บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

มันฝรั่งมีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ในแถบที่ราบสูงของเทือกเขาอินดีส (Andes) บริเวณประเทศโคลัมเบีย (พงษ์ศักดิ์, 2541) พืชชนิดนี้จัดเป็นพืชอาหารที่สำคัญของโลก เมื่อ 6,000 ปีก่อนคริสตกาล ผู้คนที่อาศัยอยู่ในบริเวณเทือกเขาอินดิส ปลูกมันฝรั่งเป็นอาหาร ในศตวรรษที่ 18 มันฝรั่งมีความสำคัญต่อชาวตะวันตกโดยเป็นอาหารหลักของชาวไอร์แลนด์ (มาโนช, 2541) จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1845-1846 เกิดปัญหาการขาดแคลนมันฝรั่งเนื่องจากการระบาดของโรคใบไหม้ ทำให้ชาวไอไอร์แลนด์ล้มตายเป็นจำนวนมากเนื่องจากขาดแคลนอาหาร (สุรชาติ, 2541) นอกจากนั้นมันฝรั่งยังเป็นที่นิยมบริโภคในประเทศแถบยุโรป อเมริกาเหนือ อัฟริกา และเอเชีย

สำหรับในประเทศไทยไม่มีหลักฐานปรากฏแน่ชัดว่ามีการนำเข้ามาของมันฝรั่งเมื่อไร เพียงแต่ทราบว่ามีการนำเข้ามันฝรั่งโดยชาวเขาและชาวจีนฮ่อซึ่งอพยพมาอาศัยอยู่บริเวณภูเขาทางภาคเหนือซึ่งนิยมปลูกมันฝรั่งไว้สำหรับบริโภคอาหารมาเป็นเวลานาน (ศิริพร, 2542) ปัจจุบันคนไทยใช้มันฝรั่งเป็นองค์ประกอบของอาหารและนิยมบริโภคอาหารแบบชาวตะวันตกมากขึ้น อาทิ เช่น อาหารประเภทแกง เช่น แกงมัสมั่น และอาหารว่างประเภทขนมขบเคี้ยว เช่น มันฝรั่งทอดกรอบ (French fired) (พงษ์ศักดิ์, 2541) ดังนั้นจึงเพิ่มปริมาณความต้องการมันฝรั่งเพื่อผลิตอาหารดังกล่าวอย่างรวดเร็วในสังคมไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่งทอดกรอบได้มีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว โดยประมาณความต้องการมันฝรั่งเพื่อเป็นวัตถุดิบปีละ 125,100 ตัน ถือได้ว่ามันฝรั่งจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในภาคเหนือ ที่ให้ผลตอบแทนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพืชอื่นๆ หลายชนิด สำหรับแหล่งปลูกมันฝรั่งที่สำคัญอยู่ ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีผลผลิตรวมกันประมาณร้อยละ 90 ของผลผลิตทั้งหมด การปลูกมันฝรั่งในประเทศไทยมี 2 ประเภท คือ ปลูกมันฝรั่งสำหรับบริโภคทั่วไปและนำไปแปรรูปส่งโรงงาน โดยร้อยละ 90 ของการผลิต เป็นการผลิตเพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับส่งโรงงานแปรรูป (มาโนช, 2541)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โรคใบไหม้ของมันฝรั่ง

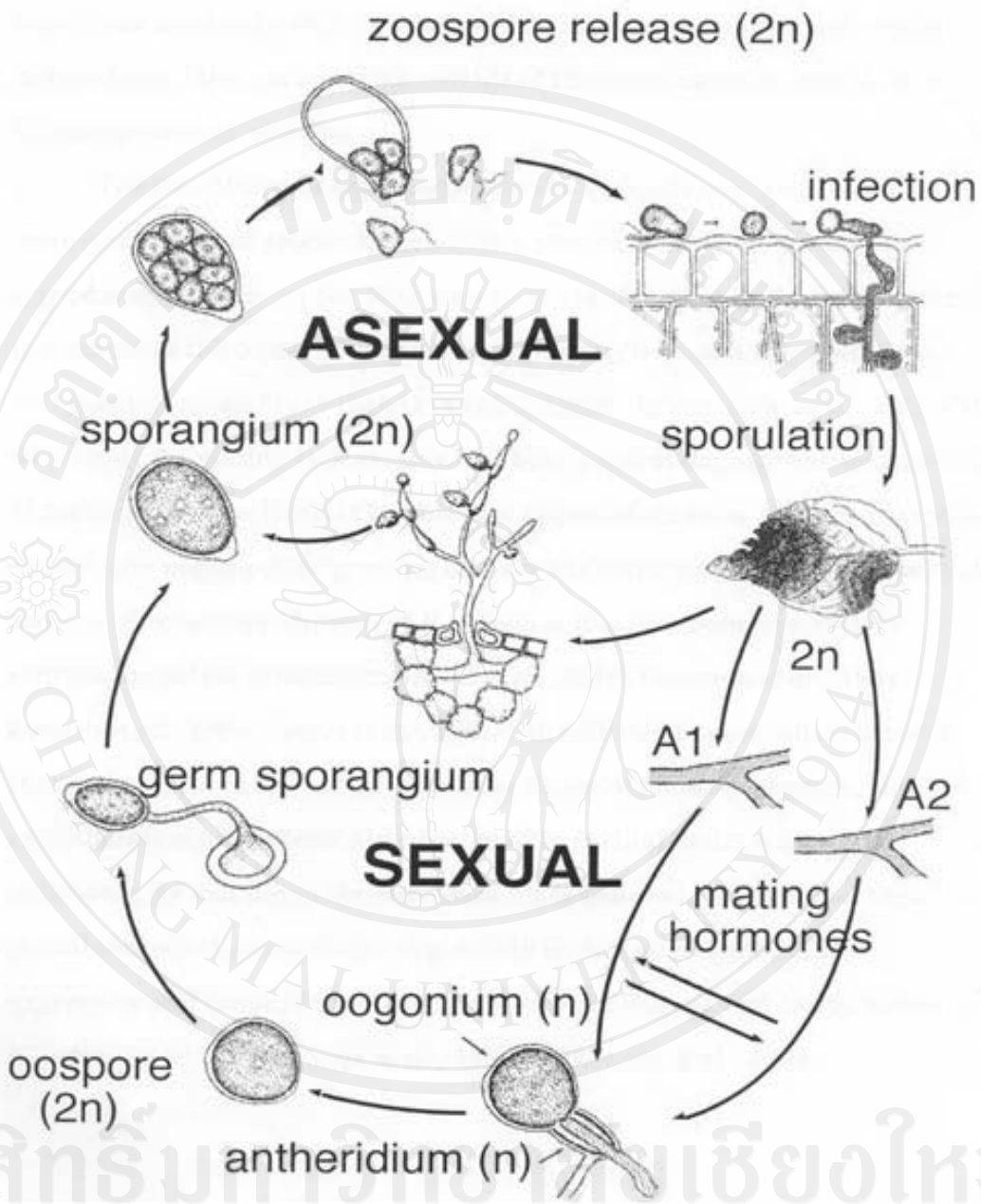
โรคใบไหม้สามารถเกิดได้กับทุกส่วนของมันฝรั่งไม่ว่าจะเป็น ใบ กิ่งก้าน ลำต้น และหัว โดยลักษณะอาการบนใบ เริ่มแรก แผลเป็นจุดฉ่ำน้ำ มีลักษณะกลมหรือรูปร่างไม่แน่นอน แผลมีลักษณะอาการไหม้คล้ายกับถูกน้ำร้อน เมื่อพลิกดูใต้ใบพบสีขาว ซึ่งนั่นคือ เส้นใยและสปอร์ของเชื้อ ถ้าอากาศชื้นต่อเนื่องกันนาน โรคสามารถลุกลามไปยังส่วนต่างๆของต้น ทำให้ทั้งต้นแห้งตายในที่สุด ในส่วนลักษณะอาการที่พบในลำต้นและกิ่งก้านนั้น เกิดแผลเน่าแห้งสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำตามแนวของลำต้นและกิ่งก้าน เมื่อเป็นมากกิ่งหักพับและต้นแห้งตาย สำหรับหัวมันฝรั่งที่เป็นโรคจะเกิดแผลลักษณะ blotch หรือแผลลึกสีน้ำตาลหรือสีม่วงดำ บริเวณแผลมักมี แบคทีเรียหรือเชื้อราชนิดอื่นๆเข้าทำลายร่วมด้วย จึงทำให้เกิดอาการเน่าเพิ่มขึ้น (นุชนารถ, 2537)

โรคใบไหม้มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Phytophthora infestans* ซึ่งเชื้ออาศัยอยู่ในเศษซากพืชที่เป็นโรคและต้นพืชที่หลงเหลือจากการเก็บเกี่ยว การระบาดเกิดจากสปอร์ถูกพัดพาไปได้โดยลม น้ำฝน แมลง และเครื่องมือทางการเกษตร เป็นต้น เชื้อสามารถเข้าทำลายมันฝรั่งได้ทุกระยะการเจริญเติบโต โดยเฉพาะในสภาพอากาศที่เย็นและมีความชื้นสูง โรคจะระบาดได้อย่างรวดเร็ว (Erwin and Riberio, 1996)

วงจรชีวิตของ *Phytophthora infestans*

เชื้อ *P. infestans* สามารถสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ (ภาพ 1) การแพร่ระบาดของโรคเป็นผลมาจากการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเป็นหลักโดยการก่อโรคเริ่มจาก sporangia (asexual spores) ที่ติดอยู่บนผิวใบปลดปล่อย zoospores ภายใต้สภาพแวดล้อมที่มืดหนาวเย็นและมีความชื้นสูง และเมื่อ zoospores ไปติดอยูบริเวณผิวใบก็จะเข้า cyst (encyst) โดยการสลัด flagella ทิ้ง และมีการงอกของ germ tube ซึ่งที่ส่วนปลายของ germ tube นี้ จะเจริญพัฒนาไปเป็น appressorium peg เพื่อแทงทะลุผ่านเซลล์พืช และ haustorium เพื่อดูดกินสารอาหารภายในเซลล์พืช จากนั้นเส้นใยของเชื้อจะเจริญไปทั่วใบพืช นอกจากนั้นเชื้อมีการสร้าง sporangia บนปลาย sporangiophore เพื่อการแพร่กระจายของเชื้อต่อไป (ภาพ 1) เชื้อ *P. infestans* เป็นพวก heterothallic ซึ่งในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศนั้นต้องอาศัยการมีทั้ง mating type A1 และ mating type A2 โดยเริ่มจากการที่ *P. infestans* ทั้งสอง mating type มาอยู่ใกล้กัน เชื้อแต่ละ mating type จะหลั่งฮอร์โมนเพื่อกระตุ้นให้เส้นใยของ mating type ตรงข้าม เจริญเปลี่ยนแปลงพัฒนาไปเป็นอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย เรียกว่า oogonium และอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้เรียกว่า antheridium หลังจากการผสมพันธุ์แบบใช้เพศจะได้ผลผลิตที่เรียกว่า oospore ซึ่งทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่หนาวเย็น แล้งจัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 1 ชีพจักรของเชื้อ *Phytophthora infestans* (Judelson, 1997)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หรือสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะต่อการเจริญแพร่พันธุ์ของเชื้อได้ (Drenth *et al.,* 1995) และเมื่อถึงฤดูเพาะปลูกพืชอาศัย oospores สามารถเจริญและเป็นแหล่ง inoculum เพื่อก่อโรคกับพืชได้ ดังเช่นการศึกษาที่พบว่า oospores ของ *P. infestans* สามารถรอดชีวิตในฤดูหนาวและทำให้เกิดการระบาดของโรคใบไหม้ในแปลงเพาะปลูกมันฝรั่งในประเทศเม็กซิโก และนอร์เวย์ (Flier *et al*., 2004)

เชื้อ *P. infestans* มี mating type 2 ชนิด คือ mating type A1 และ A2 โดยจะพบเชื้อทั้งสอง mating type นี้ในตอนกลางของประเทศเม็กซิโก ซึ่งมีรายงานการพบ oospores ในเขตพื้นที่ดังกล่าวโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตพื้นที่ Toluca Valley (Gallegly and Galindo, 1958) และเป็นที่เชื่อกันว่าบริเวณนั้นเป็นแหล่งกำเนิดของ *P. infestans* ทั้งสอง mating type นอกจากนั้นยังเป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *P. infestans* มากที่สุด (Fry *et al*., 1991; Goodwin *et al*., 1992; Fry *et al*., 1993) ส่วนประเทศอื่นๆทั่วโลกที่พบการแพร่ระบาดของเชื้อนั้นพบเพียงเชื้อที่มี mating type A1 ซึ่งจัดเป็นเป็นสายพันธุ์ดั้งเดิม (US 1) ที่สามารถกำจัดได้ด้วยสารเคมี matalaxyl นับตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 เป็นต้นมา มีรายงานการพบ *P. infestans* ทั้ง mating type A1 และ mating type A2 ในหลายๆ ประเทศทั่วโลก อันนำมาซึ่งความวิตกกังวลแก่เกษตรกรผู้เพาะปลูกมันฝรั่ง (Goodwin *et al*., 1994 ; Drenth *et al*., 1994;)

นอกจาก oospores จะเป็นโครงสร้างเพื่อการมีชีวิตรอดแล้วยังทำหน้าที่เป็น inoculum ในการแพร่ระบาดของเชื้อในสกุล *Phytophthora* ในชนิดที่เป็น homothallic (sexual spores จะถูกสร้างขึ้นใน culture เดี่ยว) โดยพบว่า oospores ของ *P. sojae* (เชื้อสาเหตุของโรคเน่าคอดินในถั่วเหลือง) ถูกสร้างขึ้นจำนวนมากในเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่ไม่เ หมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรคใบไหม้ ดังนั้นแนวโน้มที่เชื้อ *P. infestans* จะอาศัยการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เพื่อทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยอาศัยกระบวนการ meiotic recombination ทำให้ได้ลูกหลาน ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีกว่ารุ่นพ่อแม่ เช่น ความสามารถในการก่อโรคที่รุนแรงขึ้น ความสามารถในการต้านทานต่อสารเคมีควบคุม และการปรับตัวเข้าก่อโรคในพืชตระกูลอื่นๆ เป็นต้น เป็นที่เชื่อกันว่า *P. infestans* สายพันธุ์ใหม่ที่รุนแรงในการก่อโรคและต้านทานต่อสารเคมีที่พบในทวีปยุโรป และอเมริกาเหนือ นั้นเป็นผลมาจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Goodwin *et al*., 1998; Sujkowski *et al*., 1994)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระบบสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *Phythophthora infestans*

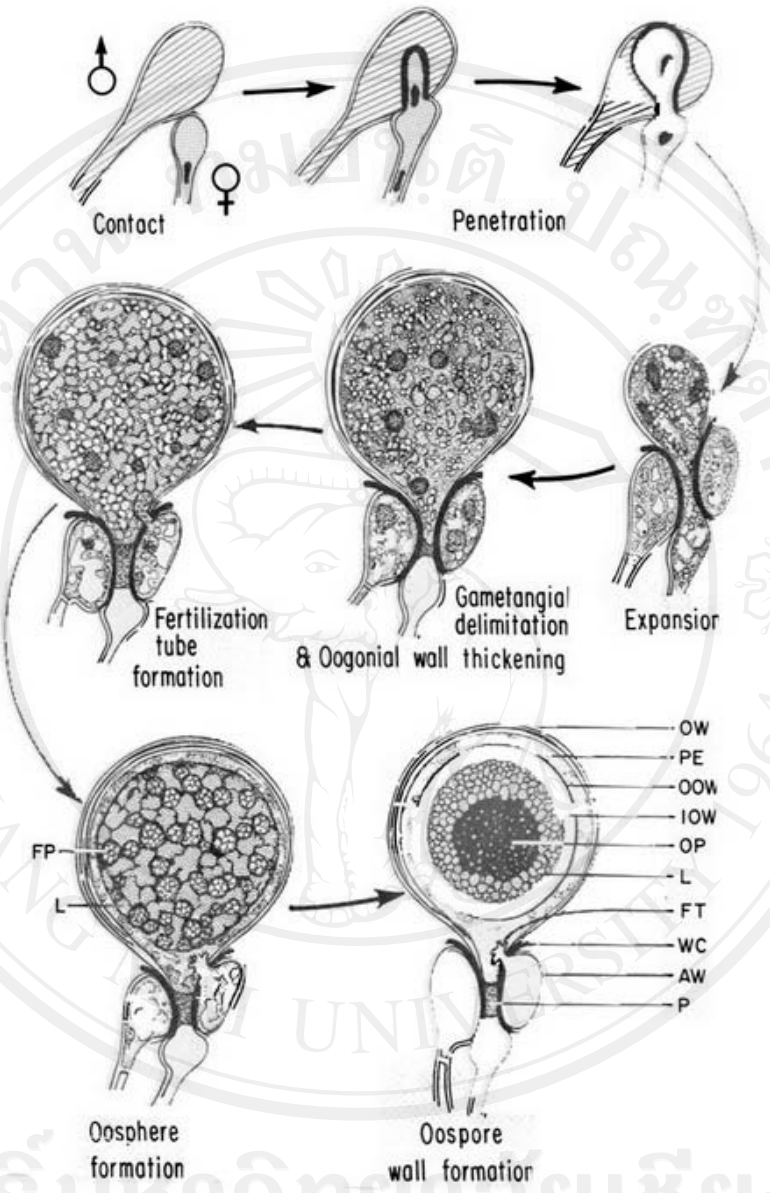
เชื้อจุลินทรีย์ในสกุล *Phytophthora* มีทั้งที่เป็น homothallic ซึ่งสามารถผลิต oospores ใน culture เดี่ยว และชนิดที่เป็น heterothallic คือต้องการการผสมพันธุ์แบบอาศัยเพศเพศระหว่าง mating type A1 และ mating type A2 ซึ่งพฤติกรรมการผสมพันธุ์ในพวก heterothallic นี้ แตกต่างจากสิ่งมีชีวิตอื่นที่ว่าการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศสามารถเกิดขึ้นได้ระหว่างต่าง species ถึงแม้ว่าทั้งสอง species มีความแตกต่างทั้งทางด้านรูปร่างสัณฐาน และทางสรีระวิทยา อย่างไรก็ตาม zygotes ที่ได้ไม่สามารถมีชีวิตรอดและเจริญแพร่พันธุ์ต่อไปได้ (Ko, 1980) แต่ละไอโซเลทของ mating type A1 และ mating type A2 เป็น bisexual ซึ่งสร้างทั้งเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียและเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (Galindo and Gallegly, 1960; Judelson, 1997) เชื้อราและ *Phytophthora* spp. จะไม่มีโครโมโซมเพศ (sex chromosomes) เหมือนที่พบในพืชและสัตว์ อย่างไรก็ตามสิ่งมีชีวิตทั้งสองชนิดนี้มีส่วนที่อยู่บนโครโมโซม เรียกว่า mating type หรือ MAT loci ดังเช่นในพวก ascomycetes ได้แก่ ยีสต์ พบว่ามี mating type “a” หรือ “alpha” แต่ใน basidiomycetes เช่น *Utilago maydis* ซึ่งมี mating type ที่ค่อนข้างซับซ้อน การเจริญ และพัฒนาทางเพศของ *P. infestans* ถูกควบคุมทั้งโดย mating loci และ sex preference loci บนโครโมโซมที่ช่วยกำหนดชนิดของ mating type และในการกำหนดเพศ ตามลำดับ ทั้งนี้ชนิดที่เป็น A1 ถูกกำหนดโดย heterozygose Aa และ A2 ถูกกำหนดโดย homozygous aa (Judelson *et al*., 1995; Fabritius *et al*., 2002; Judelson, 1997) บางไอโซเลทที่เป็น self-fertile จะเป็น trisomics (Aaa) (Fyfe and Shaw, 1992)

ในชนิดที่เป็น heterothallic ความแตกต่างของทั้งสอง mating type ขึ้นอยู่กับความสามารถในการสร้างและตอบสนองต่อสาร ที่มีโครงสร้างคล้ายไขมัน เรียกว่า ฮอร์โมน alpha-1 และ alpha-2 ซึ่งถูกสร้างโดย mating type ชนิดตรงข้ามกันขณะที่ชนิดที่เป็น homothallic สามารถสร้างและตอบสนองต่อฮอร์โมนทั้งสองชนิดที่ผลิตโดยตัวมันเอง (Judelson, 1996)

เซลล์วิทยาและพันธุศาสตร์ของระบบสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *P. infestans*

การศึกษาทางด้านสรีระวิทยาและเซลล์วิทยาของกระบวนการ mating ในสิ่งมีชีวิตในพวก oomycetes มีมาอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามความรู้ในระดับอณูชีววิทยามีเพียงเล็กน้อย ส่วนใหญ่เป็นความรู้ที่ได้จากการสังเกตและศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เริ่มจากการมีการโป่งพองของปลายเส้นใย (ภาพ 2) ซึ่งเรียกว่า gametangial initials ซึ่งต่อมาจะพัฒนาไปเป็นอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (oogonium) และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (antheridium) ช่วงที่จะมีการผสมพันธุ์ oogonial initial จะทะลุแทงผ่าน antheridial initial ทำให้เกิดการแตกสลายของผนังเซลล์ซึ่งต่อมาเกิดการขยายเป็น oogonium ในขณะเดียวกัน กระบวนการ meiosis เกิดขึ้นทั้งใน antheridium และ oogonium ได้เป็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 2 การเปลี่ยนแปลงและพัฒนา sexual spores ของเชื้อ *Phytophthora infestans* (Hemmes and Bartnicki-Garcia, 1975).

AW = antheridial wall FP = finger-print vacuole FT = fertilization tube

IOW = inner oospore wall L = Lipid-like body OOW = outer oospore wall

OP = ooplast OW = oogonial wall P = oogonial plug

PE = periplasm WC = wall collar.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

haploid nuclei หนึ่งนิวเคลียสของ antheridia เคลื่อนเข้าสู่ oogonium และรวมตัวเข้ากับหนึ่งนิวเคลียสของ oogonium ได้เป็น diploid zygote หลังจากการปฏิสนธิ cytoplasm ของ oogonium เต็มไปด้วยไขมัน โปรตีน โพลีเมอร์ (beta-linked glucose) และ vaccuoles ในขณะที่ oospores มีการเจริญเปลี่ยนแปลงพัฒนา โดยมีผนังเซลล์ที่หนาขึ้นและมีหลายชั้นถูกพัฒนา ซึ่งส่วนผนังเซลล์นี้จะช่วยป้องกัน oospores จากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ของเชื้อ เช่น ในสภาวะที่แล้งจัด หรือหนาวจัด (Hemmes and Bartnicki-Garcia, 1975) โดยปกติแล้ว oospores ต้องการระยะพักตัวเพื่อการเจริญเติบโตเต็มที่และสมบูรณ์ ทั้งนี้ระยะเวลาพักตัวแตกต่างกันไป จนกระทั่งมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการงอกเส้นใย

สารเคมี metalaxyl

metalaxyl มีชื่อทางสารเคมี คือ methey *N*- (methoxyacetyl) – N-(2,6-xylyl)-DL-alaninate (C15H21NO4) มีชื่อการค้า คือ Apron, Delta-Coat AD, Ridomil และ Subdue เป็นสารเคมีในกลุ่ม systemic benzenoid fungicide ที่ใช้ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตในกลุ่ม oomycetes โดยใช้พ่นบนใบหรือคลุกดินเพื่อควบคุม soil-borne pathogens ราดดินและคลุกเมล็ดเพื่อควบคุม downy mildew เนื่องจาก metalaxyl มีฤทธิ์ในการควบคุมกว้าง จึงเป็นที่นิยมใช้ในการควบคุมโรคในพืชผักหลายชนิด โดยกลไกการออกฤทธิ์โดยไปยับยั้งการนำ uredine เข้าเป็นองค์ประกอบของ RNA (uredine incorporation) และยับยั้งเอ็นไซม์ RNA-polymerase-1 ที่จำเป็นในขบวนการถอดรหัสดีเอ็นเอ (transcription) ถึงแม้ว่าการใช้สารเคมี metalaxyl จะได้ผลดีแต่ก็พบว่าเชื้อ *P. infestans* ที่มีจีโนไทป์ชนิดใหม่มีความต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl ดังเช่นในงานวิจัยของ Dreath *et al*. (1995) ได้รายงานไว้ว่าในปี 1991 พบเชื้อ *P. infestans* ในประเทศสหรัฐอเมริกาเริ่มต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl

พันธุศาสตร์ประชากรเชื้อ *Phytophthora infestans*

การแจงลักษณะประชากร เชื้อ *P. infestans* มีขึ้นเพื่อให้เข้าใจถึงลักษณะทางพันธุกรรมและลักษณะทางฟีโนไทป์ของประชากรเชื้อ *P. infestans* ในแต่ละพื้นที่ ทั้งนี้การแจงลักษณะประชากรดังกล่าวต้องอาศัยข้อบ่งชี้ต่างๆ (markers) เช่น mating type ซึ่งเป็นข้อบ่งชี้ตัวแรกที่ทำให้เข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงของประชากรเชื้อ *P. infestans* นอกจากนั้นยังมีข้อบ่งชี้ Allozyme alleles ของเอนไซม์ glucose-6-phosphate isomerase (Gpi) malic (Me) และ peptidase (Pep) ซึ่งนอกจากจะให้ข้อมูลที่แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *P. infestans* เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีโครโมโซมแบบ diploid แล้ว ยังเป็นข้อบ่งบอกอันแรกที่ใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบความหลากหลายทางชีวภาพของประชากรเชื้อ *P.*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

infestans ในหลายๆกลุ่มประชากรจากหลายพื้นที่ นอกจากนั้นเทคนิค nuclear DNA fingerprinting ได้ถูกนำมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายของประชากรเชื้อ *P. infestans* โดยอาศัย probe เพียงชนิดเดียว คือ RG57 ที่สามารถติดตามแถบ DNA ของ Allozyme alleles และแถบ DNA อื่นๆ ที่มีการถ่ายทอดตามกฎของ Medel ได้ และการตรวจวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ mitochondria (mitochondrial DNA haplotypes) ก็เป็นข้อบ่งชี้ชนิดหนึ่งที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน นอกจากข้อบ่งชี้ทางพันธุกรรม (genetic markers) ที่ได้กล่าวไปแล้ว ข้อบ่งชี้ทางลักษณะการแสดงออก (phenotypic markers) เช่น ความสามารถในการต้านทานสารเคมีควบคุม metalaxyl (metalaxyl resistance) และความสามารถในการก่อโรค (pathogenesis) ยังถูกใช้แจงลักษณะประชากรเชื้อ *P. infestans* (Fry *et al*., 1993)

Fry *et al*. (1993) ได้ศึกษาประวัติศาสตร์ของเชื้อ *P. infestans* และพบว่าในช่วงก่อนปี ค.ศ. 1840 มีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่า mating A2 พบอยู่ในตอนกลางของประเทศเม็กซิโกเท่านั้น เป็นที่เชื่อกันว่าพื้นที่ในเขต Toluca Valley เป็นแหล่งกำเนิดของเชื้อ *P. infestans* โดยตรวจพบ mating type ทั้งสองชนิดในอัตราส่วนที่เท่ากัน นอกจากนั้นประชากร เชื้อ *P. infestans* ที่พบในพื้นที่ดังกล่าวมีความหลากหลายมากในแง่ของความรุนแรงในการก่อโรค และยังพบเชื้อที่มี allozyme alleles ครบทุกแบบ และให้แถบ DNA fingerprints ที่หลากหลาย และพบหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าเชื้อในพื้นที่นี้มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ตั้งแต่ ค.ศ. 1840 การ migration ของประชากรเชื้อ *P. infestans* เกิดขึ้นเป็นครั้งแรก โดยมีการแพร่ระบาดจากประเทศเม็กซิโก ไปยังประเทศแคนาดาและสหรัฐอเมริกาเหนือ โดยพบว่ามีโรคมันฝรั่งชนิดใหม่เกิดขึ้นคือ โรคใบไหม้ในประเทศดังกล่าว รวมทั้งทุกประเทศเกือบทั่วโลกที่มีการเพาะปลูกมันฝรั่ง ทั้งนี้การ migration ของประชากรเชื้อ *P. infestans* นั้นเป็นผลมาจากการค้าเมล็ดพันธุ์มันฝรั่งระหว่างประเทศ (International trade in seed potatoes) และจากการศึกษาความสัมพันธ์ของประชากรของเชื้อแต่ละกลุ่มกว่า 250 ไอโซเลท จาก 10 ประเทศ พบว่าประชากรเชื้อ *P. infestans* ที่มีการ migration เข้ามาระหว่างปี ค.ศ. 1840 ถึง ค.ศ.1870 นั้น มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกัน โดยมีลักษณะทางพันธุกรรมที่เด่น (ในความถี่ > 50) นอกจากนี้ยังมีข้อมูลและหลักฐานการศึกษาวิจัยที่ชี้ให้เห็นว่าประชากร *P. infestans* ในประเทศยูเรเซีย แอฟริกา และอเมริกาใต้ มีต้นกำเนิดเดียวกันหรือเป็นสายพันธุ์เดียว (clonal lineage) ขณะที่ประชากรเชื้อ *P. infestans* ของประเทศแคนาดาและเมริกาเหนือ ส่วนใหญ่มีต้นกำเนิดมาจากสายพันธุ์ดั้งเดิม และส่วนน้อยที่ถือกำเนิดมาจากสายพันธุ์อื่นๆ ส่วนในตอนกลางของประเทศเม็กซิโกนั้น พบประชากรเชื้อ *P. infestans* มีสายพันธุ์ที่หลากหลาย ทั้งนี้เนื่องมาจากผลของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ หากสายพันธุ์ดั้งเดิมที่กล่าวถึงนี้เป็นตัวแทนของ ประชากรรุ่นลูกหลานของเชื้อแล้วนั้น สามารถกำหนดเส้นทางการ migration ของเชื้อได้คร่าวๆ คือ การ migration ของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประชากรเชื้อ *P. infestans* ตั้งต้นจากพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูงไปสู่พื้นที่ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *P. infestans* ที่น้อยกว่า เช่น จากประเทศเม็กซิโก อพยพสู่ประเทศสหรัฐอเมริกา และจากสหรัฐอเมริกา ไปสู่ประเทศในทวีปยุโรป และจากประเทศในทวีปยุโรป สู่ประเทศในทวีปเอเชีย และแอฟริกา และอเมริกาใต้ เป็นต้น และพบว่าการ migration ของประชากรเชื้อ *P. infestans* เกิดขึ้นอีกครั้งในช่วง ค.ศ. 1970 ซึ่งในครั้งนี้มีการ นำเอา เชื้อที่เป็น mating type A2 ไปด้วย ซึ่งหลังจากนั้นเป็นต้นมามีการรายงานการพบเชื้อ *P. infestans* สายพันธุ์ใหม่และชนิดที่เป็น mating A2 ในหลายๆประเทศในหลายทวีป ทั้งนี้สามารถอธิบายข้อเท็จจริงเกี่ยวกับการ migration ของเชื้อในครั้งนี้ได้ดังนี้คือ การส่งออกและนำเข้าหัวมันฝรั่ง และเมล็ดพันธุ์มันฝรั่งที่เป็นโรค โดยขณะนั้นมีการส่งออกมันฝรั่งเป็นจำนวนมากจากประเทศเม็กซิโกไปยังประเทศในแถบทวีปยุโรป และการนำเข้าเมล็ดพันธุ์มันฝรั่งหรือผลมันฝรั่งจากประเทศทวีปยุโรปสู่ประเทศต่างๆในทวีปอื่นๆทั่วโลก เป็นสาเหตุในการนำเชื้อ *P. infestans* สายพันธุ์ใหม่เข้าสู่ประเทศเหล่านี้ และจากหลักฐานการศึกษาในประเทศแถบยุโรปพบว่า มีการแทนที่สายพันธุ์ดั้งเดิมโดยสายพันธุ์ใหม่ อย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ไม่พบการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์ใหม่และสายพันธุ์เก่า (genetic recombination) อาจเป็นไปได้ว่า สายพันธุ์ใหม่นี้แข็งแรงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม ดังเห็นได้จากการดื้อสารเคมีควบคุม metalaxyl ของสายพันธุ์ใหม่เหล่านี้ การ migration และการแทนที่ของสายพันธุ์ใหม่ยังมีให้เห็นในหลายประเทศ เช่น ในประเทศญี่ปุ่นพบการลดลงของประชากรดั้งเดิมในทุกๆปี ในขณะที่พบสายพันธุ์ใหม่มีจำนวนมากขึ้น และพบในหลายแหล่งเพาะปลูกมันฝรั่ง และจากการที่ตรวจพบเชื้อ *P. infestans* ชนิดที่มี mating type A2 ในหลายประเทศทั่วโลกนั้น

ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงเล็งเห็นถึงความจำเป็นของศึกษาถึงผลที่เกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อ ทั้งนี้หากเชื้อ *P. infestans* มีการผสมพันธุ์แบบอาศัยเพศ จึงมีความเป็นไปได้ว่าลูกหลานที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะพันธุกรรมที่ดีทั้งต่อการเข้าทำลายพืชและการต้านทานต่อสารเคมีควบคุมได้ดีกว่ารุ่นพ่อแม่ นอกจากนั้น oospores ที่ได้จากการผสมพันธุ์จากการใช้เพศสามารถมีชีวิตรอดผ่านฤดูที่เว้นว่างจากการเพาะปลูกและเป็นแหล่ง inoculums ที่สำคัญต่อการระบาดของโรคใบไหม้ในฤดูถัดไป ด้วยเหตุนี้จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์หลายๆประเทศเริ่มกังวลถึงความเป็นไปได้ที่การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อ *P. infestans* จะมีบทบาทต่อการระบาดของโรคใบไหม้มากขึ้น และความจำเป็นเร่งด่วนที่ต้องแจงลักษณะประชากรเชื้อ *P. infestans* ควบคู่ไปกับการกำหนดมาตรการในควบคุม ระมัดระวังการระบาดของโรคใบไหม้ที่อาจรุนแรงขึ้นในอนาคต

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์หลายๆประเทศหันมาศึกษาวิเคราะห์ประชากรเชื้อ *P. infestans* ในหลายพื้นที่และหลายประเทศมากยิ่งขึ้น ดังเช่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Goodwin (1991) ได้รายงานว่าเชื้อ *P. infestans* ที่มีจีโนไทป์ US-1 ที่พบส่วนมากมี mtDNA haplotype A (หรือ เรียก type Ib โดย Carter *et al.*, 1990)

Goodwin (1997) กล่าวไว้ว่า migration และ recombination (การรวมกันของลักษณะพันธุกรรม) เป็นกระบวนการที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรของเชื้อ *P. infestans* เนื่องจาก migration เป็นการย้ายถิ่นของประชากรเชื้อจากที่หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่งจึงทำให้เกิดความแตกต่างทางพันธุกรรมขึ้นในหลายพื้นที่โดยมีข้อมูลทางพันธุกรรมและหลักฐานทางประวัติศาสตร์ที่ชี้ให้เห็นว่าประชากรของเชื้อ *P. infestans* ในประเทศเม็กซิโกนั้นมีความผันแปรสูงมาก ซึ่งพบเชื้อที่มี mating type A1 และ A2 และเชื่อว่าการ migration ครั้งแรก เริ่มจากการที่ประเทศเม็กซิโกได้ส่งออกมันฝรั่งสู่ประเทศในแถบยุโรปและประเทศสหรัฐอเมริกา จนกระทั่งในปี 1843 มีการตรวจพบเชื้อ *P. infestans* ในประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นครั้งแรก แต่ตรวจพบประชากรที่มี mating type A1 เท่านั้น เชื้อจึงอาศัยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเพียงอย่างเดียว และมีจีโนไทป์ US-1 ถือเป็นจีโนไทป์ดั้งเดิมที่พบในประเทศเม็กซิโกและประเทศอื่นๆทั่วโลก และเป็นประชากรเชื้อที่สามารถควบคุมได้โดยสารเคมี metalaxyl

Goodwin *et al.* (1998) ศึกษาโครงสร้างประชากรของเชื้อ *P. infestans* ที่พบในประเทศสหรัฐอเมริกาและแคนาดา ในปี 1994-1996 โดยตรวจพบจีโนไทป์ใหม่ๆ เช่น US-7 และ US-8 โดยพบว่าทั้ง 2 จีโนไทป์นี้มี mating type A2 และต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl และยังพบอีกว่าเชื้อที่มีจีโนไทป์ US-8 มีความสามารถในการทำลายมันฝรั่งได้รวดเร็วและรุนแรงยิ่งขึ้นอีกด้วย ทั้งนี้ก็เป็นผลมาจากกระบวนการ migration และ recombination ของเชื้อที่มีต้นกำเนิดมาจากประเทศเม็กซิโกนั่นเอง

Nishimura *et al.* (1999) ทำการวิเคราะห์ประชากร *P. infestans* ที่เก็บจากประเทศต่างๆในแถบเอเชีย ตั้งแต่ปี 1992-1997 คือประเทศเกาหลี ไต้หวัน อินเดีย อินโดนีเซีย ไทย และเนปาล ซึ่งพบว่าไอโซเลทที่เป็น mating type A2 ได้เกิดการระบาดแล้วในแถบเอเชีย

Wilmer *et al.* (2001) ศึกษาโครงสร้างของประชากรเชื้อ *P. infestans* ที่พบในประเทศเปรู ในปี 1997-1999 โดยพบเฉพาะเชื้อที่มี mating type A1 ที่มีความหลายหลายมากขึ้น เนื่องจากพบเชื้อ *P. infestans* ทั้งหมด 5 จีโนไทป์ ดังนี้ US-1 (type Ib) และ EC-1 (type IIa) ซึ่งเป็น จีโนไทป์ ที่เคยพบในประเทศเปรู และอีก 3 จีโนไทป์ คือ PE-3 (type Ia) PE-5 (type IIa) และ PE-6 (type IIa) เป็นจีโนไทป์ที่พบใหม่

Gotoh *et al.* (2005) ได้ศึกษาและแจงลักษณะของประชากรเชื้อ *P. infestans* ที่พบในแถบเอเชีย ทั้งหมด 8 ประเทศด้วยกัน คือ ประเทศเกาหลี อินเดีย ไต้หวัน อินโดนีเซีย ไทย เนปาล จีน และญี่ปุ่น พบว่าเชื้อที่เก็บได้ในแต่ละประเทศนั้นจะมีลักษณะทางพันธุกรรมที่เฉพาะต่อสายพันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เช่น เชื้อที่เก็บได้ในประเทศจีน (1996-1997) มีจีโนไทป์ CN-1 ถึง CN-8 ซึ่งมีลักษณะทางพันธุกรรมที่ไม่เหมือนกับเชื้อที่เก็บได้จากประเทศเกาหลี (1992) คือ จีโนไทป์ KR-1 นอกจากนั้นยังพบว่าในบางประเทศ นอกจากจะมีเชื้อที่มีจีโนไทป์เฉพาะของแต่ละประเทศแล้วยังมีจีโนไทป์ที่พบในประเทศอื่นด้วย เช่น ประเทศอินเดีย พบเชื้อที่มีจีโนไทป์ IN-1 และ IN-2 ซึ่งเป็นจีโนไทป์เฉพาะของประเทศอินเดีย และ NP-1 ซึ่งเป็นจีโนไทป์เฉพาะของประเทศเนปาล สำหรับในประเทศไทย พบว่าเชื้อที่ใช้ศึกษาทดลองนั้น เก็บได้ในปี ค.ศ. 1994 จำนวน 44 ไอโซเลทซึ่งเป็นเชื้อที่มีจีโนไทป์เฉพาะของไทย คือ TH-1 และยังพบจีโนไทป์ US-6 และ US 1-3 อีกด้วย จากการสำรวจยังพบอีกว่า ไอโซเลทที่พบในไทยนั้นมีทั้ง mating type A1 (22 ไอโซเลท) mating type A2 (22 ไอโซเลท) และมี mitochondrial DNA haplotype เป็น Ia แต่เชื้อทั้งหมดที่พบนั้นอ่อนแอต่อสารเคมี metalaxyl

กมลศิริ (2546) รายงานไว้ว่าจากการศึกษาโครงสร้างประชากรเชื้อ *P. infestans* ที่พบใน จ.ตากและเชียงใหม่ โดยอาศัยข้อบ่งชี้ทางฟีโนไทป์ คือ mating type และความไวต่อสารเคมี metalaxyl พบว่าเชื้อส่วนใหญ่จะต้านทานต่อสารเคมี metalaxyl และเชื้อ *P. infestans* ทุกไอโซเลทมี mating type A1

Prakob *et al.* (2007) รายงานว่าเชื้อ *P. infestans* ที่แยกได้จากใบมันฝรั่งที่เป็นโรคใบไหม้จากเขตพื้นที่เพาะปลูกใน จ.เชียงใหม่ ทั้งหมด 81 ไอโซเลท พบเฉพาะ mating type A1 และเชื้อส่วนใหญ่นั้นอ่อนแอต่อสารเคมี metalaxyl

จะเห็นได้ว่าการแจงลักษณะประชากรเชื้อ *P. infestans* ทั้งทางพันธุกรรมและลักษณะการแสดงออกนั้น นอกจากมีความสำคัญต่อการเข้าใจโครงสร้างของประชากรของ *P. infestans* ในแต่ละพื้นที่แล้ว ยังมีประโยชน์ต่อการเข้าใจการถ่ายเทลักษณะพันธุกรรม (gene flow) ในระหว่างพื้นที่ด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved