บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวของ

มะม่วงน้ำดอกไม้

มะม่วงเป็นผลไม้เมืองร้อนและเป็นไม้ยืนต้นประจำชาติที่มีต้นกำเนิดมาจากประเทศอินเดีย มะม่วงรับประทานได้ทั้งผลดิบและผลสุก มีรสชาติดี มีรสเปรี้ยว มัน และหวานมีเส้นใยอาหารและวิตามินสูง รวมทั้งให้พลังงานมาก นอกจากนี้ยังสามารถต้านสารอนุมูลอิสระได้ สายพันธุ์มะม่วงมีหลากหลายชนิด สายพันธุ์ที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย เช่น น้ำดอกไม้ เขียวเสวย แรด โชคอนันต์ อกร่อง ฟ้าลั่น แก้ว มหาชนก เป็นต้น ประโยชน์ของมะม่วงมีมากมาย ผลมะม่วงใช้ประกอบอาหาร เช่น ทำน้ำพริก ยำมะม่วง เป็นต้น หรือนำมาแปรรูป เช่น มะม่วงกวน มะม่วงดอง มะม่วงแช่อิ่ม เป็นต้น เนื้อไม้ของต้นมะม่วงสามารถใช้ทำเป็นเฟอร์นิเจอร์ ลักษณะทั่วไปของมะม่วงเป็นไม้พุ่มยืนต้นสูงประมาณ 15 เมตร ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว ปลายใบเรียวแหลม ออกดอกเป็นช่อที่ปลายกิ่งก้านดอกสั้น ลักษณะของผลมะม่วงขึ้นอยู่กับรูปทรง ขนาด และสีเปลือกผิวของมะม่วงแต่ละสายพันธุ์นั้น ๆ สามารถบริโภคได้ทั้งผลดิบและผลสุก

มะม่วงน้ำดอกไม้ จัดอยู่ในวงวงศ์ Anacardiaceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Mangifera indica* Linn. ปัจจุบันพบการปลูกมะม่วงน้ำดอกไม้ได้ทุกภาค และมีการปลูกเพื่อการค้าและการส่งออกมากในภาคตะวันออก ภาคกลาง และภาคตะวันตก มะม่วงน้ำดอกไม้เป็นไม้ยืนต้น ลำต้นเป็นทรงพุ่มโปร่ง ใบเป็นใบเดี่ยวมีขนาดใหญ่ สีเขียวเข้มและเป็นมัน ออกดอกเป็นช่อแขนงที่ปลายกิ่ง ลักษณะผลมะม่วงน้ำดอกไม้ผลมีขนาดใหญ่ และเรียวเล็กลงที่ปลายผล น้ำหนักต่อผลประมาณ 250-400 กรัม ผลอ่อนมีสีเขียวนวล ผลสุกมีสีเหลืองนวล เปลือกบาง มีรสหวานและมีกลิ่นหอม ส่วนเมล็ดมีขนาดเล็กและลีบแบน สายพันธุ์ของมะม่วงน้ำดอกไม้ที่นิยมปลูก ได้แก่ น้ำดอกไม้สีทองและน้ำดอกไม้เบอร์ 4 สำหรับมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองเมื่อผลสุกจะมีสีเหลืองทอง เนื้อละเอียด สามารถทนโรคและแมลงได้ดี ส่วนมะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์ 4 ผลสุกมีสีเหลืองเข้ม เปลือกบาง เนื้อละเอียด และมีกลิ่นหอม (ภูวนารถ นนทรีย์, 2545 : 12) โรคที่เกิดในมะม่วงน้ำดอกไม้ที่มีความสำคัญมากที่สุดคือ โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายเนื้อเยื่อพืชของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยสามารถ ก่อให้เกิดความเสียหายให้กับมะม่วงได้ทุกระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะต้นกล้า ระยะต้นโต ระยะแทงช่อดอกและระยะติดผล เมื่อเกิดโรคช่อดอกมีลักษณะไหม้ดำ ดอกหลุดร่วง (เตือนใจ บุญ-หลง, สุชาติ วิจิตรานนท์ และแสงมณี ชิงดวง, 2545 : 37) นอกจากนี้ยังสามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกส่วน เช่น ใบ กิ่ง ช่อดอก และผล ลักษณะของโรคบนใบเริ่มจากมีจุดสีน้ำตาลเล็ก ๆ

