.266
9	28.034	13.584	16.765	5.670	1.855
10	15.815	31.437	18.927	8.410	1.767
11	28.491	18.798	24.467	14.135	10.281
12	33.689	-	7.763	-	5.517
13	34.621	-	28.218	-	-
14	30.340	-	-	-	-
เฉลี่ย	21.172	17.169	16.551	8.186	5.344

ตารางภาคผนวกที่ 40 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของพื้นที่ใบข้อที่ 4 ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ครั้งที่ 1 (วันที่ 23 ตุลาคม 2547)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	13	1258.71	96.82000	5.12
Genotypes	4	2186.18	546.54	28.93**
Error	43	812.40	18.89	
Total	60	4257.28		

CV(%) = 31.03

ตารางภาคผนวกที่ 41 ค่าเฉลี่ย simple growth rate ที่อายุ 0-5 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 1 (23 ตุลาคม 2547)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	0.173	0.447	0.353	0.180	0.140
2	0.233	0.220	0.347	0.100	0.147
3	0.153	0.313	0.207	0.240	0.087
4	0.240	0.327	0.393	0.233	0.187
5	0.227	0.273	0.280	0.200	0.073
6	0.240	0.253	0.340	0.213	0.200
7	0.220	0.327	0.340	0.187	0.040
8	0.260	0.480	0.227	0.200	0.067
9	0.227	0.400	0.367	0.153	0.113
10	0.253	0.170	0.307	0.160	0.060
11	0.227	0.410	0.233	0.290	0.027
12	0.300	-	0.347	-	-
13	0.333	-	-	-	-
14	0.307	-	-	-	-
เฉลี่ย	0.242	0.329	0.312	0.196	0.104

ตารางภาคผนวกที่ 42 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ที่อายุ 0-5 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 1 (23 ตุลาคม 2547)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	13	0.07	0.0052	1.35
Genotypes	4	0.37	0.0936	24.40**
Error	41	0.16	0.0038	
Total	58	0.60		

CV(%) = 26.01

ตารางภาคผนวกที่ 43 **ค่าเฉลี่ย simple growth rate ที่อายุ 5-12 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 1 (23 ตุลาคม 2547)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	9.929	12.41	4.176	1.39	2.862
2	7.914	10.362	3.795	3.21	5.210
3	9.762	11.767	8.205	6.286	0.900
4	5.152	10.248	10.181	6.067	7.614
5	10.733	11.833	8.238	5.333	3.700
6	15.481	14.186	6.49	3.829	5.833
7	13.443	6.133	13.286	3.971	2.510
8	9.519	14.171	9.257	6.6	0.948
9	16.214	12.167	10.048	3.443	1.59
10	13.852	20.029	5.471	5.748	2.11
11	16.162	19.457	6.733	9.114	4.724
12	14.524	-	9.962	-	-
13	13.833	-	-	-	-
14	17.081	-	-	-	-
เฉลี่ย	12.400	12.978	7.987	4.999	3.455

ตารางภาคผนวกที่ 44 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ที่ 5-12 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 1 (23 ตุลาคม 2547)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	13	243.09	18.70	2.96
Genotypes	4	851.31	212.83	33.67**
Error	41	259.15	6.32	
Total	8	1353.55		

CV (%) = 29.36

ตารางภาคผนวกที่ 45 **ค่าเฉลี่ย relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 1 (23 ตุลาคม 2547)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	0.279	0.272	0.214	0.241	0.273
2	0.269	0.273	0.217	0.272	0.238
3	0.277	0.274	0.275	0.271	0.274
4	0.256	0.273	0.268	0.270	0.273
5	0.277	0.274	0.272	0.271	0.272
6	0.278	0.277	0.266	0.255	0.274
7	0.278	0.264	0.275	0.250	0.273
8	0.275	0.272	0.276	0.273	0.262
9	0.279	0.272	0.271	0.268	0.267
10	0.278	0.282	0.264	0.265	0.284
11	0.279	0.277	0.263	0.272	.
12	0.277	.	0.271	.	.
13	0.276	.	.	.	.
14	0.278	.	.	.	.
เฉลี่ย	0.275	0.274	0.261	0.264	0.269

ตารางภาคผนวกที่ 46 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 1 (23 ตุลาคม 2547)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	13	0.0037	0.00029	1.73
Genotypes	4	0.0020	0.00049	3.00**
Error	41	0.0068	0.00016	
Total	58	0.0124		

CV(%) = 4.79

ตารางภาคผนวกที่ 47 ค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	49.030	59.601	42.505	10.996	-
2	49.465	47.759	23.318	12.014	29.031
3	34.604	40.309	33.679	9.871	24.371
4	64.807	57.416	33.207	19.157	31.184
5	52.960	50.909	22.848	13.474	19.769
6	56.791	45.765	28.826	11.922	21.444
7	57.633	39.925	38.447	16.590	23.293
8	46.695	34.981	38.997	11.542	23.334
9	45.012	42.532	41.331	17.696	16.928
10	44.510	30.455	26.779	19.518	22.813
11	34.409	30.503	32.515	12.855	12.625
12	54.100	48.666	36.766	17.401	11.433
13	53.191	39.651	13.557	6.973	16.570
14	55.865	34.319	-	13.870	16.782
15	-	42.428	26.067	18.947	20.636
เฉลี่ย	49.934	43.015	31.346	14.188	20.730

ตารางภาคผนวกที่ 48 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของพื้นที่ใบข้อที่ 8 ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	1459.32	104.24	2.67
Genotypes	4	12861.29	3215.32	82.44**
Error	53	2067.06	39.00	
Total	71	16387.67		

CV(%) = 19.67

ตารางภาคผนวกที่ 49 ค่าเฉลี่ย simple growth rate ที่อายุ 0-5 วันของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 2 (วันที่ 7 มีนาคม 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	1.607	1.387	0.807	0.320	-
2	1.680	1.480	0.707	0.440	0.427
3	1.393	0.987	0.867	0.433	0.447
4	1.647	1.360	0.840	0.553	0.560
5	1.300	1.000	0.680	0.520	0.473
6	1.073	0.867	0.787	0.513	0.353
7	1.380	0.933	0.733	0.510	0.353
8	1.480	0.793	0.833	0.467	0.420
9	1.660	0.960	0.727	0.460	0.540
10	1.380	0.820	0.747	0.393	0.473
11	1.480	0.827	0.840	0.507	0.367
12	1.320	0.767	1.027	0.493	0.320
13	1.413	0.700	0.727	0.513	0.420
14	1.253	1.140	-	0.493	0.400
15	-	0.740	0.870	0.513	0.410
เฉลี่ย	1.433	0.984	0.799	0.475	0.426

ตารางภาคผนวกที่ 50 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ที่อายุ 0-5 วันของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	0.067	0.05	3.11
Genotypes	4	9.63	2.41	157.30**
Error	53	0.81	0.02	
Total	71	11.11		

CV(%) =15.07

ตารางภาคผนวกที่ 51 **ค่าเฉลี่ย simple growth rate ที่อายุ 5-10 วันของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 2 (วันที่ 7 มีนาคม 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	31.487	36.900	28.893	7.573	-
2	26.687	34.953	18.707	7.793	21.927
3	20.593	32.180	28.473	7.120	16.987
4	36.047	34.167	25.180	16.547	21.673
5	30.900	31.080	21.393	7.087	16.607
6	29.133	34.940	22.113	11.980	16.653
7	32.460	29.280	26.753	11.330	16.053
8	29.460	26.913	31.000	8.887	17.553
9	23.873	32.380	29.667	14.753	13.527
10	30.613	23.353	21.807	11.533	17.987
11	21.753	22.513	23.120	9.267	11.427
12	31.013	28.480	26.387	12.813	11.033
13	29.813	28.000	13.573	5.407	12.920
14	34.740	26.167	-	9.093	14.593
15	-	35.100	20.990	14.553	14.200
เฉลี่ย	29.184	30.427	24.147	10.382	15.939

ตารางภาคผนวกที่ 52 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ที่อายุ 5-10 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	394.75	28.20	2.00
Genotypes	4	4391.08	1097.78	78.02**
Error	53	745.73	14.07	
Total	71	5531.56		

CV(%) = 17.07

ตารางภาคผนวกที่ 53 **ค่าเฉลี่ย relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	0.362	0.371	0.379	0.365	-
2	0.353	0.369	0.37	0.357	0.384
3	0.343	0.377	0.377	0.35	0.38
4	0.366	0.37	0.374	0.371	0.379
5	0.369	0.376	0.373	0.345	0.378
6	0.371	0.38	0.373	0.356	0.383
7	0.369	0.376	0.379	0.364	0.381
8	0.363	0.377	0.38	0.346	0.379
9	0.351	0.378	0.381	0.374	0.357
10	0.366	0.373	0.374	0.375	0.38
11	0.35	0.357	0.373	0.349	0.376
12	0.368	0.379	0.371	0.371	0.378
13	0.366	0.381	0.356	0.269	0.374
14	0.373	0.366	0.369	0.36	0.377
15	-	0.384	-	-	0.378
เฉลี่ย	0.362	0.374	0.374	0.354	0.377

ตารางภาคผนวกที่ 54 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	0.0030	0.0002	1.14
Genotypes	4	0.0048	0.0012	6.39**
Error	52	0.0097	0.0001	
Total	70	0.0174		

CV(%) = 3.71

ตารางภาคผนวกที่ 55 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	81.75	90.15	69.65	73.20	77.35
2	61.10	88.05	70.05	71.95	75.20
3	82.95	75.75	72.90	76.95	77.10
4	89.40	80.30	89.10	62.95	63.70
5	78.15	81.25	87.05	65.65	63.25
6	-	89.10	41.80	79.05	73.20
7	-	74.40	-	60.85	75.40
8	-	76.50	-	56.10	80.10
เฉลี่ย	78.67	81.94	71.76	68.34	73.16

