สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การลดปริมาณและการแพร่ระบาดของโรคไวรัส ในแพสชั่นฟรุ้ตโดยวิธีการจัดการศัตรูพืช แบบผสมผสาน

ผู้วิจัย

นวลพรรณ งามยีสุ่น

RCH
SB
379
P3
เลขหมู่ น3382ว
เลขทะเบียน 70389
วัน,เดือน,ปี 12 ส.ค. 2550

.b 11 ก.ค. 61
.i

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การลดปริมาณและการแพร่ระบาดของโรคไวรัส ในแพสชั่นฟรุ้ตโดยวิธีการจัดการศัตรูพืช แบบผสมผสาน

นวลพรรณ งามยี่สุ่น

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

Dept. of Plant Pest Management Technology. Fac. of Agricultural Technology,

KMITL, Bangkok. 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

การสุ่มสำรวจอาการของโรคไวรัสที่เข้าทำลายต้นแพสชั่นฟรุ้ตจำนวน 15 แปลง จากแหล่งปลูกในอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร พบว่าแพสชั่นฟรุ้ตแสดงอาการของโรคไวรัส 3 อาการคือ 1)ใบด่างจุดเหลืองรุนแรง 2)ใบด่างสีเขียวเข้มและ 3)ใบด่างเส้นใบเป็น vein banding ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 2.25 จากระดับความรุนแรง 0 - 4 ระดับ และการเกิดโรคไวรัสเฉลี่ย 89.10 เปอร์เซ็นต์ การจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสด้วยพืชทดสอบใน 5 วงศ์ จำนวน 8 ชนิด คือ *Chenopodium amaranticolor*, *Phaseolus aureus*, *Vigna sesquipedalis*, *Cucumis sativus*, *Gomphrena globosa*, *Passiflora edulis* และ *Passiflora foetida* โดยผ่านทางน้ำคั้น (mechanical sap transmission) พบว่าทั้ง 3 อาการเมื่อถ่ายทอดลงในต้น *C. amaranticolor* ทำให้เกิดจุดแผลสีน้ำตาลในใบที่ถูกปลูกเชื้อ และต่อมาจุดแผลจะกระจายไปยังใบยอด จากตัวอย่างใบด่างสีเขียวเข้มและ ใบด่างเส้นใบเป็น vein banding ตรงกลางจุดแผลจะแห้งตายและ ขอบจุดแผลจะมีสีชมพูถึงสีแดง และอาการในต้น *P. edulis* และ *P. foetida* จะคล้ายคลึงกันคือ มีการเกิดจุดแผลสีน้ำตาลเล็กๆในใบที่ถูกปลูกเชื้อ ต่อมาแสดงอาการจุดแผลกระจายไปยังใบยอด ทำให้ใบยอดด่าง หงิก และเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การตรวจสอบรูปร่างและ ขนาดอนุภาคเชื้อไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสเป็นแบบ flexuous มีขนาดยาวเฉลี่ยประมาณ 642 นาโนเมตร ผลการแยกสกัด dsRNA ด้วยชุดสกัด Ultra Clean ™ Plant RNA Isolation Kit และ การใช้ Plant concert solution และตรวจสอบ dsRNA โดยใช้เทคนิค gel electrophoresis พบว่าทั้ง 3 อาการตรวจพบ pattern dsRNA ของเชื้อ cucumber mosaic virus ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 1.32×10^6 และ 0.8×10^6 ดาลตัน ตามลำดับ การตรวจสอบกลุ่มของเชื้อไวรัสด้วย potyvirus group degenerate primer และการหาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยา PCR เทคนิค RT-PCR และตรวจสอบด้วยเทคนิค gel electrophoresis พบว่าทั้ง 3 อาการมี PCR product ขนาดประมาณ 1200 bp จึงจำแนกได้ว่าอาการทั้ง 3 อาการ มีเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายจัดอยู่ในกลุ่ม potyvirus และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพิ่ม PCR product ของเชื้อคือที่ 56.2 - 65 องศาเซลเซียส ซึ่งจากผลของอาการบนใบแพสชั่นฟรุ้ต การศึกษาชนิดและอาการบนพืชอาศัย ลักษณะ และรูปร่างของเชื้อ รวมทั้งผลการวิเคราะห์ dsRNA และ ขนาดของ PCR product สามารถจำแนกได้ว่าเป็นเชื้อ passionfruit woodiness virus ซึ่งทำให้สามารถสรุปได้ว่าเชื้อที่เข้าทำลายแพสชั่นฟรุ้ตมีลักษณะของการเข้าทำลายร่วมของเชื้อ 2 ชนิด คือ cucumber mosaic virus (CMV) และ passsionfruit woodiness virus (PWV) แต่ความเข้มข้นของเชื้อทั้งสองชนิดในแต่ละอาการมีอัตราส่วนความเข้มข้นที่แตกต่างกัน จึงทำให้อาการที่แสดงออกที่สำรวจพบมีความแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบควบคุมโรคไวรัสในระยะเวลา 1 ปี ในสภาพพื้นที่ปลูกแตกต่างกัน 3 พื้นที่ คือ แปลงปลูกเชิงเขา แปลงปลูกบนภูเขา และแปลงปลูกบนพื้นที่ราบ โดยการควบคุมโรคคือ 1) การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน โดยการใช้กับดักกาวเหนียวเหลืองร่วมกับการฉีดพ่นสารกำจัดแมลง imidacloprid อัตรา 20 ซีซี /น้ำ20 ลิตร และการฉีดน้ำมันปิโตรเลียม อัตรา 5 ซีซี /น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นทุก 2 สัปดาห์ 2) การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว โดยใช้สารกำจัดแมลง imidacloprid อัตรา 20 ซีซี /น้ำ 20 ลิตร เพียงอย่างเดียวฉีดพ่นทุก 2 สัปดาห์ และ 3) แปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งวางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorials in RCBD ผลการประเมินระดับความรุนแรงของโรค และการเกิดโรคของทั้ง 3 พื้นที่ พบว่า การใช้วิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน สามารถลดระดับความรุนแรงของโรคได้ดีที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้ สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ พบระดับความรุนแรงของโรคที่ระดับ 0.85, 1.07 และ 1.60 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคพบ 58.50, 67.94 และ 78.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งการใช้วิธีการแบบผสมผสานทำให้ชะลอการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ดีกว่าการใช้ยาฆ่าแมลงเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ การใช้วิธีการแบบผสมผสานสามารถชะลอการเกิดโรคที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้ 7 เดือน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวชะลอการเกิดโรคได้ 6 เดือน และแปลงปลูกตามธรรมชาติชะลอการเกิดโรคได้เพียง 4 เดือน นอกจากนี้พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานทำให้ได้รับผลผลิตเฉลี่ยต่อเดือนสูงที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ คือได้รับน้ำหนักผลผลิต 91.19, 49.01 และ 22.38 กิโลกรัม ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Survey of virus disease incidence and disease assessment on passionfruit in 15 growing area of Pathiu district, Chumporn province was determined. The results showed that average virus disease incidence was 89.10 % and average of disease severity was 2.25 (rating scale 0 - 4 level). The diseased plants produced 3 different symptoms on leaves, which were severe mosaic with yellow spots, dark green mottle and mosaic vein banding.

Host range study by mechanical sap transmission of 3 symptoms to test plants in 5 families included *Chenopodium amaranticolor, Phaseolus aureus, Vigna sesquipedalis, Cucumis sativus, Gomphrena globosa, Passiflora edulis* and *P. foetida*. On *C. amaranticolor* revealed necrotic brown local lesions on inoculated leaves, later went systemic from samples of dark green mottle and mosaic vein banding. On *P. edulis* and *P. foetida* inoculated with 3 different symptoms, showed similar brown spots on inoculated leaves, while upper leaves showed mosaic with leaf distortion and malformation. Examination of virus particles on electromicroscope using leaf dip technique, revealed flexuous rods with an average of 642 nm. in length.

Detection of dsRNA on diseased leaves extracted with Ultra Clean ™ Plant RNA Isolation Kit or Plant Concert Solution, and visualised on UV box after eletrophoresis on agarose gel resulted 2 bands with molecular weight of 1.32×10^6 and 0.8×10^6 daltons. The band pattern and the size of dsRNA pointed out the presence of cucumber mosaic virus on diseased leaves. Moreover, using reverses transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) with specific potyvirus group degenerate primer and gradient temperature resulted in specific band at 1200bp. with optimal temperature at 56.2° - 65°C for the best reaction.

As a result of host range study, particle size, symptoms on diseased leaves, dsRNA analysis and RT-PCR study, it concluded that passionfruits were infected by mixed infection of cucumber mosaic virus and passionfruit woodiness virus. The difference of combination in mix-infection resulted in variation of symptoms.

Control of virus diseases by integrated pest control (IPM) was studied for 1 year. Experiments were conducted on 3 different locations, which were hillside, on the hill and plain

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

land. Three treatments were applied as follow ; IPM treatments using combination of sticky trap, imidacloprid spraying at 20 ml./20 lt. of water and petroleum oil spraying at 5 ml./20 lt. of water, both spraying at 2 weeks interval, chemical treatment using only imidacloprid spraying at 20 ml./20 lt. of water at 2 weeks interval, control treatment (non-treated) using only conventional practice. The experiment was randomized complete block design with three replicates (3 x 3 RCBD) The result of disease assessment and disease incidence in 3 locations indicated that IPM treatment decreased in both aspect with significant results of chemical treatment and control treatment at 0.85, 1.07 , 1.60 and 58.50%, 67.94%, 78.61% respectively. Moreover, IPM treatment also delayed the increasing of 100% virus incidence at 7 months after transplanting, while chemical treatment at 6 months and at 4 months for control treatment. In addition, an average yield with significant result at 91.19, 49.01, 22.38 kg. gained from IPM treatment, chemical treatment and control treatment, respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยโดยการสนับสนุนจากเงินรายได้ของ คณะเทคโนโลยีการเกษตร ได้รับอุปกรณ์และสถานที่จากภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และแปลงเกษตรกรในอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณอย่างสูง

นวลพรรณ งามยี่สุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	VII
สารบัญภาพ	VIII
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
อุปกรณ์และวิธีการ	15
ผลการทดลอง	34
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	76
บรรณานุกรม	80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	วงศ์ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญและอายุของพืชที่ใช้ในการทดสอบการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสโดยการถ่ายทอดเชื้อไวรัสด้วยน้ำคั้น (mechanical sap transmission)	18
4.1	การประเมินระดับความรุนแรงของโรค (disease assesment) และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (disease incidence) ของแพสชั่นฟรุ้ตที่สำรวจจำนวน 15 แปลง	38
4.2	ลักษณะอาการการเกิดโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตจากการถ่ายทอดลงในพืชทดสอบจำนวน 5 วงศ์ โดยการใช้น้ำคั้น (mechanical sap transmission)	42
4.3	น้ำหนักโมเลกุล dsRNA ของเชื้อไวรัสที่แสดงอาการ 1) ใบด่างจุดเหลืองรุนแรง 2)ใบด่างสีเขียวเข้ม และ 3) ใบด่างเส้นใบมีลักษณะ vein banding เปรียบเทียบกับตัวมาตรฐานคือ lambda DNA Hind III digest	49
4.4	เปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสโดยใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกเชิงเขา	53
4.5	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสโดยใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกเชิงเขา	56
4.6	เปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสโดยใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา	58
4.7	แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสโดยใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา	61
4.8	แสดงการเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสโดยใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนที่ราบ	64
4.9	แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสโดยใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา	67
4.10	แสดงน้ำหนักผลผลิตของแปลงที่ใช้การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงปลูกตามธรรมชาติ	70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
3.1	การกำหนดระดับความรุนแรงของโรคซึ่งแบ่งออกเป็น 5 ระดับ	17
3.2	ชุดสกัด Ultra Clean ™ Plant RNA Isolation Kit	23
3.3	ชุดสกัดโดยใช้น้ำยา Plant concert solution	23
3.4	อุปกรณ์การเตรียม gel electrophoresis สำหรับการตรวจ dsRNA	24
3.5	การคำนวณสมการเชิงเส้นและค่า R-squared	25
3.6	แผนที่พันธุกรรมของ potyvirus genome แสดงตำแหน่งโดยเปรียบเทียบกับ 2 degenerate primer	26
3.7	อุปกรณ์การเตรียม gel electrophoresis สำหรับการตรวจ PCR product	29
3.8	ขนาดพื้นที่ ระยะปลูก และการวางแผนผังการทดลองแต่ละวิธีการในสภาพพื้นที่แต่ละแปลงทดลอง	32
3.9	การวางแผนผังในการสุ่มต้นแพสชั่นฟรุ้ตอย่างมีระบบในการประเมินระดับความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค	33
4.1	อาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรง	35
4.2	อาการด่างสีเขียวเข้ม	36
4.3	อาการใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding	37
4.4	การประเมินระดับความรุนแรงของโรคไวรัส (disease assesment) ในแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ตของเกษตรกรจำนวน 15 แปลง	38
4.5	การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัส (disease incidence) ในแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ตของเกษตรกรจำนวน 15 แปลง	39
4.6	การประเมินระดับความรุนแรงของโรค (disease assesment) และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (disease incidence) ของแพสชั่นฟรุ้ตที่สำรวจจำนวน 15 แปลง	39
4.7	อาการของโรคไวรัสหลังจากปลูกเชื้อ 28 วันในต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ต	41
4.8	ลักษณะอาการของโรคไวรัสที่ถ่ายทอดจากอาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรงในพืชทดสอบชนิดต่างๆ	45
4.9	ลักษณะอาการของโรคไวรัสที่ถ่ายทอดจากอาการใบด่างสีเขียวเข้มในพืชทดสอบชนิดต่างๆ	46
4.10	ลักษณะอาการของโรคไวรัสที่ถ่ายทอดจากอาการใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding ในพืชทดสอบชนิดต่างๆ	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.11	การตรวจสอบ dsRNA ของอาการตัวอย่างแพสชั่นฟรุ้ตที่แสดงอาการโรคไวรัส ซึ่งประกอบด้วย 3 อาการ ด้วยวิธี gel electrophoresis	49
4.12	การใช้วิธี gel elcetrophoresis ตรวจสอบ temperature gradient PCR	50
4.13	การใช้วิธี gel elcetrophoresis ตรวจสอบ Reverse transcription – polymerase chain reaction (RT – PCR) ของเชื้อด้วยกลุ่ม potyvirus	50
4.14	ลักษณะของอนุภาคของเชื้อไวรัสจากน้ำคั้นแพสชั่นฟรุ้ต	52
4.15	การเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสในพื้นที่แปลงปลูกเชิงเขา	54
4.16	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสในพื้นที่แปลงปลูกเชิงเขา	57
4.17	การเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา	59
4.18	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา	62
4.19	การเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสในพื้นที่แปลงปลูกบนที่ราบ	65
4.20	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา	68
4.21	การเปรียบเทียบระดับการเกิดโรคเฉลี่ยต่อปี	71
4.22	การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยต่อปี	71
4.23	น้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยของแพสชั่นฟรุ้ตใน 3 สภาพแปลงปลูก	73
4.24	น้ำหนักผลผลิตของแพสชั่นฟรุ้ตในแปลงปลูกบนภูเขา	73
4.25	น้ำหนักผลผลิตของแพสชั่นฟรุ้ตในแปลงปลูกบนพื้นที่ราบ	75
4.26	การเปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยต่อเดือน	75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่1

บทนำ

แพสชั่นฟรุ้ตเป็นพืชอุตสาหกรรมชนิดใหม่ที่มีผู้นิยมปลูกกันมากขึ้น การเพาะปลูก และการดูแลรักษาง่าย สามารถทนแล้งได้ โตเร็ว ให้ผลผลิตต่อไร่สูง เก็บผลผลิตได้ตลอดทั้งปี มีระยะเวลาให้ผลผลิตนาน เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ สามารถรับประทานผลสดหรือแปรรูปคั้นเป็นน้ำผลไม้ และใช้เป็นส่วนประกอบผสมของน้ำผลไม้ชนิดอื่นเพื่อเพิ่มรสชาติที่แปลกใหม่ รสชาติดี มีกลิ่นหอม นอกจากนี้ยังมีคุณค่าทางอาหาร มีปริมาณแคโรทีน และวิตามินซีสูง ปัจจุบันมีการขยายพื้นที่การเพาะปลูกกันอย่างกว้างขวางมีบริษัทเอกชนเข้ามาส่งเสริมการปลูก และรับซื้อนำไปพัฒนาเป็นอุตสาหกรรมการแปรรูปหลายอย่างเพื่อทดแทนการปลูกข้าวโพด และพืชไร่ชนิดอื่นที่ประสบปัญหาทางโรค และแมลงตลอดจนราคาของผลผลิตที่ตกต่ำ (ดวงใจ ชูปัญญา. 2534) จากสถิติการปลูกแพสชั่นฟรุ้ตปี 2542 พบว่าผลผลิตแพสชั่นฟรุ้ตมีไม่เพียงพอต่อความต้องการของโรงงาน คือสามารถผลิตผลผลิตรวมทั้งประเทศได้จำนวน 5,232 ตันแต่มีบริษัทหรือโรงงานที่ต้องการแพสชั่นฟรุ้ตเป็นวัตถุดิบรวมทั้งประเทศเท่ากับ 14,113 ตัน (กรมส่งเสริมการเกษตร. 2542) แต่การผลิตแพสชั่นฟรุ้ตในปัจจุบันก็พบว่ายังมีปัญหาทางแมลง และโรคที่สำคัญอยู่บ้าง ซึ่งแมลงที่ทำความเสียหายกับผลผลิตได้แก่ แมลงวันทอง แมงมุมแดง ด้วงปีกแข็ง หนอนเจาะกิ่ง หรือลำต้น เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง โรคที่สำคัญที่พบได้แก่โรครากเน่า โรคจุดสีน้ำตาล โรคบวมตามข้อหรือกิ่ง

โรคที่พบว่าเป็นปัญหาที่สำคัญ และพบบ่อยที่สุดของแพสชั่นฟรุ้ต คือโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัส ในต่างประเทศมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อไวรัสหลายชนิดที่เข้าทำลายแพสชั่นฟรุ้ตที่สำคัญ ได้แก่ Passionfruit Sri Lankan mottle virus ทำให้เกิดอาการใบด่างแบบ systemic ใบบิดเบี้ยวผิดรูปร่าง เส้นใบเหลือง Passionfruit vein clearing virus ทำให้เส้นใบอยู่รวมกันเป็นแถบ และโปร่งแสง (Brunt *et al.* 1996) Passionfruit woodiness virus ทำให้ใบด่างเป็นวงแหวน บิดเบี้ยว เปลือกผลหนา และผลมีขนาดเล็กลง Passionfruit yellow mosaic virus ทำให้ใบด่างเหลือง เส้นใบโปร่งแสง (Chang. 1992) Passiflora ringspot virus ทำให้ใบด่างเป็นวงแหวน มีขนาดเล็กลง Passiflora latent virus ไม่แสดงอาการโรคในแพสชั่นฟรุ้ตแต่แสดงอาการ ใบด่างเหลืองแบบ systemic ใน *Chenopodium quinoa* (Pares *et al.* 1997) Cucumber mosaic virus ทำให้พืชมีอาการใบด่างวงแหวน ใบม้วนงอ ปลายใบเหลือง (Xu *et al.* 1999) Passionfruit crinkle virus ทำให้ใบหงิกงอแต่จะไม่แสดงอาการของโรคที่ผล (Chang *et al.* 1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในประเทศไทยพบว่าโรคไวรัสที่สำคัญของแพสชั่นฟรุ้ตเกิดจากเชื้อ Passionfruit woodiness virus ทำให้เกิดอาการใบด่างเป็นวงแหวนใบบิดเบี้ยว ผลเปลือกหนา และบิดเบี้ยว ผลมีขนาดเล็กลง ผลผลิตลดลงมากกว่า 50% และเชื้อ Cucumber mosaic virus ทำให้เกิดอาการ ใบด่างและเหลือง ใบยอดหงิกงอ ผิวใบไม่เรียบ และผลบิดเบี้ยว ซึ่งถ้าเชื้อทั้งสองตัวนี้เกิดร่วมกันจะทำให้ความรุนแรงของโรคเพิ่มมากยิ่งขึ้น การป้องกันกำจัดทำได้ยากเพราะพาหะในการนำโรคมีหลายชนิด ต้นที่เป็นโรคแล้วไม่สามารถรักษาให้หายได้ต้องกำจัดโดยการถอนทิ้ง และนำไปเผาเท่านั้น นอกจากนี้เชื้อยังสามารถถ่ายทอดทางการทาบกิ่ง แมลงพาหะ วัชพืช และพืชอื่นๆที่ปลูกในบริเวณนั้นด้วย (ดวงใจ ชูปัญญา และวรวรรณ ศักดิ์วงศ์. 2529ข.) สำหรับจังหวัดชุมพรเป็นแหล่งใหญ่ที่เริ่มมีการผลิตแพสชั่นฟรุ้ตในทางภาคใต้ ซึ่งเกษตรกรปลูกแพสชั่นฟรุ้ตกันมาก สามารถขายผลผลิตให้โรงงานผลไม้รวมบรรจุกระป๋อง ช่วยเพิ่มรายได้ แต่ปัญหาหนึ่งที่สำคัญที่ทำให้ผลผลิตลดลงคือโรคไวรัส ด้วยสาเหตุนี้จึงจำเป็นต้องนำวิธีการที่เหมาะสมมาใช้ เพื่อลดความเสียหาย สามารถควบคุมป้องกันกำจัดเชื้อไวรัสในแปลงปลูกช่วยเพิ่มปริมาณ และคุณภาพของผลผลิตให้เพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศและเพิ่มมูลค่าในการส่งออกทำรายได้แก่ประเทศ

วัตถุประสงค์

1.เพื่อสำรวจโรคไวรัส และแมลง ประเมินระดับความรุนแรงของโรคไวรัส และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของแพสชั่นฟรุ้ตในท้องที่ อ. ปะทิว จ. ชุมพร

2.ทำการจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายแพสชั่นฟรุ้ต

3.หาแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคไวรัสโดยใช้วิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานแพสชั่นฟรุ้ต

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ทราบความรุนแรงของโรค และจำนวนชนิดของแมลงที่เป็นพาหะนำโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตในท้องที่ อ. ปะทิว จ. ชุมพร

2.ทราบชนิดของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายแพสชั่นฟรุ้ต

3.วิธีการป้องกันกำจัดและ ลดปัญหาการแพร่ระบาดของโรคไวรัสในแพสชั่นฟรุ้ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของแพสชั่นฟรุ้ต

แพสชั่นฟรุ้ต (Passionfruit) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Passiflora laurifolia* Linn มีชื่อไทยว่า เสาวรส กะทกรกยักษ์ หรือ กะทกรกฝรั่ง เป็นพืชจัดอยู่ในวงศ์ Passifloraceae อยู่ในตระกูลเดียวกับกะทกรกไทย ซึ่งเป็นวัชพืชที่ขึ้นกระจายอยู่ทั่วไป แพสชั่นฟรุ้ตมีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมในประเทศเม็กซิโก บราซิล และปารากวัย ต่อมาได้แพร่กระจายไปยังประเทศออสเตรเลีย อินเดีย เคนยา นิวซีแลนด์ อาฟริกาใต้ นิวกินี มาเลเซีย และไต้หวัน แต่ได้พัฒนาเป็นพืชอุตสาหกรรมได้อย่างดีที่ประเทศออสเตรเลีย ไต้หวัน และสหรัฐอเมริกา สำหรับในประเทศไทยได้ถูกนำเข้ามาทดลองปลูกเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2498 ที่สถานีกสิกรรมแม่โจ้ ต่อมาได้ทดลองปลูกที่มหาวิทยาลัยเกษตร ศาสตร์ บางเขน สถานีทดลองเกษตรที่สูง ดอยขุนช่างเคี่ยน และโครงการแม่สา จังหวัดเชียงราย และได้นำมาส่งเสริมให้เป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ โดยส่งเสริมให้ปลูกแถบชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก คือ จังหวัดระยอง จันทบุรี ซึ่งได้นำมาแปรรูปโดย บริษัทสยามอุตสาหกรรม ไปใช้ผสมกับน้ำผลไม้ชนิดอื่นเพื่อให้รสชาติดี ปัจจุบันในประเทศไทยมีการเพาะปลูกกันอย่างกว้างขวาง แหล่งที่เพาะ ปลูกกันมากได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน เพชรบูรณ์ ลำพูน นครราชสีมา บุรีรัมย์ ปราจีนบุรี ชลบุรี จันทบุรี ระยอง ประจวบคีรีขันธ์ และ ชุมพร (กรมส่งเสริมการเกษตร. 2542)

ลักษณะของลำต้นเป็นไม้เลื้อย มีเถายาวอาจยาวถึง 15 เมตร มีอายุประมาณ 4 - 5 ปี ต้นอ่อนมีสีเขียวไม่มีขน ข้างในลำต้นกลวง เมื่อแก่ลำต้นจะกลายเป็นสีม่วงอมแดง และเริ่มมีมือเกาะเมื่อยาวประมาณ 6 - 8 ข้อ มือเกาะมีสีเขียว ม้วนขดเป็นวง ช่วยยึดเกาะของลำต้น ลำต้นสามารถจะแตกออกเป็นกิ่ง เจริญเติบโตแผ่ปกคลุมพื้นที่ได้อย่างรวดเร็ว

ลักษณะของใบ ใบของต้นอ่อนมีรูปร่างรีเหมือนรูปไข่ ฐานใบเป็นรูปหัวใจ ขอบใบมีหยักเล็กๆ เมื่อเริ่มโตใบจะแตกออกเป็น 3 แฉก ก้านใบไม่มีขน ที่โคนใบต่อกับก้านใบจะมีต่อมเล็กๆ 2 อัน

ลักษณะของดอกเป็นดอกเดี่ยว จะเริ่มออกดอกเมื่อมีอายุประมาณ 5 เดือน ดอกออกตามตาข้าง เมื่อบานเต็มที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 6 - 10 เซนติเมตร มีสีสวยงามสะดุดตา มีกลิ่นหอม กลีบรองดอกมี 3 ใบ อยู่ที่ปลายของก้านดอก กลีบเลี้ยงมีฐานรองดอก 5 อัน ลักษณะรูปไข่ยาวเรียว ด้านล่างสีเขียวอมเหลือง ด้านบนสีขาว กลีบดอกมี 5 กลีบ ขนาดใหญ่กว่ากลีบเลี้ยงเล็กน้อย เป็นรูปไข่มีสีขาวแบนบาง ตรงโคนกลีบดอกมีสีม่วง มีเกสรตัวผู้ 5 อัน และอับเกสรอยู่ตรงปลาย กลางดอกมีก้านชูรังไข่ ที่ยอดรังไข่จะมีก้าน 3 อันซึ่งจะมีเกสรตัวเมียที่ปลาย

ลักษณะของผล เริ่มติดผลขณะมีอายุได้ 6 - 7 เดือน ผลอ่อนมีสีเขียว ผิวเรียบเป็นมัน รูปร่างกลมหรือรี มีจุดสีขาวกระจายอยู่ทั่วไป เมื่อโตเต็มที่ผลมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 - 7 เซนติเมตร ผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แก่มีสีเหลืองเข้มหรือสีม่วงเข้มแล้วแต่พันธุ์ เปลือกผลชั้นนอกจะแข็งบาง ชั้นกลางมีสีเขียว สำหรับชั้นในมีสีขาวจะหนา และอ่อนนุ่มมีเมล็ดจำนวนมากติดอยู่กับผนังรังไข่ เมล็ดมีสีดำ รูปร่างแบนเหมือนใบไม้ มีถุงห่อหุ้มสีเหลือง น้ำในผลมีสีเหลืองเข้ม รสเปรี้ยว มีกลิ่นหอม

2.2 โรคไวรัสที่เข้าทำลายและความเสียหายในแพสชั่นฟรุ้ต

โรคไวรัสเป็นสาเหตุหลักสำคัญของแพสชั่นฟรุ้ต ซึ่งพบว่าโรคมีการระบาด และกระจายอยู่ทั่วไปในหลายพื้นที่ บางแห่งอาการของโรคมีความรุนแรงมากทำให้ผลผลิต และคุณภาพลดลง มีเชื้อไวรัสหลายชนิดที่สามารถเข้าทำลายแพสชั่นฟรุ้ต ได้แก่ passionfruit woodiness virus ที่ทำให้เกิดโรค passionfruit woodiness ซึ่งมีรายงานว่าพบการแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางในประเทศไต้หวัน บราซิล และอาฟริกาใต้ในปี 1980 (Kitajima *et al.* 1986; Brand *et al.* 1993) อาการของโรคคือใบมีอาการด่างเป็นจุดสีเหลือง ต่อมากลายเป็นจุดวงแหวน ทำให้ใบพืชบิดเบี้ยว ใบเปลี่ยนรูปร่าง ผลบิดเบี้ยว เปลือกผลแข็ง และหนา อายุการให้ผลลิตลดลง

Crestani *et al.* (1986) รายงานว่าในรัฐ Rio de janeiro ประเทศบราซิล พบแพสชั่นฟรุ้ตพันธุ์ Golden *(Passiflora edulis* f. *Flavicarpa)* มีอาการด่างเหลือง ใบหงิกงอ จากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนโดยเทคนิค leaf dip พบว่าเกิดจากเชื้อ passionfruit yellow mosaic virus ซึ่งอนุภาคมีรูปร่างเป็นทรงกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 30 นาโนเมตร

Tayler and Greber (1973) รายงานว่าเชื้อไวรัสสาเหตุของโรค passionfruit woodiness มีอนุภาครูปร่างเป็นแท่งยาวขนาด 750 x 12 นาโนเมตร และcapsid protein ของเชื้อมีน้ำหนักประมาณ 37 กิโลดาลตัน

Chang (1992) รายงานว่าพบโรค passiflora leaf mottle virus ในประเทศไต้หวัน โดยพืชแสดงอาการด่างเล็กน้อยที่ใบ รูปร่างและ ขนาดอนุภาคของเชื้อจะใกล้เคียงกับเชื้อ passionfruit woodiness virus แต่ capsid protein ของเชื้อจะมีน้ำหนักประมาณ 38 กิโลดาลตัน

โรค passionfruit srilankan mottle virus พบในประเทศศรีลังกาโดย Dassanayake and Hicks (1992) คือพบอาการเป็นจุดด่างที่ใบจำนวนมากทำให้พืชอ่อนแอลง ผลจะแข็งมาก เชื้อไวรัสมีรูปร่างเป็นแท่งยาวขนาด 841 นาโนเมตร มีน้ำหนักโมเลกุลของ polypeptide 2 ชนิดคือ 33.2 และ 28.7 กิโลดาลตัน

Brand *et al.* (1993) ได้ศึกษาโรค passionfruit woodiness virus ในประเทศแอฟริกาใต้ พบว่าแพสชั่นฟรุ้ตแสดงอาการใบด่าง ผลด่าง ผิวเปลือกไม่เรียบ และเปลือกหนากว่าปกติ ผลผลิตลดลงต่อมาสามารถจำแนกเชื้อสาเหตุได้คือเชื้อ cucumber mosaic virus, tobacco necrosis virus และ passionfruit woodiness virus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Brown *et al.* (1993) รายงานว่าพบแพสชั่นฟรุ้ตเป็นโรค passiflora leaf mottle virus เป็นครั้งแรกในประเทศเปอร์โตริโกซึ่งพืชมีอาการใบด่าง หงิกรุนแรง ใบม้วนบิดเบี้ยวทำให้ผลผลิตและคุณภาพลดลง

Bencher *et al.* (1996) รายงานโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตในประเทศโคลัมเบียที่ทำให้เกิดอาการด่างรุนแรง ใบเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และต้นตายก่อนให้ผลผลิต ซึ่งจากการจำแนกเชื้อโดยการใช้วิธี Western blot analysis เปรียบเทียบกับเชื้อในกลุ่ม potyvirus และการทดสอบชนิดของพืชอาศัย ลักษณะอาการวิทยา ลำดับของกรดอะมิโน ลำดับของนิวคลีโอไทด์และปฏิกริยาของ Dot-blot hybridization พบว่าเชื้อที่ก่อปัญหานั้นคือ soybean mosaic virus

Trindade *et al.* (1999) ได้รายงานการสำรวจเชื้อไวรัสจาก 2 พื้นที่ในประเทศบราซิล คือที่ Capitao Paco และ Igarape Acu รัฐ Para แล้วนำมาจำแนกเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคด้วยวิธี PTA-ELISAs (Plate-Trapped Antigen Enzyme Linked Immumosorbent Assays) และการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (electron microscopy) พบว่าสาเหตุของโรคแพสชั่นฟรุ้ตในแปลงเกิดจากเชื้อ passionfruit woodiness virus ซึ่งทำให้เกิดโรคในแปลงประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ เนื่องมาจากการนำต้นกล้าที่เป็นโรคจากรัฐ Minas และ Bahia ของประเทศบราซิลเข้ามาปลูก