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

ใบแห้งมีลักษณะบิดงอผิดรูปร่าง และมีการแพร่กระจายลุกลามไปยังส่วนต่างๆของพืช เป็นเหตุให้ผลร่วงจากต้นก่อนการเก็บเกี่ยว (Arauz, 2000 : 601-602) โดยทั่วไปการเกิดโรคแอนแทรคโนสจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถเข้าทำลายพืชได้โดยตรงเมื่อมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และเข้าไปแฝงอยู่ในบริเวณพื้นผิวของพืชเมื่อผลไม้เกิดการสุกแก่เชื้อจึงเข้าทำลายเซลล์ของพืชและก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชซึ่งเป็นอีกช่องทางหนึ่งในการทำลายพืชโดยไม่ต้องอาศัยบาดแผลบนผิวของพืช (Jeffries, P. et al. 1990 : 345) เชื้อรา *C. gloeosporioides* มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) และการสืบพันธุ์แบบไมอาศัยเพศ (asexual reproduction) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เชื้อราจะสราง perithecia และเจริญตอไปเปน ascospore สวนการสืบพันธุแบบไมอาศัยเพศเชื้อราจะสราง acervuli และเจริญตอไปเปน conidia ส่วนใหญ่เชื้อที่เขาทำลายในส่วนของผลมะมวงจะมีการสืบพันธุแบบไมอาศัยเพศ โดย conidia จะถูกพัดพามากับลมและฝน เมื่อมีอุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสมเชื้อราก็จะเจริญและเข้าทำลายพืชได้ ส่วนใหญ่มักพบการเข้าทำลายพืชในช่วงฤดูฝน (ณัฏฐวัฒณ หมื่นมาณ, 2558 : 388) เชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถก่อโรคในพืชต่างๆ ได้หลายชนิด วิธีการคัดแยกเชื้อราทางด้านอณูชีววิทยาในระดับโมเลกุลสามารถชวยใหการจำแนกชนิดของเชื้อรามีความถูกตองแม่นยำมากยิ่งขึ้น (Whitelaw-Weckert, M. A. et al. 2007 : 449)

Colletotrichum gloeosporioides

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุหลักสำคัญที่ก่อโรคแอนแทรคโนสในพืชหลากหลายชนิดทั้งพืชตระกูลถั่ว หญ้า ผัก ไม้ผลและไม้ประดับ เป็นต้น ทำให้พืชเกิดความเสียหาย โดยเชื้อราสามารถเข้าทำลายทุกส่วนของพืชได้โดยตรงตั้งแต่ลำต้น ใบ ก้าน ดอก ผล ราก และเมล็ด โดยไม่ต้องผ่านทางบาดแผล เชื้อจะเข้าทำลายเนื้อเยื่อพืชและผลผลิตตั้งแต่ระยะเริ่มแรกจะเข้าทำลายพืชแบบแฝง (quiescent infection) โดยยังไม่แสดงอาการของโรค จะแสดงอาการชัดเจนเมื่อผลผลิตเริ่มสุก การเข้าทำลายพืชนี้พบกระจายอยู่ทั่วไปในแปลงปลูกเขตร้อนชื้น การระบาดของโรคเกิดจากสปอร์ของเชื้ออาศัยฝน ลม หรือแมลง ช่วยให้สปอร์แพร่กระจายไปยังพืชในแปลงเพาะปลูก เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจะสามารถเจริญเป็นเส้นใยเข้าทำลายต้นพืชหรือผลผลิตได้อย่างรวดเร็ว ลักษณะของโรคแอนแทรคโนสจะเห็นได้ชัดเจนเมื่อผลผลิตเริ่มสุก จะเกิดจากจุดแผลสีน้ำตาลเป็นวงกลมหรือวงรีขนาดเล็กและขยายวงกว้างใหญ่ขึ้น โรคแอนแทรคโนสที่เกิดบนใบอ่อนจะทำให้เกิดจุดสีเทากระจายทั่วบริเวณใบและใบมีลักษณะหงิกงอ (สมศิริ แสงโชติ และเนตรนภิส เขียวขำ, 2549 : 73) โรคแอนแทรคโนสที่เข้าทำลายกิ่ง ทำให้กิ่งเกิดอาการไหม้ได้ โรคแอนแทรคโนสในมะม่วง สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* อาการที่