ตารางภาคผนวกที่ 56 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของน้ำหนักดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	7	302.76	43.25	0.38
Genotypes	4	892.64	223.07	1.96ns
Error	23	2619.63	113.90	
Total	34	3814.66		

CV(%) =14.30

ตารางภาคผนวกที่ 57 **ค่าเฉลี่ยระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	13.00	12.00	12.50	15.50	14.00
2	12.00	12.00	14.00	15.50	14.00
3	12.00	12.00	12.50	15.50	14.00
4	12.00	12.00	13.00	15.00	15.00
5	12.00	12.00	13.30	15.50	14.50
6	14.50	12.00	-	15.50	14.00
7	-	14.00	-	16.00	14.00
8	-	13.00	-	14.50	14.00
9	-	12.00	-	-	-
เฉลี่ย	12.58	12.38	13.06	15.38	14.19

ตารางภาคผนวกที่ 58 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 2 (7 มีนาคม 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	8	8.08	1.010	4.60
Genotypes	4	50.02	12.50	56.99**
Error	23	5.05	0.22	
Total	35	63.14		

CV(%) = 3.45

ตารางภาคผนวกที 59 พื้นที่ใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	39.420	17.559	25.576	23.423	13.033
2	40.086	6.192	21.929	6.329	9.081
3	27.594	12.472	26.731	9.878	10.008
4	31.665	13.865	12.023	10.006	14.535
5	38.591	31.029	22.182	8.416	15.785
6	23.855	13.631	20.710	20.460	19.926
7	16.320	25.024	-	-	-
เฉลี่ย	31.076	17.110	21.525	13.085	13.728

ตารางภาคผนวกที่ 60 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของพื้นที่ใบข้อที่ 4 ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	6	273.08	45.51	0.87
Genotypes	4	1449.05	362.26	6.92**
Error	21	52.34	52.34	
Total	31	2821.36		

CV(%) = 36.91

ตารางภาคผนวกที่ 61 **ค่าเฉลี่ย simple growth rate ที่อายุ 0-5 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	0.906	0.433	0.328	0.350	0.500
2	0.767	-	0.339	0.194	0.372
3	1.011	0.678	0.672	0.522	0.344
4	0.728	0.478	0.311	0.289	0.222
5	0.939	0.728	0.283	0.411	0.194
6	0.944	0.525	0.256	0.442	0.467
7	-	0.333	-	-	0.458
เฉลี่ย	0.883	0.529	0.365	0.368	0.365

ตารางภาคผนวกที่ 62 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ที่อายุ 0-5 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	6	0.20	0.03	2.78
Genotypes	4	1.22	0.31	25.14**
Error	20	0.24	0.01	
Total	30	1.67		

CV(%) = 22.17

ตารางภาคผนวกที่ 63 ค่าเฉลี่ย simple growth rate ที่อายุ 5-12 วันของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	20.833	14.711	16.439	15.622	16.633
2	24.478	-	17.933	4.439	3.572
3	23.572	9.661	21.389	15.422	12.733
4	21.861	21.517	11.089	8.461	7.833
5	20.161	24.989	10.250	8.256	16.517
6	22.172	16.633	13.050	18.733	20.867
7	-	15.333	-	-	14.242
เฉลี่ย	22.180	17.141	15.025	11.822	13.200

ตารางภาคผนวกที่ 64 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ที่ 5-12 วันของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	6	96.08	16.01	0.62
Genotypes	4	400.85	100.21	3.90*
Error	20	514.46	25.72	
Total	30	1011.39		

CV(%) = 32.12

ตารางภาคผนวกที่ 65 **ค่าเฉลี่ย relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	0.305	0.312	0.314	0.314	0.313
2	0.310	0.293	0.320	0.302	0.277
3	0.295	0.297	0.314	0.309	0.316
4	0.311	0.316	0.315	0.311	0.315
5	0.303	0.311	0.316	0.300	0.326
6	0.304	0.314	0.320	0.315	0.319
7	-	0.319	-	-	0.313
เฉลี่ย	0.305	0.309	0.317	0.309	0.311

ตารางภาคผนวกที่ 66 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และOP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	6	0.00079	0.00013	1.63
Genotypes	4	0.00046	0.00011	1.42ns
Error	21	0.00170	0.000081	
Total	31	0.00293		

CV(%) = 2.90

ตารางภาคผนวกที่ 67 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	71.83	80.27	70.87	74.03	60.33
2	69.93	72.37	70.87	58.43	67.10
3	71.23	58.57	63.37	65.43	78.00
4	61.77	67.73	80.87	65.87	66.27
5	57.25	71.80	76.50	-	86.25
6	-	71.20	-	-	-
เฉลี่ย	66.40	70.32	72.49	65.94	71.59

