

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายไม้ประดับสกุล *Spathiphyllum* spp.
และการผลิตพืชปลอดโรคโดยใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

STUDY OF VIRUS INFECTING *SPATHIPHYLLUM* SPP.
AND PRODUCTION OF VIRUS-FREE CULTURE BY CHEMOTHERAPY *IN VITRO*



เชาวนาถ พฤทธิเทพ
CHAOWANARD PRUITTITHEP

เลขหน้.....
เลขท ั้ยน.....47699
วัน, เดือน, ปี.....22 ส.ค. 2546

.b.....
.i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2546

ISBN 974-324-392-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**STUDY OF VIRUS INFECTING *SPATHIPHYLLUM* SPP.
AND PRODUCTION OF VIRUS-FREE CULTURE BY CHEMOTHERAPY *IN VITRO***



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN PEST MANAGEMENT TECHNOLOGY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF THCHNOLOGY LADKRABANG**

2003

ISBN 974-324-392-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2003

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้เพื่อใช้ภายในหน่วยงานที่มอบสิทธิการใช้งานนี้ไปและไม่ได้มีไว้ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายไม้ประดับสกุล <i>Spathiphyllum</i> spp. และการผลิตพืชปลอดโรคโดยใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
นักศึกษา	นางสาวเชาวนาถ พฤทธิเทพ
รหัสประจำตัว	42066307
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
พ.ศ.	2546
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.นวลพรรณ นามยี่สุน

บทคัดย่อ

การสำรวจเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายไม้ประดับสกุล *Spathiphyllum* spp. โดยการสำรวจอาการของโรคไวรัสและอาการคล้ายโรคไวรัส จากแหล่งที่มีการขยายพันธุ์พืชและแหล่งที่มีการซื้อขายพันธุ์พืชทั่วไปในเขตกรุงเทพมหานคร ในเดือนมิถุนายน เดือนสิงหาคม และเดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2543 ซึ่งมีอุณหภูมิแต่ละช่วงแตกต่างกัน พบว่าเดหลีใบมัน (*Spathiphyllum wallisii*) และเดหลีใบกล้วย (*Spathiphyllum cannaefolium*) แสดงอาการใบด่างชัดเจนบนใบอ่อน และพบว่าความรุนแรงของอาการจะขึ้นอยู่กัอุณหภูมิ โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น พืชแสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสลดลง จากการตรวจสอบใบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนโดยวิธี Leaf Dip พบว่าในเดหลีใบกล้วยตรวจพบอนุภาคของเชื้อไวรัสมีลักษณะยาวคดงอ ความยาว 650-700 นาโนเมตร และพบอนุภาคทรงกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 28 นาโนเมตร และเมื่อทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสด้วยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) โดยใช้ antiserum ของเชื้อ Dasheen Mosaic Virus (DMV) และ Cucumber Mosaic Virus (CMV) พบว่าเชื้อทั้ง 2 ชนิดเข้าทำลายร่วมกัน โดยพบว่าในเดหลีใบมันมีปริมาณของเชื้อ DMV ปานกลางในเดือนมิถุนายนและสิงหาคม และมีปริมาณสูงในเดือนธันวาคม ส่วนเชื้อ CMV พบว่ามีปริมาณต่ำในเดือนมิถุนายน และจะเพิ่มมากขึ้นในเดือนสิงหาคมและธันวาคม ในเดหลีใบกล้วย พบว่ามีปริมาณของเชื้อ DMV ปานกลางในเดือนมิถุนายนและสิงหาคม และมีปริมาณสูงในเดือนธันวาคม ส่วนเชื้อ CMV พบว่ามีปริมาณต่ำในเดือนมิถุนายน และจะเพิ่มมากขึ้นในเดือนสิงหาคมและธันวาคม การศึกษาพืชอาศัยโดยการปลูกเชื้อด้วยน้ำคั้นลงบนพืชทดสอบ 12 ชนิด ใน 5 วงศ์ ได้แก่ Chenopodiaceae, Leguminosae, Cucurbitaceae, Amaranthaceae และ Solanaceae ปรากฏว่าไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสบนพืชทดสอบทั้ง 5 วงศ์ ส่วนการเพิ่มปริมาณเดหลีใบมันโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากส่วนตากล้าต้นใต้ดินมาทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

70 % นาน 1 นาที ตามด้วย Clorox 30 % ผสม Tween 2 หยด นาน 30 นาที และ Clorox 20 % ผสม Tween 2 หยด นาน 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งมาเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที จากนั้นนำไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 mg/l พบว่ามีต้นที่เกิดแคลลัสเป็นจำนวน 16 % ของต้นที่เลี้ยงทั้งหมด การศึกษาการย้ายปลูกต้นเดหลีใบมันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกนอกสภาพปลอดเชื้อในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design มี 5 ซ้ำ 9 วิธีการ หลังการย้ายปลูกเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า วัสดุปลูกทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายสูงสุด วัสดุปลูกทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ให้จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นมากที่สุด และวัสดุปลูกดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุปลูกชนิดอื่น ให้ขนาดใบและความสูงของต้นเฉลี่ยสูงที่สุด ส่วนการผลิตเดหลีใบมันให้ปลอดเชื้อไวรัส โดยการใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ โดยการเลี้ยงต้นพืชในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ คือ 1-Adamantanamine hydrochloride, 6-Azauracil และ 2-Thiouracil ที่ความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 mg/l เป็นเวลา 1 เดือน แล้วทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสโดยวิธี ELISA ไม่พบต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส และเมื่อเลี้ยงพืชเป็นเวลา 2 เดือน โดยใช้สารเคมี 1-Adamantanamine hydrochloride และ 6-Azauracil ที่ความเข้มข้น 100 และ 125 mg/l และสารเคมี 2-Thiouracil ที่ความเข้มข้น 50 mg/l พบว่าได้ต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส 10 % จากต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil ความเข้มข้น 50 mg/l และเมื่อย้ายต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสไปเลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่ผสมสารเคมีเป็นเวลา 3 เดือน ตรวจพบเชื้อไวรัสในปริมาณต่ำมาก

Thesis Title	Study of Virus Infecting <i>Spathiphyllum</i> spp. and Production of Virus-Free Culture by Chemotherapy <i>In Vitro</i> .
Student	Miss Chaowanard Pruittitthep
Student ID.	42066307
Degree	Master of Science
Programme	Pest Management Technology
Year	2003
Thesis Advisor	Asst.Prof.Dr. Nualphan Ngamyeesoon

ABSTRACT

A survey of virus and virus-like symptom on *Spathiphyllum* spp. was performed in nurseries and pot-plants markets around Bangkok in June, August and December 2000. Both *Spathiphyllum wallisii* and *S. cannaefolium* showed mosaic symptom. Symptoms on both showed clearly on young leaves. During observing periods, the severity of those symptoms was influenced by temperature, moderate symptoms appeared at high temperature whereas, severe symptoms occurred in low temperature. Detection of virus particles in electron microscope by Leaf-Dip Method using infected crude sap of both species was demonstrated. Two types of particles, one was flexuous rod about 750 nm in length and the other was isometric about 28 nm in diameter, were found only in crude extract from *S. cannaefolium*. However, viruses infected *S. wallisii* and *S. cannaefolium* were identified as DMV and CMV by ELISA. Moreover, the concentration of both viruses in each plant was studied by ELISA during time interval. In *S. wallisii*, concentration of DMV was high in December and moderate in June and August while, low concentration of CMV was detected in June. Then the virus increased in August and December. In *S. cannaefolium*, DMV showed moderate in June, August and higher concentration in December. Whereas, CMV was found in high concentration in August and December and dropped in June. Host range was tested by mechanical sap transmission in 12 species from 5 plant families, which were Chenopodiaceae, Leguminosae, Cucurbitaceae, Amaranthaceae and Solanaceae. None of the tested plants developed symptoms after inoculation by infected plant sap. The establishment of *S. wallisii* in tissue culture was applied using axillary buds of rhizome. Surface

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

sterilization of explants was done by immersing them in 70 % ethanol for 1 min., then shaking in 30 % Clorox solution with 2 drops of Tween 20 for 30 min., followed by shaking in 20 % Clorox solution with 2 drops of Tween 20 for 30 min., before being washed 3 times in sterile water. Murashige and Skoog medium supplemented with 2 mg/l 6-benzylamino purine (BA) was successfully used to culture axillary buds for shoot multiplication. A study of transplanting and effect of medium on growth of *S. wallisii* was investigated using randomized completely block design with 9 treatments and 5 replications. After 12 weeks of transplanting, the result showed that sand : sawdust with 1:1 ratio was the best for plant survival, sand : soil with 1:1 ratio was the best for the average of leaf number per plant and only soil was the best for the average of leaf size and plant height. Production of DMV-free culture of *S. wallisii* by chemotherapy *in vitro* was demonstrated. Shoots were cultured on MS medium supplemented with either 1-Adamantanamine hydrochloride, 6-Azauracil or 2-Thiouracil at concentration of 0, 25, 50, 75 and 100 mg/l. No virus free plants were detected by ELISA after 1 month. The experiments were carried out for 2 months on MS medium with either 1-Adamantanamine hydrochloride, 6-Azauracil at concentration of 100 and 125 mg/l or 2-Thiouracil at 50 mg/l. The result showed 10 % virus free culture on MS medium with 2-Thiouracil at concentration of 50 mg/l. However, DMV was detected with very low concentration on those virus free plants, cultured on MS medium without antiviral supplemented after 3 months.

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี โดยได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร. นवलพรรณ งามยี่สุน อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และคำแนะนำต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุเม อรัญนารต ที่กรุณาให้คำแนะนำและให้ใช้ห้องปฏิบัติการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ และสถานที่ในการทำวิทยานิพนธ์

และสุดท้ายกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ได้ให้การสนับสนุนในด้านการศึกษา รวมถึง พี่สาวและน้องสาวที่คอยเป็นกำลังใจเสมอมา ตลอดจนขอขอบคุณเพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่มีส่วนเกี่ยวข้องให้การช่วยเหลือ จนการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลงได้

เชาวนาถ พงษ์ทิเทพ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	X
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน.....	15
3.1 พื้นที่ใช้ในการทดลอง.....	15
3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	15
3.3 อุปกรณ์สำหรับการบันทึกผล.....	19
3.4 วิธีการดำเนินงาน.....	19
3.5 สถานที่ทำการทดลอง.....	28
3.6 ระยะเวลาดำเนินงาน.....	28
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	29
4.1 การศึกษาอาการของโรค.....	29
4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไวรัส โดยการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน.....	35
4.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) แบบ indirect ELISA.....	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4 การศึกษาพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ โดยการปลูกเชื้อ.....	49
4.5 การเพิ่มปริมาณเชื้อใบมันโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.....	49
4.6 การย้ายปลูกเชื้อใบมันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ออกนอกสภาพปลอดเชื้อ.....	56
4.7 การผลิตเชื้อใบมันให้ปลอดเชื้อไวรัสโดยการให้สารเคมี ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ.....	70
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	85
บรรณานุกรม.....	96
ภาคผนวก.....	101
ภาคผนวก ก.....	102
ภาคผนวก ข.....	107
ประวัติผู้เขียน.....	118

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 แสดงรายชื่อพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ ที่ให้ทดสอบ และเวลาเมื่อให้ทดลอง.....	22
4.1 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจสอบได้จากเดหลีใบมันและเดหลีใบกล้วย ในแต่ละเดือนโดยวิธี ELISA.....	47
4.2 แสดงผลของการพอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนลำต้นใต้ดินของเดหลีใบมัน เมื่อขึ้นส่วนตาอายุ 2 สัปดาห์.....	49
4.3 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS และอาหาร MS ที่เติมฮอริโมน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	56
4.4 แสดงผลเปอร์เซ็นต์การรอดตายของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์ ในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ.....	60
4.5 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก.....	63
4.6 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยขนาดใบของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์.....	64
4.7 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยความสูงของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก.....	66
4.8 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยจำนวนยอดของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์.....	68
4.9 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยจำนวนรากของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์.....	69
4.10 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยความยาวรากของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์.....	70
4.11 แสดงระดับการเกิดปฏิกิริยาจากการตรวจสอบปริมาณ ของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA จากต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน.....	77
4.12 แสดงจำนวนระดับการเกิดปฏิกิริยาจากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส ด้วยเทคนิค ELISA จากต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมี ชนิดต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน.....	81

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข 1 การวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS และอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน.....	108
ข 2 การวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS และอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน.....	108
ข 3 การวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS และอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน.....	109
ข 4 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 2 สัปดาห์.....	109
ข 5 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 4 สัปดาห์.....	110
ข 6 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 6 สัปดาห์.....	110
ข 7 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 8 สัปดาห์.....	111
ข 8 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 10 สัปดาห์.....	111
ข 9 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์.....	112
ข 10 การวิเคราะห์ทางสถิติขนาดใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์.....	112
ข 11 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 2 สัปดาห์.....	113
ข 12 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 4 สัปดาห์.....	113
ข 13 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 6 สัปดาห์.....	114
ข 14 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 8 สัปดาห์.....	114
ข 15 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 10 สัปดาห์.....	115
ข 16 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์.....	115
ข 17 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนยอดของต้นเดหลีใบมันหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์.....	116
ข 18 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนรากของต้นเดหลีใบมันหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์.....	116
ข 19 การวิเคราะห์ทางสถิติความยาวรากของต้นเดหลีใบมันหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์....	117

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
4.1 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรคไวรัสบนพืชสกุล <i>Spathiphyllum</i> spp. ในสภาพที่มีแสงร่มรำไรและมีความชื้นสูง.....	30
4.2 แสดงพัฒนาการของอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสบนใบเดหลีใบมัน.....	31
4.3 แสดงพัฒนาการของอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสบนใบเดหลีใบกล้วย.....	32
4.4 แสดงลักษณะความรุนแรงของอาการที่แสดงออกบนใบอ่อนของเดหลีใบมัน เปรียบเทียบในช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ กัน.....	33
4.5 แสดงลักษณะความรุนแรงของอาการที่แสดงออกบนใบอ่อนของเดหลีใบกล้วย เปรียบเทียบในช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ กัน.....	34
4.6 แสดงลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสจากน้ำคั้นใบเดหลีใบกล้วย ลักษณะยาวคดงอ (flexuous rod) ความยาว 700 นาโนเมตร โดยวิธี Leaf dip กำลังขยาย 48,000 เท่า.....	36
4.7 แสดงลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสจากน้ำคั้นใบเดหลีใบกล้วย ลักษณะอนุภาคทรงกลม (isometric) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 28 นาโนเมตร โดยวิธี Leaf dip กำลังขยาย 48,000 เท่า.....	36
4.8 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนมิถุนายน ใน plate ที่ 1 โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีใบมันที่แสดงอาการของโรคชัดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และ 1:50 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA.....	38
4.9 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนมิถุนายน ใน plate ที่ 2 โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีใบมันที่แสดงอาการของโรคชัดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และ 1:50 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA.....	39
4.10 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนสิงหาคม โดยใช้ ตัวอย่างใบของเดหลีใบมันที่แสดงอาการของโรคชัดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA.....	40

เอกสารนี้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการดำเนินการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.11 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนธันวาคม โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีใบมันที่แสดงอาการของโรคขีดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA.....	41
4.12 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนมิถุนายน ใน plate ที่ 1 โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีใบกล้วยที่แสดงอาการของโรคขีดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และ 1:50 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA.....	42
4.13 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนมิถุนายน ใน plate ที่ 2 โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีใบกล้วยที่แสดงอาการของโรคขีดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และ 1:50 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA.....	43
4.14 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนสิงหาคม โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีใบกล้วยที่แสดงอาการของโรคขีดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA.....	45
4.15 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนธันวาคม โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีใบกล้วยที่แสดงอาการของโรคขีดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA.....	46
4.16 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยปริมาณของเชื้อไวรัสที่ตรวจสอบได้จากเดหลีใบมันและเดหลีใบกล้วยในแต่ละเดือนโดยวิธี ELISA จากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำคั้นพืช ที่มี dilution 3 ระดับ คือ 1:10, 1:100 และ 1,000 กับ DMV antiserum ที่มี dilution เป็น 1:10 และ CMV antiserum ที่มี dilution เป็น 1:200.....	48
4.17 แสดงลักษณะตาจากลำต้นใต้ดินของเดหลีใบมันที่นำมาทำการ	

เอกสารนี้เผยแพร่เพื่อประโยชน์ของสาธารณชนโดยไม่คิดมูลค่าและไม่ควรนำเอกสารนี้ไปใช้ประโยชน์อื่นใด

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.18 แสดงการเจริญเติบโตของส่วนตาจากลำต้นใต้ดินของเดหลีใบมันที่เลี้ยง ในอาหารสูตร MS โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลาต่าง ๆ กัน.....	52
4.19 แสดงการเจริญเติบโตของส่วนตาจากลำต้นใต้ดินของเดหลีใบมัน ที่พบว่าไม่เกิด เป็นแคลลัส โดยทำการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลาต่าง ๆ กัน.....	54
4.20 แสดงการเจริญเติบโตของส่วนตาจากลำต้นใต้ดินของเดหลีใบมัน ที่พบว่าเกิด แคลลัส โดยทำการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลาต่าง ๆ กัน.....	55
4.21 แสดงต้นเดหลีหลังการย้ายปลูกลงสภาพปลอดเชื้อ 12 สัปดาห์ โดยปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ.....	57
4.22 แสดงลักษณะใบของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูกลงสภาพปลอดเชื้อ 12 สัปดาห์ โดยปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ.....	58
4.23 แสดงลักษณะต้นและรากของต้นเดหลีหลังจากย้ายออกปลูกลงสภาพปลอดเชื้อ 12 สัปดาห์ โดยปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ.....	59
4.24 แสดงลักษณะของต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี 1-Adamantanamine hydrochloride ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 เดือน.....	72
4.25 แสดงลักษณะของต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี 6-Azauracil ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 เดือน.....	74
4.26 แสดงลักษณะของต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 เดือน.....	76
4.27 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดจากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสด้วย เทคนิค ELISA จากพืชทดลองที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน.....	78
4.28 แสดงลักษณะของต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี ชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน.....	80

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.29 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดจากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA จากพืชทดลองที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน.....	82
4.30 แสดงลักษณะอาการของต้นแคสโลไบมันตันที่ 1 ที่พบว่าปลอดเชื้อไวรัสจากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil เข้มข้น 50 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS อีกเป็นเวลา 3 เดือน.....	83
4.31 แสดงลักษณะอาการของต้นแคสโลไบมันตันที่ 2 ที่พบว่าปลอดเชื้อไวรัสจากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil เข้มข้น 50 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS อีกเป็นเวลา 3 เดือน.....	83
4.32 แสดงการเปรียบเทียบปฏิกิริยาที่เกิดจากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA จากพืชทดลองหลังจากที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil ความเข้มข้น 50 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน และภายหลังจากที่ย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS อีกเป็นเวลา 3 เดือน แล้วนำมาตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสอีกครั้ง.....	84

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

เดหลีเป็นไม้ประดับชนิดหนึ่ง มีชื่อสามัญว่า Peace lily ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Spathiphyllum* spp. อยู่ในวงศ์ Araceae มีถิ่นกำเนิดในประเทศโคลัมเบียและเวเนซุเอลา เดหลีเป็นไม้ประดับชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกอย่างมาก สามารถนำมาใช้ประดับและตกแต่งอาคารบ้านเรือน อาคารสำนักงาน สถานที่ต่าง ๆ เนื่องจากมีดอกหอมสวยงาม ใบมีสีเขียวเข้มเป็นมัน ดอกเป็นช่อสีขาว หรือขาวแกมเหลือง กาบหุ้มช่อดอกมีสีขาวเด่นสะดุดตา ดูสวยงาม ปลูกเลี้ยงและดูแลรักษาง่าย ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี พืชชนิดนี้มีหลายสายพันธุ์ แต่ที่นิยมได้แก่ เดหลีใบมัน (*Spathiphyllum wallisii*) และเดหลีใบกล้วย (*Spathiphyllum cannaefolium*) ปัจจุบันการปลูกเดหลีได้ขยายตัวไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งนอกจากจะปลูกเพื่อใช้ประดับตกแต่งภายในอาคารแล้ว ยังนิยมปลูกประดับเพื่อจัดสวน โดยนิยมปลูกเป็นแปลงหรือปลูกเป็นกลุ่มเพื่อใช้คลุมดินในที่ร่มเงา หรือมีแสงน้อย ซึ่งเดหลีสามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วโดยวิธีแยกหน่อ หรือขุดแยกส่วนของเหง้าได้ดินไปชำ (ชมรมพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ, 2536 ; ปิยะ เฉลิมกลิ่น, 2540) ทำให้ประสบปัญหาที่เกิดจากโรคไวรัสที่ติดมากับท่อนพันธุ์ ลักษณะอาการของต้นที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะมีการเจริญของต้นและใบที่ผิดปกติ เช่น ต้นแคระแกรน ก้านดอกสั้น ต้นเจริญเติบโตช้า ทอดไหม้ ใบหงิกงอ บิดเบี้ยว และยังก่อให้เกิดอาการต่างบนใบ โดยมีลักษณะใบด่างสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวเข้ม อาการต่างจะเป็นแถบขนานไปตามเส้นใบ (รัตนวิทย์ประสาธ, 2537) และบางครั้งอาการที่แสดงออกมีลักษณะคล้ายกับอาการผิดปกติที่เกิดจากการขาดธาตุอาหาร หรืออยู่ในสภาวะที่ไม่มีความเหมาะสมทางกายภาพ หรือเกิดจากการกลายพันธุ์ของพืช ดังนั้นจึงเป็นการยากในการวินิจฉัยโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสโดยวิธีสังเกตจากอาการที่แสดงออกเพียงอย่างเดียว จึงยากที่จะควบคุมการแพร่กระจายของโรคได้ ฉะนั้นการตรวจสอบและวินิจฉัยอาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง เพื่อคัดเลือกลำต้นให้ปลอดจากเชื้อไวรัสปrior นำไปขยายพันธุ์ ซึ่งเป็นแนวทางการป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของโรคที่ดีวิธีหนึ่ง นอกจากนี้การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อร่วมกับการใช้สารเคมียังเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถผลิตพืชปลอดโรคได้ปริมาณมากในระยะเวลาที่รวดเร็วขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายพืชในสกุล *Spathiphyllum* spp.
2. เพื่อศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเดหลีใบมัน
3. เพื่อศึกษาผลของวัสดุปลูกที่มีต่อการย้ายปลูกเดหลีใบมันนอกสภาพปลอดเชื้อ
4. เพื่อทำการผลิตเดหลีใบมันให้ปลอดโรคไวรัสโดยใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบชนิดของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายพืชในสกุล *Spathiphyllum* spp.
2. สามารถเพิ่มปริมาณเดหลีใบมันโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
3. ทราบวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการย้ายปลูกเดหลีใบมันนอกสภาพปลอดเชื้อ
4. ทราบปริมาณความเข้มข้นของสาร 1-Adamantanamine hydrochloride, สาร 6-Azauracil และสาร 2-Thiouracil ที่เหมาะสมต่อการยับยั้งเชื้อไวรัส
5. สามารถผลิตเดหลีใบมันให้ปลอดโรคไวรัสโดยใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการผลิตต้นพันธุ์ที่ปลอดโรคเพื่อใช้ขยายพันธุ์ต่อไป

บทที่ 2

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เดหลีเป็นไม้ประดับชนิดหนึ่ง มีชื่อสามัญว่า Peace lily ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Spathiphyllum* spp. อยู่ในวงศ์ Araceae มีถิ่นกำเนิดในประเทศโคลัมเบียและเวเนซุเอลา ลักษณะโดยทั่วไป เป็นไม้พุ่มเตี้ย สูงประมาณ 30 – 50 เซนติเมตร มีลำต้นเป็นเหง้าอยู่ใต้ดินแล้วแตกหน่อขึ้นมาเป็นกอ ใบเป็นใบเดี่ยว กว้าง 10 – 15 เซนติเมตร ยาว 20 – 30 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ใบมีสีเขียวเข้มเป็นมัน ก้านใบยาว 20 – 30 เซนติเมตร จุดเด่นของดอกคือ มีจานดอกสีขาว เวลาออกดอกจะแทงก้านขึ้นมา ยาว 20 - 30 เซนติเมตร มีใบประดับที่เรียกว่า จานดอก มีอันเดียวเป็นสีขาว มีลักษณะเป็นกาบหรือจานรูปหัวใจ ปลายแหลม กว้าง 8 - 12 เซนติเมตร ยาว 12 - 20 เซนติเมตร ช่อดอกหรือปลีเป็นสีขาวหรือขาวแกมเหลืองมีลักษณะทรงกระบอก มีดอกเล็ก ๆ เรียงติดกันอยู่มีกลิ่นหอม ซึ่งจะบานและส่งกลิ่นล่อแมลงได้มากที่สุดในช่วงเช้า พืชชนิดนี้มีอยู่ด้วยกันหลายสายพันธุ์ที่มีดอกดกและออกดอกตลอดปี แต่ที่นิยมนำมาประดับตกแต่งภายในอาคารและสถานที่ต่าง ๆ ได้แก่ เดหลีใบมัน (*Spathiphyllum wallisii*) มีขนาดและทรงพุ่มเล็กกว่าทุกพันธุ์ และเดหลีใบกล้วย (*Spathiphyllum cannaefolium*) สายพันธุ์นี้ลักษณะของใบคล้ายกับใบกล้วย แต่เล็กกว่ามาก มีดอกที่สมบูรณ์และอายุการออกดอกนาน การขยายพันธุ์และปลูกเลี้ยง โดยชุดแยกส่วนของเหง้าใต้ดินแล้วนำไปชำ การปลูกลงแปลงควรเตรียมดินให้ร่วนซุย คลุกเคล้าปุ๋ยคอกให้เหมาะสม ใช้ระยะปลูกระหว่างต้นและระหว่างแถว 30 เซนติเมตร พืชชนิดนี้ต้องการแสงน้อยถึงปานกลางหรือโรงเรือนที่มีการพร่างแสง ในฤดูหนาวการเจริญเติบโตจะช้าลงและต้องการความชื้นสูง ควรให้ปุ๋ยสูตรเสมอ เช่น 10-10-10 ละลายน้ำรดทุก 2 สัปดาห์ หรือใช้ปุ๋ยเม็ดสูตร 15-15-15 อัตรา 1 ช้อนชา ใส่รอบโคนแล้วพรวนดินกลบทุก 1 เดือน เครื่องปลูกควรจ้ะร่วนซุยระบายน้ำได้ดีมีส่วนประกอบของอินทรีย์วัตถุ เช่น ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมัก ถ้าปลูกลงกระถางควรเปลี่ยนเครื่องปลูกทุก 6 เดือน หรืออย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง ตามธรรมชาติแล้วเดหลีชอบขึ้นอยู่ตามริมลำธารที่มีร่มเงาในป่าฝนเขตร้อน แต่เมื่อนำเข้ามาปลูกเป็นไม้ประดับภายในห้องหรือภายในอาคารสถานที่ เดหลีก็สามารถปรับตัวอยู่ได้แม้จะมีความชื้นต่ำและรับแสงจากหลอดไฟฟ้าได้นานตราบเท่าที่ดินยังมีความชื้นอยู่ การนำเดหลีมาปลูกประดับหรือจัดสวนนิยมปลูกเป็นแปลง หรือปลูกเป็นกลุ่มเพื่อใช้คลุมดินในที่ร่มเงาหรือมีแสงน้อย ซึ่งจะช่วยให้มีก้านใบยาว มีใบสีเขียวเข้มเป็นมันและมีจานดอกสีขาวเด่นสะดุดตา การปลูกในกระถางแล้วใช้ประดับตามมุมต่าง ๆ ก็นิยมกันมาก การปลูกลงแปลงหรือมีแดดจัด พบว่าใบจะมีสีเหลืองมากขึ้นและมีโอกาสเกิดใบตายหนึ่งได้ง่าย (ชมรมพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ. 2536 ; ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2540) โรคที่พบได้แก่ โรคแอนแทรกโนสและโรคที่เกิดจาก

เชื้อไวรัส ซึ่งโรคไวรัสได้ก่อให้เกิดปัญหาอย่างมากในการป้องกันกำจัด เนื่องจากไม่มีวิธีการรักษา และการขยายพันธุ์ของเชื้อโดยการแยกหน่อ ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคอย่างรวดเร็ว รัตนาวิทยะประสาธ (2537) รายงานว่าเชื้อที่เป็นโรคไวรัสจะมีอาการใบด่างสีเขียวย่นสลบสีเขียวย่น อาการต่างจะเป็นแถบขนานไปตามเส้นใบ ใบมีขนาดเล็กลงกว่าปกติ ต้นแคระแกรน ก้านดอกสั้น ต้นเจริญเติบโตช้า ทนุทโทรม ใบหงิกงอ บิดเบี้ยวและอัตราการเจริญเติบโตช้า และบางครั้งอาการที่แสดงออกมีลักษณะคล้ายกับอาการผิดปกติที่เกิดจากการขาดธาตุอาหาร หรืออยู่ในสภาวะที่ไม่มีความเหมาะสมทางกายภาพ หรือเกิดจากการกลายพันธุ์ของพืช ดังนั้นจึงเป็นการยากในการวินิจฉัยโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสโดยวิธีสังเกตจากอาการที่แสดงออกเพียงอย่างเดียว จึงจำเป็นต้องใช้วิธีในการตรวจสอบและวินิจฉัยโรคที่มีความแม่นยำในการตรวจ เพื่อคัดเลือกลำต้นให้ปลอดจากเชื้อไวรัสก่อนนำไปขยายพันธุ์ทำให้สามารถควบคุมเชื้อไวรัสไม่ให้แพร่ระบาดออกไปได้ มีรายงานลักษณะและการเข้าทำลายของเชื้อ Dasheen Mosaic Virus ในพืชวงศ์ Araceae ดังนี้

Bos (1970) ทำการศึกษาค้นสมมติของน้ำคั้นจากใบ *Philodendron selloum* ที่ถูกเชื้อ DMV เข้าทำลาย พบว่า จุดที่เชื้อในน้ำคั้นเจือจางที่สุดที่ยังสามารถหิวจำนวนได้ในพืช (dilution end point) อยู่ระหว่าง 10^{-2} และ 10^{-3} ส่วนอุณหภูมิที่เชื้อไวรัสหมดสภาพการเป็นเชื้อก่อโรค (thermal inactivation point) อยู่ระหว่าง 60°C – 65°C และเชื้อไวรัสนี้สามารถคงสภาพการก่อโรคในอุณหภูมิห้อง (longevity in vitro) ได้นาน 75 ชั่วโมง

Zettler et al. (1970) รายงานว่า เชื้อ DMV มีความยาวอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 750 นาโนเมตร สามารถถ่ายทอดทางเพลี้ยอ่อนด้วยวิธี stylet – borne และสามารถก่อให้เกิดผลึก cylindrical inclusion ซึ่งคุณสมบัติของเชื้อ DMV จะคล้ายคลึงกับ potyvirus อื่น ๆ

Zettler et al. (1978) รายงานว่า อาการที่เกิดจากเชื้อ DMV จะแตกต่างกันอย่างมากตามชนิดของพืชที่ติดเชื้อและฤดูที่ปลูก อาการที่เชื้อ DMV แสดงออกจะเป็นไปตามฤดูกาล และอาการส่วนใหญ่จะปรากฏบนใบที่ปลูกในเดือนที่เป็นฤดูใบไม้ร่วง หรือฤดูใบไม้ผลิ

Chase and Zettler (1982) ได้ทำการศึกษอาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ DMV ใน *Dieffenbachia* spp. จำนวน 14 พันธุ์ พบว่าพืชจำนวน 9 พันธุ์แสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสจากการสำรวจพืชที่ปลูกในเรือนเพาะชำ 20 แห่ง พบว่า *Dieffenbachia maculata* "Perfection" แสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสชัดเจน ในขณะที่ *D. maculata* "Menoria-Corsii" และ *D. maculata* "Bausei" ไม่แสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัส เมื่อทำการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ พบว่า *D. maculata* "Perfection" จะแสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสรุนแรงและรวดเร็ว ส่วน *D. maculata* "Rudolph Rochrs" และ *Dieffenbachia amoena* แสดงอาการที่รุนแรงในระยะแรก ต่อมาอาการที่ปรากฏจะเกิดช้าลงและอาการไม่รุนแรง ส่วน *D. maculata* "Memoria-Corsii" และ *D. maculata* "Bausei" จะปรากฏอาการที่รุนแรงและรวดเร็วจนทำให้พืชตาย และเมื่อทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ่ายทอดเชื้อโดยวิธี cutting โดยใช้ *D. maculata* "Perfection" ที่เป็นโรคเป็นต้น stock พบว่าพืชไม่แสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัส ส่วนการตรวจสอบเชื้อโดยวิธี Immune electron microscopy จากใบพืชที่เป็นโรค พบอนุภาคของเชื้อไวรัส 1 ตัวอย่างจากการตรวจสอบทั้งหมด 6 ตัวอย่าง

Walkey (1985) รายงานว่า เชื้อ DMV อยู่ในกลุ่ม Potyvirus Group ซึ่งเป็นกลุ่มของเชื้อไวรัสที่มีพืชอาศัยแคบ สามารถถ่ายทอดเชื้อโดยผ่านทางแมลงพาหะ คือ เพลี้ยอ่อน การถ่ายทอดเป็นแบบ non – persistent เชื้อไวรัสบางชนิดในกลุ่มนี้สามารถถ่ายทอดเชื้อโดยผ่านทางเมล็ดได้

Chagas et al. (1993) ได้ศึกษาเชื้อ DMV ที่แยกได้จากต้น *Amorphophallus konjac* (*A. rivierni*) ที่แสดงอาการต่างบนใบ ใบมีรูปร่างบิดเบี้ยวและลำต้นใต้ดินมีขนาดเล็ก เชื้อไวรัสถูกจำแนกชนิดโดยใช้พืชอาศัย คุณสมบัติทางสรีรวิทยา และคุณสมบัติทางเซรุ่มวิทยา

Liang et al. (1994) ได้ทำการศึกษาในประเทศไต้หวัน โดยการวินิจฉัยเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายพืชจำนวน 10 species ในวงศ์ Araceae คือ *Anthurium andraeanum*, *Caladium hortulanum*, *Philodendron selloum*, *Zantedeschia Elliottiana*, *Z. aethiopica*, *Aglaonema commutatum*, *Alocasia macrorrhiza*, *Colocasia esculenta*, *Dieffenbachia maculata* และ *D. amoena* ด้วยวิธี Immunolabelling พบว่าเกิดจากเชื้อ DMV

เชื้อ Dasheen Mosaic Virus (DMV) พบครั้งแรกในปี 1970 เป็น Potyvirus เพียงชนิดเดียวที่ถูกค้นพบว่าก่อให้เกิดการติดเชื้อมีพืชในวงศ์ Araceae ได้ (Mathew. 1982) และเป็นไวรัสที่ก่อโรคได้มากและแพร่หลายที่สุดกับพืชในวงศ์นี้ เช่น *Caladium hortulanum*, *Colocasia esculenta*, *Dieffenbachia picta*, *Philodendron selloum*, *Philodendron verrucosum*, *Aglaonema* spp., *Alocasia* spp. รวมทั้ง *Spathiphyllum* spp. (Brunt et al. 1995)

Fawzy et al. (1996) ได้ทำการศึกษาเชื้อไวรัสที่เข้าทำลาย *Dieffenbachia* spp. และ *Aglaonema* spp. ในแปลงปลูก ในประเทศอียิปต์ พบว่าเกิดจากเชื้อ DMV

นอกจากนี้ได้มีรายงานวิจัยลักษณะและการเข้าทำลายของเชื้อ Cucumber Mosaic Virus เช่น