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ใบอ่อนเริ่มจากการเป็นจุดสีดำ ใบบิดเบี้ยว เมื่อมะม่วงออกดอก เชื้อราจะเข้าทำลายที่ช่อดอกทำให้ช่อดอกแห้งและดอกร่วง

1.1 การจัดจำแนก *Colletotrichum gloeosporioides* ตามหลักอนุกรมวิธาน ดังนี้

Sub-division Deuteromycotina

Class Coelomycetes

Order Melanconiales

Family Melanconialeae

Genus *Colletotrichum*

1.2 ลักษณะของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides*

การเจริญเติบโตของ *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA (potato dextrose agar) มีลักษณะโคโลนี (colony) ขอบเรียบเจริญเป็นวงแหวน (concentric ring) เส้นใยฟูเล็กน้อย มีสีขาวอมเทา สร้างโคนิเดีย (conidia) สีส้ม เป็นเซลล์เดียว ใสไม่มีสี (hyaline) สร้าง conidia รูปทรงกระบอก หัวท้ายมนไม่มี setae ลักษณะอาการของโรคเริ่มแรกเมื่อผลเริ่มสุกมีลักษณะเป็นจุดสีดำขนาดเล็กๆ และจุดดำจะขยายใหญ่มากขึ้นเมื่อผลสุกเต็มที่ จุดแผลที่ขยายใหญ่ขึ้นจะมีสีน้ำตาลหรือสีดำทรงกลม บริเวณที่เป็นโรคจะมีการยุบตังลงของผลมะม่วง ทำให้เนื้อนิ่มเละ มีน้ำไหลเยิ้มและมีกลิ่น การระบาดวิทยา (Epidemiology) ของราสกุล *Colletotrichum* พบได้มากในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน และสามารถแพร่กระจายได้ทั่วโลก

1.3 **กลไกการเกิดโรค**

เชื้อรา *Colletotrichum* สามารถเข้าทำลายเซลล์พืชได้ทุกส่วน เช่น กิ่ง ก้าน ใบ ช่อดอก และผลอ่อน เชื้อราสามารถเข้าทำลายเซลล์พืชได้โดยไม่ต้องมีบาดแผล การเข้าทำลายเซลล์พืชโดยเฉพาะบริเวณใบอ่อนทำให้เกิดโรคได้ร้อยละร้อย บริเวณที่เชื้อราเข้าทำลายใบอ่อนจะแสดงอาการฉ่ำน้ำ และเซลล์บริเวณเนื้อเยื่อใบอ่อนจะตาย จึงทำให้เกิดสีน้ำตาลที่ใบอ่อน ขนาดของแผลเริ่มแสดงอาการลุกลามไปทั่ว ทำให้ใบมีลักษณะบิดงอผิดรูปร่าง สำหรับใบแก่จะเกิดการติดเชื้อราได้ยากกว่าใบอ่อน สปอร์ของเชื้อราเมื่อได้รับความชื้นที่เหมาะสมจะงอก germ tube และสร้าง appressorium สามารถยึดเกาะบนผิวของพืชและสร้าง infection tube แทงผ่านผิวของพืชในชั้น epidermal cell จากนั้นจะปล่อยสารพิษเข้าสู่เซลล์พืชทำให้เซลล์พืชตาย สปอร์ของเชื้อราสามารถแพร่ระบาดได้โดยน้ำและแมลง หรือการติดไปกับเมล็ดซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ตรงบริเวณเปลือก ต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดที่มีเชื้อราจะมีอาการรากเน่า

1.4 การจัดการควบคุมการเกิดโรค

การควบคุมหรือการป้องกันโรคแอนแทคโนสในมะม่วง ปัจจุบันมีการดื้อยาของเชื้อเพิ่มมากขึ้น ต้องเลือกสารเคมีให้เหมาะสมและมีประสิทธิภาพกับเชื้อราของโรคแอนแทรคโนส ซึ่งเชื้อราของโรคแอนแทรคโนสดื้อต่อสารเคมีหลายชนิด จากการที่เชื้อราสามารถเข้าทำลายต้นมะม่วงได้ทุกระยะของการเจริญเติบโตของต้นมะม่วง วิธีการใช้สารเคมีจะใช้ในลักษณะของการป้องกันมากกว่าการรักษา หากควบคุมโรคไม่ได้และเกิดการแพร่ระบาดมากขึ้นพืชจะได้รับความเสียหายจากโรค อาจต้องใช้ยาหรือสารเคมีในการควบคุมและป้องกันเพิ่มขึ้น