ตารางภาคผนวกที่ 68 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของน้ำหนักดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	5	114.039	22.808	0.33
Genotypes	4	169.454	42.363	0.61ns
Error	15	1035.430	69.032	
Total	24	1318.923		

CV(%) = 11.95

ตารางภาคผนวกที่ 69 ค่าเฉลี่ยระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	14.33	17.00	16.50	16.00	15.50
2	15.00	19.33	16.00	19.00	18.00
3	14.33	16.00	16.50	16.50	17.00
4	14.67	15.00	16.00	18.50	18.00
5	14.50	16.50	16.50	17.50	15.50
6	16.50	16.00	17.00	16.00	16.00
7	18.00	16.00	17.33	-	17.00
เฉลี่ย	15.33	16.55	16.55	17.25	16.71

ตารางภาคผนวกที่ 70 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 3 (6 ตุลาคม 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	5	114.07	22.81	0.33
Genotypes	4	169.29	42.32	0.61ns
Error	15	1035.48	69.03	
CV(%) = 11.95				
Total	24	1318.84		

ตารางภาคผนวกที่ 71 พื้นที่ใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกิน ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	13.615	8.689	-	-	2.440
2	14.619	11.646	16.946	16.148	8.754
3	7.281	7.351	4.768	17.909	-
4	7.791	5.246	7.777	2.747	12.460
5	11.872	5.753	7.219	5.911	2.355
6	11.337	11.855	-	4.243	-
7	9.358	9.652	4.839	6.094	2.613
8	5.127	-	-	8.961	-
9	19.631	-	-	10.474	7.955
10	17.823	4.764	11.145	-	13.056
11	4.724	9.016	10.801	11.030	-
12	16.738	4.995	5.756	7.623	8.010
13	8.315	7.869	4.588	13.155	-
14	8.753	28.300	3.582	5.450	3.359
15	6.067	-	4.323	5.689	4.207
เฉลี่ย	10.870	9.677	7.431	8.879	6.521

ตารางภาคผนวกที่ 72 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของพื้นที่ใบข้อที่ 4 ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	328.26	23.45	0.98
Genotypes	4	140.68	35.17	1.46ns
Error	42	1009.59	24.04	
Total	60	1478.53		

CV(%) = 55.33

ตารางภาคผนวกที่ 73 **ค่าเฉลี่ย simple growth rate ที่อายุ 0-5 วันของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	1.400	0.567	-	-	0.833
2	1.700	1.100	0.900	0.867	1.167
3	0.633	1.100	0.567	.	0.667
4	1.167	0.600	0.633	0.833	0.567
5	0.600	1.000	0.367	0.633	0.467
6	1.000	0.733	-	0.233	-
7	1.100	0.667	0.367	-	0.500
8	1.267	.	0.233	0.467	0.933
9	1.000	0.600	0.667	0.567	1.033
10	1.567	0.667	0.667	-	-
11	0.667	0.767	0.600	0.800	0.600
12	1.333	0.467	0.467	0.433	0.500
13	1.467	1.500	0.467	0.300	0.667
14	0.867	1.567	0.500	0.300	0.567
15	1.067	-	0.500	-	0.500
เฉลี่ย	1.122	0.872	0.533	0.543	0.692

ตารางภาคผนวกที่ 74 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ที่อายุ 0-5 วันของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	1.33	0.09	1.31
Genotypes	4	3.32	0.83	11.44**
Error	45	3.26	0.07	
Total	63	7.91		

CV(%) = 34.78

ตารางภาคผนวกที่ 75 **ค่าเฉลี่ย simple growth rate ที่อายุ 5-10 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	8.667	5.143	-	-	1.795
2	10.629	8.719	11.543	11.595	8.819
3	4.824	8.305	-	-	1.976
4	8.195	3.152	5.710	2.576	6.440
5	-	4.507	6.386	3.602	2.533
6	11.943	4.967	3.667	-	-
7	9.638	11.355	2.155	-	3.407
8	8.533	-	-	1.148	4.724
9	2.843	4.414	5.476	10.998	4.062
10	17.133	-	5.776	-	-
11	3.657	3.462	4.871	8.986	5.029
12	12.467	2.186	3.890	2.519	7.162
13	3.219	3.548	-	-	11.690
14	4.269	16.712	-	-	2.162
15	6.895	-	3.157	-	4.014
เฉลี่ย	8.065	6.373	5.263	5.918	4.909

ตารางภาคผนวกที่ 76 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ที่ 5-10 วันของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	194.96	13.93	1.02
Genotypes	4	80.07	20.02	1.46ns
Error	37	506.10	13.68	
Total	55	781.13		