Fawzy et al. (1992) ทำการศึกษา strain ของเชื้อ Cucumber Mosaic Virus (CMV) เชื้อในกลุ่ม Cucumovirus ซึ่งแยกได้จากแปลงปลูกของ *Philodendron selloum* ในเขต Giza Governate ประเทศอียิปต์ เชื้อไวรัสนี้มีพืชอาศัยกว้าง แต่มีเพียง *Chenopodium amaranticolor*, *C. album* และ *C. quinoa* ที่แสดงอาการเป็นแผลเฉพาะแห่ง อุณหภูมิที่เชื้อไวรัสหมดสภาพการเป็นเชื้อก่อโรค (thermal inactivation point) อยู่ระหว่าง 60 °C และ 65 °C และจุดที่เชื้อในน้ำคั้นเจือจางที่สุดที่ยังสามารถหิวจำนวนได้ในพืช (dilution end point) อยู่ระหว่าง 10^{-4} และ 10^{-5} ส่วนระยะเวลาที่เชื้อยังสามารถก่อโรคได้ของ strain ในสภาพปลอดเชื้อคือ 48 – 60 ชั่วโมง เชื้อไวรัสนี้สามารถถ่ายทอดได้โดยทางน้ำคั้น (90 – 100 %), เพลี้ยอ่อน (*Myzus persicae*) ถ่ายทอดเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบ non-persistent (80 %), ถ่ายทอดเชื้อโดยการ cuttings (85 %) และสามารถถ่ายทอดเชื้อโดยผ่านทาง corms (65 %) การตรวจสอบด้วย electron microscope แสดงให้เห็นรูปร่างของเชื้อไวรัสเป็นทรงกลมโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 นาโนเมตร

Bellardi and Bertaccini (1993) ได้ทำการศึกษาลักษณะของเชื้อ CMV และอาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อในพืชพวกไม้ดอกไม้ประดับที่ปลูกในประเทศอิตาลี พบว่าเชื้อ CMV เข้าทำลายพืชในวงศ์ Iridaceae, Compositae และ Ranunculaceae และพบว่าเพลี้ยอ่อนเป็นแมลงพาหะของโรค เพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อไวรัสระบาดจำเป็นจะต้องทำการป้องกันกำจัดแมลงพาหะและพืชป่าที่เป็นแหล่งอาศัยตามธรรมชาติของแมลงพาหะ

Lahoz et al. (1994) ได้ศึกษาการถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดของเชื้อ CMV จำนวน 3 isolates ในต้น *Phaseolus vulgaris* จำนวน 12 สายพันธุ์ และตรวจสอบโดยวิธี ELISA พบว่ามี 11 สายพันธุ์ที่เชื้อไวรัสสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้และปริมาณการติดเชื้อขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของพืชและ isolate ของเชื้อไวรัส การที่พืชไม่แสดงอาการติดเชื้อไวรัสเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของเชื้อในพื้นที่เพาะปลูกพืช

Aquino et al. (1995) ได้ศึกษาการติดเชื้อ CMV ของ *Araujia sericofera* ตามธรรมชาติในประเทศอิตาลี พบว่าเชื้อไวรัส 2 isolates ที่ตรวจพบมีความแตกต่างกัน จากการตรวจสอบโดยใช้ลักษณะทางชีววิทยา และการจำแนกโดยใช้วิธี Double-diffusion test และ Immunosorbent electron microscopy (ISEM) โดยวิธี Decoration และการวิเคราะห์หาจำนวน nucleic acid ของ viral RNAs โดยวิธี electrophoretic ในพืชอาศัยที่ติดเชื้อตามธรรมชาติ ไม่ปรากฏ satellite RNAs นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อไวรัสสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดของ *A. sericofera*

Gillaspie et al. (1998) ได้รายงาน strain ของเชื้อ CMV ซึ่งเป็น seedborne ชักนำให้เกิดอาการที่รุนแรงในถั่วฝักยาวหลายพันธุ์ จากการตรวจสอบในรัฐ Georgia ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี 1994 พบว่า strain นี้เรียกว่า CMV-Csb ซึ่งจะไม่แสดงอาการในยาสูบแต่จะแสดงอาการที่รุนแรงมากในถั่วฝักยาว ทำให้เกิดอาการแฉะแกรนเมื่อเกิดการเข้าทำลายร่วมกันกับเชื้อ blackeye cowpea mosaic potyvirus มากกว่า CMV isolates ซึ่งพบทั่วไป strain ใหม่นี้เป็น seedborne ในถั่วฝักยาว (1.5 – 37 %) ซึ่งไม่มีความสัมพันธ์กับ satellite RNA และจัดเป็นสมาชิกใน subgroup I ของ CMV strains จากการตรวจสอบด้วยวิธี nucleic acid hybridization

การตรวจหาเชื้อไวรัสโรคพืชที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ วิธีการศึกษาลักษณะอาการบนพืช ทดสอบ วิธีการถ่ายทอดโรค การศึกษารูปร่างและอนุภาคของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของเชื้อ และวิธีการทดสอบทางเซรัมวิทยาของเชื้อ โดยเฉพาะวิธีทางเซรัมวิทยาเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการศึกษาเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคพืช เช่น เชื้อไวรัส เชื้อรา แบคทีเรีย และมายโคพลาสมา (Clark and Adams, 1977)

การตรวจสอบเชื้อไวรัสที่นิยมใช้มีหลายวิธี เช่น

- วิธีการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ

ตัวอย่างการตรวจสอบชนิดของเชื้อไวรัสโดยใช้พืชทดสอบ ได้แก่ Cucumber Mosaic Virus (CMV) เชื้อในกลุ่ม Cucumovirus ใช้ Goosefoot (*Chenopodium amaranticolor*), Quinoa (*C. quinoa*), *Vigna unguiculata* ส่วน Dasheen Mosaic Virus (DMV) เชื้อในกลุ่ม potyvirus ใช้ *Philodendron selloum*, *Caladium hortulanum*, *Dieffenbachia* spp., *Philodendron verrucosum* (Brunt et al. 1995) ซึ่งการตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยวิธีการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ มีรายงานวิจัยดังนี้

Tompkins et al. (1934) รายงานว่า การถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยวิธีกล (mechanical transmission) ในกลุ่ม potyvirus ซึ่งมีรูปร่างยาวคดงอคล้ายเส้นด้าย (flexuous rod) อาการของเชื้อไวรัสจะปรากฏในพืชตระกูลบอนส์ที่มีการขยายพันธุ์แบบแยกหน่อ (sprout) เชื้อมีความสัมพันธ์กับพืชในวงศ์ Araceae โดยมีเพลี้ยอ่อน (aphid), เพลี้ยแป้ง (mealy bug), ไรแดง (red spider) และแมลงหวี่ขาว (white fly) เป็นพาหะซึ่งสามารถเข้าทำลายในพืชตระกูลบอนส์และเชื้อไวรัสจะระบาดรุนแรงเมื่อพืชอาศัยมีความอ่อนแอหรือช่วงที่เป็นต้นอ่อน

Debrot and Ordosgoitti (1974) ได้ทำการแยกเชื้อ DMV จากตัวอย่างของ *Colocasia esculenta* และ *Xanthosoma* spp. ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Araceae และได้ทำการปลูกเชื้อโดยใช้น้ำคั้นจากพืชทั้งสองชนิดลงบนต้นกล้าของ *Philodendron selloum* พบว่าพืชแสดงอาการที่เกิดจากเชื้อ DMV และพบว่าเชื้อสามารถถ่ายทอดโดยเพลี้ยอ่อนแบบ non-persistent ลักษณะอนุภาคของเชื้อเป็นแบบ filamentous มีความยาวเฉลี่ย 750 นาโนเมตร และพบว่าไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อกับพืชจำนวน 14 species ซึ่งไม่ใช่พืชอาศัยของเชื้อได้ เชื้อ DMV นี้แพร่ระบาดทำความเสียหายกับพืชในวงศ์ Araceae ในประเทศเวเนซุเอลาอย่างมาก

Rana et al. (1983) ได้ศึกษาเชื้อ DMV ที่แยกได้จากต้น *Richardia africana* ที่ปลูกทางตอนใต้ของประเทศอิตาลี โดยวิธีการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ โดยใช้น้ำคั้นจากใบพืชที่เป็นโรคเปรียบเทียบกับกรใช้น้ำคั้นจากส่วน epidermal ของใบพืช จากผลการทดลองที่ได้พบว่าพืชทดสอบทั้งหมดไม่แสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสเมื่อทำการปลูกเชื้อโดยการใช้น้ำคั้นจากใบพืช ในขณะที่พืชทดสอบ คือ *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *C. ambrosioides*, *Nicotiana benthamiana* และ *Saponaria vaccaria* แสดงอาการที่เกิดจากเชื้อ DMV เมื่อทำการปลูกเชื้อโดยใช้น้ำคั้นจากส่วน epidermal ของใบพืช การที่ไม่สามารถปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบโดยการใช้น้ำคั้นจากใบพืช อาจเนื่องมาจากสาร inhibitor ที่อยู่ในเซลล์พืชที่อยู่ถัดจากชั้น epidermal มีผลทำให้เชื้อไวรัสหมดสภาพ หรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อ

Quintero (1989) รายงานว่า เมื่อทำการ isolate เชื้อไวรัสจากต้น *Xanthosoma sagittifolium* ที่เป็นโรค พบอนุภาคที่มีความยาว 750 นาโนเมตร นอกจากนี้อาการยังปรากฏบน ต้น *X. sagittifolium* และ *Colocasia esculenta* ที่ถูกปลูกเชื้อโดยวิธีกล เมื่อทำการวินิจฉัยเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืช พบว่าเกิดจากเชื้อ DMV

Brunt *et al.* (1995) รายงานว่า เชื้อ DMV สามารถถ่ายทอดโดยแมลงพาหะ คือ *Myzus persicae*, *Aphis craccivora* และ *Aphis gossypii* ในวงศ์ Aphididae การถ่ายทอดเป็นแบบ non - persistent นอกจากนี้ยังสามารถถ่ายทอดโดยการปลูกเชื้อโดยวิธีกล (mechanical inoculation) แต่ไม่สามารถถ่ายทอดโดยการสัมผัสระหว่างพืชหรือถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด

- วิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological methods)

รายงานวิจัยการตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยวิธี ELISA มีดังนี้

Clark and Adams (1977) ได้ทดสอบไวรัสหลายชนิดโดยวิธี ELISA เปรียบเทียบกับวิธีทางเซรุ่มวิทยาอื่น ๆ และสรุปว่าวิธี ELISA สามารถตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความเข้มข้นต่ำถึง 1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งดีกว่าวิธีการอื่น ๆ

Blas *et al.* (1991) ได้ทำการตรวจสอบเชื้อ Cucumber Mosaic Virus (CMV) เชื้อในกลุ่ม Cucumovirus โดยวิธี DAS-ELISA ในพืชสวนและวัชพืชชนิดต่าง ๆ พบเชื้อ CMV เป็นจำนวน 46 % ของตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัสที่นำมาตรวจสอบ โดยทำการเก็บตัวอย่างตั้งแต่ปี 1990 - 1991 ในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศสเปน และพบว่าพืชมักจะมีการติดเชื้อร่วมกันกับกลุ่ม potyviruses

Ertunc (1992) ได้ทำการทดสอบหาเชื้อ CMV ในเมล็ดพืชซึ่งอยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae จำนวน 40 ตัวอย่าง โดยวิธีการ DAS-ELISA และ indirect ELISA พบเชื้อ CMV ใน 9 ตัวอย่าง (แตงไทย 1 ตัวอย่าง แตงกวา 3 ตัวอย่าง พืชตระกูลน้ำเต้า 2 ตัวอย่าง พักทอง 2 ตัวอย่าง และแตงโม 1 ตัวอย่าง) แม้ว่าวิธีการ indirect ELISA จะให้ค่า absorbance values ที่สูง แต่ทั้งสองวิธีการที่นำมาใช้ก็เหมาะสำหรับการตรวจสอบเชื้อ CMV ในพืชตระกูลนี้

Hu *et al.* (1995) ได้ทำการศึกษาเชื้อ DMV โดยการพัฒนาวิธี indirect ELISA เพื่อนำมาใช้ตรวจสอบเชื้อ DMV ในต้น *Colocasia esculenta* โดยการใช้ใบพืชสด 0.01 mg และใช้ DMV-specific polyclonal antiserum หรือ monoclonal broad-spectrum potyvirus antibody ที่มีขายเป็นการค้า และได้ศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อ DMV ในต้นพืช พบว่าเชื้อ DMV มีปริมาณของเชื้อสูงสุดที่ใบและมีปริมาณมากกว่าส่วนก้านใบหรือส่วนหัวใต้ดิน

Chen *et al.* (1996) ได้ทำการตรวจสอบเชื้อ DMV โดยใช้แอนติซีรัมของเชื้อ DMV ในต้น

Pinellia cordata ที่เป็นโรค พบอนุภาคของเชื้อ DMV ที่มีลักษณะยาวคล้ายเส้นด้าย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่จะขึ้นตามการดำเนินการ
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(filamentous) นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองปลูกเชื้อบนพืชจำนวน 12 families พบว่ามีเพียง *Philodendron selloum*, *Pinellia cordata* และ *P. tenata* ที่ติดเชื้อ

Korbin and Kaminska (1998) ได้ทำการตรวจสอบเชื้อไวรัสในพืช 12 ชนิด คือ *Begonia* sp., *Cyclamen persicum*, *Cucumis sativus*, *Cucumis melo*, *Dendranthema* sp., *Impatiens* sp., *Lilium* sp., *Narcissus* sp., *Pelargonium zonale*, *P. grandiflorum*, *Sinningia* sp. และ *Tulipa* spp. โดยใช้ตัวอย่างใบพืชจำนวน 250 ตัวอย่างมาตรวจสอบเพื่อหาเชื้อ CMV และเชื้อไวรัสในกลุ่มเดียวกันโดยวิธี DAS-ELISA และ bioassays พบว่าพืชทั้ง 12 ชนิดที่นำมาทำการตรวจสอบทั้งที่แสดงอาการคล้ายกับเป็นโรคไวรัสและไม่แสดงอาการมีการติดเชื้อเหมือนกัน นอกจากนี้ยังพบว่าพืชบางชนิดมีการติดเชื้อไวรัสรวมกันกับเชื้อไวรัสชนิดอื่น มีจำนวนถึง 90 % ของพืชที่เป็นโรค ความแตกต่างของการตรวจสอบเชื้อ CMV โดยวิธีการ bioassays และวิธี DAS-ELISA ในพืชที่ติดเชื้อ ไวรัสในสภาพธรรมชาติพบว่าทั้งสองวิธีสามารถใช้ตรวจสอบเชื้อ CMV ในพืชที่นำมาตรวจสอบได้ ยกเว้น cyclamen, narcissus, tulip และ lily บางสายพันธุ์ การยืนยันการติดเชื้อไวรัสจะไม่ใช้วิธีการถ่ายทอดโดยวิธีกลซึ่งอาจให้ผลที่ผิดพลาด แต่ยืนยันการติดเชื้อไวรัสโดยวิธี ELISA คุณสมบัติทางฟิสิกส์ อาการของพืชทดสอบและคุณสมบัติทางเคมีวิทยาได้ถูกนำมาใช้ในการวินิจฉัยเชื้อ CMV 5 isolates ที่มีความแตกต่างกัน

ปัจจุบันวิธีการตรวจสอบเชื้อด้วยวิธี ELISA ยังเป็นวิธีการที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง ทั้งในการแพทย์และทางการเกษตรในหลายสาขาวิชา เพราะเป็นที่ยอมรับกันว่าเป็นวิธีการตรวจหาไวรัสที่มีความไวสูง (high sensitivity) สามารถตรวจสอบหาเชื้อไวรัสได้แม้จะมีจำนวนน้อยและสามารถตรวจสอบตัวอย่างเป็นจำนวนมากในแต่ละครั้งได้อย่างรวดเร็ว

การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นการนำส่วนที่มีชีวิตของพืชมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้สภาพแวดล้อมที่สามารถควบคุมได้ทั้งแสง ความชื้น และอุณหภูมิ สามารถสร้างต้นพืชที่ปราศจากโรคได้ (สุรวิษ วรรณโกโรจน์. 2524)

Murashige (1974) ได้เสนอขั้นตอนของการขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นที่ 1 การเตรียมชิ้นส่วนของพืชให้สะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับเนื้อเยื่อผิว แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ให้มีชีวิตรอดและมีการเจริญเติบโตต่อไป

ขั้นที่ 2 การเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อ โดยนำเนื้อเยื่อที่มีการเจริญเติบโตและสะอาดปราศจากจุลินทรีย์ มาทำการขยายปริมาณและกระตุ้นให้มีการเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ โดยการใช้สารเร่งการเจริญเติบโต

ขั้นที่ 3 การเตรียมต้นพืชใหม่ที่สมบูรณ์ให้มีความแข็งแรงแล้วย้ายปลูกลงในสภาวะแวดล้อมภายนอกได้

การใช้ประโยชน์จากสารเคมีเพื่อการผลิตพืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนับวันยิ่งมีความสำคัญมากขึ้นตามลำดับ ในบรรดาสารต่าง ๆ เหล่านี้มีอยู่กลุ่มหนึ่งซึ่งกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมากคือ สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulators) หรือที่รู้จักกันทั่วไปว่าฮอร์โมนพืช มักนิยมใส่ลงในอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย ทำให้มีผลในการเปลี่ยนแปลงกระบวนการต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเติบโตของพืช (ฟิรเดซ ทองอำไพ. 2529) ทำหน้าที่ควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งมีทั้งส่งเสริมและยับยั้งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช กลุ่มของ plant growth regulators ที่มักนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น กลุ่มของ Auxin มีผลทำให้เนื้อเยื่อพืชขยายตัวเพิ่มขึ้น ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ (cell division) ชักนำให้เกิดราก ตัวอย่างฮอร์โมนในกลุ่มนี้ที่นิยมนำมาใช้เช่น IAA, NAA, IBA และ 2,4-D ส่วนกลุ่มของ Cytokinins เช่น Zeatin, Kinetin, BA และ BAP มีผลกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์เมื่ออยู่ร่วมกับ auxin นอกจากนี้ยังยับยั้งการเกิดรากและยับยั้งการแก่ (สุเม อรัญนารท. 2536)

ส่วนในด้านของการนำฮอร์โมนมาใช้ในการเพิ่มปริมาณของ *Spathiphyllum* spp. โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้มีรายงานวิจัยดังนี้

Wand et al. (1995) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Spathiphyllum floribundum* ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าทำให้เกิดแคลลัสและสามารถเพิ่มปริมาณของต้นได้เป็นจำนวนมาก

Werbrouck and Debergh (1995) รายงานว่า ใน *Spathiphyllum floribundum* "Petite" พบว่าการชักนำให้เกิดยอดทำโดยเติม BA และเสริมด้วย imidazole, fungicide และ imazalil ลงในอาหาร ถ้าความเข้มข้นของ imazalil เพิ่มขึ้น จำนวนของยอดที่เกิดขึ้นจะเพิ่มขึ้น เมื่อเติม BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับการเติม imazalil 16 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้พัฒนาเกิดยอดประมาณ 127 ยอดต่อชิ้นส่วนแคลลัส แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA ที่ใช้มากขึ้นพบว่าให้ผลการเกิดยอดไม่แตกต่างกัน และพบว่า Imazalil ไม่มีผลยับยั้งการเกิดรากเหมือนกับ BA เมื่อ imazalil ถูกนำมาใช้โดยไม่มี BA พบว่า จำนวนของรากและความยาวรากทั้งหมดของพืชลดลง แต่ไม่มีการเกิดยอดใหม่

Vargas et al. (1997) ศึกษาผลของการใช้ฮอร์โมนต่อการเจริญของ *Spathiphyllum* spp. ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตร MS ที่เติม benzyladenine (BA) 10 มิลลิกรัม และ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตรจะชักนำการเกิดยอดของแคลลัสพืช และยอดที่เกิดขึ้นจะย้ายลงอาหาร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัม และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อพัฒนาให้เกิดขึ้น

ส่วนการชักนำให้เกิดรากโดยใช้อาหาร MS ที่เติม IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือไม่เติมก็ได้ ดันพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสามารถย้ายปลูกลงดินได้

เมื่อได้ต้นพืชที่สมบูรณ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงทำการย้ายพืชออกปลูนอกสภาพปลอดเชื้อ โดยวัสดุปลูกที่นิยมใช้ในการย้ายกล้า มีดังต่อไปนี้

1. ดิน (soil) ประกอบด้วยอินทรีย์วัตถุและอนินทรีย์วัตถุ ซึ่งชนิดของดินแบ่งออกเป็น ดินเหนียว ดินทราย และดินร่วน ซึ่งดินร่วนนิยมนำมาใช้ในการปลูกพืช โดยเฉพาะไม้กระถาง เพราะมีการระบายน้ำดี การถ่ายเทอากาศก็ดี และยังมีธาตุอาหารอุดมสมบูรณ์ (สนั่น ขำเลิศ. 2522)

2. ทราย (sand) เป็นวัสดุที่นิยมนำมาใช้ในการย้ายปลูก เนื่องจากหาง่าย ราคาไม่แพง และมีความสะอาด ทรายที่ควรนำมาใช้ควรเป็นทรายก่อสร้างที่มีขนาดเม็ดทรายไม่ละเอียด หรือมีขนาดใหญ่เกินไป แต่มีข้อเสียคือ มีน้ำหนักมาก (สมเพียร เกษมทรัพย์. 2522)

3. ชี้เถ้าแกลบ (rice hull) เป็นวัสดุที่ได้มาจากโรงสีข้าว มี pH ประมาณ 7-8.5 เมื่อผ่านการชะล้างจะทำให้ค่า pH ลดลงได้ มีความสามารถในการอุ้มน้ำดี มีความหนาแน่นรวมเมื่อแห้งต่ำ มีความพรุนสูง มีการสลายตัวน้อย น้ำหนักเบา เหมาะสำหรับใช้เป็นวัสดุปลูกที่ดีมากชนิดหนึ่ง ในการนำมาใช้เป็นวัสดุปลูกต้องปล่อยให้ น้ำชะล้างหรือแช่ด้วยกรดอ่อนเพื่อลดค่า pH ก่อนนำไปใช้งาน (อิทธิสุนทร นันทิกจ. 2538)

4. ชุยมะพร้าว (coconut fibers) จะช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของดิน การถ่ายเทอากาศดี น้ำหนักเบา เป็นวัสดุปลูกที่สะอาด มีความยืดหยุ่นดี ไม่อัดแน่นง่าย รากพืชสามารถเจริญได้ดี เพราะมีความสามารถในการระบายน้ำและอากาศในดิน และส่งเสริมการแพร่กระจายของรากเมื่อวัสดุปลูกมีความพรุน ทำให้รากพืชสามารถไซซอนได้ง่ายทำให้รากมีความยาวออกไป รากพืชมีความสำคัญต่อพืชมาก เพราะทำหน้าที่ดูดน้ำและแร่ธาตุอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโตของพืช (สุทธิพร อนันต์สุชาติกุล. 2524)

5. ชี้เลื่อย (sawdust) เป็นวัสดุปลูกที่มีราคาถูกสามารถหาได้ง่าย มีน้ำหนักเบา สามารถเก็บรักษาความชื้นได้ดี นิยมใช้เป็นวัสดุคลุมดิน (สมเพียร เกษมทรัพย์. 2522)

ซึ่งการย้ายปลูกพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกนอกสภาพปลอดเชื้อ ได้มีรายงานวิจัยดังนี้

พัชรภรณ์ ยุกตเวทย์ (2536) ได้ศึกษาการย้ายต้นชิงแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูนอกสภาพปลอดเชื้อในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ พบว่า หลังการย้ายปลูกชิงแดงออกปลูนอกสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 49 วัน พบว่า วัสดุปลูกที่เหมาะสมในการย้ายปลูกชิงแดงในด้านการเพิ่มจำนวนใบ ความสูง และเปอร์เซ็นต์การตายที่ดีที่สุด คือ ทรายผสมชี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1

ธีระศักดิ์ ก้านแก้ว (2541) ได้ศึกษาลักษณะของวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของต้นปิยะเชียนที่ย้ายออกปลูนอกสภาพปลอดเชื้อ พบว่า หลังจากการย้ายปลูก 10 สัปดาห์ วัสดุปลูกดินร่วน

ผสมซี้เก่ากลบ อัตราส่วน 1:1 ให้ผลดีที่สุดในด้าน จำนวนใบ ความสูงต้น จำนวนราก และความยาวราก

อรุณี สมอุดร (2543) ได้ศึกษาผลของวัสดุปลูกต่อการย้ายปลูกต้นเงินไหลมา (*Syngonium podophyllum*) พบว่าวัสดุปลูกซี้เก่ากลบผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 เหมาะสมในการย้ายปลูกมากที่สุดในด้านของจำนวนรากและความสูงต้น

Bhatt and Dhar (2000) ได้ทำการย้ายปลูก strawberry ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ออกปลูกนอกสภาพปลอดเชื้อ พบว่า วัสดุปลูกดินร่วนผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ทำให้พืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายดีที่สุด คือ 70 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าพืชสามารถเจริญเติบโตได้ดี

Zhang et al. (2000) ได้ทำการย้ายปลูก *Gossypium hirsutum* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกนอกสภาพปลอดเชื้อ พบว่าวัสดุปลูกดินร่วนผสมทราย อัตราส่วน 1:1 มีอัตราการเจริญเติบโตดี

นอกจากนี้ได้มีการนำสารเคมียับยั้งเชื้อไวรัสมาใช้ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อผลิตพืชปลอดโรค ดังนี้

ธรรมศักดิ์ สมมาตรย์ (2528) รายงานว่า สาเหตุการยับยั้งเชื้อไวรัสของสารเคมี 2-Thiouracil ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม pyrimidine และ purine เนื่องจากเข้าไปแทนที่ยูราซิล (uracil) ที่เป็นส่วนประกอบของ RNA ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของ genome ซึ่งรวบรวมข้อมูลต่าง ๆ ของพันธุกรรมที่จำเป็นจะต้องใช้สำหรับการทวีจำนวนของเชื้อไวรัส ทำให้เชื้อไวรัสไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารเคมี 2-Thiouracil มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเชื้อ Potato Virus X (PVX) และ Potato Virus Y (PVY) ในมันฝรั่ง นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารเคมี 2-Thiouracil มีบทบาทไปลดการสร้างโปรตีนของอนุภาคเชื้อไวรัส tomato yellow mosaics virus (TYMV) ซึ่งก่อให้เกิดโรคในผักกาดเขียววงดั่ง แต่สารนี้ไม่นิยมใช้ เพราะเป็นพิษกับพืชเมื่อใช้โดยการฉีดสเปรย์บนใบ

วารุณี ลิ้มพงษ์กุล (2536) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส Papaya Ring Spot Virus (PRSV) สาเหตุของอาการต่างบนใบผักทอง โดยใช้สารเคมี 6-Azauracil ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรผสมลงในอาหาร MS ที่นำมาเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวทำให้เกิดความเป็นพิษต่อชิ้นส่วนพืชที่นำมาเลี้ยง

ศิริภา มานะวิบูลย์ (2540) ได้ทำการทดลองเลี้ยงตาทุกลาพันธุ์ Lolita ที่ติดเชื้อไวรัส prunus necrotic ringspot virus (PNRSV) ในอาหาร MS ที่ผสมฮอร์โมน BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ฮอร์โมน IAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารเคมี 1-Adamantanamine hydrochloride ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 75 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าสารเคมีที่ความเข้มข้น

75 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งปริมาณของเชื้อไวรัสได้ดีที่สุด แต่ก็ยังมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง

Mehrotra (1980) กล่าวว่า antiviral สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสโดยจะยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสสู่เซลล์อื่น ๆ ที่อยู่ข้างเคียงและกลุ่มที่ยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรัส ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีสารเคมีใดที่ใช้ในการกำจัดเชื้อไวรัสโดยตรง แต่มีรายงานความสำเร็จในการใช้สารเคมีในการผลิตต้นเบญจมาศให้ปลอดเชื้อ aspermy virus และต้นคาร์เนชั่นให้ปลอดจากอาการต่าง นอกจากนี้ยังมีการนำสาร Amantadine ผสมในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นเบญจมาศและต้น *Caryopteris clandonensis* เพื่อกำจัดเชื้อ strawberry latent ringspot virus และพบว่าการใช้สาร 2-Thiouracil และสาร Aspirin ทำให้ลดความสามารถในการเข้าทำลายของเชื้อ cymbidium mosaic virus (CyMV) เมื่อฉีดสารเคมีเข้าภายในใบของพืชทดสอบก่อนการปลูกเชื้อ แต่การใช้สารพวก antiviral เพื่อผลิตต้นพืชที่ปลอดโรคไวรัสอาจมีปัญหาอันเนื่องมาจากผลของสารเคมีต่อขบวนการ metabolism ของพืชจนอาจเป็นอันตรายกับเนื้อเยื่อของพืชได้ (นวลพรรณ งามยี่สุน. 2539)

Cheplick and Agrios (1983) รายงานว่า สารเคมีสังเคราะห์ ได้แก่ Ribavirin เมื่อฉีดบนต้น apple ที่แสดงอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส apple mosaic virus (ApMV) ในช่วงฤดูใบไม้ผลิ จะช่วยกำจัดอาการของโรคได้

Conrad (1991) ได้ทำการผลิตมันฝรั่งให้ปลอดเชื้อไวรัส Potato virus S โดยการใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการเลี้ยงส่วนของลำต้นมันฝรั่งในอาหารแข็งที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 2 - 12 สัปดาห์ จากนั้นทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสโดยวิธี ELISA จากการทดลองพบว่า สารเคมี 6-Azauracil, 6-Azathymine และ 5-fluorouracil ไม่สามารถกำจัดเชื้อ PVS ได้ ส่วนสาร ribavirin (1-beta-D-ribofuranosyl-1H-1,2,4-triazole-3-carboxamide) สามารถกำจัดเชื้อไวรัสได้ 10 % และพบว่าสาร melamine (2,4,6-triamino-s-triazine) และสาร 2-Thiouracil มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ PVS ทำให้พืชปลอดโรคได้

Huber and Schuster (1992) ได้ทำการศึกษาการต้านทานเชื้อไวรัส PVX ของสารประกอบในกลุ่มพิวรีน (purine) และไพริมิดีน (pyrimidine) โดยทำการปลูกเชื้อลงบนใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) ที่มีเชื้อไวรัส พบว่าเชื้อไวรัสไม่สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ สารประกอบเหล่านี้ เช่น 6-Azauracil, 8-Azadenine, 8-Azaguarine เป็นต้น

Toussaint et al. (1993) รายงานว่าถ้าเพิ่มระยะเวลาในการเลี้ยงชิ้นส่วนให้นานขึ้นก็จะทำให้ได้พืชที่ปลอดเชื้อไวรัสมากขึ้นตามลำดับ โดยการเลี้ยง *Cymbidium* sp. ที่ติดเชื้อ *Odontoglossum Ringspot Virus* ในอาหารเหลวที่ผสมสาร Virazole และทำการเปลี่ยนอาหาร

ใหม่ทุก ๆ 4-6 สัปดาห์ พบว่าจะได้ protocorms ของกล้วยไม้ที่ปลอดเชื้อไวรัสตั้งแต่การเปลี่ยนอาหารในครั้งที่ 3 จากการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA

Kim *et al.* (1996) ได้ทำการศึกษาโดยเลี้ยงส่วนของ shoot-tip ของต้น lily ที่ติดเชื้อ Tulip Breaking Virus, Cucumber Mosaic Virus และ Lily Symptomless Virus ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผสมสาร virazole ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าปริมาณความเข้มข้นของเชื้อไวรัสดังกล่าวมีปริมาณลดลง เมื่อใช้สารเคมีที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นตามลำดับ



บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

3.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง

คือ เดหลีใบมัน (*Spathiphyllum wallisii*) และเดหลีใบกล้วย (*Spathiphyllum cannaefolium*) ที่เป็นโรคไวรัส ซึ่งแสดงอาการใบด่างสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวเข้ม อาการต่างเป็นแถบขนานไปตามเส้นใบ

3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 การตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสโดยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) แบบ indirect ELISA และ direct ELISA

1. polystyrene plate
2. ถูพลาสติกขนาดเล็ก
3. beaker
4. micro pipette, pipette และจุกยาง
5. กระดาษทิชชู หรือ ผ้าสะอาด
6. นาฬิกาสำหรับจับเวลา
7. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง
8. ตูเย็นสำหรับเก็บสารเคมีและเก็บ polystyrene plate ขณะปฏิกิริยา
9. antiserum ของเชื้อ Dasheen Mosaic Virus (DMV) และเชื้อ Cucumber Mosaic Virus (CMV)
10. phosphate buffer saline (PBS) pH 7.0
11. Tween 20
12. coating buffer
13. extraction buffer
14. conjugate buffer
15. p-nitrophenyl phosphate
16. substrate buffer
17. alkaline phosphatase

3.2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไวรัส

1. ตัวอย่างใบของเดหลีใบมัน และเดหลีใบกล้วยที่เป็นโรค
2. กล้อง electron microscopy (EM)
3. แผ่น parafilm
4. กริด (grid) ขนาด 300 mesh ที่เคลือบด้วย Formvar 0.2 % ใน chloroform (w/v) และ carbon ซึ่งทำลายประจุผิวหน้ากริดแล้ว
5. uranyl acetate (UA) 2 %
6. phosphate buffer 0.1 M pH 7.5
7. เครื่องซั่ง ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
8. beaker
9. micro pipette, pipette และจุกยาง
10. โถร่อนขนาดเล็กสำหรับบดตัวอย่าง
11. กระดาษทิชชู หรือ ผ้าสะอาด
12. กระดาษกรอง
13. น้ำกลั่น
14. นาฬิกาสำหรับจับเวลา

3.2.3 การปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อไวรัส

1. เมล็ดพืช ได้แก่ ถั่วเขียว ถั่วแดง ถั่วเหลือง ถั่วแดงหลวง พักทอง แตงกวา บานไม่รู้โรย ลำโพง ยาสูบใบเล็ก ยาสูบใบใหญ่ *Chenopodium amaranticolor* และ *C. quinoa* ดังตารางที่ 3.1
2. ถูพลาสติกสีดำ ขนาด 8 X 16 เซนติเมตร
3. ดินผสม
4. โถร่อนสำหรับบด
5. กระดาษหนังสือพิมพ์
6. pipette ขนาด 10 ml และจุกยาง
7. ป้ายสำหรับบันทึก
8. สารเคมีที่ใช้สำหรับปลูกเชื้อไวรัส คือ phosphate buffer ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.5 และ sodium citrate buffer ความเข้มข้น 0.5 M pH 6.5
9. ผง celite 545

3.2.4 การเพิ่มปริมาณเดหลีใบมันโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- 1.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร Murashige & Skoog (MS)
- 1.2 ฮอร์โมนที่ใช้เติมลงในอาหาร MS คือ BA (6-Benzylamino purine)
ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 1.3 น้ำตาล วัณ และน้ำกลั่น
- 1.4 beaker, flask, cylinder และแท่งแก้วคน
- 1.5 pipette และลูกยาง
- 1.6 pH meter
- 1.7 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง
- 1.8 ขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาดกลาง พร้อมฝาปิด
- 1.9 หม้อ ทัพพี และกรวย
- 1.10 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
- 1.11 ตู้เย็นสำหรับเก็บสารเคมี สารละลายเข้มข้น (stock solution) และ growth regulators

2. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

- 2.1 กรรไกรสำหรับตัด
- 2.2 แปรงสำหรับขัด
- 2.3 beaker ขนาด 1,000 ml
- 2.4 ผ้าขาวบาง
- 2.5 ethanol 70 %
- 2.6 Clorox 50 %, 30 % และ 20 %
- 2.7 น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (Sterile water)
- 2.8 ขวดเปล่าที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ
- 2.9 นาฬิกา สำหรับจับเวลา

3. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- 3.1 ชิ้นส่วนเดหลีใบมันที่ฟอกฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว
- 3.2 อาหารสูตร MS และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3.3 ตู้ย่ายเนื้อเยื่อ (laminar air-flow cabinet)
- 3.4 มีดผ่าตัดพร้อมด้าม และปากคีบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.5 petri dishes
- 3.6 ตะเกียงแอลกอฮอล์ และไม้ขีดไฟ
- 3.7 ethanol 70 % และ 95 %
- 3.8 ผ้าสะอาดที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วสำหรับเช็ดทำความสะอาดตู้ย้ายเนื้อเยื่อ

4. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- 4.1 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ตามปกติคือ 25 °C
- 4.2 ชั้นสำหรับวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- 4.3 เครื่องตั้งเวลาปิดเปิดไฟ มีด:สว่าง = 8:16 ชั่วโมง
- 4.4 หลอดไฟ cool white ความเข้มแสง 3,000-10,000 lux
- 4.5 ผ้าสะอาดและ ethanol 70 % สำหรับเช็ดทำความสะอาดชั้นวางเนื้อเยื่อ

3.2.5 การย้ายปลูกเดหลีใบมันนอกสภาพปลอดเชื้อ

1. ต้นกล้าเดหลีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาดต้นสูง 2.5 – 4 ซม.
2. วัสดุปลูกที่ใช้ในการย้ายต้นกล้า ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที
 - 2.1 ดินผสม
 - 2.2 ทราย
 - 2.3 ขี้เลื่อย
 - 2.4 ขี้เถ้ากลบ
 - 2.5 ขุยมะพร้าว
3. ปากคืบ
4. ยาป้องกันเชื้อรา (Benlate)
5. กระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว
6. ไฮโกรมิเตอร์ (hygrometer)
7. label
8. บัวรดน้ำ

3.2.6 การผลิตเดหลีใบมันให้ปลอดโรคไวรัสโดยการใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ

1. ต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มีความสูงประมาณ 2-3 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อาหารสูตร MS
3. อาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมียับยั้งเชื้อไวรัส คือ 1-Adamantanamine hydrochloride, 6-Azauracil และ 2-Thiouracil ที่ความเข้มข้น 0, 25, 50, 75, 100 และ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร
4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ดังแสดงในข้อ 3.2.4)

3.3 อุปกรณ์สำหรับการบันทึกผล

1. กระดาษ ปากกา และไม้บรรทัด
2. กล้องถ่ายรูป พร้อมฟิล์ม

3.4 วิธีการดำเนินงาน

3.4.1 การศึกษาอาการของโรค

ในการศึกษาอาการของโรคไวรัสและอาการคล้ายโรคไวรัสที่เกิดบนพืชสกุล *Spathiphyllum* spp. โดยสำรวจอาการของพืชตามแหล่งที่มีการขยายพันธุ์พืช และแหล่งที่มีการซื้อขายพันธุ์พืชทั่วไปในเขตกรุงเทพมหานคร นำพืชที่แสดงอาการผิดปกติ ซึ่งอาการคล้ายคลึงกับอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสมาปลูกไว้ในเรือนปลูกพืชทดลอง ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร บัณฑิตแห่งเก็บและวัน เดือน ปี ให้ชัดเจน และคอยสังเกตอาการที่เกิดขึ้นบนต้น เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของพืชและอาการของโรคที่ปรากฏบนพืช จดบันทึกลักษณะที่สังเกตเพื่อจะได้ทราบรายละเอียดและอาการของโรค ในช่วงของการดูแลจะใส่ปุ๋ย สูตร 15-15-15 ทุก ๆ 15 วัน

3.4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไวรัส โดยการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

การตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนโดยวิธี Leaf dip technique โดยการบดตัวอย่างใบพืชที่เป็นโรคในสารละลาย phosphate buffer 0.1 M pH 7.5 ที่แช่เย็น ในอัตราส่วน 1:10 (w/v) แยกตะกอนเศษพืชออกแล้วหยดน้ำคั้นของพืชเป็นโรคที่ต้องการทดสอบลงบนแผ่น parafilm ที่สะอาด นำกริด (grid) ขนาด 300 mesh ที่เคลือบด้วย Formvar 0.2 % ใน chloroform (w/v) และ carbon ซึ่งทำลายประจุผิวหน้ากริดแล้ว วางคว่ำลงบนหยดน้ำคั้นประมาณ 10 นาที หลังจากนั้นล้างกริดด้วย 0.1 M phosphate buffer pH 7.5 ประมาณ 1.5 ml ซับขอบกริดด้วยกระดาษกรองให้แห้งพอนมาด ย้อมสีด้วย 2 % uranyl acetate (UA) ประมาณ 0.3 ml ซับขอบกริดให้แห้ง

อีกครั้งก่อนนำไปตรวจดูด้วยกล้อง electron microscopy (EM) เพื่อตรวจหาอนุภาคของเชื้อไวรัส และศึกษาชนิดของเชื้อสาเหตุโรค

3.4.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)แบบ indirect ELISA

3.4.3.1 การตรวจสอบเชื้อไวรัสในเดหลีใบมัน

ตัวอย่างที่นำมาทำการตรวจสอบ คือ เดหลีใบมันที่แสดงอาการของโรคชัดเจน คือใบมี อาการด่างสีเขียวเข้มสลับสีเขียวอ่อน อาการด่างเป็นแถบขนานไปตามเส้นใบ ทำการตรวจสอบ เชื้อไวรัสแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ ในเดือนมิถุนายน สิงหาคม และธันวาคม ตามลำดับ

3.4.3.2 การตรวจสอบเชื้อไวรัสในเดหลีใบกล้วย

ตัวอย่างที่นำมาทำการตรวจสอบ คือ เดหลีใบกล้วยที่แสดงอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อ ไวรัส โดยใบแสดงอาการด่างเป็นแถบประสีเขียวย่อมน อาการด่างขนานไปตามเส้นใบ ทำการตรวจ สอบเชื้อไวรัสแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ ในเดือนมิถุนายน สิงหาคม และธันวาคม ตามลำดับ

โดยมีวิธีการในการตรวจสอบดังนี้

1. วางแผนการตรวจสอบตัวอย่างลงบนตารางตรวจสอบ โดยทำการตรวจสอบตัวอย่างละ 2 ซ้ำ และมีหลุมเปรียบเทียบ คือ disease control
2. บดตัวอย่างใบพืช (เดหลีใบมันและเดหลีใบกล้วย) ที่แสดงอาการของโรคชัดเจน ในสารละลาย coating buffer ให้น้ำคั้นเข้มข้น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 (W/V) ตามลำดับ โดยบดตัวอย่างพืชในถุงพลาสติกขนาดเล็ก จำนวน 1 ตัวอย่างต่อ 1 ถุง
3. หยดน้ำคั้นตัวอย่างพืชทดสอบที่บดใน coating buffer ลงใน polystyrene plate ปริมาณ 100 μ l ควรระวังการปนเปื้อนหลุมอื่นใน plate
4. นำ plate ใส่ในถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้สนิท เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C ทิ้งไว้ข้ามคืน
5. เมื่อครบกำหนดในการบ่ม plate แล้วทำการล้าง plate ด้วย PBS-Tween 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที โดยสบัด plate แรง ๆ เพื่อให้ น้ำคั้นออกจากหลุม จากนั้นหยด PBS-Tween ลงใน หลุม ควรระวังการปนเปื้อนระหว่างหลุม วาง plate ไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 นาทีเป็นการ ล้างครั้งที่ 1 ทำการล้างเช่นนี้จนครบ 3 ครั้ง เมื่อล้างครบ 3 ครั้ง จึงคว่ำ plate โดยตบแรง ๆ บนกระดาษซับหรือผ้าสะอาด
6. หยด antiserum โดยใช้เซรุ่มของเชื้อ Dasheen Mosaic Virus (DMV) ที่มี titer 1:32 ทำ การเจือจาง conjugate buffer ให้เป็น 1:10 และ 1:50 โดยใช้ DMV antiserum 400 μ l ใน conjugate buffer 4 ml และใช้ DMV antiserum 84 μ l ใน conjugate buffer 4.2 ml ตาม ลำดับ การตรวจสอบโดยใช้เซรุ่มของเชื้อ Cucumber Mosaic Virus (CMV) ที่มี titer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 1:256 โดยทำการเจือจางใน conjugate buffer ให้เป็น 1:200 โดยใช้ CMV antiserum 22 μ l ใน conjugate buffer 4.4 ml หยดสารละลายที่เตรียมได้ลงใน plate หลุมละ 100 μ l จากนั้นนำ plate ไปบ่มในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C ทิ้งไว้ข้ามคืน
7. เมื่อครบกำหนดในการบ่ม plate แล้วทำการล้าง plate ด้วย PBS-Tween 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที (วิธีเดียวกับข้อ 5)
 8. หยด Anti-Goat IgG (goat entiled rabbit) หลุมละ 100 μ l ที่ conjugate ไว้ด้วยเอนไซม์ alkaline phosphatase ที่เจือจางใน conjugate buffer (ความเข้มข้น 1:2,000 โดยเก็บไว้ใช้ต่อเนื่อง 3 ครั้ง) จากนั้นนำ plate ไปบ่มในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C ทิ้งไว้ข้ามคืน
 9. เมื่อครบกำหนดในการบ่ม plate แล้ว ดูด Anti-Goat IgG เก็บเข้าตู้เย็นเพื่อใช้ในครั้งต่อไป ทำการล้าง plate ด้วย PBS-Tween 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที
 10. นำเม็ด p-nitrophenyl phosphate 10 mg ละลายใน substrate buffer 15 ml แล้วหยด substrate ลงใน plate หลุมละ 100 μ l ทำการตรวจผลปฏิกิริยาหลังจากทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมงเพื่อรอให้สีเหลืองของปฏิกิริยาชัดเจนยิ่งขึ้น
 11. สังเกตและบันทึกผลการทดสอบ โดยจัดแบ่งระดับสีของการเกิดปฏิกิริยา ดังนี้

ระดับ 4 = สีเหลืองเข้ม	หมายถึง	มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง
ระดับ 3 = สีเหลือง	หมายถึง	มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง
ระดับ 2 = สีเหลืองอ่อน	หมายถึง	มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ
ระดับ 1 = สีเหลืองอ่อนมาก	หมายถึง	มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก
ระดับ 0 = ไม่เกิดสี	หมายถึง	ไม่พบปริมาณของเชื้อไวรัส

สังเกตปฏิกิริยาในแต่ละหลุมของ polystyrene plate บันทึกผลการทดลองและถ่ายรูปประกอบผลการทดลอง

3.4.4 การศึกษาพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ โดยการถ่ายทอดทางน้ำคั้น

การปลูกพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ ทำโดยนำเมล็ดที่ต้องการทดสอบพืชอาศัยทั้ง 12 ชนิด 5 วงศ์ (ตารางที่ 3.1) ปลูกในถุงพลาสติกสีดำ ซึ่งมีดินอยู่ประมาณ $\frac{3}{4}$ ถุง ใส่เมล็ดพืชถุงละ 3 - 5 เมล็ด เขียนชื่อชนิดของแต่ละพืชและติดลงบนถุงพลาสติก ดูแลรดน้ำจนพืชงอกและเจริญเติบโต จนถึงระยะที่เหมาะสมสำหรับการปลูกเชื้อ จากนั้นทำการปลูกเชื้อลงบนพืชอาศัยโดยนำพืชทดสอบที่เจริญเติบโตถึงระยะที่เหมาะสมสำหรับการปลูกเชื้อ (ตารางที่ 3.1) มาคลุมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้พืชอ่อนแอและง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อ เมื่อครบกำหนดแล้วนำกระดาษที่คลุมออก ล้างมือให้สะอาดก่อนทำการปลูกเชื้อโดยนำใบเดหลีทั้ง 2 พันธุ์ คือ เดหลีใบมันและเดหลีใบกล้วยที่แสดงอาการของโรคไวรัสชัดเจน นำใบมาบดให้ละเอียดใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำใบฉบับนี้ไปใช้ซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โกร่งแท่นเย็นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้สารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.5 อัตราส่วน 1:4 (w/v) ผสมผง celite 545 ลงไปในน้ำคั้นเล็กน้อยเพื่อให้พืชทดสอบเกิดบาดแผล และเชื้อไวรัสสามารถเข้าสู่ต้นพืชที่ทำการทดสอบได้ง่าย หลังจากนั้นทำการปลูกเชื้อโดยใช้นิ้วมือที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นแล้วทาบนใบพืชทดสอบจากโคนใบไปยังปลายใบโดยใช้นิ้วอีกข้างรองรับพืชด้านล่าง เมื่อทาครบทุกต้นแล้วล้างเศษพืชที่ติดบนใบออกโดยการผ่านน้ำประปาอย่างรวดเร็ว ตัดป้ายโดยบันทึกวันที่ ชนิดและพันธุ์ของพืชที่ใช้ปลูกเชื้อที่ถุงปลูก นำกระดาดหนังสือพิมพ์ชุมน้ำคลุมต้นพืชเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วนำกระดาดหนังสือพิมพ์ออก รดน้ำทุกวัน และสังเกตอาการบนใบของพืชอาศัย โดยการตรวจสอบเป็นระยะ ๆ หลังปลูกเชื้อ 7 วัน สังเกตการเจริญเติบโตของพืช โดยมีพืชเปรียบเทียบ (control) ที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ ชนิดละ 1 ต้น

ตารางที่ 3.1 แสดงรายชื่อพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ทดสอบ และเวลาเมื่อใช้ทดลอง

วงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	อายุเมื่อใช้ทดลอง (วัน)
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	Goosefoot	30
	<i>C. quinoa</i>	Quinoa	30
Leguminosae	<i>Phaseolus aureus</i> Roxb.	ถั่วเขียว	7
	<i>P. calearatus</i> Roxb.	ถั่วแดง	7
	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	ถั่วเหลือง	7-10
	<i>P. vulgaris</i> L.	ถั่วแดงหลวง	7
Cucurbitaceae	<i>Cucurbita pepo</i>	ฟักทอง	7
	<i>Cucumis sativus</i> L.	แตงกวา	7
Amaranthaceae	<i>Gomphrena globosa</i>	บานไมรุโรย	28-35
Solanaceae	<i>Datura stramonium</i>	ลำโพง	30
	<i>Nicotiana glutinosa</i>	ยาสูบใบเล็ก	35-40
	<i>N. tabacum</i> cv. "White Burley"	ยาสูบใบใหญ่	35-40

3.4.5 การเพิ่มปริมาณเดห์ลิโบมันโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เติมในอาหารต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเดห์ลิโบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) และ อาหารสูตร MS ที่เติม BA (6-Benzylamino purine)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาแบ่งออกเป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สูตรอาหารที่ใช้มีดังนี้

1. อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

2. อาหารสูตร MS ที่เติม BA (6-Benzylamino purine) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

การเตรียมอาหารสูตร MS จากสารละลายเข้มข้น (stock solutions) (ภาคผนวกที่ ก3) โดยนำสารละลายเข้มข้นแต่ละชนิดมารวมกัน แล้วเติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 5.5 - 5.7 ด้วยสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1 N หรือสารละลาย HCl ความเข้มข้น 1 N เติมน้ำปริมาณ 8 กรัมต่อลิตร ลงไปในส่วนผสมดังกล่าวนำไปตั้งไฟอ่อน ๆ จนจนน้ำละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำอาหารที่ได้เทใส่ขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขวดละ 20 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้แน่นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

ส่วนการเตรียมอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำเช่นเดียวกับการเตรียมอาหารสูตร MS แต่จะเติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขั้นตอนก่อนการปรับ pH

ขั้นตอนที่ 2 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเดหลีใบมัน

นำต้นเดหลีใบมันที่มีอาการใบด่างจากการติดเชื้อไวรัส นำมาตัดใบและรากออกอย่างระมัดระวัง ให้เหลือแต่ส่วนลำต้นใต้ดิน นำมาล้างเศษดินออกด้วยน้ำประปาโดยใช้แปรงขัดอย่างเบา ๆ เพื่อให้เศษดินและสิ่งสกปรกออก จากนั้นล้างด้วยน้ำสบู่อีกครั้ง ทำการฟอกฆ่าเชื้อโดยผ่านน้ำไหล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นย้ายชิ้นส่วนเข้าภายในตู้ย่ำยเนื้อเยื่อ ทำการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ 3 วิธีการ คือ

วิธีการที่ 1 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ethanol 70 % เป็นเวลา 1 นาที
2. สารละลาย Clorox เข้มข้น 50 % + Tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 10 นาที
3. ล้างด้วยน้ำกลั่นซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

วิธีการที่ 2 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ethanol 70 % เป็นเวลา 1 นาที
2. สารละลาย Clorox เข้มข้น 30 % + Tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 30 นาที
3. สารละลาย Clorox เข้มข้น 20 % + Tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 30 นาที
4. ล้างด้วยน้ำกลั่นซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

วิธีการที่ 3 มีขั้นตอนในการฟอกฆ่าเชื้อดังนี้

1. ethanol 70 % เป็นเวลา 1 นาที
2. สารละลาย Clorox เข้มข้น 20 % + Tween 20 จำนวน 2 หยด นาน 30 นาที
3. ล้างด้วยน้ำกลั่นซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที

โดยในขณะฟอกต้องเขย่าขวดฟอกเบา ๆ ตลอดเวลา เมื่อฟอกฆ่าเชื้อแล้วทำการย้ายชิ้นส่วนลงในขวดเปล่าซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

ขั้นตอนที่ 3 การเพิ่มปริมาณเชื้อโบริมาในอาหารสูตร MS และอาหารสูตร MS ที่เติมฮอริโมน

BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

เมื่อทำการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเรียบร้อยแล้ว ใช้มีดผ่าตัดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตัดบริเวณโคนก้านใบที่บอบช้ำทิ้ง ตัดเฉพาะส่วนตาที่อยู่บริเวณลำต้นใต้ดิน นำไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรที่เตรียมไว้ ปิดฝาให้สนิท ซึ่งขั้นตอนนี้จะต้องกระทำภายในตู้ย่ายเนื้อเยื่อ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้ออื่น ๆ และอุปกรณ์ที่ใช้ทั้งหมดต้องผ่านการฆ่าเชื้อ บันทึกชนิดของพืช ชนิดของอาหารที่ใช้เลี้ยงและวัน เดือน ปี ที่ทำการเพาะเลี้ยง นำขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อเก็บไว้บนชั้นภายในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีการควบคุมอุณหภูมิ (อุณหภูมิ 25 °C ความเข้มแสง 3,000 - 10,000 lux ให้ช่วงแสงในแต่ละวัน มีด : สว่าง เป็น 8 : 16 ชั่วโมง) ทำการเปลี่ยนอาหาร (sub culture) ทุก ๆ 4 สัปดาห์ในอาหารชนิดเดิม หากมีการปนเปื้อน (contamination) ให้รีบแยกออก จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วล้างขวดให้สะอาด

ตอนที่ 4 สังเกตและบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลการปนเปื้อนของชิ้นส่วนและจำนวนชิ้นส่วนที่ตาย และสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อโบริมาที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS และ อาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยบันทึกผล ทุก ๆ 7 วัน และถ่ายรูปประกอบผลการทดลอง

3.4.6 การย้ายปลูกต้นเชื้อโบริมานอกสภาพปลอดเชื้อ

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ Randomize Completely Block Design (RCBD)

มี 9 วิธีการ 5 ซ้ำ ๆ ละ 20 ต้น ดังนี้

วิธีการที่ 1 ดินร่วน

วิธีการที่ 2 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1

วิธีการที่ 3 ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

วิธีการที่ 4 ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1

วิธีการที่ 5 ทราายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1

วิธีการที่ 6 ทราายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการที่ 7 ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

วิธีการที่ 8 ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1

วิธีการที่ 9 ขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

นำต้นกล้าทั้งหมดที่ปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ไปไว้ในโรงเรือนในที่มีแสงแดดรำไรเป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วย้ายต้นเดหลีออกนอกโรงเรือนเป็นเวลา 6 สัปดาห์

วิธีการปลูกต้นเดหลีลงวัสดุปลูกมีขั้นตอนดังนี้

1. นำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีต้นเดหลีที่สมบูรณ์แข็งแรง มีรากพอประมาณวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 สัปดาห์
2. เลือกต้นเดหลีที่สมบูรณ์แข็งแรงและมีความสูงไล่เลี่ยกัน
3. ใช้ปากคีบดึงต้นกล้าออกจากขวดอย่างระมัดระวัง
4. ล้างเศษวุ้นที่ติดมากับส่วนต้นออกให้หมด ระวังอย่าให้ขาดหรือชำ
5. แช่ต้นในน้ำยากันเชื้อรา (Benlate)
6. นับจำนวนใบและวัดความสูงของต้น
7. นำต้นปลูกลงในกระถางปลูกที่มีวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ
8. รดน้ำพอประมาณและรดทุก 2 วัน
9. นำไปไว้ในโรงเรือนที่มีแสงแดดรำไร
10. บันทึกผลทุกสัปดาห์ โดยบันทึก
 - จำนวนใบ
 - ความสูง
11. หลังจากผ่านไป 6 สัปดาห์ ย้ายต้นออกนอกโรงเรือน
12. หลังจากนั้น 6 สัปดาห์ ทำการบันทึกผลครั้งสุดท้าย โดยบันทึก
 - เปอร์เซ็นต์การรอดตาย
 - จำนวนยอดใหม่ที่เกิดขึ้น
 - ความสูงต้น
 - จำนวนใบ
 - ขนาดของใบ
 - จำนวนราก
 - ความยาวราก

3.4.7 การผลิตเชื้อไวรัสในหัดปลอดโรคไวรัสโดยใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของต้นเชื้อไวรัสที่ติดเชื้อไวรัส เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่ผสมสารยับยั้งเชื้อไวรัสที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือสาร 1-Adamantanamine hydrochloride, สาร 6-Azauracil และสาร 2-Thiouracil ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

การศึกษาแบ่งออกเป็นขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผสมสารเคมี

สูตรอาหารที่ใช้มีดังนี้

1. สูตร MS ที่ผสมสารยับยั้งเชื้อไวรัส 1-Adamantanamine hydrochloride ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ คือ 0, 25, 50, 75, 100 และ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. สูตร MS ที่ผสมสารยับยั้งเชื้อไวรัส 6-Azauracil ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ คือ 0, 25, 50, 75, 100 และ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร
3. สูตร MS ที่ผสมสารยับยั้งเชื้อไวรัส 2-Thiouracil ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ คือ 0, 25, 50, 75, 100 และ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร

การเตรียมอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมียับยั้งเชื้อไวรัส ทำเช่นเดียวกับการเตรียมอาหารสูตร MS แต่จะเติมสารเคมีเพิ่มลงไปก่อนทำการปรับ pH ปริมาณสารเคมีที่ใส่จะดูจาก stock solution ที่เตรียมไว้จากนั้นทำเช่นเดียวกับการเตรียมอาหารสูตร MS

1.2 การย้ายต้นเชื้อไวรัสไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ก่อนการทดลอง

เมื่อต้นมีการแตกหน่อและเกิดการแตกยอดจากแคลลัส จึงทำการตัดแยกหน่อไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS เพื่อเลี้ยงให้ต้นมีการเจริญเติบโตขึ้น จนต้นมีความสูงประมาณ 2-3 เซนติเมตร ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 2-3 เดือน ทำการเปลี่ยนอาหาร (sub culture) ทุก ๆ 4 สัปดาห์ หากมีการปนเปื้อน (contamination) ให้รีบแยกออก จากนั้นนำไปหนึ่งฆ่าเชื้อแล้วล้างขวดให้สะอาด

1.3 การเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารยับยั้งเชื้อไวรัส 1-Adamantanamine hydrochloride หรือสาร 6-Azauracil หรือสาร 2-Thiouracil ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

นำต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มีขนาดประมาณ 2-3 เซนติเมตร มาทำการเปลี่ยนอาหารลงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารยับยั้งเชื้อไวรัส 1-Adamantanamine hydrochloride หรือสาร 6-Azauracil หรือสาร 2-Thiouracil ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการแยกต้นที่ได้เลี้ยงลงในขวด ขวดละ 1 ต้น โดยแบ่งเป็นความเข้มข้นละ 20 ขวด ต่อจากนั้นเลี้ยงชิ้นส่วนต่ออีกเป็นเวลา 1 เดือน เมื่อครบกำหนดแล้วจึงทำการตรวจสอบปริมาณของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อไวรัส ถ้าพบว่าสารเคมีใดสามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสลงได้และพืชสามารถทนอยู่ได้ก็จะทำการทดลองเลี้ยงพืชในสารเคมีนั้นโดยเพิ่มความเข้มข้นเป็น 125 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพิ่มเวลาในการเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน จากนั้นทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส และถ้าพบต้นพืชที่ปลอดเชื้อไวรัสก็จะย้ายต้นพืชนั้นไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS อีกเป็นเวลา 3 เดือน จึงทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสอีกครั้ง

ขั้นตอนที่ 2 การตรวจสอบปริมาณการติดเชื้อไวรัสในชิ้นส่วนเนื้อใบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารยับยั้งเชื้อไวรัสที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ 1-Adamantanamine hydrochloride, 6-Azauracil และ 2-Thiouracil ในปริมาณความเข้มข้นระดับต่าง ๆ คือ 0, 25, 50, 75, 100 และ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 20 ตัวอย่าง เลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือนและ 2 เดือน แล้วย้ายมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS จากนั้นทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) แบบ direct ELISA

มีขั้นตอนในการตรวจสอบ ดังนี้

1. วางแผนการตรวจสอบตัวอย่างลงบนตารางตรวจสอบ โดยมีหลุมเปรียบเทียบ คือ disease control
2. หยด antiserum โดยใช้เซรุ่มของเชื้อ Dasheen Mosaic Virus (DMV) จากบริษัท Agdia ที่ทำการเจือจางใน coating buffer ให้เป็น 1:200 หยดสารละลายที่เตรียมได้ลงใน polystyrene plate หลุมละ 100 μ l จากนั้นนำ plate ไปบ่มในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C ทิ้งไว้ข้ามคืน
3. เมื่อครบกำหนดในการบ่ม plate แล้วทำการล้าง plate ด้วย PBS-Tween 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที โดยสบัด plate แรง ๆ เพื่อให้ น้ำคั้นออกจากหลุม จากนั้นหยด PBS-Tween ลงในหลุม ควรระวังการปนเปื้อนระหว่างหลุม วาง plate ไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 นาทีเป็นการล้างครั้งที่ 1 ทำการล้างเช่นนี้จนครบ 3 ครั้ง เมื่อล้างครบ 3 ครั้ง จึงคว่ำ plate โดยตบแรง ๆ บนกระดาษซับหรือผ้าสะอาด
4. ตัดส่วนของใบจากต้นที่เลี้ยงจนครบกำหนดแล้ว ตัวอย่างละ 1-2 ใบ ซึ่งจะได้ตัวอย่างจากแต่ละความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 20 ตัวอย่าง นำชิ้นส่วนที่ตัดได้มาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง โดยแต่ละตัวอย่างจะมีน้ำหนักอยู่ในช่วง 0.01-0.05 กรัม
5. บดตัวอย่างใบพืชในสารละลาย extraction buffer ให้ได้น้ำคั้นเข้มข้น 1:10 (W/V) โดยบดตัวอย่างพืชในถุงพลาสติกขนาดเล็ก จำนวน 1 ตัวอย่างต่อ 1 ถุง แล้วหยดน้ำคั้นตัวอย่างพืชทดสอบลงใน plate ปริมาณ 100 μ l ควรระวังการปนเปื้อนในหลุมอื่น ๆ ใน plate
6. นำ plate ใส่ในถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้สนิท เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C ทิ้งไว้ข้ามคืน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. เมื่อครบกำหนดในการบ่ม plate แล้วทำการล้าง plate ด้วย PBS-Tween 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที (วิธีเดียวกับข้อ 3)
8. หยด Anti-Goat IgG (goat entiled rabbit) หลุมละ 100 μ l ที่ conjugate ไปด้วยเอนไซม์ alkaline phosphatase ที่เจือจางใน conjugate buffer (ความเข้มข้น 1:2,000 โดยเก็บไว้ใช้ต่อเนื่อง 3 ครั้ง) จากนั้นนำ plate ไปบ่มในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4° C ทิ้งไว้ข้ามคืน
9. เมื่อครบกำหนดในการบ่ม plate แล้ว ดูด Anti-Goat IgG เก็บเข้าตู้เย็นเพื่อใช้ในครั้งต่อไป ทำการล้าง plate ด้วย PBS-Tween 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที
10. นำเม็ด p-nitrophenyl phosphate 10 mg ละลายใน substrate buffer 15 ml แล้วหยด substrate ลงใน plate หลุมละ 100 μ l ทำการตรวจผลปฏิกิริยาหลังจากทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมงเพื่อรอให้สีเหลืองของปฏิกิริยาชัดเจนยิ่งขึ้น
11. สังเกตและบันทึกผลการทดสอบ โดยจัดแบ่งระดับสีของการเกิดปฏิกิริยา ดังนี้

ระดับ 4 = สีเหลืองเข้ม	หมายถึง	มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง
ระดับ 3 = สีเหลือง	หมายถึง	มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง
ระดับ 2 = สีเหลืองอ่อน	หมายถึง	มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ
ระดับ 1 = สีเหลืองอ่อนมาก	หมายถึง	มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก
ระดับ 0 = ไม่เกิดสี	หมายถึง	ไม่พบปริมาณของเชื้อไวรัส

สังเกตปฏิกิริยาในแต่ละหลุมของ polystyrene plate เพื่อเปรียบเทียบปฏิกิริยาของตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้นของสารยับยั้งเชื้อไวรัส 1-Adamantanamine hydrochloride, สาร 6-Azauracil และสาร 2-Thiouracil บันทึกผลการทดลองและถ่ายรูปประกอบผลการทดลอง

3.5 สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการโรคพืช ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
2. โรงเรือนทดลอง ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
3. ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภาควิชาพืชสวน

คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

4. ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

3.6 ระยะเวลาดำเนินงาน

เดือนกรกฎาคม 2544 - มกราคม 2546

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาอาการของโรค

จากการศึกษาอาการของโรคไวรัสและอาการคล้ายโรคไวรัสที่เกิดบนพืชสกุล *Spathiphyllum* spp. ที่ได้จากการสำรวจในเขตกรุงเทพมหานคร โดยทำการสำรวจอาการของพืชตามแหล่งที่มีการขยายพันธุ์พืช และแหล่งที่มีการซื้อขายพันธุ์พืชทั่วไป โดยนำพืชที่แสดงอาการผิดปกติ ซึ่งคล้ายคลึงกับอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสมาปลูกไว้ในเรือนปลูกพืชทดลอง ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร (ภาพที่ 4.1) พบว่า ไม้ประดับสกุล *Spathiphyllum* spp. แสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัส ดังนี้

เดหลีใบมัน (*Spathiphyllum wallisii*) พบว่าต้นมีการเจริญเติบโตช้า ใบเรียวแหลมและมีขนาดเล็ก ใบมีลักษณะต่างสีเขียวเข้มสลับกับสีเขียวอ่อนอาการต่างจะเป็นแถบขนานไปตามเส้นใบ อาการต่างกระจายเต็มใบเห็นได้ชัดเจนบนใบอ่อนที่เพิ่งเกิด แต่อาการต่างจะมีสีเข้มขึ้นเมื่อเป็นใบแก่ (ภาพที่ 4.2)

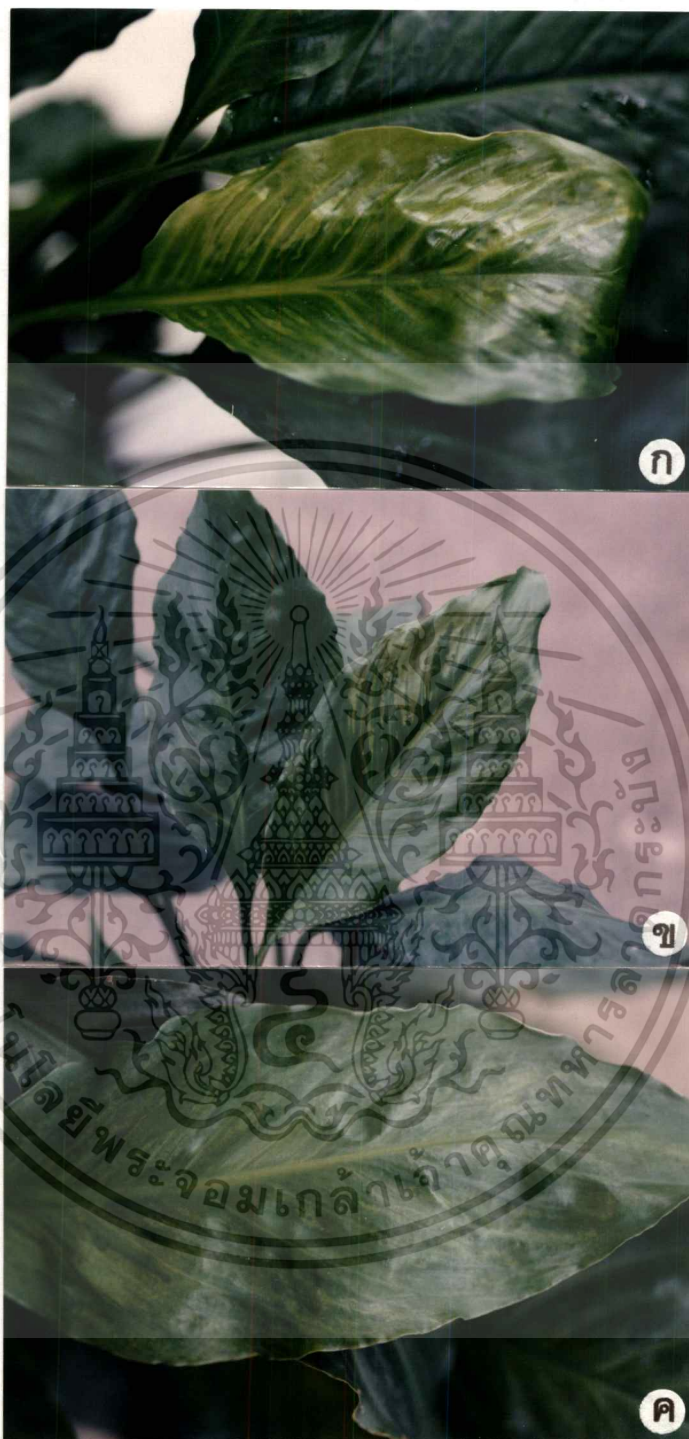
เดหลีใบกล้วย (*Spathiphyllum cannaefolium*) แสดงอาการต่างบนใบอ่อนเห็นได้อย่างชัดเจน อาการต่างที่เกิดขึ้นมีลักษณะต่างเป็นแถบประสีเขียวย่อมนสลับเขียวขนานไปตามเส้นใบ และเมื่อใบแก่ขึ้นพบว่ามีอาการต่างมีสีเขียวเข้มขึ้น (ภาพที่ 4.3)

นอกจากนี้ยังพบว่าความรุนแรงของอาการที่แสดงออกนั้นจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูง คือในช่วงเดือนมิถุนายน (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.5 °C) พืชแสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสน้อย ในขณะที่อุณหภูมิต่ำลง คือในเดือนสิงหาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.2 °C) และเดือนธันวาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 27.4 °C) พืชแสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสรุนแรงมากขึ้นตามลำดับ (ภาพที่ 4.4 - 4.5)



ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรคไวรัสบนพืชสกุล *Spathiphyllum* spp. ในสภาพที่มีแสงร่มรำไรและมีความชื้นสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



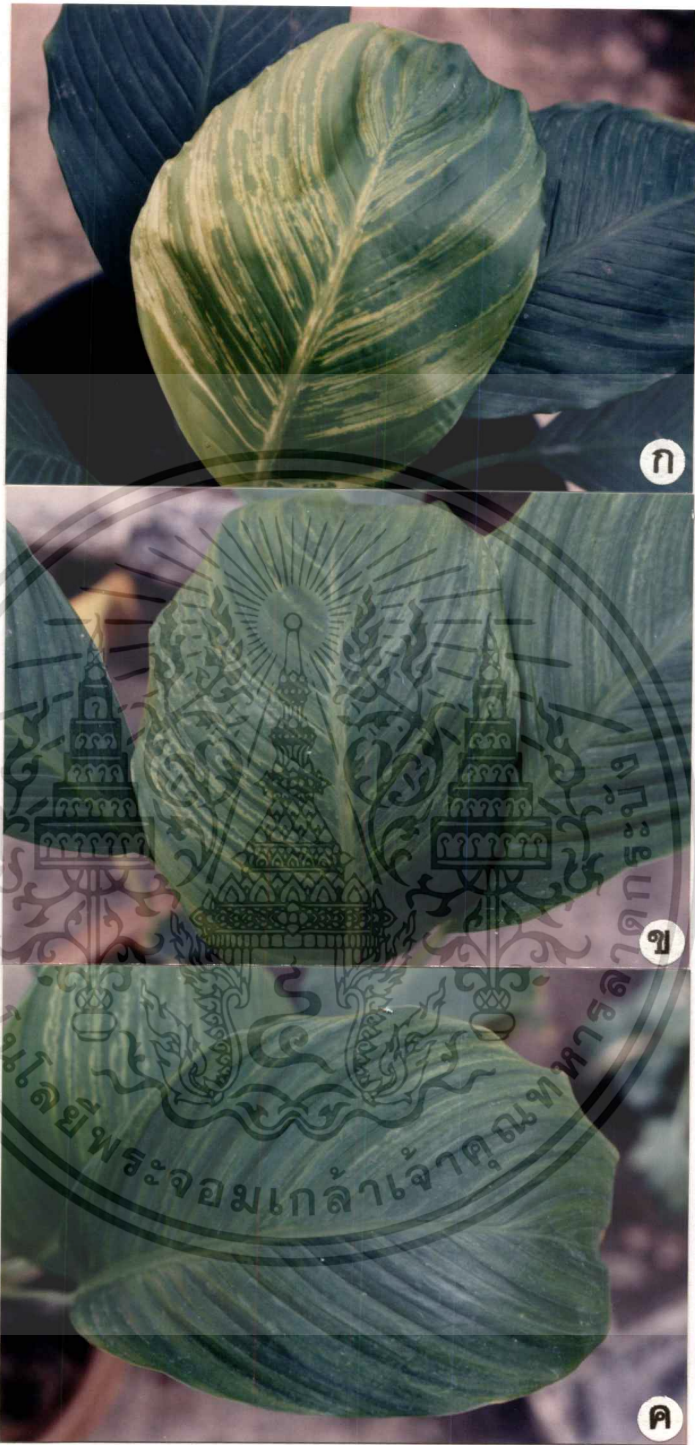
ภาพที่ 4.2 แสดงพัฒนาการของอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสบนใบเดหลีใบมัน

ก. แสดงอาการใบต่างเป็นแถบสีเขียวเข้มสลับกับสีเขียวอ่อน อาการต่างขนานไปตามเส้นใบ

ข. แสดงอาการต่างที่ค่อย ๆ มีสีเขียวเข้มขึ้นเมื่อเริ่มเป็นใบแก่

ค. แสดงอาการต่างที่มีสีเขียวเข้มขึ้นเมื่อเป็นใบแก่

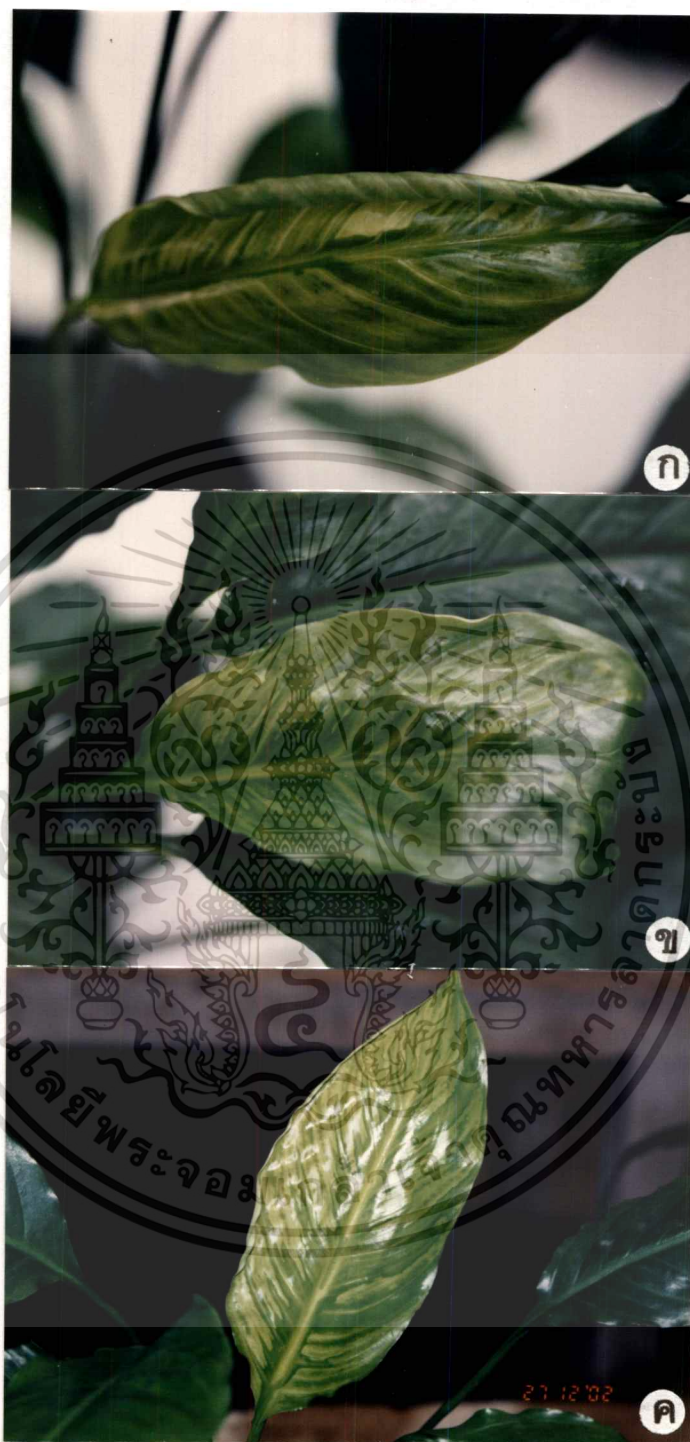
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 แสดงพัฒนาการของอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสบนใบเดหลีใบกล้วย

- ก. แสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสบนใบอ่อนของเดหลีใบกล้วย คือมีอาการใบด่างเป็นแถบประสีเขียวอ่อนสลับเขียวขนาบไปตามเส้นใบ
- ข. แสดงอาการด่างที่ค่อย ๆ มีสีเขียวเข้มขึ้นเมื่อเริ่มเป็นใบแก่
- ค. แสดงอาการด่างที่มีสีเขียวเข้มขึ้นเมื่อเป็นใบแก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้วนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



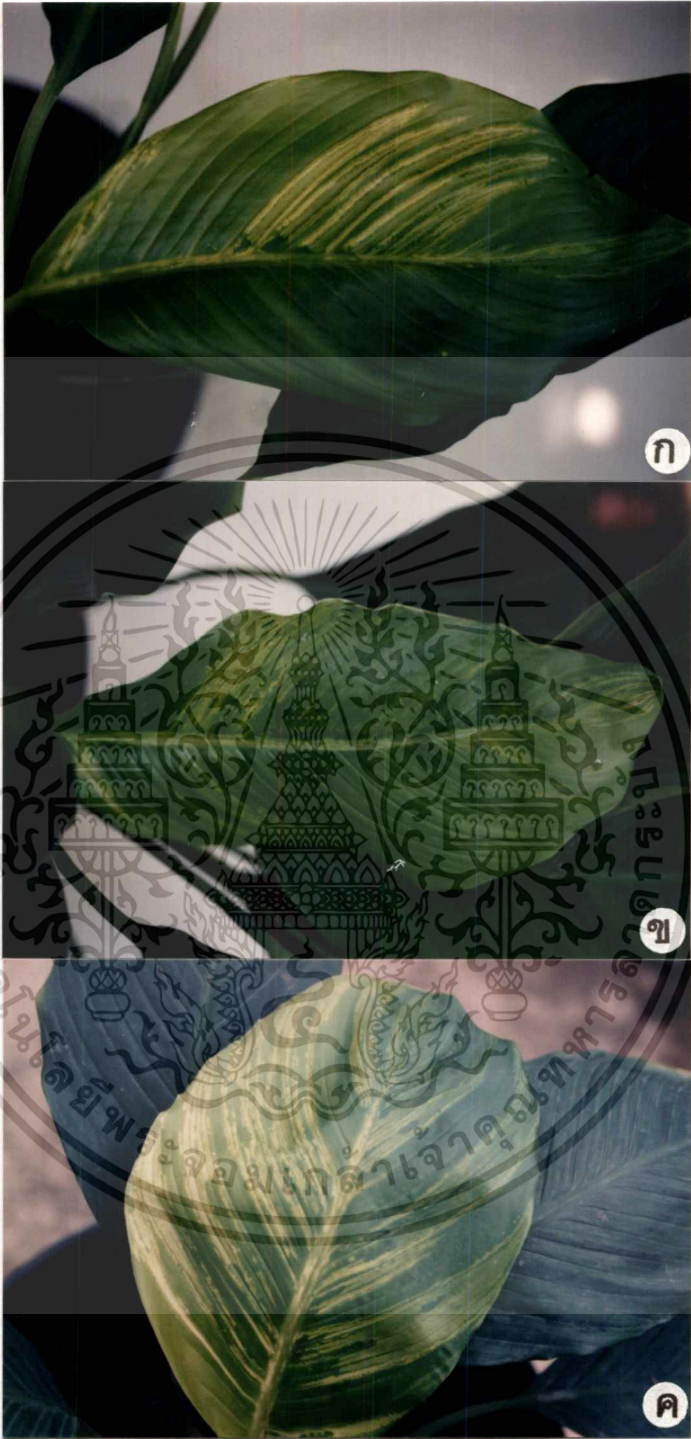
ภาพที่ 4.4 แสดงลักษณะความรุนแรงของอาการที่แสดงออกบนใบอ่อนของเดหลีใบมัน เปรียบเทียบในช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ กัน

ก. ช่วงเดือนมิถุนายน (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.5°C)

ข. ช่วงเดือนสิงหาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.2°C)

ค. ช่วงเดือนธันวาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 27.4°C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 แสดงลักษณะความรุนแรงของอาการที่แสดงออกบนใบอ่อนของเดหลีใบกล้วย
เปรียบเทียบในช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ กัน

ก. ช่วงเดือนมิถุนายน (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.5 °C)

ข. ช่วงเดือนสิงหาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.2 °C)

ค. ช่วงเดือนธันวาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 27.4 °C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไวรัส โดยการตรวจดูด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

การตรวจสอบน้ำคั้นจากใบของเดหลีใบมัน (*Spathiphyllum wallisii*) และเดหลีใบกล้วย (*Spathiphyllum cannaefolium*) ที่แสดงอาการซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัสโดยวิธี Leaf dip จากการตรวจสอบเดหลีใบมันไม่พบอนุภาคของเชื้อไวรัส ส่วนในเดหลีใบกล้วยพบอนุภาคของเชื้อไวรัสลักษณะ ยาวคดงอ (flexuous rod) ความยาวประมาณ 650 – 700 นาโนเมตร (ภาพที่ 4.6) และพบอนุภาค ทรงกลม (isometric) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 28 นาโนเมตร (ภาพที่ 4.7)

4.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) แบบ indirect ELISA

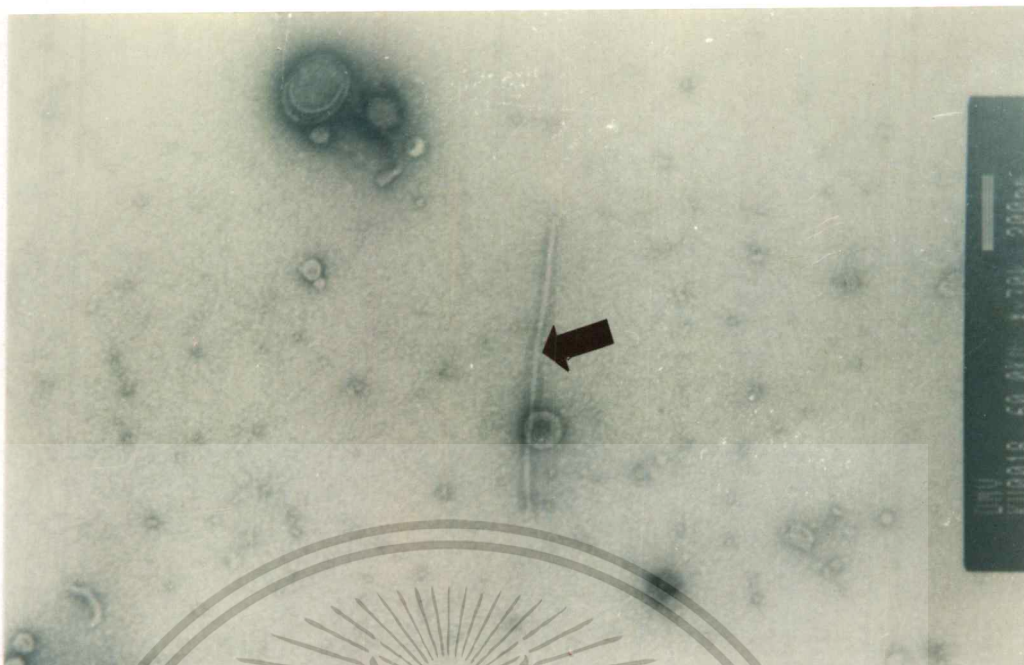
4.3.1 การตรวจสอบเชื้อไวรัสในเดหลีใบมัน

จากการตรวจสอบเชื้อไวรัสในเดหลีใบมันด้วยเทคนิค ELISA โดยแบ่งการตรวจสอบเชื้อไวรัสออกเป็น 3 ระยะ คือ ในเดือนมิถุนายน (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.5 °C) เดือนสิงหาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.2 °C) และธันวาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 27.4 °C) ตามลำดับ

การตรวจสอบหาเชื้อ Dasheen Mosaic Virus (DMV) ในเดือนมิถุนายน ทำการตรวจสอบจำนวน 12 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างใบที่แสดงอาการของโรคชัดเจนบดในสารละลาย coating buffer ให้น้ำคั้นเข้มข้น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 (W/V) และใช้เซรุ่มของเชื้อ DMV ที่มี titer 1:32 ทำการเจือจางใน conjugate buffer ให้มีความเข้มข้นเป็น 1:10 และ 1:50 พบว่าจากการตรวจสอบทั้ง 12 ตัวอย่าง โดยใช้ความเข้มข้นของ DMV antiserum เป็น 1:10 พบว่าทุกตัวอย่างมีปริมาณของเชื้อ DMV อยู่ในระดับ 3 เท่ากัน และจากการตรวจสอบโดยใช้ความเข้มข้นของ DMV antiserum เป็น 1:50 พบว่าทุกตัวอย่างมีปริมาณของเชื้อ DMV อยู่ในระดับ 2 เท่ากัน (ภาพที่ 4.8 - 4.9)

การตรวจสอบหาเชื้อ DMV ในเดือนสิงหาคมและในเดือนธันวาคม โดยสุ่มตัวอย่างใบพืชที่แสดงอาการของโรคชัดเจนบดในสารละลาย coating buffer ให้น้ำคั้นเข้มข้น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 (W/V) และใช้เซรุ่มของเชื้อ DMV ที่มี titer 1:32 ทำการละลายใน conjugate buffer ให้มีความเข้มข้นเป็น 1:10

จากการตรวจสอบหาเชื้อ DMV ในเดือนสิงหาคมจำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างทั้งหมดมีปริมาณของเชื้อ DMV อยู่ในระดับ 3 เท่ากัน (ภาพที่ 4.10) และจากการตรวจสอบในเดือนธันวาคม จำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างทั้งหมดมีปริมาณของเชื้อ DMV อยู่ในระดับ 4 เท่ากัน (ภาพที่ 4.11)



ภาพที่ 4.6 แสดงลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสจากน้ำคั้นใบเดหลีใบกล้วย (ตามลูกศรชี้) ลักษณะยาวคดงอ (flexuous rod) ความยาว 700 นาโนเมตร โดยวิธี Leaf dip กำลังขยาย 48,000 เท่า



ภาพที่ 4.7 แสดงลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสจากน้ำคั้นใบเดหลีใบกล้วย (ตามลูกศรชี้) ลักษณะอนุภาคทรงกลม (isometric) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 28 นาโนเมตร โดยวิธี Leaf dip กำลังขยาย 48,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการตรวจสอบหาเชื้อ CMV ในเดือนมิถุนายน ทำการตรวจสอบจำนวน 12 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างใบที่แสดงอาการของโรคชัดเจนบดในสารละลาย coating buffer ให้ได้น้ำคั้นเข้มข้น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 (W/V) และใช้เซรุ่มของเชื้อ CMV ที่มี titer 1:256 ทำการเจือจางใน conjugate buffer ให้มีความเข้มข้นเป็น 1:200 พบว่าทุกตัวอย่างที่นำมาทำการตรวจสอบมีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 2 เท่ากัน (ภาพที่ 4.8 - 4.9)

การตรวจสอบหาเชื้อ CMV ในเดือนสิงหาคมและในเดือนธันวาคม โดยสุ่มตัวอย่างใบพืชที่แสดงอาการของโรคชัดเจนบดในสารละลาย coating buffer ให้ได้น้ำคั้นเข้มข้น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 (W/V) และใช้เซรุ่มของเชื้อ CMV ที่มี titer 1:256 ทำการเจือจางใน conjugate buffer ให้มีความเข้มข้นเป็น 1:200

จากการตรวจสอบในเดือนสิงหาคมจำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่ามี 11 ตัวอย่างที่มีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 3 เท่ากันเมื่อตรวจสอบโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำคั้นพืชเป็น 1:10 และ 1:100 และมีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 2 เท่ากันเมื่อตรวจสอบโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำคั้นพืชเป็น 1:1,000 และพบว่ามีจำนวน 1 ตัวอย่างที่มีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 4 เมื่อตรวจสอบโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำคั้นพืชเป็น 1:10 และ 1:100 และพบว่ามีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 3 เท่ากันเมื่อตรวจสอบโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำคั้นพืชเป็น 1:1,000 (ภาพที่ 4.10)

ส่วนการตรวจสอบเชื้อ CMV ในเดือนธันวาคมจำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างทั้งหมดมีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 4 เท่ากัน (ภาพที่ 4.11)

4.3.2 การตรวจสอบเชื้อไวรัสในเดหลีใบกล้วย

จากการตรวจสอบเชื้อไวรัสในเดหลีใบกล้วยด้วยเทคนิค ELISA โดยแบ่งการตรวจสอบเชื้อไวรัสออกเป็น 3 ระยะ คือ ในเดือนมิถุนายน (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.5 °C) เดือนสิงหาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.2 °C) และธันวาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 27.4 °C) ตามลำดับ

การตรวจสอบหาเชื้อ DMV ในเดือนมิถุนายน ทำการตรวจสอบจำนวน 12 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างใบที่แสดงอาการของโรคชัดเจนบดในสารละลาย coating buffer ให้ได้น้ำคั้นเข้มข้น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 (W/V) และใช้เซรุ่มของเชื้อ DMV ที่มี titer 1:32 ทำการเจือจางใน conjugate buffer ให้มีความเข้มข้นเป็น 1:10 และ 1:50 พบว่าตัวอย่างทั้งหมดมีปริมาณของเชื้อ DMV อยู่ในระดับ 3 เท่ากันเมื่อใช้ความเข้มข้นของ DMV antiserum เป็น 1:10 และมีปริมาณของเชื้อ DMV อยู่ในระดับ 2 เท่ากันเมื่อใช้ความเข้มข้นของ DMV antiserum เป็น 1:50 (ภาพที่ 4.12 - 4.13)

Sample เดหลีไบมัน

เดือนที่ทำการตรวจสอบ สิงหาคม

ดังนี้

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
disease control	Dilution ของที่	4	4	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-
As DMV	1:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	1:100	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	1:1,000	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
As CMV	1:10	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	1:100	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	1:1,000	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2
enzyme control และ		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
substrate control													

ภาพที่ 4.10 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนสิงหาคม โดยใช้ตัวอย่างไบของเดหลีไบมันที่แสดงอาการของโรคชัดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA

disease control ของเชื้อ DMV คือ หลุมที่ 1-3

disease control ของเชื้อ CMV คือ หลุมที่ 4-6

enzyme control คือ หลุมที่ 1-6

substrate control คือ หลุมที่ 7-12

การจัดแบ่งระดับสีของปฏิกิริยามีดังนี้

- ระดับ 4 = สีเหลืองเข้ม

หมายถึง

มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง
- ระดับ 3 = สีเหลือง

หมายถึง

มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง
- ระดับ 2 = สีเหลืองอ่อน

หมายถึง

มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ
- ระดับ 1 = สีเหลืองอ่อนมาก

หมายถึง

มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก
- ระดับ 0 = ไม่เกิดสี

หมายถึง

ไม่พบปริมาณของเชื้อไวรัส

Sample เดห์ลีไบมัน

เดือนที่ทำการตรวจสอบ ธันวาคม

ดัชนี		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
disease control	Dilution ของพืช	4	4	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-
As DMV	1:10	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	1:100	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	1:1,000	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
As CMV	1:10	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	1:100	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	1:1,000	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
enzyme control และ substrate control		1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0



ภาพที่ 4.11 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนธันวาคม โดยใช้ตัวอย่างใบของเดห์ลีไบมันที่แสดงอาการของโรคขีดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA

การจัดแบ่งระดับสีของปฏิกิริยามีดังนี้

- | | | |
|---------------------------|---------|------------------------------|
| ระดับ 4 = สีเหลืองเข้ม | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง |
| ระดับ 3 = สีเหลือง | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง |
| ระดับ 2 = สีเหลืองอ่อน | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ |
| ระดับ 1 = สีเหลืองอ่อนมาก | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

Sample เดหลีไบก้วย

Plate ที่ 1

เดือนที่ทำการตรวจสอบ มิถุนายน

หลุมที่ 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

ต้นที่ ต้นที่ 1 ต้นที่ 2 ต้นที่ 3 ต้นที่ 4 ต้นที่ 5 ต้นที่ 6

Dilution ของ AsDMV												
1:10 1:50 1:10 1:50 1:10 1:50 1:10 1:50 1:10 1:50 1:10 1:50												
disease control	Dilution รองที่	4	4	4	4	4	4	-	-	-	-	-
As DMV	1:10	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
	1:100	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
	1:1,000	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3
As CMV	1:10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	1:100	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	1:1,000	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
enzyme control และ substrate control		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
control												

ภาพที่ 4.12 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนมิถุนายน ใน plate ที่ 1 โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีไบก้วยที่แสดงอาการของโรคชัดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และ 1:50 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA

- disease control ของเชื้อ DMV คือ หลุมที่ 1-3
- disease control ของเชื้อ CMV คือ หลุมที่ 4-6
- enzyme control คือ หลุมที่ 1-6
- substrate control คือ หลุมที่ 7-12

การจัดแบ่งระดับสีของปฏิกิริยามีดังนี้

- ระดับ 4 = สีเหลืองเข้ม หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง
- ระดับ 3 = สีเหลือง หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง
- ระดับ 2 = สีเหลืองอ่อน หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ
- ระดับ 1 = สีเหลืองอ่อนมาก หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก
- ระดับ 0 = ไม่เกิดสี หมายถึง ไม่พบปริมาณของเชื้อไวรัส

Sample เดหลีใบกล้วย

Plate ที่ 2

เดือนที่ทำการตรวจสอบ มิถุนายน

กลุ่มที่ 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
 ดันที่ ดันที่ 7 ดันที่ 8 ดันที่ 9 ดันที่ 10 ดันที่ 11 ดันที่ 12

		Dilution ของ AsDMV												
disease	←		1:10	1:50	1:10	1:50	1:10	1:50	1:10	1:50	1:10	1:50	1:10	1:50
control	{	Dilution ของซีรั่ม	4	4	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-
As DMV		1:10	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2
		1:100	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2
As CMV	{	1:1,000	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2
		1:10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
		1:100	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
enzyme		1:1,000	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
control และ substrate	←													
control			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ภาพที่ 4.13 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนมิถุนายน ใน plate ที่ 2 โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีใบกล้วยที่แสดงอาการของโรคชัดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และ 1:50 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA

- disease control ของเชื้อ DMV คือ กลุ่มที่ 1-3
- disease control ของเชื้อ CMV คือ กลุ่มที่ 4-6
- enzyme control คือ กลุ่มที่ 1-6
- substrate control คือ กลุ่มที่ 7-12

การจัดแบ่งระดับสีของปฏิกิริยามีดังนี้

- ระดับ 4 = สีเหลืองเข้ม หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง
- ระดับ 3 = สีเหลือง หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง
- ระดับ 2 = สีเหลืองอ่อน หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ
- ระดับ 1 = สีเหลืองอ่อนมาก หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก
- ระดับ 0 = ไม่เกิดสี หมายถึง ไม่พบปริมาณของเชื้อไวรัส

การตรวจสอบหาเชื้อ DMV ในเดือนสิงหาคมและในเดือนธันวาคม โดยสุ่มตัวอย่างใบพืชที่แสดงอาการของโรคมานวดในสารละลาย coating buffer ให้น้ำคั้นเข้มข้น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 (W/V) และใช้เซรุ่มของเชื้อ DMV ที่มี titer 1:32 ทำการเจือจางใน conjugate buffer ให้ความเข้มข้นเป็น 1:10 จากการตรวจสอบในเดือนสิงหาคมจำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างทั้งหมดมีปริมาณของเชื้อ DMV อยู่ในระดับ 3 เท่ากัน (ภาพที่ 4.14) ส่วนในเดือนธันวาคมทำการตรวจสอบจำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่าทุกตัวอย่างมีปริมาณของเชื้อ DMV อยู่ในระดับ 4 เท่ากัน (ภาพที่ 4.15)

จากการตรวจสอบหาเชื้อ CMV ในเดือนมิถุนายน ได้ทำการตรวจสอบจำนวน 12 ตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่างใบที่แสดงอาการของโรคชัดเจนมานวดในสารละลาย coating buffer ให้น้ำคั้นเข้มข้น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 (W/V) และใช้เซรุ่มของเชื้อ CMV ที่มี titer 1:256 ทำการเจือจางใน conjugate buffer ให้ความเข้มข้นเป็น 1:200 พบว่าตัวอย่างทั้งหมดที่นำมาทำการตรวจสอบมีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 2 เท่ากัน (ภาพที่ 4.12 - 4.13)

การตรวจสอบหาเชื้อ CMV ในเดือนสิงหาคมและในเดือนธันวาคม โดยสุ่มตัวอย่างใบพืชที่แสดงอาการของโรคมานวดในสารละลาย coating buffer ให้น้ำคั้นเข้มข้น 1:10, 1:100 และ 1:1,000 (W/V) และใช้เซรุ่มของเชื้อ CMV ที่มี titer 1:256 ทำการเจือจางใน conjugate buffer ให้ความเข้มข้นเป็น 1:200 จากการตรวจสอบในเดือนสิงหาคมจำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่ามี 10 ตัวอย่างที่มีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 3 เท่ากันเมื่อตรวจสอบโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำคั้นพืชเป็น 1:10 และ 1:100 และพบว่ามีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 2 เท่ากันเมื่อตรวจสอบโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำคั้นพืชเป็น 1:1,000 และพบว่ามี 2 ตัวอย่างที่มีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 3 เท่ากัน (ภาพที่ 4.14) ส่วนการตรวจสอบเชื้อ CMV ในเดือนธันวาคมจำนวน 12 ตัวอย่าง พบว่ามี 10 ตัวอย่างที่มีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 4 เท่ากัน และพบว่ามี 2 ตัวอย่างที่มีปริมาณของเชื้อ CMV อยู่ในระดับ 3 เท่ากัน (ภาพที่ 4.15)

ค่าเฉลี่ยปริมาณของเชื้อไวรัสที่ตรวจสอบได้จากเดห์ลีไบมันและเดห์ลีโบกล้วยในแต่ละเดือนโดยวิธี ELISA แสดงในตารางที่ 4.1 และกราฟแสดงค่าเฉลี่ยปริมาณของเชื้อไวรัสที่ตรวจสอบได้ในแต่ละเดือนโดยวิธี ELISA จากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำคั้นพืช ที่มี dilution 3 ระดับ คือ 1:10, 1:100 และ 1:1,000 กับ DMV antiserum ที่มี dilution เป็น 1:10 และ CMV antiserum ที่มี dilution เป็น 1:200 ดังแสดงในภาพที่ 4.16

Sample เดหลีใบกล้วย

เดือนที่ทำการตรวจสอบ สิงหาคม

ดัชนี		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
disease control	Dilution ของพืช	4	4	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-
As DMV	1:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	1:100	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	1:1,000	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
As CMV	1:10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	1:100	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	1:1,000	2	2	2	2	2	2	2	3	3	2	2	2
enzyme control และ substrate control		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ภาพที่ 4.14 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนสิงหาคม โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีใบกล้วยที่แสดงอาการของโรคชัดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA

disease control ของเชื้อ DMV คือ กลุ่มที่ 1-3

disease control ของเชื้อ CMV คือ กลุ่มที่ 4-6

enzyme control คือ กลุ่มที่ 1-6

substrate control คือ กลุ่มที่ 7-12

การจัดแบ่งระดับสีของปฏิกิริยามีดังนี้

- | | | |
|---------------------------|---------|------------------------------|
| ระดับ 4 = สีเหลืองเข้ม | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง |
| ระดับ 3 = สีเหลือง | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง |
| ระดับ 2 = สีเหลืองอ่อน | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ |
| ระดับ 1 = สีเหลืองอ่อนมาก | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก |
| ระดับ 0 = ไม่เกิดสี | หมายถึง | ไม่พบปริมาณของเชื้อไวรัส |

Sample เดหลีใบกล้วย

เดือนที่ทำการตรวจสอบ ธันวาคม

ดัชนี		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
disease control	Dilution ของพืช	4	4	4	4	4	4	-	-	-	-	-	-
As DMV	1:10	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	1:100	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	1:1,000	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
As CMV	1:10	4	4	4	4	3	3	4	4	4	4	4	4
	1:100	4	4	4	4	3	3	4	4	4	4	4	4
	1:1,000	4	4	4	4	3	3	4	4	4	4	4	4
enzyme control และ substrate control		1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0



ภาพที่ 4.15 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากการตรวจสอบในช่วงเดือนธันวาคม โดยใช้ตัวอย่างใบของเดหลีใบกล้วยที่แสดงอาการของโรคชัดเจน และใช้ DMV antiserum ที่มี titer 1:32 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:10 และใช้ CMV antiserum ที่มี titer 1:256 โดยทำให้เจือจางเป็น 1:200 โดยทำการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA

การจัดแบ่งระดับสีของปฏิกิริยามีดังนี้

- | | | |
|---------------------------|---------|------------------------------|
| ระดับ 4 = สีเหลืองเข้ม | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง |
| ระดับ 3 = สีเหลือง | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง |
| ระดับ 2 = สีเหลืองอ่อน | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ |
| ระดับ 1 = สีเหลืองอ่อนมาก | หมายถึง | มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก |
| ระดับ 0 = ไม่เกิดสี | หมายถึง | ไม่พบปริมาณของเชื้อไวรัส |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่โดยกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์ เพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

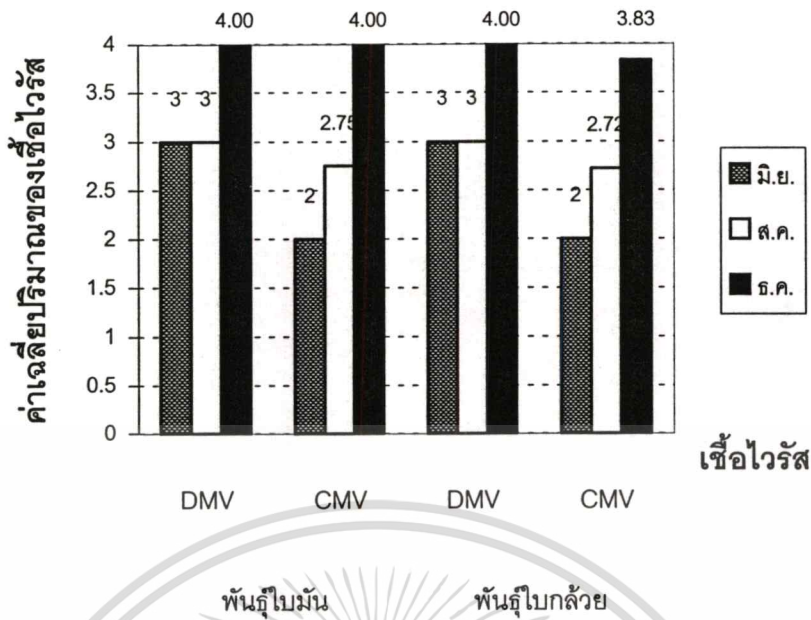
ตารางที่ 4.1 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อไวรัสที่ตรวจสอบได้จากเดห์ลีไบมันและเดห์ลีไบกล้วยใน
แต่ละเดือนโดยวิธี ELISA

เดือนที่ทำการ ตรวจสอบ	ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อไวรัส ^{1/}			
	ไบมัน		ไบกล้วย	
	DMV	CMV	DMV	CMV
มิถุนายน	3.00	2.00	3.00	2.00
สิงหาคม	3.00	2.75	3.00	2.72
ธันวาคม	4.00	4.00	4.00	3.83

โดยจัดแบ่งระดับสีของการเกิดปฏิกิริยา ดังนี้

- ระดับ 4 = สีเหลืองเข้ม
- หมายถึง
- มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง
- ระดับ 3 = สีเหลือง
- หมายถึง
- มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง
- ระดับ 2 = สีเหลืองอ่อน
- หมายถึง
- มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ
- ระดับ 1 = สีเหลืองอ่อนมาก
- หมายถึง
- มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก
- ระดับ 0 = ไม่เกิดสี
- หมายถึง
- ไม่พบปริมาณของเชื้อไวรัส

1/ ค่าเฉลี่ยจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำคั้นพืชรวมทั้ง 3 dilution คือ 1:10, 1:100 และ 1,000
กับ DMV antiserum ที่มี dilution เป็น 1:10 และ CMV antiserum ที่มี dilution เป็น 1:200
จากตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบจำนวน 12 ตัวอย่าง



ภาพที่ 4.16 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยปริมาณของเชื้อไวรัสที่ตรวจพบได้จากเดนลีไบมันและเดนลีไบกล้วยในแต่ละเดือนโดยวิธี ELISA จากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำคั้นพืช ที่มี dilution 3 ระดับ คือ 1:10, 1:100 และ 1:1,000 กับ DMV antiserum ที่มี dilution เป็น 1:10 และ CMV antiserum ที่มี dilution เป็น 1:200 โดยจัดแบ่งระดับสีของการเกิดปฏิกิริยา ดังนี้

ระดับ	สี	หมายถึง
ระดับ 4	สีเหลืองเข้ม	มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง
ระดับ 3	สีเหลือง	มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง
ระดับ 2	สีเหลืองอ่อน	มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ
ระดับ 1	สีเหลืองอ่อนมาก	มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก
ระดับ 0	ไม่เกิดสี	ไม่พบปริมาณของเชื้อไวรัส

4.4 การศึกษาพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ โดยการปลูกเชื้อ

จากการทดลองปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบโดยผ่านทางน้ำคั้น เพื่อหาชนิดของพืชอาศัยทั้งหมด 12 ชนิด 5 วงศ์ ดังตารางที่ 3.1 พบว่าไม่ปรากฏอาการของการเข้าทำลายจากเชื้อไวรัสบนพืชทดสอบทั้งหมดที่ทำการศึกษา

4.5 การเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4.5.1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ

โดยเปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนลำต้นใต้ดินของเนื้อเยื่อ โดยให้ความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อและเวลาในการฟอกที่แตกต่างกัน 3 วิธีการ จากการทดลองพบว่าวิธีการที่ 1 คือการฟอกชิ้นส่วนด้วย ethanol 70 % เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox เข้มข้น 50 % ที่ผสม Tween 20 จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นซึ่งผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที พบว่ามีผลทำให้ชิ้นส่วนตายทั้งหมด ส่วนวิธีการที่ 2 คือการฟอกชิ้นส่วนด้วย ethanol 70 % เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นตามด้วยสารละลาย Clorox เข้มข้น 30 % ที่ผสม Tween 20 จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 30 นาที และสารละลาย Clorox เข้มข้น 20 % ที่ผสม Tween 20 จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นซึ่งผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที โดยพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อน้อยที่สุดคือ 20 % และพบว่ามีผลทำให้ชิ้นส่วนตาย 10 % โดยวิธีการนี้สามารถทำให้ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและรอดชีวิตสูงที่สุดคือ 70 % ส่วนวิธีการที่ 3 คือการฟอกชิ้นส่วนด้วย ethanol 70 % เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นตามด้วยสารละลาย Clorox เข้มข้น 20 % ที่ผสม Tween 20 จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นซึ่งผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที พบว่าไม่มีชิ้นส่วนตาย และพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อ 80 % โดยวิธีการนี้สามารถทำให้ชิ้นส่วนมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อและรอดชีวิต 20 % (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 แสดงผลของการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนลำต้นใต้ดินของเนื้อเยื่อ เมื่อชิ้นส่วนตายอายุ 2 สัปดาห์

วิธีการที่	จำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้น	จำนวนตายที่เพาะเลี้ยง	% ชิ้นส่วนตายที่ตาย	% การปนเปื้อน (contamination)	% การปลอดเชื้อและรอดชีวิต
1	10	60	100	-	-
2	10	60	10	20	70
3	10	60	0	80	20

4.5.2 การเพิ่มปริมาณเดหลีไบมันโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

โดยเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเดหลีไบมัน เมื่อเลี้ยงในอาหาร 2 สูตรที่แตกต่างกัน คือ

1. อาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต
2. อาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

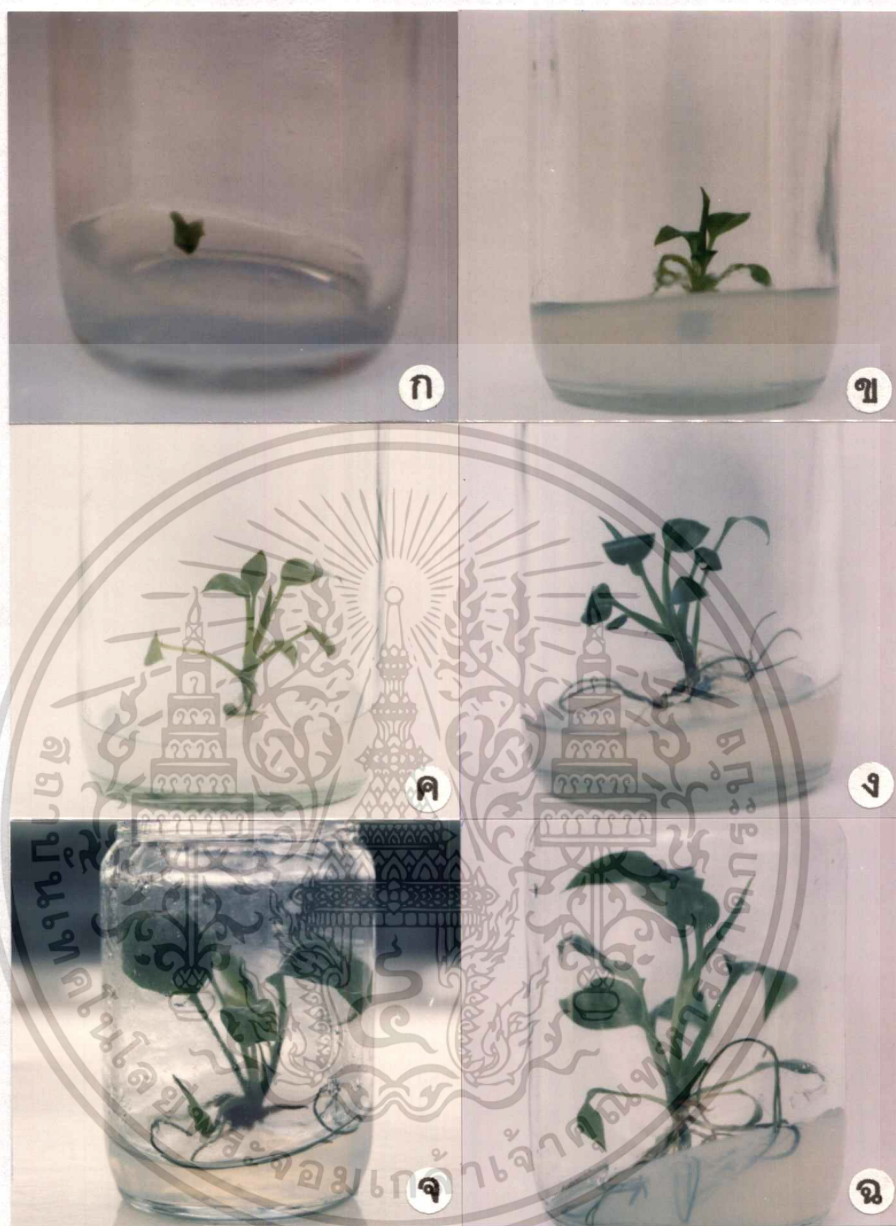
เมื่อนำเอาส่วนตาจากลำต้นใต้ดินของเดหลีไบมันซึ่งปรากฏอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัส คือ มีใบด่างสีเขียวอ่อนสลับกับสีเขียวเข้ม อาการต่างเป็นแถบขนานไปตามเส้นใบ (ภาพที่ 4.17) นำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ 2 ชนิดที่แตกต่างกัน พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS เริ่มแตกยอดขึ้นหลังจากที่เลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ ยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีเขียวสด (ภาพที่ 4.18 ก) และหลังจากที่เลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างมากต้นมีลักษณะสีเขียวสด เกิดใบเพิ่มขึ้นหลายใบ ยังไม่เกิดการแตกยอดเพิ่มขึ้น ไม่เกิดราก และไม่พบว่าเกิดแคลลัส (ภาพที่ 4.18 ข) หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า ต้นเดหลีที่ได้มีความสูงเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดและสูงกว่าต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน ต้นมีลักษณะสีเขียวสด และพบว่ามีการแตกยอดเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 1.24 ยอด มีใบเพิ่มขึ้น แผ่นใบแผ่กว้าง และเริ่มเกิดราก (ภาพที่ 4.18 ค) หลังจากเลี้ยงที่เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ต้นมีลักษณะสูงขึ้น ต้นมีสีเขียวเข้ม มีใบเพิ่มขึ้น แผ่นใบแผ่กว้าง มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.36 ยอด และพบว่าเกิดรากเพิ่มขึ้นหลายรากและรากมีความยาวมาก (ภาพที่ 4.18 ง) เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น ใบมีขนาดใหญ่ขึ้น ใบอ่อนที่เกิดใหม่มีลักษณะอาการต่างเป็นสีเขียวอ่อนเป็นแถบขนานไปตามเส้นใบ คล้ายกับอาการที่เกิดขึ้นกับต้นที่นำมาทำการเพาะเลี้ยง รากมีความยาวเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.18 จ) และเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน พบว่า ต้นมีความสูงเพิ่มขึ้นมาก ต้นมีขนาดใหญ่และมีสีเขียวเข้ม ใบมีขนาดใหญ่ และพบว่าใบอ่อนที่เพิ่งคลี่จะมีอาการต่าง รากมีความยาวเพิ่มขึ้นอย่างมาก (ภาพที่ 4.18 ฉ)

ส่วนชิ้นส่วนตาที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มแตกยอดขึ้นหลังจากที่เลี้ยงเป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ ยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะสีเขียวสด (ภาพที่ 4.19 ก) และหลังจากที่เลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ต้นที่ได้มีสีเขียวอ่อน ใบเรียวยาวแหลมและมีขนาดเล็ก และพบว่าเกิดการแตกยอดเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 2.76 ยอด ยังไม่เกิดราก (ภาพที่ 4.19 ข) หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าต้นที่ได้มีความสูงขึ้นเล็กน้อย ใบที่เกิดมีลักษณะเรียวยาวแหลมเล็ก และม้วนงอ แผ่นใบไม่แผ่กว้าง และพบว่าเกิดการแตกยอดเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 5.60 ยอด ยอดที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้น และพบว่าบางต้นเริ่มเกิดราก แต่รากที่เกิดมีลักษณะสั้น ๆ (ภาพที่ 4.19 ค) หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าต้นที่ได้มีความสูงเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ต้นมีสีเขียวเข้ม ลำต้นใหญ่



ภาพที่ 4.17 แสดงลักษณะตาจากลำต้นใต้ดินของเดหลีใบมันที่นำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ตามลูกศรชี้)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



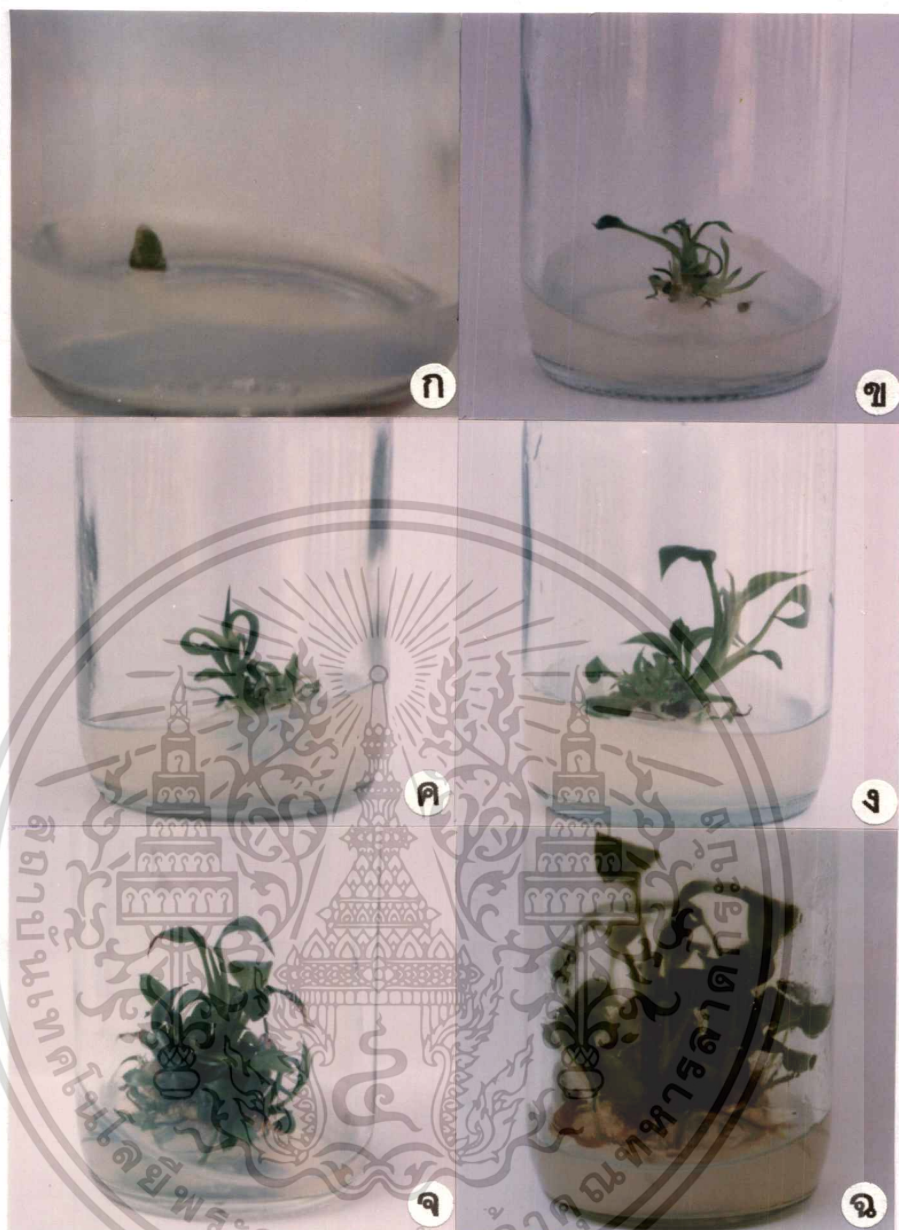
ภาพที่ 4.18 แสดงการเจริญเติบโตของส่วนตาจากลำต้นใต้ดินของเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลาต่าง ๆ กัน

- ก. เลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์
- ข. เลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน
- ค. เลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน
- ง. เลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน
- จ. เลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน
- ฉ. เลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารทงวนเวสสำหรับกรใช้งานเพื่การศกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้น โดยมีขนาดใหญ่ แผ่นใบกว้าง และพบว่ามีการแตกยอดเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 9.20 ยอด (ภาพที่ 4.19 ง) เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ต้นมีความสูงเพิ่มขึ้น เกิดใบเพิ่มขึ้นมีสีเขียวเข้ม เกิดยอดเพิ่มขึ้นจำนวนมาก และยอดที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้น (ภาพที่ 4.19 จ) และหลังจากที่เลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน พบว่าได้ต้นจำนวนมากแน่นอยู่ในขวด ต้นที่ได้มีสีเขียวสด ต้นสูงใหญ่ เกิดการแตกยอดเพิ่มขึ้น และพบว่ารากที่เกิดมีลักษณะสั้น ๆ เจริญช้า (ภาพที่ 4.19 ฉ)

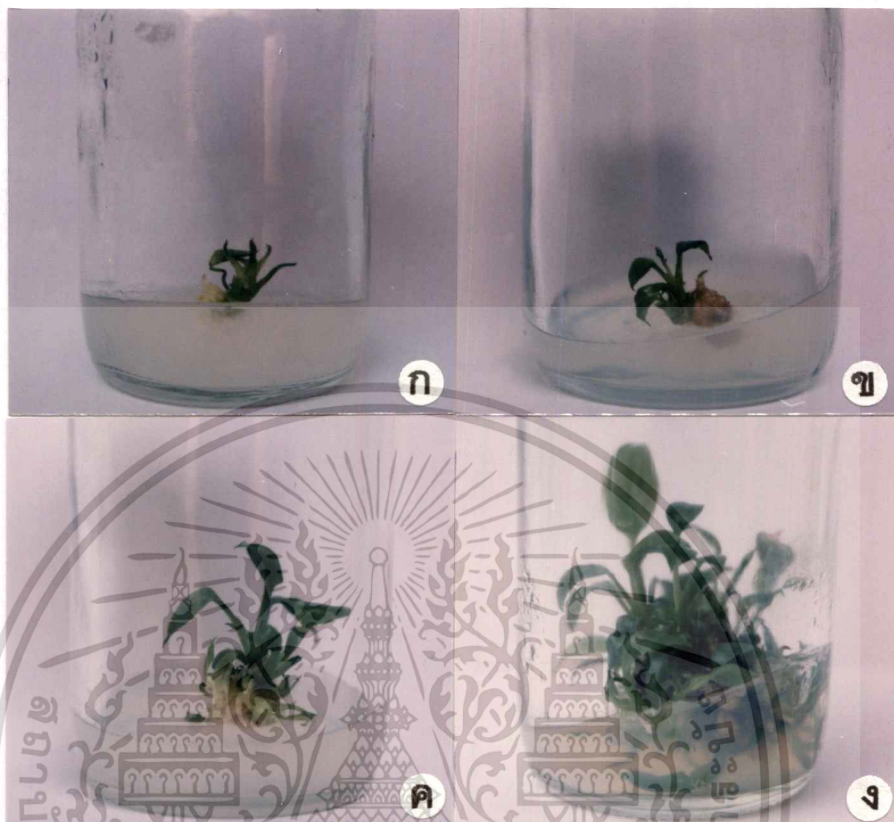
นอกจากนี้ยังพบว่ามีบางต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มเกิดแคลลัสเล็ก ๆ มีลักษณะสีเขียวอ่อน หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน โดยพบว่าเกิดต้นที่เป็นแคลลัส 16 เปอร์เซนต์จากจำนวนต้นทั้งหมดที่เลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน (ภาพที่ 4.20 ก) และหลังจากที่เลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าแคลลัสที่ได้เปลี่ยนเป็นสีเหลืองและมีขนาดใหญ่ขึ้น (ภาพที่ 4.20 ข) หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าแคลลัสที่ได้เปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน มีลักษณะสด และพบว่าเกิดการแตกยอดจากแคลลัส ยอดที่เกิดมีลักษณะสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 4.20 ค) และหลังจากที่เลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าต้นที่เกิดแคลลัส เกิดการแตกยอดจากแคลลัสจำนวนมาก ยอดที่ได้มีสีเขียวเข้มและมีความสูงเพิ่มขึ้น และพบว่าเกิดรากสั้น ๆ (ภาพที่ 4.20 ง) โดยได้เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเดหลีใบมันซึ่งเลี้ยงในอาหาร MS และอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.3



ภาพที่ 4.19 แสดงการเจริญเติบโตของส่วนตาจากลำต้นใต้ดินของเดหลีใบมัน ที่พบว่าไม่เกิดเป็นแคลลัส โดยทำการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลาต่าง ๆ กัน

- ก. เลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์
- ข. เลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน
- ค. เลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน
- ง. เลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน
- จ. เลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน
- ฉ. เลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.20 แสดงการเจริญเติบโตของส่วนตาจากลำต้นใต้ดินของเดนลิไบมัน ที่พบว่าเกิดแคลลัส โดยทำการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลาต่าง ๆ กัน

- ก. เลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน
- ข. เลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน
- ค. เลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน
- ง. เลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS และอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้น BA (mg/l)	จำนวนยอดที่เกิด ($\pm$ S.E.) ^{1/}			%การเกิดแคลลัส
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	
0	1.00 $\pm$ 0.00 b ^{2/}	1.24 $\pm$ 0.09 b ^{2/}	1.36 $\pm$ 0.10 b ^{2/}	0
2	2.76 $\pm$ 0.23 a	5.60 $\pm$ 0.44 a	9.20 $\pm$ 0.54 a	16
F-test	**	**	**	
CV. %	43.81 %	45.95 %	36.45 %	

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 25 ต้น

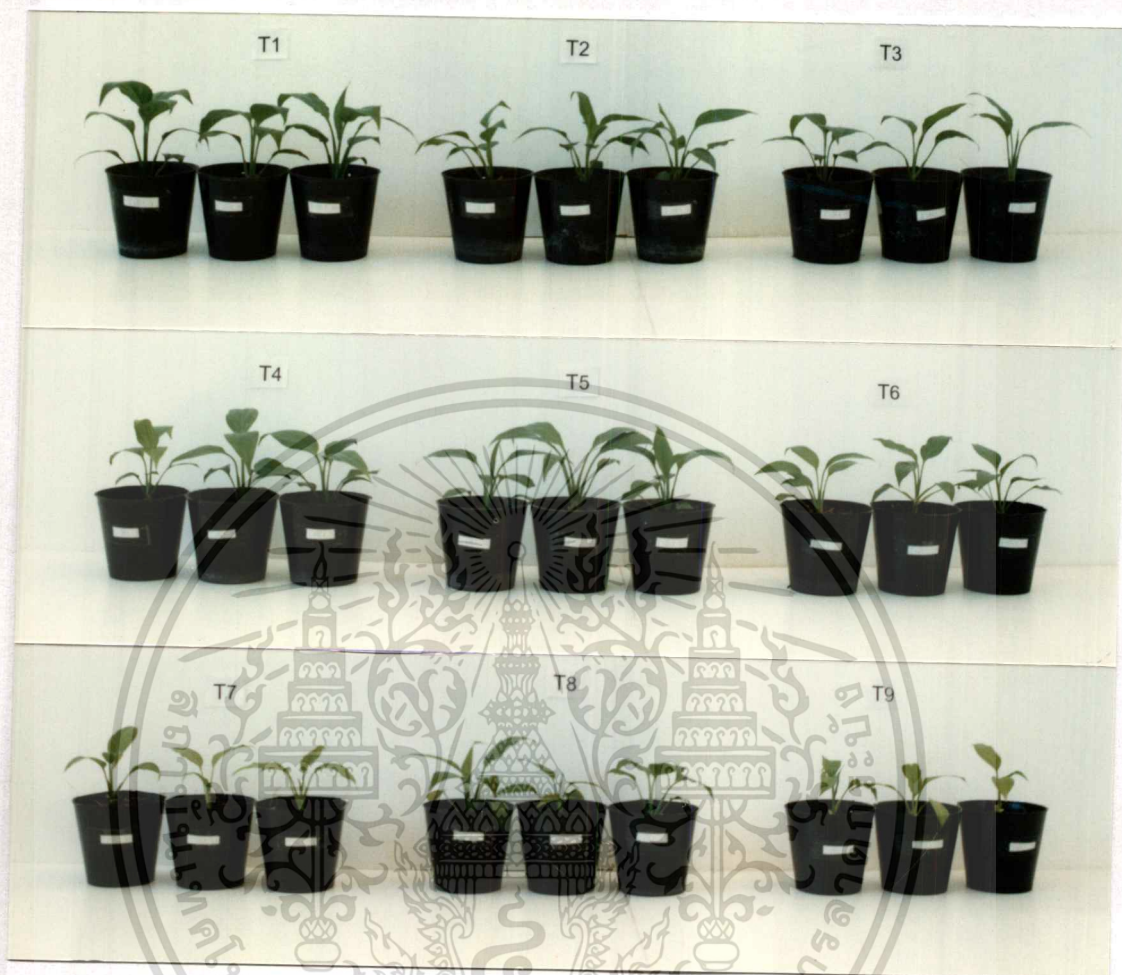
2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P \leq 0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

4.6 การย้ายปลูกเดหลีใบมันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกนอกสภาพปลอดเชื้อ

จากการทดลองย้ายต้นเดหลีใบมันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกนอกสภาพปลอดเชื้อในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ 9 ชนิด เป็นเวลา 12 สัปดาห์ (ภาพที่ 4.21 - 4.23) พบว่าในช่วงสัปดาห์แรกของการย้ายปลูกต้นมีลักษณะไม่สดชื่น บางใบเหี่ยว แต่ในสัปดาห์ต่อมาพบว่าพืชเริ่มมีการฟื้นตัวและสามารถปรับสภาพให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดีและเร็ว ต้นมีลักษณะสดชื่น ใบมีสีเขียวเข้ม เริ่มมีใบใหม่เกิดขึ้น จากผลการทดลองพบว่า ในวัสดุปลูกทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 สามารถทำให้พืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายสูงสุด คือ 100 % รองลงมาคือ ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 พบว่าพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 99 % ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 พบว่าพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายเท่ากันคือ 98 % วัสดุปลูกดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 พบว่าพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 96 % ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 พบว่าพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 95 % ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 พบว่าพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 90 % ดินร่วน พบว่าพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 82 % ตามลำดับ และวัสดุปลูกที่มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำที่สุด คือวัสดุดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 72 % (ตารางที่ 4.4)



ภาพที่ 4.21 แสดงต้นเดหลีหลังการย้ายปลูกลงสภาพปลอดเชื้อ 12 สัปดาห์ โดยปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ดังนี้

T1 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วน

T2 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนผสมขี้เลื่อย

อัตราส่วน 1:1

T3 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนผสมขุยมะพร้าว

อัตราส่วน 1:1

T4 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ

อัตราส่วน 1:1

T5 = ปลูกในวัสดุปลูกทรายผสมดินร่วน

อัตราส่วน 1:1

T6 = ปลูกในวัสดุปลูกทรายผสมขี้เลื่อย

อัตราส่วน 1:1

T7 = ปลูกในวัสดุปลูกทรายผสมขุยมะพร้าว

อัตราส่วน 1:1

T8 = ปลูกในวัสดุปลูกขี้เถ้าแกลบผสมทราย

อัตราส่วน 1:1

T9 = ปลูกในวัสดุปลูกขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.22 แสดงลักษณะใบของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูกลงสภาพปลอดเชื้อ 12 สัปดาห์ โดยปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ดังนี้

T1 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วน

T2 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1

T3 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

T4 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1

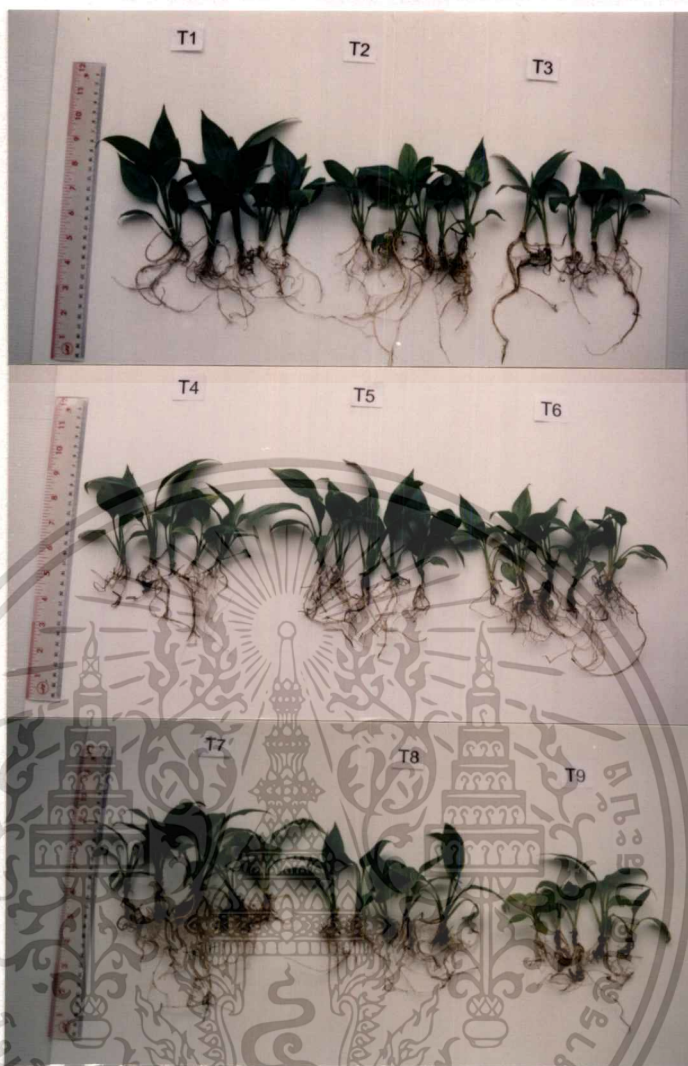
T5 = ปลูกในวัสดุปลูกทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1

T6 = ปลูกในวัสดุปลูกทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1

T7 = ปลูกในวัสดุปลูกทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

T8 = ปลูกในวัสดุปลูกขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1

T9 = ปลูกในวัสดุปลูกขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1



ภาพที่ 4.23 แสดงลักษณะต้นและรากของต้นแคหลินหลังจากย้ายออกปลูกลงสภาพปลอดเชื้อ 12 สัปดาห์ โดยปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ดังนี้

T1 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วน

T2 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1

T3 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

T4 = ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1

T5 = ปลูกในวัสดุปลูกทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1

T6 = ปลูกในวัสดุปลูกทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1

T7 = ปลูกในวัสดุปลูกทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

T8 = ปลูกในวัสดุปลูกขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1

T9 = ปลูกในวัสดุปลูกขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงผลเปอร์เซ็นต์การรอดตายของต้นเคหลินหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์ ในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ

วัสดุปลูก	เปอร์เซ็นต์การรอดตาย (%)
ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1	100 %
ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1	99 %
ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	98 %
ขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	98 %
ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1	96 %
ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1	95 %
ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1	90 %
ดินร่วน	82 %
ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1	72 %

จำนวนใบ

จากผลการทดลองพบว่า ในช่วง 4 สัปดาห์ที่ทำการย้ายปลูก วัสดุปลูกมีผลต่อจำนวนใบของพืชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$ โดยในช่วง 2 สัปดาห์แรกพบว่าใบที่โคนต้นพืชเป็นสีน้ำตาลแห้ง ยังไม่มีใบใหม่เกิดขึ้น โดยพบว่าพืชที่ปลูกในวัสดุทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 6.51 ใบ รองลงมาคือขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 และดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ามีจำนวนใบเฉลี่ยคือ 6.11, 6.02, 6.00, 5.90, 5.46, 5.38, 5.10 และ 4.31 ใบ ตามลำดับ

ส่วนในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าพืชที่ปลูกในทุกวัสดุปลูกมีจำนวนใบเฉลี่ยเพิ่มขึ้น พบว่าใบที่โคนต้นเริ่มแห้งและมีใบใหม่เพิ่มขึ้น โดยพบว่าวัสดุปลูกทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ยังคงให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 6.79 รองลงมาคือ ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น และดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ยังคงให้จำนวนใบเฉลี่ยน้อยที่สุด โดยพบว่ามีจำนวนใบเฉลี่ยคือ 6.55, 6.33, 6.30, 6.27, 6.03, 5.85, 5.60 และ 5.06 ใบ ตามลำดับ

หลังจากการย้ายปลูกเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าวัสดุปลูกมีผลต่อจำนวนใบเฉลี่ยของพืชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$ พบว่าในทุกวัสดุปลูก ใบมีสีเขียวเข้ม โดยพบว่าวัสดุ

ปลูกทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ยังคงให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 7.33 รองลงมาคือ ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น และดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ยังคงให้จำนวนใบเฉลี่ยน้อยที่สุด โดยพบว่ามีความจำนวนใบเฉลี่ยคือ 6.98, 6.79, 6.64, 6.56, 6.45, 6.42, 5.91 และ 5.77 ใบ ตามลำดับ

ในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าทุกวิธีการทดลองมีจำนวนใบเพิ่มขึ้น แต่พบว่าจำนวนใบเฉลี่ยของพืชที่ปลูกในวัสดุปลูกที่แตกต่างกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่าวัสดุปลูกทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ยังคงให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 7.48 รองลงมาคือ ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น และดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ยังคงให้จำนวนใบเฉลี่ยน้อยที่สุด โดยพบว่ามีความจำนวนใบเฉลี่ยคือ 7.26, 7.17, 7.13, 7.13, 6.98, 6.94, 6.42 และ 6.32 ใบ ตามลำดับ โดยพบว่าในวัสดุปลูก ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 พบว่าใบเริ่มมีอาการเหลือง และใบล่างเริ่มเป็นสีน้ำตาล

ในสัปดาห์ที่ 10 พบว่าจำนวนใบเฉลี่ยของพืชที่ปลูกในวัสดุปลูกที่แตกต่างกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่าพืชที่ปลูกในทุกวัสดุปลูกมีจำนวนใบเฉลี่ยเพิ่มขึ้น ยกเว้นพืชที่ปลูกในวัสดุทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 พบว่ามีความจำนวนใบเฉลี่ยลดลง โดยพบว่าในวัสดุทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ใบมีอาการเหลือง บางต้นพบว่าใบล่างเป็นสีน้ำตาลแห้งตาย และวัสดุขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 พบว่าใบเริ่มมีอาการเหลือง จากการทดลองพบว่าวัสดุปลูกดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 7.84 รองลงมาคือ ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ามีความจำนวนใบเฉลี่ยคือ 7.63, 7.59, 7.39, 7.20, 7.09, 6.96, 6.74 และ 6.71 ใบ ตามลำดับ

หลังจากการย้ายปลูกเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าจำนวนใบเฉลี่ยของพืชที่ปลูกในวัสดุปลูกที่แตกต่างกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่าพืชที่ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีจำนวนใบเฉลี่ยลดลง พบว่าใบที่โคนต้นเป็นสีเหลืองและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแห้งตาย ส่วนในวัสดุปลูกอื่นพบว่าไม่มีอาการนี้ เป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนใบเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จากการทดลองพบว่าวัสดุปลูกทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด คือ 7.97 รองลงมาคือ ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ยังคงมีจำนวนใบเฉลี่ยน้อยที่สุด โดยพบว่า มีจำนวนใบเฉลี่ยคือ 7.92, 7.58, 7.54, 7.31, 7.22, 6.88, 6.80 และ 6.36 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5)

ขนาดใบ

หลังจากการย้ายปลูกพืชในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าวัสดุปลูกมีผลต่อขนาดใบเฉลี่ยของพืชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$ โดยพบว่าในทุกวัสดุปลูกใบยังมีสีเขียวเข้ม ยกเว้นพืชที่ปลูกในทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 พบว่าใบเริ่มเหลืองและพบว่าบางต้นมีใบที่โคนต้นเป็นสีน้ำตาลแห้งตาย จากการทดลองพบว่าพืชที่ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่นมีขนาดใบ กว้าง x ยาว เฉลี่ยสูงสุด คือ 1.70×4.06 เซนติเมตร รองลงมาคือ ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่า มีขนาดใบเฉลี่ย คือ 1.73×3.88 , 1.60×3.46 , 1.34×3.36 , 1.29×3.14 , 1.22×2.75 , 1.18×2.87 , 1.19×2.79 และ 1.17×2.64 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6)

ความสูงต้น

จากการทดลองย้ายปลูกพืชในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าพืชมีความสูงเพิ่มขึ้นในแต่ละสัปดาห์ โดยในช่วง 6 สัปดาห์ที่ทำการย้ายปลูก พบว่าพืชมีความสูงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในช่วง 2 สัปดาห์แรกพบว่า พืชมีความแข็งแรงขึ้น ต้นมีลักษณะสดชื่น และพบว่าพืชที่ปลูกในวัสดุดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีความสูงเฉลี่ยสูงสุด คือ 3.49 เซนติเมตร รองลงมาคือทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ามีความสูงต้นเฉลี่ยคือ 3.26, 3.20, 3.17, 3.17, 3.15, 3.04, 3.03 และ 3.02 เซนติเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยจำนวนใบของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก

วัสดุปลูก	สัปดาห์ที่ ($\pm$ S.E.) ^{1/}					
	2	4	6	8	10	12
ดินร่วน	5.46 $\pm 0.62bcd^2$	5.60 $\pm 0.70cd^2$	5.91 $\pm 0.79bc^2$	6.42 $\pm 0.85a^2$	7.09 $\pm 1.07a^2$	7.58 $\pm 1.06a^2$
ดินร่วน: ขี้เลื่อย 1:1	6.00 $\pm 0.29abc$	6.33 $\pm 0.34abc$	6.45 $\pm 0.40abc$	6.94 $\pm 0.48a$	6.96 $\pm 0.57a$	6.88 $\pm 0.56a$
ดินร่วน : ขุยมะพร้าว 1:1	6.02 $\pm 0.11abc$	6.27 $\pm 0.11abc$	6.98 $\pm 0.18a$	7.17 $\pm 0.20a$	7.84 $\pm 0.18a$	7.92 $\pm 0.31a$
ดินร่วน : ขี้เถ้าแกลบ 1:1	4.31 $\pm 0.41e$	5.06 $\pm 0.37d$	5.77 $\pm 0.34c$	6.32 $\pm 0.35a$	6.74 $\pm 0.43a$	7.31 $\pm 0.12a$
ทราย:ดินร่วน 1:1	5.10 $\pm 0.20d$	5.85 $\pm 0.27bc$	6.42 $\pm 0.38abc$	7.13 $\pm 0.33a$	7.59 $\pm 0.36a$	7.97 $\pm 0.43a$
ทราย:ขี้เลื่อย 1:1	5.38 $\pm 0.21cd$	6.03 $\pm 0.22abc$	6.56 $\pm 0.19abc$	7.13 $\pm 0.21a$	7.39 $\pm 0.30a$	7.22 $\pm 0.37a$
ทราย:ขุยมะพร้าว 1:1	6.51 $\pm 0.21a$	6.79 $\pm 0.25a$	7.33 $\pm 0.29a$	7.48 $\pm 0.28a$	7.20 $\pm 0.38a$	6.80 $\pm 0.29a$
ขี้เถ้าแกลบ:ทราย 1:1	6.11 $\pm 0.25ab$	6.55 $\pm 0.27ab$	6.79 $\pm 0.39ab$	7.26 $\pm 0.36a$	7.63 $\pm 0.45a$	7.54 $\pm 0.45a$
ขี้เถ้าแกลบ : ขุยมะพร้าว1:1	5.90 $\pm 0.23abc$	6.30 $\pm 0.25abc$	6.64 $\pm 0.18abc$	6.98 $\pm 0.30a$	6.71 $\pm 0.33a$	6.36 $\pm 0.36a$
F-test	**	**	*	ns	ns	ns
CV. %	8.81 %	8.66 %	9.79 %	9.36 %	10.99 %	10.93 %

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น

2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P \leq 0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยขนาดใบของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์

วัสดุปลูก	ขนาดใบ (กว้าง x ยาว) ($\pm$ S.E.) ^{1/}
ดินร่วน	(1.70 $\pm$ 0.10) x (4.06 $\pm$ 0.22) a
ดินร่วน:ขี้เลื่อย 1:1	(1.34 $\pm$ 0.06) x (3.36 $\pm$ 0.30) bc
ดินร่วน:ขุยมะพร้าว 1:1	(1.29 $\pm$ 0.05) x (3.14 $\pm$ 0.13) bc
ดินร่วน:ขี้เถ้าแกลบ 1:1	(1.60 $\pm$ 0.15) x (3.46 $\pm$ 0.25) ab
ทราย:ดินร่วน 1:1	(1.73 $\pm$ 0.16) x (3.88 $\pm$ 0.23) a
ทราย:ขี้เลื่อย 1:1	(1.19 $\pm$ 0.06) x (2.79 $\pm$ 0.30) c
ทราย:ขุยมะพร้าว 1:1	(1.18 $\pm$ 0.04) x (2.87 $\pm$ 0.24) c
ขี้เถ้าแกลบ:ทราย 1:1	(1.22 $\pm$ 0.12) x (2.75 $\pm$ 0.32) c
ขี้เถ้าแกลบ:ขุยมะพร้าว 1:1	(1.17 $\pm$ 0.08) x (2.64 $\pm$ 0.31) c
F-test	**
CV. %	30.90 %

- 1/ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น
- 2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test
- ** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าพืชที่ปลูกในทุกวัสดุปลูกมีลักษณะสดชื่น ต้นเป็นสีเขียวเข้ม และมีความสูงเพิ่มขึ้น โดยพบว่าพืชที่ปลูกในวัสดุดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ยังคงมีความสูงเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 3.57 เซนติเมตร รองลงมาคือดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ามีความสูงต้นเฉลี่ยคือ 3.43, 3.37, 3.31, 3.29, 3.24, 3.21, 3.11 และ 3.10 เซนติเมตร ตามลำดับ

หลังจากการย้ายปลูกเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าพืชที่ปลูกในทุกวัสดุมีความสูงเพิ่มขึ้น โดยพบว่าพืชที่ปลูกในวัสดุดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 มีความสูงเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 3.74 เซนติเมตร รองลงมาคือดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ทราายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทราายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทราายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมทราาย อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ามีความสูงต้นเฉลี่ยคือ 3.67, 3.63, 3.61, 3.44, 3.40, 3.35, 3.19 และ 3.13 เซนติเมตร ตามลำดับ

หลังจากการย้ายปลูกเป็นเวลา 8-12 สัปดาห์ พบว่าพืชที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูกที่แตกต่างกันมีความสูงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$ ในสัปดาห์ที่ 8 หลังการย้ายปลูก พบว่าพืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และมีความสูงเพิ่มขึ้นในทุกวัสดุปลูก โดยพบว่าพืชที่ปลูกในวัสดุปลูกดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น มีความสูงของต้นมากที่สุด คือ 4.21 เซนติเมตร รองลงมาคือทราายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทราายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทราายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมทราาย อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ามีความสูงต้นเฉลี่ยคือ 4.19, 4.08, 4.06, 3.83, 3.65, 3.49, 3.99 และ 3.33 เซนติเมตร ตามลำดับ

ในสัปดาห์ที่ 10 พบว่าต้นพืชที่ปลูกในทุกวัสดุปลูกมีความสูงเพิ่มขึ้น ต้นมีความแข็งแรง ลำต้นใหญ่ มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด โดยพบว่าพืชที่ปลูกในวัสดุปลูกทราายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 มีความสูงของต้นมากที่สุด คือ 4.73 เซนติเมตร รองลงมาคือ ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทราายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมทราาย อัตราส่วน 1:1 ทราายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ามีความสูงต้นเฉลี่ยคือ 4.69, 4.59, 4.51, 3.95, 3.88, 3.65, 3.61 และ 3.43 เซนติเมตร ตามลำดับ

ส่วนการเจริญเติบโตของพืชหลังการย้ายปลูกเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าพืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ความสูงของพืชแตกต่างกันไปในแต่ละวัสดุปลูก โดยพบว่าวัสดุปลูกดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่นมีผลทำให้พืชมีความสูงมากที่สุด คือ 5.12 เซนติเมตร รองลงมาคือ ทราายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทราายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมทราาย อัตราส่วน 1:1 ทราายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ามีความสูงต้นเฉลี่ยคือ 4.96, 4.93, 4.75, 4.15, 3.97, 3.70, 3.67 และ 3.54 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยความสูงของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก

วัสดุปลูก	สัปดาห์ที่ (± S.E.) ^{1/}					
	2	4	6	8	10	12
ดินร่วน	3.20 ±0.10 a ^{2/}	3.43 ±0.20 a ^{2/}	3.67 ±0.28 a ^{2/}	4.21 ±0.35 a ^{2/}	4.69 ±0.41 a ^{2/}	5.12 ±0.39 a ^{2/}
ดินร่วน:ขี้เถ้า 1:1	3.03 ±0.16 a	3.37 ±0.17 a	3.44 ±0.20 a	3.83 ±0.24abc	3.95 ±0.26 b	4.15 ±0.27 b
ดินร่วน:ขุยมะพร้าว 1:1	3.49 ±0.13 a	3.57 ±0.20 a	3.63 ±0.22 a	4.08 ±0.19 ab	4.51 ±0.21 a	4.75 ±0.23 a
ดินร่วน:ขี้เถ้าแกลบ 1:1	3.15 ±0.13 a	3.24 ±0.21 a	3.74 ±0.29 a	4.06 ±0.23 ab	4.59 ±0.26 a	4.93 ±0.24 a
ทราย:ดินร่วน 1:1	3.26 ±0.18 a	3.31 ±0.09 a	3.61 ±0.19 a	4.19 ±0.18 a	4.73 ±0.21 a	4.96 ±0.20 a
ทราย:ขี้เถ้า 1:1	3.17 ±0.16 a	3.29 ±0.21 a	3.40 ±0.20 a	3.65 ±0.23bcd	3.88 ±0.31 b	3.97 ±0.24 bc
ทราย:ขุยมะพร้าว 1:1	3.17 ±0.15 a	3.21 ±0.19 a	3.35 ±0.19 a	3.49 ±0.25 cd	3.61 ±0.21 b	3.67 ±0.23 bc
ขี้เถ้าแกลบ:ทราย 1:1	3.04 ±0.24 a	3.11 ±0.21 a	3.19 ±0.21 a	3.39 ±0.22 cd	3.65 ±0.29 b	3.70 ±0.36 bc
ขี้เถ้าแกลบ:ขุยมะพร้าว 1:1	3.02 ±0.17 a	3.10 ±0.29 a	3.13 ±0.22 a	3.33 ±0.37 d	3.43 ±0.36 b	3.54 ±0.36 c
F-test	ns	ns	ns	**	**	**
CV. %	8.12 %	7.75 %	10.76 %	8.96 %	9.90 %	9.45 %

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น

2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P ≤ 0.05) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ P ≤ 0.05

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ P ≤ 0.01

จำนวนยอดใหม่ที่เกิดขึ้น

หลังจากการย้ายพืชออกปลูกนอกสภาพปลอดเชื้อในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า จำนวนของยอดใหม่ที่เกิดขึ้นในทุกวัสดุปลูกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ จากการทดลองพบว่าวัสดุปลูกดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 เกิดยอดใหม่เฉลี่ยสูงที่สุด คือ 1.13 ยอดต่อต้น รองลงมาคือ ขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 และขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่าเกิดยอดใหม่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยคือ 1.11, 1.10, 1.10, 1.1, 1.07, 1.06, 1.05 และ 1.04 ยอดต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8)

จำนวนราก

หลังจากการย้ายปลูกเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าจำนวนของรากในทุกวัสดุปลูกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ จากการทดลองพบว่าวัสดุปลูกดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 8.63 รากต่อต้น รองลงมาคือ ขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ามีความยาวรากเฉลี่ยเฉลี่ยคือ 7.98, 7.76, 7.52, 7.24, 6.88, 6.72, 6.00 และ 5.96 รากต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9)

ความยาวราก

จากการย้ายปลูกพืชนอกสภาพปลอดเชื้อในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าพืชที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูกที่แตกต่างกันมีความยาวรากแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ $P \leq 0.05$ ลักษณะรากของพืชจากวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ มีลักษณะคล้ายกัน คือรากมีสีขาว อวบ มีรากฝอยจำนวนมากและขาดง่าย จากการทดลองพบว่าพืชที่ปลูกในวัสดุปลูกทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด คือ 8.36 เซนติเมตร รองลงมาคือ ดินร่วนผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 ขี้เถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุอื่น และขี้เถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ามีความยาวรากเฉลี่ยคือ 6.99, 6.79, 6.55, 6.14, 6.08, 5.87, 5.75 และ 5.11 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.8 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยจำนวนยอดของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์

วัสดุปลูก	จำนวนยอดใหม่ (± S.E.) ^{1/}
ดินร่วน	1.06 ± 0.03 a ^{2/}
ดินร่วน:ขี้เลื่อย 1:1	1.13 ± 0.03 a
ดินร่วน:ขุยมะพร้าว 1:1	1.05 ± 0.02 a
ดินร่วน:ขี้เถ้าแกลบ 1:1	1.10 ± 0.04 a
ทราย:ดินร่วน 1:1	1.07 ± 0.02 a
ทราย:ขี้เลื่อย 1:1	1.10 ± 0.05 a
ทราย:ขุยมะพร้าว 1:1	1.10 ± 0.04 a
ขี้เถ้าแกลบ:ทราย 1:1	1.04 ± 0.03 a
ขี้เถ้าแกลบ:ขุยมะพร้าว 1:1	1.11 ± 0.04 a
F-test	ns
CV. %	6.59 %

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น

2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P ≤ 0.05) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ P ≤ 0.05

ตารางที่ 4.9 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยจำนวนรากของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก
12 สัปดาห์

วัสดุปลูก	จำนวนราก (± S.E.) ^{1/}
ดินร่วน	7.24 ± 0.96 a ^{2/}
ดินร่วน:ขี้เถ้า 1:1	7.76 ± 0.44 a
ดินร่วน:ขุยมะพร้าว 1:1	6.72 ± 0.65 a
ดินร่วน:ขี้เถ้าแกลบ 1:1	8.63 ± 1.57 a
ทราย:ดินร่วน 1:1	5.96 ± 0.71 a
ทราย:ขี้เถ้า 1:1	7.52 ± 0.78 a
ทราย:ขุยมะพร้าว 1:1	6.88 ± 0.42 a
ขี้เถ้าแกลบ:ทราย 1:1	6.00 ± 0.72 a
ขี้เถ้าแกลบ:ขุยมะพร้าว 1:1	7.98 ± 1.17 a
F-test	ns
CV. %	24.26 %

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น
2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
(P ≤ 0.05) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test
ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ P ≤ 0.05

ตารางที่ 4.10 แสดงผลของวัสดุปลูกที่มีต่อค่าเฉลี่ยความยาวรากของต้นเดหลีหลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์

วัสดุปลูก	ความยาวราก (± S.E.) ^{1/}
ดินร่วน	5.75 ± 0.40 b ^{2/}
ดินร่วน:ขี้เลื่อย 1:1	6.79 ± 0.69 ab
ดินร่วน:ขุยมะพร้าว 1:1	6.99 ± 0.87 ab
ดินร่วน:ขี้เถ้าแกลบ 1:1	5.87 ± 0.41 b
ทราย:ดินร่วน 1:1	6.14 ± 0.50 b
ทราย:ขี้เลื่อย 1:1	6.55 ± 0.47 ab
ทราย:ขุยมะพร้าว 1:1	8.36 ± 0.19 a
ขี้เถ้าแกลบ:ทราย 1:1	5.11 ± 0.81 b
ขี้เถ้าแกลบ:ขุยมะพร้าว 1:1	6.08 ± 0.84 b
F-test	*
CV. %	21.48 %

- 1/ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น
- 2/ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P ≤ 0.05) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test
- * มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ P ≤ 0.05

4.7 การผลิตเดหลีใบมันให้ปลอดเชื้อไวรัส โดยการใช้สารเคมีร่วมกับการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ

ทำการทดลองโดยนำต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มีความสูงประมาณ 2-3 เซนติเมตร มาทำการเปลี่ยนอาหารลงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมียับยั้งเชื้อไวรัสชนิดต่าง ๆ คือ 1-Adamantanamine hydrochloride, 6- Azauracil และ 2-Thiouracil ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการแยกต้นที่ได้เลี้ยงลงในขวด ขวดละ 1 ต้น โดยแบ่งเป็นความเข้มข้นละ 20 ขวด ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน เมื่อครบกำหนดแล้วจึงทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส DMV โดยวิธี ELISA ถ้าพบว่าสารเคมีใดสามารถลดปริมาณของเชื้อ

ไวรัสลงได้และพืชสามารถทนอยู่ได้ก็จะทำการทดลองเลี้ยงพืชในสารเคมีนั้นโดยเพิ่มความเข้มข้นเป็น 125 มิลลิกรัมต่อลิตร และเพิ่มเวลาในการเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

การทดลองเลี้ยงพืชในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าได้ผลดังนี้

1. ต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมี 1- Adamantanamine hydrochloride

ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากเลี้ยงพืชเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าพืชมีลักษณะเขียวสด ใบมีสีเขียวเข้ม พืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และพบอาการใบด่างสีเขียวอ่อนเหมือนกับอาการของพืชที่เลี้ยงนอกสภาพปลอดเชื้อ (ภาพที่ 4.24 ก) และเมื่อตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 4 เท่ากัน คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง

ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากทดลองเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าต้นพืชมีลักษณะคล้ายกับต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่ผสมสารเคมี คือพืชมีลักษณะเขียวสด ใบมีสีเขียวเข้ม พืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.24 ข) และจากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทำการทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 4 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง

ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากการทดลอง พบว่าต้นพืชมีลักษณะเขียวสด ใบมีสีเขียวเข้ม บางต้นพบว่าใบล่างเป็นสีเหลืองและแห้งตาย (ภาพที่ 4.24 ค) และจากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในพืชที่นำมาทดลองจำนวน 20 ต้น พบว่ามี 17 ต้นที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 4 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง และพบว่ามี 3 ต้น ที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 3 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง

ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากเลี้ยงพืชเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าต้นพืชมีอาการเหลืองเล็กน้อย พบว่าใบล่างเป็นสีเหลืองและบางใบแห้งตาย (ภาพที่ 4.24 ง) ส่วนการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในพืชที่นำมาทดลองจำนวน 20 ต้น พบว่ามี 15 ต้นที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 4 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง และพบว่ามี 5 ต้น ที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 3 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการทดลอง พบว่าต้นพืชมีอาการเหลืองเล็กน้อย ใบม้วนงอและมีอาการเหลืองโดยเฉพาะใบล่างพบว่าใบเป็นสีเหลืองมากและบางใบแห้งตาย แต่ใบยอดยังมีลักษณะเขียวสด (ภาพที่ 4.24 จ) และเมื่อตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทำการทดลองมี



ภาพที่ 4.24 แสดงลักษณะของต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี

1-Adamantanamine hydrochloride ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 เดือน

- ก. ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ข. ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 3 เท่ากัน คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง

2. ต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมี 6-Azauracil

ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองพบว่า พืชมีลักษณะเขียวสด ใบมีสีเขียวเข้ม และพบอาการใบด่างสีเขียวอ่อนเหมือนกับอาการของพืชที่เลี้ยงนอกสภาพปลอดเชื้อ (ภาพที่ 4.25 ก) และเมื่อตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 4 เท่ากัน คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง

ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากเลี้ยงพืชเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าต้นพืชมีลักษณะคล้ายกับต้นพืชที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่เติมสารเคมี คือต้นมีลักษณะสด ใบมีสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 4.25 ข) และจากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 4 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง

ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

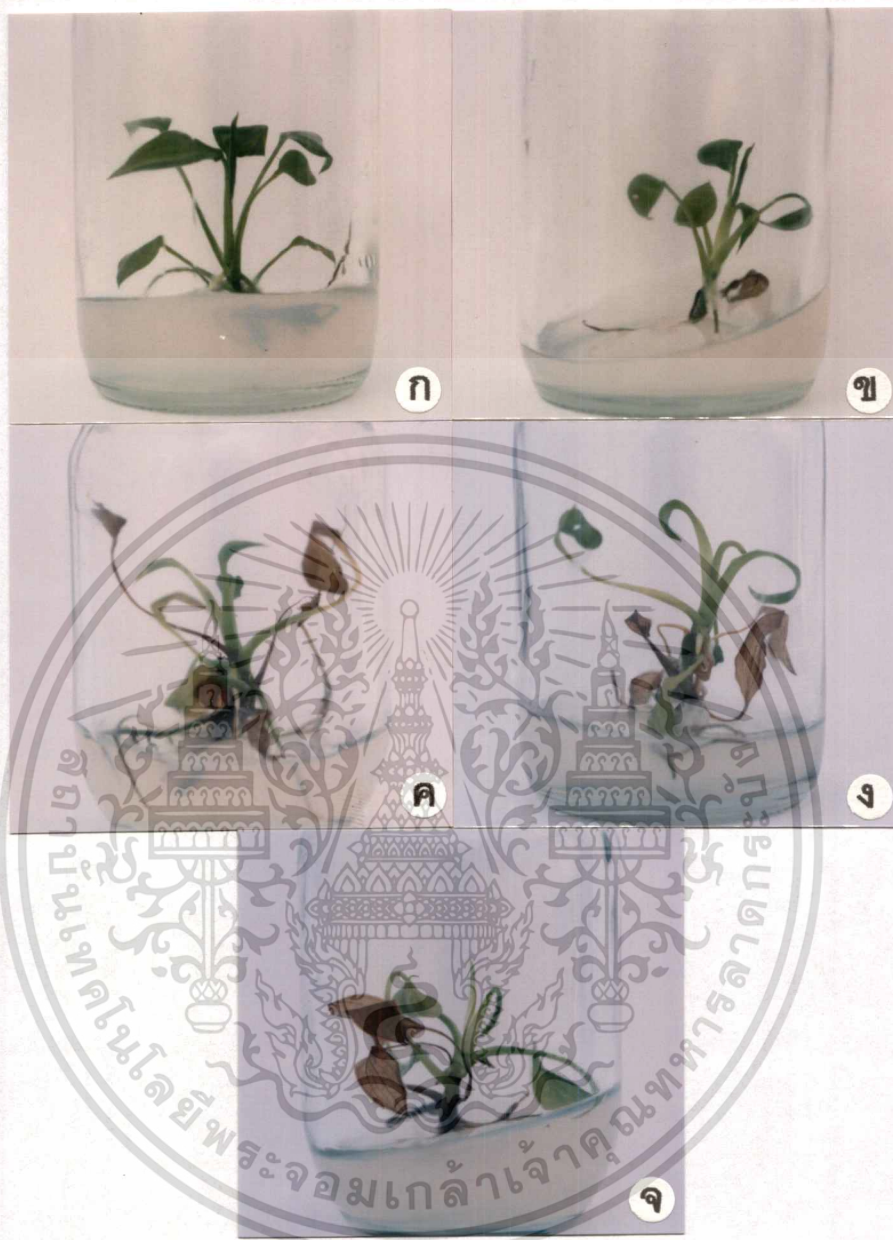
หลังจากการทดลอง พบว่าต้นพืชยังมีลักษณะสด ใบมีสีเขียวเข้ม แต่พบว่าใบล่างเป็นสีเหลืองมาก และบางต้นพบว่าใบล่างมีอาการเหลืองและแห้งตายในที่สุด (ภาพที่ 4.25 ค) ส่วนการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในพืชที่นำมาทดลองจำนวน 20 ต้น พบว่ามี 15 ต้นที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 4 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง และพบว่ามี 5 ต้น ที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 3 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง

ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากเลี้ยงพืชเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าต้นพืชเริ่มมีอาการเหลือง โดยเฉพาะบริเวณเส้น vein มีสีเหลืองชัด ใบมีม้วนงอ และพบว่าใบล่างมีลักษณะแห้งตาย แต่ยอดที่เพิ่งเกิดมีสีเขียวสด (ภาพที่ 4.25 ง) ส่วนการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 3 เท่ากัน คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการทดลอง พบว่าต้นมีอาการเหลือง ใบล่างมีอาการเหลืองทั้งใบและบางใบเป็นสีน้ำตาลแห้งตาย (ภาพที่ 4.25 จ) และเมื่อตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 3 เท่ากัน คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง



ภาพที่ 4.25 แสดงลักษณะของต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี

6-Azauracil ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 เดือน

- ก. ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ข. ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ค. ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ง. ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร
- จ. ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil

ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากเลี้ยงพืชเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าพืชมีลักษณะเขียวสด ใบมีสีเขียวเข้ม และพบอาการใบด่างสีเขียวย่นเหมือนกับอาการของพืชที่เลี้ยงนอกสภาพปลอดเชื้อ (ภาพที่ 4.26 ก) และเมื่อตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทำการทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 4 เท่ากัน คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง

ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากทดลองเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าต้นพืชเริ่มมีอาการเหลือง โดยเฉพาะใบล่างมีอาการเหลืองมาก และบางใบเป็นสีน้ำตาลแห้งตาย (ภาพที่ 4.26 ข) ส่วนการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในพืชที่นำมาทำการทดลองจำนวน 20 ต้น พบว่ามี 1 ต้นที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 4 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง และพบว่ามี 19 ต้น ที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 3 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง

ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากการทดลอง พบว่าต้นพืชมีลักษณะเหลืองเกือบทั้งต้น แต่ใบอ่อนที่เพิ่งเกิดใหม่มียังมีลักษณะเขียวสด (ภาพที่ 4.26 ค) และเมื่อตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทำการทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 2 เท่ากัน คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ

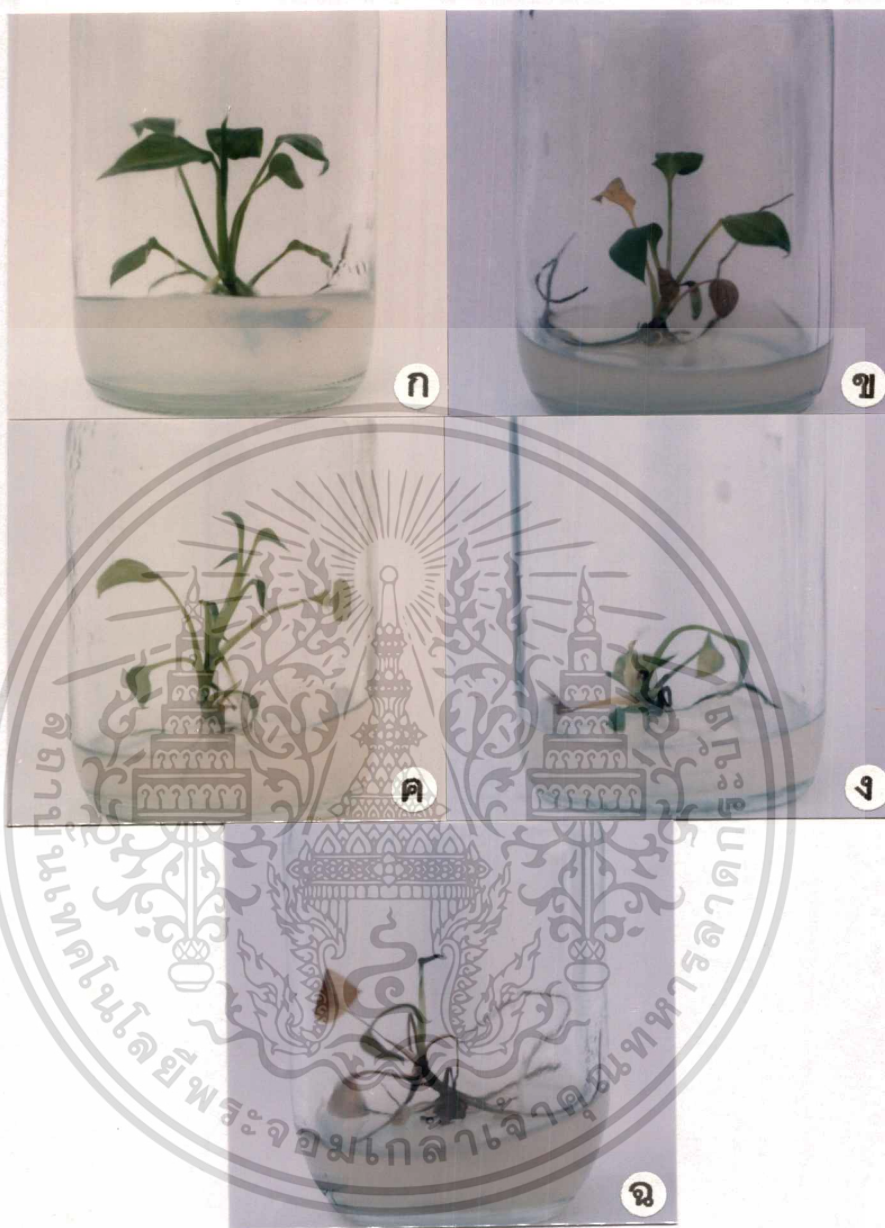
ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากเลี้ยงพืชเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าต้นพืชมีอาการเหลืองทั้งต้น ใบม้วนงอลง และยอดมีสีเหลือง (ภาพที่ 4.26 ง) ส่วนการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในพืชที่นำมาทดลองจำนวน 20 ต้น พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทำการทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 2 เท่ากัน คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากการทดลองพบว่าใบของต้นพืชเป็นสีน้ำตาลแห้งตายเกือบทั้งต้น ลำต้นเป็นสีเหลือง แต่พบว่ายอดยังมีสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 4.26 จ) และเมื่อตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 2 เท่ากัน คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ

ระดับการเกิดปฏิกิริยา จากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA จากพืชทดลองที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และ ภาพที่ 4.27



ภาพที่ 4.26 แสดงลักษณะของต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี

2-Thiouracil ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 เดือน

ก. ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข. ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

ค. ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ง. ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร

จ. ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

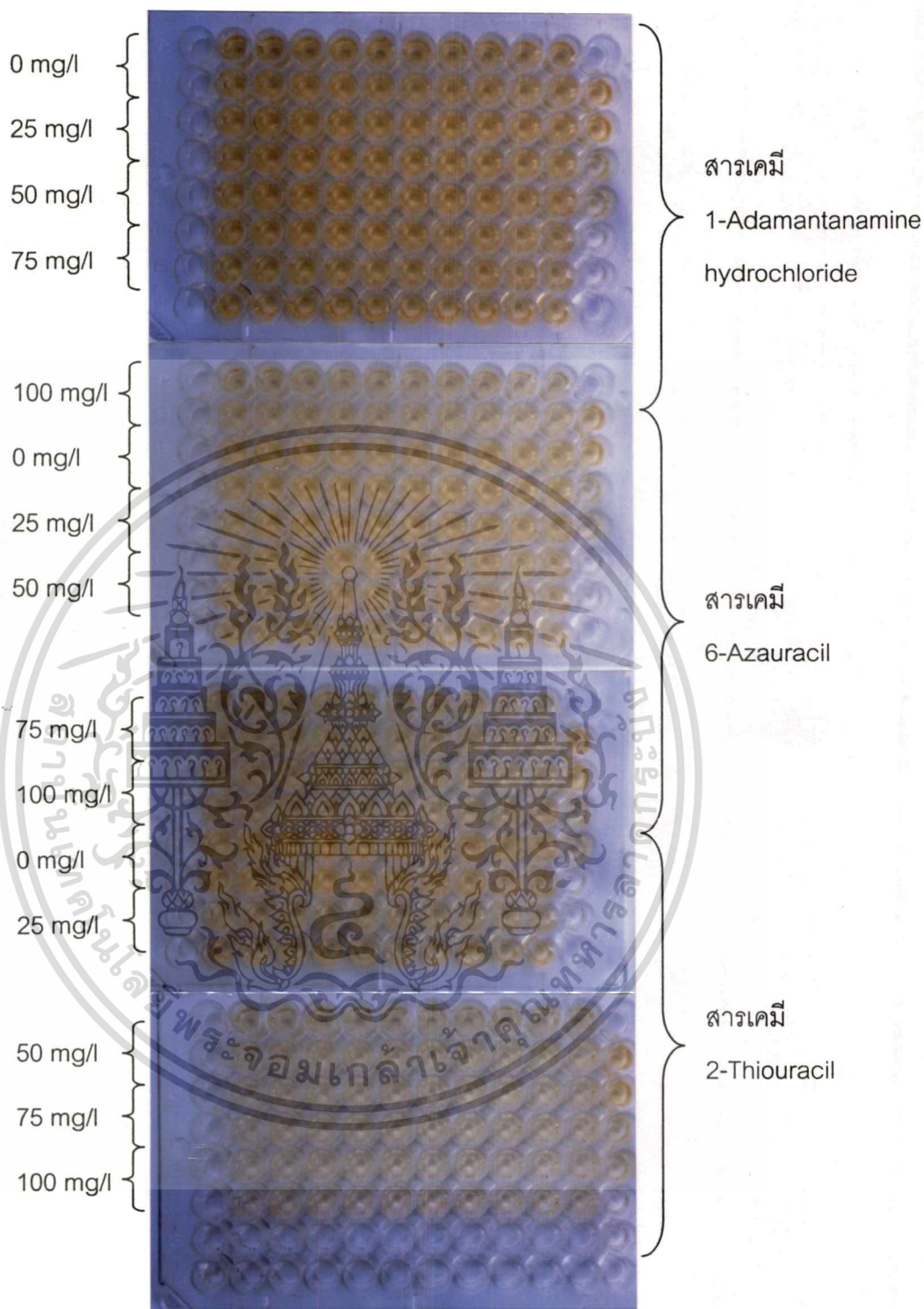
ตารางที่ 4.11 แสดงระดับการเกิดปฏิกิริยา จากการตรวจสอบปริมาณ ของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA จากต้นเตลีสไบนันที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

สารเคมี	ความเข้มข้น (mg/l)	ระดับการเกิดปฏิกิริยา	จำนวนตัวอย่างที่เกิดปฏิกิริยา	จำนวน % การเกิดปฏิกิริยา (%)	จำนวน % การตาย (%)
1) 1-Adamantanamine hydrochloride	0 (control)	4 ^{1/}	20	100	-
	25	4	20	100	-
	50	4	17	85	-
		3 ^{2/}	3	15	
	75	4	15	75	-
2) 6-Azauracil		3	5	25	
	100	3	20	100	-
	0 (control)	4	20	100	-
	25	4	20	100	-
	50	4	15	75	-
3) 2-Thiouracil		3	5	25	
	75	3	20	100	-
	100	3	20	100	-
	0 (control)	4	20	100	-
	25	4	1	5	-
		3	19	95	
	50	2 ^{3/}	20	100	-
	75	2	20	100	-
	100	2	20	100	-

1/ = เกิดปฏิกิริยาเป็นสีเหลืองเข้ม หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง

2/ = เกิดปฏิกิริยาเป็นสีเหลือง หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง

3/ = เกิดปฏิกิริยาเป็นสีเหลืองอ่อน หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ



ภาพที่ 4.27 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดจากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA จากพืชทดลองที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองเลี้ยงพืชในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าได้ผลดังนี้

1. ต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมี 1-Adamantanamine hydrochloride

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากเลี้ยงพืชโดยเพิ่มเวลาเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าต้นพืชมีอาการเหลืองเล็กน้อย และพบว่าใบล่างของพืชเป็นสีเหลืองและบางใบเป็นสีน้ำตาลแห้งตาย แต่ยอดที่เพิ่งเกิดมีลักษณะเขียวสด (ภาพที่ 4.28 ก) และเมื่อตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส พบว่าพืชทั้ง 20 ต้นที่นำมาทดลองมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 3 เท่ากัน คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง

ความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการทดลองพบว่า ต้นพืชมีลักษณะไม่สด มีอาการเหลืองเล็กน้อย ใบล่างเป็นสีเหลือง แต่ยอดมีลักษณะสดมีสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 4.28 ข) ส่วนการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในพืชที่นำมาทำการทดลองจำนวน 20 ต้น พบว่ามี 19 ต้นที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 3 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง และพบว่ามี 1 ต้น ที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 2 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ

2. ต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมี 6-Azauracil

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากเลี้ยงพืชเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าต้นพืชมีลักษณะไม่สด ใบมีอาการเหลือง ใบม้วนงอ และพบว่าใบล่างมีลักษณะแห้งตาย แต่ใบอ่อนที่ยังไม่คลี่มีสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 4.28 ค) ส่วนการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในพืชที่นำมาทำการทดลองจำนวน 20 ต้น พบว่ามี 18 ต้นที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 2 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ และพบว่ามีต้นตายจำนวน 2 ต้น

ความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการทดลอง พบว่าต้นลักษณะไม่สด มีอาการเหลืองทั้งต้น โดยเฉพาะใบล่างมีอาการเหลืองมากและบางใบเป็นสีน้ำตาลแห้งตาย (ภาพที่ 4.28 ง) ส่วนการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในพืชที่นำมาทำการทดลองจำนวน 20 ต้น พบว่ามี 15 ต้นที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 1 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก และพบว่ามีต้นตายจำนวน 5 ต้น

3. ต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil

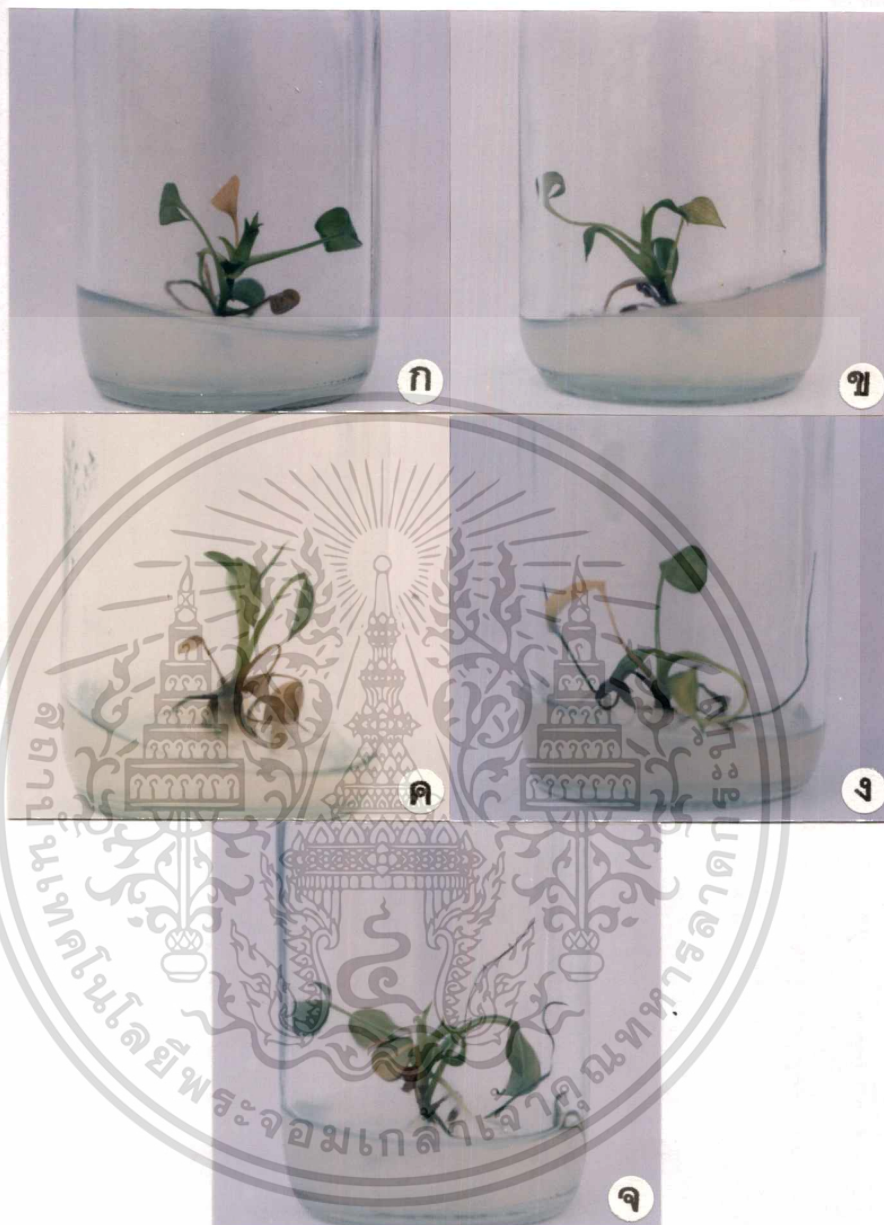
ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากเลี้ยงพืชเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าต้นพืชมีอาการเหลือง โดยเฉพาะใบล่างพบว่าเป็นสีเหลืองทั้งใบ ใบม้วนงอลงมา แต่ใบยอดที่เพิ่งเกิดใหม่ยังมีลักษณะเขียวสด (ภาพที่ 4.28 จ) และเมื่อตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในพืชที่นำมาทำการทดลองจำนวน 20 ต้น พบว่ามี 14 ต้นที่มีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 1 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก และพบว่ามี 2 ต้นที่ปลอด

โรคไวรัส และพบว่ามีต้นตายจำนวน 5 ต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.28 แสดงลักษณะของต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 2 เดือน

- ก. สารเคมี 1 - Adamantanamine hydrochloride ความเข้มข้น 100 mg/l
- ข. สารเคมี 1 - Adamantanamine hydrochloride ความเข้มข้น 125 mg/l
- ค. สารเคมี 6 - Azauracil ความเข้มข้น 100 mg/l
- ง. สารเคมี 6 - Azauracil ความเข้มข้น 125 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์สงวนของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

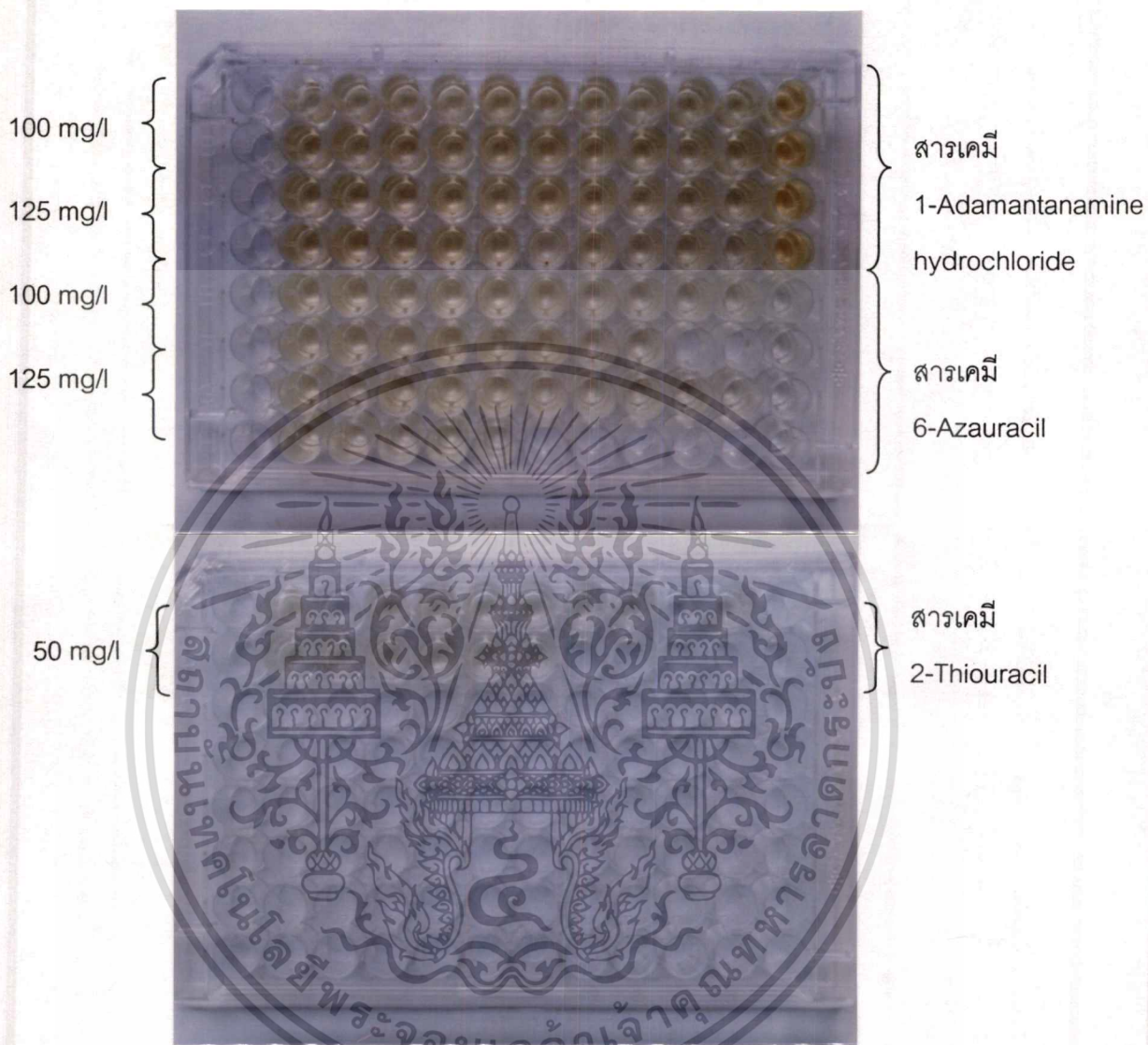
ระดับการเกิดปฏิกิริยา จากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA จากพืชทดลองที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน ดังแสดงในตารางที่ 4.12 และ ภาพที่ 4.29

และเมื่อนำต้นที่พบว่าปลอดโรคจำนวน 2 ต้นไปทำการเลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่ผสมสารเคมีเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าพืชมีการฟื้นตัวและมีการเจริญดีขึ้น ต้นเป็นสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 4.30 - 4.31) จากนั้นทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสอีกครั้ง พบว่าทั้ง 2 ต้นมีปริมาณของเชื้อไวรัสเพิ่มขึ้นอยู่ในระดับ 1 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสน้อยมาก (ภาพที่ 4.32)

ตารางที่ 4.12 แสดงจำนวนระดับการเกิดปฏิกิริยา จากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA จากต้นเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

สารเคมี	ความเข้มข้น (mg/l)	ระดับการเกิดปฏิกิริยา	จำนวนตัวอย่างที่เกิดปฏิกิริยา	จำนวน % การเกิดปฏิกิริยา (%)	จำนวน ต้นตาย	จำนวน % การตาย (%)	จำนวน % การปลอดโรค (%)
1-Adamantanamine hydrochloride	100	3 ^{1/}	20	100	-	-	-
	125	3 2 ^{2/}	19 1	95 5	- -	- -	- -
6-Azauracil	100	2	18	90	2	10	-
	125	1 ^{3/}	15	75	5	25	-
2-thiouracil	50	1	14	70	4	20	10
		0 ^{4/}	2	10			

- 1/ = เกิดปฏิกิริยาเป็นสีเหลือง หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง
- 2/ = เกิดปฏิกิริยาเป็นสีเหลืองอ่อน หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ
- 3/ = เกิดปฏิกิริยาเป็นสีเหลืองอ่อนมาก หมายถึง มีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำมาก
- 4/ = ไม่เกิดสี หมายถึง ไม่พบปริมาณของเชื้อไวรัส



ภาพที่ 4.29 แสดงผลของปฏิกิริยาที่เกิดจากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA จากพืชทดลองที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

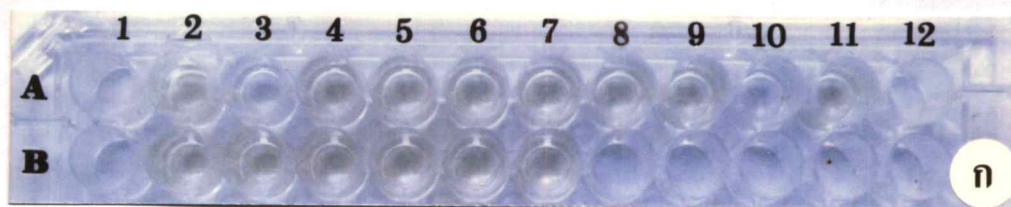


ภาพที่ 4.30 แสดงลักษณะอาการของต้นเดหลีใบมันตันที่ 1 ที่พบว่าปลอดเชื้อไวรัส จากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil เข้มข้น 50 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS อีกเป็นเวลา 3 เดือน



ภาพที่ 4.31 แสดงลักษณะอาการของต้นเดหลีใบมันตันที่ 2 ที่พบว่าปลอดเชื้อไวรัส จากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil เข้มข้น 50 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS อีกเป็นเวลา 3 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.32 แสดงการเปรียบเทียบปฏิกิริยาที่เกิดจากการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA จากพืชทดลองหลังจากที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil ความเข้มข้น 50 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน และภายหลังจากที่ย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS อีกเป็นเวลา 3 เดือน แล้วนำมาตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสอีกครั้ง

ก. แถว A3 และ A10 คือ พืชทดสอบจำนวน 2 ต้นที่พบว่าปลอดเชื้อไวรัสหลังจากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil ความเข้มข้น 50 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน

ข. แถว B1 และ B2 คือ พืชทดสอบจำนวน 2 ต้นที่พบว่าปลอดเชื้อไวรัสหลังจากการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมี 2-Thiouracil ความเข้มข้น 50 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS อีกเป็นเวลา 3 เดือน แล้วนำมาตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสอีกครั้ง พบว่ามีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับต่ำมาก โดยที่

หลุม A1 - A2 คือ disease control ของเชื้อ DMV

หลุม A3 - A4 คือ enzyme control

หลุม A5 - A6 คือ substrate control

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจอาการคล้ายโรคไวรัสที่เกิดบนไม้ประดับสกุล *Spathiphyllum* spp. พบว่า เดหลีใบมัน (*Spathiphyllum wallisii*) ใบมีลักษณะต่างสีเขียวเข้มสลับกับสีเขียวอ่อนอาการต่างจะเป็นแถบขนานไปตามเส้นใบ โดยแสดงอาการใบต่างอย่างรุนแรงกับใบอ่อนที่เกิด แต่อาการต่างจะสังเกตได้ยากขึ้นเมื่อเป็นใบแก่ ส่วนเดหลีใบกล้วย (*Spathiphyllum cannaefolium*) พบว่าแสดงอาการต่างบนใบอ่อนเห็นได้อย่างชัดเจน อาการต่างที่เกิดขึ้นมีลักษณะต่างเป็นแถบประสีเขียวย่อมนสลับเขียวขนานไปตามเส้นใบ สามารถเห็นอาการได้ชัดเจนบนใบอ่อนที่เพิ่งคลี่และอาการต่างจะค่อย ๆ มีสีเขียวเข้มขึ้นทำให้สังเกตเห็นอาการได้ยากขึ้นเมื่อเป็นใบแก่

จากการศึกษาอาการของโรคไวรัสพบว่าเดหลีพันธุ์ต่างกันจะมีการแสดงอาการที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสที่ต่าง strain กัน ซึ่งจะมีพันธุกรรมความรุนแรงของเชื้อที่ต่างกันทำให้พืชแสดงอาการที่แตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับความรุนแรงของเชื้อนั้น นอกจากนี้การแสดงอาการของเชื้อไวรัสยังขึ้นอยู่กับพันธุ์ของพืช พันธุ์พืชที่ต่างกันก็จะมีความอ่อนแอต่อโรคต่างกันด้วย เนื่องมาจากลักษณะพันธุกรรมที่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ หรือทำให้เกิดอาการที่แตกต่างกันออกไป (นวลพรรณ งามยี่สุน. 2539)

นอกจากนี้ยังพบว่าความรุนแรงของอาการที่แสดงออกนั้นจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูง คือในช่วงเดือนมิถุนายน (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.5°C) พืชแสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสน้อย ในขณะที่อุณหภูมิต่ำลง คือในเดือนสิงหาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.2°C) และในเดือนธันวาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 27.4°C) พืชแสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสรุนแรงมากขึ้นตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจสอบปริมาณของไวรัสที่ได้ด้วยวิธี Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) ซึ่งทำการตรวจสอบออกเป็น 3 ระยะ คือในเดือนมิถุนายน สิงหาคมและธันวาคมตามลำดับ จากการทดลองพบว่าปริมาณของเชื้อไวรัสแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์พืช และในพืชพันธุ์เดียวกันก็มีปริมาณของเชื้อไวรัสแตกต่างกันในแต่ละต้น การตรวจสอบหาเชื้อ DMV ในเดือนมิถุนายนโดยทดลองใช้ความเข้มข้นของเซรุ่มที่นำมาตรวจสอบเป็น 1:10 และ 1:50 ในเดหลีใบมันและเดหลีใบกล้วย พบว่าทุกตัวอย่างมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 3 เท่ากันคือมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง เมื่อตรวจสอบโดยใช้ความเข้มข้นของเซรุ่มเป็น 1:10 และพบว่าทุกตัวอย่างมีปริมาณของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับ 2 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสน้อย เมื่อตรวจสอบโดยใช้ความเข้มข้นของเซรุ่มเป็น 1:50 ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของเซรุ่มเป็น 1:10 มาใช้ในการตรวจสอบครั้งต่อไปเพื่อจะได้เห็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน ส่วนการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในเดือนสิงหาคมและธันวาคมในเดหลีใบมันและเดหลีใบกล้วย พบว่ามีปริมาณของเชื้อไวรัสเท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสเฉลี่ยอยู่ในระดับ 3 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลางและเพิ่มสูงขึ้นเป็นระดับ 4 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูงเมื่อตรวจสอบในเดือนสิงหาคมและเดือนธันวาคม ตามลำดับ

ส่วนการตรวจสอบปริมาณของเชื้อ CMV โดยใช้ความเข้มข้นของเซรัมเชื้อ CMV เป็น 1:200 เมื่อตรวจสอบในเดือนมิถุนายนพบว่าเชื้อทั้งสองพันธุ์มีปริมาณของเชื้อไวรัสเฉลี่ยอยู่ในระดับ 2 เท่ากันคือมีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ ส่วนการตรวจสอบในเดือนสิงหาคมและธันวาคม พบว่าเชื้อไบมันมีปริมาณของเชื้อไวรัสเฉลี่ย 2.7 และเพิ่มสูงขึ้นเป็นระดับ 4 คือมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูงมากขึ้น ตามลำดับ ส่วนในเชื้อไบกล้วยมีปริมาณของเชื้อไวรัสเฉลี่ย 2.72 และเพิ่มสูงขึ้นเป็นระดับ 3.83 ตามลำดับ

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าพืชทั้งสองพันธุ์มีปริมาณของเชื้อไวรัส DMV เท่ากันในทุก 3 เดือนที่ทำการตรวจสอบ โดยพบว่าเชื้อไวรัสมีปริมาณเพิ่มขึ้นในเดือนมิถุนายน สิงหาคม และธันวาคมตามลำดับ ส่วนปริมาณของเชื้อ CMV พบว่าเชื้อไบมันมีปริมาณสูงกว่าเชื้อไบกล้วยเล็กน้อย จากการทดลองพบว่าเชื้อ DMV มีปริมาณที่สูงคงที่ตลอดทั้ง 3 เดือนที่ทำการตรวจสอบ แต่เชื้อ CMV จะมีปริมาณน้อยในเดือนมิถุนายนและจะเพิ่มสูงขึ้นในเดือนสิงหาคมและธันวาคมตามลำดับ แสดงว่าปริมาณเชื้อ CMV มีความแปรผันต่ออุณหภูมิมากกว่าเชื้อ DMV

ซึ่งผลการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสที่ได้สอดคล้องกับอาการของพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสที่แสดงออก ซึ่งอาการของพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสที่แสดงออกนั้นจะแตกต่างกันในแต่ละฤดูกาล โดยอาการที่แสดงออกจะมีความรุนแรงน้อยในฤดูร้อน เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลให้พืชแสดงอาการของโรคลดลง และเมื่ออุณหภูมิต่ำลงพบว่าพืชแสดงอาการของโรคที่รุนแรงขึ้น ซึ่งมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิ โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูง คือในช่วงเดือนมิถุนายน (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.5°C) พืชมีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ อาการของพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสจึงน้อย ในขณะที่อุณหภูมิต่ำลง คือในเดือนสิงหาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.2°C) และเดือนธันวาคม (มีอุณหภูมิเฉลี่ย 27.4°C) พืชจะมีปริมาณของเชื้อไวรัสเพิ่มสูงขึ้น พืชจึงแสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสรุนแรงมากขึ้นตามลำดับ โดยอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสจะแตกต่างกันในแต่ละฤดูกาล อาการที่แสดงออกจะมีความรุนแรงลดลงในฤดูร้อน เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลให้พืชแสดงอาการของโรคลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Zettler et al. (1978) ซึ่งศึกษาอาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ DMV ในพืชวงศ์ Araceae พบว่าอาการจะแตกต่างกันอย่างมากตามชนิดของพืชที่ติดเชื้อและฤดูที่ปลูก อาการที่เชื้อ DMV แสดงออกจะเป็นไปตามฤดูกาล และอาการส่วนใหญ่จะปรากฏบนใบที่ปลูกในเดือนที่เป็นฤดูใบไม้ร่วง หรือฤดูใบไม้ผลิ นอกจากนี้ยังพบว่าอาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสที่แสดงอาการรุนแรงมากอาจเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสมากกว่า 1 ชนิดร่วมกันดังเช่นการทดลองของ Blas et al. (1991) ที่ได้ทำการตรวจสอบเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cucumber Mosaic Virus (CMV) โดยวิธี ELISA ในพืชสวน พบว่าพืชผักจะมีการติดเชื้อร่วมกันกับกลุ่ม potyviruses

จากการทดลองเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำคั้นพืชที่เจือจางเป็น 3 ความเข้มข้น แต่พบว่ายังให้ผลเท่ากันในการเกิดปฏิกิริยา แสดงให้เห็นว่าสามารถตรวจสอบเชื้อไวรัสได้ถึงแม้จะใช้น้ำคั้นความเข้มข้นที่เจือจางก็สามารถทำปฏิกิริยาได้ดี และช่วยให้สามารถใช้น้ำคั้นพืชได้ในปริมาณที่น้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Clark and Adams (1977) ที่ได้ทดสอบเชื้อไวรัสหลายชนิดโดยวิธี ELISA เปรียบเทียบกับวิธีทางเซรุ่มวิทยาอื่น ๆ และสรุปว่าวิธี ELISA สามารถตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความเข้มข้นต่ำถึง 1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

ส่วนการใช้เซรุ่มของเชื้อ DMV ที่ความเข้มข้นสูงคือ 1:10 เนื่องจากเซรุ่มของเชื้อ DMV มี titer ที่ต่ำมากคือ 1:32 ทำให้ไม่สามารถทำการเจือจางให้ความเข้มข้นต่ำกว่านี้ได้ เนื่องจากเมื่อนำมาใช้ตรวจสอบเชื้อไวรัสจะทำให้ผลของปฏิกิริยาที่ได้ไม่ดีเท่าที่ควร แต่เซรุ่มของเชื้อ CMV สามารถทำการเจือจางจนถึงความเข้มข้น 1:200 ก็สามารถนำมาใช้ตรวจสอบได้ เนื่องจากมี titer ที่สูงถึง 1:256 แต่ถ้าใช้ความเข้มข้นของเซรุ่มที่สูงกว่านี้ก็จะทำให้สิ้นเปลืองเซรุ่มโดยไม่จำเป็น

จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า พืชแต่ละพันธุ์ที่นำมาตรวจสอบนั้นมีเชื้อไวรัสอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับอาการที่แสดงออกของพืช คือ พืชที่แสดงอาการรุนแรงจะมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง และอาการของพืช 2 พันธุ์ที่แสดงออกแตกต่างกันนั้น อาจเนื่องมาจาก strain ของเชื้อไวรัสแต่ละชนิดที่เข้าทำลายแตกต่างกัน เช่นผลการทดลองของ Fawzy *et al.* (1992) ที่ทำการศึกษา strain ของเชื้อ CMV ที่แยกได้จากแปลงปลูกของ *Philodendron selloum* ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Araceae พบว่า strain ของเชื้อที่แตกต่างกันจะแสดงอาการบนพืชอาศัยที่แตกต่างกัน นอกจากนี้การแสดงอาการของพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสยังขึ้นอยู่กับพันธุ์ของพืช พันธุ์พืชที่ต่างกันก็จะมีอาการตอบสนองต่อโรคต่างกันด้วย เนื่องมาจากลักษณะพันธุกรรมที่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ หรือทำให้เกิดอาการที่แตกต่างกันออกไป นอกจากนี้การตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยวิธี ELISA ปริมาณของเชื้อไวรัสที่พบอาจขึ้นอยู่กับชิ้นส่วนของพืชที่นำมาทดสอบ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ได้เลือกใช้ส่วนของใบอ่อนที่แสดงอาการชัดเจนมาตรวจสอบ แต่ถ้านำเอาส่วนอื่นของพืชมาใช้ ผลการทดลองที่ได้อาจพบว่ามีปริมาณของเชื้อไวรัสที่แตกต่างกัน เนื่องจากในแต่ละส่วนของพืชมีปริมาณของเชื้อไวรัสที่แตกต่างกัน ดังเช่นผลการทดลองของ Hu *et al.* (1995) ที่ได้ศึกษาการแพร่ระบาดของเชื้อ DMV ในต้น *Colocasia esculenta* ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Araceae พบว่าเชื้อ DMV มีปริมาณสูงสุดที่ใบและมีค่ามากกว่าส่วนก้านใบหรือส่วนหัวใต้ดิน ดังนั้นในการตรวจสอบเพื่อเปรียบเทียบปริมาณของเชื้อไวรัสในแต่ละพันธุ์พืชหรือในแต่ละต้นจึงควรเลือกใช้ชิ้นส่วนที่เหมือนกันมาตรวจสอบ

การตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยวิธี ELISA เป็นวิธีที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ เนื่องจากเป็นวิธีการตรวจหาเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง (high sensitivity) สามารถตรวจสอบหาเชื้อไวรัสได้แม้จะมีจำนวนน้อยและสามารถตรวจสอบตัวอย่างเป็นจำนวนมากในแต่ละครั้งได้อย่างรวดเร็ว

การตรวจสอบน้ำคั้นจากใบพืชที่แสดงอาการต่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนโดยวิธี Leaf dip จากการตรวจสอบในเดหลีใบมันไม่พบอนุภาคของเชื้อ ซึ่งอาจเนื่องมาจากตัวอย่างที่ตรวจมีปริมาณของเชื้อไวรัสต่ำ ส่วนในเดหลีใบกล้วยพบอนุภาคของเชื้อไวรัสลักษณะยาวคดงอ ความยาว 650-700 นาโนเมตร และพบอนุภาคทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 28 นาโนเมตร

อนุภาคของเชื้อไวรัสที่พบมีลักษณะยาวเป็นพ่อนคดงอ (flexuous rod) จัดอยู่ในกลุ่ม potyvirus ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงรูปร่างของอนุภาคร่วมกับผลการตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA Test พบว่าแสดงปฏิกิริยาเมื่อตรวจสอบโดยใช้เซรัมของเชื้อ DMV ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าเชื้อไวรัสที่ตรวจสอบพบคือเชื้อ Dasheen Mosaic Virus ซึ่งตรงตามที่ Zettler *et al.* (1970) ได้ทำการศึกษาไว้ว่าเชื้อ DMV จัดอยู่ในกลุ่ม potyvirus ลักษณะตัวยาวคดงอ (flexuous rod) อนุภาคมีความยาวประมาณ 750 นาโนเมตร แต่อนุภาคของเชื้อไวรัสที่ตรวจพบมีความยาวน้อยกว่าที่ได้มีการรายงานไว้ อาจเนื่องมาจากเกิดการแตกหักของอนุภาคระหว่างขั้นตอนที่ทำการตรวจสอบ ส่วนอนุภาคของเชื้อไวรัสที่ตรวจพบซึ่งมีลักษณะรูปทรงกลม เมื่อพิจารณาถึงรูปร่างและขนาดของอนุภาคร่วมกับผลการตรวจสอบทางเซรัมวิทยาด้วยเทคนิค ELISA Test พบว่าแสดงปฏิกิริยาเมื่อตรวจสอบโดยใช้เซรัมของเชื้อ CMV ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าเชื้อไวรัสที่ตรวจสอบพบคือเชื้อ Cucumber Mosaic Virus ซึ่งตรงตามที่ Brunt *et al.* (1995) ได้รายงานไว้ว่าเชื้อ CMV มีรูปร่างทรงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 29 นาโนเมตร

การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชโดยการปลูกเชื้อด้วยน้ำคั้น (sap transmission) บนพืชทดสอบทั้ง 5 วงศ์ ได้แก่ Chenopodiaceae, Leguminosae, Cucurbitaceae, Amaranthaceae และ Solanaceae โดยใช้ potassium phosphate buffer 0.1 M pH 7.5 พบว่า หลังจากการปลูกเชื้อไม่พบอาการใด ๆ บนพืชทดสอบ และเมื่อเปลี่ยน buffer ที่ใช้ โดยใช้ sodium citrate buffer 0.1 M pH 6.5 แทน พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน การที่ไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสผ่านทางน้ำคั้นบนพืชทดสอบ เนื่องจากพืชทดสอบไม่จัดอยู่ในชนิดของพืชอาศัยของเชื้อ ซึ่งเชื้อ DMV เป็นเชื้อไวรัสที่มีพืชอาศัยแคบ และยากที่จะหาพืชทดสอบที่ปลอดจากเชื้อไวรัสมาใช้ในการตรวจสอบ เนื่องจากพืชติดเชื้อไวรัสอย่างแพร่หลาย (Walkey, 1985) ส่วนการที่ไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อสู่ *Chenopodium quinoa* ได้ อาจเนื่องมาจากสาร inhibitor ที่อยู่ในเซลล์พืชที่ถูกปลดปล่อยออกมาซึ่งทำให้น้ำคั้นพืชเป็นสีดำนวล ซึ่งสารประกอบเหล่านี้อาจทำให้เชื้อไวรัสเสื่อมสภาพหรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อ แต่อย่างไรก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารผลงานวิจัยสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rana et al. (1983) ได้ทำการศึกษาเชื้อ DMV ที่แยกได้จากต้น *Richardia africana* โดยวิธีการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ โดยใช้ น้ำคั้นจากใบพืชที่เป็นโรคเปรียบเทียบกับการใช้ น้ำคั้นจากส่วน epidermal ของใบพืช จากผลการทดลองที่ได้พบว่า พืชทดสอบทั้งหมดไม่แสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสเมื่อทำการปลูกเชื้อโดยการใช้ น้ำคั้นจากใบพืช ในขณะที่พืชทดสอบ คือ *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *C. ambrosioides*, *Nicotiana benthamiana* และ *Saponaria vaccaria* แสดงอาการที่เกิดจากเชื้อ DMV เมื่อทำการปลูกเชื้อโดยใช้น้ำคั้นจากส่วน epidermal ของใบพืช การที่ไม่สามารถปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบโดยการใช้ น้ำคั้นจากใบพืช อาจเนื่องมาจากสาร inhibitor ที่อยู่ในเซลล์พืชที่อยู่ถัดจากชั้น epidermal มีผลทำให้เชื้อไวรัสหมดสภาพ หรือ ยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อ

การศึกษากการเพิ่มปริมาณของเดหลีใบมันโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของส่วนตาจากลำต้นใต้ดินของเดหลีใบมันที่เป็นโรคไวรัส เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหาร 2 สูตรที่แตกต่างกัน คือ อาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS มีความสูงมากกว่าต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน และเกิดราก ส่วนต้นที่เลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน พบว่าเกิดการแตกหน่อและบางต้นพบว่าเกิดเป็นแคลลัส

หลังจากการเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS มีความสูงเพิ่มขึ้น แต่ยังเป็นต้นเดี่ยว ๆ ไม่มีการแตกหน่อ ส่วนต้นที่เลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมนมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีการแตกหน่อเพิ่มขึ้นและต้นที่เกิดแคลลัสเกิดการแตกยอดจากแคลลัส และหลังจากที่เลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเริ่มเกิดการแตกหน่อ ส่วนต้นที่เลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน พบว่ายอดมีขนาดใหญ่ขึ้น หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 5 เดือน พบว่าต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS มีความสูงมาก แต่มีหน่อเกิดขึ้นเพียง 1 - 2 หน่อเท่านั้น ส่วนต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมนพบว่าได้ต้นจำนวนมากแน่นอยู่ในขวด พบว่ามีการเกิดรากแต่ว่าเกิดมีลักษณะสั้น ๆ และเจริญช้า

จากการทดลองที่ได้พบว่า อาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยพบว่าต้นพืชที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะแตกหน่อได้เร็วกว่าต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ปกติ นอกจากนี้ยังพบว่ามีบางต้นเกิดแคลลัส ซึ่งแคลลัสจะเกิดการแตกยอดจำนวนมากอย่างรวดเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Wand et al. (1995) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Spathiphyllum floribundum* ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าทำให้เกิดแคลลัสและสามารถเพิ่มปริมาณของต้นได้เป็นจำนวนมาก การที่พืชได้รับฮอร์โมน BA ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนิน ทำให้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยชักนำให้เกิดยอดอย่างรวดเร็วและมากมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่จะไปยับยั้งการเกิดราก (สุเม อริญนารท. 2536) ทั้งนี้อาจมีความผันแปรขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ระยะการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืช ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Vargas *et al.* (1997) ที่ได้ศึกษามูลของการใช้ฮอร์โมนต่อการเจริญของ *Spathiphyllum* spp. ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 10 มิลลิกรัม และ NAA 10 มิลลิกรัมต่อลิตรจะชักนำการเกิดยอดจากแคลลัสพืช และการทดลองของ Werbrouck and Debergh (1995) ที่รายงานว่าใน *Spathiphyllum floribundum* cv. Petite พบว่าการชักนำให้เกิดยอดทำโดยเติมฮอร์โมน BA และเสริมด้วย imidazole, fungicide และ imazalil ลงในอาหาร ถ้าความเข้มข้นของ imazalil เพิ่มขึ้น จำนวนของยอดที่เกิดขึ้นก็จะเพิ่มขึ้น เมื่อเติมฮอร์โมน BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตรรวมกับการเติม imazalil 16 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้พัฒนาเกิดยอดจากแคลลัสประมาณ 127 ยอดต่อชิ้นส่วนเริ่มต้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA ที่ใช้มากขึ้นพบว่าให้ผลการเกิดยอดไม่แตกต่างกัน แสดงว่าให้เห็นว่าการใช้ฮอร์โมน BA เพื่อกระตุ้นให้เกิดยอดต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังพบว่าพืชที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะเกิดรากช้า และรากที่เกิดขึ้นมีลักษณะสั้น ๆ มีการเจริญช้ากว่าต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ปกติเนื่องมาจากฮอร์โมน BA มีผลยับยั้งการเกิดราก (สุเม อริญนารท. 2536)

นอกจากนี้ยังพบว่าเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 3 เดือนแรก ถึงแม้ว่าจะไม่เติมสารควบคุมเจริญเติบโตใด ๆ ลงในอาหาร ซึ่งเนื่องมาจากฮอร์โมนที่สร้างขึ้นในต้นพืชทำหน้าที่กระตุ้นและพัฒนาต้นให้เจริญเติบโตเป็นปกติ แต่พบว่าการแตกหน่อจะช้าและหน่อที่แตกจะมีจำนวนน้อย เพราะฉะนั้นการเพิ่มปริมาณของพืชอาจทำได้โดยเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA ในระยะแรกเพื่อชักนำให้แตกหน่อและแตกยอดจำนวนมากก่อน หลังจากนั้นจึงย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเพื่อให้พืชมีความสูงเพิ่มขึ้นและทำให้เกิดราก จะทำให้ประหยัดฮอร์โมน BA ซึ่งมีราคาค่อนข้างแพง

จากการศึกษาวิธีการย้ายปลูกเดหลีใบมันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกนอกสภาพปลอดเชื้อ โดยทดลองวัสดุปลูก 10 ชนิด และทำการทดลองเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าวัสดุปลูกทรายผสมขี้เลื่อยอัตราส่วน 1:1 ทำให้ต้นพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายสูงที่สุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวัสดุปลูกที่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำที่สุด คือ ดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำที่สุดคือ 72 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการทดลองของ พัทธราภรณ์ ยุกตเวทย์ (2536) ที่ศึกษาการย้ายต้นขิงแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ พบว่าหลังการย้ายปลูกเป็นเวลา 49 วัน พบว่าวัสดุปลูกทรายผสมขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1 ให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายของพืชดีที่สุด ส่วนการที่วัสดุปลูกดินร่วนผสมขี้เถ้าแกลบให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำอาจเนื่องมาจากการที่ขี้เถ้าแกลบมี pH ที่เป็นด่างจัด คือมี pH ประมาณ 7-8.5 ทำให้มีผลการนำธาตุอาหารของพืชไปใช้ในกระบวนการต่าง ๆ เพราะฉะนั้นก่อนนำมาใช้

เป็นวัสดุปลูกควรปล่อยให้ น้ำชะล้างหรือแช่ด้วยกรดอ่อนเพื่อลดค่า pH ก่อนนำไปใช้งาน (อิทธิสุนทร นันทกิจ.2538) ส่วนวัสดุปลูกทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 พบว่าให้จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นมากที่สุด คือ 7.97 ใบ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Bhatt and Dhar (2000) ที่ได้ทำการทดลองย้ายปลูก strawberry ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกนอกสภาพปลอดเชื้อ พบว่าวัสดุปลูกดินผสมทราย อัตราส่วน 1:1 พืชสามารถเจริญเติบโตได้ดี และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Zhang et al. (2000) ที่ได้ทำการย้ายปลูก *Gossypium hirsutum* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกนอกสภาพปลอดเชื้อ พบว่าวัสดุปลูกดินผสมทราย อัตราส่วน 1:1 ทำให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตดี และจากผลการทดลองพบว่าวัสดุปลูกซีเถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 พบว่าให้จำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นน้อยที่สุดคือ 6.36 ใบ ในด้านขนาดใบ พบว่าวัสดุปลูกดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุปลูกชนิดอื่นให้ขนาดใบ กว้าง x ยาวเฉลี่ยมากที่สุดคือ 1.70 x 4.06 เซนติเมตร ด้านความสูงพบว่า ดินร่วนที่ไม่ผสมวัสดุปลูกชนิดอื่นให้ความสูงของต้นเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 5.12 เซนติเมตร และวัสดุปลูกซีเถ้าแกลบผสมขุยมะพร้าวให้ความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 3.54 เซนติเมตร ส่วนในด้านจำนวนยอดพบว่าวัสดุปลูกดินร่วนผสมซีเถ้า อัตราส่วน 1:1 ให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อต้นมากที่สุดคือ 1.13 ยอด ส่วนวัสดุปลูกซีเถ้าแกลบผสมทราย อัตราส่วน 1:1 พบว่าให้จำนวนยอดเฉลี่ยต่อต้นน้อยที่สุดคือ 1.04 ยอด ในด้านจำนวนรากพบว่าวัสดุปลูกดินร่วนผสมซีเถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ทำให้มีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นมากที่สุดคือ 8.63 ราก สอดคล้องกับผลการทดลองของ อรุณี สมอุดร (2543) ที่ศึกษาผลของวัสดุปลูกต่อการย้ายปลูกต้นเงินไหลมา (*Syngonium podophyllum*) พบว่าวัสดุปลูกซีเถ้าแกลบผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 เหมาะสมในการย้ายปลูกมากที่สุดในด้านของจำนวนรากและความสูงต้น และสอดคล้องกับการทดลองของ อีระศักดิ์ ก้านแก้ว (2541) ที่ศึกษาผลของวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของต้นโป๊ยเซียน ที่ย้ายปลูกลงสภาพปลอดเชื้อ หลังจากปลูกเป็นเวลา 10 วัน พบว่า วัสดุปลูกดินร่วนผสมซีเถ้าแกลบ อัตราส่วน 1:1 ให้ผลในการย้ายปลูกดีที่สุด เมื่อพิจารณาในด้านจำนวนใบ ความสูงต้นและจำนวนราก เนื่องมาจากซีเถ้าแกลบมีความพรุนสูง มีการสลายตัวน้อย และมีน้ำหนักเบา (อิทธิสุนทร นันทกิจ. 2538) เมื่อนำมาผสมกับดินร่วนที่มีคุณสมบัติระบายน้ำได้ดี และยังมีธาตุอาหารที่สมบูรณ์ จึงเหมาะที่จะนำมาเป็นวัสดุปลูก และจากผลการทดลองที่ได้ พบว่าวัสดุปลูกทรายผสมดินร่วน อัตราส่วน 1:1 พบว่าให้จำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นน้อยที่สุดคือ 5.96 ราก ส่วนในด้านความยาวรากพบว่าวัสดุปลูกทรายผสมขุยมะพร้าวให้ความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดคือ 8.36 เซนติเมตรต่อราก เนื่องจากทรายไปเพิ่มความหนาแน่นรวมทำให้วัสดุปลูกหนักและแน่นขึ้น ส่วนขุยมะพร้าวทำให้เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ ฟูเปื่อยช้า ทำให้ไม่เกิดการขาดธาตุในโตรเจน มีความสามารถในการยืดหยุ่นดี ไม่อัดแน่นง่าย (สมเพียร เกษมทรัพย์. 2522) เมื่อวัสดุปลูกมีความพรุน ทำให้รากพืชสามารถไซซอนได้ง่ายทำให้รากมีความยาวออกไป รากพืชมีความสำคัญต่อพืชมาก เพราะทำหน้าที่ดูดน้ำและแร่ธาตุ

อาหารไปใช้ในการเจริญเติบโตของพืช (สุทธิพร อนันต์สุชาติกุล. 2524) และจากผลการทดลองพบว่าวัสดุปลูกที่เก่าแก่ผสมทรายพบว่าให้ความยาวรากเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 5.11 เซนติเมตรต่อราก

การศึกษาการผลิตเชื้อไวรัสในมะม่วงให้ปลอดเชื้อไวรัส โดยการใส่สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ ทำการทดลองโดยนำต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มีขนาดประมาณ 2 - 3 เซนติเมตร มาทำการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ผสมสารเคมียับยั้งเชื้อไวรัสชนิดต่าง ๆ คือ 1-Adamantanamine hydrochloride, 6-Azauracil และ 2-Thiouracil ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการแยกต้นที่ได้เลี้ยงลงในขวด ขวดละ 1 ต้น โดยแบ่งเป็นความเข้มข้นละ 20 ขวด ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัส DMV โดยวิธี ELISA จากการทดลองพบว่าสารเคมี 1-Adamantanamine hydrochloride และ 6-Azauracil ที่ความเข้มข้น 0 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่สามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสลงได้ คือพืชยังมีปริมาณของเชื้อไวรัสสูง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารเป็น 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสได้เพิ่มขึ้นตามลำดับ แต่ก็ยังมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง สอดคล้องกับการทดลองของ ศิริญา มานะวิบูลย์ (2540) ที่ทำการทดลองเลี้ยงตาทุเรียนพันธุ์ Lolita ที่ติดเชื้อไวรัส prunus necrotic ringspot virus (PNRSV) ในอาหาร MS ที่ผสมฮอร์โมน BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ฮอร์โมน IAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารเคมี 1-Adamantanamine hydrochloride ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 75 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าสารเคมีที่ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งปริมาณของเชื้อไวรัสได้ดีที่สุด แต่ก็ยังมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง ส่วนการทดลองโดยใช้สารเคมี 2-Thiouracil ผสมในอาหาร MS ที่นำมาเลี้ยงพืช พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นเป็น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสในต้นพืชได้ โดยพบว่ายังมีปริมาณของเชื้อไวรัสปานกลาง และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารเคมีเป็น 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่าสามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสให้เหลือปริมาณน้อย การทดลองที่ได้พบว่าสารเคมี 2-Thiouracil ให้ผลในการยับยั้งปริมาณของเชื้อไวรัสดีที่สุด เพราะใช้ในปริมาณความเข้มข้นต่ำแต่ก็สามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสได้มากที่สุด แต่ก็พบว่าทำให้เกิดอาการ phytotoxin ต่อพืชมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีอื่นในปริมาณที่เท่ากัน คือพืชแสดงอาการใบเหลืองเริ่มจากใบล่าง จากนั้นเกิดอาการเหลืองทั้งต้นและใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแห้งตายในที่สุด สอดคล้องกับผลการทดลองของ วารุณี ลิ้มพงษ์กุล (2536) โดยทดสอบประสิทธิภาพสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส Papaya Ring Spot Virus (PRSV) สาเหตุของอาการต่างบนใบฟักทอง โดยใช้สารเคมี 6-Azauracil ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรผสมลงในอาหาร MS ที่นำมาเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวทำให้เกิดความเป็นพิษต่อชิ้นส่วนพืชที่นำมาเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนสารเคมี 1-Adamantanamine hydrochloride พบว่าทำให้เกิดอาการ phytotoxin กับพืชน้อยที่สุดแต่ก็ลดปริมาณของเชื้อไวรัสได้น้อยที่สุดเช่นกัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารเคมีทั้ง 3 ชนิดที่นำมาผสมในอาหาร MS แล้วนำมาเลี้ยงพืชเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าไม่สามารถกำจัดเชื้อไวรัสให้หมดไปจากต้นพืชได้ เพียงแต่สามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสลง โดยพบว่าเมื่อใช้สารเคมี ความเข้มข้นสูงขึ้นก็สามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสได้มากขึ้นตามลำดับ

จากนั้นทำการทดลองเลี้ยงพืชโดยเพิ่มเวลาในการเลี้ยงเป็น 2 เดือน โดยใช้สารเคมี 1-Adamantanamine hydrochloride และสารเคมี 6-Azauracil ที่ความเข้มข้น 100 และ 125 มิลลิกรัม และใช้สารเคมี 2-Thiouracil ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเพื่อลดผลที่เกิดจาก phytotoxin จากการทดลองพบว่าการใช้สารเคมี 1-Adamantanamine hydrochloride ทั้งสองความเข้มข้นสามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสให้อยู่ในปริมาณต่ำ ส่วนการใช้สารเคมี 6-Azauracil ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสให้อยู่ในปริมาณต่ำ และพบว่ามีต้นตาย 2 ต้น ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสให้เหลือน้อยมาก แต่พบต้นตาย 5 ต้น ส่วนการใช้สารเคมี 2-Thiouracil ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถลดปริมาณของเชื้อไวรัสในต้นที่ทำการทดลองส่วนใหญ่ให้เหลือในปริมาณที่น้อยมาก และพบว่ามีต้นตายทั้งหมด 4 ต้น และได้ต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสจำนวน 2 ต้นจากต้นที่นำมาทดลองทั้งหมด 20 ต้น คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การปลอดโรคคือ 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Conrad (1991) ที่ได้ทำการผลิตมันฝรั่งให้ปลอดเชื้อไวรัส Potato virus S โดยการใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการเลี้ยงส่วนของมันฝรั่งในอาหารแข็งที่ผสมสารเคมีชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 2-12 สัปดาห์ จากนั้นทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสโดยวิธี ELISA จากการทดลองพบว่า สารเคมี 6-Azauracil, 6-Azathymine และ 5-fluorouracil ไม่สามารถกำจัดเชื้อ PVS ได้ ส่วนสาร ribavirin (1-beta-D-ribofuranosyl-1H-1,2,4-triazole-3-carboxamide) สามารถกำจัดเชื้อไวรัสได้ 10 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าสาร melamine (2,4,6-triamino-s-triazine) และสาร 2-Thiouracil มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ PVS ทำให้พืชปลอดโรคได้

สาเหตุการยับยั้งเชื้อไวรัสเนื่องจากสารเคมี 2-Thiouracil ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม pyrimidine และ purine เข้าไปแทนที่ยูราซิล (uracil) ที่เป็นส่วนประกอบของ RNA ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของ genome ซึ่งรวบรวมข้อมูลต่าง ๆ ของพันธุกรรมที่จำเป็นจะต้องใช้สำหรับการทวีจำนวนของเชื้อไวรัส ทำให้เชื้อไวรัสไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารเคมี 2-Thiouracil มีฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเชื้อ Potato Virus X (PVX) และ Potato Virus Y (PVY) ในมันฝรั่ง นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารเคมี 2-Thiouracil มีบทบาทไปลดการสร้างโปรตีนของอนุภาคเชื้อไวรัส tomato yellow mosaic virus (TYMV) ซึ่งก่อให้เกิดโรคในผักกาดเขียววางตัว แต่สารนี้ไม่

นิยมใช้ เพราะเป็นพืชกับพืชเมื่อใช้โดยการฉีดสเปรย์บนใบ (ธรรมศักดิ์ สมมาตรย์. 2528) และจากการย้ายต้นพืชที่พบว่าปลอดเชื้อไวรัสไปเลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่ผสมสารเคมียับยั้งเชื้อไวรัสเป็นเวลา 3 เดือน จากนั้นนำมาตรวจสอบโดยวิธี ELISA พบว่าทั้งสองต้นมีเชื้อไวรัส กลับมาแต่มีในปริมาณที่น้อยมาก เกิดจากการที่สารเคมีไม่ได้กำจัดเชื้อไวรัสได้อย่างสมบูรณ์ เพียงแต่ไปยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรัส เมื่อหยุดการให้สารเคมีเชื้อไวรัสจึงเพิ่มปริมาณขึ้นมาใหม่

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าเมื่อลดความเข้มข้นของสารเคมีลง แต่เพิ่มระยะเวลาในการทดสอบให้นานขึ้น จะให้ผลในการยับยั้งเชื้อไวรัสได้ดีกว่าการใช้สารเคมีที่ระดับความเข้มข้นสูงแต่ทดสอบในเวลาสั้น เนื่องมาจากการให้สารเคมีที่ระดับความเข้มข้นต่ำจะช่วยลดผลของ phytotoxin ที่เกิดกับพืช ทำให้ช่วยยืดระยะเวลาในการทดสอบให้นานขึ้น ทำให้ได้ผลในการยับยั้งเชื้อไวรัสได้ดีขึ้น ดังเช่นในรายงานของ Toussaint *et al.* (1993) ที่พบว่าถ้าเพิ่มระยะเวลาในการเลี้ยงชิ้นส่วนให้นานขึ้นก็จะทำให้ได้พืชที่ปลอดเชื้อไวรัสมากขึ้นตามลำดับ โดยการเลี้ยง protocorms ของกล้วยไม้ในอาหารเหลวที่ผสมสาร Virazole และทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 4-6 สัปดาห์ พบว่าจะได้ protocorms ของกล้วยไม้ที่ปลอดเชื้อไวรัสตั้งแต่การเปลี่ยนอาหารในครั้งที่ 3

ข้อเสนอแนะ

การตรวจสอบอนุภาคของเชื้อไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนในครั้งต่อไปควรเพิ่มวิธี Derrick และวิธี Derrick Decorate โดยใช้แอนติซีรั่มในการตรวจสอบ ซึ่งแอนติซีรั่มจะจับกับอนุภาคของเชื้อไวรัสทำให้การตรวจสอบเห็นผลชัดเจนยิ่งขึ้น และการศึกษาการถ่ายทอดเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชโดยการปลูกเชื้อด้วยน้ำคั้นในครั้งต่อไปควรเติมสารเพิ่มประสิทธิภาพ เช่น สาร Polyvinylpyrrolidone (PVP) และสาร 2-Mercaptoethanol เพื่อช่วยในการยับยั้งสาร inhibitor และช่วยในการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสได้ดีขึ้น

ส่วนการเพิ่มปริมาณเดหลีใบมันโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าการเจริญเติบโตของพืชขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของเนื้อเยื่อที่นำมาใช้ ทั้งนี้รวมถึง ชนิด (species) พันธุ์ (cultivars) สภาพที่มา (source conditions) และขนาดของชิ้นส่วนพืช (explants size) และพบว่า การนำส่วนตามาทำการเพาะเลี้ยงสามารถที่จะชักนำให้เนื้อเยื่อพัฒนาเป็นต้นได้ง่าย ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ได้นำส่วนตาจากคนละต้นกันมาทำการเพาะเลี้ยง อาจมีผลทำให้การตอบสนองต่ออาหารที่ใช้เลี้ยงไม่เท่ากัน นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับอายุของพืชที่นำมาใช้ โดยที่ถ้าเราใช้พืชที่มีอายุน้อยก็สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้ดีกว่าพืชที่มีอายุมากกว่า เพราะฉะนั้นจึงควรเลือกพืชที่มีอายุใกล้เคียงกันเพื่อลดความแปรปรวนที่อาจจะเกิดขึ้น นอกจากนี้ต้นที่นำมาเพาะเลี้ยงไม่ได้มีการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสก่อนนำมาเพาะเลี้ยง ซึ่งในแต่ละต้นอาจมีปริมาณของเชื้อไวรัสไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากัน อาจมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช เพราะฉะนั้นจึงควรทำการตรวจสอบปริมาณของเชื้อไวรัสในต้นพืชก่อนนำมาเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ยังประสบปัญหาการ contaminate เป็นอย่างมาก เพราะชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงอยู่ใต้ดินซึ่งมีความสกปรกมาก ทำให้ยากที่จะขจัดเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ในช่วงที่มีฝนตกและมีความชื้นสูงจะประสบปัญหาการ contaminate มาก เนื่องจากจุลินทรีย์และเชื้อโรคเจริญเติบโตได้ดี เพราะฉะนั้นก่อนทำการเพาะเลี้ยงควรเตรียมความพร้อมของพืชโดยย้ายไปเลี้ยงในเรือนทดลองที่ควบคุมสภาพแวดล้อม งดการให้น้ำเพื่อลดความชื้น เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์และเชื้อโรค นอกจากนี้ในขั้นตอนของการฟอกฆ่าเชื้อควรทำอย่างถูกต้องและเหมาะสม ส่วนสารฟอกฆ่าเชื้อที่นำมาใช้คือ Clorox ถ้าใช้ความเข้มข้นมากเกินไปหรือใช้เวลาในการฟอกฆ่าเชื้อมานานเกินไปจะมีผลทำให้เซลล์พืชตายได้ นอกจากนี้การฟอกชิ้นส่วนของพืชต้องพิจารณาถึงเนื้อเยื่อที่มีสิ่งห่อหุ้มอาจจะฟอกฆ่าเชื้อได้ยาก แต่การเอาสิ่งปกปิดชิ้นส่วนออกอาจมีผลเสียต่อเนื้อเยื่อนั้นได้เนื่องจากผลของสารฟอกฆ่าเชื้อ นอกจากนี้ยังประสบปัญหาการ contaminate จากเชื้อแบคทีเรียภายในชิ้นส่วนที่นำมาทำการเลี้ยง ซึ่งมักจะเกิดหลังจากที่เลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือนไปแล้ว ซึ่งอาจแก้ไขโดยการใส่สารปฏิชีวนะ (antibiotics) ลงในอาหารเพื่อกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในชิ้นส่วน แต่ควรทำการศึกษาผลกระทบที่อาจจะเกิดจากสารปฏิชีวนะต่อการเจริญเติบโตของพืชด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าในขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มักเกิดการออกซิเดชั่น ของสารประกอบพวก phenolic compounds ที่ปลดปล่อยออกมาจากบาดแผลของเนื้อเยื่อที่ถูกตัด ทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและเป็นพิษต่อพืช ซึ่งแก้ปัญหาโดยการเปลี่ยนอาหารให้บ่อยขึ้น

ส่วนการผลิตพืชปลอดโรคโดยการใช้สารเคมี พบว่าสาร 2-Thiouracil ให้ผลในการยับยั้งเชื้อไวรัสได้ดีที่สุด โดยพบว่าทำให้ได้ต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส แต่พบว่าเมื่อหยุดให้สารเคมีเชื้อไวรัสจะกลับมาอีก การทดลองในครั้งต่อไปควรใช้สารเคมีในความเข้มข้นที่ต่ำลงและทดสอบโดยใช้เวลานานมากขึ้น เพื่อให้กำจัดเชื้อไวรัสได้อย่างสมบูรณ์ โดยตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อไวรัสด้วยวิธีการต่าง ๆ เพื่อคัดเลือกต้นที่ปลอดโรคไปใช้เป็นต้นพันธุ์ในการขยายพันธุ์ต่อไป ซึ่งเป็นวิธีการป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของโรคที่ดีวิธีหนึ่ง

บรรณานุกรม

- ชมรมพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ. 2536. **คู่มือไม้ประดับภายในอาคาร**. กรุงเทพฯ : ยูนิเด็ท บุคส์. 168 หน้า.
- ศิริภา มานะวิบูลย์. 2540. "การผลิตกุหลาบปราศจากเชื้อไวรัสโดยการใช้สารเคมีร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 44 หน้า.
- ธรรมศักดิ์ สมมาตรย์. 2528. **สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช**. กรุงเทพฯ : คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 371 หน้า.
- ธีระศักดิ์ ก้านแก้ว. 2541. "ผลของวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโตของโป๊ยเซียน (*Euphorbia millii*) ที่ย้ายปลูกลงนอกสภาพปลอดเชื้อ." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 47 หน้า.
- นวลพรรณ งามยี่สุน. 2539. **โรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสและไวรอยด์**. กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 130 หน้า.
- ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2540. **ไม้ดอกหอมเล่ม 1**. กรุงเทพฯ : บ้านและสวน, กรุงเทพฯ. 159 หน้า.
- พัชรารภณ์ ยุกตเวทย์. 2536. "ผลของวัสดุปลูกที่มีต่อการเจริญเติบโตของชิงแดง." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 43 หน้า.
- พีรเดช ทองอำไพ. 2529. **ฮอริโมนพืชและสารสังเคราะห์ : แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ : ไดนามิคการพิมพ์. 196 หน้า.
- รัตน วิทยะประสาท. 2537. "การศึกษาโรคไวรัสบนไม้ประดับ." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 29 หน้า.
- วารุณี ลิ้มขงกุล. 2536. "การทดสอบประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อไวรัสในต่างประเทศ." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 46 หน้า.
- สนั่น ขำเลิศ. 2522. **หลักการขยายพันธุ์พืช**. กรุงเทพฯ : คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 207 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สมเพียร เกษมทรัพย์. 2522. การปลูกไม้ดอก. กรุงเทพฯ : คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 460 หน้า.
- สุทธิพร อนันต์สุชาติกุล. 2524. สรีรวิทยาการผลิตพืช. กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 190 หน้า.
- สุเม อรัญนารถ. 2536. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชเพื่อการเกษตร. กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 55 หน้า.
- สุวิธ วรรณโกโรจน์. 2524. "เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช." วารสารพืชสวน. 6(2) : 47-56.
- อรุณี สมอุดร. 2543. "ผลของวัสดุปลูกที่มีต่อการย้ายปลูกต้นเงินไหลมา (*Syngonium podophyllum*) นอกสภาพปลอดเชื้อ." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 41 หน้า.
- อิทธิสุนทร นันทกิจ. 2538. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 146 หน้า.
- Aquino, L.D. et al. 1995. "Detection and characterization of cucumber mosaic cucumovirus (CMV) infecting *Araujia sericofera* Brot." *Rivista di Patologia Vegetale*. 5(1) : 1-7.
- Bellardi, M.G. and Bertaccini, A. 1993. "Infections by CMV on ornamental plants and flowers." *Informatore-Fitopatologico*. 43(10) : 9-14.
- Bhatt, I.D. and Dhar, U. 2000. "Micripropagation of Indian wide strawberry." *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 60 : 83-88.
- Blas, C. et al. 1991. "Detection of cucumber mosaic virus in horticultural plants." 243-245. In: Conference on selection and improvement of horticultural plants. September 17-19, 1991. Pontevedra, Spain.
- Bos, L. 1970. Symptoms of Virus Disease in Plants. Delhi: Oxford and IBM Publishing. 206 pp.
- Brunt, A.A. et al. 1995. Viruses of Plants. Wiltshire : C.A.B. International.Redwood Press. 1484 pp.
- Chagas, C.M. et al. 1993. "Natural infection of *Amorphophallus konjac* with dasheen mosaic virus in Brazil." *Fitopatologia Brasileira*. 18(4) : 551-554.
- Chase, A.R. and Zettler, F.W. 1982. "Dasheen Mosaic Virus infection of *Dieffenbachia* cultivars." *Plant Disease*. 66 : 891-893.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Chen, J.S. *et al.* 1996. "Dasheen mosaic virus causing mosaic disease of *Pinellia cordata*." *Acta-Phytopathologica-Sinica*. 26(1) : 87-91.
- Cheplick, S.M. and Agrios, G.N. 1983. "Effect of injected antiviral compounds on apple mosaic, scar skin and dapple apple disease of apple trees." *Plant Diseases*. 67(10) : 1130-1133.
- Clark, M.F. and Adams, A.N. 1977. "Characteristics of the microplate method enzymelinked immunosorbent assay for the detection of plant viruses." *J. Gen. Virol.* 34 : 475-483.
- Clark, M.F. *et al.* 1976. "The detection of plant viruses by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)." *Acta Hort.* 67 : 43-49.
- Conrad, P.L. 1991. "Potato Virus S-free plants obtained using antiviral compound and nodal segment culture of potato." *American Potato Journal*. 68(8) : 507-513.
- Debrot, E.A. and Ordosgoitti, A. 1974. "Dasheen Mosaic Virus infection of *Colocasia* and *Xanthosoma* in Venezuela." *Plant Disease Reporter*. 58(11) : 1032-1034.
- Ertunc, F. 1992. Detection of cucumber mosaic virus in seeds of some cucurbits by ELISA assays. Turkey : Agricultural Faculty, Ankara University. 13 pp.
- Fawzy, R.N. 1996. "Dasheen mosaic virus infection of *Dieffenbachia* and *Aglaonema* in Egypt." *Ann. of Agricultural Science, Moshtohor*. 34(4) : 1595-1604.
- Fawzy, R.N. *et al.* 1992. "Identification of a strain of cucumber mosaic virus isolated from naturally infected *Philodendron selloum*." *Ann. Agric. Sci.* 30(3) : 1219-1232.
- Gillaspie, A.G. *et al.* 1998. "Characterization of a severe strain of cucumber mosaic cucumvirus seedborne in cowpea." *Plant Diseases*. 82(4) : 419-422.
- Hu, J.S. *et al.* 1995. "Dasheen mosaic potyvirus in Hawaiian taro." *Australasian Plant Pathology*. 24(2) : 112-117.
- Huber, S. and Schuster, G. 1992. "Investigations on the inhibitory activities of purine and pyrimidine base analogues against potato virus X as well as on the site of action in the virus replication cycle." *Zeitschrift – fuer – Pflanzenkran - kheiten and Pflanzenschutz*, 99(3) : 319-329.
- Kim, J.Y. *et al.* 1996. "Production and detection of virus free lily plant by shoot tip culture and virazole treatment of bulbils." *Journal of the Korean-Society for Horticultural Science*. 37(1) : 64-69.

- Korbin, K. and Kaminska, M. 1998. "Characterization of cucumber mosaic cucumovirus isolates." *Phytopathologia Polonica*. 16 : 71-84.
- Lahoz, E. *et al.* 1994. "Studies on the seed transmissibility of three isolates of CMV (cucumber mosaic cucumovirus) in different cultivars of common bean." *Petria*. 4(2) : 117-122.
- Liang, Y.G. *et al.* 1994. "Identification of dasheen mosaic virus in Taiwan by immunolabelling." *Report of the Taiwan Sugar Research Institute*. 143 : 41-50.
- Mathews, R.E.F. 1982. *Classification and nomenclature of viruses*. New York : S. Karger. 199 pp.
- Mehrotra, R.S. 1980. *Plant Pathology*, New Delhi : Tata McGraw - Hill. 771 pp.
- Murashige, T. 1974. "Plant propagation tissue culture." *Annu. Rev. Plant Physiol.* 25 : 135-166.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture." *Physiol. Plant.* 15 : 473-497.
- Quintero, S. 1989. "Virosis in tania (*Xanthosoma sp.*) and taro (*Colocasia esculenta*) in Cuba." *Agrotecnia de Cuba*. 21(2) : 75-85.
- Rana, G. L. *et al.* 1983. "Manual transmission of dasheen mosaic virus from *Richardia* to nonaraceous hosts." *Plant Disease*. 67 : 1121-1122.
- Tompkins, C.M. and Gardner, M.W. 1934. "Spotted Wilt of Head Lettuce." *Phytopathology*. 24 : 1135-1136.
- Toussaint, A. *et al.* 1993. "Use of VIRAZOLE® to eradicate odontoglossum ringspot virus from *in vitro* culture of *Cymbidium Sw.*" *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 32 : 303-309.
- Vargas, T.E. and Garcia, E. 1997. "*In vitro* propagation of *Spathiphyllum sp.*." *Agronomia Tropical Maracay*. 47(2) : 171-183.
- Walkey, D.G.A. 1985. *Applied Plant Virology*. London : William Heinemann. 329 pp.
- Wand, J. F. *et al.* 1995. "Effect of 6-BA on the commodity characteristic of tissue cultured *Spathiphyllum floribundum* F1." *Acta-Horticulturae*. 404 : 157-160.
- Werbrouck, S.P.O. and Debergh, P.C. 1995. "Imazalil enhances the shoot-inducing effect of benzyladenine in *Spathiphyllum floribundum* Schott." *Journal of plant Growth Regulation*. 14(2) : 105-107.
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Zettler, F.W. *et al.* 1970. "Filamentous viruses infecting dasheen and other araceous plants." *Phytopathology*. 60 : 983-987.
- Zettler, F.W. *et al.* 1978. Dasheen mosaic virus. Commonwealth Mycological Institute Assoc. Appl. Biol. Description of Plants virus No. 191. Kew, Surrey, England.
- Zhang, B.H. *et al.* 2000. "Plant regeneration via somatic embryogenesis in cotton." *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 60 : 89-94.





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

สารเคมี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ก1 สารเคมีที่ใช้ในการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อไวรัส

1. phosphate buffer 0.5 M pH 7.5
2. phosphate buffer 0.1 M pH 7.5
3. sodium citrate buffer 0.5 M pH 6.5
4. sodium citrate buffer 0.1 M pH 6.5

การเตรียม buffer

1. phosphate buffer 0.5 M (pH 7.5)

โดยละลาย 174 กรัมของ K_2HPO_4 ในน้ำกลั่น 2 ลิตร ทำการปรับ pH ให้เป็น 7.5 โดยการใช้ 17 กรัมของ KH_2PO_4 ซึ่งละลายในน้ำกลั่นปริมาณ 250 มิลลิลิตรเป็นตัวปรับ

2. phosphate buffer 0.1 M (pH 7.5)

โดยใช้ phosphate buffer 0.5 M pH 7.5 ปริมาณ 200 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

3. sodium citrate buffer 0.5 M (pH 6.5)

โดยละลาย 105 กรัมของ citric acid ใน 1 ลิตรของ NaOH 1 N ทำการปรับ pH ให้เป็น 6.5 โดยการใช้ 0.5 M NaOH ซึ่งปริมาณของ NaOH 1 N ที่ใช้ในสารละลายจะใกล้เคียงกับปริมาณของ 0.5 M NaOH ที่ใช้ในการปรับ pH

4. sodium citrate buffer 0.1 M (pH 6.5)

โดยใช้ sodium citrate buffer 0.5 M pH 7.5 ปริมาณ 200 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

ภาคผนวกที่ ก2 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบหาปริมาณเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

1. Goat antiserum rabbit in conjugate buffer (IgG)
2. coating buffer
3. PBS-Tween
4. extraction buffer
5. conjugate buffer
6. substrate buffer
7. p-nitrophenyl phosphate

การเตรียม buffer

1. coating buffer (pH 9.6)

Na_2CO_3	1.59	กรัม
NaHCO_3	2.93	กรัม
NaN_3	0.20	กรัม
เติมน้ำให้ครบ	1	ลิตร

2. PBS (pH 7.4)

NaCl	8.00	กรัม
KH_2PO_4	0.20	กรัม
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	2.90	กรัม
KCl	0.20	กรัม
NaN_3	0.20	กรัม
เติมน้ำให้ครบ	1	ลิตร

3. PBS-Tween

หยด Tween 20 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงใน PBS 1 ลิตร

4. extraction buffer

ผสม 2 % PVP 4,000 (polyvinyl pyrrolidone 4,000) ลงใน PBS-Tween

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. conjugate buffer

ผสม 0.2 % Ovalbumin ลงใน extraction buffer

6. substrate buffer

Diethanolamine 97 มิลลิลิตร

H₂O 800 มิลลิลิตร

NaN₃ 0.2 กรัม

ปรับ pH ให้เท่ากับ 9.8 และเติมน้ำจนครบ 1 ลิตร



ภาคผนวกที่ ก3 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเชื้อสูตร Murashige & Skoog (MS)
(1962)

สารเคมี		ปริมาณสาร (mg/l)
<u>Major inorganic nutrient</u>		
stock 1	NH_4NO_3	1650
stock 2	KNO_3	1900
stock 3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
stock 4	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
stock 5	KH_2PO_4	170
<u>Trace element</u>		
stock 6	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
	H_3BO_3	6.2
	KI	0.83
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
<u>Iron Source</u>		
stock 7	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8
	$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.3
<u>Organic supplement</u>		
stock 8	Thiamine HCl	0.1
	Nicotinic acid	0.5
	Pyridoxine HCl	0.5
	Glycine	2
	Inositol	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ตารางผนวก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1 การวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS และอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	1	38.720	38.720	57.081**	4.08	7.31
Ex.Error	48	32.560	0.678			
Total	49	71.280	1.455			

Grand Mean = 1.88 C.V. = 43.81 % S.E. = 0.17

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข2 การวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS และอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	1	237.620	237.620	96.202**	4.08	7.31
Ex.Error	48	118.560	2.470			
Total	49	356.180	7.269			

Grand Mean = 3.42 C.V. = 45.95 % S.E. = 0.38

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ๗3 การวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญเติบโตของเดหลีใบมันที่เลี้ยงในอาหาร MS และอาหาร MS ที่เติมฮอโมน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	1	768.320	768.320	207.467**	4.08	7.31
Ex.Error	48	177.760	3.703			
Total	49	946.080	19.308			

Grand Mean = 5.28 C.V. = 36.45 % S.E. = 0.62

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ๗4 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 2 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	10.129	2.532	10.246**	2.69	4.02
Treatment	8	17.446	2.181	8.824**	2.27	3.17
Ex.Error	32	7.909	0.247			
Total	44	35.483	0.806			

Grand Mean = 5.6422 C.V. = 8.81 % S.E. = 0.2223

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข5 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	12.411	3.103	11.163**	2.69	4.02
Treatment	8	11.033	1.379	4.962**	2.27	3.17
Ex.Error	32	8.894	0.278			
Total	44	32.338	0.735			

Grand Mean = 6.0856 C.V. = 8.66 % S.E. = 0.2358

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข6 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 6 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	14.696	3.674	8.967**	2.69	4.02
Treatment	8	9.471	1.184	2.889*	2.27	3.17
Ex.Error	32	13.112	0.410			
Total	44	37.279	0.847			

Grand Mean = 6.5389 C.V. = 9.79 % S.E. = 0.2863

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข7 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	18.999	4.750	11.132**	2.69	4.02
Treatment	8	5.826	0.728	1.707 ^{ns}	2.27	3.17
Ex.Error	32	13.653	0.427			
Total	44	38.478	0.875			

Grand Mean = 6.98 C.V. = 9.36 % S.E. = 0.2921

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข8 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 10 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	27.305	6.826	10.780**	2.69	4.02
Treatment	8	6.425	0.803	1.268 ^{ns}	2.27	3.17
Ex.Error	32	20.264	0.633			
Total	44	53.994	1.227			

Grand Mean = 7.2384 C.V. = 10.99 % S.E. = 0.3559

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข9 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	25.708	6.427	10.142**	2.69	4.02
Treatment	8	11.453	1.432	2.259 ^{ns}	2.27	3.17
Ex.Error	32	20.278	0.634			
Total	44	57.440	1.305			

Grand Mean = 7.286 C.V. = 10.93 % S.E. = 0.3560

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข10 การวิเคราะห์ทางสถิติขนาดใบของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	16.112	4.028	1.965 ^{ns}	2.69	4.02
Treatment	8	90.881	11.360	5.542**	2.27	3.17
Ex.Error	32	65.589	2.050			
Total	44	172.582	3.922			

Grand Mean = 4.6332 C.V. = 30.90 % S.E. = 0.2952

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข11 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 2 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	2.650	0.663	10.015**	2.69	4.02
Treatment	8	0.835	0.104	1.577 ^{ns}	2.27	3.17
Ex.Error	32	2.117	0.066			
Total	44	5.602	0.127			

Grand Mean = 3.1690 C.V. = 8.12 % S.E. = 0.1150

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข12 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 4 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	4.848	1.212	14.862**	2.69	4.02
Treatment	8	0.896	0.112	1.373 ^{ns}	2.27	3.17
Ex.Error	32	2.610	0.082			
Total	44	8.354	0.190			

Grand Mean = 3.2929 C.V. = 8.67 % S.E. = 0.1277

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข13 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 6 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	5.017	1.254	10.117**	2.69	4.02
Treatment	8	1.858	0.232	1.874 ^{ns}	2.27	3.17
Ex.Error	32	3.967	0.124			
Total	44	10.842	0.246			

Grand Mean = 3.462 C.V. = 10.17 % S.E. = 0.1575

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข14 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 8 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	8.349	2.087	17.980**	2.69	4.02
Treatment	8	4.928	0.616	5.306**	2.27	3.17
Ex.Error	32	3.715	0.116			
Total	44	16.992	0.386			

Grand Mean = 3.8033 C.V. = 8.96 % S.E. = 0.1524

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข15 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 10 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	9.616	2.404	14.484**	2.69	4.02
Treatment	8	10.526	1.316	7.928**	2.27	3.17
Ex.Error	32	5.311	0.166			
Total	44	25.453	0.578			

Grand Mean = 4.1153 C.V. = 9.90 % S.E. = 0.1822

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข16 การวิเคราะห์ทางสถิติความสูงของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	9.718	2.430	14.624**	2.69	4.02
Treatment	8	15.874	1.984	11.944**	2.27	3.17
Ex.Error	32	5.316	0.166			
Total	44	30.909	0.702			

Grand Mean = 4.3115 C.V. = 9.45 % S.E. = 0.1823

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.01$

ตารางที่ ข17 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนยอดของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	0.062	0.015	3.031*	2.69	4.02
Treatment	8	0.037	0.005	0.914 ^{ns}	2.27	3.17
Ex.Error	32	0.164	0.005			
Total	44	0.263	0.006			

Grand Mean = 1.0853 C.V. = 6.59 % S.E. = 0.0320

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

ตารางที่ ข18 การวิเคราะห์ทางสถิติจำนวนรากของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก 12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	46.174	11.543	3.795*	2.69	4.02
Treatment	8	31.842	3.980	1.309 ^{ns}	2.27	3.17
Ex.Error	32	97.324	3.041			
Total	44	175.340	3.985			

Grand Mean = 7.1873 C.V. = 24.26 % S.E. = 0.7799

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

ตารางที่ ข19 การวิเคราะห์ทางสถิติความยาวรากของต้นเดหลีใบมัน หลังการย้ายปลูก12 สัปดาห์

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Block	4	6.976	1.744	0.922 ^{ns}	2.69	4.02
Treatment	8	34.517	4.315	2.281*	2.27	3.17
Ex.Error	32	60.527	1.891			
Total	44	102.020	2.319			

Grand Mean = 6.4041 C.V. = 21.48 % S.E. = 0.6151

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P \leq 0.05$



ประวัติผู้เขียน

นางสาวเชาวนาถ พุทธิเทพ เกิดเมื่อวันที่ 20 พฤศจิกายน พ.ศ. 2520 เป็นคนจังหวัด กรุงเทพมหานคร เข้าศึกษาคณะเกษตร สาขาวิชาการจัดการศัตรูพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปีพ.ศ. 2538 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2542 จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท คณะเทคโนโลยีการเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2546



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้