

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การวินิจฉัยเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายมะลิโดยวิธีการวิเคราะห์ dsRNA

Identification of Viruses Infected Jasmine by Double –
Stranded RNA (dsRNA) Analysis

ผู้วิจัย

นवलพรรณ งามยี่สุ่น และ กীরติกุล ชีกว้าง

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การวินิจฉัยเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายมะลิโดยวิธีการวิเคราะห์ dsRNA

Identification of Viruses Infected Jasmine by Double –
Stranded RNA (dsRNA) Analysis

RCH
SB
303
.J34
๗๓๓๒๕
๗.๒



T100925

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
ปี.....

100925

2.2 JUN 2003

ผู้วิจัย

นवलพรรณ งามยี่สุ่น และ กิรติกุล ชีกว้าง

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในมะลิตามแหล่งที่มีการขยายพันธุ์ แหล่งซื้อขายพันธุ์พืชและแหล่งปลูกมะลิในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ของมะลิ (*Jasminum sambac* Ait.) มะลิจักร (*J. sambac* Ait.) และมะลิซ้อน (*J. sambac* Ait.) พบกลุ่มอาการที่ปรากฏบนใบดังนี้คือ อาการแผลจุดเหลือง อาการค่างวงแหวน อาการค่างลายแผนที่ อาการเหลืองตามเส้นใบ อาการค่างและใบผิดปกติรูปร่าง ต้นแคระแกร็น ดอกมีขนาดเล็ก ต้นทรุดโทรม โดยพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในมะลิพันธุ์ต่างๆ ดังนี้คือ 88.33, 90.00 และ 83.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่าขนาดความยาวดอกและจำนวนดอกต่อต้นเฉลี่ยของมะลิที่เป็นโรค มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับต้นมะลิปกติ และจากการแยกสกัด dsRNA ของเชื้อไวรัสจากใบมะลิที่แสดงอาการเป็นโรคจากสภาพธรรมชาติ โดยใช้ Rneasy Plant Mini Kit. (QIAGEN) พบการเข้าทำลายของเชื้อ cucumber mosaic virus (CMV)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

The survey of virus disease in jasmine growing area around Bangkok, revealed a range of virus symptom as follow : chlorotic spot, ringspot, line pattern, vein yellowing, mosaic and leaf deformation and stunting. The disease damage in *Jasminum sambac* Ait. called 'MALILA' 'MALICHAT' and 'MALISHON' in percentage were 88.33 %, 90.00 % and 83.33 % respectively. The length and the quantity of flower are significantly differed when compared with healthy plants. Cucumber mosaic virus (CMV) was detected by the extraction of dsRNA method (Rneasy Plant Mini Kit. (QIAGEN) protocol) using jasmine leaves with virus symptom.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยโดยการสนับสนุนจากเงินรายได้ของคณะเทคโนโลยีการเกษตร และได้รับความร่วมมือและช่วยเหลือด้านสถานที่และอุปกรณ์ จากภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณอย่างสูง

คณะผู้วิจัย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาต่างประเทศ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญภาพ	VI
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลการทดลอง	10
สรุปผลและวิจารณ์	23
บรรณานุกรม	25



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงระดับความเสียหายเนื่องจากความรุนแรงของอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในมะลิจากแหล่งปลูกในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล	17
2	แสดงขนาดความยาวดอกเฉลี่ย ของมะลิลา มะลิฉัตร และมะลิซ้อน เปรียบเทียบระหว่างต้นปกติและต้นที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย	18
3	แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนดอกต่อต้น / สัปดาห์ ของมะลิลา (<i>Jasminum sambac</i>) เปรียบเทียบระหว่างต้นปกติและต้นที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย	19
4	แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนดอกต่อต้น/ สัปดาห์ของมะลิฉัตร (<i>Jasminum sambac</i>) เปรียบเทียบระหว่างต้นปกติและต้นที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย	19
5	แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนดอกต่อต้น/ สัปดาห์ของมะลิซ้อน (<i>Jasminum sambac</i>) เปรียบเทียบระหว่างต้นปกติและต้นที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย	20

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ชุด Rneasy Plant Mini Kit. (QIAGEN) และอุปกรณ์ในการแยกสกัด dsRNA ของเชื้อไวรัส	9
2	มะลิลา (<i>Jasminum sambac</i>) แสดงอาการใบด่างหงิกงอและบิดเบี้ยวอย่างรุนแรง	11
3	มะลิลา (<i>Jasminum sambac</i>) แสดงอาการใบเรียวแหลมและมีขนาดเล็กแคระแกร็น	11
4	มะลิลา (<i>Jasminum sambac</i>) แสดงอาการด่างเป็นจุดวงแหวน (ring spot)	12
5	มะลิลา (<i>Jasminum sambac</i>) แสดงอาการ เส้นใบมีสีเหลือง (vein yellowing)	12
6	มะลิฉัตร (<i>Jasminum sambac</i>) แสดงอาการแคระแกรนอย่างรุนแรง ใบหงิกงอ และบิดเบี้ยวและแสดงอาการใบด่างสีเขียวเข้มสลับกับสีเขียวอ่อน	13
7	มะลิฉัตร (<i>Jasminum sambac</i>) แสดงอาการเหลืองที่เส้นใบ (vein yellowing)	14
8	มะลิฉัตร (<i>Jasminum sambac</i>) แสดงอาการดอกเล็ก อัตราการเจริญเติบโตช้า	14
9	มะลิซ้อน (<i>Jusminum sambac</i>) แสดงอาการแคระแกร็นและด่างเป็นลายแผนที่	15
10	มะลิซ้อน (<i>Jusminum sambac</i>) แสดงอาการเหลืองเส้นใบ (vein yellowing)	16
11	มะลิซ้อน (<i>Jusminum sambac</i>) แสดงอาการด่างเหลืองใบเล็ก และแคระแกร็น	16
12	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของมะลิที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย	17
13	กราฟแสดงขนาดความยาวดอกเฉลี่ยของมะลิที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย	18
14	กราฟแสดงจำนวนดอกคอดต้นของมะลิที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย	20
15	แสดง pattern ของ dsRNA band จากการแยกสกัดใบที่แสดงอาการต่างของมะลิฉัตร มะลิซ้อน และมะลิลา เปรียบเทียบกับตัวมาตรฐานคือ Lambda DNA ที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ Hind III	21
16	ความสัมพันธ์ระหว่างการเคลื่อนที่ของ dsRNA ของมะลิลา (<i>Jasminum sambac</i>) บน gel กับน้ำหนักโมเลกุลของ dsRNA ที่ได้โดยการ plot กราฟ เปรียบเทียบระหว่างระยะทางการเคลื่อนที่ของตัวมาตรฐานกับน้ำหนักโมเลกุลของตัวมาตรฐาน	22

การวินิจฉัยเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายมะลิโดยวิธีการวิเคราะห์ dsRNA

Identification of Viruses Infected Jasmine by Double-Stranded RNA (dsRNA) Analysis

นवलพรรณ งามยี่สุ่น และ กิรติกุล ชิกว้าง

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล. กรุงเทพฯ 10520

Dept. of Plant Pest Management Technology, Fac. of Agricultural Technology, KMITL, Bangkok, 10520

คำนำ

มะลิเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ซึ่งคนไทยส่วนใหญ่รู้จักมานาน และนิยมกันอย่างแพร่หลาย มะลิทุกชนิดในประเทศไทยจะมีดอกสีขาวและเป็นดอกไม้ที่มีกลิ่นหอมมาก จึงมักจะนำดอกมะลิไปใช้ประโยชน์ได้หลายรูปแบบ เช่น เก็บดอกมาร้อยเป็นพวงมาลัย ทำดอกไม้แห้ง ประดับพานพุ่มบูชาพระ ทำพวงหรีด ใช้ดอกมาอบขนมหรือลอยน้ำสำหรับดื่มให้มีกลิ่นหอมเย็นชื่นใจ และปัจจุบันทางราชการ ได้กำหนดให้ดอกมะลิเป็นสัญลักษณ์ประจำวันแม่แห่งชาติเพื่อให้เป็นตัวแทนแสดงความรักความห่วงใยของลูกที่มีต่อแม่ (จิรายุพิน, 2536)

นอกจากการใช้ประโยชน์จากดอกมะลิแล้วส่วนต่างๆของมะลียังสามารถใช้ประโยชน์ได้อีกมากมาย เช่น ดอกสดใช้แก้โรคเจ็บตา แก้ไข้ตัวร้อน แก้หวัด ดอกแห้งใช้ปรุงเป็นยาแต่งกลิ่น ใบสดใช้ตำในกะลามะพร้าวแต่มีรักษาแผลพุพองและรักษาฝีดาษ ส่วนลำต้นใช้แก้โรคศุดทะราด ขับเสมหะ รากนำมาบดใช้ทาแก้ปวด และต้มดื่มแก้ร้อนในและรักษาอาการเสียดท้อง รากมะลิวัลย์มีรสเย็นจัด ใช้เป็นยาถอนพิษต่างๆ ได้ (กันยา, 2535) ส่วนมะลิเจียวกู มะลิกำยาน พุทธรักษา มะลิลา และอีกหลายชนิดนั้น สามารถนำดอกมาสกัดน้ำมันหอมระเหยได้ ซึ่งนำหอมจากดอกมะลิเป็นหัวน้ำหอมที่มีราคาแพงที่สุดในตลาดโลก (เพ็ญแข, 2530) จึงทำให้มะลิกลายเป็นไม้ดอกไม้ปลูกเพื่อเป็นการค้า สามารถทำรายได้ให้กับผู้ปลูกได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในฤดูหนาวดอกมะลิจจะมีราคาแพงมาก (ภฤชดา และ พีรเดช, 2533) นอกจากนี้ประโยชน์ที่มีมากมายแล้วมะลียังก่อให้เกิดอาชีพต่างๆตามมามากมาย เช่น เกษตรกรผู้ปลูกมะลิ ขยายพันธุ์และจำหน่ายต้นพันธุ์ อาชีพทำพวงมาลัย ทำพวงหรีด อาชีพขายพวงมาลัย และดอกมะลิตามตลาดทั่วไป จะเห็นได้ว่าประโยชน์ของมะลมีส่วนช่วยสร้างรายได้ให้กับประชาชนได้อย่างมาก มะลิจึงนับเป็นไม้ดอกไม้ที่มีความสำคัญยิ่งชนิดหนึ่ง และนับวันจะมีความสำคัญมากยิ่งขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับไม้ดอกไม้ชนิดอื่น (เศรษฐพงศ์, 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการจำหน่ายมะลิจะมีทั้งในและต่างประเทศ แต่ผลผลิตส่วนใหญ่จะจำหน่ายภายในประเทศ โดยตลาดต่างประเทศจะมีการส่งออกในรูปพวงมาลัย ดอกมะลิสดและต้นมะลิ ตลาดของมะลิในต่างประเทศที่สำคัญคือ ประเทศเนเธอร์แลนด์ ประเทศสหรัฐอเมริกา และประเทศเบลเยียม ส่วนตลาดพวงมาลัยของไทยคือ ประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศญี่ปุ่น

ในแปลงปลูกมะลิบางครั้งอาจเกิดปัญหาจากโรคและแมลง โดยโรคที่พบได้แก่ โรคแอนแทรคโนส โรคใบจุดและโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส โรคที่สร้างปัญหาอย่างมากต่อแปลงปลูกมะลิของเกษตรกรได้แก่โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส (สายชด , 2541) เพราะยังไม่มียุทธวิธีการรักษาที่ได้ผลดีเท่าที่ควร ผลจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสทำให้การเจริญเติบโตของต้น ใบ และดอกผิดปกติ เช่น ขนาดดอกเล็ก ต้นแคระแกรน เจริญเติบโตช้า ต้นทรุดโทรม ใบหงิกงอและบิดเบี้ยว ผลผลิตตกต่ำ

หากไม่มีการดูแลและป้องกันกำจัดที่ดีแล้ว จะทำให้เกิดการแพร่ระบาดของอย่างรวดเร็ว และทำให้เกิดความเสียหายเป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาแนวทางในการวินิจฉัยหาเชื้อสาเหตุเพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอาการของโรคในมะลิซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส
2. เพื่อประเมินความเสียหายของมะลิที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย
3. เพื่อศึกษาลักษณะการถ่ายทอดเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายมะลิ
4. เพื่อการตรวจสอบและวินิจฉัยชนิดของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในมะลิ โดยวิธีการแยกสกัดกรดนิวคลีอิกสายคู่ของเชื้อไวรัส (dsRNA extraction)
5. เพื่อหาแนวทางในการลดปัญหาการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสโดยการป้องกันกำจัด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถทราบลักษณะอาการของโรคมะลิที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส
2. สามารถทราบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสของมะลิในแปลงปลูก
3. สามารถทราบลักษณะการถ่ายทอดเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายมะลิ
4. สามารถตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายมะลิซึ่งเป็นไม้กิ่งเนื้อแข็งและมีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อไวรัสอยู่ในระดับต่ำ ได้สะดวกและรวดเร็ว
5. สามารถหาแนวทางในการป้องกันเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายมะลิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะลิเป็นพืชที่มีชื่อสามัญว่า Jasmine มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Jasminum* spp. จัดอยู่ในสกุล *Jasminum* อยู่ในวงศ์ Oleaceae มีถิ่นกำเนิดในแถบร้อนเป็นส่วนใหญ่ พบมากทั้งใน ทวีปเอเชีย อเมริกา ยุโรป และแถบแปซิฟิก สำหรับในประเทศไทยมีการปลูกกันมานานแล้วโดยปลูกมากใน แถบภาคกลาง พืชในสกุลนี้มีอยู่ประมาณ 200 ชนิด มีทั้งเป็นพวกไม้พุ่ม ไม้เลื้อย และไม้กึ่งเลื้อย เพราะมีกิ่งอ่อนและกิ่งแก่ที่อาจจะเจริญยึดตัวพันกับสิ่งอื่นได้ (เพ็ญแข, 2530) ลักษณะที่ใช้ในการ จัดมะลิเข้าด้วยกันก็จะอาศัยลักษณะของกลีบดอกเป็นหลัก กล่าวคือ มีรูปทรงของดอกกริๆ ปลาย ป้าน ซ้อนกันอยู่เป็นชั้นๆ โดยมีส่วน โคนของกลีบในชั้นเดียวกันเชื่อมกันเป็นหลอด มีรูอยู่ตรงกลาง และสุดปลายหลอดหรือที่ส่วน โคนของหลอดจะมีกลีบรองรองรับ ซึ่งกลีบรองที่มีลักษณะเป็นแฉก แยกออกเป็นทางหรือเป็นฟันแหลมๆมีส่วน โคนเชื่อมติดกันและมีรูอยู่ตรงกลางเหมือนกลีบดอก (ยุพเยาว์, 2538)

มะลิมีระบบรากเป็นรากแก้ว ลักษณะต้นเป็น ไม้พุ่ม ไม้เลื้อยและ ไม้รอเลื้อย ใบเป็นใบเลี้ยง คู่ มีทั้งชนิดใบเดี่ยวและใบรวม การจัดเรียงตัวของใบมีทั้งแบบ ใบอยู่ตรงกันข้ามและใบสลับกัน ใบ กว้าง 2.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 8-12 เซนติเมตร ลักษณะใบเป็นรูปไข่ ปลายใบแหลมหรือป้าน โคนใบมน รูปร่างของดอกเป็นแบบแบนราบ ดอกมีสีขาว กลิ่นหอม มีดอกน้อย กลีบดอกมีทั้งแบบ ชั้นเดียวและหลายชั้น ดอกเป็นลักษณะดอกเดี่ยวหรือดอกช่อ ดอกจะออกจากยอดหรือข้างกิ่ง ส่วน มากมีกลีบดอก 4-9 กลีบ กลีบเลี้ยงมีลักษณะปลายแหลม ยาว 7-8 มิลลิเมตร ดอกจะติดกันเป็น หลอดยาว 1 เซนติเมตร ส่วนปลายแยกเป็น 5-6 กลีบ บางพันธุ์ลดรูปเป็นกลีบแหลมๆ เช่น มะลิพิกุล เป็นต้น (กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ, 2534) โดยปกติดอกจะเริ่มบานเวลาบ่ายแล้วจะร่วงในวันรุ่งขึ้น โดยดอกกลางจะบานก่อน มะลิเป็นพืชที่ให้ดอกตลอด แต่ปริมาณและคุณภาพของดอกจะแตกต่างกันไปตามสภาพอากาศ โดยมะลิจะให้ดอกมากในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน เพราะมีอุณหภูมิสูงกว่าในช่วงฤดูหนาว ส่วนในช่วงฤดูหนาวเป็นช่วงที่มะลิให้ดอกน้อยที่สุดและดอกยังมีขนาดเล็กด้วย ส่งผลให้ราคาของมะลิในช่วงนี้ราคาสูงมาก (โอพาร, 2533)

มะลิทั่วโลกมีอยู่ทั้งหมดประมาณ 200 ชนิด แต่ที่พบในประเทศไทยมีอยู่ประมาณ 45 ชนิด และในจำนวนนี้เป็น ไม้พื้นเมืองในประเทศไทยประมาณ 15 ชนิด (สายชล, 2541) มะลิที่พบเห็นกัน มากได้แก่ มะลิลา มะลิลาซ้อน มะลิซ้อน มะลิถอด มะลิพิกุลหรือมะลิฉัตร มะลิทะเล มะลิพวง มะลิเลื้อย มะลิวัลย์ พุทธรักษา ปันหยี เครือไต้ไก่ อ่อนแสนสวยและมะลิเจี๋ยง นอกจากนี้ยังมีมะลิ อื่นๆอีก เช่น มะลิไต้ไก่ มะลิฝรั่ง มะลิย่าน มะลิเถื่อน เป็นต้น

มะลิเศรษฐกิจในประเทศไทย

1. มะลิลา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Jasminum sambac* Ait. ต้นมีลักษณะเป็นพุ่ม แต่จัดเป็น ไม้รอเลื้อย เพราะมีกิ่งอ่อนและกิ่งแก่ที่อาจจะยึดตัวพันติดกับสิ่งอื่นได้ กิ่งอ่อนและกิ่งแก่มีขน ใบไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นใบเดี่ยว ใบออกเป็นคู่ตรงข้าม ใบเป็นรูปไข่ ขอบเรียบสามารถออกดอกได้เกือบตลอดทั้งปี แต่จะออกดอกมากในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน ออกดอกเป็นช่อๆ ละ 3 ดอก ดอกกลางบานก่อน กลีบดอกชั้นเดียว ปลายกลีบมน ดอกมีสีขาว กลิ่นหอม มักจะเริ่มขยายดอกและส่งกลิ่นหอมในช่วงเย็น มะลิลาเป็นมะลิที่ปลูกเป็นการค้าเป็นล่ำเป็นสันนิยมปลูกเพื่อเก็บดอกขาย พันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นการค้าในปัจจุบันคือ พันธุ์ราชฎ์บุรณะ พันธุ์แม่กลองและพันธุ์ชุมพร

2. มะลิซ้อน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Jasminum sambac* Ait. ลักษณะทั่วไปคล้ายมะลิถอดและมะลิลาซ้อน แต่ใบจะมีลักษณะแคบกว่า ออกดอกเป็นช่อๆ ละ 3 ดอก กลีบดอกซ้อนกันมากกว่า 5 ชั้น แต่ละชั้นจะมีกลีบดอกตั้งแต่ 10 กลีบขึ้นไป ดอกมีสีขาวและมีกลิ่นหอมมาก ขนาดดอกประมาณ 3-4 เซนติเมตร

3. มะลิพิกุลหรือมะลิฉัตร มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Jasminum sambac* Ait. ลักษณะทั่วไปคล้ายกับมะลิทั้ง 3 ชนิดที่กล่าวมาแล้ว ใบคล้ายมะลิซ้อนและมีกลิ่นเล็กน้อย ออกดอกเป็นช่อๆ ละ 3 ดอก กลีบดอกซ้อนกันเป็นชั้นๆ เห็นได้ชัดมีลักษณะคล้ายฉัตร จึงมักเรียกมะลิฉัตร ดอกมีสีขาว กลิ่นหอม ดอกมีขนาดเล็กเท่าดอกพิกุลคือมีขนาดประมาณ 1-1.4 เซนติเมตร

โรคไวรัสของมะลิ เป็นโรคที่พบเห็นทั่วไปทั้งในแปลงปลูกมะลิเพื่อเป็นการค้าและที่ปลูกมะลิประดับตามบ้าน ซึ่งสุรภี และ คณะ (2526) ได้ทำการศึกษาค้นคว้าสาเหตุพบที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสขนาดประมาณ 600-650 นาโนเมตร โรคนี้เป็นโรคที่พบมากที่สุดของมะลิและมีการแพร่ระบาดในทุกพื้นที่ปลูกและเป็นโรคที่มีปัญหาในการป้องกันกำจัดเป็นอย่างมาก ซึ่งโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสนั้นมักไม่ทำให้พืชตาย แต่ปกติจะทำให้ความแข็งแรงของพืชลดลง คุณภาพของดอกและผลผลิตตกต่ำ

Waterwort (1971) ได้ทำการแยกเชื้อไวรัสออกจากน้ำคั้นของ *Jasminum multiflorum*, *J. nudiflorum* ที่แสดงอาการค้างอ่อนๆ และ จากกลีบดอกของ *J. odoratissimum* ที่ไม่แสดงอาการ ใน 0.025 M phosphate buffer และ ทาลงบนใบ *Chenopodium quinoa* พบว่าสามารถแยกเชื้อ Tobacco ringspot virus และเชื้อ cucumber mosaic virus จาก *J. nudiflorum* และ สามารถแยกเชื้อ cucumber mosaic virus จาก *J. multiflorum* โดยใช้เพลี้ยอ่อนเป็นพาหะในการถ่ายทอดเชื้อ

Wilson (1972) ได้ทำการทดลองศึกษาลักษณะอาการที่สำคัญของโรคไวรัสของ *Jasminum sambac* Ait. ในประเทศอินเดีย พบว่าใบอ่อนจะมีลักษณะค้างเขียวอ่อนสลับเขียวแก่ นอกจากนี้ยังพบว่า มะลิจะแสดงอาการค้างเป็นจุดวงแหวนสีเหลือง (chlorotic ring spot) ขนาดประมาณ 2.5 มิลลิเมตร-6 มิลลิเมตร และมีอาการเหลืองบริเวณเส้นใบ (vein yellowing) ร่วมอยู่ด้วย เป็นผลให้ต้นมะลิที่ติดเชื้อไวรัส แสดงอาการแคระแกร็น ใบเล็ก บิดเบี้ยว ผิดรูปร่าง และทำให้การเจริญเติบโตไม่สมบูรณ์

การตรวจสอบเชื้อไวรัสโรคพืชที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ วิธีการศึกษาลักษณะอาการบนพืชทดสอบ ลักษณะการถ่ายทอดโรค การศึกษารูปร่างและอนุภาคของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิเล็กทรอนิกส์ การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของเชื้อ การทดสอบทางเซรุ่มวิทยาของเชื้อ แต่ยังคงพบปัญหาอย่างมากในกรณีของการตรวจสอบเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายพืชประเภทไม้เนื้อแข็งหรือไม้กึ่งเนื้อแข็ง เช่น ไม้ผลและไม้ประดับพุ่มบางชนิด ซึ่งในสภาพการเข้าทำลายพืชในธรรมชาติพบว่ามีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อไวรัสจะอยู่ในระดับต่ำ และในการแยกเชื้อ (isolate) จากพืชประเภทนี้โดยการถ่ายทอดผ่านน้ำคั้นสูกพืชทดสอบจะประสบความสำเร็จน้อย เนื่องจากน้ำคั้นจากพืชเหล่านี้จะมีลักษณะเป็นยางเหนียว หรือมีองค์ประกอบของสาร tannin หรือสารประเภท phenolic compound ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อ หรือทำให้เชื้อไวรัสเสื่อมสภาพลงเป็นปัญหาในการถ่ายทอดเชื้อผ่านทางน้ำคั้นสูกพืชทดสอบ ซึ่งถือเป็นหลักปฏิบัติขั้นต้นในการวินิจฉัยชนิดของเชื้อไวรัส หรืออาจนำไปสู่ขั้นตอนการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ (purification) เพื่อทำการผลิตเซรุ่มหรือการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของเชื้อ ดังนั้นจึงได้มีการนำเอาเทคนิคการสกัดกรดนิวคลีอิกแบบ RNA สายคู่ (ds-RNA extraction) มาใช้ในการตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อไวรัสที่มีหน่วยพันธุกรรมเป็น RNA ซึ่งเป็นคุณสมบัติของเชื้อไวรัสส่วนใหญ่ โดยอาศัยปรากฏการณ์ของขบวนการเข้าทำลายพืชโดยเชื้อไวรัสในระหว่างการทวีจำนวนของเชื้อ (multiplication) จะมีการเกิด double stranded RNA (dsRNA) ซึ่งก็คือเส้นของ template RNA และ RNA สายใหม่ที่จับคู่กันอยู่ ก่อนที่สาย RNA ใหม่จะแยกตัวออกเพื่อสร้างโปรตีนห่อหุ้มเกิดเป็นอนุภาคใหม่ขึ้น (Agrios, 1978) ซึ่งขนาดของ dsRNA ที่เกิดขึ้นจะมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ $> 0.1 \times 10^6$ dalton การวินิจฉัยชนิดของเชื้อจะพิจารณาจากลักษณะ จำนวนและระยะทางการเคลื่อนที่ของ dsRNA บนตัวกลาง (matrix) เช่น polyacrylamide gel หรือ agarose (Dodds *et al.*, 1984)

นวลพรรณ (2540) รายงานว่าเทคนิคในการสกัดกรดนิวคลีอิกสายคู่ของเชื้อไวรัสเพื่อการตรวจสอบและวินิจฉัยชนิดของเชื้อสามารถแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

1. การแยกสกัดกรดนิวคลีอิกแบบ RNA สายคู่ของเชื้อ (ds-RNA extraction)
2. การใช้กระแสไฟฟ้าในการแยก dsRNA ของเชื้อ (electrophoresis) โดยอาศัยหลักการที่ว่า โมเลกุลของสารจะเคลื่อนที่ไปในสนามไฟฟ้าที่มีความต่างศักย์ โดยการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของโมเลกุล เช่น ขนาด รูปร่าง และประจุ ซึ่งกระแสไฟฟ้าที่ใช้จะอยู่ระหว่าง 50 – 120 voltage โดยจะขึ้นอยู่กับขนาดของ gel
3. การตรวจสอบและวิเคราะห์ผล โดยสังเกตจากลักษณะ จำนวน ระยะทางการเคลื่อนที่ของ dsRNA ภายหลังการแยก dsRNA ด้วยเทคนิคของการ electrophoresis นำ gel มาทำการย้อมสีด้วยสารละลาย ethidium bromide ความเข้มข้น 20 ng/ml เพื่อดูลักษณะการเคลื่อนที่ของ dsRNA โดยใช้กล้องแสง ultraviolet ที่ความยาวคลื่น 260-302 nm วิธีนี้ได้คัดแปลงและนำมาใช้ประโยชน์ในการจำแนกชนิดของเชื้อไวรัส และกลุ่มของเชื้อไวรัสหลายชนิด เช่น การตรวจสอบโรคไวรัสของเห็ด (Morris and Dodds, 1979) เชื้อไวรัสที่เข้าทำลายยาสูบ (Ikegami and Fraendel – Conrat, 1975) เชื้อ lettuce speckles mottle (Fald *et al.*, 1979) เชื้อ barley yellow dwarf (Gildow *et al.*, 1983) โรค

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

avocado streak disease (Jordan *et al.*, 1983) โรค lettuce big vein (Mirkov and Dodds, 1983) ไวรัสในกลุ่ม closterovirus (Dodds and Bar-Joseph, 1983) เชื้อ Tobacco rattle virus (TRV) โดยวิธี dsRNA extraction ในห้วมันฝรั่งที่แสดงอาการคล้ายไวรัส โดยพบว่า band ของ dsRNA ที่ได้จะคล้ายกับเชื้อ Tobacco rattle virus (TRV) ที่สกัดได้จากยาสูบ (Copeland and Mills, 1986) ไวรัสใบค่างของ *Cassia corymbosa* (Ngamyeesoon and Hicks, 1988) และไวรัสในไม้ประดับเนื้อแข็ง (Hicks *et al.*, 1988)

Martelli *et al.* (1995) ได้ทำการเก็บตัวอย่าง olive พันธุ์ต่างๆ ได้แก่ พันธุ์ Nasohi-Jaba-2, พันธุ์ Rasii, พันธุ์ Shami, พันธุ์ Khulli, พันธุ์ Grossa di Spagna, พันธุ์ Kanabisi, พันธุ์ Turkish, St. พันธุ์ Catharine, พันธุ์ Nabali B และ พันธุ์ Souri Nabali mohassan ที่แสดงอาการ severe cracking, mile cracking บนใบหรือที่ไม่แสดงอาการ นำมาตรวจสอบโดยวิธี mechanical transmission ผู้พืชทดสอบและวิธี dsRNA extraction จาก cortical ของยอดที่มีอายุ 1 ปี พบว่าสามารถแยกเชื้อ Olive layeny 1 virus (OLV-1) ออกมาได้

Tzeng *et al.* (1996) ทำการศึกษาการใช้ phenol-sodium dodecyl sulfate (SDS) ในการสกัด dsRNA ของเชื้อ closterovirus จากโรคใบหงิกของต้น grapevines โดยบดเนื้อเยื่อ cortical ใน liquid nitrogen พบว่าการเติม 5 % SDS ใน extraction buffer จะเป็นการเพิ่มจำนวนของ viral dsRNA โดยเฉพาะ genomic dsRNA โดยพบ 10-20 ng

Akin *et al.* (1998) ทำการศึกษาเปรียบเทียบการใช้เทคนิค proteinase K digestion based approach และ acid-quanidium-phenol-chloroform (AGPC) ในการสกัด dsRNA ของเชื้อ infectious bursal disease virus (IBDV) จากต้น bursae โดยหลังจากสกัดแล้ว dsRNA ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยการตกตะกอนด้วย lithium chloride พบว่า dsRNA ของเชื้อ IBDV ที่สกัดโดยใช้วิธี acid-quanidium-phenol-chloroform (AGPC) จะน้อยกว่าการใช้วิธี proteinase K digestion based approach ถึงแม้ว่าทั้ง 2 วิธีจะเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับ RT-PCR ในการเพิ่มจำนวน cDNA คือได้อย่างน้อย 1201 bp แต่ proteinase K digestion method จะเป็นวิธีการที่เหมาะสมมากกว่าการสกัดโดย AGPC สำหรับการเพิ่มจำนวน cDNA ของเชื้อ IBDV โดย PCR

Grieco *et al.* (2000) พบว่าวิธีการถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยวิธีกล (mechanical transmission) ผู้พืชทดสอบ ในพืชบางชนิดยังประสบปัญหาในการถ่ายทอดเชื้อ ดังนั้นจึงได้นำเอาเทคนิคทางด้าน molecular detection เข้ามาใช้ในการตรวจสอบและวินิจฉัยเชื้อไวรัส เพราะเป็นวิธีการที่รวดเร็ว แม่นยำ และมีประสิทธิภาพ ซึ่งเทคนิคดังกล่าวได้แก่ dsRNA extraction, molecular hybridization และ one step RT-PCR และได้มีการทดลองตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยวิธี dsRNA extraction ในต้น olive ที่เก็บมาจากพื้นที่ต่างๆ 6 พื้นที่ ในประเทศอิตาลี พบเชื้อไวรัสจากต้น olive 210 ต้น จากตัวอย่างทั้งหมด 286 ตัวอย่าง เท่ากับจำนวนต้นเป็นโรค 73.4 % โดยพบว่าตัวอย่างที่เก็บในฤดูใบไม้ผลิเพื่อการสกัด dsRNA จะให้ผลดีกว่าตัวอย่างที่เก็บในฤดูใบไม้ร่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างของมะลิที่แสดงอาการเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส

การสำรวจโรคไวรัสและเก็บตัวอย่างของมะลิที่แสดงอาการเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในครั้งนี้ได้ศึกษาอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ช่วงเดือน กันยายน 2544 - 2545 โดยการสังเกตอาการที่ผิดปกติของมะลิ (*Jasminum sambac* Ait.) มะลิฉัตร (*J. sambac* Ait.) และมะลิซ้อน (*J. sambac* Ait.) ซึ่งแสดงอาการคล้ายคลึงกับอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัส (virus-like symptom) จากแหล่งปลูกในเขตกรุงเทพมหานคร โดยทำการบันทึกลักษณะอาการอย่างละเอียดและเก็บตัวอย่างในมะลิที่เป็นโรคโดยแยกตามพันธุ์และอาการที่แตกต่างกัน มาปลูกไว้ในเรือนปลูกพืชทดลอง ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร บันทึกแหล่งเก็บและวัน เดือน ปี อย่างชัดเจน และคอยสังเกตอาการที่เกิดขึ้นบนต้น เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของพืชและอาการของโรคที่ปรากฏบนพืช จดบันทึกลักษณะที่สังเกตเพื่อจะได้ทราบรายละเอียดและอาการของโรค ในช่วงของการดูแลจะได้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ทุก ๆ 15 วัน เพื่อนำใบของมะลิที่แสดงอาการคล้ายอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสไปทำการศึกษาค้นคว้าในการถ่ายทอดเชื้อและการตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสโดยการแยกสกัดกรดนิวคลีอิกสายคู่ (dsRNA) ของเชื้อต่อไป

2. การประเมินความเสียหายของมะลิที่เกิดจากเชื้อไวรัสในแปลงปลูก

การประเมินความเสียหายของมะลิเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสเริ่มตั้งแต่เดือน กันยายน 2544-2545 โดยประเมินจากตัวอย่างมะลิที่เก็บมาดังที่กล่าวแล้วในตอนต้น สำรวจความเสียหายของต้นมะลิที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย ซึ่งสังเกตจากลักษณะอาการที่ปรากฏบนใบ ลำต้น และดอก จดบันทึกผลแล้วนำไปวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างทางสถิติ

การบันทึกและแบ่งระดับความเสียหายจากอาการที่ปรากฏบนต้นมะลิจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส โดยแบ่งระดับความเสียหายดังนี้

ระดับ 0 คือ แสดงอาการปกติคือไม่แสดงอาการต่าง

ระดับ 1 คือ แสดงอาการของโรคนต้นเพียงเล็กน้อย คือแสดงอาการต่าง 1-25 %

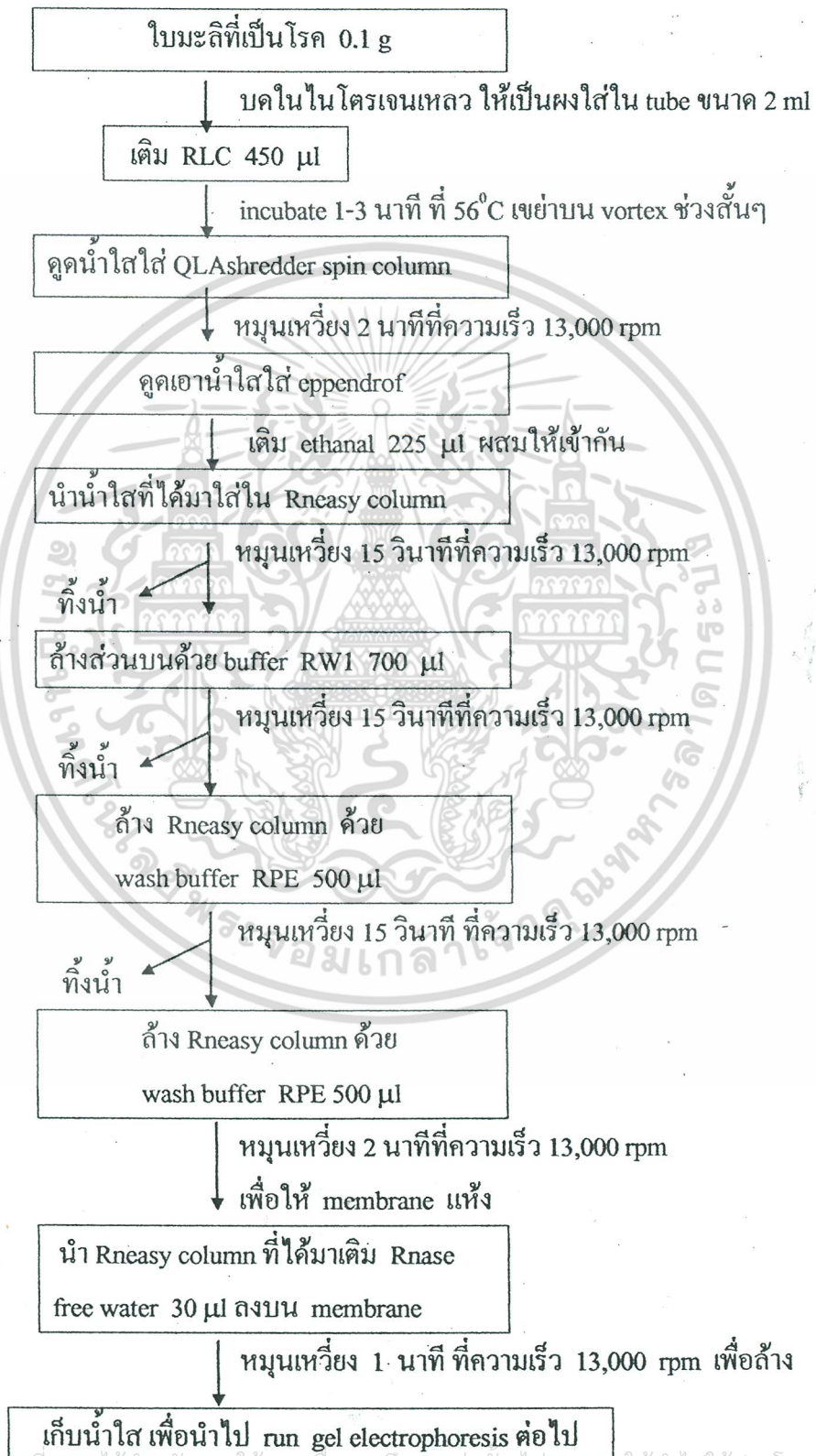
ระดับ 2 คือ แสดงอาการของโรคนต้นปานกลาง คือแสดงอาการต่าง 26-50 %

ระดับ 3 คือ แสดงอาการของโรคนต้นอย่างรุนแรง คือแสดงอาการต่าง 51-100 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อไวรัส โดยการแยกสกัดกรดนิวคลีอิกสายคู่ (dsRNA)

3.1 การแยกสกัดกรดนิวคลีอิกสายคู่ของเชื้อไวรัส (dsRNA extraction) โดยใช้ Rneasy Plant Mini Kit. (QIAGEN)



3.2 การใช้กระแสไฟฟ้าในการแยก dsRNA ของเชื้อไวรัส (electrophoresis)

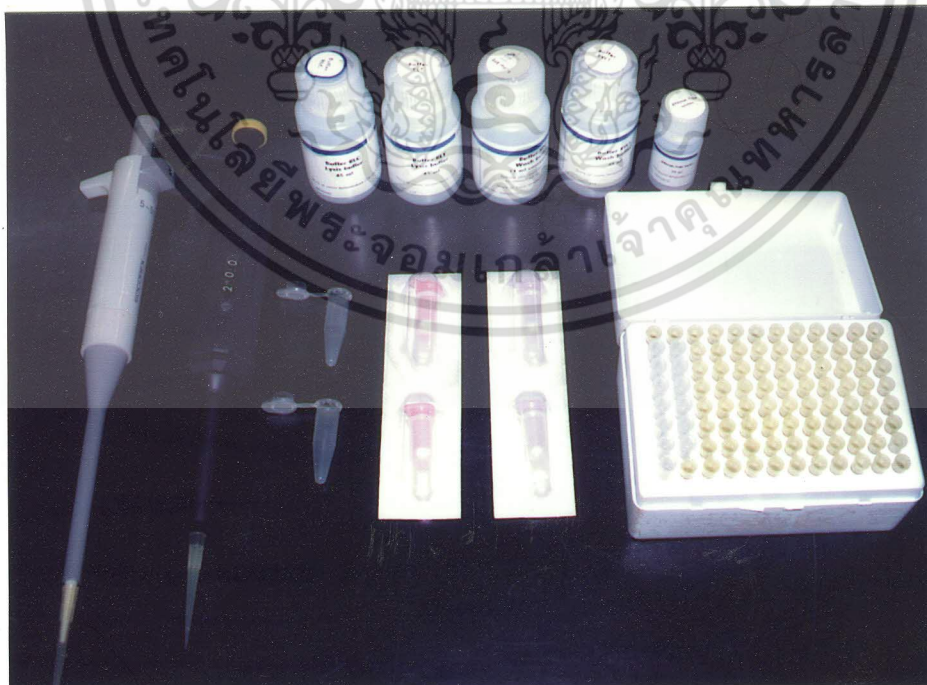
3.2.1 เตรียม electrophoresis buffer โดยใช้ TAE buffer (50X) ซึ่งประกอบด้วย Tris = 242 g, glacial acetic acid = 57.1 ml และ 0.5 M EDTA (pH 8.0) = 100 ml / l โดยคูด TAE buffer (50X) มา 6 ml เติมน้ำกลั่นให้ครบ 300 ml แล้วแบ่งมา 50 ml เพื่อนำมาละลาย agarose gel 0.8 % ที่เหลือเทใส่ถาด electrophoresis

3.2.2 นำตัวอย่างไวรัสที่ได้ 10 μ l ผสมรวมกับ loading buffer 3 μ l และ standard sample ผสมรวมกับ loading buffer 3 μ l หยอดลงใน agarose gel แต่ละหลุม

3.2.3 กระแสไฟฟ้าที่ใช้จะอยู่ระหว่าง 50 – 100 voltage ระยะเวลา 2 ชั่วโมง

3.3 การตรวจสอบและวิเคราะห์ผล

นำ gel มาทำการย้อมสีด้วยสารละลาย ethidium bromide ความเข้มข้น 20 ng/ml เป็นเวลา 15 นาที เพื่อดูลักษณะการเคลื่อนที่ของ dsRNA โดยใช้กล้องแสง ultraviolet ที่ความยาวคลื่น 260-302 nm จากลักษณะการเคลื่อนที่ของแถบ dsRNA ที่ตรวจสอบได้นั้นสามารถนำมาเปรียบเทียบกับลักษณะการเคลื่อนที่ของตัวมาตรฐานที่ใช้ เช่น การใช้ dsRNA ที่สกัดได้จากเชื้อไวรัสที่ทราบชนิดแล้วมาคำนวณหาพื้นที่โมเลกุลของตัวอย่างที่ต้องการตรวจสอบโดยเปรียบเทียบกับ linear curve



ภาพที่ 1 ชุด Rneasy Plant Mini Kit. (QIAGEN) และอุปกรณ์ในการแยกสกัด dsRNA ของเชื้อไวรัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างของมะลิที่แสดงอาการเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส

จากการศึกษาลักษณะอาการของโรคไวรัสในมะลิลา (*Jasminum sambac* Ait.) มะลิฉัตร (*J. sambac* Ait.) และมะลิซ้อน (*J. sambac* Ait.) ที่ได้จากการสำรวจตามแหล่งที่มีการขยายพันธุ์ แหล่งซื้อขายพันธุ์พืช และแหล่งปลูกมะลิในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล แล้วนำพืชที่แสดงอาการผิดปกติซึ่งคล้ายคลึงกับอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสมาปลูกไว้ในเรือนปลูกพืชทดลอง ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร พบว่ามะลิลา มะลิฉัตร และมะลิซ้อน แสดงอาการของโรคไวรัสและอาการคล้ายไวรัสดังต่อไปนี้

มะลิลา (*Jasminum sambac* Ait.)

แสดงอาการที่แตกต่างกันในแต่ละต้น โดยสามารถแบ่งอาการที่แสดงออกได้เป็น 2 กลุ่ม ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 พบว่า มะลิลาแสดงอาการแคระแกร็นอย่างรุนแรงเห็นได้อย่างชัดเจน ต้นทรุดโทรมและมีอัตราการเจริญเติบโตช้า ใบเรียวยาวแหลมและมีขนาดเล็ก ใบหงิกงอและบิดเบี้ยว โดยจะแสดงอาการใบด่างอย่างรุนแรงกับใบอ่อนที่เกิดขึ้นใหม่ คือด่างสีเขียวเข้มสลับกับสีเขียวอ่อน แต่อาการด่างจะค่อยๆจางลงหรือหายไปเมื่อใบแก่ขึ้น (ภาพที่ 2 และ 3)

กลุ่มที่ 2 พบว่า มะลิลาแสดงอาการใบด่างอย่างชัดเจนและรุนแรง โดยมีลักษณะอาการด่างเป็นจุดวงแหวน (ring spot) กระจายอยู่ทั่วทั้งใบ ใบมีขนาดเล็ก หงิกงอและบิดเบี้ยว ต้นมีอัตราการเจริญเติบโตช้าและทรุดโทรม อาการด่างจะแสดงออกอย่างรุนแรงมากขึ้นกับใบอ่อนที่เกิดขึ้นใหม่ และพบอาการเหลืองตามเส้นใบ (vein yellowing) (ภาพที่ 4 และ 5)



ภาพที่ 2 มะลิตา (*Jasminum sambac* Ait.) แสดงอาการใบค่างหงิกงอและบิดเบี้ยวอย่างรุนแรง



ภาพที่ 3 มะลิตา (*Jasminum sambac* Ait.) แสดงอาการใบเรียวแหลมและมีขนาดเล็กแคระแกร็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 มะลิลา (*Jasminum sambac* Ait.) แสดงอาการด่างเป็นจุดวงแหวน (ring spot)



ภาพที่ 5 มะลิลา (*Jasminum sambac* Ait.) แสดงอาการ เส้นใบมีสีเหลือง (vein yellowing)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะลิฉัตร (*Jasminum sambac* Ait.)

แสดงอาการแคระแกร็นอย่างรุนแรงเห็นได้อย่างชัดเจน ต้นทรุดโทรมและมีอัตราการเจริญเติบโตช้า ดอกเล็ก ใบหงิกงอและบิดเบี้ยวและแสดงอาการใบด่างอย่างรุนแรง โดยมีลักษณะด่างสีเขียวเข้มสลับกับสีเขียวอ่อน โดยจะแสดงอาการใบด่างอย่างรุนแรงกับใบอ่อนที่เกิดและจะค่อย ๆ จางลงหรือจางหายไปเมื่อใบแก่ขึ้น และจะแสดงอาการเหลืองที่เส้นใบ (vein clearing) รวมอยู่ด้วย (ภาพที่ 6, 7 และ 8)



ภาพที่ 6 มะลิฉัตร (*Jasminum sambac* Ait.) แสดงอาการแคระแกร็นอย่างรุนแรง ใบหงิกงอและบิดเบี้ยวและแสดงอาการใบด่างสีเขียวเข้มสลับกับสีเขียวอ่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 มะลิฉัตร (*Jasminum sambac* Ait.) แสดงอาการเหลืองที่เส้นใบ (vein yellowing)



ภาพที่ 8 มะลิฉัตร (*Jasminum sambac* Ait.) แสดงอาการดอกเล็ก อัตรการเจริญเติบโตช้า

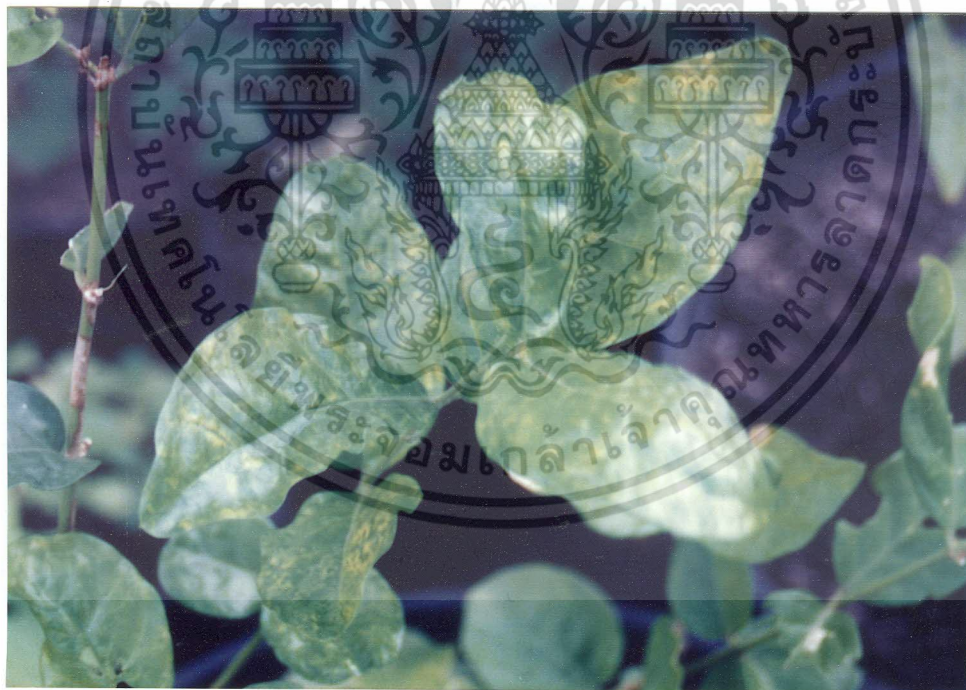
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีกวนนำไปใช้

มะลิซ้อน (*Jusminum sambac* Ait.)

แสดงอาการที่แตกต่างกันในแต่ละต้น โดยสามารถแบ่งอาการที่แสดงออกได้เป็น 2 กลุ่มดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 แสดงอาการที่แคะแกระ็นอย่างเห็นได้อย่างชัดเจน ใบหงิกงอและบิดเบี้ยว ต้นมีอัตราการเจริญเติบโตช้าและทรุดโทรม ใบมีลักษณะค่างเป็นลายแผนที่ (line pattern) อาการค่างที่เกิดขึ้นจะเห็นได้ชัดเจนบนใบอ่อนและอาการค่างจะค่อย ๆ จางลงหรือจางหายไปเมื่อใบแก่ขึ้นนอกจากนี้ยังพบอาการ vein yellowing คือเส้นใบมีอาการเหลืองร่วมอยู่ด้วย (ภาพที่ 9 และ 10)

กลุ่มที่ 2 แสดงอาการใบค่างอย่างชัดเจนและรุนแรง โดยมีลักษณะอาการค่างเหลืองกระจายอยู่ทั่วทั้งใบ, ใบมีขนาดเล็ก แคะแกระ็น ต้นมีอัตราการเจริญเติบโตช้าและทรุดโทรม อาการค่างจะแสดงออกอย่างรุนแรงกับใบอ่อนที่เกิดขึ้นใหม่ (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 9 มะลิซ้อน (*Jusminum sambac* Ait.) แสดงอาการแคะแกระ็นและค่างเป็นลายแผนที่ (line pattern)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 มะลิซ้อน (*Jusminum sambac* Ait.) แสดงอาการเหลืองเส้นใบ (vein yellowing)



ภาพที่ 11 มะลิซ้อน (*Jusminum sambac* Ait.) แสดงอาการต่างเหลืองใบเล็ก และแคะแกระน

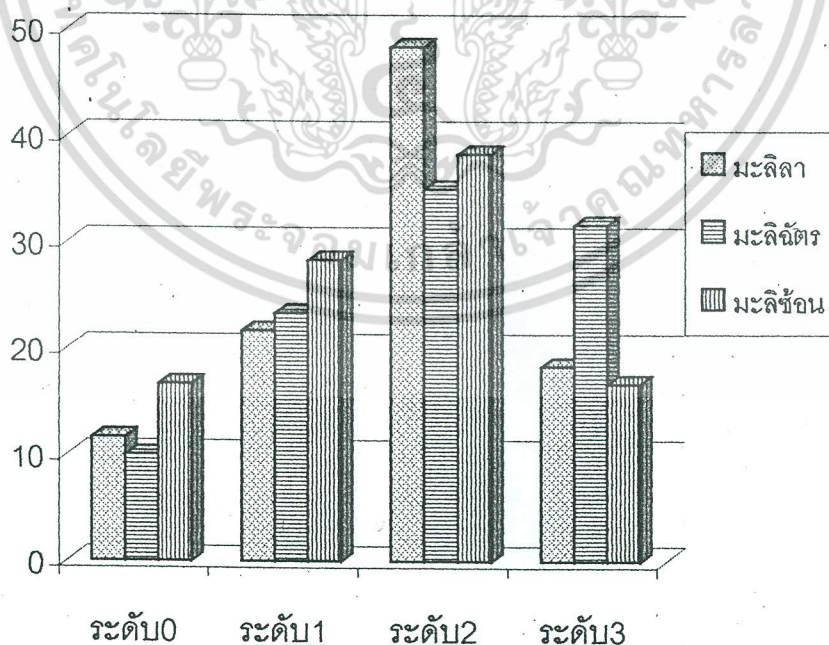
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การประเมินความเสียหายของมะลิที่เกิดจากเชื้อไวรัสในแปลงปลูก

ผลการประเมินความเสียหายของมะลิจากการที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย โดยสำรวจจากลักษณะอาการที่ปรากฏบนใบ และดอกด้วยวิธีแบ่งระดับความเสียหายออกเป็น 4 ระดับ ตามความรุนแรงของโรคจากแหล่งปลูกในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ปรากฏในตารางที่ 1 - 5 และภาพที่ 12 - 14 ดังนี้

ตารางที่ 1 แสดงระดับความเสียหายเนื่องจากความรุนแรงของอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในมะลิจากแหล่งปลูกในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล

ระดับอาการของโรคไวรัส	เปอร์เซ็นต์ (%) ต้นเป็นโรคในแปลงปลูก		
	มะลิลา	มะลิฉัตร	มะลิซ้อน
อาการปกติ (0)	11.67	10.00	16.67
อาการเล็กน้อย (1)	21.67	23.33	28.33
อาการปานกลาง (2)	48.33	35.00	38.33
อาการรุนแรง (3)	18.33	31.67	16.67

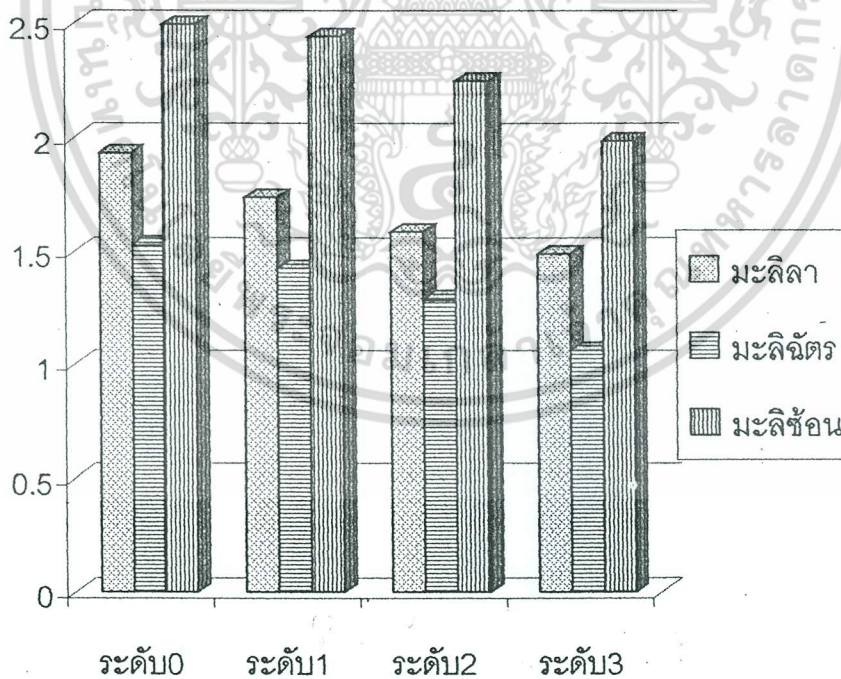


ภาพที่ 12 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของมะลิที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่เสียประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงขนาดความยาวดอกเฉลี่ย ของมะลิลา มะลิฉัตร และมะลิซ้อน เปรียบเทียบระหว่างต้นปกติและต้นที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย

ระดับอาการของโรคไวรัส	ขนาดความยาวของดอกเฉลี่ย		
	มะลิลา	มะลิฉัตร	มะลิซ้อน
อาการปกติ (0)	1.93 a	1.53 a	2.50 ^{1/} a
อาการเล็กน้อย (1)	1.74 b	1.43 b	2.45 a
อาการปานกลาง (2)	1.59 c	1.29 c	2.25 b
อาการรุนแรง (3)	1.49 d	1.06 d	1.99 c

1/ = ค่าเฉลี่ยจาก 15 กระจ่าง ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยเปรียบเทียบกับ Treatment means แบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.01



ภาพที่ 13 กราฟแสดงขนาดความยาวดอกเฉลี่ยของมะลิที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนดอกต่อต้น / สัปดาห์ ของมะลิลา (*Jasminum sambac*) เปรียบเทียบระหว่างต้นปกติและต้นที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย

ระดับอาการของโรคไวรัส	จำนวนดอก / ต้น (เฉลี่ย)			
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
อาการปกติ (0)	24.53 a	24.07 a	29.07 a	28.07 ^{1/} a
อาการเล็กน้อย (1)	16.20 b	15.60 b	18.40 b	17.80 b
อาการปานกลาง (2)	8.93 c	7.73 c	10.33 c	9.67 c
อาการรุนแรง (3)	4.73 d	6.27 d	6.20 d	5.73 d

1/ = ค่าเฉลี่ยจาก 15 กระถาง ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยเปรียบเทียบกับ Treatment means แบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนดอกต่อต้น / สัปดาห์ของมะลิฉัตร (*Jasminum sambac* Ait.) เปรียบเทียบระหว่างต้นปกติและต้นที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย

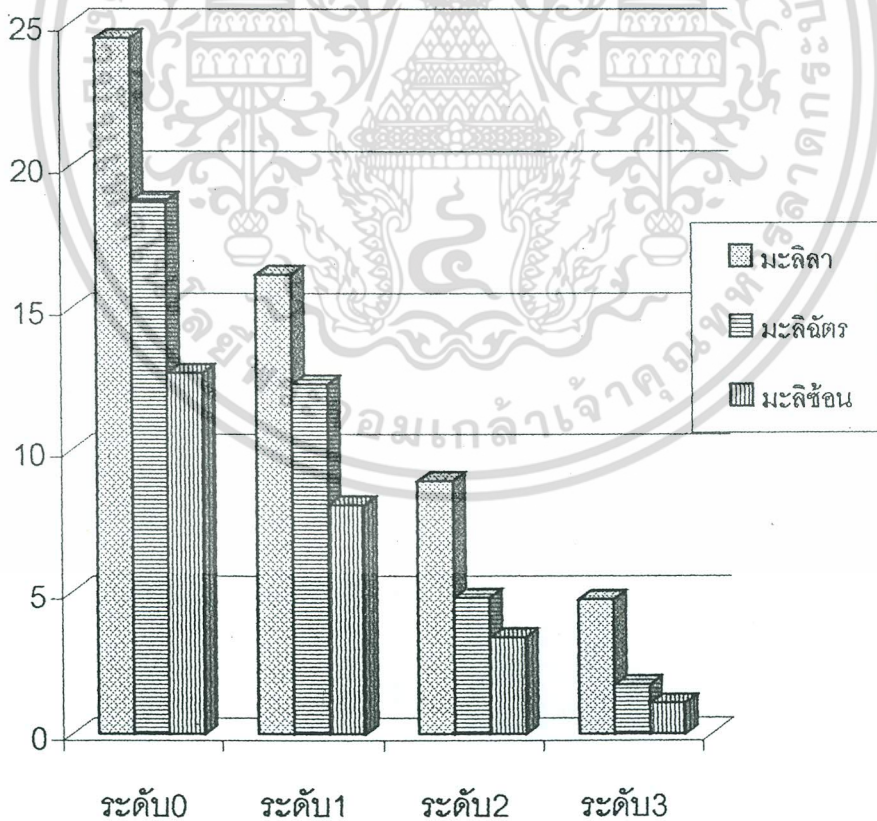
ระดับอาการของโรคไวรัส	จำนวนดอก / ต้น (เฉลี่ย)			
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
อาการปกติ (0)	18.80 a	19.13 a	16.13 a	19.73 ^{1/} a
อาการเล็กน้อย (1)	12.33 b	13.53 b	10.47 b	13.07 b
อาการปานกลาง (2)	4.80 c	6.20 c	4.27 c	4.40 c
อาการรุนแรง (3)	1.73 d	1.60 d	1.00 d	2.53 d

1/ = ค่าเฉลี่ยจาก 15 กระถาง ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยเปรียบเทียบกับ Treatment means แบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนดอกต่อต้น / สัปดาห์ ของมะลิซ้อน (*Jasminum sambac*)
เปรียบเทียบระหว่างต้นปกติและต้นที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย

ระดับอาการของโรคไวรัส	จำนวนดอก / ต้น (เฉลี่ย)			
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
อาการปกติ (0)	12.73 a	10.00 a	11.73 a	10.13 ^{1/} a
อาการเล็กน้อย (1)	8.07 b	7.00 b	6.93 b	7.93 ab
อาการปานกลาง (2)	3.39 c	2.27 c	5.27 c	4.33 bc
อาการรุนแรง (3)	1.07 d	1.07 d	1.60 d	0.87 c

1/ = ค่าเฉลี่ยจาก 15 กระถาง ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติโดยเปรียบเทียบกับ Treatment means แบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.01

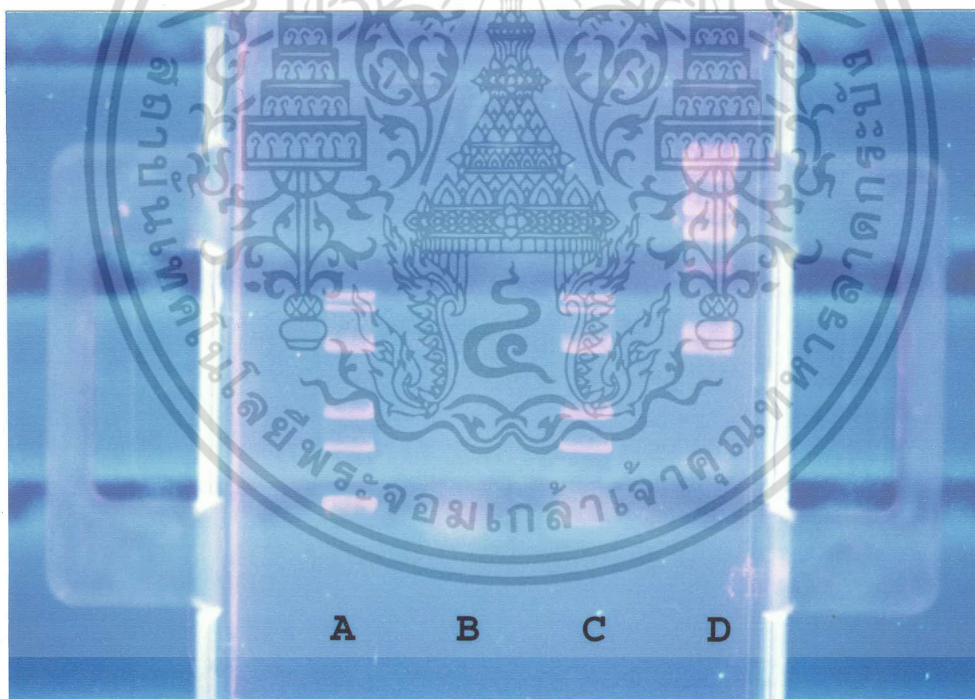


ภาพที่ 14 กราฟแสดงจำนวนดอกต่อต้นของมะลิที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการค้าเท่านั้น มิใช่อยู่ใต้เห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

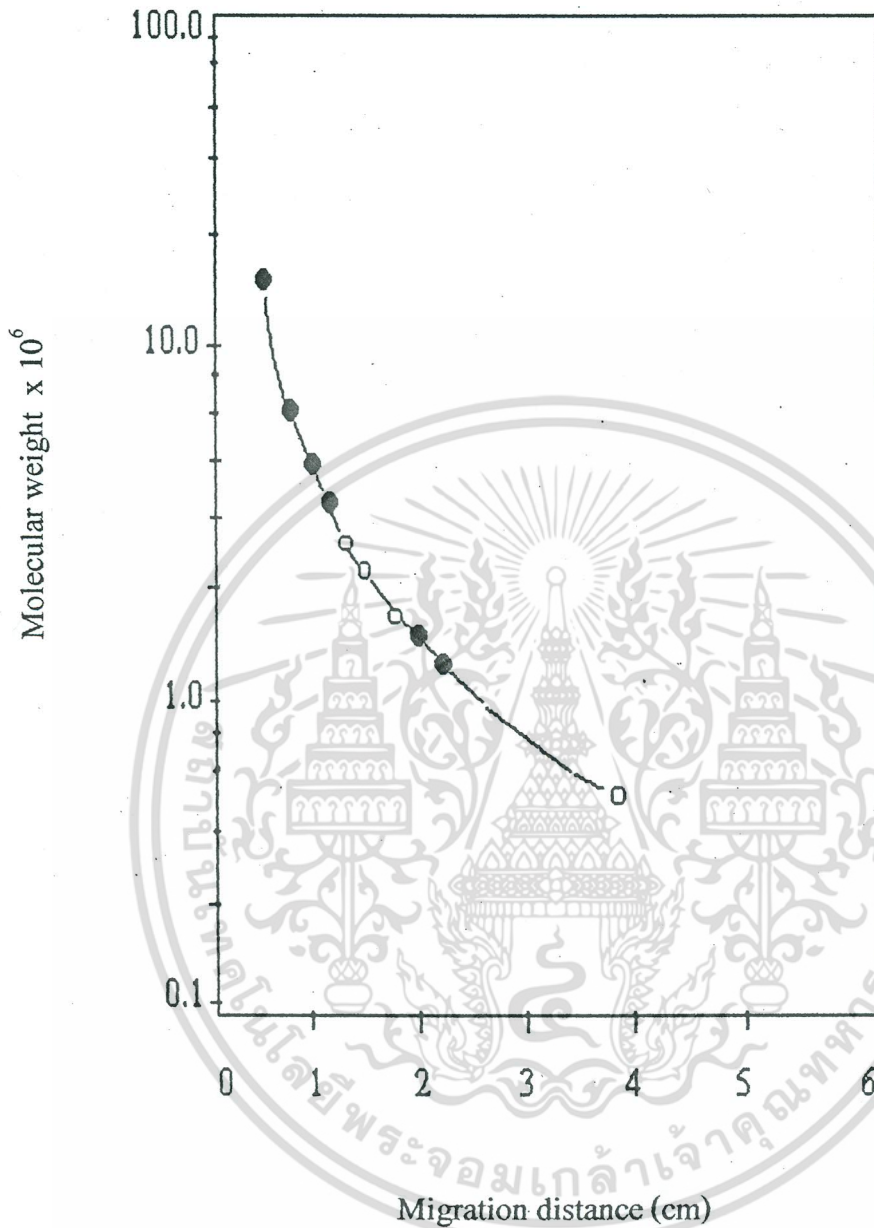
3. การแยกสกัดกรดนิวคลีอิกสายคู่ของเชื้อไวรัส (dsRNA extraction)

ผลการตรวจสอบเชื้อจากตัวอย่างใบของมะลิลา มะลิฉัตร และมะลิซ้อนที่แสดงอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสพบว่า pattern ที่ได้จะปรากฏแถบของ dsRNA แยกตัวให้เห็นอย่างชัดเจน โดยแถบที่สามารถมองเห็นได้คือ dsRNA แถบที่ 1 แถบที่ 2 แถบที่ 3 แถบที่ 4 และ แถบที่ 5 จากด้านบน โดยแถบเคลื่อนที่จากด้านบนเป็นระยะทาง 1.8 1.9 2.1 2.9 และ 4.1 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 15) และเมื่อนำระยะทางที่แถบเคลื่อนที่มากำหนดหาน้ำหนักโมเลกุลโดยการ plot กราฟ เปรียบเทียบระหว่างระยะทางการเคลื่อนที่ของตัวมาตรฐานกับน้ำหนักโมเลกุลของตัวมาตรฐาน Lambda DNA ที่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ Hind III โดยวิธี Linear curve ปรากฏว่าสามารถคำนวณน้ำหนักโมเลกุลได้ 3.2×10^6 2.8×10^6 2.4×10^6 1.2×10^6 และ 0.8×10^6 dalton ซึ่งค่าน้ำหนักโมเลกุลที่วัดได้มีค่าใกล้เคียงกับเชื้อ cucumber mosaic virus (CMV) ที่รายงานโดย Gould and Symon (1977)



ภาพที่ 15 แสดง pattern ของ dsRNA band จากการแยกสกัดใบที่แสดงอาการต่างของมะลิฉัตร (Lane A), มะลิซ้อน (Lane B), มะลิลา (Lane C) และ Lane D คือ pattern ของ Lambda DNA ที่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ Hind III

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเคลื่อนที่ของ dsRNA ของมะลิลา (*Jasminum sambac*) บน gel กับน้ำหนักโมเลกุลของ dsRNA ที่ได้โดยการ plot กราฟ ●—● Lambda DNA ที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ Hind III และ ○—○ cucumber mosaic virus (CMV)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในมะลิตามแหล่งที่มีการขยายพันธุ์ แหล่งซื้อขายพันธุ์พืชและแหล่งปลูกมะลิในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ของมะลิลา (*Jasminum sambac* Ait.) มะลิฉัตร (*J. sambac* Ait.) และมะลิซ้อน (*J. sambac* Ait.) พบว่าสอดคล้องกับรายงานของ Wilson (1972) ที่พบอาการด่าง (mosaic) และแผลจุดเหลือง (chlorotic spot) บนมะลิลา (*Jasminum sambac* Ait.) ในประเทศอินเดีย แต่ก็จะมีอาการที่แตกต่างอยู่หลายอาการ เช่น อาการด่างวงแหวน (ring spot) อาการด่างลายแผนที่ (line pattern) อาการเหลืองตามเส้นใบ (vein yellowing) อาการด่าง (mosaic) และใบผิดปกติรูปร่างบิดเบี้ยว (leaf deformation) ต้นแคระแกร็น (stunting) ดอกมีขนาดเล็ก ต้นทรุดโทรม

จากการประเมินความเสียหายพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในระดับอาการที่ 0, 1, 2 และ 3 ดังนี้ มะลิลา 11.67 %, 21.67 %, 48.33 % และ 18.33 % ตามลำดับ มะลิฉัตร 10.00 %, 23.33 %, 35.00 % และ 31.67 % ตามลำดับ และ มะลิซ้อน 16.67 %, 28.33 %, 38.33 % และ 16.67 % ตามลำดับ จากการวัดขนาดความยาวของดอก พบว่าในแต่ละระดับอาการของโรคมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบ Treatment means แบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$ โดยพบว่ามะลิลาที่มีความยาวดอกเฉลี่ยเท่ากับ 1.93, 1.74, 1.59 และ 1.49 เซนติเมตร ตามลำดับ มะลิฉัตรมีความยาวดอกเฉลี่ยเท่ากับ 1.53, 1.43, 1.29 และ 1.06 เซนติเมตร ตามลำดับ และมะลิซ้อนมีความยาวดอกเฉลี่ยเท่ากับ 2.50, 2.45, 2.25 และ 1.99 เซนติเมตร ตามลำดับ และจากการนับจำนวนดอกต่อต้น พบว่าให้ผลในทำนองเดียวกันคือ แต่ละระดับอาการของโรคมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบ Treatment means แบบ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น $P = 0.01$ โดยพบว่ามะลิลาที่มีจำนวนดอกต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 24.53, 16.20, 8.93 และ 4.73 ดอก ตามลำดับ มะลิฉัตรมีจำนวนดอกต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 18.80, 12.33, 4.80 และ 1.73 ดอก ตามลำดับ และมะลิซ้อนมีจำนวนดอกต่อต้นเฉลี่ยเท่ากับ 12.73, 8.07, 3.39 และ 1.07 ดอก ตามลำดับ ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวนี้จะพบว่าตามแหล่งขยายพันธุ์ แหล่งซื้อขายพันธุ์และแหล่งปลูกมะลิในเขตปริมณฑล มีอัตราการเกิดโรคไวรัสสูงมาก ทั้งนี้เนื่องจากมะลิมีการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (vegetative propagation) ส่งผลให้มีการระบาดของเชื้อไวรัสอย่างรวดเร็ว (นวลพรรณ, 2539) และเมื่อนำไปปลูกจะทำให้ต้นมะลิมีอัตราการเจริญเติบโตช้า ดอกมีขนาดเล็กและผลผลิตตกต่ำ

จากการตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยการแยกสกัด dsRNA ของเชื้อจากมะลิที่แสดงอาการเป็นโรคจากสภาพธรรมชาติ พบว่า ภายหลังจากการทำ electrophoresis มีการแยกตัวของ band อย่างชัดเจน และเมื่อนำระยะทางการเคลื่อนที่ของแถบมาคำนวณหาหน้าหนักโมเลกุล โดยการ plot กราฟเปรียบเทียบระหว่างระยะทางการเคลื่อนที่ของตัวมาตรฐานกับหน้าหนักโมเลกุลของตัวมาตรฐานสามารถคำนวณค่าได้ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณน้ำหนักโมเลกุล RNA ของเชื้อได้ 3.2×10^6 2.8×10^6 2.4×10^6 1.2×10^6 และ 0.8×10^6 dalton ซึ่งค่าน้ำหนักโมเลกุลที่วัดได้มีค่าใกล้เคียงกับเชื้อ cucumber mosaic virus (CMV) ที่รายงานโดย Gould and Symon (1977) และ สอดคล้องกับ Waterworth (1971) ที่พบเชื้อ CMV บนมะลิลา (*Jasminum sambac* Ait.) ในประเทศอินเดีย ในขณะที่ สุรภี และคณะ (2526) พบเชื้อไวรัสในมะลิที่แสดงอาการใบค่าง (mosaic) ว่าเป็นเชื้อไวรัสขนาดประมาณ 600 – 650 nm

จากการตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยการแยกสกัด dsRNA ของเชื้อจากใบมะลิที่แสดงอาการเป็นโรคครั้งนี้ถือว่ายังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร ซึ่งสามารถอธิบายได้เป็น 2 ปัจจัยหลัก คือ

1. ความเข้มข้นของเชื้อไวรัสในต้นมะลิที่เป็นโรคในช่วงที่ทำการสำรวจมีปริมาณต่ำ โดยเฉพาะระดับของ replicative – form RNA ในตัวอย่างที่ตรวจสอบถึงแม้ว่าอาการของโรคจะชัดเจน
2. ปัญหาการเกาะตัวของ dsRNA และ cellulose ในสภาพที่การแยกสกัดที่มีเมือกหรือยางของพืชเป็นองค์ประกอบในใบพืช (Hicks *et al.*, 1988)

นอกจากปัจจัยที่กล่าวมาแล้วข้างต้น อุณหภูมิและฤดูกาล ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการแยกสกัด dsRNA ของเชื้อไวรัส ดังรายงานของ Grieco *et al.* (2000) ที่ทำการตรวจสอบเชื้อไวรัสในต้น Olive และพบว่าตัวอย่างที่เก็บใบในฤดูใบไม้ผลิการสกัด dsRNA ของเชื้อจะให้ผลดีกว่าตัวอย่างที่เก็บได้ในฤดูใบไม้ร่วง

ดังนั้นเพื่อให้วิธีการตรวจสอบ dsRNA ของเชื้อพัฒนาไปสู่การวินิจฉัยการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมและคัดแปลงวิธีในการแยกสกัดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจสอบให้ชัดเจนขึ้น อย่างไรก็ตามผลจากการศึกษาวิจัยนี้จัดว่าเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถนำไปใช้เป็นประโยชน์ในการศึกษาต่อเนื่องต่อไป ซึ่งอาจรวมไปถึงการพัฒนาตัวตรวจ (probe) ที่มีความไวในการตรวจสอบถึงแม้เชื้อไวรัสจะอยู่ในปริมาณต่ำ (นวลพรรณ , 2540) อย่างไรก็ตามผลการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สามารถนำไปเป็นประโยชน์ในการศึกษาต่อไป

บรรณานุกรม

- กันยา เหมพัฒน์, 2535. ไม้ดอกไม้ประดับ. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
 กฤษดา ทัสนารมย์ และ พีรเดช ทองอำไพ, 2533. มะลิหน้าหนาว. **วันต้นไม้ประจำปีแห่งชาติ 2533.**
 สำนักสวัสดิการสังคม, กรุงเทพมหานคร.
- กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ, 5234. มะลิ. **สรุปผลการประชุมวิชาการประจำปี 2534.** กรมวิชาการเกษตร.
 จิรายุพิน จันทระประสงค์, 2536. **วันต้นไม้ประจำปีแห่งชาติ 2536.** สำนักสวัสดิการสังคม,
 กรุงเทพมหานคร.
- นวลพรรณ งามยี่สุ่น, 2539. โรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสและไวรอยด์. ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการ
 ศัตรูพืช, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง.
 กรุงเทพมหานคร.
- นวลพรรณ งามยี่สุ่น, 2540. การตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยการแยกสกัดและวิเคราะห์กรดนิวคลีอิก
 แบบ RNA. **วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง.** 5(2) : 32-37
- เพ็ญแข วุฒิพงศ์กุล, 2530. มะลิ. **เกษตรก้าวหน้า ปีที่ 2 ฉบับที่ 5 กันยายน – ตุลาคม 2530.**
 ยุพเยาว์ คุ้มถนอม. 2538. มะลิ. **วารสารเกษตรไทย ปีที่ 3 ฉบับที่ 3.**
- เศรษฐพงศ์ เลขะวัฒนะ, 2538. การปลูกมะลิ. คำแนะนำที่ 91. กรมส่งเสริมการเกษตร.
 สายชล มาลัยแก้ว, 2541. การปลูกมะลิ. **เกษตรเกษตร ปีที่ 10 ฉบับที่ 109 พฤศจิกายน 2539.**
 สุรภี กิรติยะอังกูร, เครือพันธุ์ กิตติปรกรณ์ และ นวลจันทร์ ดีมา, 2526. โรคใบด่างของมะลิลา.
รายงานการค้นคว้าวิจัยปี 2526. กลุ่มงานวิสาวิทยา, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา,
 กรมวิชาการเกษตร.
- โอฬาร พิทักษ์, 2533. การปลูกมะลิเป็นการค้า. คำแนะนำที่ 91. กรมส่งเสริมการเกษตร.
- Agrios, G.N. (1978). **Plant Pathology.** Academic Press, New York.
- Akin A., Wu C.C. and Lin T.L., 1998. A comparison of two RNA isolation methods for double-
 stranded RNA of infectious bursal disease virus. **Journal of Virological Methods.** 74:2,
 179-184.
- Brunt, A.A. *et al.* 1995. **Viruses of Plants.** UK. : University Press.
- Copeland, R.B. and Mills, P.R. 1986. Potato virus disease. **Annual Report on Research and
 Technical Work of the Department of Agriculture for Northern Ireland 1986.**
 136-137.
- Dodds, J.A. and Bar-Joseph, M. 1983. Double-stranded RNA from plant infected with
 closteroviruses. **Phytopathology.** 69 : 940-943.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Dodds, J.A., Morris, J. J. and Jordom, R. L. 1984. Plant ival double-stranded RNA. **Phytopathology**. 22 : 151-168.
- Fald, B.W., Morris, T.J. and Duffus, J.E. 1979. Unstable infectivity and sedimentable dsRNA associated with lettuce speckles mottle virus. **Virology**. 96 : 239-248.
- Fawzy, G.P., Kaper, J.M. and Waterwort, H.E. 1992. Cucumoviruses. In **Handbook of Plant Virus Infections (ed.Kurstak,E.),Elsevirer/North Holland:London**. pp. 275-332.
- Gildow, F.E., Ballinger, M.E. and Rochow, W.F. 1983. Identification of double stranded RNAs associated with barley yellow dwarf virus infection in oats. **Phytopathology**. 73 : 1507-1572.
- Gould, A.R. and Symons R.H., 1977. Cucumber mosaic cucumovirus. Pp 225-228. In : Alan, B. Karen, C. and G. Adrian, (eds), **Virus of Tropical Plants**. C.A.B. International. Red Wood Press Ltd, Melksham, Wiltshire.
- Grieco F., Saponari M., Alkowni R., Savinpo V., Martellu G.P. and Garau R.,2000. Advance in diagnosis of virus. **Informatore Fitopatologico**. 50:11, 49-52.
- Gyorgy, B. (1992). Inhibitory and stimulating effect of plant substances on virus transmission. **Acta- Hort**. 130 : 99-106
- Hick, R.G.T., Ngamyeesoon, N. and Perkins, C.J. 1988. Double-stranded RNA analysis as a Method for detecting viruses in woody ornamentals. **Acta-Hort**. 226(2) .47-56.
- Ikegami, M. and Fraenkel-Conrat, H. 1979. Characterization of double-stranded ribonucleic acid in tobacco leaves, **Proc.Natl.Acad.Sci.U&A**. 76 : 3637-3640.
- Jordan, R.L., Ohr, H.D. and Zentmyer, G.A. 1983. Avocado blackstreak disease. A newly Reconized major disease of avocado in California. **Phytopathology**. 73: 970.
- Martelli,G.P., Sabanadzovic, S., Savino, V., Abu Zurayk, A.R. and Masannat, M., 1995. Virus-like disease and viruses of olive in Jordan. **Phytopathologya-Mediterranea**. 34:2, 133-136.
- Mirkov, T.E. and Dodds, J.A. 1983. Detection of dsRNA in lettuce big vein infected lettuce. **Phytopathology**. 73: 961.
- Morris, T.J. and Dodds, J.A. 1979. Isolation and analysis of double-stranded RNA from virus infected plant and fungal tissue. **Phytopathology**. 69 : 854-858.
- Ngamyeesoon, N. and Hicks, R.G.T. 1988. Some properties of virus isolated from *Cassia corymbosa* with a mosaic disease. **Acta-Hort**. 234 : 45 – 52.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Noordam, J.T. 1973. *Methods in Plant Virology*. **Blackwell Scientific Publication**, Oxford.
- Tzeng, H.L.C., Chen, M.J. and Tzeng, D.D.S., 1996. An improved method for isolating closteroviral dsRNAs from leafroll affected grapevine. **Plant Pathology Bulletin**. 47-54.
- Wilson, J.Y. 1972. A manual of virus disease of tropical plant. **Phytopathology**. Z-101 : 179-181.
- Waterwort, H.E. 1971. Physical properties and host ranges of virus latent in and mechanically transmitted from Jasmine. **Phytopathology** 61 (2) : 228-230.



100852

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้