



17448

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การศึกษาระดับความต้านทานของพริก 5 พันธุ์ต่อเชื้อไวรัส

เส้นใบค่างประของพริก(CVMV)

The Studies on Resistance of Five Pepper Varieties to

Chilli Veinal Mottle Virus (CVMV)



T098842

โดย

นายคมศร แสงจินดา

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

ป.ท.

ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ค 1511

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

๒๕๔๒

พ.ศ. 2543

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 98842

วันเดือนปี..... 12 JUN 2000

สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ยกเว้นแต่ให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
ปริญญา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

เรื่อง

การศึกษาระดับความต้านทานของพริก 5 พันธุ์ต่อเชื้อไวรัสเส้นใบค้างประของพริก(CVMV)
The Studies on Resistance of Five Pepper Varieties to Chilli Veinal Mottle Virus (CVMV)

โดย

นายคมศร แสงจินดา

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

..... พ.ศ. ๒๕๖๓

(ผศ.ดร.นवलพรรณ งามยี่สุน)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ.ดร. วรเดช จันทรส)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

วันที่ ๒๕ เดือน พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๖๔

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Title : The Studies on Resistance of Five Pepper Varieties to Chilli Veinal Mottle Virus (CVMV)

By : Komsorn Sangjinda

Degree : Bachelor of Science in Agriculture

Department : Plant Pest Management Technology

Advisor : *N. Ngamyeesoon* 22/05/2001
(Asst. Prof. Dr. Nualphan Ngamyeesoon)

The studies on level of resistance to chilli veinal mottle virus (CVMV) of five pepper was demonstrated in red pepper (*Capsicum frutescens* L. var. *longum* Bail), chilli (*Capsicum frutescens* L. var. *grossum* Bail), bird pepper (*Capsicum minimum* ROXB.), yellow pepper (*Capsicum frutescens* L.), hot pepper (*Capsicum annuum* L.). These peppers were inoculated by sap from CVMV infected. Jimson weed (*Datura stramonium*). After 14 days of inoculation, hot pepper (*Capsicum annuum* L.) showed dark green spot, green vein banding symptom and leaf distortion, while the other peppers looked normally. Then the CVMV re-inoculation was done on these plants and symptom were observed closely. The result showed that all five pepper varieties displayed disease symptom in percentage as follow red pepper (*Capsicum frutescens* L. var. *longum* Bali) 57.5 %, chilli (*Capsicum frutescens* L. var. *grossum* Bail) 37.5%, hot pepper (*Capsicum annuum* L.) 35.0%, yellow pepper (*Capsicum frutescens* L.) 20.0%, bird pepper (*Capsicum minimum* ROXB.)15.0%. As a result of this the level of resistance to CVMV on five pepper varieties was classified into three group. The red pepper was susceptible, while, chilli and hot pepper were moderate susceptible, where as, bird pepper and yellow pepper were moderate resistance. Mean while, the symptom less plants were tested for CVMV using ELISA test. All plants found infected.

คำนิยม

ปัญหาพิเศษเรื่องนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากความอนุเคราะห์และอุปการะคุณจากบุคคลที่ทรงเกียรติหลายๆ ท่านที่ได้ให้การสนับสนุนและคำปรึกษาแนะนำในทุกๆ ด้าน ซึ่งหากขาดบุคคลเหล่านี้ ปัญหาพิเศษฉบับนี้ก็มิอาจสำเร็จได้อย่างแน่นอน

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ และขอขอบคุณทุกท่านที่ได้กล่าวถึงเป็นอย่างสูง ณ โอกาสนี้ด้วย ได้แก่

1. คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุน และช่วยเหลือทางด้านปัจจัย เงินทองทุกสิ่งทุกอย่าง พร้อมทั้งให้กำลังใจเสมอมา
2. อาจารย์ ผ.ศ. ดร . นवलพรรณ งามยี่สุน ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่เคารพได้ให้คำปรึกษา และข้อแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในการทำปัญหาพิเศษนี้ได้สำเร็จอย่างสมบูรณ์
3. พี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ เป็นทั้งแรงใจและแรงกระตุ้นที่ช่วยผลักดันให้ปัญหาพิเศษสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คมศร แสงจินดา

เมษายน 2544

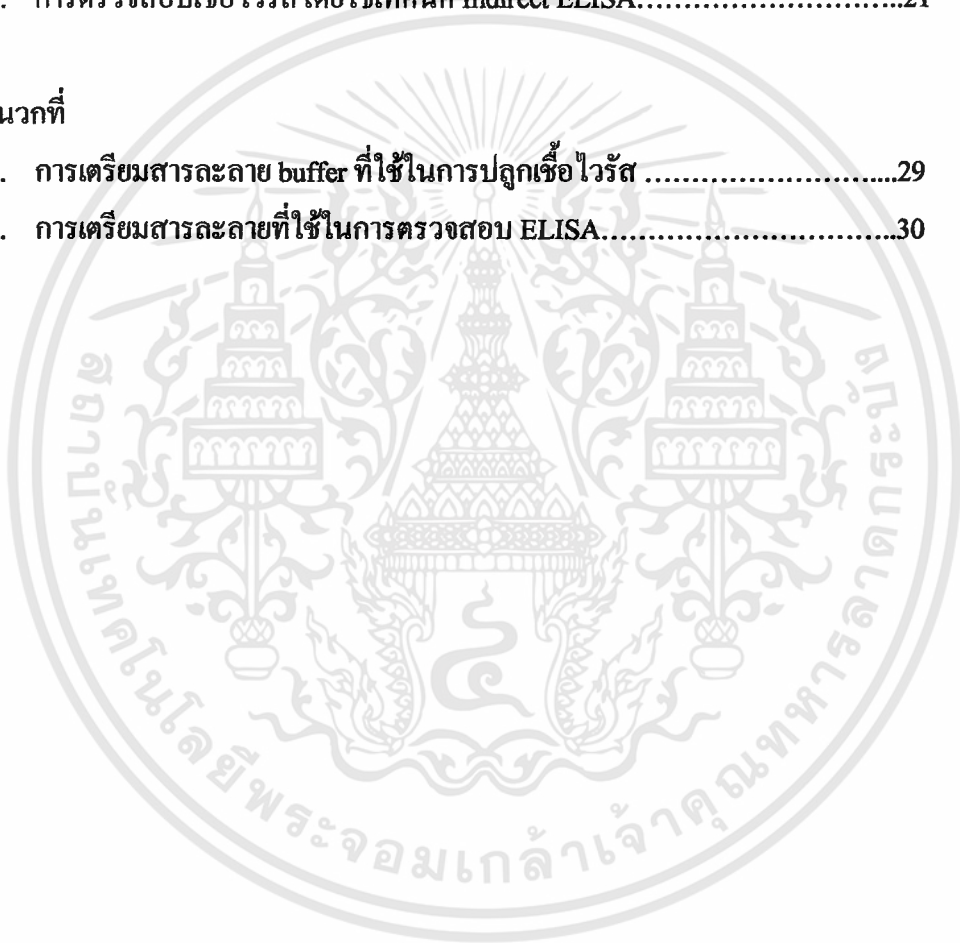
สารบัญ

เนื้อเรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ii
คำนิยม.....	iii
สารบัญ.....	iv
สารบัญตาราง.....	v
สารบัญภาพ.....	vi
คำนำ.....	1
การตรวจเอกสาร.....	3
อุปกรณ์และวิธีการ.....	7
ผลการทดลอง.....	12
วิจารณ์ผลการทดลอง.....	24
สรุป.....	25
เอกสารอ้างอิง.....	26
ภาคผนวก.....	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. แสดงเปอร์เซ็นต์ความเป็น โรคและจัดระดับความต้านทาน ของพริกแต่ละพันธุ์ต่อเชื้อ ไวรัส CVMV.....	18
2. การตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยใช้เทคนิค Indirect ELISA.....	21
ตารางผนวกที่	
1. การเตรียมสารละลาย buffer ที่ใช้ในการปลูกเชื้อไวรัส	29
2. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการตรวจสอบ ELISA.....	30