CV(%) = 59.64

ตารางภาคผนวกที่ 77 ค่าเฉลี่ย relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	0.273	0.277	-	-	0.252
2	0.273	0.276	0.279	0.280	0.275
3	0.275	0.275	-	-	0.261
4	0.275	0.271	0.277	0.262	0.279
5	-	0.269	0.281	0.272	0.271
6	0.279	0.274	0.142	-	-
7	0.277	0.281	0.272	-	0.274
8	0.274	-	-	0.256	0.270
9	0.260	0.275	0.276	0.282	0.266
10	0.278	-	0.277	-	-
11	0.272	0.269	0.276	0.279	0.276
12	0.277	0.269	0.276	0.272	0.280
13	0.253	0.255	-	-	0.281
14	0.270	0.278	-	-	0.266
15	0.274	-	0.273	-	0.276
เฉลี่ย	0.272	0.272	0.263	0.272	0.271

ตารางภาคผนวกที่ 78 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกิน ใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และOP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	0.0055	0.00039	1.07
Genotypes	4	0.0007	0.00017	0.47ns
Error	37	0.0134	0.00036	
Total	55	0.0195		

CV(%) = 7.04

ตารางภาคผนวกที่ 79 **ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	-	64.43	67.70	-	58.00
2	-	58.30	54.03	55.20	78.30
3	-	75.10	-	77.57	62.10
4	64.80	75.10	69.55	69.70	69.20
5	63.53	67.70	58.03	59.50	-
6	60.63	67.70	51.60	46.90	-
7	57.55	81.60	-	76.40	53.05
8	81.40	93.60	-	72.30	52.80
9	72.15	-	63.00	78.20	66.50
10	61.55	-	55.95	73.40	59.05
11	54.10	52.20	50.30	-	40.30
12	42.10	64.40	74.20	34.10	68.80
13	-	-	-	74.95	62.70
14	-	55.70	77.60	-	67.40
15	59.10	-	66.30	79.40	-
เฉลี่ย	61.69	68.71	62.57	66.47	61.52

ตารางภาคผนวกที่ 80 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของน้ำหนักดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	2525.33	180.38	1.62
Genotypes	4	477.58	119.39	1.07ns
Error	37	4122.22	111.14	
Total	55	7125.13		

CV(%) = 16.43

ตารางภาคผนวกที่ 81 **ค่าเฉลี่ยระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	-	18.33	22.00	-	21.00
2	-	17.00	16.67	18.00	17.00
3	-	18.00	-	16.00	23.00
4	17.00	18.00	17.50	20.00	16.00
5	20.00	18.00	17.67	17.00	-
6	17.00	18.00	22.00	21.00	-
7	16.50	16.00	-	17.00	20.00
8	20.00	21.00	-	21.50	17.00
9	19.50	-	18.00	19.00	17.00
10	15.00	-	17.00	15.00	15.50
11	18.00	22.00	18.00	-	17.00
12	15.00	21.00	18.00	21.00	16.00
13	-	-	-	16.50	15.00
14	-	16.00	21.00	-	21.00
15	17.00	-	18.00	24.00	-
เฉลี่ย	17.50	18.48	18.71	18.83	17.96

ตารางภาคผนวกที่ 82 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 4 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	92.66	6.62	1.42
Genotypes	4	12.85	3.21	0.69ns
Error	37	172.40	4.66	
Total	55	277.91		

CV(%) = 11.79

ตารางภาคผนวกที่ 83 **พื้นที่ใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	23.678	5.469	5.613	-	-
2	-	6.380	11.007	3.033	-
3	9.908	-	4.523	9.990	3.844
4	9.212	11.357	6.049	10.811	11.627
5	11.679	10.469	-	2.114	2.225
6	20.300	10.741	3.539	1.555	2.550
7	15.931	5.736	11.285	4.283	6.395
8	6.762	-	9.046	-	5.629
9	-	15.799	14.401	5.158	5.955
10	14.302	6.898	23.610	3.864	6.714
11	7.357	4.553	-	-	-
12	-	15.138	3.751	4.343	4.970
13	-	15.704	10.734	2.116	12.842
14	9.366	-	6.533	-	5.898
15	12.776	-	6.117	-	5.659
เฉลี่ย	9.840	8.939	4.727	6.192	

ตารางภาคผนวกที่ 84 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของพื้นที่ใบข้อที่ 8 ที่ถูกหนอนกระทู้หอมกัดกินของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	163.14	11.65	0.49
Genotypes	4	407.05	101.76	4.25**
Error	38	908.88	23.91	
Total	56	1479.07		

CV(%) = 57.21

ตารางภาคผนวกที่ 85 **ค่าเฉลี่ย simple growth rate ที่อายุ 0-5 วันของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	1.200	1.067	-	0.467	1.000
2	0.867	0.733	0.700	0.467	0.600
3	0.600	0.633	0.567	0.200	0.267
4	1.167	0.667	0.533	0.833	0.600
5	0.933	0.567	0.600	0.267	0.433
6	0.667	0.433	-	-	0.667
7	1.133	0.800	0.700	0.433	0.533
8	1.267	-	-	0.233	0.133
9	1.767	1.533	0.967	0.633	0.533
10	0.767	0.767	0.700	0.233	0.633
11	1.167	0.600	0.500	0.600	0.433
12	0.667	0.500	0.200	0.500	-
13	1.067	0.800	0.700	0.500	0.433
14	0.700	-	0.633	-	0.633
15	0.867	-	0.667	-	0.600
เฉลี่ย	0.989	0.758	0.622	0.447	0.536

ตารางภาคผนวกที่ 86 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ที่อายุ 0-5 วัน หนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	1.74	0.12	3.11
Genotypes	4	2.49	0.62	15.58**
Error	46	1.84	0.04	
Total	64	6.07		

CV(%) = 29.34

ตารางภาคผนวกที่ 87 ค่าเฉลี่ย simple growth rateที่อายุ 5-10 วัน ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	8.433	4.533	-	-	5.471
2	7.776	3.331	6.471	-	-
3	5.400	-	3.805	6.271	1.098
4	6.476	6.171	2.945	7.448	3.924
5	4.231	6.219	6.329	1.440	2.819
6	11.719	8.376	-	-	2.069
7	10.648	3.929	6.462	2.905	4.390
8	4.624	-	4.190	-	2.695
9	5.162	15.857	4.795	3.300	2.057
10	6.862	5.057	4.014	3.395	4.145
11	5.026	2.695	-	2.029	3.424
12	3.214	4.714	2.379	1.743	-
13	3.133	13.021	6.190	1.229	3.010
14	4.648	-	3.714	-	4.290
15	2.848	-	3.233	-	4.576
เฉลี่ย	6.013	6.718	4.544	3.307	3.382

ตารางภาคผนวกที่ 88 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ที่อายุ 5-10 วันของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอม ครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	79.58	5.68	0.85
Genotypes	4	109.24	27.31	4.10**
Error	41	273.16	6.66	
Total	59	461.98		

CV(%) = 52.98

ตารางภาคผนวกที่ 89 ค่าเฉลี่ย relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	0.275	0.268	-	-	0.272
2	0.277	0.269	0.277	-	-
3	0.277	-	0.274	0.283	0.267
4	0.272	0.277	0.272	0.277	0.274
5	0.269	0.278	0.278	0.271	0.274
6	0.281	0.282	-	-	0.262
7	0.277	0.27	0.277	0.274	0.276
8	0.265	-	0.143	-	0.282
9	0.26	0.278	0.27	0.271	0.266
10	0.277	0.274	0.272	0.28	0.274
11	0.268	0.269	-	0.263	0.276
12	0.27	0.277	0.279	0.264	-
13	0.26	0.281	0.277	0.256	0.274
14	0.274	-	0.272	-	0.274
15	0.263	-	0.27	-	0.275
เฉลี่ย	0.271	0.275	0.263	0.271	0.273

ตารางภาคผนวกที่ 90 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และOP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	0.0055	0.00040	1.33
Genotypes	4	0.0009	0.00022	0.74ns
Error	41	0.0121	0.00030	
Total	59	0.0186		

CV(%) = 6.37

ตารางภาคผนวกที่ 91 **ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	54.50	64.00	-	-	61.00
2	77.60	71.70	60.63	79.00	-
3	78.20	-	67.30	-	50.20
4	57.40	88.20	-	56.40	64.67
5	-	95.00	58.00	82.20	-
6	58.60	54.60	-	93.80	-
7	74.40	-	66.60	59.90	43.60
8	77.00	84.40	-	-	-
9	74.75	62.15	68.10	59.73	-
10	-	55.70	-	-	67.25
11	-	-	-	41.40	-
12	64.00	59.30	-	-	-
13	61.10	-	76.50	-	-
14	54.00	-	64.30	-	61.00
15	54.90	-	-	-	-
เฉลี่ย	65.54	70.56	65.92	67.49	57.95

ตารางภาคผนวกที่ 92 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของน้ำหนักดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	2227.86	159.13	1.08
Genotypes	4	639.92	159.98	1.09ns
Error	22	3239.67	147.26	
Total	40	6107.45		

CV(%) = 18.41

ตารางภาคผนวกที่ 93 **ค่าเฉลี่ยระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	15.00	18.00	-	-	17.00
2	18.00	18.00	17.33	23.00	-
3	17.00	-	18.00	-	21.00
4	17.00	17.50	-	17.00	19.00
5	-	18.00	17.00	22.00	-
6	16.00	16.50	-	21.00	21.00
7	17.00	-	17.00	20.00	17.00
8	18.50	21.50	-	-	-
9	16.00	17.00	18.00	20.67	-
10	-	17.00	-	-	18.00
11	21.00	-	-	23.00	-
12	25.00	17.00	-	23.00	-
13	15.00	-	18.00	-	-
14	17.00	-	17.00	-	17.00
15	24.00	-	-	-	-
เฉลี่ย	18.19	17.83	17.48	21.21	18.57