Barbosa *et al.* (1999) รายงานว่าใบของ passionfruit พันธุ์ Golden ในประเทศบราซิล มีอาการจุดด่าง จากการทดสอบการถ่ายทอดในพืชอาศัยและการใช้วิธี ELISA (Enzyme - Linked Immunosorbent Assay) พบว่าเชื้อสาเหตุโรคคือ cucumber mosaic virus

Xu *et al.* (1999) พบว่าเชื้อไวรัสสาเหตุโรคของ *Passiflora* spp ใน Fujian ประเทศจีน เกิดจากเชื้อ cucumber mosaic virus เมื่อทำการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (electron microscopy) และการใช้วิธี PAS-ELISA (Protein A - sandwich Enzyme - linked Immunosorbent Assay) พบการเกิดโรค 30 – 40 เปอร์เซ็นต์ บางครั้งพบ 90 เปอร์เซ็นต์ จากการสำรวจโรคไวรัสในแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ตระหว่างปี 1988 - 1995 โดยพืชแสดงอาการใบด่างเป็นจุดวงแหวน ใบม้วนงอ ปลายใบเหลือง

Novaes and Rezende (2000) รายงานว่าโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตในประเทศบราซิลที่แพร่ระบาด และทำความเสียหายแก่แพสชั่นฟรุ้ต เกิดจากเชื้อสาเหตุหลายชนิดคือ passionfruit woodiness virus, cucumber mosaic virus, greenspot passiflora virus, passionfruit vein clearing, passion fruit yellow mosaic virus และ purple granadilla mosaic virus

Moraes *et al.* (2002) ทำการทดสอบแปลงปลูก *Passiflora nitida* ในรัฐ Sao Paulo ประเทศบราซิล เพื่อศึกษาความอ่อนแอของ *Passiflora nitida* ต่อเชื้อ passionfruit woodiness virus จากการตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา และการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (electron microscopy) พบว่า *Passiflora nitida* แสดงความอ่อนแอ และแสดงอาการของโรค passionfruit woodiness virus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับในประเทศไทย มีการศึกษาโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตในหลายจังหวัด ได้แก่ จังหวัด เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน เพชรบูรณ์ ชัยนาท ปราจีนบุรี ขอนแก่น ระยอง และจันทบุรี โดย ดวงใจ ชูปัญญา และ วรวรรณ ศักดิ์วงศ์ (2529ก) พบอาการใบด่าง ผิวใบไม่เรียบมีลักษณะเป็นคลื่น มีรอยนุ่มชัดเจน เป็นจุดวงแหวน จากการทดสอบในพืชอาศัย 24 ชนิดแล้วตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (electron microscope) ด้วยวิธี leaf dip พบอนุภาคเชื้อไวรัสเป็นท่อนยาวคดงอ คือเชื้อ passionfruit woodiness virus และจากการทดสอบการถ่ายทอดโดยเพลี้ยอ่อน 4 ชนิด คือ *Myzus persicae*, *Aphis craccivora*, *A. glycines* และ *A. gossypii* โดยเลือกตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์และแข็งแรงไม่มีปีกมาถ่ายทอดโรคใบด่าง โดยการนำเพลี้ยอ่อนมาอดอาหารใน petri dish เป็นเวลา 3 - 5 ชั่วโมงแล้วย้ายเพลี้ยอ่อนไปดูดกินต้นแพสชั่นฟรุ้ตที่แสดงอาการเป็นโรคนาน 24 ชั่วโมง แล้วย้ายเพลี้ยอ่อนไปดูดกินต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตปกติ ที่มีอายุประมาณ 45 วัน นาน 24 ชั่วโมงโดยใช้เพลี้ยอ่อน 25 ตัวต่อต้น หลังจากนั้นฉีดพ่นยาฆ่าแมลง แล้วนำต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตไปเก็บในกรงกันแมลง ติดตามตรวจอาการการติดโรค 7 - 30 วัน ซึ่งพบว่า *A. gossypii* สามารถถ่ายทอดได้ดีที่สุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ *A. craccivora* 30 เปอร์เซ็นต์ *M. persicae* 30 เปอร์เซ็นต์ และ *A. glycines* ถ่ายทอดได้น้อยที่สุดคือ 10 เปอร์เซ็นต์

ดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) พบว่าแพสชั่นฟรุ้ตของบริษัทสยามอุตสาหกรรมที่จังหวัดระยอง ในปี 2528 - 2529 เป็นโรคใบด่างถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยพบอาการใบด่าง เส้นใบใส ผลด่าง ผิวเปลือกไม่เรียบ เปลือกหนากว่าปกติ ผลบิดเบี้ยวมีขนาดเล็กลง ผลผลิตลดลงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุเกิดจากเชื้อ passionfruit woodiness virus นอกจากนี้ยังพบเชื้อ cucumber mosaic virus แพสชั่นฟรุ้ตมีอาการด่าง และด่างเหลือง ใบยอดบิดและ หงิกงอ ผิวใบไม่เรียบ ผลบิดเบี้ยว ซึ่งถ้าเกิดเชื้อทั้งสองชนิดเข้าทำลายร่วมกันจะทำให้แพสชั่นฟรุ้ตมีอาการรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น

โดยทั่วไปแล้วในธรรมชาติ พบว่าแพสชั่นฟรุ้ตมีการเข้าทำลายร่วมของเชื้อไวรัสมากกว่าหนึ่งชนิด เชื้อไวรัสหลายชนิดสามารถเข้าทำลายร่วมกันบนพืชชนิดเดียวกัน ทำให้อาการของโรคมีความรุนแรง และความเสียหายเพิ่มขึ้น ซึ่งกองโรคพืชและจุลชีววิทยา (2532) ศึกษาเชื้อไวรัสโรคใบด่างแพสชั่นฟรุ้ตจากแหล่งปลูกต่างๆในประเทศไทยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (electron microscope) พบว่าในหนึ่งอาการมีลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสอยู่ร่วมกัน 2 แบบ คืออนุภาคเป็นท่อนยาวคดงอ และอนุภาคทรงกลม ซึ่งก็คือเชื้อ passionfruit woodiness virus และ cucumber mosaic virus

2.3 การถ่ายทอดของโรคไวรัสในแพสชั่นฟรุ้ต

เชื้อไวรัสเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ไม่สามารถเข้าสู่พืชอาศัยด้วยตัวเอง ต้องอาศัยพาหะหรือเข้าทางบาดแผล เชื้อไวรัสบางชนิดสามารถเข้าสู่พืชได้วิธีเดียว และบางชนิดเข้าสู่พืชได้หลายวิธี ซึ่งลักษณะวิธีของการถ่ายทอดจะมีความสำคัญในแง่ของการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสชนิดนั้นๆ การถ่ายทอดเชื้อโดยวิธีกล (mechanical transmission) เป็นการเข้าสู่พืชทางบาดแผล ไม่ค่อยเกิดขึ้นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามธรรมชาติ เพราะเชื้อไวรัสส่วนใหญ่มีปริมาณไม่สูงพอในเซลล์พืชหรือไม่คงทนเมื่อแยกตัวออกจากเซลล์พืช แต่ก็มีเชื้อไวรัสบางชนิด คือ tobacco mosaic virus และ potato virus X สามารถแพร่กระจายได้โดยการปฏิบัติทางเขตกรรม เช่น การใช้มีดหรือกรรไกรตกแต่งพืช (นวลพรรณ งามยี่สุ่น. 2539)

ธีระ สูตะบุตร (2532) รายงานว่าเชื้อ cucumber mosaic virus มีพืชอาศัย (host range) กว้างมาก จากการทดสอบพืชอาศัย 46 ชนิดใน 13 วงศ์ คือวงศ์ Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Compositae, Cucurbitaceae, Labiatae, Leguminosae, Pedaliaceae, Polemoniaceae, Solanaceae, Umbelliferae, Cruciferae, Gramineae และ Convolvulaceae โดยการถ่ายทอดผ่านทางน้ำคั้น (mechanical sap transmission) พบว่าสามารถเข้าทำลายพืชทดสอบได้จำนวน 35 ชนิดใน 10 วงศ์ ซึ่งมีเพียง 3 วงศ์เท่านั้นที่ไม่ใช่พืชอาศัย ได้แก่ วงศ์ Cruciferae, Gramineae และ Convolvulaceae

Satya *et al.* (2002) รายงานว่าเชื้อ chilli veinal mottle virus ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคไวรัสของพริก ในประเทศอินเดีย ทำให้ใบพริกมีอาการด่างสีเขียวเข้ม และใบม้วนงอ สามารถถ่ายทอดทางน้ำคั้น (mechanical sap transmission) ได้ดีลงในพืชอาศัยในวงศ์ Solanaceae และยังสามารถถ่ายทอดผ่านทางแมลงพาหะคือ เพลี้ยอ่อน *A. gossypii*, *A. craccivora* และ *M. persicae* แบบ non – persistent

การถ่ายทอดเชื้อไวรัสผ่านทางเมล็ด (seed transmission) เชื้อไวรัสสามารถติดไปกับส่วนของ seed coat และถ่ายทอดลงสู่ต้นกล้าเมื่อมีการนำเมล็ดไปเพาะซึ่ง Tomlinson and Carter (1970) รายงานว่าเชื้อ cucumber mosaic virus สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดของต้น *Stellaria metia* ได้ 21-40 เปอร์เซ็นต์ ถ้าต้นแม่เกิดจากเมล็ดที่เป็นโรค และCooper (1976) รายงานว่าเชื้อ cherry leaf roll virus สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเชื้อเข้าทำลายต้นยาสูบ *N. rustica* ซึ่งปลูกที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส สำหรับในแพสชั่นฟรุ้ต ปัจจุบันยังไม่พบว่ามีการรายงานการถ่ายทอดเชื้อไวรัสผ่านทางเมล็ดพันธุ์ (seed transmission) ซึ่งการถ่ายทอดเชื้อไวรัสในแพสชั่นฟรุ้ตที่สำคัญ ได้แก่ การถ่ายทอดทางน้ำคั้น (mechanical sap transmission) การทาบกิ่ง (transmission by grafting) และทางแมลงพาหะ (insect transmission) (Taylor and Greber. 1973)

การถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยการทาบกิ่ง (transmission by grafting) วิธีนี้สามารถเกิดขึ้นได้เมื่อมีการใช้ต้น stock หรือ scion ที่เป็นโรคในการทาบกิ่ง การถ่ายทอดเชื้อไวรัสจะประสบความสำเร็จมากขึ้น ถ้าการทาบกิ่งใช้ส่วนของ stock และ scion ของพืชที่อยู่ใน species เดียวกันหรือใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ยังสามารถถ่ายทอดโดยติดไปกับท่อนพันธุ์ (transmission by vegetative propagation) ซึ่งวิธีนี้จะเกิดกับพืชที่ใช้การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ คือการขยายพันธุ์แบบ การปักชำ การตอน การใช้ไหล และการใช้หัวปลูก

การถ่ายทอดเชื้อไวรัสที่สำคัญที่สุดในการแพร่ระบาดของโรคคือ การถ่ายทอดทางแมลงพาหะ ซึ่งแมลงพาหะส่วนใหญ่จะอยู่ใน Order Homoptera ประกอบไปด้วยวงศ์ Aphididae คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพลี้ยอ่อนชนิดต่างๆ วงศ์ Cicadellidae คือ เพลี้ยจั๊กจั่น วงศ์ Delphacidae คือ เพลี้ยกระโดด วงศ์ Aleyrodidae คือ แมลงหวี่ขาวและ วงศ์ Pseudoococcidae คือ เพลี้ยแป้งนอกจากนี้ยังมี Order Coleoptera คือ พวกด้วงชนิดต่างๆ Order Thysamoptera คือ เพลี้ยไฟ และ Order Acarina คือ พวกไร ซึ่ง Jayashree *et al.* (1999) รายงานว่าเชื้อ pumpkin yellow vein mosaic virus เข้าทำลายต้นฟักทองอย่างกว้างขวางได้ในทุกระยะการเจริญเติบโต ซึ่งพาหะนำโรคคือแมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* และพบว่าการถ่ายทอดเชื้อทำให้เกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้แมลงอดอาหารเป็นเวลา 6 ชั่วโมงแล้วนำมาปล่อยให้ดูดกินพืชที่ปกตินาน 3 ชั่วโมงในอัตรา 15 ตัวต่อต้น

Doomar *et al.* (1999) รายงานว่าเชื้อ cucumber mosaic virus ที่เข้าทำลายต้น marigold (*Tagetes erecta* L) ทำให้เกิดอาการใบด่าง และใบหงิก ในประเทศอินเดีย สามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสได้ทางน้ำคั้น (mechanical sap transmission) และ แมลงพาหะ (insect transmission) คือพวกเพลี้ยอ่อน 3 ชนิด ได้แก่ *A.gossypii*, *A. Craccivora* และ *M. persicae*

Redinbaugh *et al.* (2002) รายงานว่าเชื้อ maize fine streak virus ซึ่งอยู่ในกลุ่ม Rhabdovirus ทำให้ข้าวโพดเกิดอาการใบด่างเป็นขีดๆ สามารถถ่ายทอดผ่านทางแมลงพาหะคือเพลี้ยอ่อน *Rhopa losiphum padi* และ *M. persicae*

การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อไวรัสผ่านทางแมลงพาหะ (insect transmission) ของแพสชั่นฟรุ้ต พบว่า Passiflora leaf mottle virus ในประเทศเปอร์โตริโก สามารถถ่ายทอดเชื้อผ่านทางแมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* จากต้นแพสชั่นฟรุ้ตที่เป็นโรคไปยังต้นถั่วจากการตรวจสอบด้วยวิธี Dot blot และSouthern hybridization. (Brown *et al.* 1993)

Rubies *et al.* (1996) เก็บตัวอย่างใบ *Passiflora* sp นำมาตรวจสอบหาโรคไวรัส พบว่าโรคมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง ซึ่งส่วนใหญ่เชื้อถูกถ่ายทอดโดยเพลี้ยอ่อนได้แก่ เชื้อไวรัสในกลุ่ม Cucumovirus, Potyvirus, Carlavirus และ Alfamovirus

Iwai *et al.* (1996) ศึกษาแพสชั่นฟรุ้ตพันธุ์ Ohdama ซึ่งมีอาการด่างแบบ systemic ที่ใบและมีรูปร่างผิดปกติอย่างรุนแรง พบว่าสาเหตุโรคเกิดจากเชื้อ passionfruit woodiness virus สามารถถ่ายทอดโดยเพลี้ยอ่อน *M. persicae*

Chagas *et al.* (2001) รายงานว่าเชื้อไวรัสในกลุ่ม Rhabdovirus หรือ Rhabdovirus-like ได้แก่เชื้อ greenspot passiflora virus ในแพสชั่นฟรุ้ต สามารถถ่ายทอดโดยไรในวงศ์ Brevipalpus คือ *Brevipalpus phoenicis*, *B. obovatus* และ *B. californicus* ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับแพสชั่นฟรุ้ตในประเทศบราซิล

2.4 วิธีการจัดการโรคไวรัสในแพสชั่นฟรุ้ต

วิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (Intergrated Pest Management) เป็นการใช้วิธีจัดการศัตรูพืชร่วมกันตั้งแต่ 2 วิธีขึ้นไป เพื่อลดการใช้สารเคมีหรือใช้ให้น้อยที่สุดในการป้องกันกำจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศัตรูพืชไม่ให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ ลดปัญหาสารพิษตกค้าง และรักษาสภาพแวดล้อม สำหรับการควบคุมโรคไวรัสโดยวิธีผสมผสาน การจัดการแมลงพาหะมีความสำคัญในการควบคุมโรคไวรัส ซึ่งนอกจากการใช้สารเคมีแล้วยังมีวิธีที่สามารถจัดการกับแมลงได้หลายวิธี

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และคณะ (2536) ใช้วิธีเขตกรรม วิธีกลและการฉีดพ่นสารเคมีทางใบป้องกันกำจัดโรคไวรัสของแตงร้าน พบว่าการใช้แผ่นพลาสติกสีเงินสะท้อนแสงคลุมแปลงร่วมกับการฉีดพ่นสารกำจัดแมลงพาหะของเชื้อไวรัสทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 39.90 เปอร์เซ็นต์ จากแปลงเปรียบเทียบ ปริมาณเพลี้ยอ่อน และแมลงหวี่ขาวลดลง 79.30 และ 69.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อัตราการเกิดโรคใบด่างลดลง 82.66 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไวรัสใบด่างแตง (cucumber mosaic virus) ไวรัสจุดวงแหวนมะละกอ (papaya ringspot virus) และไวรัสใบด่างเหลืองซุกินี (zucchini yellow mosaic virus) ลดลง 100, 100 และ 86.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Takada (1995) ศึกษาการใช้วิธีการผสมผสานในการควบคุมเพลี้ยอ่อนซึ่งเป็นพาหะนำโรคไวรัส ประกอบด้วย การใช้สารเคมีโดยใช้สารขับไล่ สารลดการกินอาหาร และสารเคมีฆ่าแมลง การควบคุมทางกายภาพโดยการคลุม การใช้ตาข่าย และการควบคุมโดยชีววิธีโดยใช้แมลงเบียนและแมลงห้ำ พบว่าวิธีการใดวิธีการหนึ่งไม่สามารถควบคุมโรคไวรัสได้อย่างสมบูรณ์ ควรใช้หลายหลายวิธีร่วมกันในการควบคุม

Hernandez *et al.* (2000) ศึกษาการเกิดโรค และความรุนแรงของโรค papaya ringspot virus โดยจัดการใน 3 ระบบคือ ระบบที่ 1 เป็น Integrated management (IPM) ระบบที่ 2 เป็น Integrated management ที่ไม่มี citroline (เป็น mineral oil ที่ได้มาจากปิโตรเลียม) (IPM-SC) และระบบที่3 เป็นแปลงปลูกตามธรรมชาติ พบว่าการใช้ระบบที่1 และระบบที่ 2 (IPM และ IPM-SC) เกิดโรคไวรัส 85 และ 88 เปอร์เซ็นต์ แต่ในระบบที่ 3 (แปลงธรรมชาติ) พบ 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับด้านผลผลิตระบบที่2 (IPM-SC) ให้ความสูงของต้น จำนวนผลผลิตต่อต้นสูงที่สุดคือ 33741.3 กิโลกรัม/เฮกแตร์ ระบบที่1 (IPM) 31330.60 กิโลกรัม/เฮกแตร์ และระบบที่3 (แปลงธรรมชาติ) 17055.80 กิโลกรัม/เฮกแตร์

สารเคมี imidacloprid เป็นสารกำจัดแมลงชนิดดูดซึม มีฤทธิ์ตกค้างในธรรมชาติน้อย สามารถกำจัดแมลงที่อยู่ในดิน เมล็ด และที่ใบของพืชได้ ใช้กำจัดแมลงที่มีปากแบบดูดกินคือ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาวได้ดี โดยปกตินิยมใช้ป้องกันกำจัดแมลงกับพืชประเภท ข้าว ธัญพืช ข้าวโพด มันฝรั่ง ผัก และผลไม้ ซึ่ง Ahmed *et al.* (2001) รายงานการเปรียบเทียบการใช้สารเคมี imidacloprid กับ cypermetrin ที่อัตราที่ใช้เท่ากันคือ 47.6, 71.4, 95.2 และ 119 g a.i./ha ฉีดพ่นลงดินทุกๆ 10 วัน นาน 6 สัปดาห์ หลังจากปลูกเมล็ดมะเขือเทศในการควบคุมแมลงหวี่ขาว *B. tabaci* ซึ่งเป็นแมลงพาหะในการถ่ายทอดเชื้อ tomato yellow leaf curl virus พบว่าการใช้สารเคมี imidacloprid สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค tomato yellow leaf curl virus ได้ดีกว่าการใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี cypermetrin ในทุกอัตราที่ใช้ และการใช้สารเคมี imidacloprid สามารถป้องกันการเกิดโรคไวรัสของต้นกล้ามะเขือเทศได้นานถึง 12 สัปดาห์

การใช้น้ำมันปิโตรเลียมในการจัดการศัตรูพืช เป็นวิธีที่นำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ ซึ่งในประเทศออสเตรเลีย และประเทศจีน ประสบความสำเร็จในการนำน้ำมันปิโตรเลียมเข้าสู่ระบบการจัดการศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (Integreated Pest Management) ในการจัดการแมลงศัตรูส้ม ซึ่ง รุจน์ มรกต (2541) และ วิทย์ นามเรืองศรี (2543) รายงานว่าน้ำมันปิโตรเลียม มีระดับความเป็นพิษน้อย ส่วนมากจะอุดตันรูหายใจหรือช่องผ่านของอากาศในตัวแมลง นอกจากนี้ทำให้แมลงลดการวางไข่ และการกินอาหาร วิธีนี้สามารถป้องกันกำจัด เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไก่แจ้ส้ม แมลงหวี่ขาว และไรได้ดี สำหรับวิธีอื่นคือ การใช้กับดัก ซึ่งพบว่ากับดักกาวเหนียวสีเหลืองเป็นสีที่ดึงดูดแมลง เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว หมัดตัวด้วง และผีเสื้อบางชนิดได้ดี มีประสิทธิภาพในการประเมินความหนาแน่นของประชากรแมลง สามารถใช้เป็นตัววัดในการควบคุมแมลงเหล่านี้ได้ ซึ่งศรีสุดา โท้ทอง และปิยรัตน์ เขียนมีสุข (2543) ศึกษาสีของกับดักกาวเหนียวที่ใช้ดักจับเพลี้ยไฟในสวนกล้วยไม้พบว่า สำหรับเพลี้ยไฟ กับดักสีเหลือง สีฟ้า สีขาว และสีน้ำเงิน ดักจับเพลี้ยไฟได้มาก กว่ากับดักแผ่นสีใส ส่วนสีเขียว และส้ม ดักจับแมลงได้น้อย พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับดักแผ่นสีใส

นอกจากนี้ยังมีการนำวิธี Cross-protection คือการปลูกเชื้อไวรัสชนิดไม่รุนแรงมาใช้ในการป้องกันโรคไวรัส ซึ่งดวงใจ ชูปัญญา (2534) รายงานว่าการปลูกเชื้อไวรัสชนิดอ่อนลงในต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ต สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสชนิดรุนแรงได้ โดยการคัดเลือกเชื้อไวรัสใบด่างชนิดอ่อน (mild strain) ที่พบในธรรมชาติมาทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสชนิดรุนแรง (severe strain) ในสภาพไร่ที่จังหวัดระยองโดยเปรียบเทียบระหว่างต้นที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ (control) ต้นที่ปลูกเชื้อชนิดอ่อน ต้นที่ปลูกเชื้อชนิดรุนแรง และต้นที่ปลูกเชื้อชนิดอ่อนก่อน 2 สัปดาห์ แล้วปลูกเชื้อชนิดรุนแรงซ้ำลงไป พบว่าต้นที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ (control) เป็นโรครุนแรง 86 เปอร์เซ็นต์ ต้นที่ปลูกเชื้อไวรัสชนิดอ่อน (mild strain) แสดงอาการของโรค 43 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่ปลูกเชื้อชนิดอ่อนก่อนแล้วปลูกเชื้อชนิดรุนแรงลงไปพบว่าแสดงอาการเป็นโรค 44 เปอร์เซ็นต์

2.5 วิธีการวินิจฉัยเชื้อด้วยเทคนิคต่างๆ

2.5.1 พืชอาศัย (Host range)

ข้อมูลของชนิดพืชทดสอบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย รวมทั้งอาการของโรคที่ปรากฏมีความสำคัญมากทั้งสำหรับเชื้อไวรัสที่มีการศึกษาแล้ว และเชื้อไวรัสที่ยังไม่มีการศึกษามาก่อน ซึ่งใช้เป็นข้อมูลสำคัญในการวินิจฉัยเชื้อ แต่อย่างไรก็ดีข้อมูลชนิดของพืชอาศัยที่นำมาทดสอบที่พืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงอาการออกมา ไม่สามารถใช้เป็นข้อมูลเดียวในการสรุปชนิดของเชื้อไวรัสได้ นอกจากนี้ชนิดของพืชทดสอบ ยังมีประโยชน์ในการคัดเลือกพืชที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรัส (นวลพรรณ งามยี่สุ่น. 2539)

2.5.2 การตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscopy)

การใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนสามารถตรวจสอบตัวอย่างที่ได้จากการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เพื่อศึกษารายละเอียดของอนุภาคหรือการตรวจสอบน้ำคั้นจากพืชที่เป็นโรคได้ในเวลาที่รวดเร็ว ซึ่งการเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจสอบที่นิยมใช้คือวิธี quick leaf dip โดยการใช้หยดของน้ำคั้นจากใบพืชที่เป็นโรคหรือวิธี epidermis strip โดยการลอก epidermis ของใบพืชที่เป็นโรคมาวางบนหยด stain ที่ใช้ (Hictchborn and Hill. 1965) สำหรับเทคนิคที่ใช้ในระยะแรกคือ เทคนิค metal shadowing ซึ่งใช้ดูรูปร่าง และขนาดของอนุภาคเชื้อไวรัสแต่จะไม่เห็นรายละเอียดต่างๆ ภายในอนุภาค วิธีนี้ใช้กับตัวอย่างที่ได้จากการแยกเชื้อไวรัสให้บริสุทธิ์ที่สะอาดมากๆ แทบไม่มีสิ่งเจือปน โดยการสเปรย์ตัวอย่างลงบนกริด (copper grid ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร และเคลือบด้วย formvar หรือ collodion) เมื่อตัวอย่างแห้งก็พ่นด้วยไอโลหะหนักคือ ทอง platinum หรือ uranium ภายใต้ระบบสูญญากาศ ทำให้ไอโลหะหนักมาเคลือบอยู่บนตัวอย่าง ทำให้เกิดเงาที่ตัวอย่าง ได้ภาพตัวอย่างเป็น 3 มิติ เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนอนุภาคของตัวอย่างจะเป็นสีขาวเมื่อบันทึกลงบนฟิล์มจะเป็นสีดำและ ต่อมาพัฒนาใช้เทคนิค negative contrast staining ซึ่งปัจจุบันเป็นวิธีที่นิยมใช้กันแพร่หลาย โดยการเตรียมตัวอย่างค่อนข้างง่ายและรวดเร็ว สามารถตรวจสอบจากตัวอย่างน้ำคั้นของพืชที่เป็นโรคได้โดยไม่จำเป็นต้องเป็นตัวอย่างที่บริสุทธิ์ การย้อมสีแบบ negative staining สีจะจับรอบๆ อนุภาค ทำให้ได้ภาพของอนุภาคที่เป็นสีขาวรอบๆ ซึ่งสีที่ใช้ย้อมเป็นพวกโลหะหนักคือ sodium phosphotungstate 2 เปอร์เซ็นต์ uranyl acetate หรือ ammonium molybdate ที่อิเล็กตรอนผ่านไม่ได้หรือผ่านได้ยาก (นวลพรรณ งามยี่สุ่น. 2539)

2.5.3 การตรวจสอบ dsRNA ของเชื้อ (dsRNA detection)

การนำเทคนิคการแยกสกัดกรดนิวคลิอิคแบบ RNA สายคู่ (dsRNA extraction) มาใช้ในการตรวจสอบ และวินิจฉัยเชื้อไวรัส ซึ่งส่วนใหญ่ไวรัสมีหน่วยพันธุกรรมเป็น RNA การเข้าทำลายของเชื้อไวรัสจะมีช่วงการทวีจำนวนของเชื้อ (multiplication) จะมีการเกิด double stranded RNA (dsRNA) จึงทำการแยกสกัด RNA ออกมา ซึ่งวิธีที่นิยมนำมาใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรัสกันอย่างแพร่หลาย และมีการดัดแปลงนำมาใช้ประโยชน์ในการจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสหลายชนิด

Rezaian *et al.* (1991) รายงานการตรวจ dsRNA ของเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดใบม้วนงอในต้นองุ่น หลายพันธุ์ที่นิยมใช้ผลิตไวน์ โดยการแยกสกัด dsRNA ของเชื้อ และทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี CF11 cellulose chromatography แล้วตรวจสอบ dsRNA ด้วย gel eletrophoresis พบว่าขนาดของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

dsRNA มีความแตกต่างกัน ซึ่งเปลี่ยนแปลงไปตามพันธุ์ขององุ่น และพบว่าเชื้อไวรัสมีความเข้มข้นสูงในเนื้อเยื่อส่วนลำต้นมากกว่าในใบของต้นองุ่น นอกจากนี้ นวลพรรณ งามยิ่สุ่น และกีรติกุล ชีกว้าง (2546) รายงานว่าการแยกสกัด dsRNA ของเชื้อจากใบมะลิที่แสดงอาการเป็นโรคจากสภาพธรรมชาติและมะลิที่แสดงอาการใบด่างจากการถ่ายทอดเชื้อโดย *Myzus persicae* โดยใช้ Rneasy Plant Mini Kit (QIAGEN) โดยมี บริษัท ธีระเทรดดิ้ง เป็นตัวแทนจำหน่าย พบว่ามีการเข้าทำลายของเชื้อ cucumber mosaic virus

2.5.4 การตรวจสอบโดยเทคนิค Reverse Transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)

ปัจจุบันเทคนิค PCR หรือ Polymerase Chain Reaction ได้ถูกพัฒนา และนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสต่างๆ โดยประกอบด้วย 3 ขั้นตอนคือ

1. การแยกสกัด DNA หรือ RNA (nucleic acid extraction)

เป็นการแยกสกัดเอาสารพันธุกรรมออกจากสิ่งส่งตรวจ ก่อนที่จะนำสารพันธุกรรมที่ได้ไปทำการเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิคต่างๆทางด้านชีวโมเลกุล

2. การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Thermal Cycling)

หลักการทั่วไปของเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) เป็นเทคนิคการเพิ่มขยายปริมาณชิ้นส่วนของ DNA ในหลอดทดลอง การเพิ่มขยายปริมาณ DNA จำเป็นต้องอาศัยองค์ประกอบต่างๆ ดังนี้คือ DNA แม่พิมพ์ (template DNA) thermostable, DNA polymerase, deoxyribonucleotide triphosphates (dNTPs), oligonucleotide primers และ Buffer ที่เหมาะสม

ปฏิกิริยาการสังเคราะห์จะเกิดต่อเนื่องซ้ำกันเป็นวงจรลูกโซ่ ในแต่ละรอบ (Cycle) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่1. Denaturation

เป็นขั้นตอนการแยกสายคู่ของดีเอ็นเอแม่พิมพ์ให้เป็นสายเดี่ยว โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 90 - 95 องศาเซลเซียส ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำหรือสั้นเกินไป จะทำให้การแยกสายแม่พิมพ์ไม่สมบูรณ์ เป็นผลให้ประสิทธิภาพการทำ PCR ลดลง โดยทั่วไปการ denature ที่ 94 – 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที ก็เพียงพอสำหรับการแยกสายแม่พิมพ์อย่างสมบูรณ์ แต่ในทางปฏิบัติจริงๆ เวลาที่ใช้อาจปรับเปลี่ยนตามความเหมาะสม ขึ้นกับลักษณะความซับซ้อน (complexity) ของแม่พิมพ์ ลักษณะ และขนาดของหลอด PCR ปริมาตรของปฏิกิริยา PCR ชนิดของเครื่อง thermocycler ที่ใช้ ในกรณีแม่พิมพ์ที่มี GC content สูงอาจต้องใช้เวลา denature นานขึ้น หรือใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้น การเติม glycerol ลงไปเพื่อกันการระเหยของน้ำ พยายามหลีกเลี่ยงการใช้อุณหภูมิที่สูงเกินไปหรือนานเกินไป เนื่องจากจะทำให้ activity ของ polymerase ลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่2. Annealing

เป็นขั้นตอนลดอุณหภูมิลงมาที่ 50 – 55 องศาเซลเซียส เพื่อให้ Primer สามารถเกาะติดกับดีเอ็นเอแม่พิมพ์สายเดี่ยวตรงบริเวณลำดับนิวคลีโอไทด์คู่สม ขั้นตอนนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อประสิทธิภาพ และความจำเพาะในการทำ PCR โดยทั่วๆ ไปสามารถทดสอบหาอุณหภูมิที่เหมาะสม โดยการหาค่า Tm ของ Primer โดยการใช้ software หรือสูตรคำนวณ ได้ดังนี้ Tm = 4 (G + C) + 2 (A+T) ซึ่งจะได้ค่า Tm อย่างหยาบๆ จากนั้นเปรียบเทียบการทำ PCR โดยใช้อุณหภูมิ annealing ที่ต่างกันประมาณ 2 องศาเซลเซียส หลายๆอุณหภูมิ โดยใช้ค่า Tm – 5 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิหลัก การใช้อุณหภูมิต่ำเกินไปทำให้การ annealing อย่างไม่จำเพาะเกิดขึ้นอย่างมากมาย แต่ถ้าใช้อุณหภูมิสูงเกินไป การ annealing จะเกิดขึ้นน้อยหรือไม่มีเลย

ขั้นตอนที่3. Primer extension

เป็นขั้นตอนการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ต่อออกจาก Primer ในทิศทาง 5’ ไป 3’ อุณหภูมิขั้นนี้จะอยู่ในช่วง 70 – 75 องศาเซลเซียส ช่วงเวลาที่ใช้ขึ้นกับความยาว และความเข้มข้นของสายแม่พิมพ์ รวมทั้งอุณหภูมิที่ใช้ในปฏิกิริยาด้วย การสังเคราะห์จะดำเนินตามลำดับ 3 ขั้นตอนซ้ำกันเป็นจำนวน 20 – 30 รอบ ทำให้ได้ PCR product หรือ amplified product เป็นดีเอ็นเอสายใหม่เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก

3. การแยกผลผลิตดีเอ็นเอโดยใช้กระแสไฟฟ้าและการบันทึกผล (Detection)

หลังจากปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสเสร็จสมบูรณ์แล้ว นำผลผลิตที่ได้ คือ ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน เนื่องจากมีจำนวนซ้ำของลำดับเบสแกนไม่เท่ากัน มาแยกโดยใช้กระแสไฟฟ้าโดยใช้ตัวกลางชนิดอะกาโรส (agarose gel) ที่มีความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ผ่านกระแสไฟฟ้าขนาด 180 โวลต์ โดยใช้เวลาประมาณ 30 - 40 นาที ชิ้นดีเอ็นเอซึ่งมีประจุเป็นลบจะเคลื่อนที่ไปทางขั้วบวก โดยชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็ก จะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่ เมื่อชิ้นดีเอ็นเอแยกโดยสมบูรณ์ แล้วจึงนำ agarose gel มาย้อมด้วยสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) และนำไปตรวจสอบผลภายใต้กล่องแสงอัลตราไวโอเลต เพื่อดูลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นซึ่ง Faten *et al.* (1999) รายงานการจำแนกเชื้อไวรัสในกลุ่ม potyvirus คือ potato virus Y และ pepper veinal mottle virus ของ pepper *(Capsicum annuum* L.) ในประเทศตูนีเซีย ในช่วงปี 1995 - 1997 โดยการใช้วิธี RT-PCR พบว่ามีการแพร่กระจายของเชื้อกลุ่ม potyvirus สูง ซึ่งเชื้อ potato virus Y พบว่ามีรายงานการแพร่ระบาดมานานแล้ว แต่สำหรับเชื้อ pepper veinal mottle virus เป็นการสำรวจพบเป็นครั้งแรกในประเทศตูนีเซีย

Kundu *et al.* (2003) รายงานการใช้เทคนิค RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) และ DAS- ELISA (Double antibody sandwich-enzyme linked immono-sorbent assay) ในการตรวจสอบเชื้อ apple stem grooving virus (ASPV) ซึ่งพบเชื้อไวรัสในทุกเนื้อเยื่อที่มา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจสอบคือ ส่วนเปลือก ตา กลีบดอก และใบของต้นแอปเปิ้ลที่เก็บตัวอย่างมาตรวจในช่วงเวลาที่แตกต่างกันใน 1 ปี

Marinho *et al.* (2003) ใช้เทคนิค RT-PCR ในการตรวจสอบเชื้อ apple stem grooving virus (ASPV) ในเนื้อเยื่อทุกส่วนของต้นแอปเปิ้ล โดยใช้ primer ASGV4F (5'- GTTCACTGAGGCA AAAGCTGTC - 3') - ASGV4R (5' – CTTCCGTACCTCTTCCACAGGAC - 3') ซึ่งจำเพาะต่อเชื้อ ASPV ในการ replicase gene ด้วยระบบ Titan RT-PCR โดยนำน้ำคั้นของใบหรือเปลือกของต้นแอปเปิ้ลมาเป็น first strand จากนั้นตรวจสอบการเกิดสีหลังจากการทำ PCR ด้วย sandwich hybridisation 2 ชนิด คือ biotin-labelled capture probe และ digoxigenin (DIG) – labelled detection probe ซึ่งพบว่าการใช้ primer ASGV4F - ASGV4R สามารถตรวจพบเชื้อ ASPV ได้แม้มีปริมาณตัวอย่างในปริมาณเล็กน้อย

Miroslawa (2004) รายงานการใช้เทคนิค RT-PCR ตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อ strawberry mottle virus ในพืช *Fragaria virginiana* UC-11 ซึ่งเป็นพืชที่มี polysaccharides และ phenolic compound มาก ทดลองเปรียบเทียบการสกัด RNA ของเชื้อไวรัสใน 2 วิธีคือ วิธี lithium method (ทำการบดตัวอย่างใน lithium chloride buffer) และวิธี silica capture method ตรวจสอบ RNA 1 ไมโครลิตร ที่ความเข้มข้น 5 dilutions คือ 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 และ 1:800 พบว่าวิธี lithium method ดีกว่าวิธี silica capture method เพราะว่าจากการตรวจสอบด้วย agarose gel electrophoresis แล้วย้อมสีด้วย ethidium bromide วิธี lithium method สามารถเห็น band RNA ที่ความเข้มข้น 1:50, 1:100, 1:200 และ 1:400 แต่สำหรับวิธี silica capture method ไม่สามารถเห็น band RNA ที่ความเข้มข้นทั้ง 5 เลย

Cigdem and Filiz (2005) รายงานการสำรวจโรค apple chlorotic leaf spot ในประเทศตุรกี จำนวน 369 ตัวอย่างจากพืชพวก stone fruit คือ cherry peach nectarine apricot และ plum โดยนำตัวอย่างที่มีอาการที่น่าจะเกิดจากเชื้อ ACLSV มาตรวจด้วยเทคนิค DAS-ELISA และ RT-PCR พบว่าการใช้ ELISA พบ 13 ตัวอย่างมีเชื้อ ACLSV ในขณะที่การใช้ PCR พบ 51 ตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวก พืชพวก apricot พบเชื้อมากที่สุดรองลงมาคือ peach cherry และ plum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การสำรวจโรคไวรัสในแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ต

3.1.1 สำรวจอาการโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ต

สุ่มสำรวจพื้นที่แปลงปลูกของเกษตรกรในอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร จำนวน 15 แปลง ตรวจหาอาการโรคไวรัสทั้งหมดที่แสดงในแพสชั่นฟรุ้ต บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ถ่ายรูปบริเวณชิ้นส่วนที่แสดงอาการของโรคและเก็บตัวอย่าง เพื่อนำมาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ

3.1.2 ประเมินความรุนแรงในการเกิดโรคของแพสชั่นฟรุ้ต

ประเมินระดับความรุนแรงของโรค โดยการสุ่มอย่างมีระบบแปลงละ 1 ไร่ ไร่ละ 50 ต้น (โดยการกำหนดให้หมายเลขลำดับแต่ละต้นก่อน ซึ่งปกติ 1 ไร่ มีต้นแพสชั่นฟรุ้ตประมาณ 200 ต้น คือ ลำดับเลข 1- 200 ต้องการกลุ่มตัวอย่าง 50 ต้น (200 ÷ 50 = 4) ต้องสุ่มหมายเลข 1 – 4 ออกมาก่อนหนึ่งหมายเลข เพราะต้องสุ่มหาต้นแรกในการเริ่มต้น เมื่อสุ่มได้แล้วกำหนดต้นที่สุ่มได้เป็นต้นที่ 1 จากนั้นนับต่อไปอีกทีละ 4 ต้น จนได้กลุ่มตัวอย่างครบ 50 ต้น) ซึ่งกำหนดระดับความรุนแรงของโรคโดยรวมในแต่ละต้น แล้วนำไปวิเคราะห์ค่าในทางสถิติ ซึ่งแบ่งระดับความรุนแรงของโรคเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 0 ถึง ระดับ 4 ดังแสดงในภาพที่3.1 ซึ่งดัดแปลงมาจาก Moshe *et al.* (2001)

3.1.3 การถ่ายทอดเชื้อ

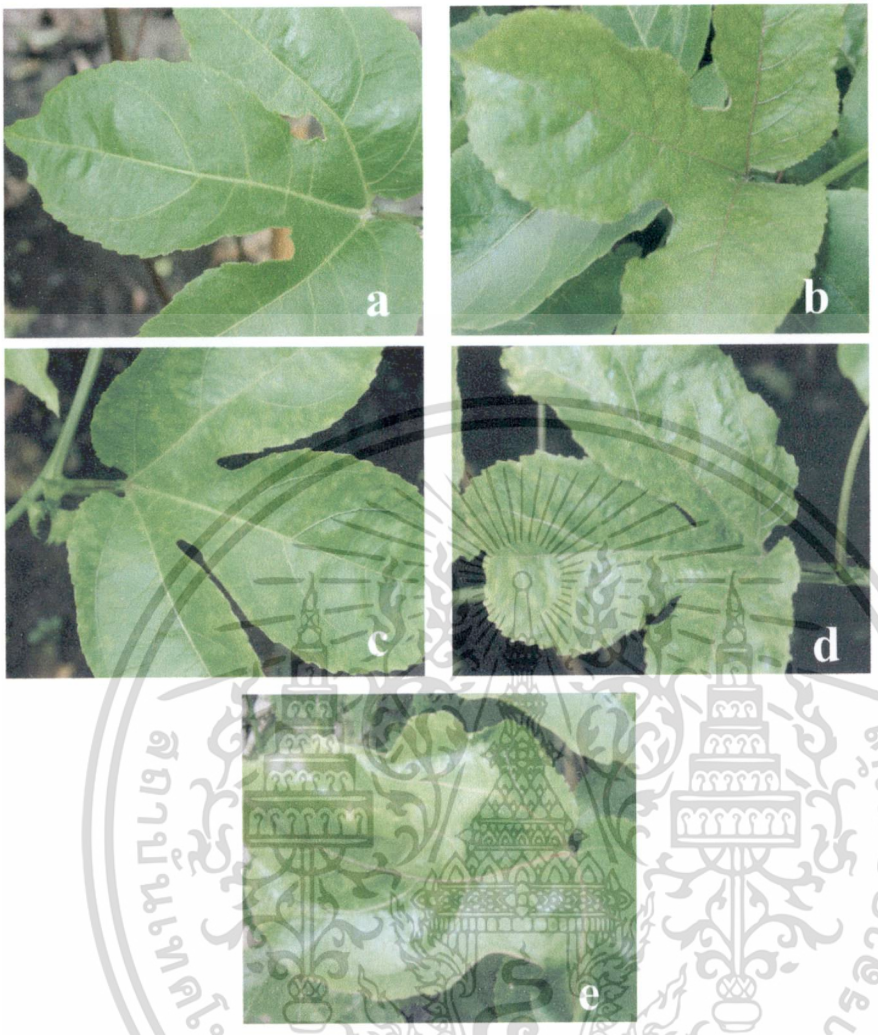
เก็บใบอ่อนของแพสชั่นฟรุ้ตที่แสดงอาการของโรคไวรัส จากแปลงปลูกของเกษตรกร มาทำการถ่ายทอด และเก็บรักษาเชื้อ เพื่อศึกษาต่อในสภาพโรงเรือนทดลองโดยถ่ายทอดเชื้อด้วยน้ำคั้น (mechanical sap transmission) ลงในต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตที่มีอายุประมาณ 1 เดือน โดยก่อนปลูกเชื้อต้องคลุมต้นกล้าด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้พืชมีสภาพอ่อนแอเหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อ นำใบอ่อนที่แสดงอาการของโรคไวรัสที่ชัดเจน และคาดว่ามีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อสูง บดให้ละเอียดด้วยสารละลาย Potassium phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 M pH 7.2 ในโกร่งที่แช่เย็น อัตราส่วนใบพืช 1 กรัมต่อ buffer 2 มิลลิลิตร และใส่ผง celite ลงไปด้วยเพื่อทำให้พืชเกิดบาดแผล เชื้อไวรัสสามารถผ่านเข้าไปในพืชได้ง่าย ใช้นิ้วมือที่สะอาดจุ่มทาน้ำคั้นเบาเบาไปยังใบอ่อนของต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ต ทำสัญลักษณ์ลงบนใบที่ทาน้ำคั้น เพื่อให้ทราบว่าเป็นใบที่ปลูกเชื้อ หลังจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นั้นพรมน้ำเล็กน้อยลงบนใบพืชเพื่อล้างเศษพืชที่อาจเป็นพิษออกจากใบพืชแล้วคลุมพืชทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเอาวัสดุคลุมออก แยกต้นพืชที่ปลูกเชื้อไปไว้ในเรือนทดลองกันแมลง รดน้ำทุกวัน สังเกตอาการ และบันทึกผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



ภาพที่3.1 การกำหนดระดับความรุนแรงของโรคซึ่งแบ่งออกเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 0 คือพืชปกติที่ไม่แสดงอาการของโรคหรือพื้นที่ใบเป็นโรค 0 เปอร์เซ็นต์ (a); ระดับ 1 คือ ใบอ่อนแสดงเฉพาะอาการด่างเล็กน้อยหรือพื้นที่ใบเป็นโรค 1 - 25 เปอร์เซ็นต์ (b); ระดับ 2 คือ ใบอ่อน แสดงอาการด่าง และหงิกเล็กน้อยหรือพื้นที่ใบเป็นโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ (c); ระดับ 3 คือ ใบอ่อนแสดงอาการด่าง และหงิกเพิ่มมากขึ้น แต่ใบอ่อนยังมีการเจริญเติบโต หรือพื้นที่ใบเป็นโรค 51-75 เปอร์เซ็นต์ (d); และระดับ 4 คือ ใบอ่อนแสดงอาการด่าง และหงิกรุนแรง ใบอ่อนหยุดชะงักการเจริญ เติบโตหรือพื้นที่ใบเป็นโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ (e)

70389

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสในแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ต

3.2.1 การทดสอบศึกษาพืชอาศัย (host range) ชนิดต่างๆ ของเชื้อไวรัสโดยการถ่ายทอดทางน้ำคั้น (mechanical sap transmission)

ทดสอบพืชอาศัยชนิดต่างๆ ในวงศ์ Leguminosae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae และ Passifloraceae ดังแสดงในตารางที่3.1 โดยนำเมล็ด 3 - 4 เมล็ด ปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ซึ่งบรรจุดินลงไป 3 ใน 4 ส่วนของกระถาง เขียนชื่อของพืชแต่ละชนิดติดลงบนกระถาง ดูแลรดน้ำจนพืชงอกงามถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการปลูกเชื้อ จากนั้นนำมาคลุมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทำให้พืชอ่อนแอ ง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อ เมื่อครบระยะเวลานำกระดาษหนังสือพิมพ์ที่คลุมออก และทำการปลูกเชื้อไวรัสด้วยน้ำคั้น (mechanical sap transmission)โดยนำใบแพสชั่นฟรุ้ตที่แสดงอาการของโรคมาบดให้ละเอียดในโกร่งแช่เย็น ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วกับสารละลาย Potassium phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 M pH 7.2 อัตราส่วนใบพืช 1 กรัมต่อ buffer 2 มิลลิลิตร ใส่ผง celite ใช้มือจุ่มน้ำคั้นแล้วนำไปทาลงบนใบพืชทดสอบเพื่อเป็นตัวทำให้เกิดแผลบนใบพืช หลังจากนั้นพรมน้ำเล็กน้อยลงบนใบพืชเพื่อล้างเศษพืชออก ติดป้ายบันทึกวันที่และชนิดของพืชที่ปลูกเชื้อ แล้วคลุมพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ที่ชุ่มน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงเอาวัสดุคลุมออก เก็บพืชที่ปลูกเชื้อแล้วในกรงกันแมลง รดน้ำทุกวัน สังเกต และบันทึกลักษณะอาการที่เกิดขึ้นหลังการปลูกเชื้อ 7 - 30 วัน เปรียบเทียบลักษณะอาการที่พบกับต้นเปรียบเทียบ (control) ชนิดละ 5 ต้น

ตารางที่3.1 วงศ์ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ และอายุของพืชที่ใช้ในการทดสอบการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสโดยการถ่ายทอดเชื้อไวรัสด้วยน้ำคั้น (mechanical sap transmission)

วงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	อายุที่ใช้ทดลอง(วัน)
Chenopodiaceae	*Chenopodium amaranticolor*	Goosefoot	45
Leguminosae	*Phaseolus aureus* Roxb	ถั่วเขียว	5-7
	Vigna sesquipedalis Wight	ถั่วฝักยาว	5-7
Cucurbitaceae	*Cucumis sativus* L	แตงกวา	5-7
Amaranthaceae	*Gomphrena globosa*	บานไม่รู้โรย	28-35
Passifloraceae	*Passiflora edulis* Sims	แพสชั่นฟรุ้ต	35-40
	Passiflora foetida L	กระทกรกป่า	35-40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 การวินิจฉัยเชื้อไวรัสโดยการตรวจสอบกรดนิวคลิอิค

การนำเทคนิคการแยกสกัดกรดนิวคลิอิคแบบ RNA สายคู่ (dsRNA extraction) มาใช้ในการตรวจสอบ และวินิจฉัยเชื้อไวรัส ซึ่งส่วนใหญ่ไวรัสมีหน่วยพันธุกรรมเป็น RNA ซึ่งการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสจะมีช่วงการทวีจำนวนของเชื้อ (multiplication) มีการเกิด double stranded RNA (dsRNA) จึงทำการแยกสกัด total RNA ออกมา ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ใช้ 2 วิธีในการแยกสกัดคือ การใช้ชุด Ultra Clean ™ Plant RNA Isolation Kit ของบริษัท MO BIO Laboratories.Inc ประเทศสหรัฐอเมริกา และการใช้ Plant concert solution ของบริษัท Invitrogen

3.2.2.1 การแยกสกัดกรดนิวคลิอิคของเชื้อไวรัส

แยกสกัดจากใบพืชที่เป็นโรค โดยใช้ชุดสกัด Ultra Clean ™ Plant RNA Isolation Kit. ของบริษัท MO BIO Laboratories.Inc. ซึ่งประกอบด้วยอุปกรณ์ดังภาพที่3.2 โดยมีขั้นตอนการแยกสกัดดังต่อไปนี้

1. บดใบพืชที่แสดงอาการของเชื้อไวรัสชัดเจนน้ำหนักประมาณ 0.1 กรัม ด้วย ไนโตรเจนเหลว เติมสารละลาย PMR1 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที

2. ดูดส่วนที่เป็นน้ำใสปริมาตรอย่างน้อย 600 ไมโครลิตร เติมสารละลาย PMR2 500 ไมโครลิตร และเติม สารละลาย PMR 3 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยวิธีกลับหลอดไปมา แช่ในน้ำแข็งนาน 5 นาที ก่อนนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3. ดูดส่วนที่เป็นน้ำใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย PMR4 800 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

4. ดูดสารละลายจากข้อ 3. ใส่ในหลอดที่มี spin filter ให้ได้ปริมาตร 650 ไมโครลิตร แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ทิ้งน้ำใสเก็บตะกอน

5. เติมสารละลาย PMR5 500 ไมโครลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วินาที หลังจากนั้นเทน้ำใสทิ้ง นำหลอดที่มี spin filter ไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบ 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้สารละลายที่ยังค้างอยู่บน filter ไหลผ่านลงมาจนหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. นำ spin filter จากข้อ 5. มาใส่ในหลอดใหม่เติมสารละลาย PMR6 ปริมาตร 30 - 50 ไมโครลิตร ก่อนนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที เพื่อละลายตะกอน RNA ที่ได้จากการสกัดทั้งหมด (total RNA) เก็บ RNA ที่ได้ที่ อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

การแยกสกัดโดยใช้น้ำยา Plant concert solution ของบริษัท Invitrogen ซึ่งประกอบด้วยอุปกรณ์ดังภาพที่3.3 โดยมีขั้นตอนในการสกัดดังต่อไปนี้

1. บดใบพืชที่แสดงอาการชัดเจนน้ำหนักประมาณ 0.1- 0.3 กรัม ด้วยไนโตรเจนเหลว เติมน้ำยา Plant concert solution ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex ปั่นเป็นเวลา 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที โดยการเอียงหลอด หลังจากนั้นจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 g เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

2. ดูดน้ำใสใส่ในหลอดใหม่ เติมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 5 M ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และเติม Chloroform ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 g ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3. ดูดน้ำใสส่วนบนใส่ในหลอดใหม่ ก่อนเติม Isopropyl alcohol เท่ากับปริมาณน้ำใสที่ได้ หลังจากนั้น นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา10 นาที

4. ทิ้งน้ำใส เก็บตะกอน ก่อนเติม ethanol ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 g ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที

5. ทิ้งน้ำใสแล้วนำหลอดผึ่งให้แห้ง (air-dry) ตะกอนที่ได้คือ RNA รวม (total RNA) ก่อนเติม RNAse free water ปริมาตร 10 – 30 ไมโครลิตรเก็บที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

3.2.2.2 จำแนกชนิดของเชื้อไวรัส โดยการตรวจสอบ ds RNA ของเชื้อไวรัส (Double stranded RNA detection)

การตรวจสอบ dsRNA ของเชื้อไวรัสที่ทำการแยกสกัด ในข้อ 3.2.2.1 โดยนำ total RNA ใน RNAse free water ที่ได้ไปทำการแยกด้วยวิธี gel electrophoresis โดยใช้ agarose gel ที่มีความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวกลาง electrophoresis buffer ที่ใช้คือ Tris-(hydroxymethyl)-aminomethane (TAE) buffer ซึ่ง TAE buffer (50 X) ซึ่งประกอบด้วย (Tris 242 กรัม glacial acetic acid 57.1 มิลลิลิตร และ EDTA 100 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.5M pH 8.0) อุปกรณ์การเตรียม gel electrophoresis ดังแสดงในภาพที่3.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการเตรียม agarose gel

เตรียม TAE buffer (10x) จาก TAE buffer (50 X) โดยใช้ TAE buffer (50 X) 50 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันแล้วนำ 50 มิลลิลิตร มาละลาย agarose gel ซึ่งมีน้ำหนัก 0.4 กรัม ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเตาไมโครเวฟ ไม่ควรให้เดือดเพราะจะเกิดการระเหยทำให้ปริมาตรเปลี่ยนแปลงไป หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้อุ่นพอดีที่สามารถจับด้วยมือเปล่าได้จึงนำไปเทใน gel chamber ก่อนเท gel ลงใน gel chamber ใส่หวี (comb) โดยให้ปลายซี่หวีอยู่สูงจากฐานประมาณ 2 มิลลิลิตร แล้วเท agarose gel ที่อุ่นลงไป ทิ้งไว้ 15-20 นาที จนแข็งตัวจึงค่อยๆ ดึงหวีออก เท buffer ที่เหลืออีก 450 มิลลิลิตร ลงไปให้ท่วม gel สูงประมาณ 1 - 3 มิลลิลิตร ใช้กระแสไฟฟ้าคงที่ที่ 50 โวลต์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยหยอดตัวอย่างของ total RNA ที่สกัดได้จากใบพืชเป็นโรคทำโดยการผสม total RNA ปริมาตร 10 ไมโครลิตร กับ gel loading buffer(Blue juice 10X จากบริษัท Invitrogen) ปริมาตร 2 ไมโครลิตร เข้าด้วยกัน ก่อนหยอดลงในแต่ละหลุมของ agarose gel สำหรับตัวเปรียบเทียบมาตรฐานคือ Lambda DNA ที่ถูกย่อยด้วย enzyme Hind III เมื่อให้กระแสไฟฟ้าครบ 2 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบ และวิเคราะห์ผล โดยนำ gel มาย้อมสีด้วยสารละลาย ethidium bromide ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็น เวลา 5 นาที เพื่อดูลักษณะการเคลื่อนที่ของ dsRNA โดยใช้กล่องแสง ultraviolet ที่ความยาวคลื่น 260 – 302 นาโนเมตร จากลักษณะการเคลื่อนที่ของ band dsRNA ที่ตรวจสอบได้นั้น สามารถนำมาเปรียบเทียบกับการเคลื่อนที่ของตัวมาตรฐานที่ใช้ แล้วคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลของตัวอย่างที่ต้อง การโดยเปรียบเทียบกับ linear curve การยืนยันผลว่า band ที่ได้เป็น dsRNA ทำโดยนำ gel ที่ได้มาแช่ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.15 M ที่มี enzyme RNAse เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที แล้วนำมาตรวจสอบบนกล่องแสง ultraviolet อีกครั้ง ซึ่งแถบ band ของ dsRNA จะยังคงอยู่ไม่ถูกย่อยสลาย

วิธีการคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลโดย linear curve ดังแสดงในภาพที่3.5

1. การหาสมการ linear ของตัวมาตรฐานหรือตัวเปรียบเทียบจากการเคลื่อนที่ใน gel electrophoresis

1.1 วัดระยะทางการเคลื่อนที่ของตัวมาตรฐาน (marker) แต่ละ band จากจุดกึ่งกลางหลุม gel electrophoresis ไปยังแต่ละ band ของ Lane marker

1.2 จากนั้นหาค่า log ของ น้ำหนักโมเลกุลตัวมาตรฐาน (marker เป็นตัวที่ทราบน้ำหนักโมเลกุลของแต่ละ band แล้ว)

1.3 แล้วนำค่าที่ได้คือ ค่าระยะทางการเคลื่อนที่ของแต่ละ band กับ ค่า log น้ำหนักโมเลกุลมาสร้างแผนภูมิในโปรแกรม Microsoft Excel

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 จากนั้นนำมาคำนวณหา สมการเชิงเส้นและ ค่า R- squared ให้เลือกที่ option เส้นแนวโน้มในโปรแกรม

2. วัดระยะทางการเคลื่อนที่ของตัวอย่างที่ต้องการทราบแต่ละ Lane ทุก band ที่สังเกตเห็นโดยวัดระยะทางจากจุดกึ่งกลางหลุม gel electrophoresis ในแต่ละ Lane ไปยังแต่ละ band ของแต่ละตัวอย่าง

2.1 นำค่าระยะทางที่วัดได้มาแทนค่าเป็นค่า X ในสมการเชิงเส้นที่ได้จากการไปสร้างแผนภูมิ ก็จะคำนวณได้เป็นค่า log น้ำหนักโมเลกุลของตัวอย่างแต่ละ band

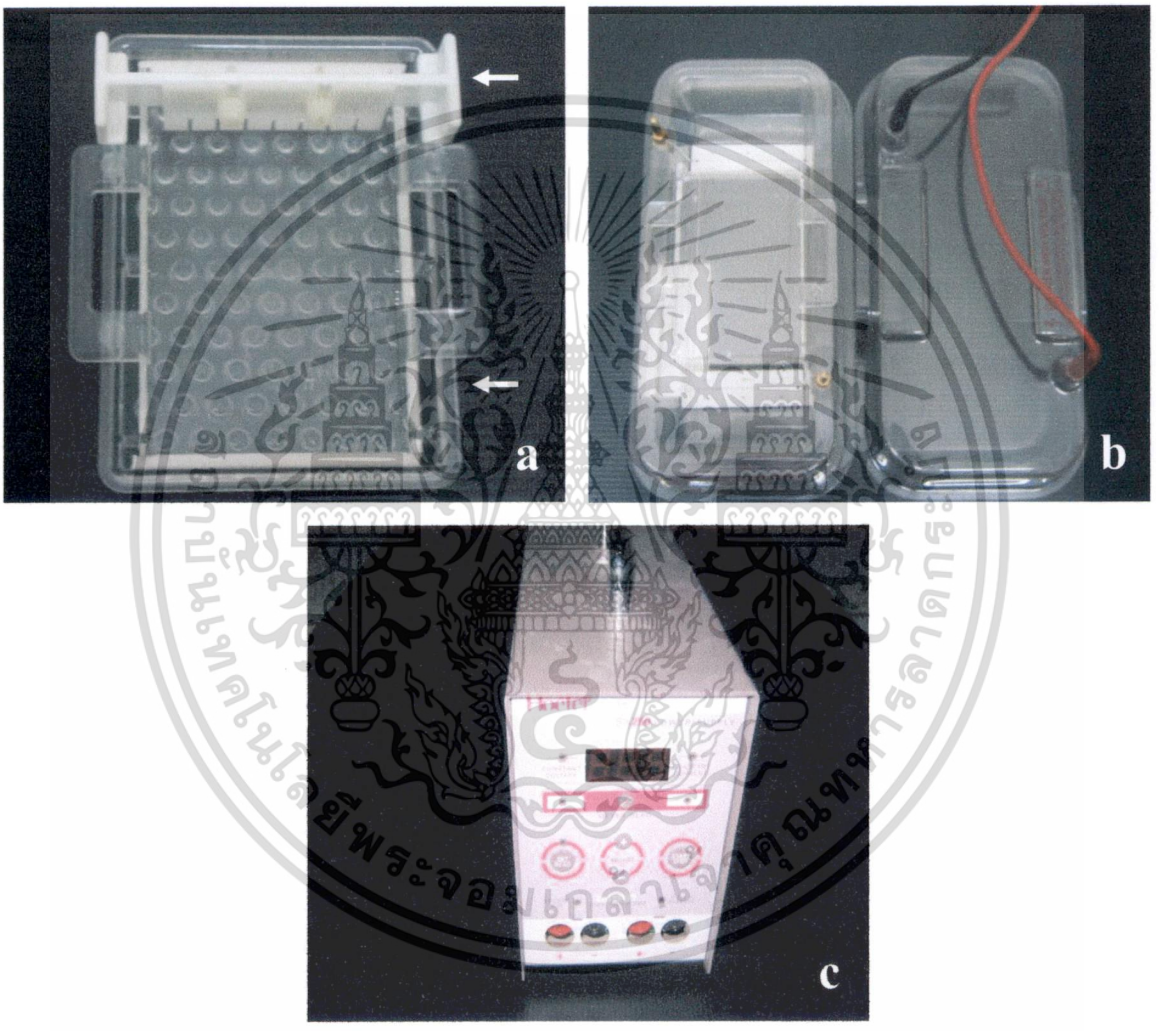
2.2 ถอดค่า log น้ำหนักโมเลกุลของตัวอย่างแต่ละ band ออกก็จะได้ค่าน้ำหนักโมเลกุลของตัวอย่างแต่ละ band (การถอดค่า log คำนวณโดยใช้ 10 ไปยกกำลังค่าของตัวอย่างที่ได้)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่3.2 แสดงชุดสกัด Ultra Clean ™ Plant RNA Isolation Kit. ประกอบด้วย Solution PMR1 (a); PMR2 (b); PMR3 (c); PMR4 (d); PMR5 (e); PMR6 (f); microtube (g); และ microtube (h); ที่มี spin filter (หลอดสีฟ้า)

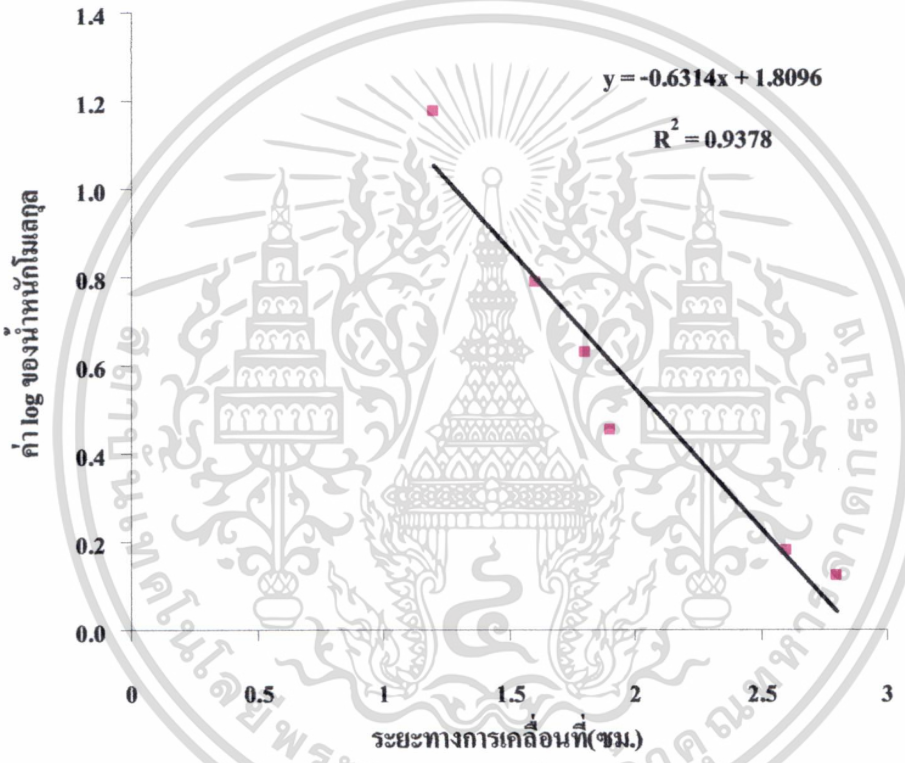
ภาพที่3.3 แสดงชุดสกัดโดยใช้น้ำยา Plant concert solution ประกอบด้วย chloroform (a); ethanol absolute (b); 2 – propanol (c); distilled water (DNAse RNAse Free) (d); และ plant RNA purification solution (e)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่3.4 แสดงอุปกรณ์การเตรียม gel electrophoresis ประกอบด้วยการเตรียม agarose gel ซึ่งประกอบด้วย หวี (comb) (a); และ gel chamber (ตามลูกศรชี้) ชุดสำหรับการ run gelelectrophoresis (b); เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าคงที่ที่ 50 โวลต์ (c)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่3.5 สมการเชิงเส้น และค่า R-squared จากการคำนวณโดยใช้ระยะทางเคลื่อนที่ของตัวมาตรฐาน และ ค่า log ของน้ำหนักโมเลกุลในโปรแกรม Microsoft Excel

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัสในกลุ่ม potyvirus โดยการใช้เทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction)

1. การหา temperature gradient PCR ที่เหมาะสม

ศึกษา temperature gradient PCR ในช่วงอุณหภูมิ 45 - 65 องศาเซลเซียส จำนวน 5 อุณหภูมิ คือที่ 45 51.5 56.2 60.9 และ 65 องศาเซลเซียส เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาเพิ่มทวีจำนวนของชิ้น DNA

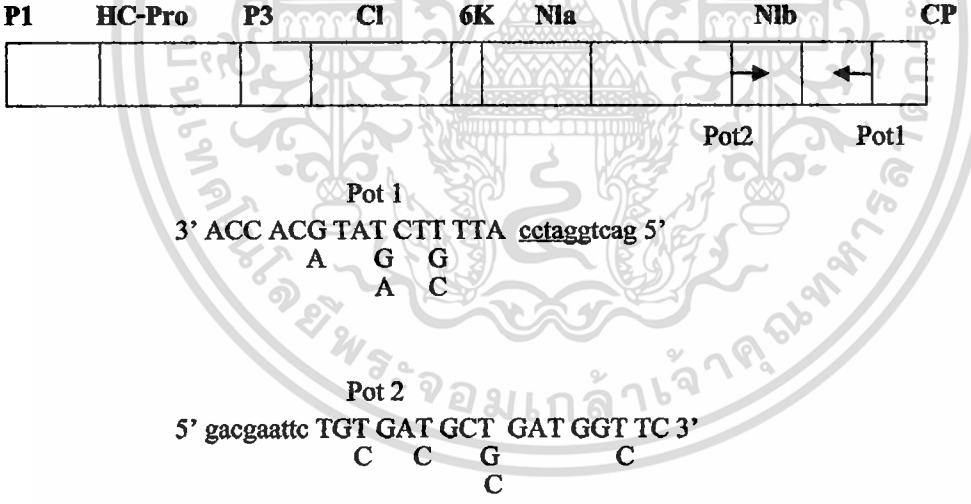
2. การเตรียม PCR mix (Superscript™ III one – step RT-PCR บริษัท Invitrogen)

โดยใช้ปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตรต่อ 1 ปฏิกริยา primer ที่ใช้ศึกษามีทั้งหมด จำนวน 4 คู่ด้วยกันประกอบด้วย

degenerate primer Pot1(5'ATTBTCDATRCACCA 3') (reverse) และ

Pot2 (5' TGYGAYGCBGATGGYTC 3') (forward)

โดย Pot 1 จับตรงตำแหน่ง CP : coat protein และ Pot 2 จับตรงตำแหน่ง NIb : nuclear inclusion b protein ดังแสดงในภาพที่3.6 (Colinet *et. al.* 1994) ใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรัสในกลุ่ม potyvirusgroup



ภาพที่ 3.6 แผนที่พันธุกรรมของ potyvirus genome แสดงตำแหน่งโดยเทียบกับ 2 degenerate primer P1 : first protein; HC – Pro : helper component – protease; P3 : third protein; CI : cytoplasmic inclusion protein; 6K : 6K peptide; NIa : nuclear inclusion a protein; Nib : nuclear inclusion b protein (RNA polymerase); CP : coat protein (Colinet *et. al.* 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียม PCR mix ประกอบ ด้วย 2 x buffer 12.5 ไมโครลิตร primer 1 ปริมาณ 0.5 ไมโครลิตร และ primer 2 ปริมาณ 0.5 ไมโครลิตร โดยใช้ น้ำ 1.5 ไมโครลิตร และ Supersript III RT 1 ไมโครลิตร ใส่หลอด PCR ไมโครทิวบ์ ได้ปริมาณรวม 15 ไมโครลิตร ผสม TemplateRNA 10 ไมโครลิตร (total RNA) ที่แยกสกัดได้จากตัวอย่างใบพืชแล้วนำเข้าเครื่องPCRต่อไป

3. การเตรียม cDNA โดยการใช้ Superscript ™ III First – Strand Synthesis System for RT – PCR

โดยการเตรียม primermix โดยผสม TemplateRNA 5 ไมโครลิตร Reverse primer ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร dNTP mix 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และ DEPC – trcated water ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดย briefly centrifuge นำไปบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หลังจากนั้น แช่น้ำแข็งทันทีอย่างน้อย 1 นาที จากนั้นทำการเตรียม cDNA Synthesis MIX โดยการผสม 10 x RT Buffer ปริมาตร 2 ไมโครลิตร $MgCl_2$ 25 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 4 ไมโครลิตร DTT 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 2 ไมโครลิตร Rnase OUT™ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และ SuperScript III RT ปริมาตร 1 ไมโครลิตร โดยการใส่เรียงตามลำดับ ผสม primer mix กับ cDNA Synthesis mix โดยใช้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เท่ากันผสมโดยการ briefly centrifuge บ่มที่ 50 องศาเซลเซียสนาน 50 นาที และที่ 85 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที แช่น้ำแข็ง เติม Rnase H 1 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที เก็บที่ -20 องศาเซลเซียส

4. การเตรียม Platinum PCR supermix

โดยนำ cDNA ที่ทำการเตรียมเสร็จแล้วมาผสมกับ Platinum PCR supermix ของ บริษัท Invitrogen โดยใช้ปริมาตรรวม 25.5 ไมโครลิตร การเตรียมใช้ PCR mix 22 ไมโครลิตร primer 1 ความเข้มข้น 0.05ไมโครโมล์ ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร และ primer 2 ความเข้มข้น 0.05ไมโครโมล์ ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร Template cDNA 5 ไมโครลิตร แบ่งใส่หลอด PCR microtubeแต่ละหลอดเตรียมเข้าเครื่อง PCR ใส่หลอด PCR microtube ลงในเครื่อง Programable DNA Thermal Cycle ตามเงื่อนไขดังนี้

โปรแกรม PCR ของ เชื้อ potyvirusgroup

94 องศาเซลเซียส	15 นาที		1 รอบ
94 องศาเซลเซียส	45 วินาที	}	
60 องศาเซลเซียส	30 วินาที	}	40 รอบ
72 องศาเซลเซียส	2 นาที	}	
72 องศาเซลเซียส	10 นาที		1 รอบ

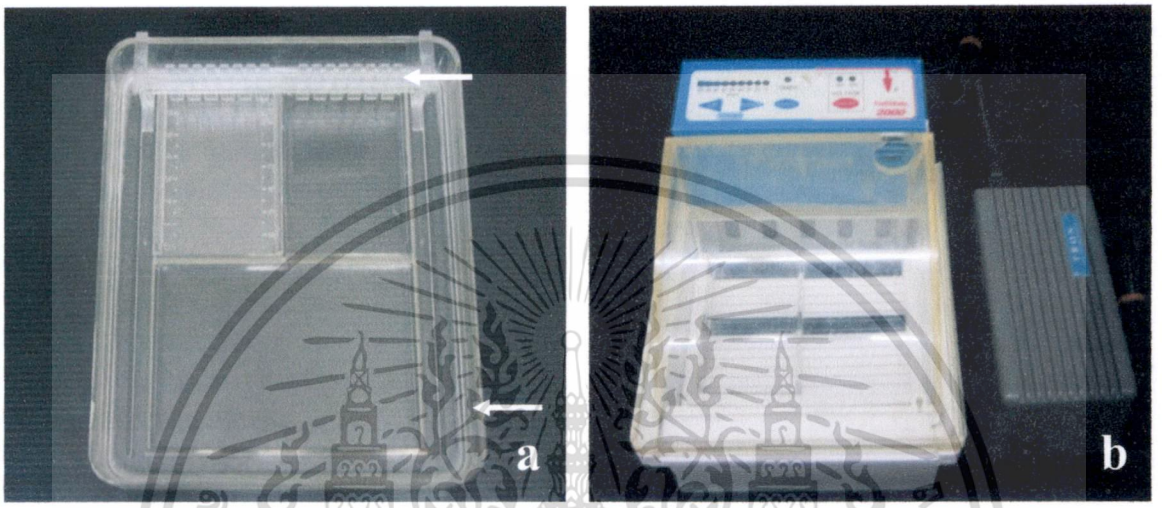
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.4 การใช้กระแสไฟฟ้า (gel eletrophoresis) ในการแยก RT-PCR product ของเชื้อไวรัส

เตรียม electrophoresis buffer โดยใช้ TBE buffer (50x) ซึ่งประกอบ ด้วย Tris 242 กรัม glacial acetic acid 57.1 มิลลิลิตร และ EDTA 100 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.5 M pH 8.0 อุปกรณ์การเตรียม gel eletrophoresis ดังแสดงในภาพที่3.7

ขั้นตอนการเตรียม agarose gel เตรียม TBE buffer (10x) จาก TBE buffer (50 X) โดยใช้ TBE buffer (50 X) 50 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันแล้วนำ 50 มิลลิลิตร มาละลาย agarose gel ซึ่งมีน้ำหนัก 0.4 กรัม ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน หยดสารตัวอย่างดีเอ็นเอลงในหลุมที่เตรียมไว้ เท buffer ที่เหลืออีก 450 มิลลิลิตร ลงไปให้ท่วม gel สูงประมาณ 1-3 มิลลิลิตร เตรียม loading dye ที่เข้มข้นประมาณ 10 เท่า ผสมกับ ethidium bromide ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อต้องการใช้จะผสมกับ PCR product ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 แล้วนำไปหยดลงในหลุมบน agarose gel ที่เตรียมไว้แต่ละหลุม โดยมีตัวเปรียบเทียบคือ DNA มาตรฐานซึ่งหยดลงในหลุม agarose gel ด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้าน ใช้ไฟฟ้าคงที่ที่ 100 โวลต์ เป็นเวลาประมาณ 50 นาที แล้วนำถาด gel ไปตรวจสอบภายใต้รังสี ultraviolet ด้วยเครื่อง Gel Photodocumentation System ซึ่งสามารถมองเห็นแถบสีของ RNA product ซึ่งเคลื่อนที่ไปจากขั้วลบไปยังขั้วบวกแล้วจากนั้นทำการบันทึกภาพ และ นำไปวิเคราะห์ผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่3.7 แสดงอุปกรณ์การเตรียม gel electrophoresis ประกอบด้วย การเตรียม agarose gel ซึ่งประกอบด้วยหวี (comb) (a); และ gel chamber (ตามลูกศรชี้) ชุดสำหรับการ run gelelectrophoresis (b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การศึกษาการถ่ายทอดทางเมล็ด (seed transmission)

ศึกษาการถ่ายทอดทางเมล็ดโดยการนำเมล็ดพันธุ์แพสชั่นฟรุ้ตที่มีการจำหน่ายในท้องตลาดมาทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ โดยใช้เมล็ดพันธุ์จำนวน 100 เมล็ด มาเพาะในกระถางโดยใช้ดินที่ปราศจากเชื้อ รดน้ำทุกวัน และเก็บไว้ในโรงเรือนป้องกันแมลง หลังจากนั้นสังเกตอาการของเชื้อไวรัสในต้นพืช ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนกระทั่งต้นกล้ามีอายุ 1 เดือน

3.4 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไวรัสโดยการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Electron microscope)

ตรวจสอบด้วยกล้องอิเลคตรอน Hitachi Model HU-12A ในฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง (ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง) สถาบันวิจัย และพัฒนามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์บางเขนโดยวิธี Leaf dip technique โดยการบดตัวอย่างใบพืชที่เป็นโรคในสารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.5 ที่แช่เย็น ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 (w/v) แยกตะกอนเศษพืชออกแล้วหยดน้ำคั้นของพืชเป็นโรคที่ต้องการทดสอบลงบนแผ่น parafilm ที่สะอาด นำกริด (grid) ขนาด 300 mesh ที่เคลือบด้วยสารละลาย formwar ที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ใน chloroform (w/v) และ carbon coat ซึ่งทำลายประจุผิวหน้ากริดแล้ว วางกริดคว่ำลงบนหยดน้ำคั้นประมาณ 10 นาที หลังจากนั้นล้างกริดด้วยสารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.1M pH 7.5 ประมาณ 1.5 มิลลิลิตร ซับขอบกริดด้วยกระดาษกรองให้แห้งพอหมาด ย้อมสีด้วย uranyl acetate (UA) 2เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 0.3 มิลลิลิตร ซับขอบกริดให้แห้งอีกครั้งก่อนนำไปตรวจดูด้วยกล้อง electron microscope (EM) เพื่อตรวจหาอนุภาคของเชื้อไวรัส ขนาด และรูปร่างของอนุภาค

3.5 การใช้วิธีการผสมผสานในการป้องกันกำจัดโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ต การประเมินระดับความรุนแรงของโรค เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค และผลผลิตที่ได้

ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไวรัสในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรเป็นระยะเวลา 1 ปี โดยเปรียบเทียบ 3 วิธีการ คือ 1) การใช้วิธีแบบผสมผสาน 2) การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงเพียงอย่างเดียว และ 3) แปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพื้นที่แปลงทดลองแต่ละแปลงมีขนาด 3 ไร่ และแปลงทดลองแต่ละแปลงตั้งอยู่ในบริเวณที่แตกต่างกันคือ แปลงที่ 1 ตั้งอยู่บริเวณเชิงเขา โดยพื้นที่แปลงครึ่งหนึ่งเป็นพื้นที่ราบ และอีกครึ่งหนึ่งลาดเทขึ้นบนเนินเขา แปลงที่ 2 ตั้งอยู่บนภูเขา คือพื้นที่แปลงปลูกทั้งหมดตั้งอยู่บนภูเขา และแปลงที่ 3 เป็นแปลงปลูกที่ตั้งอยู่บนพื้นที่ราบทั้งหมด เริ่มทำการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากการย้ายต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตลงแปลงปลูก ขณะแพสชั่นฟรุ้ตมีอายุประมาณ 2 เดือนไปจนถึงการเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) มี 10 ซ้ำ (ซ้ำละ 20 ต้น) ประกอบด้วย 3 วิธีการดังแสดงในภาพที่3.8 ซึ่งแต่ละวิธีการ มีการจัดการที่แตกต่างกันดังนี้คือ

วิธีที่1 การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงเพียงอย่างเดียว

ใช้สาร imidacloprid ควบคุมแมลงพาหะพวกเพลี้ยอ่อนในอัตรา 20 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับสารจับใบฉีดพ่นทางใบ 5 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นให้ทั่วแปลงทุกๆ 15 วัน

วิธีที่2 การใช้วิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน

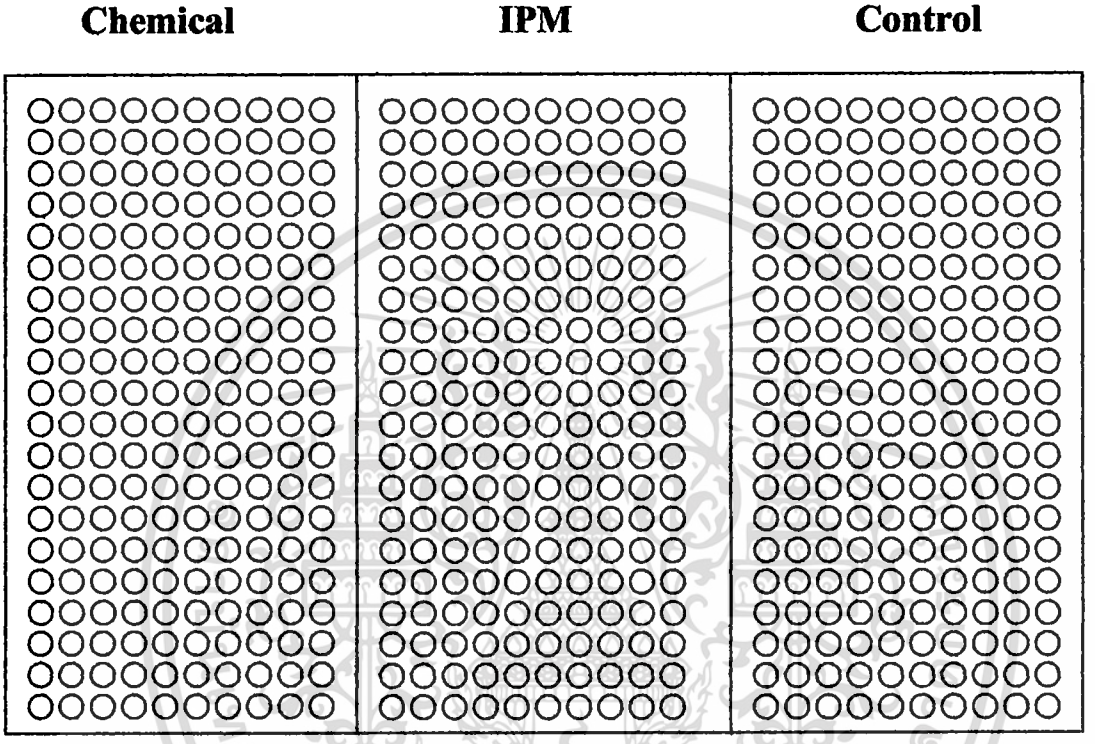
วิธีการนี้ใช้หลายวิธีการร่วมกันคือ การใช้กับดักกาวเหนียว การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง และการใช้น้ำมันปิโตรเลียมป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยการผูกกับดักกาวเหนียวสีเหลืองซึ่งเป็นสีที่มีการทดสอบ และรายงานว่าเป็นสีที่ดึงดูดแมลงพวก เพลี้ยอ่อน และแมลงหวี่ขาวได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการติดตามประเมินดูความหนาแน่นของประชากรแมลง ผูกติดกับค้างต้นแพสชั่นฟรุ้ตกระจายทั่วแปลงปลูกเฉพาะแปลงที่ใช้วิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเท่านั้น โดยทากาวเหนียวใหม่ทุกๆ 15 วัน สำหรับน้ำมันปิโตรเลียมป้องกันกำจัดศัตรูพืช (White oil) ใช้ในอัตรา 5 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร ใช้ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลง imidacloprid ที่อัตรา 20 ซีซี ต่อน้ำ 20 ลิตรและสารจับใบอัตรา 5 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นให้ทั่วแปลงทุกๆ 15 วัน

วิธีที่3 แปลงปลูกตามธรรมชาติ (Control)

เป็นแปลงปลูกที่ใช้เปรียบเทียบ โดยการปลูกตามธรรมชาติ และให้น้ำตามปกติ

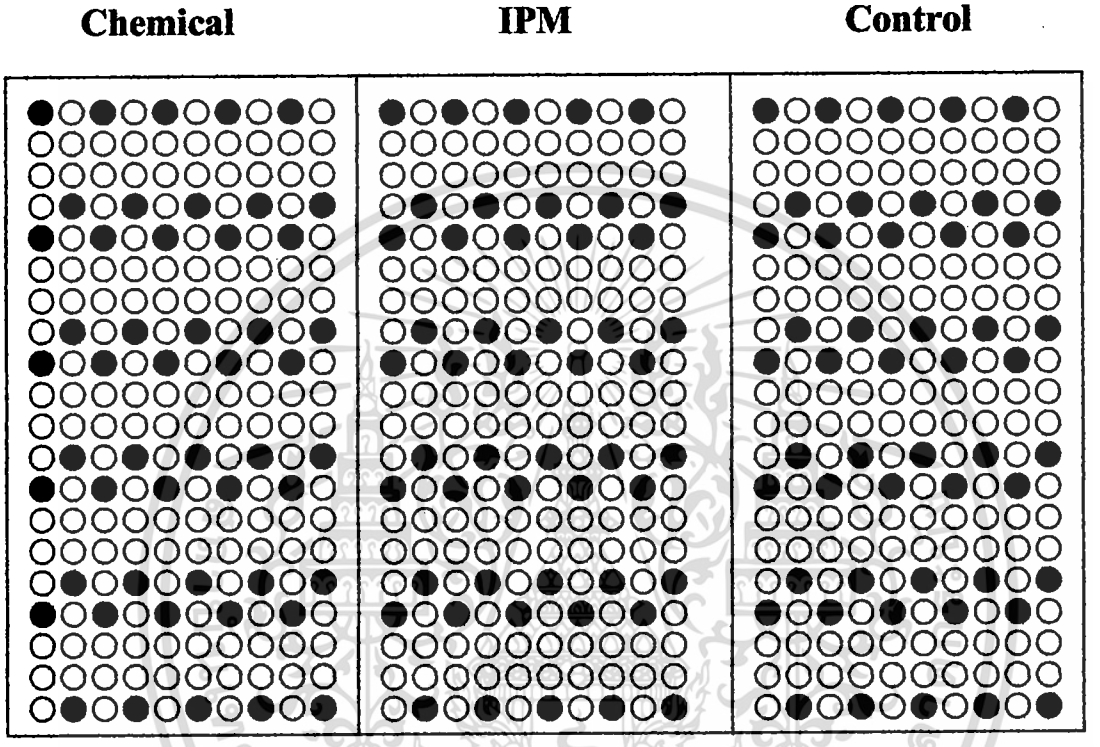
จากนั้นประเมินระดับความรุนแรงของโรค และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในทุกวิธีการ โดยการสุ่มประเมิน อย่างมีระบบวิธีการละ 50 ต้น ทุกๆ 30 วัน กำหนดระดับการเกิดโรคแบ่งเป็น 5 ระดับ คือระดับ 0 ถึง ระดับ 4 (ดังแสดงในข้อ 1.2) แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแตกต่างกันทางสถิติและเมื่อแพสชั่นฟรุ้ตให้ผลผลิต เก็บผลผลิตที่ได้ในแต่ละวิธีการ มาชั่งบันทึกข้อมูลจำนวนน้ำหนักของผลผลิต และนำข้อมูลไปวิเคราะห์เปรียบ เทียบความแตกต่างกันทางสถิติ ระหว่างแปลงที่ใช้สารเคมีกำจัดแมลงเพียงอย่างเดียว แปลงที่ใช้วิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ดังแสดงในภาพที่3.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่3.8 แสดงขนาดพื้นที่ 1 ไร่ ซึ่งมีจำนวนต้นแพสชั่นฟรุ้ตประมาณ 200 ต้นและ ระยะปลูก ขนาด 2 X 2 เมตร และการวางแผนผังการทดลองแต่ละวิธีการในสภาพพื้นที่แต่ละแปลงทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่3.9 แสดงการวางแผนผังในการสุ่มต้นแพสชั่นฟรุ้ตอย่างมีระบบในการประเมินระดับความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแต่ละวิธีการในสภาพพื้นที่แต่ละแปลงทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่4

ผลการทดลอง

4.1 การสำรวจโรคไวรัสในแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ต และการถ่ายทอดเชื้อ

4.1.1 ผลการสำรวจอาการในแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ต

จากการสำรวจพื้นที่แปลงปลูกของเกษตรกรในอำเภอปะทิว จำนวน 15 แปลงพบว่าพืชแสดงอาการของโรคไวรัสที่แตกต่างกันทั้งหมด 3 อาการ คือ 1) อาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรง 2) ใบด่างสีเขียวเข้ม และ 3) ใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding

อาการที่1 ใบด่างจุดเหลืองรุนแรง ซึ่งลักษณะอาการโดยรวมคือแผลจะเป็นจุดด่างสีเหลืองเข้ม มีขนาดค่อนข้างเล็กกระจายอยู่ทั่วไปเกือบทั้งใบขอบแผลค่อนข้างกลม บริเวณที่จุดแผลเกิดขึ้นอยู่หนาแน่นจะทำให้มีการแห้งตายซึ่งจะมีสีเหลืองถึงสีน้ำตาล ใบอ่อนที่แสดงอาการรุนแรงจะหยุดการเจริญเติบโตและหลุดร่วงไป และในที่สุดทำให้ยอดตายดังแสดงในภาพที่4.1

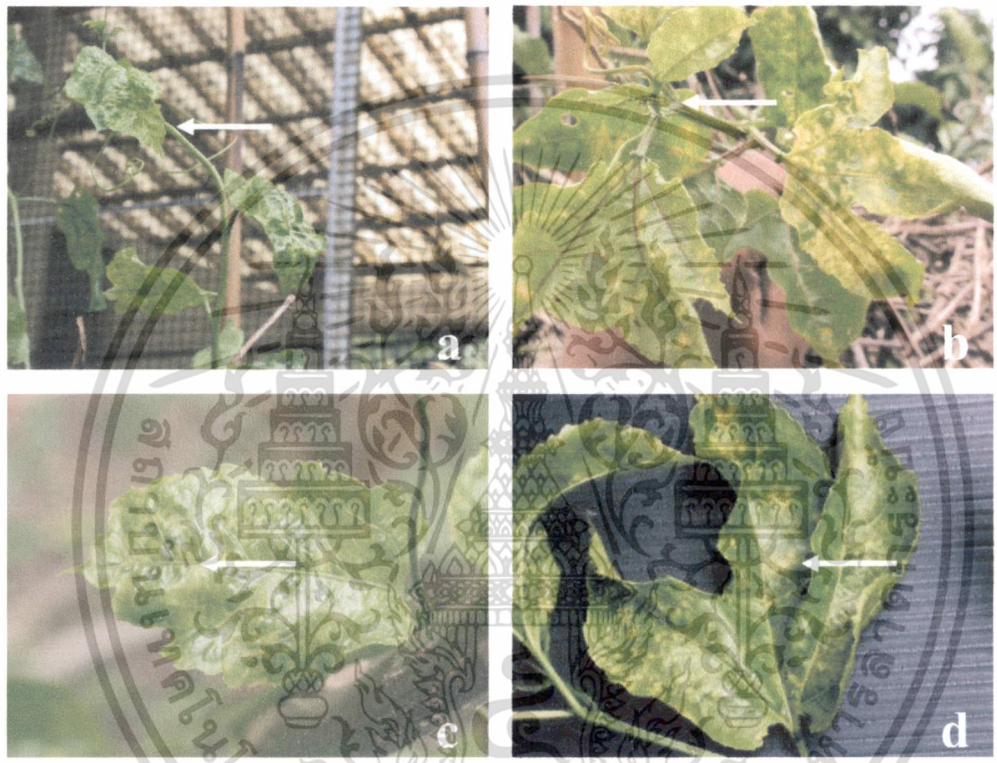
อาการที่2 ใบด่างสีเขียวเข้มของแพสชั่นฟรุ้ต พบมากที่ใบอ่อนซึ่งแสดงอาการด่างสีเขียวเข้มสลับกับสีเขียวอ่อนบริเวณขอบรอบๆ อาการด่างจะเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอน ตรงกลางบริเวณที่ด่างจะมีลักษณะแข็งกระด้าง และทำให้ใบบิดเบี้ยวเป็นคลื่น ใบอ่อนที่แสดงอาการรุนแรงจะชะงักการเจริญเจริญเติบโตดังแสดงในภาพที่4.2

อาการที่3 อาการใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding ใบโป่งเป็นคลื่น บิดเบี้ยวหรือม้วนงอ บางครั้งม้วนงอรุนแรงจนเกือบจะเป็นวงกลม ซึ่งบริเวณเส้นใบจะมารวมกันเป็นแถบใหญ่ๆ ดังแสดงในภาพที่4.3

4.1.2 ประเมินระดับความรุนแรงของโรคไวรัส (disease assesment) ในแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ต

จากการสุ่มสำรวจแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ตในอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร จำนวน 15 แปลง ซึ่งเริ่มในช่วงเดือนกรกฎาคม 2546 ถึงเดือนกรกฎาคม 2547 ดังแสดงในตารางที่4.1 พบว่าแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ตทุกแปลงมีอาการของโรคไวรัส ซึ่งระดับความรุนแรงของโรคในแต่ละแปลงมีความแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ที่สำรวจ ผลการประเมินระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย (disease assesment) เท่ากับ 2.2 คือ พบอาการใบอ่อนของแพสชั่นฟรุ้ตแสดงอาการทั้งด่าง และหงิกเล็กน้อยหรือพื้นที่ใบเป็นโรคประมาณ 26 - 50 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่4.4 และพบจำนวนต้นของการเกิดโรคเฉลี่ย (disease incidence) เท่ากับ 89.06 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.1 อาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรง ยอดอ่อนที่แสดงอาการไม่รุนแรงยังมีการเจริญ เติบโต (ตามลูกศรชี้) (a); ยอดอ่อนที่แสดงอาการรุนแรง ใบยอดด่างเหลืองรุนแรงไม่มีการเจริญเติบโต ในที่สุดใบจะหลุดร่วง และยอดตาย (ตามลูกศรชี้) (b); ใบอ่อนแสดงอาการจุดเหลืองในระยะแรก ซึ่งอาการไม่รุนแรง (ตามลูกศรชี้) และ (c); ใบแก่ที่แสดงอาการด่างจุดเหลืองอย่างชัดเจน แผลจะเป็นจุดด่างสีเหลืองเข้ม มีขนาดค่อนข้างเล็ก กระจายอยู่ทั่วไปเกือบทั้งใบ (ตามลูกศรชี้) (d)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่4.2 อาการด่างสีเขียวเข้ม ใบด้านล่างรูปร่างรีเป็นรูปไข่ขณะยังเป็นต้นอ่อน (a); และใบด้านบนขณะเจริญเติบโตมีรูปร่างเป็น 3 แฉก แสดงอาการด่างไม่รุนแรง ด่างเป็นจุดเล็กเล็ก สีเขียวเข้มกระจายอยู่ทั่วไป ซึ่งใบยังคงรูปร่างเดิม (ตามลูกศรชี้) (b); ใบด้านล่างรูปร่างรีเป็นรูปไข่ขณะยังเป็นต้นอ่อน และ (c); ใบด้านบนขณะเจริญเติบโตรูปร่างเป็น 3 แฉก แสดงอาการด่างรุนแรง ซึ่งอาการด่างจะเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอน ตรงกลางบริเวณที่ ด่างจะมีลักษณะแข็งกระด้าง และทำให้ใบบิดเบี้ยวผิดรูปร่าง (ตามลูกศรชี้) (d)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่4.3 อาการใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding ใบด้านบนรูป 3 แฉก แสดงอาการเฉพาะบริเวณปลายใบซึ่งใบโป่งเป็นคลื่น บิดเบี้ยวหรือม้วนงอ (ตามลูกศรชี้) (a) และ (b); ใบด้านล่างรูปไข่ แสดงอาการเส้นใบมารวมกันเป็นแถบใหญ่ (ตามลูกศรชี้) (c); และ ใบด้านบนรูป 3 แฉก แสดงอาการบิดเบี้ยวหรือม้วนงอรุนแรง เส้นใบจะมารวมกันเป็นแถบใหญ่ๆ (ตามลูกศรชี้)(d)

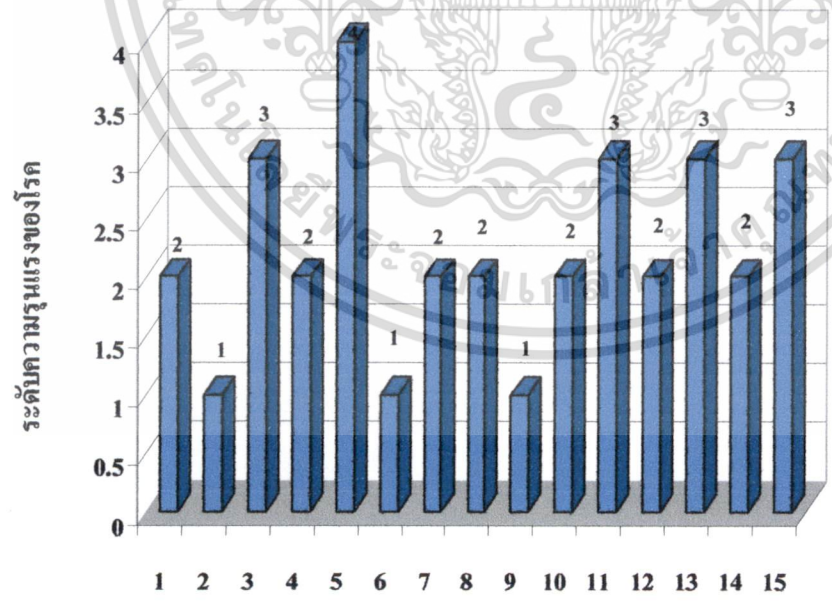
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.1 การประเมินระดับความรุนแรงของโรค (disease assessment) และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (disease incidence) ของแพสชั่นฟรุ้ตที่สำรวจจำนวน 15 แปลง

แปลงที่	ขนาดของพื้นที่ (ไร่)	ระดับความรุนแรงของโรค 1/ (disease assesment)	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 2/ (disease incidence)
1	5	2.0	82.00
2	1	1.0	72.00
3	1	3.0	96.00
4	4	2.0	80.00
5	5	4.0	100.00
6	2	1.0	80.00
7	2	2.0	88.00
8	2	2.0	94.00
9	5	1.0	98.00
10	4	2.0	88.00
11	10	3.0	90.00
12	5	2.0	80.00
13	2	3.0	88.00
14	3	2.0	100.00
15	6	3.0	100.00
รวม	**57**	**33.0**	**1336.00**
เฉลี่ย	**3.8**	**2.2**	**89.06**

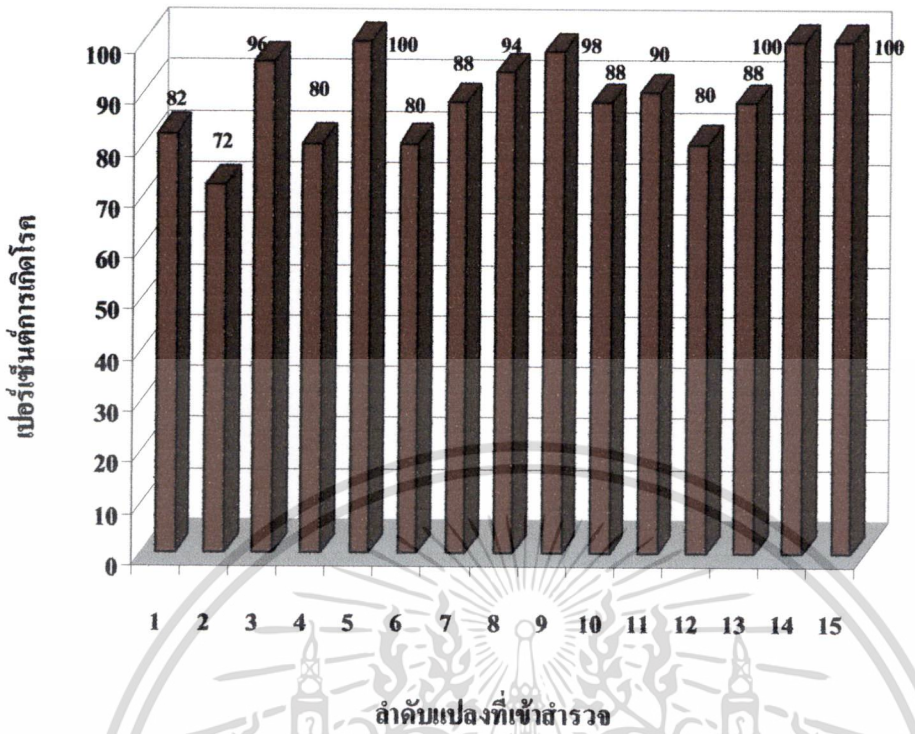
1/ ค่าเฉลี่ยจาก 50 ต้น

2/ ค่าเฉลี่ยจาก 50 ต้น

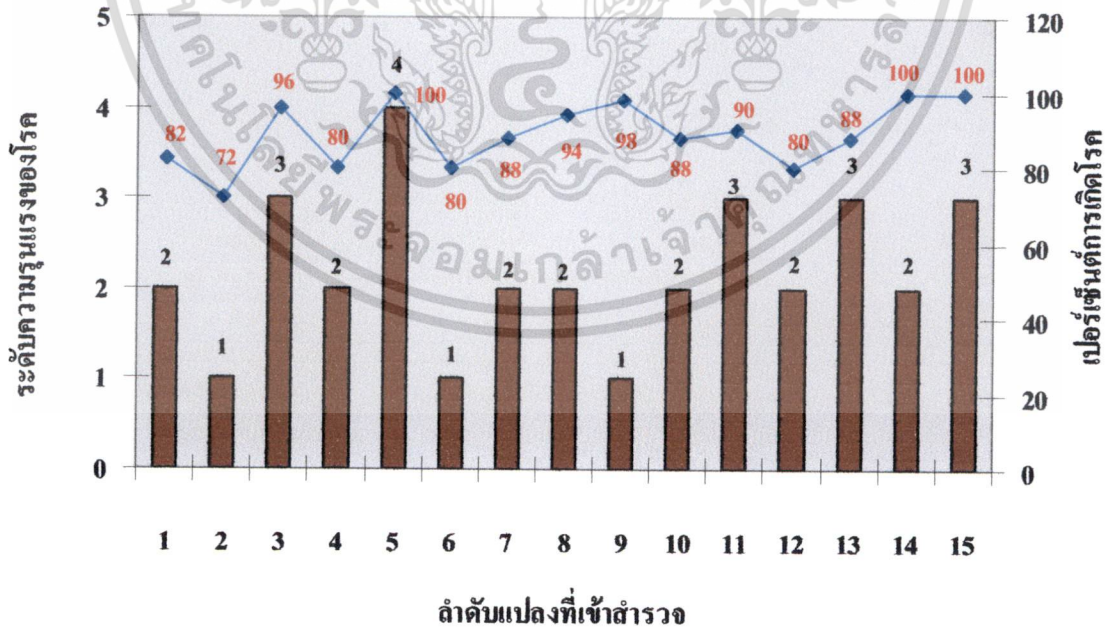


ภาพที่4.4 การประเมินระดับความรุนแรงของโรคไวรัส (disease assesment) ในแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ตของเกษตรกรจำนวน 15 แปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.5 การประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัส (disease incidence) ในแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ตของเกษตรกรจำนวน 15 แปลง



ภาพที่4.6 การประเมินระดับความรุนแรงของโรค (disease assesment) และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (disease incidence) ของแพสชั่นฟรุ้ตที่สำรวจจำนวน 15 แปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 ผลการถ่ายทอดเชื้อและ เพิ่มจำนวนเชื้อ

การเก็บตัวอย่างใบที่แสดงอาการโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตในแปลงเกษตรกรมาถ่ายทอดโดยการใช้น้ำคั้น (mechanical sap transmission) ลงในต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตที่มีอายุ 40 วัน ดังแสดงในภาพที่4.7 โดยแต่ละอาการที่นำมาถ่ายทอดเชื้อมีพัฒนาการดังนี้

1) อาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรง หลังจากปลูกเชื้อ 14 วัน ต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตเริ่มปรากฏอาการจุดแผลเล็กๆ (local lesion) จุดแผลค่อนข้างกลม มีสีเหลืองในใบที่ถูกปลูกเชื้อ ต่อมาอาการจุดเหลืองจะลุกลามแพร่กระจายไปยังใบยอด (systemic lession) และจุดแผลเริ่มขยายใหญ่ขึ้นทำให้ใบพืชเหลืองเกือบทั้งใบ ใบโป่งพองและบิดเบี้ยวผิดรูปร่าง ซึ่งจะสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนหลังจากปลูกเชื้อ 28 วัน ดังแสดงในภาพที่4.7a

2) อาการใบด่างสีเขียวเข้ม หลังจากปลูกเชื้อ 14 วัน ต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตเริ่มปรากฏอาการจุดแผลสีน้ำตาลเล็กๆ (local lesion) และ ใบที่ถูกปลูกเชื้อจะบิดเบี้ยว ต่อมาอาการจะปรากฏชัดเจนที่ใบยอด (systemic lession) ซึ่งมีอาการด่างเป็นจุดสีเขียวเข้มจำนวนมาก บริเวณที่ด่างจะมีลักษณะแข็งกระด้างและ ทำให้ใบบิดเบี้ยวเป็นคลื่น ซึ่งจะสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนหลังจากปลูกเชื้อ 28 วัน ดังแสดงในภาพที่4.7b

3) อาการใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding หลังจากปลูกเชื้อ 14 วัน ใบที่ถูกปลูกเชื้อจะบิดเบี้ยวเป็นคลื่น (local lesion) ต่อมาอาการจะปรากฏชัดเจนที่ใบยอด (systemic lession) ซึ่งมีอาการด่างเป็นจุดสีเขียวอ่อน บริเวณที่ด่างจะมีลักษณะแข็งกระด้าง เส้นใบจะมารวมกันเป็นแถบใหญ่ๆทำให้ใบบิดเบี้ยวม้วนงอ ซึ่งจะสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนหลังจากปลูกเชื้อ 28 วัน ดังแสดงในภาพที่4.7c

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่4.7 อาการของโรคไวรัสหลังจากปลูกเชื้อ 28 วันในต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตที่มีอายุ 40 วัน ซึ่งเก็บตัวอย่างอาการโรคไวรัสจากแปลงปลูกแพสชั่นฟรุ้ตของเกษตรกรมาถ่ายทอดโดยการใช้น้ำคั้นใบด่างจุดเหลืองรุนแรง (ตามลูกศรชี้) (a); ใบด่างเขียวเข้ม (ตามลูกศรชี้) (b); และใบด่างเส้นใบเป็น vein banding (ตามลูกศรชี้) (c)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายแพสชั่นฟรุ้ต

4.2.1 ผลการทดสอบพืชอาศัยของเชื้อไวรัส

ผลการทดสอบพืชอาศัยชนิดต่างๆ ใน 5 วงศ์ คือ Chenopodiaceae, Leguminosae, Cucur bitaceae, Amaranthaceae และ Passifloraceae โดยนำใบแพสชั่นฟรุ้ตที่แสดงอาการของโรคไวรัสมาถ่ายทอดลงในพืชทดสอบโดยใช้น้ำคั้น (mechanical sap transmission) แสดงในตารางที่4.2

ตารางที่4.2 ลักษณะอาการการเกิดโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตจากการถ่ายทอดลงในพืชทดสอบจำนวน 5 วงศ์ โดยการใช้น้ำคั้น (mechanical sap transmission)

วงศ์และชื่อวิทยาศาสตร์	ลักษณะอาการที่นำมาทดสอบ อาการที่เกิดในพืชอาศัย และ ระยะเวลาที่เกิดอาการหลังปลูกเชื้อ		
	จุดเหลืองรุนแรง	ด่างเขียวเข้ม	ด่างเส้นใบ vein banding
Chenopodiaceae			
C. amaranticolor	L, 3-4 วัน	L-S, 7-10 วัน	L-S,7-10 วัน
Leguminosae			
P. aureus Roxb	L, 3-4 วัน	-	-
V. sesquipedalis Wight	S, 14 วัน	-	-
Cucurbitaceae			
C. sativus L	-	-	-
Amaranthaceae			
G. globosa	-	S, 14 วัน	S, 14 วัน
Passifloraceae			
P. edulis Sims	L-S, 10-14 วัน	L-S ,10-14 วัน	L-S, 10-14 วัน
P. foetida L	L-S, 10-14 วัน	L-S, 10-14 วัน	L-S, 10-14 วัน

L พืชทดสอบแสดงอาการจุดแผลแบบเฉพาะแห่ง (local lesion)

S พืชทดสอบแสดงอาการแบบกระจายทั่วทั้งต้น (systemic lesion)

- พืชทดสอบไม่แสดงอาการของโรคไวรัส

หลังจากถ่ายทอดอาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรงลงในพืชทดสอบในวงศ์ต่างๆ พบว่าเชื้อไวรัสแสดงอาการดังในภาพที่4.8 คืออาการในต้นกล้า *C. amaranticolor* แสดงอาการแผลเฉพาะแบบ local lesion หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 3 - 4 วันซึ่งจุดแผลค่อนข้างกลม มีสีน้ำตาล และใบที่ถูกถ่ายทอดเชื้อไวรัสลงไปจะหลุดร่วงไปภายใน 7 วันดังแสดงในภาพที่4.8a ในต้นกล้าถั่วเขียวแสดงอาการแผลเฉพาะแบบ local lesion หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 3 - 4 วันซึ่งจุดแผลค่อนข้างกลม มีสีน้ำตาลเข้ม และใบที่ถูกถ่ายทอดเชื้อไวรัสลงไปจะหลุดร่วงไปภายใน 14 วันดังแสดงในภาพที่4.8b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในต้นกล้าถั่วฝักยาวแสดงอาการแบบ systemic lesion ที่ยอดอ่อนหลังจากถ่ายทอดเชื้อ 14 วัน ซึ่งใบอ่อนจะด่างสีเขียวเข้มสลับสีเขียวอ่อน และใบโป่งเป็นคลื่นดังแสดงในภาพที่4.8c ในต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตแสดงอาการทั้งแบบ local lesionและ systemic lesion หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 10 - 14 วัน ซึ่งใบแสดงอาการด่างจุดเหลืองรุนแรง ในที่สุดใบที่ถูกถ่ายทอดเชื้อไวรัสจะหลุดร่วงไป และต้นกล้าจะตายภายใน 30 วันดังแสดงในภาพที่4.8d ในต้นกล้ากะทกรกป่าแสดงอาการทั้งแบบ local lesion และ systemic lesion หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 10-14 วัน ซึ่งใบจะด่างสีเขียวอ่อนหงิกงอ และผิดรูปร่างดังแสดงในภาพที่4.8e ในต้นกล้าแตงกวา และบานไม่รู้โรยไม่พบการแสดงอาการของเชื้อไวรัสหลังการถ่ายทอดเชื้อ

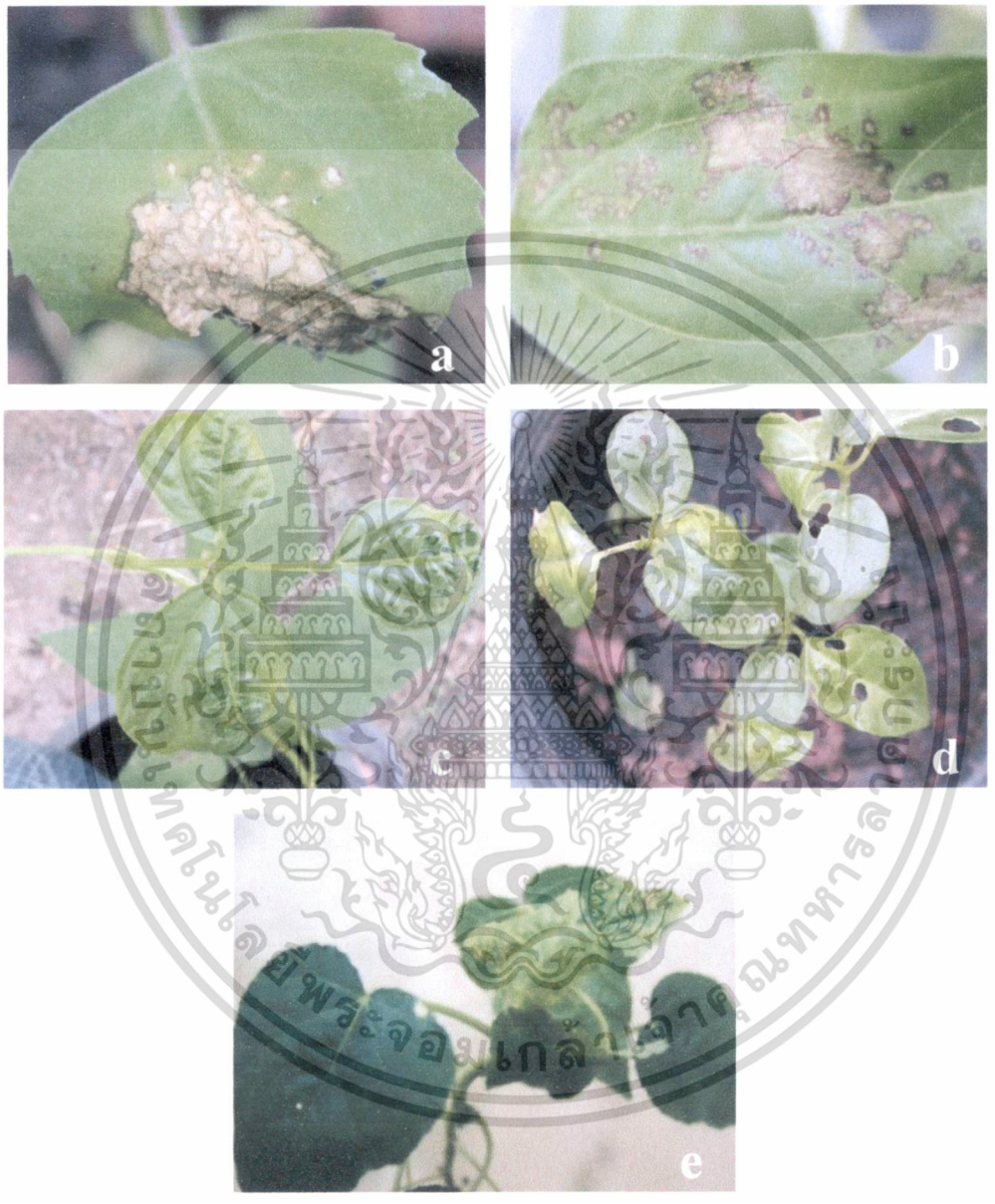
หลังจากถ่ายทอดอาการใบด่างสีเขียวเข้มลงในพืชทดสอบในวงศ์ต่างๆ พบว่าเชื้อไวรัสแสดงอาการดังในภาพที่4.9 คือพบอาการในต้นกล้า *C. amaranticolor* แสดงอาการแผลทั้งแบบ local lesion ดังแสดงในภาพที่4.9a และ systemic lesion ดังแสดงในภาพที่4.9b หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 7 - 10 วัน ซึ่งจุดแผลค่อนข้างกลมสีชมพู ตรงกลางจุดแผลเป็นน้ำตาล และใบที่ถูกถ่ายทอดเชื้อไวรัสลงไปจะหลุดร่วงไปภายใน 14 วัน ในต้นกล้าบานไม่รู้โรยแสดงอาการแบบ systemic lesion หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 14 วันดังแสดงในภาพที่4.9c ทำให้ใบด่างเป็นจุดสีเขียวอ่อน จุดค่อนข้างกลมกระจายอยู่ทั่วไป และแสดงอาการชัดเจนในใบอ่อน ในต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตแสดงอาการทั้งแบบ local lesion และ systemic lesion หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 10 - 14 วัน ซึ่งใบแสดงอาการด่างสีเขียวเข้มสลับสีเขียวอ่อน ตรงกลางบริเวณที่ด่างจะมีลักษณะแข็งกระด้าง และทำให้ใบบิดเบี้ยวเป็นคลื่น ดังแสดงในภาพที่4.9d ในต้นกล้ากะทกรกป่าแสดงอาการทั้งแบบ local lesion และ systemic lesion หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 10-14 วัน ซึ่งใบจะด่างสีเขียวอ่อนหงิกงอและ ผิดรูปร่างดังแสดงในภาพที่4.9e สำหรับในต้นกล้าถั่วเขียว ถั่วฝักยาว และในต้นกล้าแตงกวาไม่พบการแสดงอาการของเชื้อไวรัสหลังการถ่ายทอดเชื้อ

หลังจากถ่ายทอดอาการใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding ลงในพืชทดสอบในวงศ์ต่างๆ พบว่าเชื้อไวรัสแสดงอาการดังในภาพที่4.10 คือพบอาการในต้นกล้า *C. amaranticolor* แสดงอาการแผลทั้งแบบ local lesion ดังแสดงในภาพที่4.10a และ systemic lesion ดังแสดงในภาพที่4.10b หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 7 - 10 วันซึ่งจุดแผลค่อนข้างกลมสีชมพู ตรงกลางจุดแผลเป็นน้ำตาล และใบที่ถูกถ่ายทอดเชื้อไวรัสลงไปจะหลุดร่วงไปภายใน 14 วัน ในต้นกล้าบานไม่รู้โรยแสดงอาการแบบ systemic lesion หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 14 วัน ทำให้ใบด่างเป็นจุดสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวแก่กระจายอยู่ทั่วไป และแสดงอาการชัดเจนในใบอ่อน ดังแสดงในภาพที่4.10c ในต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ตแสดงอาการทั้งแบบ local lesionและ systemic lesion หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 10-14 วัน ซึ่งใบแสดงอาการด่างสีเขียวเข้มสลับสีเขียวอ่อน ใบโป่งเป็นคลื่น บิดเบี้ยวหรือม้วนงอ ถ้าอาการรุนแรงเส้นใบจะมีลักษณะเป็น vein banding ดังแสดงในภาพที่4.10d ในต้นกล้ากะทกรกป่าแสดงอาการทั้งแบบ local lesion และ systemic lesion หลังจากถ่ายทอดเชื้อ 10 - 14 วัน ซึ่งใบจะด่างสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

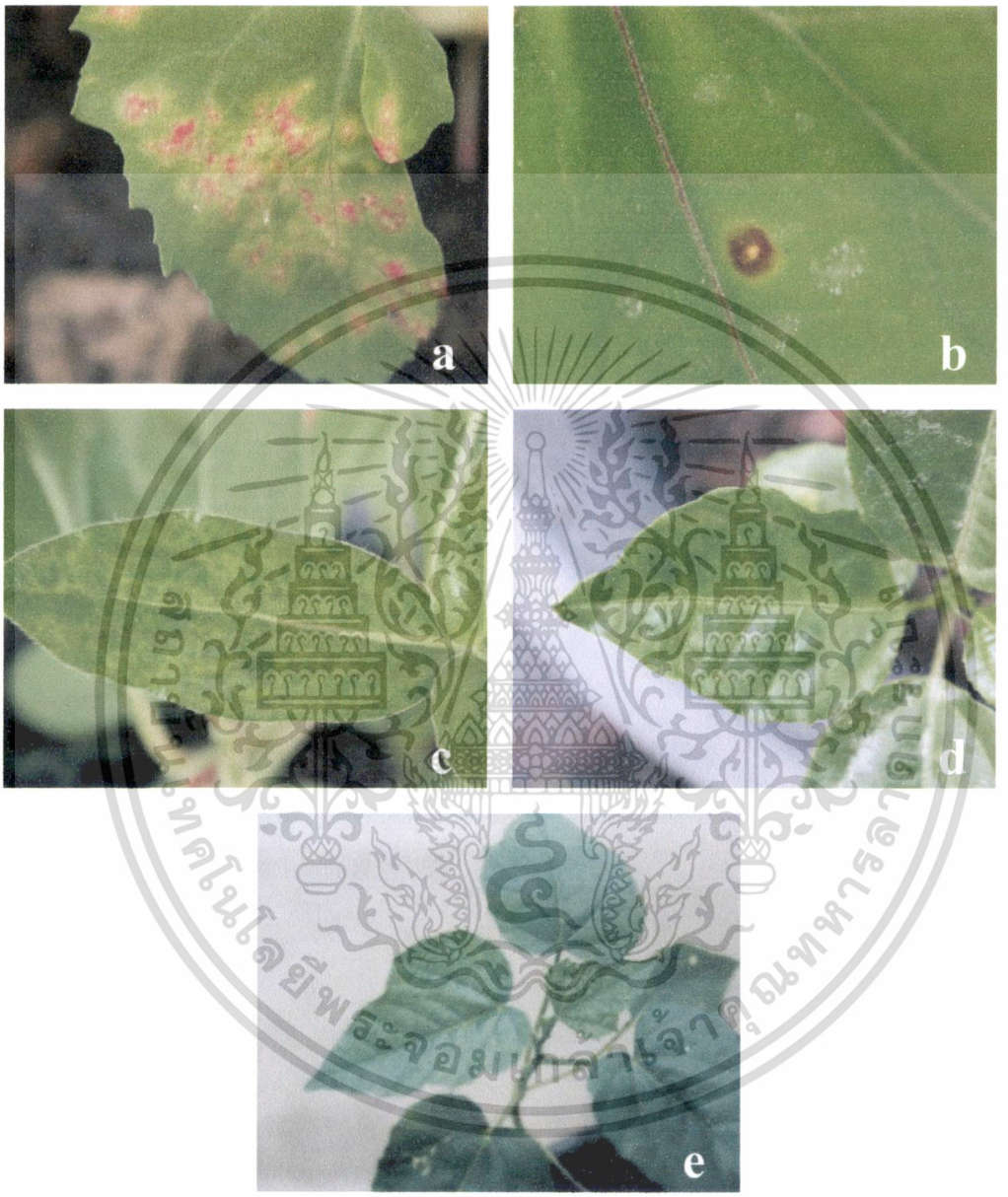
เขียวอ่อนหงิกงอ และผิดรูปร่างดังแสดงในภาพที่4.10e ในต้นกล้าถั่วเขียว ถั่วฝักยาว และในต้นกล้าแตงกวาไม่พบการแสดงอาการของเชื้อไวรัสหลังการถ่ายทอดเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



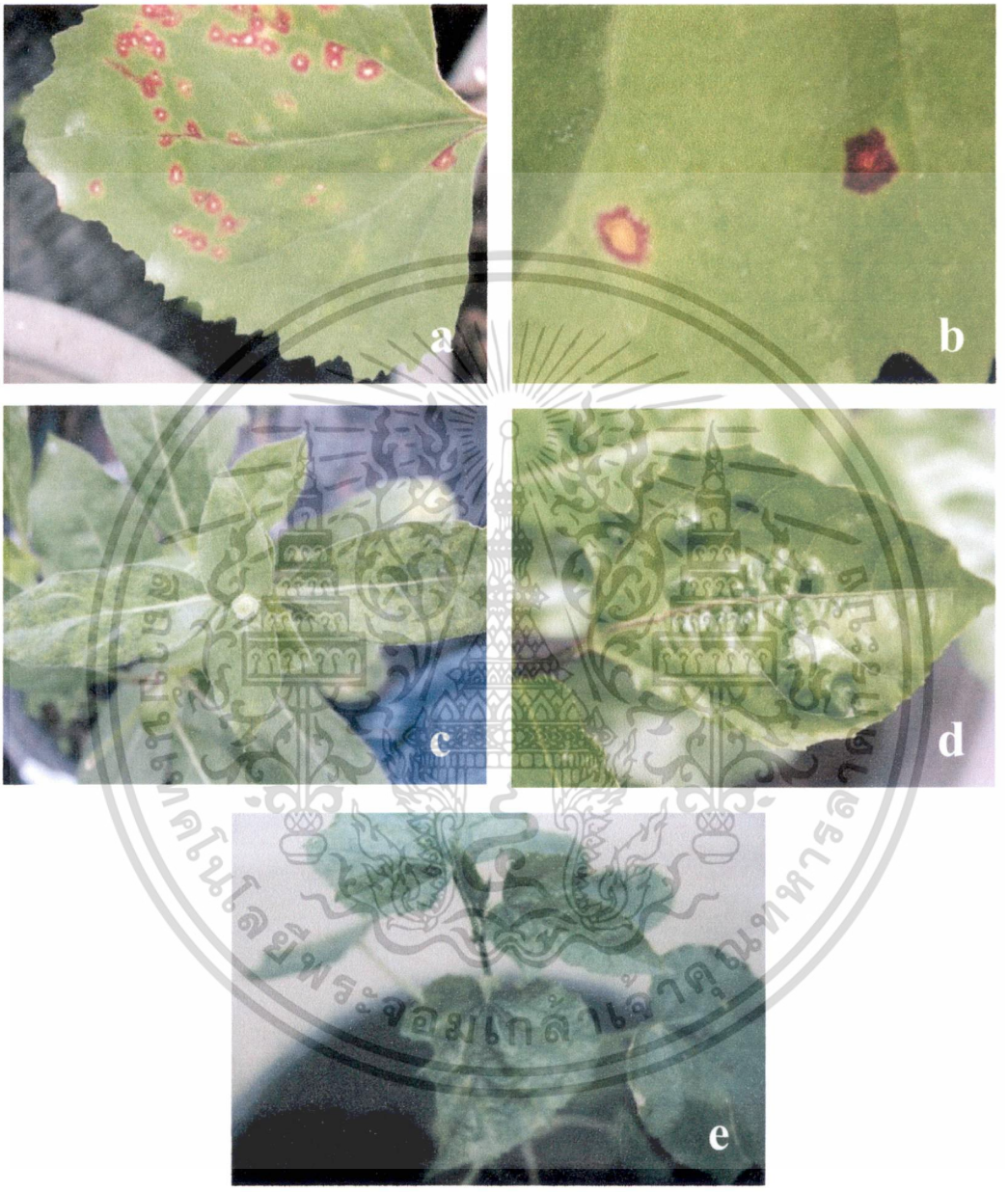
ภาพที่4.8 ลักษณะอาการของโรคไวรัสที่ถ่ายทอดจากอาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรงในพืชทดสอบชนิดต่างๆ ต้น *C. amaranticolor* (a); ต้นถั่วเขียว (b); ต้นถั่วฝักยาว (c); ต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ต (d) และ ต้นกล้ากะทกรกป่า (e)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.9 ลักษณะอาการของโรคไวรัสที่ถ่ายทอดจากอาการใบด่างสีเขียวเข้มในพืชทดสอบชนิดต่างๆ ต้น *C. amaranticolor* แสดงอาการแผลแบบ local lesion (a); ต้น *C. amaranticolor* แสดงอาการแผลแบบ systemic lesion (b); ต้นบานไม่รู้โรย (c); ต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ต (d) และต้นกล้ากะทกรกป่า (e)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.10 ลักษณะอาการของโรคไวรัสที่ถ่ายทอดจากอาการใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding ในพืชทดสอบชนิดต่างๆ ต้น *C. amaranticolor* แสดงอาการแผลแบบ local lesion (a); ต้น *C. amaranticolor* แสดงอาการแผลแบบ systemic lesion (b); ต้นบานไม่รู้โรย (c); ต้นกล้าแพสชั่นฟรุ้ต (d) และต้นกล้ากะทกรกป่า(e)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การวินิจฉัยเชื้อไวรัสโดยการตรวจสอบกรดนิวคลิอิค

4.2.2.1 ผลการจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสโดยการตรวจสอบ dsRNA

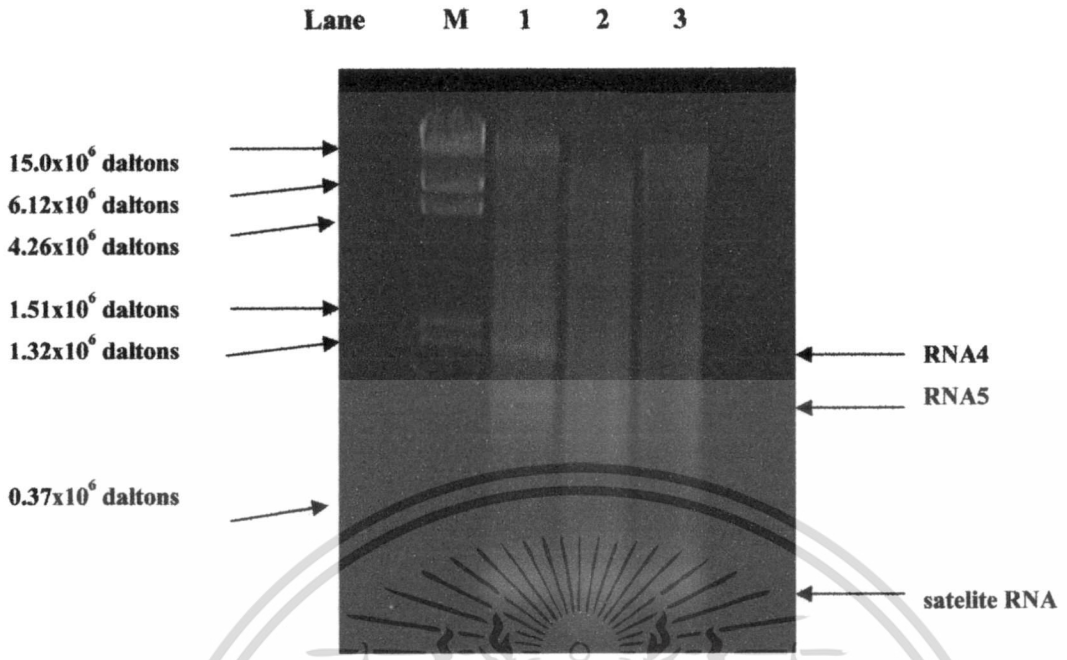
จากการแยกสกัด Total RNA คือ การใช้ชุด UltraClean ™ Plant RNA Isolation Kit และ การใช้ Plant concert solution จนได้สารสกัด RNA ทั้งหมด (total RNA) จากนั้นจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสโดยการตรวจสอบ dsRNA ของเชื้อไวรัส (Double- stranded RNA detection) ด้วย วิธี gel electrophoresis พบว่าตัวอย่างทั้ง 3 อาการของแพสชั่นฟรุ้ตคือ 1) ใบด่างจุดเหลืองรุนแรง 2) ใบด่างสีเขียวเข้ม และ 3) ใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding พบ pattern ของเชื้อ CMV แยกตัวอย่างชัดเจนโดยเฉพาะ RNA4 และ RNA5 คือ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ $1.32x10^6$ $0.8x10^6$ ดาลตัน ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่4.11 และ ตารางที่4.3

4.2.2.2 การตรวจสอบเชื้อโดยการใช้เทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction)

ผลการศึกษา temperature gradient PCR ในช่วงอุณหภูมิ 45 - 65 องศาเซลเซียส จำนวน 5 อุณหภูมิ คือที่ 45, 51.5, 56.2, 60.9 และ 65 องศาเซลเซียส เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาเพิ่มทวีจำนวนของชิ้น DNA พบว่า ที่อุณหภูมิ 56.2 - 65 องศาเซลเซียส สามารถเพิ่มจำนวนของ DNA ของเชื้อไวรัสใบด่างเส้นใบเป็น vein banding ได้ดีที่สุดดังแสดงในภาพที่4.12

ผลการใช้กระแสไฟฟ้าในการแยก RT-PCR product (gel eletrophoresis) ของอาการโรคไวรัส เพื่อทดสอบกลุ่ม potyvirus พบว่า RT-PCR product ของทั้ง 3 อาการมี genome size ประมาณ 1,200 bp ซึ่งขนาดของ genome size และ ความจำเพาะกับ primer ของ potyvirus group ทำให้สามารถจำแนกได้ว่าเป็นเชื้อไวรัสในกลุ่ม potyvirus ดังแสดงในภาพที่4.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

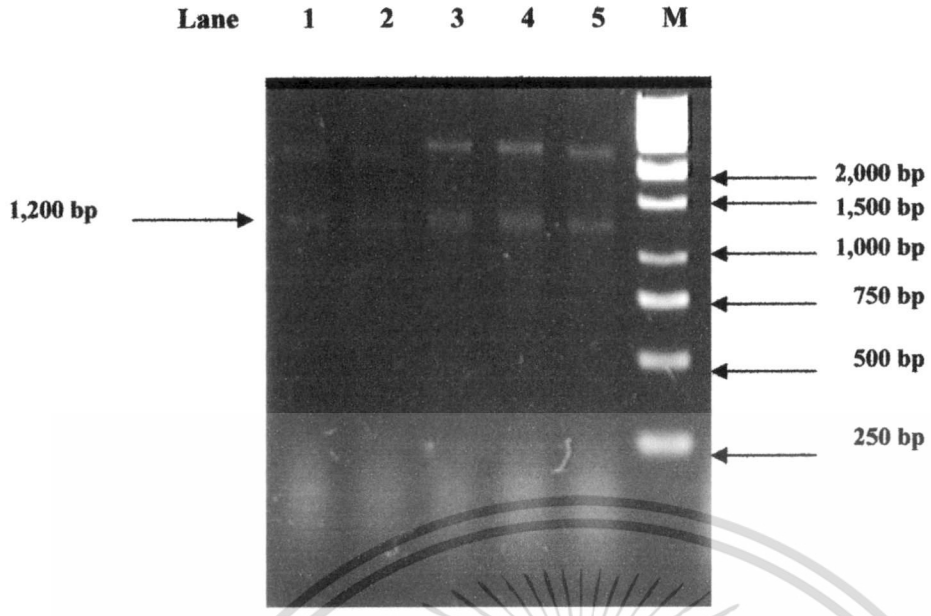


ภาพที่4.11 การตรวจสอบ dsRNA ของอาการตัวอย่างแพสชั่นฟรุ้ตที่แสดงอาการโรคไวรัสประกอบด้วย 3 อาการคือ ใบด่างจุดเหลืองรุนแรง (1); ใบด่างสีเขียวเข้ม (2) และ ใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding (3) ด้วยวิธี gel electrophoresis (agarose gel) ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ คือ ตัวเปรียบเทียบ (lambda DNA Hind III double digest) (Lane M); อาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรง (Lane1); อาการใบด่างสีเขียวเข้ม (Lane2) และ อาการใบด่างเส้นใบมีลักษณะ vein banding (Lane3)

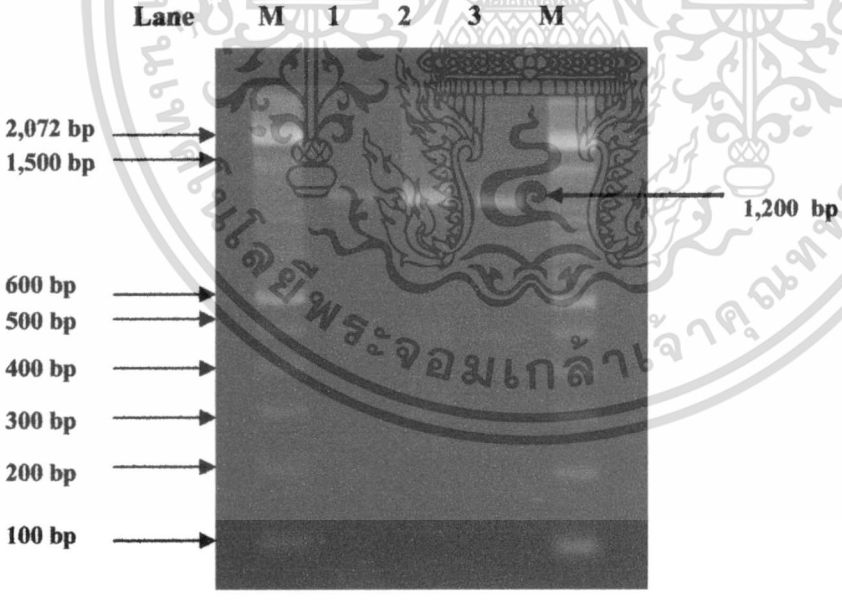
ตารางที่4.3 น้ำหนักโมเลกุล dsRNA ของเชื้อไวรัสที่แสดงอาการ ใบด่างจุดเหลืองรุนแรง (1); ใบด่างสีเขียวเข้ม (2) และ ใบด่างเส้นใบมีลักษณะ vein bandin (3); เปรียบเทียบกับตัวมาตรฐาน คือ lambda DNA Hind III double digest

ชนิดของ ds RNA	ขนาดน้ำหนักโมเลกุล (daltons) band ที่					
	1	2	3	4	5	6
lambda DNA Hind III double digest	$15.0x10^6$	$6.12x10^6$	$4.26x10^6$	$2.83x10^6$	$1.51x10^6$	$1.32x10^6$
CMV	$3.2x10^6$	$2.8x10^6$	$2.4x10^6$	$1.2x10^6$	$0.8x10^6$	-
ใบด่างจุดเหลือง	-	-	-	$1.32x10^6$	$0.8x10^6$	-
ใบด่างเขียวเข้ม	-	-	-	$1.32x10^6$	$0.8x10^6$	-
ใบด่างเส้นใบ vein banding	-	-	-	$1.32x10^6$	$0.8x10^6$	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.12 การใช้วิธี gel elcetrophoresis ตรวจสอบ temperature gradient PCR จำนวน 5 อุณหภูมิ จากแพสชั่นฟรุ้ตที่แสดงอาการโรคไวรัสใบด่างเส้นใบมีลักษณะ vein banding 45 องศาเซลเซียส (Lane 1); 51.5 องศาเซลเซียส (Lane 2); 56.2 องศาเซลเซียส (Lane 3); 60.9 องศาเซลเซียส (Lane 4); 65 องศาเซลเซียส (Lane 5) และ DNA ladder 1 kb (Lane M)



ภาพที่4.13 การใช้วิธี gel elcetrophoresis ตรวจสอบ Reverse transcription – polymerase chain reaction (RT – PCR) ของเชื้อกลุ่ม potyvirus จากแพสชั่นฟรุ้ตที่แสดงอาการโรคไวรัสที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกของเกษตรกรประกอบด้วย 3 อาการคือ ใบด่างจุดเหลืองรุนแรง (Lane 1); ใบด่างสีเขียวเข้ม (Lane 2)และ ใบด่างเส้นใบมีลักษณะ vein banding (Lane 3) และ DNA ladder 100 bp (Lane M)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

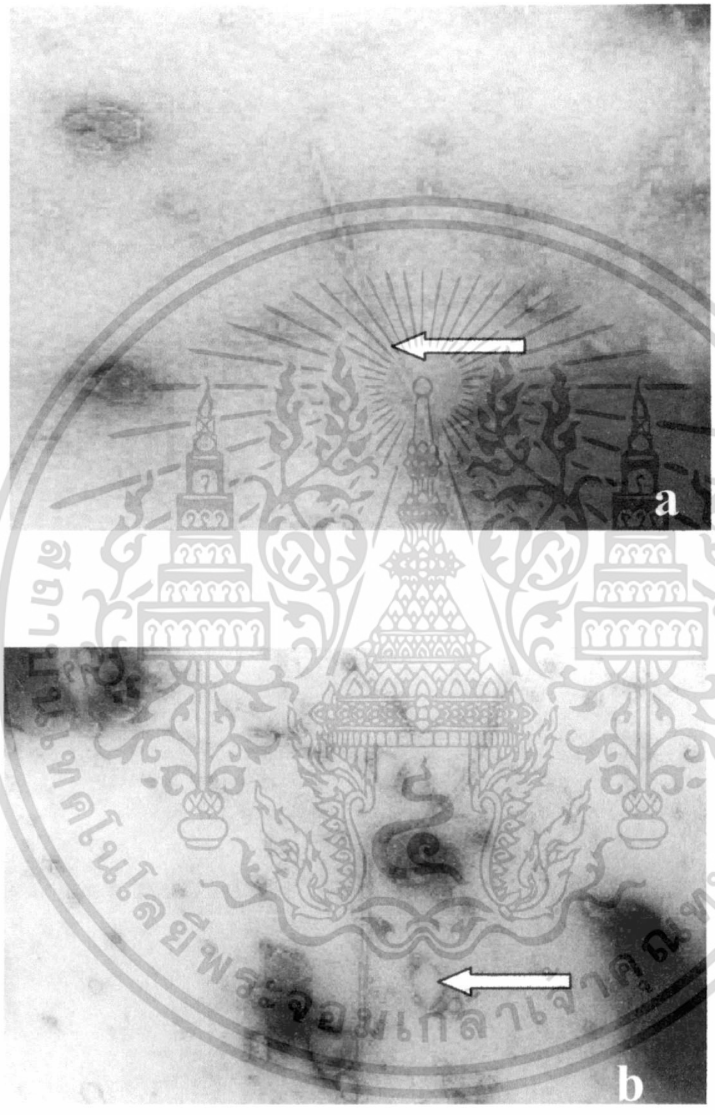
4.3 การศึกษาการถ่ายทอดทางเมล็ด (seed transmission)

ผลการศึกษาการถ่ายทอดทางเมล็ดโดยการนำเมล็ดพันธุ์มาปลูกทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ไม่พบว่ามีการเกิดโรคเลยกับต้นอ่อนที่มีอายุ 1 เดือน

4.4 การตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscope)

ผลการตรวจสอบอนุภาคของเชื้อไวรัสจากใบแพสชั่นฟรุ้ตที่แสดงอาการใบด่างเขียวเข้มและใบด่างเส้นใบเป็นแบบ vein banding ดังแสดงในภาพที่4.14 พบว่าใบที่แสดงอาการด่างสีเขียวอ่อนตรวจพบลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสเป็นแบบ flexuous มีขนาดยาวเฉลี่ยประมาณ 756 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่4.14a และ อาการใบด่างเส้นใบเป็นแบบ vein banding ตรวจพบลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสเป็นแบบ flexuous เหมือนกันซึ่งมีความยาวเฉลี่ยประมาณ 529.14 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่4.14b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.14 ลักษณะของอนุภาคของเชื้อไวรัสจากน้ำคั้นแพสชั่นฟรุ้ต อาการใบด่างเขียวเข้ม ตรวจพบอนุภาคมีลักษณะยาวคดงอ (flexuous rod) ความยาว 756 นาโนเมตร (ตามลูกศรชี้) (a); โดยวิธี leaf dip ที่กำลังขยาย 48,000 และ อาการใบด่างเส้นใบเป็นแบบ vein banding ตรวจพบอนุภาคมีลักษณะยาวคดงอ (flexuous rod) ความยาว 529.14 นาโนเมตร (ตามลูกศรชี้) (b) โดยวิธี leaf dip ที่กำลังขยาย 48,000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การประเมินเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรค และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของแพสชั่นฟรุ้ต เมื่อใช้วิธีการแบบผสมผสาน และการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวในการป้องกันกำจัดโรคไวรัส

ผลการประเมินระดับความรุนแรงของโรค และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัส ใน 3 แหล่งสภาพพื้นที่เพาะปลูก คือ แปลงปลูกเชิงเขา แปลงปลูกบนภูเขา และแปลงปลูกบนพื้นที่ราบ พบว่าในแต่ละพื้นที่ การใช้วิธีการแบบผสมผสาน และการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว มีระดับความรุนแรงและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสมีความแตกต่างกันในทางสถิติ โดยพื้นที่ 2 แหล่งจาก 3 แหล่ง ที่ทดสอบการใช้วิธีการผสมผสานพบระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด รองลงมาคือการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และพบระดับความรุนแรงในการเกิดโรคสูงที่สุดในแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติ เช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานช่วยชะลอในการเกิดโรคได้ดีที่สุด รองลงมาคือการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบการเกิดโรคสูงที่สุด

ในแปลงปลูกเชิงเขา ระดับความรุนแรงของโรคไวรัส พบว่าส่วนใหญ่การใช้วิธีการแบบผสมผสาน และการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว มีระดับความรุนแรงของโรคที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติซึ่งพบระดับความรุนแรงของโรคสูงที่สุดดังแสดงในตารางที่4.4

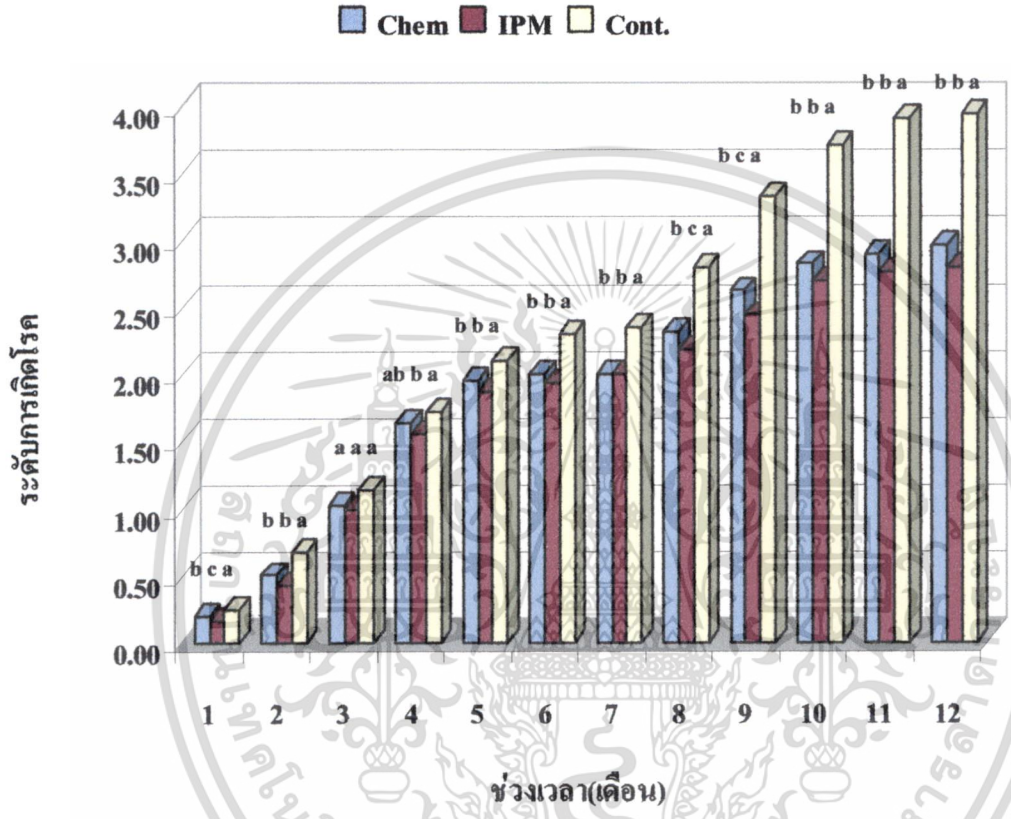
ตารางที่4.4 เปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสโดยใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกเชิงเขา

	ระดับความรุนแรงของโรคไวรัสในแต่ละเดือน [1/]											
วิธีการ	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
Chem.	0.20b[2/]	0.50b	1.02a	1.63ab	1.95ab	2.00b	2.00b	2.32b	2.62b	2.82b	2.90b	2.96b
IPM	0.16c	0.43b	0.99a	1.55b	1.87b	1.94b	2.00b	2.18c	2.44c	2.70b	2.76b	2.80b
Cont.	0.24a	0.68a	1.14a	1.72a	2.10a	2.30a	2.35a	2.80a	3.32a	3.70a	3.90a	3.94a

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 50 ต้น

2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan' s new multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.15 เปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกเชิงเขา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเดือนที่ 1 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.16 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.20 และ 0.24 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 2 การใช้วิธีการแบบผสมผสานและการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติคือ 0.43 และ 0.50 แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.68

ในเดือนที่ 3 การใช้วิธีการแบบผสมผสานและการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติคือ 0.99 และ 1.02 แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.14

ในเดือนที่ 4 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวคือ 1.55 และ 1.63 แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงปลูกตามธรรมชาติซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.72

ในเดือนที่ 5 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวคือ 1.87 และ 1.95 แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงปลูกตามธรรมชาติซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.10

ในเดือนที่ 6 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวคือ 1.94 และ 2.00 แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงปลูกตามธรรมชาติซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.30

ในเดือนที่ 7 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวคือ 2.00 และ 2.00 แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงปลูกตามธรรมชาติซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.35

ในเดือนที่ 8 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 2.18 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.32 และ 2.80 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 9 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 2.44 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.62 และ 3.32 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 10 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวคือ 2.70 และ 2.82 แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงปลูกตามธรรมชาติซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเดือนที่ 11 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวคือ 2.76 และ 2.90 แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงปลูกตามธรรมชาติซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.90

ในเดือนที่ 12 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวคือ 2.80 และ 2.96 แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงปลูกตามธรรมชาติซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.94

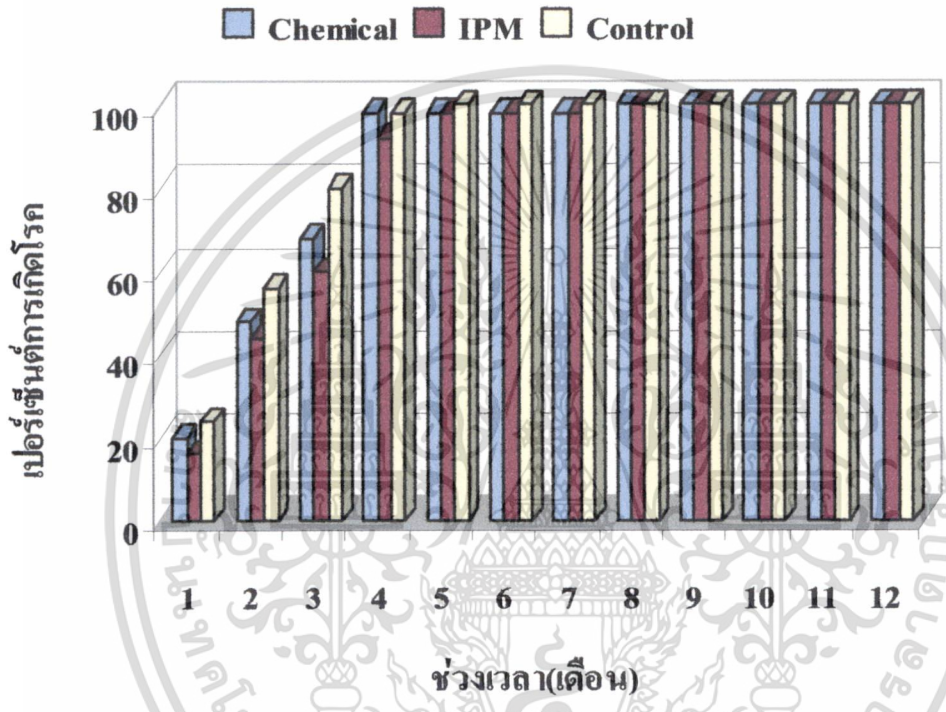
เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสในแปลงปลูกเชิงเขา พบว่าการเกิดโรคไวรัสในการใช้วิธีการแบบผสมผสานและ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์การชะลอยืดระยะเวลาในการเกิดโรคไวรัสที่ 100 เปอร์เซ็นต์ได้ใกล้เคียงกันคือ 7 เดือน ในขณะที่แปลงปลูกตามธรรมชาติสามารถยืดระยะเวลาในการเกิดโรคได้เพียงแค่ 4 เดือน ดังแสดงในตารางที่4.5

ตารางที่4.5 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกเชิงเขา

	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสในแต่ละเดือน 1/											
วิธีการ	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
Chem.	20	48	68	98	98	98	98	100	100	100	100	100
IPM	16	44	60	92	98	98	98	100	100	100	100	100
Cont.	24	56	80	98	100	100	100	100	100	100	100	100

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 50 ต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.16 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกเชิงเขา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเดือนที่ 1 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุด 16 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีการเกิดโรค 20 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีการเกิดโรคสูงที่สุดคือ 24 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 2 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุด 44 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีการเกิดโรค 48 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีการเกิดโรคสูงที่สุดคือ 56 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 3 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดคือ 60 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีการเกิดโรค 68 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีการเกิดโรคสูงที่สุดคือ 80 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 4 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรค 92 เปอร์เซ็นต์ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบมีการเกิดโรคเท่ากันคือ 98 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 5 เดือนที่ 6 และ เดือนที่ 7 การใช้วิธีการแบบผสมผสานและการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีการเกิดโรค 98 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบมีการเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 8 ถึง เดือนที่ 12 พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบมีการเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์

ในแปลงปลูกบนภูเขา ระดับความรุนแรงของโรคไวรัส พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานมีระดับการเกิดโรคต่ำที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ดังแสดงในตารางที่4.6

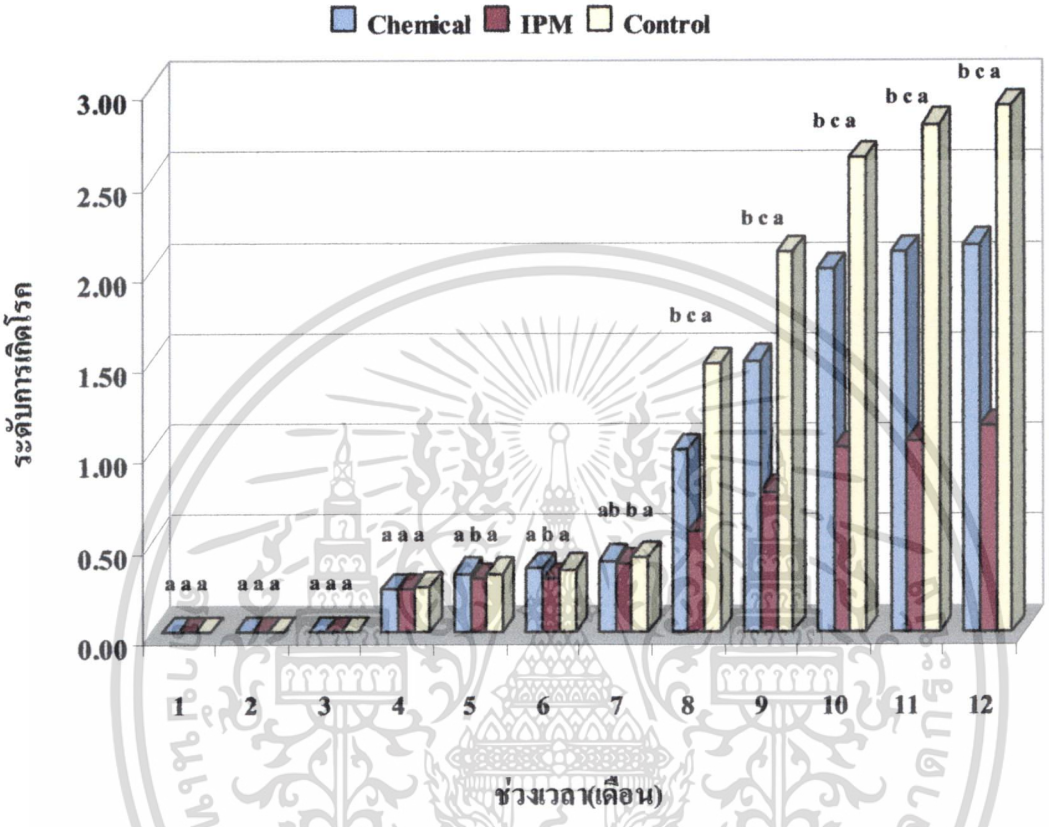
ตารางที่4.6 เปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา

	ระดับความรุนแรงของโรคไวรัส ในแต่ละเดือน[1/]											
วิธีการ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Chem.	0a[2/]	0a	0a	0.24a	0.33a	0.36a	0.40ab	1.04b	1.50b	2.00b	2.10b	2.14b
IPM	0a	0a	0a	0.24a	0.30b	0.30b	0.38b	0.56c	0.78c	1.02c	1.06c	1.14c
Cont.	0a	0a	0a	0.25a	0.33a	0.35a	0.42a	1.48a	2.10a	2.62a	2.80a	2.90a

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 50 ต้น

2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan' s new multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.17 แสดงการเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเดือนที่ 1 เดือนที่ 2 และ เดือนที่ 3 ไม่พบการเกิดโรคในทุกวิธีการที่ทดสอบ แต่ในเดือนที่ 4 เริ่มพบว่ามีการเกิดโรคในระยะแรกขึ้น ซึ่งในทุกวิธีการมีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติคือ การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.24 การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว 0.24 และแปลงปลูกตามธรรมชาติซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.25

ในเดือนที่ 5 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.30 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.33 และ 0.33 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 6 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.30 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.36 และ 0.35 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 7 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบว่ามีระดับความรุนแรงการเกิดโรคเท่ากับ 0.38, 0.40 และ 0.42 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 8 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.56 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.01 และ 1.48 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 9 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.78 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบมีระดับความรุนแรงของโรคท่ากับ 1.50 และ 2.10 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 10 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 1.02 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบมีระดับความรุนแรงของโรคท่ากับ 2.00 และ 2.62 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 11 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 1.06 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.10 และ 2.80 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 12 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 1.14 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.14 และ 2.90 ตามลำดับ

เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสในแปลงปลูกบนภูเขา พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานมีเปอร์เซ็นต์การชะลอยืดระยะเวลาในการเกิดโรคไวรัสที่ 100 เปอร์เซ็นต์ได้นานที่สุดคือ 8 เดือน ในขณะที่การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์การชะลอยืดระยะเวลาในการเกิดโรคไวรัสได้เพียง 6 เดือน และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แปลงปลูกตามธรรมชาติสามารถยืดระยะเวลาในการเกิดโรคได้เพียงแค่ 5 เดือนเท่านั้น ดังแสดงในตารางที่4.7

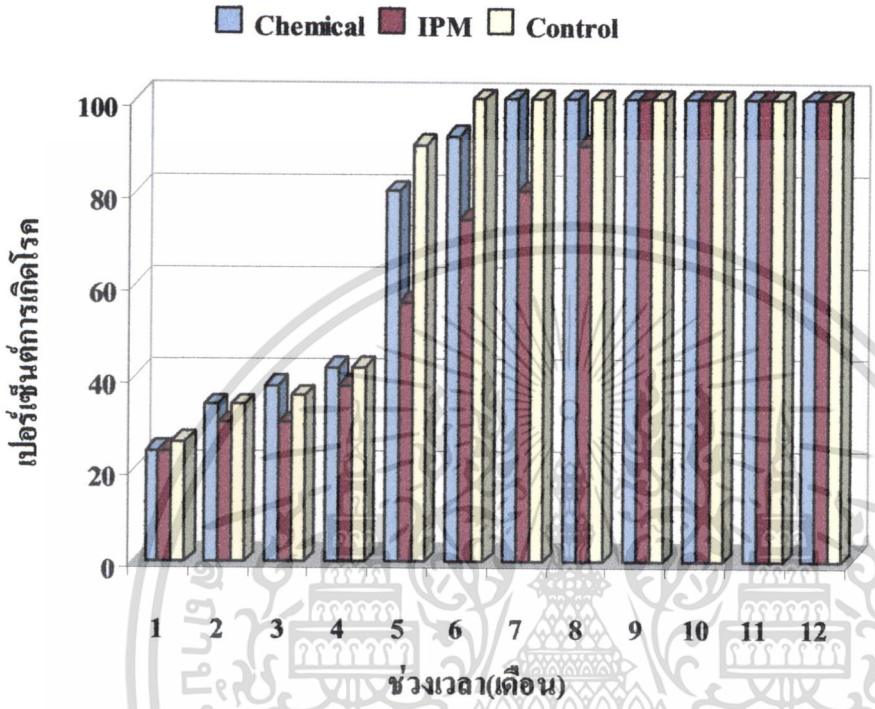
ตารางที่4.7 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา

	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัส 1/											
วิธีการ	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
Chem.	24	34	38	42	80	92	100	100	100	100	100	100
IPM	24	30	30	38	56	74	80	90	100	100	100	100
Cont.	26	34	36	42	90	100	100	100	100	100	100	100

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 50 ต้น

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.18 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเดือนที่ 1 การใช้วิธีการแบบผสมผสาน และการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีการเกิดโรค 24 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีการเกิดโรคเท่ากับ 26 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 2 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุด 30 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีการเกิดโรคเท่ากันคือ 34 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 3 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดคือ 30 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือแปลงปลูกตามธรรมชาติ 36 เปอร์เซ็นต์ และการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีการเกิดโรคเท่ากับ 38 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 4 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรค 38 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบมีการเกิดโรคเท่ากันคือ 42 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 5 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรค 56 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวพบ 80 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบมีการเกิดโรคเท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 6 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรค 74 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวพบ 92 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบมีการเกิดโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 7 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรค 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบมีการเกิดโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 8 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรค 90 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบมีการเกิดโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 9 ถึง 12 พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบมีการเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์

ในแปลงปลูกบนพื้นที่ราบ ระดับความรุนแรงของโรคไวรัส พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสาน มีระดับการเกิดโรคต่ำที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบระ ดับความรุนแรงของโรคสูงที่สุดดังแสดงในตารางที่4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

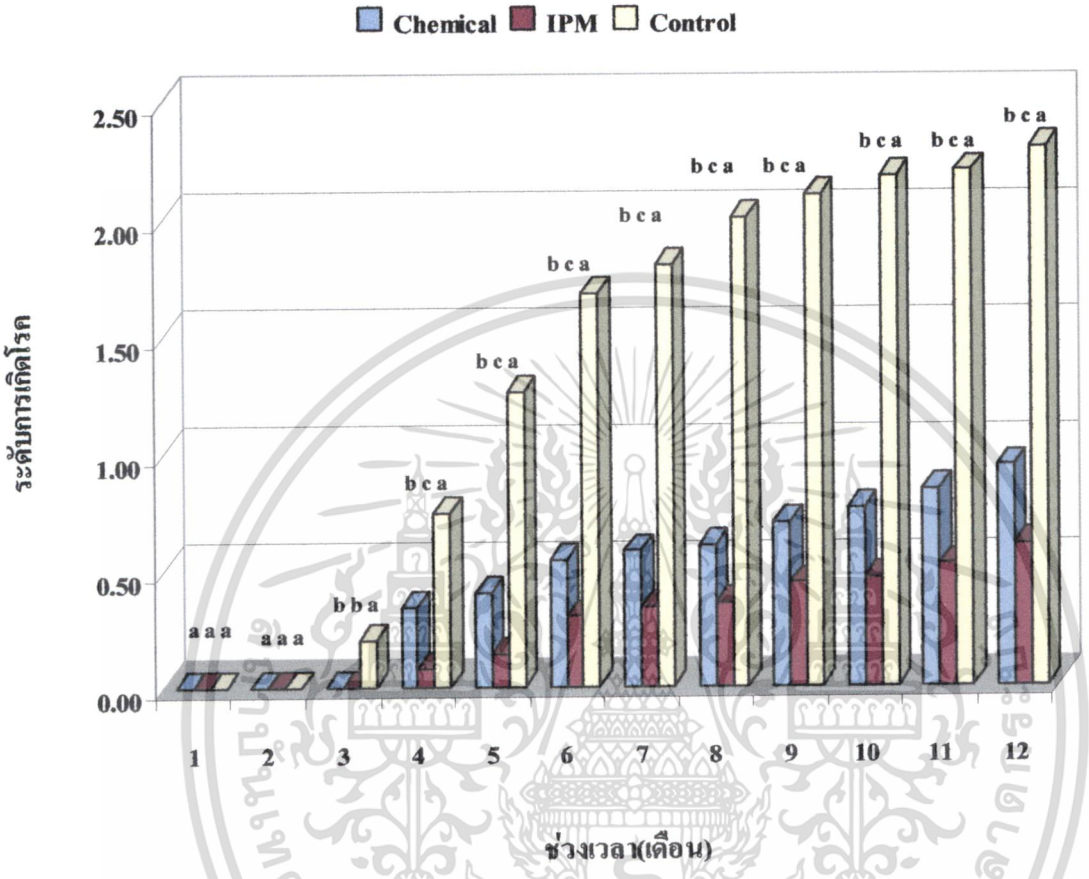
ตารางที่4.8 แสดงการเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนที่ราบ

	ระดับความรุนแรงของโรคไวรัส [1/]											
วิธีการ	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
Chem.	0a[2/]	0a	0b	0.34b	0.40b	0.54b	0.58b	0.60b	00.70b	0.76b	0.84b	0.94b
IPM	0a	0a	0b	0.08c	0.14c	0.30c	0.34c	0.36c	0.44c	0.46c	0.52c	0.60c
Cont.	0a	0a	0.20a	0.74a	1.26a	1.68a	1.80a	2.00a	2.10a	2.18a	2.20a	2.30a

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 50 ต้น

2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan' s new multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.19 แสดงการเปรียบเทียบระดับความรุนแรงของโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนที่ราบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเดือนที่ 1 และ เดือนที่ 2 ไม่พบการเกิดโรคไวรัส แต่ในเดือนที่ 3 การใช้วิธีการแบบผสมผสาน และการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวไม่พบการเกิดโรคไวรัส ยกเว้นในแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.20

ในเดือนที่ 4 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.08 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.34 และ 0.74 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 5 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.14 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.40 และ 1.26 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 6 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.30 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.54 และ 1.68 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 7 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.34 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.58 และ 1.80 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 8 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.36 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.60 และ 2.00 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 9 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.44 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.70 และ 2.10 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 10 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.46 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.76 และ 2.18 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 11 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.52 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.84 และ 2.20 ตามลำดับ

ในเดือนที่ 12 การใช้วิธีการแบบผสมผสานพบว่ามีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือ 0.60 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 0.94 และ 2.30 ตามลำดับ

เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสในแปลงปลูกบนพื้นที่ราบ พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานและการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์การชะลอยืดระยะเวลาในการเกิดโรคไวรัสได้นาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

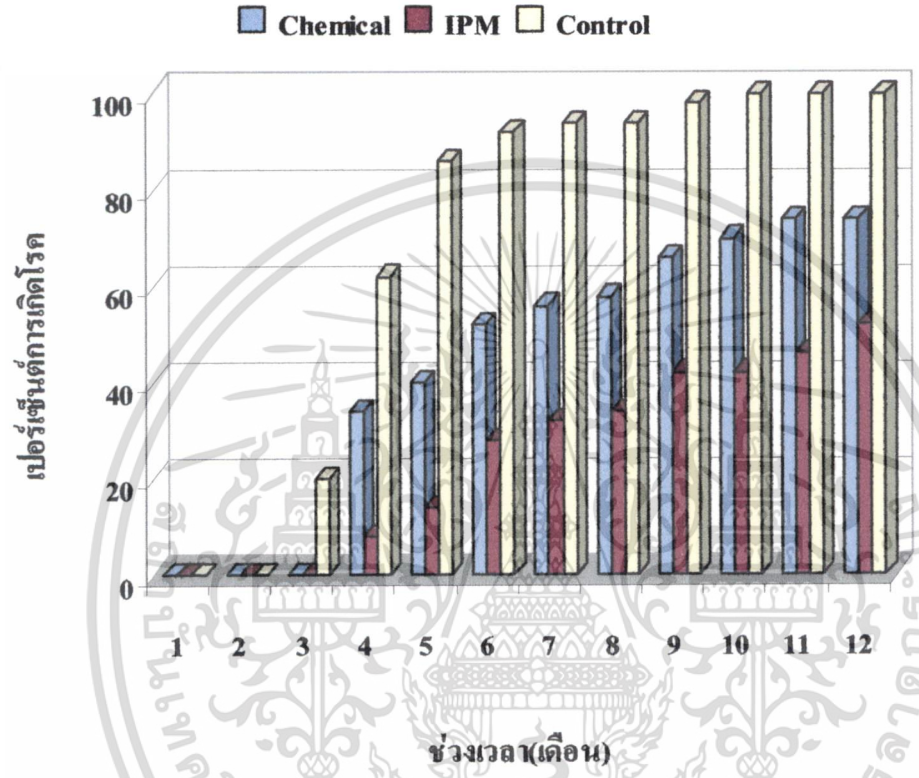
ที่สุดเกิน 12 เดือน ในขณะที่แปลงปลูกตามธรรมชาติสามารถยืดระยะเวลาในการเกิดโรคได้เพียงแค่ 9 เดือนเท่านั้น ดังแสดงในตารางที่4.9

ตารางที่4.9 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา

	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัส [1/]											
วิธีการ	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
Chem.	0	0	0	34	40	52	56	58	66	70	74	74
IPM	0	0	0	8	14	28	32	34	42	42	46	52
Cont.	0	0	20	62	86	92	94	94	98	100	100	100

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 50 ต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.20 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสด้วยวิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติในพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเดือนที่ 1 และ เดือนที่ 2 ไม่พบการเกิดโรคไวรัสเลยในทุกวิธีการทดลอง แต่ในเดือนที่ 3 การใช้วิธีการแบบผสมผสาน และการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวไม่พบการเกิดโรคไวรัส ยกเว้นในแปลงปลูกตามธรรมชาติซึ่งพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 4 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดพบ 8 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 34 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในเดือนที่ 5 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดพบ 14 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 40 และ 62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในเดือนที่ 6 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดพบ 28 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 52 และ 86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในเดือนที่ 7 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดพบ 32 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 56 และ 92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในเดือนที่ 8 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดพบ 34 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 58 และ 94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในเดือนที่ 9 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดพบ 42 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 66 และ 98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในเดือนที่ 10 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดพบ 42 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวพบ 70 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 11 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดพบ 46 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวพบ 74 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

ในเดือนที่ 12 การใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคต่ำที่สุดพบ 52 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวพบ 74 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยต่อปีของทั้ง 3 วิธีการใน 3 สภาพพื้นที่แปลงทดลอง พบว่าวิธีการผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำ คัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือ มีระดับความรุน แรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 0.85 1.07 และ 1.60 ตามลำดับดังแสดงในภาพที่4.21

เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยต่อปีของทั้ง 3 วิธีการใน 3 สภาพพื้นที่แปลงทดลอง พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 58.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 67.94 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 78.61 เปอร์เซ็นต์ดังแสดงในภาพที่4.22

เมื่อแพสชั่นฟรุ้ตให้ผลผลิตก็เก็บผลผลิตที่ได้ในแต่ละวิธีการใน 3 สภาพพื้นที่การทดลอง มาบันทึกข้อมูลจำนวนน้ำหนักของผลผลิตที่ได้ในระยะเวลา 3 เดือนหลังจากการใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งพบว่าในทุกพื้นที่แปลงทดลองผลผลิตที่ได้รับมีความแตกต่างกันในทางสถิติดังแสดงในตารางที่4.10

ตารางที่4.10 แสดงน้ำหนักผลผลิตของแปลงที่ใช้การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ

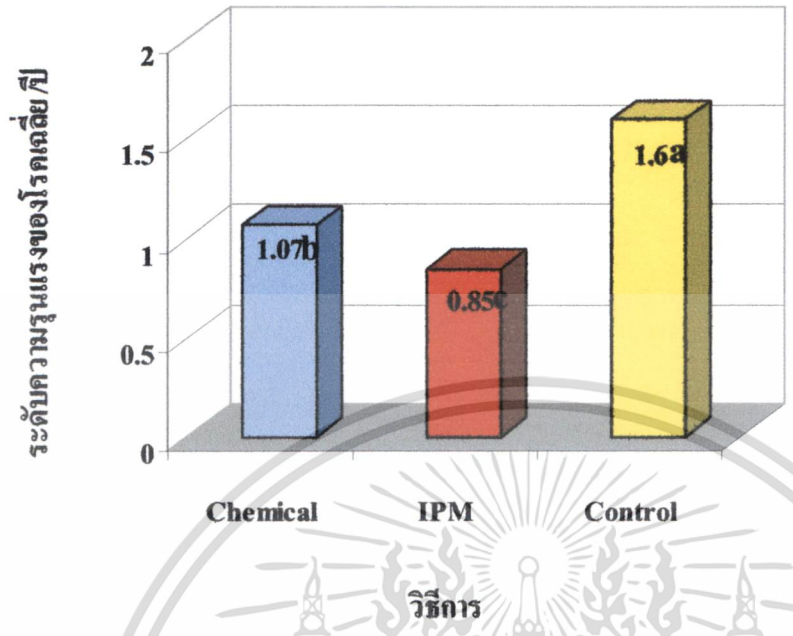
เดือน	น้ำหนักผลผลิต(กิโลกรัม) 1/								
	แปลงปลูกเชิงเขา			แปลงปลูกบนภูเขา			แปลงปลูกบนที่ราบ		
	Chem.	IPM	Cont.	Chem.	IPM	Cont.	Chem.	IPM	Cont.
1	17.33 2/ b	23.33a	9.33c	12.66b	17.33a	6.33c	34.00b	50.66a	16.00c
2	21.00 b	31.00a	6.00c	14.33b	34.00a	8.33c	111.33b	166.66a	51.66c
3	ns	ns	ns	4.66b	12.00a	2.66c	206.66b	458.66a	93.66c
รวม	38.33	54.33	15.33	31.65	63.33	17.32	351.99	675.98	161.32
เฉลี่ย	19.16b	27.16a	7.66c	10.55b	21.11a	5.77c	117.33b	225.32a	53.77c

1 / น้ำหนักเฉลี่ยจากการเก็บผลผลิตในระยะเวลา 1 เดือน

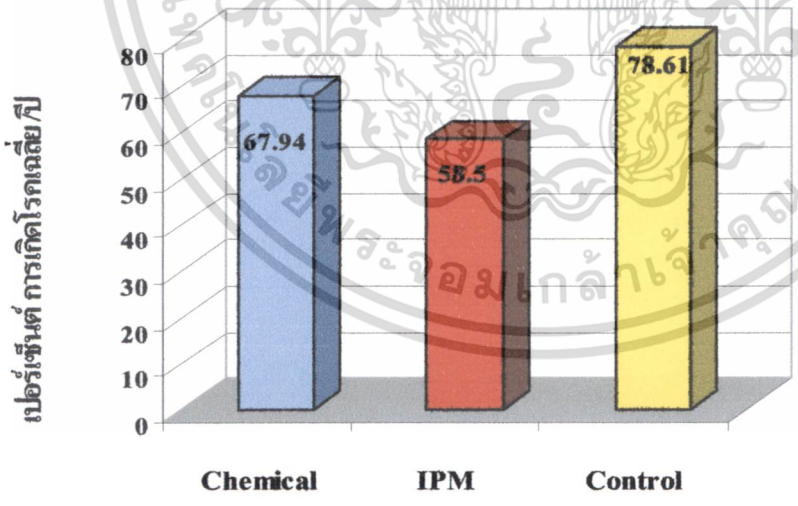
2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันตามแนวนอนในแต่ละแปลง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan' s new multiple range test

ns ไม่สามารถเก็บข้อมูลได้เพราะแพสชั่นฟรุ้ตไม่มีผลผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.21 แสดงการเปรียบเทียบระดับการเกิดโรคเฉลี่ยต่อปีในการใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ



ภาพที่4.22 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยต่อปีในการใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับพื้นที่แปลงปลูกที่เชิงเขา พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานได้รับผลผลิตเฉลี่ยสูงที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติดังแสดงในภาพที่4.23

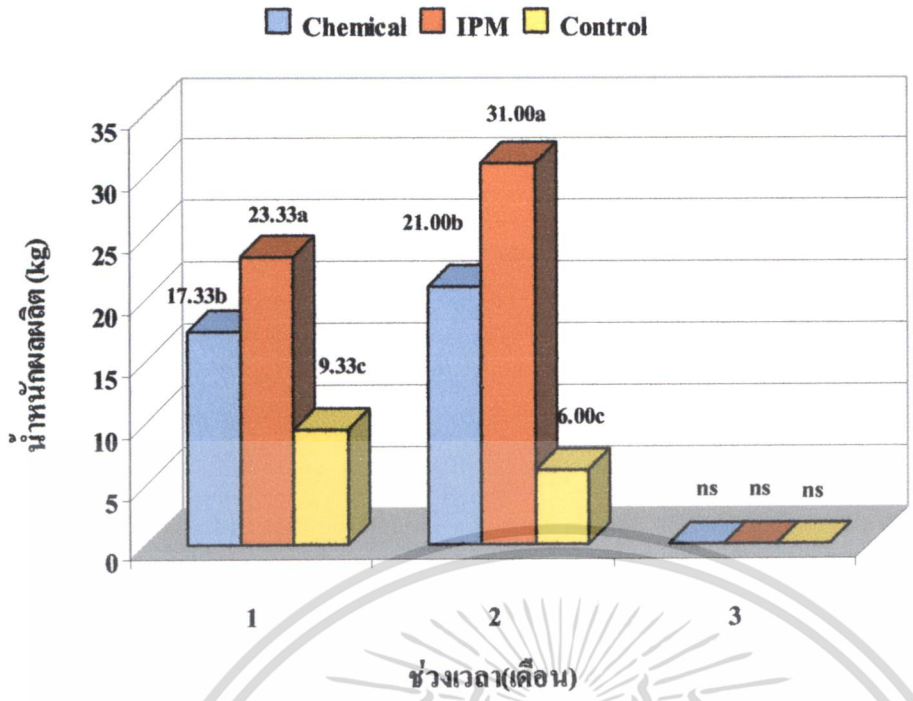
ในเดือนที่ 1 การใช้วิธีการแบบผสมผสานได้รับผลผลิตสูงที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ คือ ได้รับน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 23.33, 17.33 และ 9.33 กิโลกรัม ตามลำดับ

ในเดือนที่ 2 การใช้วิธีการแบบผสมผสานได้รับผลผลิตสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ กับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ คือ ได้รับน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 31.00, 21.00 และ 6.00 กิโลกรัม ตามลำดับ

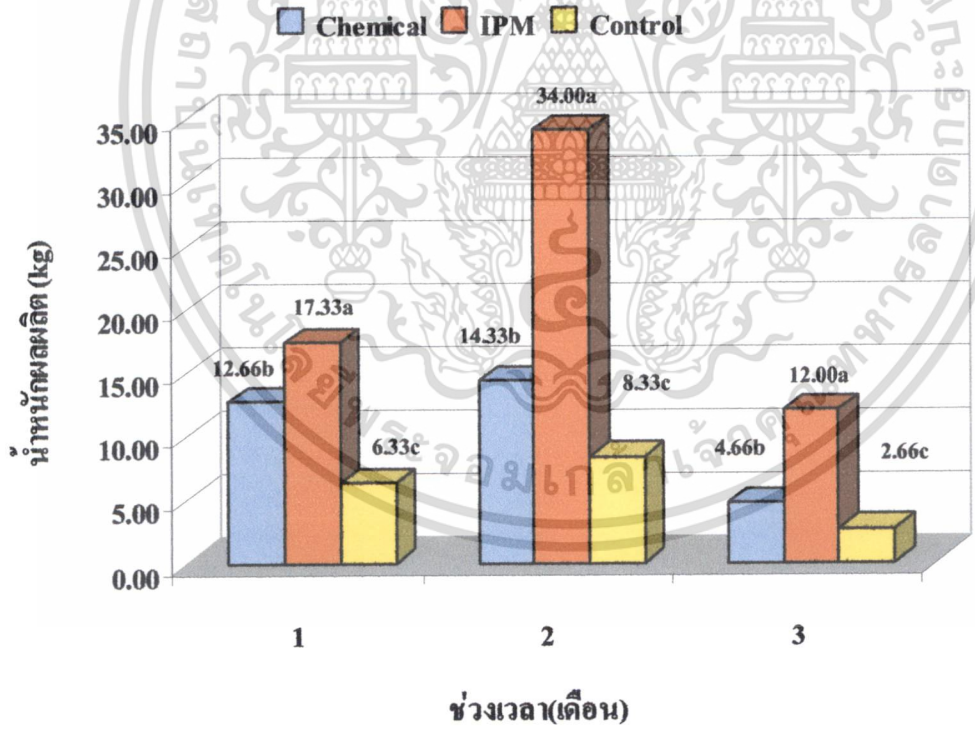
ในเดือนที่ 3 ไม่มีผลผลิตเลยไม่สามารถเก็บบันทึกผลน้ำหนักได้

สำหรับพื้นที่แปลงปลูกบนภูเขาก็พบว่า การใช้วิธีการผสมผสานได้รับผลผลิตสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติดังแสดงในภาพที่4.24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.23 แสดงน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยของแพสชั่นฟรุ้ตในช่วง 3 เดือนที่เก็บเกี่ยวผลผลิตในพื้นที่แปลงปลูกที่เชิงเขา



ภาพที่4.24 แสดงน้ำหนักผลผลิตของแพสชั่นฟรุ้ตด้วยการใช้การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติในแปลงปลูกบนภูเขา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเดือนที่ 1 การใช้วิธีการแบบผสมผสานได้รับผลผลิตสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือได้รับน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 17.33, 12.66 และ 6.33 กิโลกรัม ตามลำดับ

ในเดือนที่ 2 การใช้วิธีการแบบผสมผสานได้รับผลผลิตสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือได้รับน้ำหนักผล ผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 34.00, 14.33 และ 8.33 กิโลกรัม ตามลำดับ

ในเดือนที่ 3 การใช้วิธีการแบบผสมผสานได้รับผลผลิตสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือได้รับน้ำหนักผล ผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 12.00, 4.66 และ 2.66 กิโลกรัม ตามลำดับ

สำหรับพื้นที่แปลงปลูกบนพื้นที่ราบ พบว่าการใช้วิธีการผสมผสานได้รับผลผลิตสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติดังแสดงในภาพที่4.25

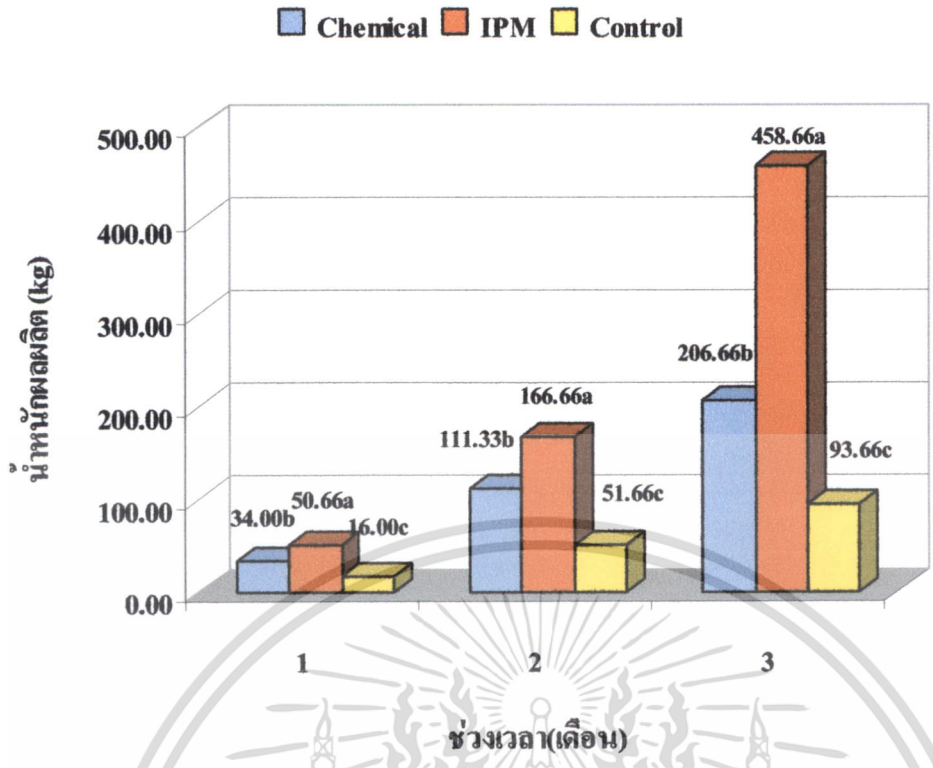
ในเดือนที่ 1 การใช้วิธีการแบบผสมผสานได้รับผลผลิตสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือได้รับน้ำหนักผล ผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 50.66, 34.00 และ 16.00 กิโลกรัม ตามลำดับ

ในเดือนที่ 2 การใช้วิธีการแบบผสมผสานได้รับผลผลิตสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือได้รับน้ำหนักผล ผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 166.66, 111.33 และ 51.66 กิโลกรัม ตามลำดับ

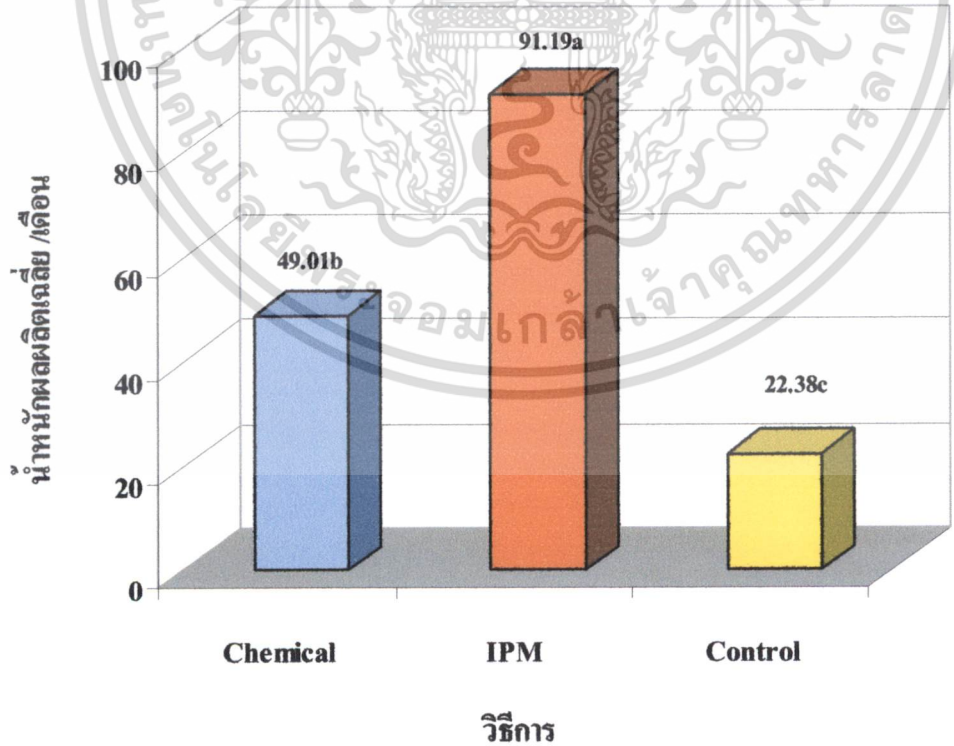
ในเดือนที่ 3 การใช้วิธีการแบบผสมผสานได้รับผลผลิตสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือได้รับน้ำหนักผล ผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 458.66, 206.66 และ 93.66 กิโลกรัม ตามลำดับ

น้ำหนักผลผลิตที่ได้รับเฉลี่ย 3 เดือนเปรียบเทียบกันของ 3 วิธีการใน 3 สภาพพื้นที่แปลงทดลอง พบว่าการใช้วิธีการผสมผสานได้รับน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือได้รับน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ย 91.19, 49.01 และ 22.38 กิโลกรัม ตามลำดับดังแสดงในภาพที่4.26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.25 แสดงน้ำหนักผลผลิตของแพสชั่นฟรุ้ตด้วยการใช้การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติในแปลงปลูกบนพื้นที่ราบ



ภาพที่4.26 แสดงการเปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยต่อเดือนในการใช้วิธีการแบบผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่5

สรุป และวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจพื้นที่แปลงปลูกของเกษตรกรซึ่งเริ่มในช่วงเดือนกรกฎาคม 2546 ถึงเดือนกรกฎาคม 2547 ในอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร จำนวน 15 แปลงพบว่าพืชแสดงอาการของโรคไวรัสที่แตกต่างกันทั้งหมด 3 อาการ คือ 1) อาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรง 2)ใบด่างสีเขียวเข้มและ 3)ใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding ซึ่งอาการที่พบทั้งหมดนี้ใกล้เคียงกับการสำรวจของดวงใจ ชูปัญญาและ คณะ (2531) ซึ่งสำรวจโรคใบด่างแพสชั่นฟรุ้ตตามแหล่งที่สำคัญในประเทศไทย พบอาการของโรคไวรัสจำนวน 2 อาการคือ อาการใบด่างเหลืองสลับเขียวและ อาการใบด่างเป็นจุดเหลือง ผลการประเมินระดับความรุนแรงของโรคไวรัสเฉลี่ยทุกแปลงเท่ากับ 2.2 คือพบอาการใบอ่อนของแพสชั่นฟรุ้ตแสดงอาการทั้งด่างและ หงิกเล็กน้อยหรือพื้นที่ใบเป็นโรคประมาณ 26-50 เปอร์เซ็นต์ และ พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 89.06 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับ Xu et al. (1999) พบว่า *Passiflora* spp เป็นโรคไวรัส 30 - 40 เปอร์เซ็นต์ บางครั้งพบ 90 เปอร์เซ็นต์ และ ดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) พบว่าแพสชั่นฟรุ้ตของบริษัทสยามอุตสาหกรรมที่จังหวัดระยอง ในปี 2528 - 2529 เป็นโรคใบด่างถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผลผลิตลดลงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

ดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) ศึกษาโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตในประเทศไทย พบเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายประกอบด้วย 2 ชนิด คือ passionfruit woodiness virus (PWV) และ cucumber mosaic virus (CMV) ซึ่งพืชอาศัยของเชื้อไวรัส 2 ชนิดนี้อยู่ในวงศ์ Leguminosae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae และ Passifloraceae จึงได้นำข้อมูลพืชอาศัยนี้มาทดสอบโรคไวรัสจากแหล่งปลูกอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร ซึ่งก็พบว่าอาการโรคไวรัสทั้ง 3 อาการ จากแหล่งปลูก อำเภอปะทิว คือ 1) อาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรง 2)ใบด่างสีเขียวเข้ม และ 3)ใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding สามารถถ่ายทอดลงในต้น *C. amaranticolor* ทำให้เกิดจุดแผลสีน้ำตาลแบบเฉพาะแห่ง (local lesion) ในใบที่ถูกปลูกเชื้อหลังจาก 7 วัน แต่ในอาการที่ 2) และ 3) มีการเกิดจุดแผลแบบกระจายทั่วต้นอีกด้วย (systemic lesion) สำหรับถั่วเขียวและ ถั่วฝักยาว พบว่าเฉพาะอาการที่ 1) เท่านั้นที่ทำให้เกิดอาการจุดแผลเฉพาะแห่งสีน้ำตาลในถั่วเขียวหลังปลูกเชื้อ 3 วัน และทำให้เกิดอาการด่างเหลืองแบบกระจายทั่วทั้งต้นในถั่วฝักยาวหลังจากปลูกเชื้อ 14 วัน ซึ่งอาการของเชื้อไวรัสที่แสดงในต้นถั่วเขียว และต้น *C. amaranticolor* สอดคล้องกับเชื้อ CMV ซึ่งรายงานโดยธีระ สูตะบุตร (2532) พบว่าเชื้อ CMV ทำให้เกิดอาการจุดแผลแห้งตายสีน้ำตาล หลังจากปลูกเชื้อ 3-4 วัน เฉพาะบนใบที่ปลูกเชื้อเท่านั้นต่อมาอีก 5-6 วันใบจะหลุดร่วง อาการในต้นแพสชั่นฟรุ้ต (*P. edulis*) และกะทกรกป่า (*P. foetida*) จะใกล้เคียงกันคือ หลังปลูกเชื้อ 10 วัน จะเกิดจุดแผลสีน้ำตาลในใบที่ถูกปลูกเชื้อ (local lesion) และต่อมาจะกระจายไปยังใบยอด (systemic lesion) ทำให้ใบยอดด่าง หงิก และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลงรูปร่างซึ่งเหมือนกับดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) รายงานว่าเชื้อ passionfruit woodiness virus เข้าทำลายต้นแพสชั่นฟรุ้ตและกะทกรกป่าทำให้เกิดอาการใบด่างเหลือง ผิวใบไม่เรียบ ใบยอดหงิกงอ ถ้าอาการรุนแรงใบจะซีดเหลืองและร่วงหล่นและอาการในต้นบานไม่รู้โรยพบว่า เฉพาะอาการที่ 2) และ 3) เท่านั้นที่แสดงอาการด่างเหลืองแบบกระจายทั่วต้นหลังปลูกเชื้อ 14 วัน ซึ่งในต้นบานไม่รู้โรยที่ถูกเชื้อ PWV เข้าทำลายจะแสดงอาการเฉพาะอาการด่างจุดเหลืองแบบกระจายทั่วต้นเท่านั้น สำหรับอาการที่ 1) ไม่พบการแสดงอาการด่างจุดเหลือง ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่าความเข้มข้นของเชื้อ PWV มีน้อย จึงไม่สามารถถ่ายทอดลงในต้นบานไม่รู้โรยได้

การแยกสกัด Total RNA และจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสโดยการตรวจสอบ dsRNA ของเชื้อไวรัส ด้วย วิธี gel electrophoresis พบว่าตัวอย่างทั้ง 3 อาการของแพสชั่นฟรุ้ตคือ ใบด่างเหลืองรุนแรง ใบด่างสีเขียวเข้ม และใบด่างเส้นใบมีลักษณะ vein banding พบลักษณะการเคลื่อนที่ของ dsRNA เชื้อไวรัส มีรูปแบบ pattern ของ RNA4 และ RNA5 คล้ายคลึงกับเชื้อ CMV ซึ่งจากการคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลของแต่ละอาการของเชื้อไวรัสพบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลที่ใกล้เคียงกับเชื้อ CMV มีน้ำหนักโมเลกุล RNA4 เท่ากับ 1.32×10^6 ดาลตัน และ RNA5 เท่ากับ 0.8×10^6 ดาลตัน แสดงให้เห็นว่าทั้ง 3 อาการที่เกิดขึ้นพบการเข้าทำลายของเชื้อ CMV

การตรวจสอบรูปร่างและ ขนาดอนุภาคเชื้อไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจำนวน 2 อาการ คืออาการใบด่างเขียวเข้มพบลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสเป็นแบบ flexuous มีขนาดยาวเฉลี่ยประมาณ 756 นาโนเมตร และใบด่างเส้นใบเป็นแบบ vein banding ตรวจพบลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสเป็นแบบ flexuous เหมือนกันซึ่งมีความยาวเฉลี่ยประมาณ 529.14 นาโนเมตร

ผลการศึกษา temperature gradient PCR เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาเพิ่มทวีจำนวนของชิ้น DNA โดยใช้ degenerate primer ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไวรัสสมาชิกในกลุ่ม potyvirus พบว่า ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 56.2 - 65 องศาเซลเซียส สามารถเพิ่มจำนวนของ DNA ของเชื้อไวรัสใบด่างเส้นใบเป็น vein banding ได้ดีที่สุด และผลการใช้กระแสไฟฟ้าในการแยก RT-PCR product (gel eletrophoresis) ตรวจสอบกลุ่ม potyvirus ของอาการโรคไวรัส พบว่า RT-PCR product ทั้ง 3 อาการมี genome size ประมาณ 1,200 bp ซึ่งขนาดของ genome size และความจำเพาะกับ primer ของ potyvirus group ทำให้สามารถจำแนกได้ว่าเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายแพสชั่นฟรุ้ตที่ทำให้เกิดอาการทั้ง 3 เป็นเชื้อไวรัสในกลุ่ม potyvirus

การศึกษาวิจัยจำแนกโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ต จากอาการที่สังเกตพบบนใบแพสชั่นฟรุ้ต การศึกษาชนิด และอาการของพืชอาศัย การตรวจสอบรูปร่าง และลักษณะของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน รวมทั้งการวิเคราะห์ dsRNA และ ขนาดของ PCR product ทำให้สามารถสรุปได้ว่าเชื้อสาเหตุโรคใบด่างของแพสชั่นฟรุ้ตมี 2 ชนิด คือ CMV และ PWV ซึ่งตรงกับรายงานของดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) รายงานว่าเชื้อสาเหตุโรคใบด่างของแพสชั่นฟรุ้ตมี 2 ชนิด คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CMV และ PWV จากการสำรวจโรคใบด่างแพสชั่นฟรุ้ตตามแหล่งที่สำคัญในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ชัยนาท ขอนแก่น และ ระยอง แต่ก็พบว่ามีอาการการเกิดจุดแผลในพืชทดสอบที่แตกต่างกันอยู่บ้าง คืออาการในต้น *C. amaranticolor* ของดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) เกิดอาการจุดแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) เพียงอย่างเดียว แต่จากการสำรวจในอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร คือ เกิดอาการจุดแผลทั้งแบบเฉพาะแห่ง (local lesion) และ กระจายทั่วทั้งต้นด้วย (systemic lesion) จากตัวอย่างใบแพสชั่นฟรุ้ตที่แสดงอาการใบด่างสีเขียวเข้ม และใบด่างเส้นในเป็นแบบ vein banding ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก strain ของเชื้อไวรัสในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ความเข้มข้นของเชื้อก็แตกต่างกัน อาการที่แสดงออกในแต่ละอาการมีอัตราส่วนความเข้มข้นของเชื้อไวรัส 2 ชนิด ที่เข้าทำลายแตกต่างกัน จึงทำให้อาการที่แสดงออกที่สำรวจพบมีความแตกต่างกัน

การศึกษาการถ่ายทอดทางเมล็ดโดยการนำเมล็ดพันธุ์มาปลูกทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ไม่พบว่ามีการเกิดโรคกับต้นอ่อนที่มีอายุ 1 เดือนซึ่งสอดคล้องกับ Brunt *et al.* (1996) ซึ่งไม่พบการรายงานว่าเชื้อไวรัสสามารถถ่ายทอดได้ทางเมล็ดของแพสชั่นฟรุ้ต

จากการศึกษาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรเป็นระยะเวลา 1 ปี โดยเปรียบเทียบ 3 วิธีการ คือ 1) การใช้วิธีแบบผสมผสาน 2) การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงเพียงอย่างเดียว และ 3) แปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งแปลงทดลองแต่ละแปลงตั้งอยู่ในบริเวณที่แตกต่างกันคือ แปลงที่ 1 ตั้งอยู่บริเวณเชิง แปลงที่ 2 ตั้งอยู่บนภูเขา และแปลงที่ 3 ตั้งอยู่บนพื้นที่ราบ พบว่าระดับความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสใน 3 สภาพพื้นที่เพาะปลูก ทุกสภาพพื้นที่การใช้วิธีการแบบผสมผสานและการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว มีระดับความรุนแรง และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสมีความแตกต่างกันในทางสถิติโดยพื้นที่ 2 ใน 3 แปลงที่ทดสอบการใช้วิธีการผสมผสานพบระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด รองลงมาคือการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และพบระดับความรุนแรงในการเกิดโรคสูงที่สุด ในแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติเช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานช่วยชะลอการเกิดโรคได้ดีที่สุด รองลงมาคือการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบการเกิดโรคสูงที่สุด สำหรับระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยต่อปี พบว่าวิธีการผสมผสานมีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือ มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 0.85, 1.07 และ 1.60 ตามลำดับและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยต่อปี พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 58.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 67.94 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 78.61 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักผลผลิตที่ได้รับเฉลี่ย 3 เดือน พบว่าการใช้วิธีการผสมผสานได้รับน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยสูงที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงปลูกตามธรรมชาติคือได้รับน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ย 91.19, 49.01 และ 22.38 กิโลกรัม ตามลำดับ

สำหรับวิธีการแบบผสมผสานที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้ นับว่าประสบผลสำเร็จเป็นอย่างดี ในการควบคุมแมลงพาหะทำให้แพสชั่นฟรุ้ต มีระดับความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ต่ำกว่าการใช้สารเคมีกำจัดแมลงเพียงอย่างเดียว ทำให้ได้รับผลผลิตมากกว่าอย่างชัดเจน ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวเลือกอีกแนวทางหนึ่งให้เกษตรกรนำไปใช้ เพื่อเพิ่มคุณภาพและปริมาณในการผลิตแพสชั่นฟรุ้ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมส่งเสริมวิชาการเกษตร. **สถิติการปลูกไม้ผลและไม้ยืนต้นปี 2540-2542.** หน้า 256-257.

กองโรคพืชและ จุลชีววิทยา. 2532 . **โครงการป้องกันกำจัดโรควิสาของ Passionfruit.** กลุ่มงานวิสาวิทยา กองโรคพืชและ จุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ Chiyoichi Noda พัน อินทร์จันทร์และ นวลจันทร์ ดีมา. 2536. การป้องกันกำจัดโรคไวรัสของแตงโดยวิธีเขตกรรม. **รายงานผลการวิจัย 2536.** กลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2542. **ความต้องการวัตถุดิบของโรงงานอุตสาหกรรมเกษตร ปี 2540.** ฝ่ายอุตสาหกรรมเกษตร กองส่งเสริมธุรกิจเกษตร.

ดวงใจ ชูปัญญาและ วรวรรณ ศักดิ์วงศ์. 2529ก. ศึกษาพืชอาศัยโรควิสาของแพสชั่นฟรุ้ต. **รายงานผลการวิจัย 2529.** กลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงการเกษตรและ สหกรณ์.

ดวงใจ ชูปัญญาและ วรวรรณ ศักดิ์วงศ์. 2529ข. การศึกษาแมลงพาหะโรควิสาของแพสชั่นฟรุ้ต. **รายงานผลการวิจัย 2529.** กลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงการเกษตรและ สหกรณ์.

ดวงใจ ชูปัญญา พรรณี ผดุงศิริกุล บัวแก้ว พนัสนอก ประสิทธิ เพชรแก้ว ภูเวียง สืบสิน สมหมาย บัวผันและ สุรพงศ์ ปาณะวงศ์. 2531. โครงการป้องกันกำจัดโรคไวรัสของแพสชั่นฟรุ้ตโดยวิธีผสมข้าม. **รายงานผลการวิจัย 2531.** กลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ดวงใจ ชูปัญญา. 2534. การศึกษาความสามารถของเชื้อไวรัสโรคใบด่างชนิดอ่อนของแพสชั่นฟรุ้ตในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสชนิดรุนแรง. **รายงานผลการวิจัย 2534.** กลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและ จุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ธีระ สูตะบุตร. 2532. **โรคไวรัสและโรคคล้ายไวรัสของพืชสำคัญในประเทศไทย.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นวลพรรณ งามยี่สุ่น. 2539. **โรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสและไวรอยด์.** ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 118 หน้า.

นวลพรรณ งามยี่สุ่น และกีรติกุล ชีกว้าง. 2546. การวินิจฉัยเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายมะลิโดยวิธีการวิเคราะห์ dsRNA และ วิธีการถ่ายทอดเชื้อ. **วารสารโรคพืช** ปีที่17 ฉบับที่ 1-2. หน้า 12-22.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รุจน์ มรกต. 2541. เกร็ดความรู้ น้ำมันปิโตรเลียมกำจัดศัตรูพืช. **วารสารกีฏและสัตววิทยา** ปีที่ 20 ฉบับที่ 3. หน้า 219-220.

วิทย์ นามเรืองศรี. 2543. วิธีการใช้น้ำมันปิโตรเลียมกำจัดศัตรูพืช. **วารสารกีฏและสัตววิทยา** ปีที่ 22 ฉบับที่ 4. หน้า 339-343.

ศรีสุดา โท้ทองและ ปิยรัตน์ เขียนมีสุข. 2543. สีของกับดักกาวเหนียวที่เป็นเครื่องมือดักเพลี้ยไฟในสวนกล้วยไม้. **วารสารกีฏและ สัตววิทยา** ปีที่ 22 ฉบับที่ 3. หน้า 194- 201.

Ahmed, N. E. et al. 2001. Effect of Imidacloprid on Incidence of Tomato Yellow Leaf Curl Virus. **Plant Disaese.** 85(1) : 84-87.

Barbosa, C. J., Stenzel, N. M and Jaconimo, A. P. 1999. Occurrence of cucumber mosaic virus (CMV) in passionfruit in the state of Parana Brazil. **Fitopatologia Brasileira.** 24(2): 193.

Bencher, D.,Pappu, S. S., Niblett, C. L., Varon de Agudelo, F., Morales, F., Hodson, E., Alvarez, E., Acosta, O and Lee, R. F. 1996. A strains of soybean mosaic virus infeccting Passiflora spp. in Colombia. **Plant Disease.** 80: 258-262.

Brand, R. J., Wechmar, M. B and Von Wechmar, M. B. 1993. Characterization of two viruses implicated in the woodiness disease complex of South African passionfruit: cucumber mosaic virus and a new potyvirus. **Journal of the Southern African Society for Horticultural Sciences.** 3(1): 28-33.

Brown, J. K., Bird, J and Fletcher, D. C. 1993. First report of passiflora leaf mottle disease caused by a whitefly transmitted geminivirus in Puerto Rico. **Plant Disease.** 77(12): 1264.

Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J and Watson, L. 1996. **Virus of plants .** Descriptions and list from the VIDE database. CAB International.Cambridge .UK, 1484 p.

Chang, C. A. 1992. Characterization and comparison of passionfruit mottle virus, a newly regconized potyvirus, with passionfruit woodiness virus. **Phytopathology.** 82(11): 1358-1363.

Chang, C. A., Chen, C. C., Deng, T. C and Zettler, F. W. 1996. Characterization of passion fruit crinkle potyvirus a newly found virus infecting passionfruit. **Plant Protection Bullentin Teipei.** 38(4): 339-354.

Chagas, C. M., Rossetti, V., Colariccio, A., Lovisolo, O., Kitajima, E. W., Childers, C. C., Halliday, R. B., Walter, D. E.,Proctor, H. C., Norton, R. A and Colloff, M. J. 2001. Brevipalpus miles (Acari: Tenuipalpidae) as vectors of plant viruses. **Acarology. Proceedings of the 10 th International Congress** : 369-375.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cigdem, U and Filiz, E. 2005. Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV) status in Turkey and sensitive detection using advanced techniques. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry.** 29: 251-257.

Colinet, D., Kummert, J., Lepovire, P and Semal, J. 1994. Identification of distinct potyviruses in mixedly – infected sweetpotato by the polymerase chain reaction with degenerate primer. **Phytopathology.** 84(1): 65 – 69.

Cooper, V. C. 1976. Studies on the seed transmission of cheery leaf roll virus. Ph.D. Thesis, Univ. Of Birmingham.

Crestani, O. A., Kitajima, M. A., Lin, M. T and Marinho, L. A. 1986. Passionfruit yellow mosaic virus, a new tymovirus found in Brazil. **Phytopathology.** 76: 951-955.

Dassanayake, E. M and Hicks, R. G. T. 1992. Sri lankan passionfruit mottle virus, a potyvirus infecting golden passionfruit in Sri Lanka. **Annals of applied Biology.** 120: 459-465.

Doomar, S., Naqvi, Q. A and Garg, I. D. 1999. A strain of cucumber mosaic cucumovirus causing mosaic in marigold in India. **Indian Phytopath.** 52(2): 114-117.

Faten, G., Hatem, F., Colette, T., Mohamed, M and Marrakchi, M. 1999. Some biological and molecular properties of pepper veinal mottle virus isolates occurring in Tunisia. **Plant Molecular Biology Repoeter.** 17: 149-158.

Hernandez, C. E., Riestra, D. D., Garcia, P. E., Ortega, A. L. D and Mosqueda, V. R. 2000. Response of the papaya ringspot virus (PRSV) in tree systems of management. **Manejo Integrado de Plagas.** 58: 20-27.

Hitchborn, J. H and Hills, G. J. 1965. The use of negative staining in the electron microscopic examination of plant viruses in crude extracts. **Virology.** 27: 528-540.

Iwai, H., Ohmori, T., Kurokawa, Y., Muta, T and Arai, K. 1996. New record of passionfruit woodiness virus in Japan. **Annals of the Phytopathological Society of Japan.** 62(5): 459-465.

Jayashree, K., Pun, K. B and Doraiswamy, S. 1999. Virus- vector relationships of yellow mosaic virus and whitefly (*Bemisia tabaci*) in pumpkin. **Indian Phytopath.** 52(1): 10-13.

Kitajima, E. W., Chagas, C. M and Crestani, O. A. 1986. Virus and mycoplasma-associated diseases of passionfruit in Brazil. **Fitopatologia Brasileira.** 11: 409-432.

Kundu, J. K., Svoboda, J and Polak, J. 2003. Detection of apple stem grooving virus in different tissues of apple trees throughout the year. **Plant Protection Science.** 39(3): 93-96.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Marinho, V. L. A., Daniels, J., Kummert, J., Chandelier, A and Lepoivre, A. 2003. RT-PCR-ELISA for deection of apple stem grooving virus in apple trees. **Fitopatologia Brasileira.** 28: 374-379.

Miroslawa, C. 2004. Detection of strawberry mottle virus (SMoV) using RT-PCR comparison of two RNA extraction methods. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**. 12: 17-22.

Moraes, M. C., Vieira, M. L. C., Novaes, Q. S and Rezende, J. A. M. 2002. Susceptibility of Passiflora nitida to passionfruit woodiness virus. **Fitopatologia Brasileira**. 27(1): 108.

Moshe, L., Michael, F., Meir, P., Rachel, B. J and Shlomo, C. 2001. Effect of host plant resistance to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) on virus Acquisition and transmission by its whitefly vector. **Phytopathology**. 91(12): 1209-1213.

Novaes, Q. S and Rezende, J. A. M. 2000. Possible use of indirect DAS-ELISA for screening of passionfruit tolerant to passionfruit woodiness virus. **Fitopathologia Brasileira.** 24(1): 76-79.

Pares, R. D., Gunn, L. V., Keskula, E. N., Martin, A. B and Teakle, D. S. 1997. Occurance of passiflora latent carlavirus in cultivated and wild Passiflora species in Australia. **Plant Disease.** 81(4):348-350.

Redinbaugh, M. G., Seifers, D. L., Meulia, T. Abt, J. J., Anderson, W. E., Styer, W. E., Ackerman, J., Salomon, R., Houghton, W., Cremer, R., Gordon, D. T and Hogenhout, S. A. 2002. Maize fine streak virus, a new leafhopper-transmitted rhabdovirus. **Virology**. 92(11): 1167-1174.

Rezaian, M. A., Krake, L. R., Cunying, Q and Hazzalin, C. A. 1991. Detection of virus associated dsRNA from leafroll infected grapevines. **Virol Methods**. 31(2-3): 325-334.

Rubies Autonell, C., Bellardi, M. G., Turica, M and Pank, F. 1996. Recent findings of virus infections in medical and aromatic plants in Italy. **Proceedings International symposium.** Breeding research on medical and aromatic plants, Quedlinburg, Germany, 30 June-5 July, 1996. Beitrage zur Zuchtungsforchang Budesanstalt for Zuchtungsforschang an Kulturpflanzen. 2(1): 68-71.

Satya, P., Singh, S. J., Singh, R. K and Upadhyaya. P. P . 2002. Distribution, incidence and detection of a potyvirus on chilli from eastern Uttar Pradesh. **Indian Phytopath.** 55(3): 294-298.

Taylor, R. H and Greber, R. S. 1973. **Descriptions of plant virus.** [Online]. Available: http//www.dpvweb.net/dpv/showadpv.php?dpvno=122

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Takada, H. 1995. IPM of vector aphid. Laboratory entomology, Faculty of Agriculture Kyoto Prefectural University. Extension Bulletin-ASPAC, **Food & Fertilizer Technology center**. 4(7): 1-5.

Tomlinson, J. A and Carter, A. L. 1970. Studies in the seed transmission of cucumber mosaic virus in chickweed (*Stellaria media*) in relation to the ecology of the virus. **Ann. Appl Biol**. 66: 381-386.

Trindade, D. R., Poltronieri, L. S., Albuqerque, F. C., Rezende, J. A. M., Novaes, Q and Kitajima, F. W. 1999. Occurrence of the passionfruit woodiness virus (PWV) in the state of Para, Brazil. **Fitopathologia Brasileira**. 24(2): 196.

Xu, P.D., Li, M., Ke, C., Xu, P. D and Ke, C. 1999. Occurrence of virus diseases of *Passiflora* spp. And subgrouping of cucumber mosaic Cucumovirus in Fujian. **Acta Phytophy tocica sinica**. 26(1): 50-54.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การควบคุมโรคไวรัสในเสาวรสโดยวิธีผสมผสาน

Control of Virus Diseases on Passionfruits by Integrated Pest Control

นวลพรรณ งามยี่สุ่น[1] และ ศิริชัย ถาวร[1]

Nualphan Ngamyeesoon[1] and Sirichai Thawom[1]

Abstract

A survey of virus disease incidence and disease assessment on passionfruit was determined in Pathiu district, Chumpom province. The results showed that average virus disease incidence was 89.06% and average of disease severity was 2.25 (rating scale 0-4 level). Control of virus diseases by integrated pest control (IPC) was studied. Experiments was conducted on 3 different locations which were, hillside, on the hill and on land. Three treatments were applied as follow ; IPC treatments using combination of sticky trap, imidacloprid spraying at 20 c.c/20lt. of water and petroleum oil spraying at 5c.c/20lt. of water, both spraying at 2 week interval, chemical treatment using only imidacloprid spraying at 20c.c/20lt. of water at 2 week interval, control treatment (non-treated) using only conventional practice. The experiment design was a random block with three replicates. There were significant result from 3 treatment in both average of disease severity and average yield at 0.85, 1.07, 1.60 and 91.19, 49.01, 22.38kg. respectively. Moreover, IPC treatment delayed the increasing of virus incidence with significant results. Survey of insect types revealed 2 species of aphids (*Myzus persicae* and *Aphis gossypii*) and beetles. While, insect populations were significant different with most density on hillside, on the hill and on land, respectively, and in rainy season (May-December) the populations were higher than in summer (January-April).

บทคัดย่อ

การสำรวจความเสียหายจากโรคไวรัสที่เข้าทำลายต้นเสาวรสและการประเมินความรุนแรงของโรคจากแหล่งปลูกใน อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยคือ 89.06 เปอร์เซ็นต์และระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยคือ 2.25 จากระดับความรุนแรง 0-4 ระดับ วิธีที่นำมาทดสอบการควบคุมโรคคือ 1)การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน โดยการใช้กับดักกาวเหนียว (คินริว) ร่วมกับการฉีดพ่นยาฆ่าแมลง Imidacloprid 20 ซีซี /น้ำ20 ลิตรและการฉีดน้ำมันปิโตรเลียม 5 ซีซี /น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นทุก 15 วัน 2)การใช้ยาฆ่าแมลง Imidacloprid 20 ซีซี /น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นอย่างเดียวฉีดพ่นทุก 15 วัน และ 3)การปลูกตามธรรมชาติ ทดสอบในระยะเวลา 1 ปี โดยพื้นที่ปลูกแตกต่างกัน 3 แปลง คือ แปลงปลูกเชิงเขา แปลงปลูกบนภูเขาและแปลงปลูกบนที่ราบ โดยการวางแผนการทดลองแบบ 3x3 RCBD พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมีระดับความรุนแรงเฉลี่ยต่อปี คือ 0.85 1.07 1.60 และผลผลิตเฉลี่ยต่อเดือน คือ 91.19 49.01 และ 22.38 กิโลกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานทำให้ชะลอการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ดีกว่าการใช้ยาฆ่าแมลงอย่างเดียวและการปลูกตามธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ผลจากการสำรวจชนิดและประชากรแมลงพาหะในแปลงทดลองทั้ง 3 แหล่งพบเพลี้ยอ่อน 2 ชนิด คือ (*Myzus persicae*) และ (*Aphis gossypii*)และด้วงเต่า แพร่ระบาดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบแมลงมากที่สุดในแปลงที่ปลูกเชิงเขา รองลงมาคือแปลงปลูกบนที่ราบและแปลงที่พบน้อยที่สุดคือแปลงที่ปลูกบนภูเขาและพบว่าในช่วงฤดูฝน (พ.ค - ธ.ค) มีการระบาดมากกว่าในฤดูร้อน (ม.ค – เม.ย)

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

Department of Plant Pest Management Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut' s Institute" of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ในประเทศไทยมีรายงานความเสียหายของเสาวรสที่เกิดจากเชื้อ Passionfruit woodiness virus และ Cucumber mosaic virus ซึ่งในสภาพแปลงปลูกเชื้อ 2 ชนิดนี้มีการเข้าทำลายร่วมทำให้ผลผลิตเกิดความเสียหายสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ (ดวงใจและคณะ,2531) วิธีการป้องกันกำจัดโรคไวรัสที่นิยมใช้คือ การกำจัดแมลงพาหะด้วยสารเคมีซึ่งในประเทศศรีลังกานิยมใช้สาร imidacloprid ในการควบคุมกำจัดเพลี้ยอ่อนและเพลี้ยไฟ สำหรับวิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีการนำมาใช้ในการจัดการกับโรคที่เกิดจากไวรัสซึ่ง Takada(1995) ประสบผล สำเร็จในการลดปริมาณเพลี้ยอ่อนโดยการใช้สารขับไล่ สารลดการกินอาหาร สารเคมีฆ่าแมลง การใช้ตาข่ายและการใช้แมลงตัวห้ำ นอกจากนี้เครือพันธุ์ และคณะ(2536) ใช้วิธีเขตกรรม วิธีกลและการฉีดพ่นสารเคมีทางใบในการป้องกันโรคไวรัสในแตงร้านพบว่าทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ปริมาณเพลี้ยอ่อนและแมลงหวี่ขาวลดลง จังหวัดชุมพรเป็นแหล่งใหญ่ที่เริ่มมีการผลิตเสาวรสในทางภาคใต้ แต่ปัญหาหนึ่งที่สำคัญที่ทำให้ผลผลิตลดลงคือโรคไวรัส จึงจำเป็นต้องนำวิธีการที่เหมาะสมมาใช้เพื่อลดความเสียหายสามารถควบคุมป้องกันกำจัดเชื้อไวรัสในแปลงปลูก วัตถุประสงค์การทดลองนี้เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคไวรัสโดยใช้วิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน

อุปกรณ์และวิธีการ

สำรวจโรคไวรัสของเสาวรสในแปลงปลูกจำนวน 15 แปลง โดยนับจำนวนที่ถูกเชื้อเข้าทำลายและประเมินความรุนแรงของโรคไวรัสโดยการสุ่มอย่างมีระบบแปลงละ 50 ต้น จัดระดับความรุนแรงเป็น 5 ระดับ คือ 0 ถึง 4 (Fig1.) (ดัดแปลงจาก Moshe *et al.* 2001)

Fig.1 Virus assessment scale on leave

A) 0= no symptom

B) 1= slightly mosaic on passion fruit leave

C) 2= mosaic and slightly leaf distortion

D) 3= severe mosaic and moderate leaf distortion

E) 4= severe mosaic and leaf distortion

การทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคไวรัสเป็นระยะเวลา 1 ปี โดยเปรียบเทียบ 3 วิธีการ คือ การใช้วิธีผสมผสาน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและปลูกตามธรรมชาติ ในพื้นที่แปลงละ 3 ไร่ในบริเวณที่แตกต่างกันคือ แปลงที่ 1 ตั้งอยู่บริเวณเชิงเขาที่ปลูกผักสวนครัวร่วมอยู่ด้วย แปลงที่ 2 ตั้งอยู่บนภูเขา และแปลงที่ 3 ตั้งอยู่บนพื้นที่ราบ เริ่มทดลองขณะเสาวรสมีอายุ 2 เดือนจนถึงการเก็บเกี่ยวผลผลิต วางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) 5 ซ้ำ (ซ้ำละ 40 ต้น) 3 วิธีการ 1) วิธีผสมผสาน คือ ใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลืองร่วมกับใช้น้ำมันปิโตรเลียมป้องกันกำจัดศัตรูพืช (White oil) อัตรา 5 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร และยาฆ่าแมลง imidacloprid ในอัตรา 20 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร ผสมกับสารจับใบ 5 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นทางใบให้ทั่วต้นทุกๆ 15 วัน 2) วิธีการใช้ยาฆ่าแมลง imidacloprid ในอัตรา 20 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร ผสมกับสารจับใบ 5 ซีซี/น้ำ 20 ลิตรเพียงอย่างเดียว ฉีดพ่นทางใบให้ทั่วต้นทุกๆ 15 วัน 3)วิธีการปลูกตามธรรมชาติ (Control) ประเมินความรุนแรงการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโดยการสุ่มอย่างมีระบบวิธีการละ 50 ต้นทุกๆ 30 วัน สำรวจชนิดของแมลงพาหะนำโรคไวรัสที่ติดอยู่บนกับดักกาวเหนียวในแต่ละแปลงจำนวน 15 แผ่น ทุกๆ 15 วัน บันทึกน้ำหนักรวมของผลผลิตในแต่ละวิธีการแล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ผลการทดลอง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคไวรัสโดยเปรียบเทียบ 3 วิธีการคือการใช้วิธีผสมผสาน การใช้สารเคมีอย่างเดียวและการปลูกตามธรรมชาติดังแสดงใน Table.1และ Fig.2-3 ผลการสำรวจโรคไวรัสของเสาวรสในพื้นที่ของเกษตรกร 15 แปลงก่อนการทดลองพบระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 2.25 (Fig.2a) และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 89.06 % (Fig.2b) ระดับการเกิดโรคไวรัสเฉลี่ยในแต่ละวิธีการต่อปีพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การใช้วิธีผสมผสานมีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยต่ำที่สุดเท่ากับ 0.85 รองลงมาคือการใช้ยาฆ่าแมลง 1.07 และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 1.60 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดโรคต่อปีพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การใช้วิธีผสมผสานมีการเกิดโรคเท่ากับ 58.5% การใช้ยาฆ่าแมลง 67.94% และแปลงปลูกตามธรรมชาติ 78.61% สำหรับการเกิดโรคพบว่าการใช้วิธีผสมผสานและการใช้สารเคมีมีการเกิดโรคที่ 100% หลังจาก 8 เดือนซึ่งจะล่าช้ากว่าแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติที่เป็นโรค 100% หลังจาก 5 เดือน จากการชั่งน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยของแต่ละวิธีการ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบว่าการใช้วิธีผสมผสานได้รับน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยต่อเดือนสูงที่สุดเท่ากับ 91.19 กิโลกรัม การใช้ยาฆ่าแมลง 49.01 กิโลกรัม และแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติ 22.38 กิโลกรัม จากการสำรวจแมลงพบเพลี้ยอ่อนมากที่สุดและพบมากในช่วงฤดูฝน ในฤดูร้อนจะไม่ค่อยพบปริมาณแมลงในจำนวนที่สูงมากนัก ปริมาณแมลงเฉลี่ยต่อปีพบว่าปริมาณเพลี้ยอ่อนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับด้วงเต่า คือพบเพลี้ยอ่อนเฉลี่ย 4.46 ตัว/กับดักและด้วงเต่า 1.99 ตัว/กับดัก (Table.1)

Table.1 Comparison of virus disease assessment, yields and insect populations on passionfruits by means of IPC, chemical and non-treated treatments.

Data	Plot 1			Plot 2			Plot 2			Average within treatment		
	IPC	Chem.	Cont.	IPC	Chem.	Cont.	IPC	Chem.	Cont.	IPC	Chem.	Cont.
Ave.Disease rating	1.81b	1.91b	2.34a	0.48c	0.84b	1.10a	0.27c	0.47b	1.37a	0.85c	1.07b	1.60a
Ave.Yield weight	27.16a	19.16b	7.66c	21.11a	10.55b	5.77c	225.32a	117.33b	53.77c	91.19a	49.01b	22.38c
Ave.Insect pop./season	Aphid		Beetle	Aphid		Beetle	Aphid		Beetle	Ave. Total insect pop./year		
Rainning	9.55a		4.00b	2.16a		1.50b	9.56a		2.66b	Aphid		Beetle
Summer	2.76a		1.87b	1.75a		1.30b	1.00a		0.62b	4.46a		1.99b

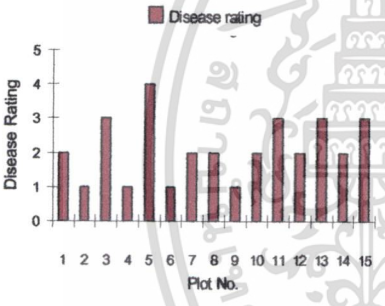


Fig. 2a

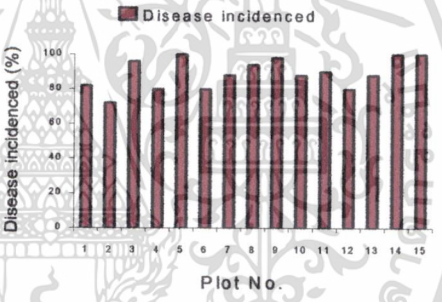


Fig. 2b

Fig. 2 Virus disease assessment (a) and disease incidence (b) on passionfruits, surveyed from 15 plots in Pathiu district, Chumporn province.

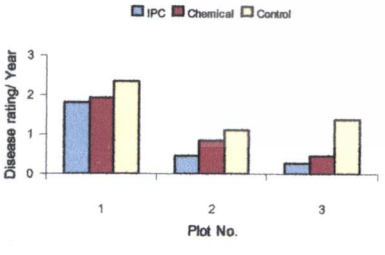


Fig. 3a

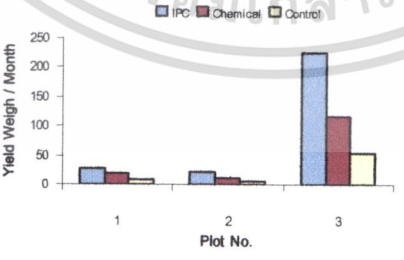


Fig. 3b

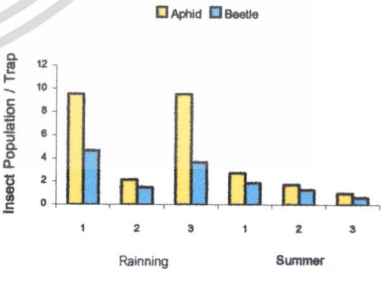


Fig. 3c

Fig.3 Results of virus disease control on passionfruit by 3 treatments (IPC, chemical and non treated) a) average of disease assessment rating scale/year b) average of yields(kg/month) c) Average of aphid and beetle populations in summer and rainning season for 1 year.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์

การประเมินระดับความรุนแรงการเกิดโรคของเสาวรสก่อนการทดลอง พบว่ามีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 2.25 และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 89.06 เปอร์เซ็นต์ซึ่งสอดคล้องกับ Xu (1999) พบว่า *Passiflora* spp เป็นโรค 30-40% บางครั้งพบ 90% ดวงใจ และคณะ (2531) พบว่าเสาวรสของบริษัทสยามอุตสาหกรรมที่จังหวัด ระยอง ในปี 2528-2529 เป็นโรคใบด่างถึง 100% และผลผลิตลดลงกว่า 50% ผลการทดสอบประสิทธิภาพการใช้วิธีผสมผสานในช่วงระยะเวลา 1 ปี พบว่าการใช้วิธีผสมผสานให้ผลดีที่สุด มีระดับการเกิดโรคน้อยกว่าทั้งการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติซึ่งสอดคล้องกับ Ahmed *et al.* (2001) ใช้สารเคมี imidacloprid ร่วมกับการใช้วิธีการจัดการแบบผสมผสานต่อเชื้อ Tomato yellow leaf curl virus เปรียบเทียบกับการใช้สาร cypermatrin เพียงอย่างเดียวซึ่งพบว่าการใช้วิธีการจัดการแบบผสมผสานร่วมกับสารเคมีสามารถป้องกันมะเขือเทศจากโรคได้นาน 12 สัปดาห์ และแปลงที่ใช้วิธีการแบบผสมผสานร่วมกับสารเคมีมีการเกิดโรค 15.7% ในขณะที่แปลงที่ไม่ได้ใช้วิธีการแบบผสมผสานมีการเกิดโรคสูงถึง 42.7% นอกจากนี้ Takada (1995) ประสบความสำเร็จในการใช้วิธีการผสมผสานในการควบคุมเพลี้ยอ่อนได้อย่างสมบูรณ์ คือ การใช้สารเคมีขับไล่ สารลดการกินอาหาร และสารเคมีฆ่าแมลง การใช้ตาข่ายและการใช้แมลงห้ำ แมลงเบียน

สรุป

การใช้วิธีการผสมผสานโดยการใช้กับดักกาวเหนียวร่วมกับการฉีดพ่นยาฆ่าแมลง imidacloprid 20 ซีซี /น้ำ20 ลิตรและการฉีดน้ำมันปิโตรเลียม 5 ซีซี /น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นทุก 15 วัน สามารถควบคุมโรคไวรัสในเสาวรสให้ผลเป็นที่น่าพอใจ ซึ่งจะเห็นความแตกต่างที่ชัดเจนในการลดระดับการเกิดโรคและผลผลิตที่ได้รับเมื่อเปรียบเทียบแปลงที่ใช้วิธีผสมผสานกับแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้วิธีผสมผสานให้ผลดีในการควบคุมโรคไวรัส ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งให้เกษตรกรนำวิธีนี้ไปใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ในการลดความรุนแรงการเกิดโรค ช่วยเพิ่มปริมาณและคุณภาพของผลผลิตให้ดีขึ้น อีกทั้งเป็นการลดความเป็นพิษช่วยในการรักษาสภาพแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ Chiyoichi Noda พัน อินทร์จันทร์ และนวลจันทร์ ดีมา. 2536. การป้องกันกำจัดโรคไวรัสของแตงโดยวิธีเขตกรรม. ในรายงานผลการวิจัย 2536. กลุ่มงานไวรัสวิทยากองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ดวงใจ ชูปัญญาและวรวรรณ ศักดิ์วงศ์. 2529 . "การศึกษาแมลงพาหะโรควิสาของเสาวรส". ใน รายงานผลการวิจัย 2529. กลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงการเกษตรและสหกรณ์.

ดวงใจ ชูปัญญา พรรณี ผดุงศิริกุล บัวแก้ว พนัสนอก ประสิทธิ เพชรแก้ว ภูเวียง สืบสิน สมหมาย บัวผัน และสุรพงศ์ ปาณะวงศ์. 2531. ในรายงานผลการวิจัย โครงการป้องกันกำจัดโรคไวรัสของเสาวรสโดยวิธีผสมข้าม. กลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุล ชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

Ahmed, N. E., Y. Sugimoto., Y. M. Ma and S. Inanaga. 2001. "Effect of imidacloprid on incidence of tomato yellow leaf curl virus". Plant Dis. 85(1) : 84-87.

Moshe, L., M. Friedmann., M. Pilowsky., R. Ben-Josept and S. Cohen. 2001. "Effect of host plant resistance to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) on virus acquisition and transmission byilts whitefly vector". Phytopathology. 91(12) : 1209-1213.

Takada, H. 1995. "IPM of Vector Aphid". Laboratory entomology, Faculty of Agriculture Kyoto Prefectural University. Extension Bulletin-ASPAC, Food & Fertilizer Technology center. 4(7) : 1-5.

Xu, P.D. 1999. "Occurrence of virus diseases of *Passiflora* spp. and subgrouping of cucumber mosaic cucumovirus in Fujian". Acta Phytophytocica sinica. 26(1) : 50-54.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้