การป้องกันและการกำจัดโรคแอนแทรคโนส ดังนี้

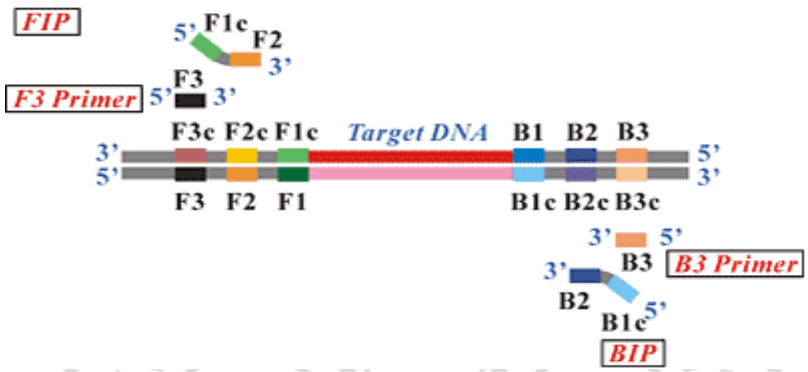
1. กำจัดส่วนประกอบของพืชที่เป็นโรคโดยวิธีการเผา
2. คัดเลือกเมล็ดพันธุ์ที่สมบูรณ์เพื่อใช้ในการเพาะปลูก
3. ปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อไม่ให้เกิดการระบาดของโรค
4. ไม่ปลูกพืชในแหล่งเพาะปลูกที่เคยเป็นโรค
5. ฆ่าเชื้อที่เมล็ดพันธุ์โดยการแช่ในน้ำอุ่น 49 องศสเซลเซียส เวลา 20 นาที
6. ฉีดพ่นด้วยฆ่าเชื้อด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์ม่า
7. เมื่อพบอาการของโรค ควรพ่นสารป้องกันกำจัดเป็นระยะๆ เช่น คาร์เบนดาซิม, โพรคลาราซ, ไตรฟลอกซีสโตรบิน และโพรพิเนบ

เทคนิค Loop-mediated isothermal Amplification (LAMP)

เป็นเทคนิคการเพิ่มจำนวนกรดนิวคลีอิก ณ อุณหภูมิคงที่ และตรวจสอบได้ด้วยขั้นตอนเดียวกันด้วย เทคนิคนี้มีความจำเพาะสูงเพราะอาศัยไพรเมอร์ 2 คู่ จำนวน 4 เส้น ซึ่งสามารถตรวจสอบความจำเพาะกับเป้าหมายได้ถึง 6 ตำแหน่ง คือ F1, F2, F3, B1, B2, และ B3 ไพรเมอร์ forward inner primer (FIP) ประกอบด้วยลำดับเบสบริเวณ F1c และ F2 ซึ่งเป็นลำดับเบสคู่สมกับ F1 และ F2c ไพรเมอร์ backward inner primer (BIP) ประกอบด้วยลำดับเบสบริเวณ B1c และ B2 ซึ่งเป็นลำดับเบสคู่สมกับ B1 และ B2c ไพรเมอร์ Forward outer (F3 Primer) ประกอบด้วยลำดับเบสบริเวณ F3 ซึ่งเป็นลำดับเบสคู่สมกับ F3c และไพรเมอร์ backward outer (B3 Primer) ประกอบด้วยลำดับเบส B3c ซึ่งเป็นลำดับเบสคู่สมกับ B3 และไพรเมอร์ loop forward (LF) และ loop backward (LB) ที่ช่วยเพิ่มความไวของปฏิกิริยาได้มากขึ้นกว่าเดิม ดังภาพที่ 2.2 ไพรเมอร์ทั้งหมดที่ใช้ในปฏิกิริยาสามารถช่วยเพิ่มปริมาณกรดนิวคลีอิกได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาอันรวดเร็วโดยมีเอ็นไซม์เข้ามาช่วยในการเกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส โดยไม่ต้องอาศัยความร้อนสูงช่วยในการคลายเกลียวของดีเอ็นเอสายสายคู่ให้กลายเป็นเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวในเทคนิคพีซีอาร์ เนื่องจากคุณสมบัติของเอนไซม์ *Bst* DNA polymerase มีหลักการทำงานแบบ