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. แสดงลักษณะใบต่างของใบลำโพงที่ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV) ลักษณะอาการ ใบต่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม ใบเปลี่ยนรูป.....	12
2. แสดงลักษณะใบต่างเป็นจุด หรือหย่อมสีเหลือง ตามเส้นใบ และใบมีอาการบิดเบี้ยว ต้นแคระแกร็น ใบเล็กลง ของพริกมันดำ เนื่องจากได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV).....	14
3. แสดงลักษณะใบพริกมันดำปกติเนื่องจากไม่ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV).....	14
4. แสดงลักษณะใบต่างเขียวขีดบริเวณเนื้อใบ แต่เนื้อเยื่อรอบๆ เส้นใบ ยังคงปกติบริเวณปลายใบมีสีซีดกว่าโคน ใบหงิก ใบเล็กลง ต้นแคระแกร็นของพริกหยวกเนื่องจากได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV).....	15
5. แสดงลักษณะใบพริกหยวกปกติเนื่องจากไม่ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)	15
6. แสดงลักษณะผลผลิตของพริกหยวกรูปร่างผิดปกติ ผลเล็ก สั้น หล่นง่าย.....	15
7. แสดงลักษณะใบต่างสีเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม มีขีด จุดหรือหย่อม สีเขียวตามเส้นใบบน และใบแสดงอาการบิดเบี้ยว ใบเล็กลง การเจริญเติบโต หยุดชะงัก แคระแกร็นของพริกชี้ฟ้า เนื่องจากได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV).....	16
8. แสดงลักษณะใบพริกชี้ฟ้าปกติเนื่องจากไม่ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV).....	16
9. แสดงลักษณะผลผลิตของพริกชี้ฟ้ารูปร่างผิดปกติ ผลเล็ก สั้น หล่นง่าย.....	16
10. แสดงลักษณะใบต่างเป็นจุด หรือหย่อม สีเหลืองอ่อนบนใบยอด และตามเส้นใบของพริกเหลืองเนื่องจากได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV).....	17
11. แสดงลักษณะใบพริกเหลืองปกติเนื่องจากไม่ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV).....	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
12. แสดงลักษณะผลผลิตของพริกเหลืองรูปร่างผิดปกติ หงิกงอ หล่นง่าย.....	17
13. แสดงลักษณะใบด่างเป็นจุด หรือหย่อมสีเหลืองอ่อนตามเส้นใบ และใบบิดเบี้ยว ต้นแคระแกร็น ใบเล็กกลง ของพริกชี้หนูเนื่องจาก ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV).....	20
14. แสดงลักษณะใบพริกชี้หนูปกติเนื่องจากไม่ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV).....	20
15. แสดงแผ่นผัง plate ELISA ที่ 1 ที่ทำการตรวจสอบเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV) บนพริกพันธุ์ต่าง ๆ	22
16. แสดงรูป plate ELISA ที่ 1 ที่ทำการตรวจสอบเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)บนพริกพันธุ์ต่าง ๆ	22
17. แสดงแผ่นผัง plate ELISA ที่ 2 ที่ทำการตรวจสอบเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV) บนพริกพันธุ์ต่าง ๆ	23
18. แสดงรูป plate ELISAที่ 2 ที่ทำการตรวจสอบเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV) บนพริกพันธุ์ต่าง ๆ	23

คำนำ

พริก เป็นพืชที่มีความสำคัญยิ่งชนิดหนึ่งสำหรับบ้านเราที่นิยมใช้ปรุงอาหารให้มีรสชาติ เป็นเครื่องชูรสที่สำคัญทำให้รสชาติของอาหารอร่อยน่ารับประทานยิ่งขึ้น เป็นพืชที่ทุกคนรู้จักดี จึงเป็นที่นิยมปลูกกันอย่างกว้างขวาง ทั้งที่ปลูกเป็นพืชผักสวนครัวใช้รับประทานภายในบ้านจนกระทั่งปลูกกันเป็นพื้นที่มากๆ เพื่อออกจำหน่ายทั้งในและภายนอกประเทศ พริกเป็นพืชที่ปลูกได้ง่ายสามารถปลูกได้ ในดินแทบทุกชนิดตลอดปี แต่อุปสรรคสำคัญในการปลูกพริกที่เกษตรกรต้องเผชิญอยู่ ได้แก่ โรคและแมลง ซึ่งแพร่ระบาดทำความเสียหายให้แก่พืชผลอยู่เป็นประจำ ทำให้ทั้งปริมาณและคุณภาพของผลผลิตต่ำลง ในจำนวนโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ทำความเสียหายให้กับพริกนั้น โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสทำความเสียหายให้กับแปลงปลูกพริกเป็นอันมาก เมื่อเกิดการระบาดขึ้นเพราะจะทำให้ต้นพริกนั้นแคระแกร็นใบด่าง หงิกงอ และลิบเล็กผิดปกติ การติดดอกออกผลน้อยลง โดยเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคกับพริกมีด้วยกันหลายชนิด เช่น Pepper mottle virus (PeMV), Pepper veinal mottle virus (PeVMV), Pepper vein banding mosaic virus (PeVBMV), Alfalfa mosaic virus (AMV), Beet curly top virus (BCTV), Cucumber mosaic virus (CMV), Potato aucuba mosaic virus หรือ Potato virus X (PVX), Tobacco etch virus (TEV), Tobacco leaf curl virus (TCCV), Tobacco mosaic virus (TMV), Tobacco rattle virus (TRV), Tomato bushy stunt virus (TBSV), Tomato ring spot virus (ToRV) และ Chilli veinal mottle virus (CVMV)

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงอาการที่เกิดกับพริก และ ความต้านทานของพริกพันธุ์ต่าง ๆ ต่อเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายทำให้เกิดความเสียหายในแง่ของผลผลิต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอาการ โรคไวรัสที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV) กับพริกพันธุ์ต่างๆ
2. เพื่อศึกษาความต้านทานของพริกบางพันธุ์ต่อเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)
3. เพื่อศึกษาวิธีการตรวจหาเชื้อ Chilli veinal mottle virus ด้วยวิธี indirect ELISA



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

พริกเป็นพืชที่มีความอ่อนแอ และง่ายต่อการติดเชื้อไวรัสมาก โดยสามารถรับเชื้อไวรัสต่าง ๆ ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชอื่น ๆ ได้เช่น Potato virus Y (PVY), Chilli veinal mottle virus (CVMV), Cucumber mosaic virus (CMV), Tobacco etch virus (TEV), Pepper mottle virus (PeMV), Tomato spotted wilt virus (TSWV), Tobacco mosaic virus (TMV), Tomato mosaic virus (ToMV) และ Pepper mild mottle virus (PMMoV) โดยเชื้อไวรัสเหล่านี้ก่อให้เกิดอาการเช่นเดียวกับโรคไวรัสในพืชอื่น ๆ ทั่วไป เช่น ยอดคาหรือใบเปลี่ยนรูป อาการใบหด หงิก นุ่ม ใบม้วนขึ้นหรือลง อาการเปลี่ยนสีของใบ อาการค้างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม เนื้อเยื่อใบบริเวณโดยรอบที่ติดเชื้อจะสูญเสียคลอโรฟิลและรงควัตถุ ทำให้แผลมีสีเขียวถึงเกือบขาว อาการแคะแกระ็น ใบดกผล มีขนาดเล็กลง ก้านใบ ขอบปล้องสั้นม้วนหงิก เป็นคลื่นหย่น กุด ต่างลาย เป็นดอกดวง เหลืองซีด

กิตติศักดิ์ และคณะ (2518) พบว่า เชื้อไวรัสในกลุ่ม Potato virus Y อาการของโรคที่เกิดขึ้นกับพริกพันธุ์ต่าง ๆ ที่ทดลอง 5 พันธุ์คือ พริกชี้ฟ้า พริกชี้หนู พริกหยวก พริกยักษ์ และ พริกเหลือง ผลปรากฏว่าพริกทั้ง 5 พันธุ์ แสดงอาการคล้ายคลึงกัน คือ ใบจะเปลี่ยนรูปร่าง (malformation) ใบจะค้าง หงิกงอ เล็ก เรียวยาวเป็นเส้น และต้นแคะแกระ็น เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคใบหงิกของพริกขึ้นอยู่กับอายุของพริก ถ้าต้นพริกอายุน้อยจะมีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคมากและต้นพริกจะแสดงอาการเป็นโรครุนแรง

กิตติศักดิ์ และ นวลจันทร์ (2520) พบว่าจากการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของโรคใบค้างของพริกที่เกิดจากเชื้อไวรัสในกลุ่ม (PVY) โดยใช้พริกชี้หนู (*Capsicum frutescens*) พันธุ์ Tabasco ซึ่งเป็นพืชที่อ่อนแอและเป็นโรคใบค้างได้ง่าย ลักษณะอาการที่เกิดขึ้นคือใบพริกมีอาการค้างเห็นได้ชัด ใบจะหงิกงอและบิดเบี้ยว บางใบมีลักษณะยาว ๆ คล้ายเชือกผูกกรองเท้า

ศักดิ์ (2530) กล่าวว่า Chilli veinal mottle virus (CVMV) ทำให้เกิดอาการค้างเขียวซีดบริเวณเนื้อใบ แต่เนื้อเยื่อรอบๆ เส้นใบยังคงเขียวเป็นปกติ บริเวณปลายใบมักมีสีเขียวกว่าโคนใบ ถ้าพืชเป็นโรครุนแรง ใบจะลีบ มีรูปลักษณะผิดปกติ ต่างชัดเจน และหดสั้น พืชสามารถแตกกิ่งก้านต่อไปได้อีก แต่ส่วนยอดจะเจริญช้าและแคะแกระ็นในที่สุด

เครือพันธุ์ และ คณะ (2536) พบว่า Chilli veinal mottle virus (CVMV) ที่แยกได้จากจังหวัดเชียงใหม่ทำให้พริกแสดงอาการใบค้างสีเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม มีขีด จุดหรือหย่อมสีเขียวตามเส้นใบ และผลค้างเกิดกับพริกมันแดง และพริกชี้หนุสวนสวนพริกทาบาสโก แสดงอาการใบค้าง ใบเล็กเรียวยาวรูป และบิดเบี้ยวเสียรูป