ตารางภาคผนวกที่ 94 **ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของระยะเวลาตั้งแต่ฟักถึงเข้าดักแด้ของหนอนกระทู้หอม ที่กัดกินใบข้อที่ 8 ของมะเขือเทศ UP, NT และ OP ในการทดสอบความต้านทานต่อหนอนกระทู้หอมครั้งที่ 4 (27 พฤศจิกายน 2548)**

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	14	124.52	8.89	3.28
Genotypes	4	70.74	17.68	6.53**
Error	25	67.75	2.71	
Total	43	263.01		

CV(%) = 8.84

ตารางภาคผนวกที่ 95 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศ UP, NT และ OP เนื่องจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	12.942	15.704	13.211	11.342	7.303
2	9.683	11.793	8.861	10.008	9.212
3	11.4813	9.104	7.360	-	7.076
4	11.892	13.210	10.856	6.988	4.896
5	8.135	12.480	10.054	7.197	6.650
6	8.328	14.711	7.313	10.774	8.486
7	9.659	21.431	-	-	11.806
เฉลี่ย	10.303	14.062	9.609	9.62	7.880

ตารางภาคผนวกที่ 96 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของมะเขือเทศ UP, NT และ OP เนื่องจากการกัดกินของหนอนกระทู้หอม

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	3	19.583	6.528	1.10
Genotypes	4	165.311	41.328	6.99**
Error	27	159.701	5.915	
Total	34	344.595		

CV(%) = 23.67

ตารางภาคผนวกที่ 97 ค่าเฉลี่ยของ simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินผลมะเขือเทศ UP, NT และ OP

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	22.589	18.920	19.675	20.040	20.270
2	14.494	21.240	19.255	16.380	16.800
3	21.722	14.610	17.010	20.478	12.010
4	21.328	16.060	17.260	12.511	10.485
5	28.967	16.670	20.440	11.089	15.215
6	15.847	-	15.160	14.894	16.530
7	14.5	14.020	13.000	-	-
เฉลี่ย	15.899	16.920	17.400	15.899	15.218

ตารางภาคผนวกที่ 98 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ simple growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินผลมะเขือเทศ UP, NT และ OP

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	3	77.992	25.997	2.28
Genotypes	4	91.422	22.856	2.01ns
Error	27	307.646	11.394	
Total	34	477.059		

CV(%) = 19.773

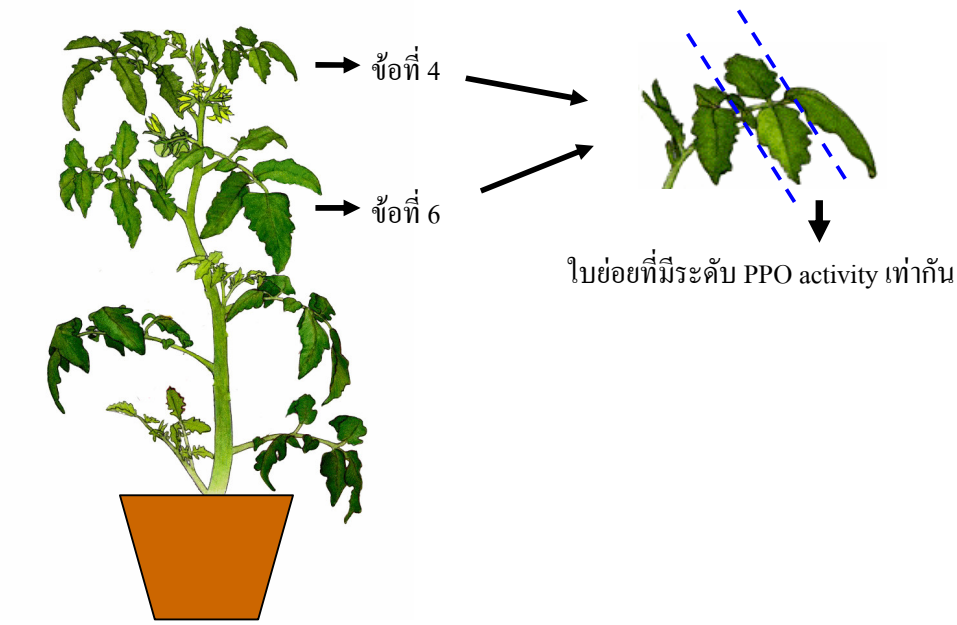
ตารางภาคผนวกที่ 99 ค่าเฉลี่ยของ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินผลมะเขือเทศ UP, NT และ OP

จีโนไทป์ / ซ้ำ	UP19-3	UP19-4	NT	OP18	OP28
1	0.422	0.378	0.429	0.468	0.450
2	0.361	0.500	0.448	0.397	0.380
3	0.421	0.340	0.380	0.497	0.290
4	0.508	0.322	0.350	0.278	0.217
5	0.524	0.324	0.480	0.230	0.346
6	0.348	0.302	0.320	0.369	0.400
7	0.310	-	0.300	-	
เฉลี่ย	0.413	0.361	0.387	0.373	0.347

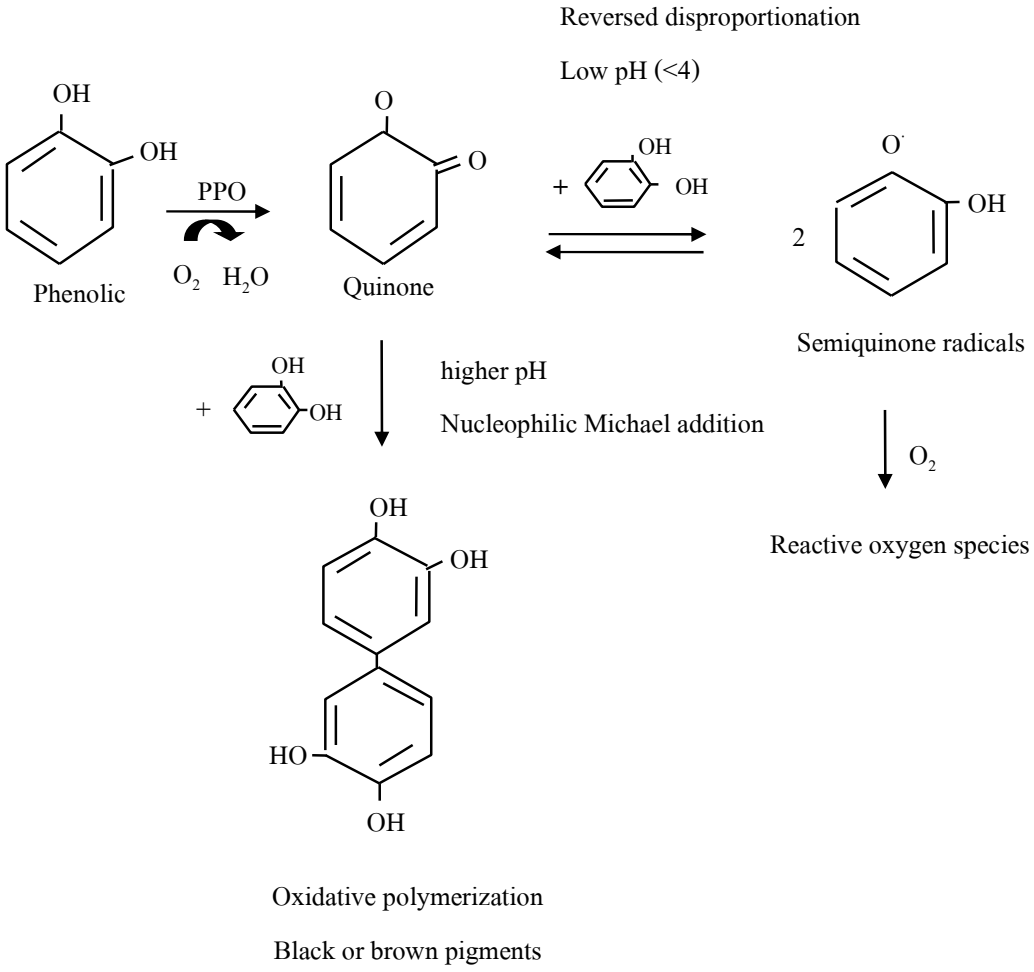
ตารางภาคผนวกที่ 100 ค่าการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของ relative growth rate ของหนอนกระทู้หอมที่กัดกินผลมะเขือเทศ UP, NT และ OP

Source of variance	df	sum of squares	mean squares	F-value
Rep	3	0.0195	0.0065	1.08
Genotypes	4	0.0180	0.0045	0.74ns
Error	27	0.1630	0.0060	
Total	34	0.2005		

CV(%) = 19.773



ภาพภาคผนวกที่ 1 **ตำแหน่งของใบข้อที่ 4 และ 6 ที่มีระดับ PPO activity เท่ากัน ซึ่งเหมาะสมสำหรับการนำไปทดสอบการกระตุ้นเพิ่มระดับ PPO activity หลังการกัดกินของหนอนกระทู้หอม**



ภาพภาคผนวกที่ 2 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Steffens et al., 1994)

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอนงค์นุช ผลวงษ์ เกิดเมื่อวันที่ 23 สิงหาคม 2522 ที่ อำเภอ ดอนเจดีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นที่โรงเรียนบรรหารแจ่มใสวิทยา ๑ อำเภอดอนเจดีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี และเข้าศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนนวมินทราชินูทิศเตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า กรุงเทพมหานคร ปี พ.ศ. 2541 เข้าศึกษาระดับปริญญาตรี ในสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จนสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2544 และศึกษาต่อระดับปริญญาโท ในสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปี พ.ศ. 2545