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

strand displacement จึงทำให้ปฏิกิริยาในเทคนิค LAMP สามารถเพิ่มจำนวนกรดนิวคลีอิกได้สูง โดยใช้ระยะเวลาเพียง 60 นาที



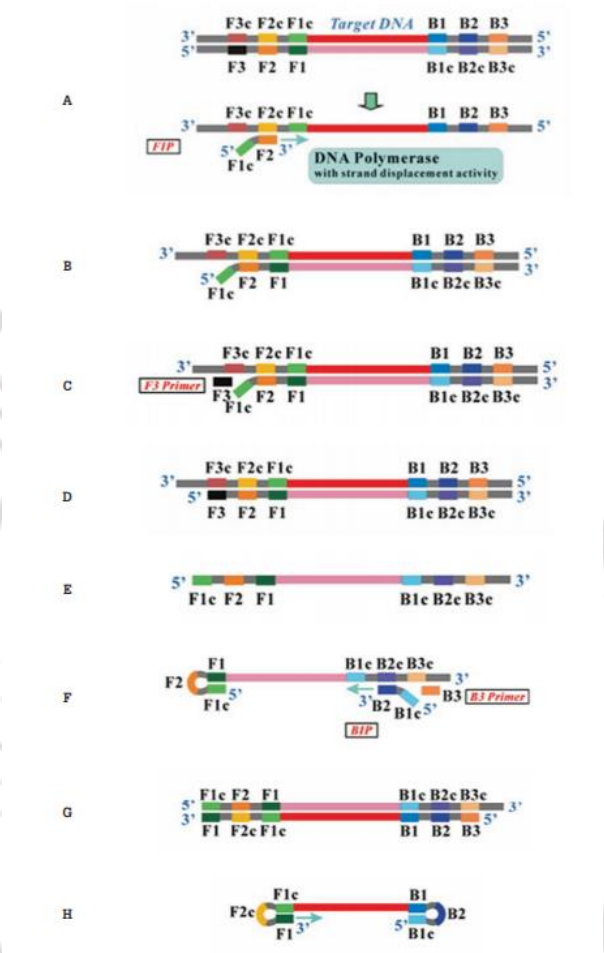
ภาพที่ 2.1 เทคนิค Loop-mediated isothermal Amplification (LAMP)
ที่มา : อมรรัตน รมพฤกษ์, 2554 : 202

1.1 กลไกการเกิดปฏิกิริยา LAMP

1. ขั้นตอน Stem-loop

ไพรเมอร์ FIP เข้าไปจับกับดีเอ็นเอเป้าหมายที่มีลำดับเบสคู่สม (complementary sequence) ที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส จากนั้นเอนไซม์ DNA polymerase จะแยกดีเอ็นเอสายคู่ให้เป็นสายเดี่ยวด้วยการแทนที่ของดีเอ็นเอสายเดิม โดยใช้อาศัยอุณหภูมิเดียวในการคลายเกลียวดีเอ็นเอสายคู่ ขั้นตอนต่อไปที่ตำแหน่ง F2 ของไพรเมอร์ FIP จะมีการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้นต่อมาไพรเมอร์ F3 จะเข้าไปจับที่ตำแหน่ง F3c ของดีเอ็นเอเป้าหมาย เกิดการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้น ซึ่งดีเอ็นเอสายใหม่จะจับคู่กับดีเอ็นเอเป้าหมายที่มีลักษณะเหมือนดีเอ็นเอต้นแบบ และดีเอ็นเอสายใหม่จะคลายเกลียวเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยว เกิดโครงสร้างที่เป็น Stem-loop ที่ปลายด้าน 5' และจะเป็นดีเอ็นเอต้นแบบให้ไพรเมอร์ BIP จับกับดีเอ็นเอสายใหม่ที่มีโครงสร้างเป็น Stem-loop ที่ปลายด้าน 3' และไพรเมอร์ B3 จะจับกับไพรเมอร์ B3c เพื่อแยกดีเอ็นเอออกจากดีเอ็นเอต้นแบบและสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้น ขั้นตอนต่อไปดีเอ็นเอสายใหม่ที่ต่อจากไพรเมอร์ B3 จะจับเข้าคู่กับดีเอ็นเอเป้าหมายเกิดเป็นดีเอ็นเอสายคู่ ขณะเดียวกันดีเอ็นเอที่เกิดจากไพรเมอร์ BIP จะเกิดโครงสร้าง Stem-loop ที่ปลายด้าน 5' และ 3' ทำให้มีรูปคล้ายดัมเบล (Dumbbell like structure) ดังภาพที่ 2.3 (อมรรัตน รมพฤกษ์, 2554 : 202)