Green and Kim (1991) รายงานว่าเชื้อ Chilli veinal mottle virus เป็นเชื้อไวรัสที่มีความสำคัญต่อ พริกชี้ฟ้า พริกหยวก พริกยักษ์ และพริกชี้หนู ในประเทศมาเลเซีย โดยพบว่าพริกชี้ฟ้า พริกหยวก พริกยักษ์ และพริกชี้หนูแสดงอาการต่างเฉียวเข้ม ใบขนาดเล็กกล่ง และผิดปกติ ขนาดเล็กและปริมาณลดลง พืชอาศัยของเชื้อไวรัสเป็นพืชตระกูล Solanaceae

Huang *et. al.*, (1994) พบว่า การแสดงอาการของ Chilli veinal mottle virus บนใบยาสูบ แสดงอาการ จุดสีเขียวอ่อนหรือสีเหลืองหรือส้มบนใบยอด

Siriwong *et. al.*, (1995) พบว่า Chilli veinal mottle virus (CVMV) เป็นสาเหตุทำให้พริก ในประเทศไทย มีอาการ จุดเฉียวเข้ม ใบผิดปกติ ใบมีแถบสีเขียวตามเส้นใบ

Duriat (1996) พบว่าเชื้อไวรัส Chilli veinal mottle (CVMV), potato Y virus (PYV) และ cucumber mosaic virus (CMV) มีผลกระทบต่อผลผลิตอย่างมากในประเทศอินโดนีเซีย

Brunt *et. al.*, (1996) กล่าวว่า Chilli veinal mottle virus แสดงอาการต่างเฉียวบริเวณเส้น ใบ ใบเล็กกล่ง และผิดปกติใน *Capsicum annuum* ในขณะที่ *C. frutescens* แสดงอาการ เส้นใบต่าง และผิดปกติ พบเชื้อในประเทศเกาหลีเหนือ เกาหลีใต้ มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ ใต้หวัน และ ไทย

กิตติศักดิ์ และคณะ (2518) พบว่า เชื้อไวรัสที่ทำให้พริกเป็นโรคใบหงิกและต่างก็มีหลาย ชนิด ที่กำลังศึกษาและทดลองอยู่ พบว่าเชื้อไวรัสที่มีลักษณะเป็นแบบ flexous rod มีความยาว ประมาณ 740 นาโนเมตร (nm) ยังไม่ทราบเป็นเชื้อไวรัสชนิดใด ขนาดของ particle พอจัดได้ว่า เป็นเชื้อไวรัสที่อยู่ในกลุ่ม Potato virus Y

กิตติศักดิ์ และนวลจันทร์ (2520) พบว่า Thermal inactivation point ของเชื้อไวรัส Chilli veinal mottle virus (CVMV) สามารถทนอยู่ที่อุณหภูมิระหว่าง 54 - 58 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที Dilution end point เชื้อไวรัสจะหมดคุณสมบัติในการที่จะทำให้เกิดโรคกับพืชเมื่อน้ำคั้นมีความเจือจางระหว่าง 1000 - 5000 Longevity in vitro เมื่อเก็บน้ำคั้นไว้ในอุณหภูมิประมาณ 27 องศาเซลเซียส จะเก็บได้นาน 5 - 7 วัน จากการศึกษาทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพบว่า อนุภาคของเชื้อมีลักษณะเป็นท่อนคดยาว (flexous rod) 700 - 750 nm จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อไวรัส PVY

ศักดิ์ (2530) กล่าวว่า Chilli veinal mottle virus (CVMV) เป็นไวรัสในกลุ่มเดียวกับ PVY คือเป็นไวรัสรูปท่อนยาวคดงอ เชื้อ CVMV มีขนาดความยาวประมาณ 780 nm มีพืชอาศัยอื่นๆ หลาย ชนิดในตระกูล Solanaceae เช่น ยาสูบต่างๆ และวัชพืชบางชนิด เช่น โทงเทง (*Physalis flondana*) ถ้าโพง (*Datura spp.*)

เครือพันธ์ และคณะ (2536) พบว่า Chilli veinal mottle virus (CVMV) มีอนุภาคเป็นท่อนยาวประมาณ 750 nm ถ่ายทอดโดยการปลูกเชื้อแบบใช้น้ำคั้นและมีเพ็ลล์อ่อนเป็นพาหะแบบ non - persistent แต่ไม่ถ่ายทอดทางเมล็ด ไวรัสในน้ำคั้นจากใบพืชเป็นโรคยังคงทำให้เกิดโรคได้เมื่อเชื้อ

จาง 1: 1000 หรือ เมื่อเก็บไว้ในอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หรือเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน พืชอาศัยของไวรัสชนิดนี้ มีเพียง 11 ชนิด ในวงศ์ Solanaceae ไวรัสนี้มีความสัมพันธ์ทางเขตร่วมกับ CVMV จาก ประเทศไต้หวัน และมาเลเซีย

Siriwong *et. al.*, (1995) พบว่า Chilli veinal mottle virus (CVMV) มีอนุภาค โค้งงอ โดยมีความยาว 765 nm และมีความกว้าง 13 nm พืชอาศัยของไวรัส CVMV เป็นพืชตระกูล Solanaceae

Caranta and Palloix (1996) พบว่า พริก (*Capsicum annuum*) ในประเทศอินเดีย มีความต้านทานสมบูรณ์ต่อ Potato virus Y pathotype o (PVYo), Potyvirus E และ Chilli veinal mottle virus (CVMV) และต้านทานบางส่วนต่อ potato virus Y pathotype 1, 2 (PVY 1, 2) ในลูกหลานจาก F₁ มีความต้านทานต่อ CVMV โดยยีน 2 ตัว ยีน ความต้านทาน 2 ตัวของ CVMV เหมือนกับยีน ความต้านทานใน Potyvirus E

Brunt *et. al.*, (1996) พบว่า คุณสมบัติของ Chilli veinal mottle virus ในน้ำคั้น TIP 60 องศาเซลเซียส LIV 7 วัน ไม่ทำปฏิกิริยากับเขตร่วม ของ Potato Y, Tobacco etch, Peper veinal mottle และ Pepper mottle

สิริวิภา และคณะ (2532) ทำการศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์พริกจี๋หนูห้วยสีทน 1 ต่อโรคใบด่างพริกในกลุ่ม PVY ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ โดยทดลองปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อไวรัสในกลุ่ม PVY ให้กับพริกจี๋หนูห้วยสีทน 1 จำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่สายพันธุ์ A1, A2 3/2, 4/1-1, 4/1-2, 5/1 และ 7/2 ผลการทดลองปรากฏว่า การปลูกเชื้อ มีแนวโน้มทำให้ผลผลิตของพริกน้อยลงทุกสายพันธุ์ พริกจี๋หนูห้วยสีทน 1 สายพันธุ์ A1 มีผลผลิตสดเฉลี่ยมากที่สุด จากการศึกษาปฏิกิริยารวมพบว่า พริกจี๋หนูห้วยสีทน 1 สายพันธุ์ 5/1 เป็นพันธุ์ต้านทาน ส่วนพริกจี๋หนูห้วยสีทน 1 อีก 6 สายพันธุ์นั้น ต้านทานปานกลางสำหรับพริกที่ทำการปลูกเชื้อ พบว่าทุกสายพันธุ์เป็นโรคใบด่าง 100%

เครือพันธุ์ และคณะ (2536) กล่าวว่าจากการคัดเลือกพันธุ์พริกต้านทานต่อ CVMV และ CMV บนพริกพบว่า มีพริกจำนวน 4 พันธุ์ คือ จี๋หนูราชบุรี จี๋หนูอุบล 2 ไต้หวัน 83-168 และ Toom ที่ต้านทานสูงต่อ CVMV และ 6 พันธุ์ คือ Chau Maukau, ห้วยสีทน 5/1, จี๋หนูจินดา 4, พิจิตร 016, VC16a และ VC41a ต้านทานต่อ CVMV และยังมีพริก จำนวน 3 พันธุ์ คือ จี๋หนูโทนทั้ง, พิจิตร 08 และ พิจิตร 014 ต้านทานสูงต่อ CMV และ 3 พันธุ์ คือ VC 16a, VC33a และ VC40a ต้านทานต่อ CMV และพบว่า พริกพันธุ์ที่ต้านทานต่อ CVMV มักจะไม่ต้านทานต่อ CMV หรือผลในทางต้านทานตรงข้ามกัน พริกพันธุ์ที่ต้านทานต่อ CMV มักจะไม่ต้านทานต่อ CVMV มีพริกอยู่เพียง 1 พันธุ์ที่ต้านทานต่อทั้ง CVMV และ CMV คือ พริกพันธุ์ VC16a (*Capsicum annuum* Perennial. HDV.)

ศักดิ์ (2530) กล่าวว่า Chilli veinal mottle virus (CVMV)แพร่ระบาดได้โดยเพลี้ยอ่อนและโดยการทาน้ำคั้นบนใบพืช

Brunt *et. al.*, (1996) พบว่า เชื้อ Chilli veinal mottle virus ใน *Capsicum* spp. สามารถถ่ายทอดได้ทางแมลงแบบ non-persistent เช่น *Aphis craccivora*, *A. gossygii*, *A. spiraeicola*, *Myzus persicae*, *Toxoptera citricidus*, *Hysterosonevra setariae*



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเพาะต้นพืชทดสอบ
 - เมล็ดพริก 5 พันธุ์ ได้แก่ พริกหยวก พริกเหลือง พริกชี้ฟ้า พริกมันดำ พริกชี้หนู
 - เมล็ดกล้าโพง
 - กระถางเพาะกล้า
 - ดินเกษตร
 - ปุ๋ย สูตร 16-16-16, ยูเรีย
 - ถุงดำ
 - ยากำจัดแมลง
 - บัวรดน้ำ
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อไวรัส CVMV
 - ต้นพริกอายุ 30 – 45 วัน
 - Buffer : Phosphate buffer ความเข้มข้น 0.01 M pH 7.0 – 7.5
 - ฟง Celite
 - โกร่ง
 - กระบอกตวง 10 ml
 - กระดาษหนังสือพิมพ์
 - ใบกล้าโพงที่เป็น โรคใบด่างจากเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจ ELISA
 - ถุงพลาสติกขนาดเล็ก
 - ขวดล้าง plate
 - polystyrene microtitre plate
 - ตัวอย่างพืชทดสอบ
 - นาฬิกาจับเวลา
 - ฝ้ายกรอง
 - coating buffer (pH 9.6)
 - conjugate buffer
 - substrate buffer
 - PBS – Tween 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แอนติซีรัม ของเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV) จากกลุ่มงาน ไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

วิธีการทดลอง

1. การปลูกเชื้อเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัส Chilli veinal mottle virus (CVMV)

โดยทำการบรรจุดินลงในถุงพลาสติกสีดำขนาด 8 X 16 เซนติเมตร หยอดเมล็ดกล้าโพงใส่ลงถุง ๆ ละ 2-3 เมล็ด หลังจากนั้นประมาณ 1 เดือน เมื่อต้นโตและมีใบแก่แล้ว จึงทำการถ่ายทอดเชื้อ การถ่ายทอดเชื้อไวรัสเป็นการถ่ายทอดผ่านทางน้ำคั้น (sap transmission) โดยใช้ น้ำคั้นจากใบกล้าโพงที่แสดงอาการใบด่าง เนื่องมาจากเชื้อไวรัส CVMV เข้าทำลายไปสู่ต้นกล้าโพงปกติ ก่อนทำการปลูกเชื้อไวรัส ต้นกล้าโพงจะถูกคลุมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มความอ่อนแอให้กับต้นพืช เมื่อครบกำหนดแล้วนำกระดาษหนังสือพิมพ์ที่คลุมออก ล้างมือให้สะอาดด้วยสบู่ก่อนทำการปลูกเชื้อ นำโกร่งแช่เย็นออกมาแล้วนำไปใส่กล้าโพงที่เป็นโรคใบด่างจากเชื้อ CVMV ใส่ในโกร่ง เติมสารละลาย Phosphate buffer ในอัตราส่วนของใบต่อสารละลาย buffer 1 : 3 บดใบกล้าโพงให้ละเอียดโดยทำที่อุณหภูมิต่ำไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพของเชื้อ หลังจากนั้นเติมผง Celite ลงไปเล็กน้อยเพื่อทำให้พืชเกิดบาดแผล เชื้อไวรัสจะเข้าสู่ต้นกล้าโพงได้ง่าย หลังจากนั้นทำการปลูกเชื้อ โดยใช้ นิ้วมือจุ่มน้ำคั้นทาบนใบพืชจากโคนใบสู่ปลายใบ และใช้มืออีกข้างรองรับใบพืชด้านล่างเมื่อทาครบทุกต้นแล้วล้างเศษพืชที่ติดบนใบ กล้าโพงออกทันที โดยใช้ น้ำสัลดลงบนใบเพียงเล็กน้อย เพราะน้ำคั้นที่เหลือ อาจมีพิษต่อกล้าโพงได้ นำกระดาษหนังสือพิมพ์มาคลุมแล้วพรมน้ำให้เปียกเพื่อให้ความชื้น ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วนำกระดาษหนังสือพิมพ์ออกรดน้ำทุกวัน พร้อมกับสังเกตอาการ

2. การทดลองศึกษาอาการพริกต่อเชื้อไวรัส Chilli veinal mottle virus (CVMV)

โดยทำการเพาะกล้าพริก 5 พันธุ์ ได้แก่ พริกหยวก พริกเหลือง พริกชี้ฟ้า พริกมันดำ พริกชี้หนู โดยการบรรจุดินในกระถาง หยอดเมล็ดพริก 5 พันธุ์ ลงในกระถางๆ ละ 100 - 150 เมล็ด แล้วรดน้ำ หลังจากนั้นประมาณหนึ่งสัปดาห์ จะออกเป็นกล้า เมื่อต้นกล้าอายุประมาณ 15 - 20 วัน จะทำการย้ายลงในถุงพลาสติกสีดำ ขนาด 8 x 16 เซนติเมตร ที่บรรจุดินเรียบร้อยแล้ว ทำการรดน้ำ เช้า - เย็น ให้น้ำสูตร 16 - 16 - 16 สัปดาห์ละหนึ่งครั้ง จนอายุ 30 - 45 วัน เพื่อทำการปลูกเชื้อ

ทำการศึกษาโดยใช้พริก 5 พันธุ์ คือพริกหยวก พริกชี้ฟ้า พริกเหลือง พริกชี้หนู พริกมันดำ โดยต้นกล้าพริกอยู่ในระยะการเจริญที่มีใบแก่ 4 - 6 ใบ หรือมีอายุประมาณ 30 - 45 วัน โดยใช้จำนวนต้นกล้าพริก 40 ต้นต่อพันธุ์ การถ่ายทอดเชื้อไวรัสเป็นการถ่ายทอดผ่านทางน้ำคั้น โดยใช้ น้ำคั้นจากใบกล้าโพงที่แสดงอาการเส้นใบด่างประ เนื่องจากเชื้อไวรัส CVMV เข้าทำลายไปสู่ต้นพริกทั้ง 5 พันธุ์ ก่อนการปลูกเชื้อไวรัส ต้นพริกจะถูกคลุมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ 24 ชั่วโมง เพื่อเพิ่ม

ความอ่อนแอให้กับพืชทดสอบ เมื่อครบกำหนดแล้วนำกระดาษหนังสือพิมพ์ที่คลุมออก ล้างมือให้สะอาดด้วยสบู่ก่อนทำการปลูกเชื้อ นำโกร่งที่แช่เย็นและนำไปล้างโพ่งที่เป็นโรคเส้นใบต่างจากเชื้อ CVMV น้ำหนัก 2 กรัม ใส่ในโกร่งเติมสารละลาย Phosphate buffer ในอัตราส่วนของใบต่อสาร buffer 1: 3 บดใบล้างโพ่งให้ละเอียด โดยทำที่อุณหภูมิต่ำไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพของเชื้อแล้วเติมผง Celite ลงไปเล็กน้อยเพื่อทำให้เกิดบาดแผลเชื้อไวรัสจะเข้าสู่ต้นพริกได้ง่ายหลังจากนั้นทำการเจาะรูทำค้ำหีบบนใบพริกที่จะทำการปลูกเชื้อ การปลูกเชื้อโดยใช้นิ้วจุ่มน้ำคั้นแล้วทาบนใบพริกจากโคนใบสู่ปลายใบ และใช้มืออีกข้างรองรับใบพริกด้านล่าง ทำการปลูกเชื้อลงบนพริกทั้ง 5 พันธุ์ หลังจากนั้นทำการล้างเศษพืชที่ติดบนใบพริกออกทันที โดยใช้น้ำสัลดลงบนใบเพียงเล็กน้อย เพราะน้ำคั้นที่เหลือติดอยู่อาจมีพิษต่อต้นพริกได้ นำกระดาษหนังสือพิมพ์คลุมและพรมน้ำให้เปียกเพื่อให้ความชื้น ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วนำกระดาษหนังสือพิมพ์ออก รดน้ำทุกวัน พร้อมสังเกตอาการของโรค เมื่อครบ 14 วัน ทำการปลูกเชื้อซ้ำอีกครั้ง บนต้นพริกที่ไม่แสดงอาการ และสังเกตอาการ

การบันทึกผลโดยตรวจดูอาการที่เกิดขึ้นในแต่ละพันธุ์ จำนวนต้นที่ถูกเข้าทำลาย และจัดระดับความต้านทานของพืชต่อการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส

- I = Immunity (ปลอดเชื้อไวรัส) จำนวนต้นเป็นโรค 0 เปอร์เซ็นต์
- R = Resistant (ต้านทานต่อเชื้อไวรัส) จำนวนต้นเป็นโรค 0.1 – 10 เปอร์เซ็นต์
- MR = Moderate Resistant (ค่อนข้างต้านทานต่อเชื้อไวรัส) จำนวนต้นเป็นโรค 10.1 – 30 เปอร์เซ็นต์
- MS = Moderate Susceptible (ค่อนข้างอ่อนแอต่อเชื้อไวรัส) จำนวนต้นเป็นโรค 30.1 – 50 เปอร์เซ็นต์
- S = Susceptible (อ่อนแอต่อเชื้อไวรัส) จำนวนต้นเป็นโรค 50.1 – 100 เปอร์เซ็นต์

3. การทดลองการตรวจหาเชื้อไวรัสในต้นพริกด้วยวิธี ELISA

ทำการตรวจสอบพริกทั้ง 5 พันธุ์ คือ พริกหยวก พริกขี้หนู พริกมันดำพริกเหลือง พริกชี้ฟ้า ที่ไม่แสดงอาการหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 2 ครั้ง โดยนำใบพริกเหล่านั้นมาทำการตรวจสอบหาเชื้อไวรัสด้วยวิธี enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) ตามขั้นตอนดังนี้

1. บดใบพริกที่ต้องการตรวจสอบน้ำหนัก 0.1 กรัม โดยนำตัวอย่างพืชใส่ในถุงพลาสติกขนาดเล็ก จำนวน 1 ตัวอย่างต่อถุง โดยพริกที่เป็น โรคเส้นใบต่างประของพริก จากเชื้อ CVMV เป็น disease control และพืชปกติที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อเป็น healthy control วางแผนการตรวจสอบตัวอย่าง ลงบนตารางตรวจสอบ

2. นำใบพืชที่บดแล้วมาละลายในสารละลาย coating buffer โดยให้ได้ความเข้มข้นที่ระดับ 1 : 30 (น้ำหนักของพืชหน่วยเป็นกรัมต่อปริมาตร buffer หน่วยเป็นมิลลิลิตร)
3. หยดน้ำคั้นตัวอย่างพืชทดสอบที่บดใน coating buffer ลงใน plate ปริมาณ 100 μ l ต่อหลุมตามผังการทดลองที่วางไว้
4. นำ plate ใส่ในถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้สนิทแล้วนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาข้ามคืน
5. เมื่อครบกำหนดในการบ่ม plate แล้วทำการล้าง plate ด้วย PBS - Tween 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที
 - 5.1 สบัด plate แรง ๆ เพื่อให้ น้ำคั้นออกจากหลุม
 - 5.2 หยด PBS - Tween ลงในหลุมควรวัดการปนเปื้อนระหว่างหลุม
 - 5.3 วาง plate ไว้ที่อุณหภูมิ ห้องนาน 3 นาที เป็นการล้างครั้งที่ 1
 - 5.4 ทำการล้างเช่นนี้จนครบ 3 ครั้ง
 - 5.5 เมื่อล้างครบ 3 ครั้งคว่ำ plate โดยตบแรง ๆ บนกระดาษซับหรือผ้า
6. หยด antiserum ของเชื้อ CVMV ความเข้มข้น 1 : 1500 ซึ่ง dilute ใน conjugate buffer โดยใช้ CVMV antiserum 10 μ l ใน conjugate buffer 15 ml
7. นำ plate ใส่ในถุงพลาสติก แล้วนำไปบ่มในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาข้ามคืน
8. ทำการล้าง plate ด้วย PBS - Tween 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที
9. หยด Anti - Goat IgG alkaline phosphate conjugate ที่ละลาย ใน conjugate buffer โดยใช้ Anti Goat IgG 7.5 μ l ใน conjugate buffer 15 ml หลุมละ 100 μ l
10. นำ plate ใส่ในถุงพลาสติก แล้วนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาข้ามคืน
11. ดูด Anti - Goate IgG alkaline phosphate conjugate เก็บเข้าตู้เย็นเพื่อใช้ในครั้งต่อไป
12. ล้าง plate ด้วย PBS - Tween 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที
13. นำ p - nitrophenyl phosphate Substrate 5 mg / 10 ml (2 เม็ด / 1 plate) ละลายใน Substrate buffer แล้วหยด Substrate ลงใน plate หลุมละ 100 μ l ทำการตรวจสอบปฏิกิริยาหลังจาก ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที เพื่อรอให้เกิดสีเหลืองปฏิกิริยาชัดเจนขึ้น

ผลการทดลอง

1. การปลูกเชื้อเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัส Chilli veinal mottle virus (CVMV)

หลังจากทำการปลูกเชื้อประมาณ 14 วัน พบว่าต้นตำโพงแสดงอาการเป็นโรคเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส Chilli veinal mottle virus (CVMV) ลักษณะอาการ ใบด่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม ใบเปลี่ยนรูป (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะใบด่างของใบตำโพงที่ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV) ลักษณะอาการ ใบด่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม ใบเปลี่ยนรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การทดลองศึกษาอาการของพริกติดเชื้อไวรัส Chilli veinal mottle virus (CVMV)

จากการศึกษาระดับความต้านทานของพริกต่อเชื้อ CVMV โดยการสังเกตอาการที่ปรากฏ และการจัดกลุ่มปฏิกิริยาของพันธุ์ต่อกลุ่มไวรัส ผลปรากฏดังนี้

ลักษณะอาการที่เกิดในพริกแต่ละพันธุ์

พริกมันดำ

หลังจากทำการปลูกเชื้อครั้งแรกประมาณ 14 วัน เกิดอาการบนใบอ่อน ซึ่งจะแสดงอาการ ใบค่างเป็นจุด หรือหย่อมสีเหลือง ตามเส้นใบ และใบมีอาการบิดเบี้ยว ต้นแคระแกร็น ใบเล็กลง (ภาพที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติ (ภาพที่ 3) ที่แสดงอาการชัดเจน จำนวน 2 ต้น หรือเป็นโรค 5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการปลูกเชื้อครั้งแรก หลังจากนั้นทำการปลูกเชื้อซ้ำเป็นครั้งที่ 2 บนใบพืชที่ไม่แสดงอาการ พบว่ามีต้นพืชแสดงอาการเป็น โรคเพิ่มจำนวนมากขึ้น

พริกหยวก

หลังจากทำการปลูกเชื้อครั้งแรกประมาณ 14 วัน ไม่พบต้นพริกที่แสดงอาการเป็น โรคจึงทำการปลูกเชื้อซ้ำอีกครั้ง หลังจากนั้นประมาณ 14 วันพบว่าต้นพริกแสดงอาการต่างเขียวซีดบริเวณ เนื้อใบ แต่เนื้อเยื่อรอบ ๆ เส้นใบยังคงปกติบริเวณปลายใบมีสีเขียวที่โคนใบ ใบหงิก ใบเล็กลงหดสั้น ต้นแคระแกร็น (ภาพที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติ (ภาพที่ 5) ผลผลิตมีรูปร่างผิดปกติ ผลเล็ก และสั้น หล่นง่าย (ภาพที่ 6)

พริกชี้ฟ้า

หลังจากทำการปลูกเชื้อครั้งแรกประมาณ 14 วัน ไม่พบต้นพริกที่แสดงอาการการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสจึงทำการปลูกเชื้อซ้ำอีกครั้ง หลังจากนั้นประมาณ 14 วัน พบว่าต้นพริกแสดงอาการบนใบอ่อน แสดงอาการใบค่างสีเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม มีจุด จุดหรือหย่อมเข้มตามเส้นใบ และใบแสดงอาการบิดเบี้ยว ใบเล็กลง การเจริญเติบโตหยุดชะงัก แคระแกร็น (ภาพที่ 7) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติ (ภาพที่ 8) ผลผลิตมีรูปร่างผิดปกติ ผลเล็กและสั้น หงิกงอ (ภาพที่ 9)

พริกเหลือง

หลังจากทำการปลูกเชื้อครั้งแรกประมาณ 14 วัน ไม่พบต้นพริกที่แสดงอาการเป็น โรคจึงทำการปลูกเชื้อซ้ำอีกครั้ง หลังจากนั้น ประมาณ 14 วัน พบว่าต้นพริกแสดงอาการ ใบค่างเป็นจุด หรือหย่อม สีเหลืองอ่อนบนใบยอด และตามเส้นใบ (ภาพที่ 10) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติ (ภาพที่ 11) ผลผลิตมีรูปร่างผิดปกติ หงิกงอ และหล่นง่าย (ภาพที่ 12)

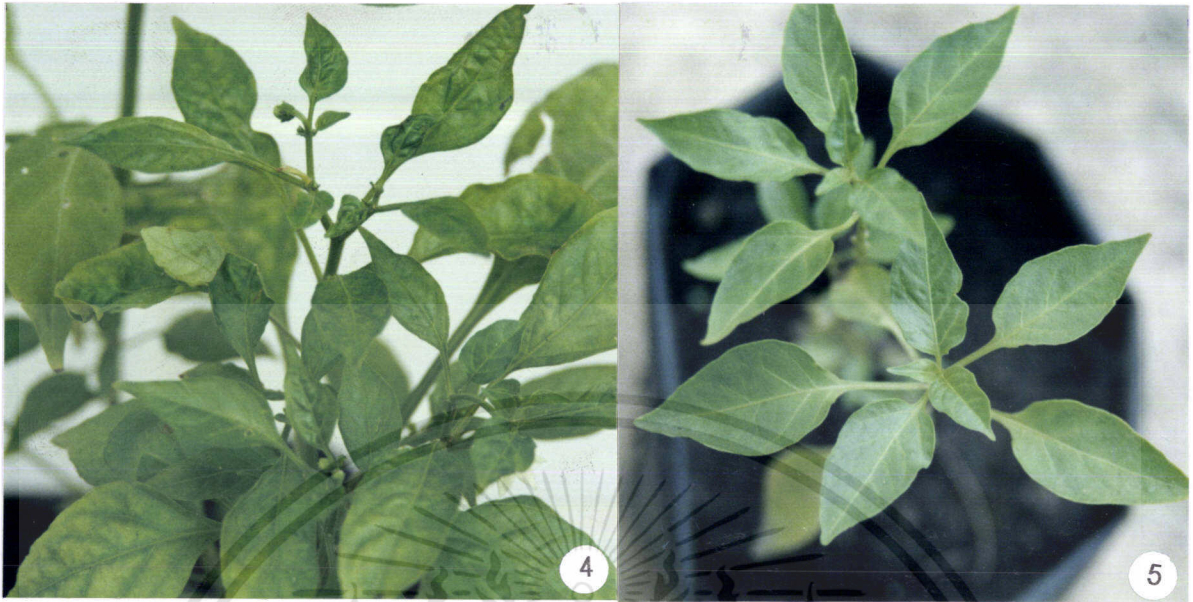


ภาพที่ 2 แสดงลักษณะใบคางเป็นจุด หรือหย่อมสีเหลือง ตามเส้นใบ และใบมีอาการบิดเบี้ยว ต้นแคระแกร็น ใบเล็กลง ของพริกมันดำเนื่องจากได้รับการปลูกเชื้อ Chilli vein mottle virus (CVMV)



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะใบพริกมันดำปกติเนื่องจากไม่ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli vein mottle virus (CVMV)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



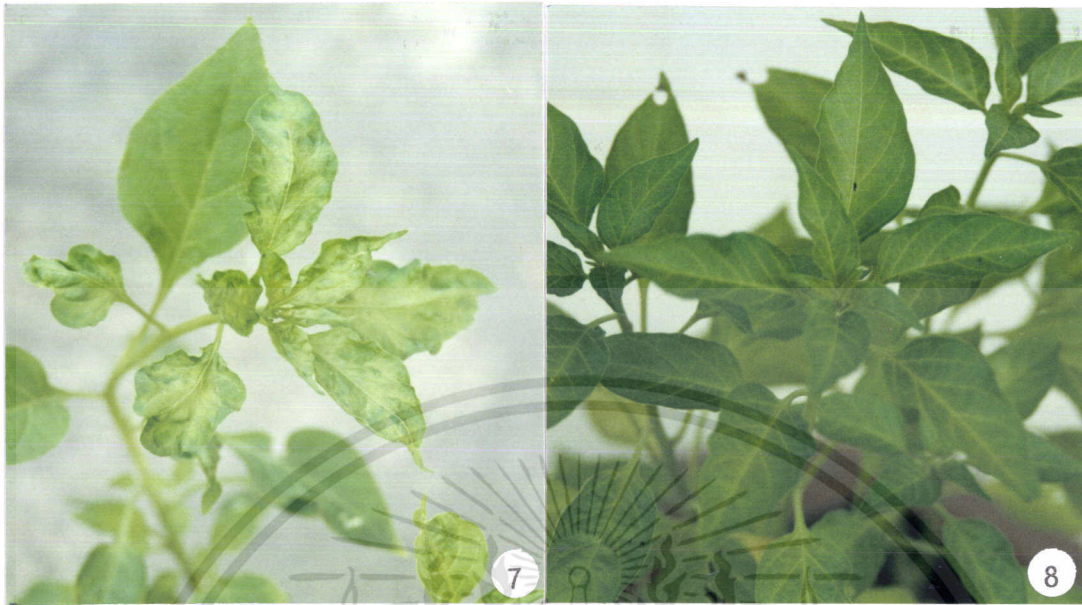
ภาพที่ 4 แสดงลักษณะใบด่างเขียวซีดบริเวณเนื้อใบ แต่เนื้อเยื่อรอบๆ เส้นใบยังคงปกติบริเวณปลายใบมีสีเขียวเข้มกว่าโคน ใบหงิก ใบเล็กลง ต้นแคระแกร็นของพริกหยวกเนื่องจากได้รับการปลูกเชื้อ Chilli vein mottle virus (CVMV)

ภาพที่ 5 แสดงลักษณะใบพริกหยวกปกติเนื่องจากไม่ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli vein mottle virus (CVMV)



ภาพที่ 6 แสดงลักษณะผลผลิตของพริกหยวกรูปร่างผิดปกติ ผลเล็กและสั้น หล่นง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 แสดงลักษณะใบด่างสีเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม มีขีด จุดหรือหย่อมสีเขียวตามเส้นใบบน และใบแสดงอาการบิดเบี้ยว ใบเล็กลง การเจริญเติบโตหยุดชะงัก แคระแกร็นของพริกชี้ฟ้า เนื่องจากการปลุกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)

ภาพที่ 8 แสดงลักษณะใบพริกชี้ฟ้าปกติเนื่องจากไม่ได้รับการปลุกเชื้อ Chilli veinal mottle virus(CVMV)



ภาพที่ 9 แสดงลักษณะผลผลิตของพริกชี้ฟ้ารูปร่างผิดปกติ ผลเล็กและสั้น หล่นง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 แสดงลักษณะใบค่างเป็นจุด หรือหย่อม สีเหลืองอ่อนบนใบยอด และตามเส้นใบของพริกเหลืองเนื่องจากการปลุกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)

ภาพที่ 11 แสดงลักษณะใบพริกเหลืองปกติเนื่องจากไม่ได้รับการปลุกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)



ภาพที่ 12 แสดงลักษณะผลผลิตของพริกเหลืองรูปร่างผิดปกติ หงิกงอ หล่นง่าย พริกชี้หนู

หลังจากทำการปลูกเชื้อครั้งแรกประมาณ 14 วัน ไม่พบต้นพริกที่แสดงอาการเป็นโรคจึงทำการปลูกเชื้อซ้ำอีกครั้งหลังจากนั้นประมาณ 14 วันพบว่าต้นพริกแสดงอาการบนใบอ่อนอาการใบต่างเป็นจุด หรือหย่อมสีเหลืองตามเส้นใบ และใบมีอาการบิดเบี้ยว ต้นแคระแกร็น ใบเล็กลง (ภาพที่ 13) เมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติ (ภาพที่ 14)

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ความเป็นโรค และจัดระดับความต้านทานของพริกแต่ละพันธุ์ต่อเชื้อไวรัส CVMV ของพริกแต่ละพันธุ์

พันธุ์พริก	จำนวนต้นทั้งหมด	จำนวนต้นที่แสดงอาการ	เปอร์เซ็นต์ต้นพริกเป็นโรค	กลุ่มปฏิกิริยาของพริกแต่ละพันธุ์ต่อไวรัส CVMV
พริกชี้ฟ้า	40	23	57.5	S
พริกหยวก	40	15	37.5	MS
พริกชี้หนู	40	6	15.0	MR
พริกมันดำ	40	14	35.0	MS
พริกเหลือง	40	8	20.0	MR

หมายเหตุ การจัดระดับความต้านทานของพืชต่อการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส

- I = Immunity (ปลอดเชื้อไวรัส) จำนวนต้นเป็นโรค 0 เปอร์เซ็นต์
- R = Resistant (ต้านทานต่อเชื้อไวรัส) จำนวนต้นเป็นโรค 0.1 – 10 เปอร์เซ็นต์
- MR = Moderate Resistant (ค่อนข้างต้านทานต่อเชื้อไวรัส) จำนวนต้นเป็นโรค 10.1 – 30 เปอร์เซ็นต์
- MS = Moderate Susceptible (ค่อนข้างอ่อนแอต่อเชื้อไวรัส) จำนวนต้นเป็นโรค 30.1 – 50 เปอร์เซ็นต์
- S = Susceptible (อ่อนแอต่อเชื้อไวรัส) จำนวนต้นเป็นโรค 50.1 – 100 เปอร์เซ็นต์

จากตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ความเป็นโรค และจัดระดับความต้านทานของพันธุ์พริกต่อเชื้อไวรัส CVMV ของพริกแต่ละพันธุ์ โดยพริกที่ใช้ทดสอบ 5 พันธุ์ ๆ ละ 40 ต้น จำนวนต้นพริกที่พบว่าเป็นโรคหลังจากได้รับการปลูกเชื้อ CVMV พริกชี้ฟ้า พริกหยวก พริกชี้หนู พริกมันดำ พริกเหลือง จำนวน 23, 15, 6, 14 และ 8 ต้นตามลำดับ โดยที่เปอร์เซ็นต์ความเป็นโรคของพริก พริกชี้ฟ้า

พริกหยวก พริกชี้หนู พริกมันดำ พริกเหลือง คิดเป็น 57.5, 37.5, 15.0, 35.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถแบ่งกลุ่มระดับความต้านทานของพันธุ์ต่อเชื้อไวรัสได้ 3 กลุ่ม คือ พริกชี้ฟ้า จัดอยู่ในกลุ่ม อ่อนแอต่อเชื้อไวรัส พริกหยวกและพริกมันดำ จัดอยู่ในกลุ่มค่อนข้างอ่อนแอต่อเชื้อไวรัส พริกชี้หนูและพริกเหลืองจัดอยู่ในกลุ่มค่อนข้างต้านทานต่อเชื้อไวรัส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 13 แสดงลักษณะใบต่างเป็นจุด หรือหย่อมสีเหลืองอ่อนตามเส้นใบ และ ใบบิดเบี้ยว ต้นแคระแกร็น ใบเล็กลง ของพริกชี้หนูเนื่องจากการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)



ภาพที่ 14 แสดงลักษณะใบพริกชี้หนูปกติเนื่องจากการไม่ได้รับการปลูกเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การตรวจหาเชื้อไวรัสในต้นพริกด้วยวิธี ELISA

จากการทดสอบหาเชื้อไวรัสโดยอาศัยเทคนิคทาง indirect ELISA โดยใช้พริกพันธุ์ต่าง ๆ ที่ได้รับการปลูกเชื้อแต่ไม่แสดงอาการของโรคมารับการตรวจสอบ ซึ่งหลังจากที่หยดสาร Substrate ลงไปใน plate แล้วประมาณ 10 – 15 นาที สารละลายในหลุมจะเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง พบว่าพริกที่นำมาทดสอบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทุกหลุม แสดงว่าพริกที่นำมาตรวจสอบมีการเข้าทำลายของเชื้อ CVMV ทุกตัวอย่างถึงแม้จะไม่ปรากฏอาการของโรคบนใบ

ตาราง ที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การตรวจพบเชื้อ CVMV บนพริกพันธุ์ต่างๆ โดยใช้
อาศัยเทคนิค indirect ELISA

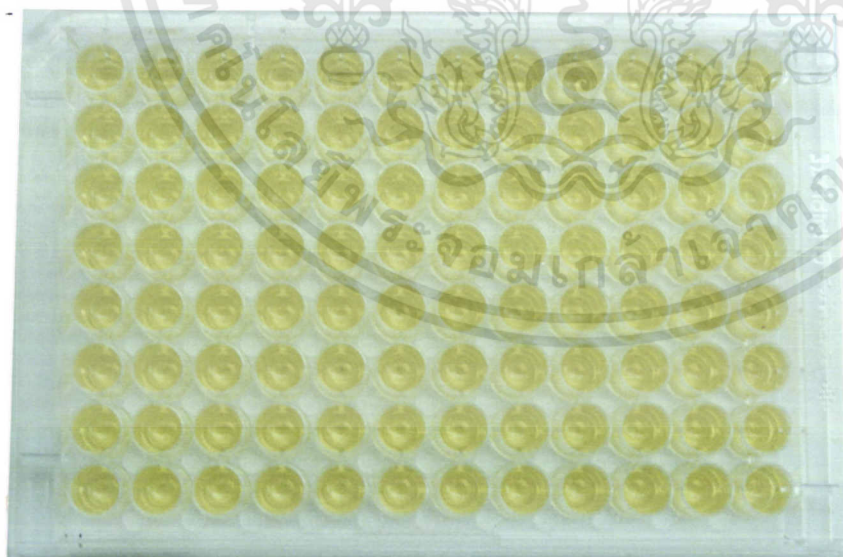
พันธุ์พริก	จำนวนต้นที่ใช้ทดสอบ	จำนวนต้นที่พบเชื้อในน้ำคั้นระดับความเข้มข้น 1 : 30	จำนวนเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบเชื้อระดับความเข้มข้น 1 : 30
พริกชี้ฟ้า	17	17	100.0
พริกหยวก	25	25	100.0
พริกชี้หนู	34	34	100.0
พริกมันดำ	26	26	100.0
พริกเหลือง	32	32	100.0

จากตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของเชื้อ Chili veinal mottle virus (CVMV) บนพริกโดยใช้เทคนิค indirect ELISA โดยพริกที่ทดสอบทั้ง 5 พันธุ์ ได้แก่ พริกชี้ฟ้า 17 ต้น พริกหยวก 25 ต้น พริกชี้หนู 34 ต้น พริกมันดำ 26 ต้น พริกเหลือง 32 ต้น โดยที่น้ำคั้นระดับความเข้มข้น 1 : 30 พบว่า จำนวนเปอร์เซ็นต์ที่ตรวจพบเชื้อไวรัสในพริกทั้ง 5 พันธุ์ที่ทดสอบเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ในทุกพันธุ์

ภาพที่ 15 แสดงแผนผัง plate ELISA ที่ 1 ที่ทำการตรวจสอบเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV) บนพริกพันธุ์ต่าง ๆ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
B	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
C	a	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
D	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
E	b	b	b	c	c	c	c	c	c	c	c	c
F	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c
G	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	c	d
H	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d	d

หมายเหตุ a = พริกมันดำ จำนวน 26 หลุม
 b = พริกหยวก จำนวน 25 หลุม
 c = พริกชี้ฟ้า จำนวน 32 หลุม
 d = พริกพริกชี้ฟ้า จำนวน 13 หลุม



ภาพที่ 16 แสดงรูป plate ELISA ที่ 1 ที่ทำการตรวจสอบเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 17 แสดงแผนผัง plate ELISA ที่ 2 ที่ทำการตรวจสอบเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV) บนพริกพันธุ์ต่างๆ

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	d	e	e	e	e	f						
B	d	e	e	e	e	f						
C	d	e	e	e	e							
D	d	e	e	e	e							
E	e	e	e	e	h							
F	e	e	e	e	h							
G	e	e	e	e	s							
H	e	e	e	e	s							

หมายเหตุ d = พริกชี้ฟ้า จำนวน 4 หลุม s = substrate control จำนวน 2 หลุม
 e = พริกเหลือง จำนวน 32 หลุม
 f = disease control จำนวน 2 หลุม
 h = healthy control จำนวน 2 หลุม



ภาพที่ 18 แสดงรูป plate ELISA ที่ 2 ที่ทำการตรวจสอบเชื้อ Chilli veinal mottle virus (CVMV)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองโดย ทำการปลูกเชื้อลงบนพริกทั้ง 5 พันธุ์ด้วยการทาน้ำคั้นลงบนใบพริก พบว่าในการปลูกเชื้อครั้งแรกนั้นมีเพียง พริกมันดำเท่านั้นที่แสดงอาการผิดปกติ คือ ใบอ่อนด่าง เป็นจุดหรือหย่อมตามเส้นใบ และใบมีอาการบิดเบี้ยว ใบเล็กลง ต้นแคระแกร็น ส่วนพริกอื่น ๆ ไม่แสดงอาการผิดปกติ อาจเนื่องจากพริกพันธุ์อื่นมีความต้านทานต่อเชื้อไวรัส หรือปริมาณของเชื้อไวรัสไม่มากพอที่จะทำให้เกิดอาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส หลังจากนั้นทำการปลูกเชื้อครั้งที่ 2 บนต้นพริกที่ไม่แสดงอาการเป็นโรค พบว่าหลังจากนั้นประมาณ 14 วัน พริกที่ทำการปลูกเชื้อจะแสดงอาการเกิดโรค โดยลักษณะอาการเกิดโรคที่พบมีลักษณะอาการดังนี้ อาการบนใบอ่อนด่างเป็นจุดหรือหย่อมสีเหลืองตามเส้นใบ และใบมีอาการบิดเบี้ยว ใบเล็กลง ต้นแคระแกร็น อาการลักษณะนี้เกิดกับพริกมันดำและพริกชี้หนู อาการบนใบอ่อนด่าง สีเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม มีจุด จุดหรือหย่อมสีเขียวตามเส้น ใบและใบแสดงอาการบิดเบี้ยวลักษณะอาการนี้พบบนพริกชี้ฟ้า อาการด่างเขียวซีดบริเวณเนื้อใบแต่เนื้อเยื่อรอบ ๆ เส้นใบยังคงปกติ บริเวณปลายใบมีสีเขียวที่โคนใบพบในพริกหยวก และอาการที่พบอีกอย่างคืออาการ ใบอ่อนด่างเป็นจุด หรือหย่อม สีเหลืองอ่อนบนใบยอดและตามเส้นใบพบในพริกเหลือง ซึ่งตรงกับรายงานการแสดงอาการของพริกต่อเชื้อ CVMV ว่าอาการของโรคที่เกิดกับพริกทั้ง 5 พันธุ์คือ พริกชี้ฟ้า พริกชี้หนู พริกหยวก พริกเหลือง พริกยักษ์ จะแสดงอาการคล้ายคลึงกันคือ ใบเปลี่ยนรูปร่างไป ใบด่างเกิดอาการเขียวซีดบริเวณเนื้อใบแต่เนื้อเยื่อรอบ ๆ เส้นใบยังคงเขียวเป็นปกติ บริเวณปลายใบมักมีสีเขียวที่โคนใบ (กิตติศักดิ์ และ คณะ, 2518 ; ศักดิ์ 2530) นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Green and Kim (1991) ที่พบว่าเชื้อ Chilli vein mottle virus เป็นเชื้อไวรัสที่ทำให้ใบ พริกชี้ฟ้า พริกหยวก พริกยักษ์ และพริกชี้หนู ที่ปลูกในประเทศมาเลเซีย แสดงอาการด่างเขียวเข้ม ใบขนาดเล็กลง และผิดรูปไป ทำให้ผลผลิตขนาดเล็กและปริมาณลดลง

การตรวจหาเชื้อไวรัสโดยนำพืชที่ทำการปลูกเชื้อ 2 ครั้ง แล้วไม่แสดงอาการเกิดโรคมารวบรวมหาเชื้อไวรัส โดยใช้เทคนิค indirect ELISA สามารถตรวจพบว่ามีเชื้อไวรัส CVMV ซึ่งดูได้จากสารละลาย ในหลุม plate เป็นสีเหลือง แสดงว่ามีเชื้อไวรัสชนิดเดียวกับแอนติซีรัมที่ใช้ในการตรวจสอบเชื้อ ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า พืชชนิดนั้นที่ไม่แสดงอาการเกิดโรค อาจมีเชื้อไวรัสอยู่ในเซลล์ของพืช พืชทดสอบไม่แสดงอาการเกิดโรคอาจเนื่องจากมีเชื้อไวรัสในเซลล์น้อยเกินไปสภาวะแวดล้อมในการเพิ่มจำนวนไม่เหมาะสม หรือพืชมีความต้านทานต่อเชื้อไวรัสก็เป็นได้ กิตติศักดิ์ และคณะ (2518) กล่าวว่า ELISA เทคนิค มีคุณสมบัติที่ตีหลายประการในการวินิจฉัยโรค เช่น ตรวจสอบได้

สรุป

จากการศึกษาระดับความต้านทานของพืชตระกูลพริก 5 พันธุ์ ต่อเชื้อไวรัส CVMV พบว่า พริกพันธุ์ ชีฟ้า มีความอ่อนแอ ต่อเชื้อไวรัสมากที่สุด มีจำนวนต้นที่เป็นโรค 57.5เปอร์เซ็นต์ ที่แสดงอาการใบด่างเป็นจุด หรือหย่อมสีเหลืองตามเส้นใบ และใบมีอาการบิดเบี้ยว ต้นแคระแกร็น ใบเล็ก ลง หลังจากได้รับการปลูกเชื้อ สำหรับพริกมันดำ พริกหยวก พริกชี้หนู พริกเหลือง มีจำนวนต้นเป็นโรค 35.0, 37.5, 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ และจัดกลุ่มระดับความต้านทานของพันธุ์ต่อเชื้อไวรัส CVMV ได้ดังนี้ พริกชีฟ้าอยู่ในกลุ่มอ่อนแอต่อเชื้อไวรัส พริกหยวกและพริกมันดำ อยู่ในกลุ่มค่อนข้างอ่อนแอต่อเชื้อไวรัส พริกชี้หนูและพริกเหลือง อยู่ในกลุ่มค่อนข้างต้านทานต่อเชื้อไวรัส การตรวจสอบหาเชื้อไวรัส โดยวิธี indirect ELISA ในน้ำคั้นของพืชตระกูลพริกที่ไม่แสดงอาการ พบเชื้อไวรัส CVMV คือ 100 เปอร์เซ็นต์ ในพริกทุกพันธุ์ ที่ทำการตรวจสอบ

เอกสารอ้างอิง

- กิตติศักดิ์ กิริยะอังกูร, ดวงใจ ชูปัญญา, สุรภี ผลอวยพรและนวลจันทร์ ดีมา. 2518. การศึกษาความสัมพันธ์ของโรคใบหงิกของพริกกับเชื้อไวรัส. หน้า 14. ใน : รายงานผลการค้นคว้าวิจัยปี 2518. กองโรคพืช กองเกษตรเคมี. กรุงเทพมหานคร.
- กิตติศักดิ์ กิริยะอังกูร และ นวลจันทร์ ดีมา. 2520. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของโรคใบด่างพริกที่เกิดจากเชื้อไวรัส. หน้า 15. ใน : รายงานการค้นคว้าวิจัยปี 2520. กองโรคพืช กองเกษตรเคมี. กรุงเทพมหานคร.
- เครือพันธุ์ กิตติปภรณ์, Chiyoichi Noda, สุวรรณมา กลัดพันธุ์ และนวลจันทร์ ดีมา. 2536 การศึกษาเกี่ยวกับไวรัสของพริกและการคัดเลือกพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อไวรัสบางชนิด. หน้า 331 – 340. ใน : การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 กรุงเทพมหานคร.
- ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2530. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. เค. ยู. บุ๊คเซนเตอร์. กรุงเทพมหานคร. 198 หน้า.
- สิริวิภา สังข์พงษ์, กิตติศักดิ์ กิริยะอังกูร, ชาติชาย นวงศ์ศรีและเบลเยี่ยม เจริญพานิช. 2532. ปฏิกริยาของสายพันธุ์พริกห้วยสีทน 1 ต่อโรคใบด่างพริกในกลุ่ม PVY. หน้า 298 – 307. ใน : รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2532. ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Brunt, A.A., K. Crabtree, M.J. Dallwitz, A.J. Gibbs and L. Watson. 1996. Virus of plant. University Press, Cambridge, U.K. 1484 p.
- Caranta, C. and A. Palloix. 1996. Both common and specific genetic factors are involved in polygenic resistance of pepper to several potyviruses. *Theoretical and Applied Genetics*. 92(1) : 15 – 20.
- Duriat, A.S. 1996. Management of pepper viruses in Indonesia : problems and progress. *Indonesian Agricultural Research and Development Journal*. 18(3) : 45 – 50.
- Green, S.K., and J.S. Kim. 1991. Characteristics and control of viruses infecting pepper : a literature review. *Asian Vegetable Research and Development Center. Technical Bulletin*. 18. 60 p.

Huang, Y.T., H.L. Liu and Y.T. Lu. 1994. The use of white burley tobacco for isolation of sweet pepper virus. *Plant Pathology*. 3(2) : 91 – 100.

Siriwong, P., K. Kittipakorn and M. Ikegami. 1995. Characterization of Chilli vein-banding mottle virus isolated from pepper in Thailand. *Plant Pathology*. 44(4) : 718-727.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 การเตรียมสารละลาย buffer ที่ใช้ในการปลูกเชื้อไวรัส

Potassium phosphate buffer 0.05 M. at pH 7.2 โดยการเตรียม

1. ละลาย di – potassium hydrogen orthophosphate (K_2HOP_4) 8.7 g ใน 1 ลิตร
2. เติม potassium dihydrogen orthophosphate (K_2HOP_4) 1.7 g กรด dissolved in 250 ml., distill mater 0.05 M. solution to achieve pH 7.2



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 2 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการตรวจสอบ ELISA

PBS Buffer

1. ทำการเตรียม

- sodium chloride (NaCl)	8.0 g
- potassium dihydrogen orthophosphate(KH_2PO_4)	0.2 g
- di – Sodium hydrogen orthophosphate($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	2.9 g
- potassium chloride(KCl)	0.2 g
- Sodium pro – nitrogen(NaN_3)	0.2 g

2. นำสารทั้งหมดมาละลายในน้ำปริมาณ 1 ลิตร

3. นำไปปรับ pH ให้ได้ pH 7.4 แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 – 6 องศาเซลเซียส

PBS – TWEEN

นำ PBS buffer ปริมาณ 1 ลิตร ผสมกับ Tween 20 ปริมาณ 0.5 ml คนให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 – 6 องศาเซลเซียส

Coat buffer

1. ทำการเตรียม

- di – sodium carbonate(Na_2CO_3)	1.59 g
- sodium hydrogen carbonate(NaHCO_3)	2.93 g
- sodium pro – nitrogen(NaN_3)	0.2 g

2. นำสารทั้งหมดมาทำละลายในน้ำและปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

3. นำไปปรับ pH ให้ได้ pH 9.6 นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 – 6 องศาเซลเซียส

Substrate Buffer

1. เตรียมสาร

- Diethanolamine	97 ml
- น้ำ	800 ml
- sodium pro – nitrogen(NaN_3)	0.2 g

2. นำสารทั้งหมดมาทำละลายในน้ำและปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

3. นำไปปรับ pH ด้วย HCl ให้ได้ pH 9.8 นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 – 6 องศาเซลเซียส

Conjugate Buffer

1. เตรียมสาร

- PBS – Tween 15 ml
- Polyvinyl pyrrolidone (PVP) 2 %
- Ovalbumin 0.2 %

2. PVP และ Ovalbumin มาทำละลายใน PBS – Tween 15 ml

3. นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 – 6 องศาเซลเซียส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้