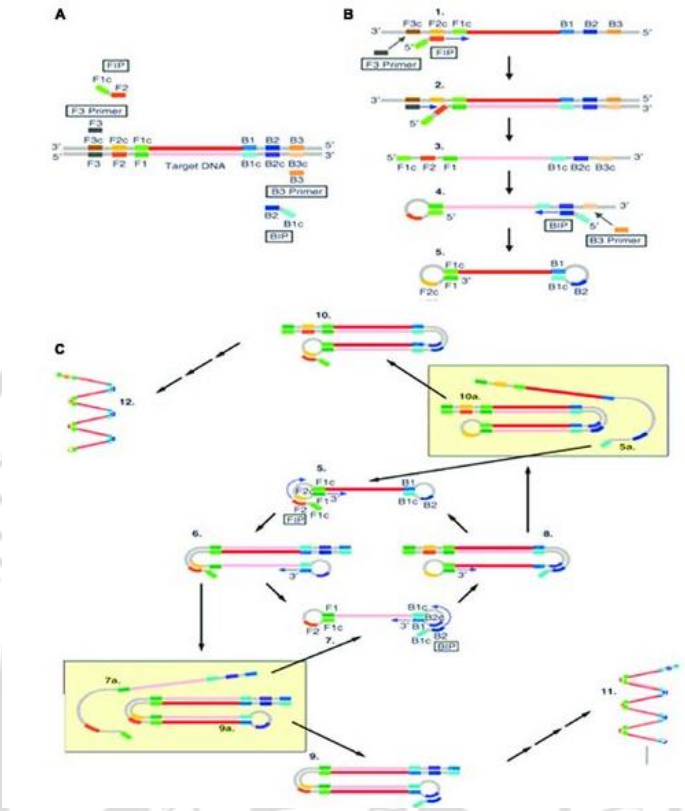
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 2.2 กลไกการเกิดปฏิกิริยา Loop-mediated isothermal Amplification (LAMP)
ที่มา : อมรรัตน รมพฤกษ์, 2554 : 203

2. ขั้นตอน Cycle amplification step

ขั้นตอนนี้จะใช้ต้นแบบดีเอ็นเอที่มีโครงสร้างคล้ายดัมเบลในการเพิ่มจำนวน โดยสร้างดีเอ็นเอสายใหม่เองต่อจากดีเอ็นเอต้นแบบ ทำให้ดีเอ็นเอสายใหม่ที่มีโครงสร้างคล้ายดัมเบลเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา ดังภาพที่ 2.3 (Tomita et al. 2008 : 880) ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้จำนวนมากภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมงและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาแลมป์จะมีได้หลายขนาด (ธงชัย แก้วพินิจ, สมชาย สันติวัฒนกุล และโกสุม จันทร์ศิริ, 2556 : 15)



ภาพที่ 2.3 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอเป้าหมายจากโครงสร้างห่วง (cycle amplification step)
ที่มา : Tomita, N. et al. 2008 **:** 877–882

1.2 วิธีการตรวจดีเอ็นเอจากเทคนิค LAMP

1. การตรวจดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส (Eletrophoresis)

การตรวจดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาแลมป์ด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟริซิส (Gel eletrophoresis) ซึ่งเป็นเทคนิคในการแยกสารประเภทที่มีประจุโดยใช้สนามไฟฟ้าโดยใช้อะกาโรส เจล 1.5-2 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายโมเลกุลของสารได้ตามขนาดของน้ำหนักโมเลกุลสารหรือดีเอ็นเอ โดยนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาผสมกับ Loading dye จากนั้นนำไปใส่ลงในหลุมเจล หลังจากนั้นทำการรันเจลแล้วนำไปตรวจดูดีเอ็นเอภายใต้รังสีอัลตร้าไวโอเลตด้วยเครื่อง UV transilluminator จะให้แถบดีเอ็นเอ (Band) หลายๆ ขนาดลักษณะรูปแบบคล้ายขั้นบันได (Ladder-like patterns) เนื่องจากในขั้นตอน Cycle amplification step ทำให้ได้ขนาดของดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

1.3 ประโยชน์ของ Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) และการนำไปใช้

ในปัจจุบันเทคนิค Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP) ได้ถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวางในงานทางด้านการแพทย์เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคที่เกิดจากแบคทีเรียไวรัส และปรสิต โดยการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อที่สงสัยเพื่อตรวจวินิจฉัย และหาแนวทางรักษาได้ทันท่วงทีและรวมไปถึงการนำมาใช้ทางนิติวิทยาศาสตร์และการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของมนุษย์ด้วยเทคนิค Loop - Mediated Isothermal Amplification (LAMP) เนื่องจากเป็นเทคนิคการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่มีประสิทธิภาพสูง (Efficiency) มีความไว (Sensitivity) ความแม่นยำ (Precision) ความจำเพาะ (Specificity) ที่ดีและความประหยัดเวลาซึ่ง LAMP ใช้อุณหภูมิเดียวตลอดทั้งปฏิกิริยา (Isothermal) และการประยุกต์ใช้งานของเทคนิค LAMP ถูกนำไปใช้งานในด้านต่างๆ ใช้ในการตรวจหายีนของเชื้อเพื่อช่วยในการวินิจัยโรค ในระยะแรกใช้ตรวจหาเชื้อที่สามารถติดต่อได้ในทางเดินอาหาร เช่น *Salmonella, Legionella, E. coli* เป็นต้น ต่อมาถูกใช้แพร่หลายมากในการตรวจจับไวรัส เนื่องจากการวินิจฉัยเชื้อไวรัสสามารถทำได้ยาก ปัจจุบันเทคนิค LAMP ถูกใช้งานในการตรวจหาการติดเชื้อที่ยังเป็นปัญหาทั่วไปในประเทศที่กำลังพัฒนา เช่น เชื้อวัณโรค เชื้อมาเลเรีย เชื้อ HIV สำหรับประเทศไทยเทคนิค LAMP ถูกนำมาใช้งานทางด้านตรวจจับเชื้อไวรัสต่างๆที่ก่อโรคในสัตว์ เช่น โรคไวรัสในกุ้ง ไวรัสในหมู แล้วมีการนำมาใช้ตรวจหาปรสิตในคนและตรวจหายีนอื่นๆ ส่วนในด้านเวชศาสตร์การบริการโลหิตนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้เป็นอย่างดีในการตรวจหายีนที่เกี่ยวข้องกับแอนติเจนของเม็ดเลือด (อมรรัตน์ ร่มพฤกษ์, 2554 : 205)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จิรายุทธ์ วังตา, ธานินทร์ ภู่พัฒน์ และเลิศลักขณา ภู่พัฒน์. (2555 : 234) ศึกษาการตรวจระบุเพศจากตัวอย่างเลือดมนุษย์ ด้วยเทคนิค Loop - Mediated Isothermal Amplification (LAMP) ซึ่งเทคนิคนี้เป็นเทคนิคทางด้านอณูพันธุศาสตร์ที่มีประโยชน์กับงานหลาย ๆ ด้าน เช่น การตรวจวินิจฉัยโรคในด้านการแพทย์ ด้านการผลิตในด้านอุตสาหกรรม การปรับปรุงพันธุ์ด้านการเกษตร หรือการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) ทางนิติวิทยาศาสตร์บ่งชี้ลักษณะจำเพาะของแต่ละบุคคล

ปริญญา และคนอื่นๆ. (2553 : 307) รายงานการสำรวจเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในสวนมะมวงน้ำดอกไมสีทองในอำเภอพราว จังหวัดเชียงใหม ระหวางฤดูการผลิต ตั้งแตระยะตัดแตงถึงระยะเก็บเกี่ยว พบว่าปริมาณของเชื้อเปลี่ยนแปลงไปตามพัฒนาการของมะมวงในแตละชวงอายุ และสภาพของอากาศ วิธีการรักษาความสะอาดในสวน การฉีดพนสารเคมีปองกันกำจัดเชื้อราสามารถลดปริมาณเชื้อราไดอยางมีนัยสำคัญ และจากการคัดแยกเชื้อสวนใหญเปนเชื้อรา *Colletotrichum* spp.

ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส จากตัวอยางเนื้อเยื่อพืชที่เก็บในระยะตัดแตงกิ่งจนถึงระยะเก็บเกี่ยว โดยการกระตุนการเจริญของเชื้อราด่วยสารพาราควอท และจากการศึกษาการเข่าทำลายของเชื้อในระดับเนื้อเยื่อพบการงอกของโคนิเดียบนผิวใบ และแทงทะลุผานชั้นคิวติเคิลและผนังเซลลโดยอาศัยโครงสร่างที่เรียกวาแอพเพรสซอเรียม และเข่าไปเจริญเปนเส่นใยภายในเซลลอีพิเดอมัล ในจำนวนชนิดของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกไดจากสวนของดอก ก่าน ใบ กิ่งและผลทั้งกอนและหลังเก็บเกี่ยวทั้งหมด 21 ไอโซเลต ไดใชลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอณูชีววิทยาระดับโมเลกุลในการจำแนกชนิพบวาเปนเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 15 ไอโซเลต และ *C. acutatum* จำนวน 6 ไอโซเลต

Hiroshi, K. et al. (2016 : 190) รายงานการพัฒนาเทคนิค Loop - Mediated Isothermal Amplification (LAMP) เพื่อตรวจหาเชื้อ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในสตรอเบอรี่ โดยกำหนดยีนเป้าหมายที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ พบว่าการตรวจสอบเชื้อด้วยเทคนิค LAMP สมารถตรวจ *C. gloeosporioides* ในสตรอเบอร์รี่ที่ติดเชื้อได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการตรวจสอบด้วยวิธีนี้สามารถจำแนกเชื้อได้ คือ *C. acutatum*, *C. aenigma* และ *C. siamense*

Mori, Y. et al. (2004 : 145) Loop - Mediated Isothermal Amplification (LAMP) เป็นวิธีการขยายกรดนิวคลีอิกที่ช่วยให้การสังเคราะห์ดีเอ็นเอจำนวนมากในช่วงเวลาสั้น ๆ ที่มีความจำเพาะสูง เมื่อปฏิกิริยาของแลมป์ดำเนินไปปฏิกิริยาของไพโรฟอสเฟตจับกับไอออนของแมกนีเซียมและทำให้เกิดการตกตะกอนสีขาวของแมกนีเซียมไพโรฟอสเฟต โดยออกแบบเครื่องมือที่สามารถวัดความขุ่นของตัวอย่างหลายตัวพร้อมกันในขณะที่รักษาอุณหภูมิคงที่เพื่อทำการวัดแบบเรียลไทม์ของการเปลี่ยนแปลงความขุ่นของปฏิกิริยาที่จำเป็นสำหรับความขุ่นของสารละลาย LAMP ที่เกินค่าที่กำหนดขึ้นอยู่กับปริมาณของดีเอ็นเอแม่แบบ นั่นคือกราฟที่มีพล็อตของ Tt เทียบกับปริมาณของดีเอ็นเอแม่แบบนั้นเป็นเส้นตรงจาก 2×10^3 (0.01 นาโนกรัม/หลอด) ถึง 2×10^9(100 นาโนกรัม/หลอด) ของแม่แบบ ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าการวัดความขุ่นแบบเรียลไทม์ของปฏิกิริยา LAMP ช่วยให้การวิเคราะห์เชิงปริมาณของกรดนิวคลีอิกมีความแม่นยำสูง

Notomi, T. et al. (2000 : e63) ได้พัฒนาเทคนิคการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแบบใหม่ชื่อว่า Loop - Mediated Isothermal Amplification (LAMP) และสำหรับงานวิจัยนี้ได้ทำการประยุกต์ใช้เทคนิค LAMP ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของมนุษย์เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพและความไวในการระบุเพศของมนุษย์จากเลือดซึ่งเป็นสิ่งส่งตรวจที่พบได้บ่อย โดยสนใจยีน Amelogenin Y ซึ่งผลของงานวิจัยจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์

Peter R. Mills. et al. (1992 : 137) รายงานการใช้ไพรเมอร์เพิ่มปริมาณ DNA fragments จาก conserved region ใน rDNA ของ *C. gloeosporioides* ด้วยวิธี PCR ที่ได้จากการสกัดดีเอ็นเอ

ของเนื้อเยื่อมะเขือเทศที่ติดเชื้อ *C. gloeosporioides* จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี RAPD พบว่าสามารถแยกเชื้อได้มากกว่า 12 กลุ่ม แสดงว่าประสิทธิภาพของวิธี PCR สามารถตรวจหาและจำแนกความแตกต่างของเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี