M450

หอสมุดกลาง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

**ปัญหาพิเศษปริญญาตรี**

**เรื่อง**

# การศึกษาระดับความต้านทานของพืชตระกูลแตงบางชนิด ต่อเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง

# Study of Resistant Level on Some Cucurbit Plants Against Zucchini Yellow Mosaic Virus

T098871

**โดย**

**นางสาวนงลักษณ์ เจียรพฤฒิเวศน์**

จ/ศ.
น248ก
2543
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

**ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต**
**สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช**
**ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร**
**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**
**พ.ศ. 2543**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

ปริญญา

วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

เรื่อง

# การศึกษาระดับความต้านทานของพืชตระกูลแตงบางชนิดต่อเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง

# Study of Resistant Level on Some Cucurbit Plants Against Zucchini Yellow Mosaic Virus

โดย

นางสาวนงลักษณ์ เจียรพฤฒิเวศน์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

.....

(ผศ.ดร. นวลพรรณ งามยี่สุ่น)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ.ดร. วรเดช จันทรสร)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

วันที่ ๒๐ เดือน ..... พ.ศ. ๒๕๕๔

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทคัดย่อ


ชื่อเรื่อง : การศึกษาระดับความต้านทานของพืชตระกูลแตงบางชนิดต่อเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง

โดย : นางสาวนงลักษณ์ เจียรพฤฒิเวศน์

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

สาขาวิชา : เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

อาจารย์ที่ปรึกษา : .....22/09/2554

( ผศ.ดร. นวลพรรณ งามยี่สุ่น )

การศึกษาระดับความต้านทานของพืชตระกูลแตงบางชนิด ต่อเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง zucchini yellow mosaic virus (ZyMV) ทำได้โดยการปลูกเชื้อด้วยน้ำคั้นของใบฟักทองที่เป็นโรคลงบนใบเลี้ยงของต้นแตงทดสอบ 4 พันธุ์ คือ ฟักทอง บวบเหลี่ยม แตงโมและแตงไท หลังจากนั้น 10 วัน มีเพียงฟักทองที่แสดงอาการเป็นโรคชัดเจนในทุกต้นคิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ โดยจะแสดงอาการใบด่างสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวเข้ม ใบจะมีขนาดเล็กลง และมีรูปร่างบิดเบี้ยว ส่วนบวบเหลี่ยม แตงโมและแตงไทไม่แสดงอาการเป็นโรค จึงทำการปลูกเชื้อซ้ำเป็นครั้งที่สอง ภายหลังการปลูกเชื้อครั้งแรก 14 วัน พร้อมทั้งสังเกตอาการที่เกิดขึ้น พบว่า หลังจากทำการปลูกเชื้อครั้งที่สองประมาณ 14 วันทั้งบวบเหลี่ยม แตงโมและแตงไทจะแสดงอาการเป็นโรคคิดเป็น 76.19, 85.91 และ 46.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับและพบว่าพันธุ์แตงทั้ง 4 ชนิด จัดอยู่ในกลุ่มอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อ (susceptible) นอกจากนี้ต้นแตงทั้ง 3 พันธุ์ที่ไม่แสดงอาการของโรค เนื่องจากเชื้อ ZyMV ได้ถูกนำมาตรวจสอบโดยวิธี indirect ELISA พบว่าทุกตัวอย่างที่ตรวจสอบมีการเข้าทำลายของเชื้อ ZyMV


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Abstract


| | | |
|---|---|---|
| Title | : | Study Of Resistant Level On Some Cucurbit Plants Aagainst Zucchini Yellow Mosaic Virus |
| By | : | Miss Nonglak Chianphrutthiwet |
| Degree | : | Bachelor of Science in Agriculture |
| Major field | : | Pest Management Technology |
| Advisor | : | ..... N. Ngamyeesoon ..... 22/05/2001 (Asst. Prof. Dr. Nualphan Ngamyeesoon) |



A study of resistant level on four cucurbit plants against zucchini yellow mosaic virus (ZyMV) was demonstrated on Pumpkin, Luffa, Watermelon and Melon by mechanical sap tramsmission of ZyMV infected pumpkin leaves. The distinguish symptom only revealed on pumpkin leaves, 10 days after inoculation. The percentage of infection was shown at 100 per cent. The plants showed severe mosaic and distortion of leave: whereas, the rest of three cucurbits were symptomless. There fore, reinoculation of three cucurbit plants was applied 14 days after the first inoculation. After reinoculation approximately 14 days, the Luffa, Watermelon and Melon were showed symptom at percentage as follow 76.19, 85.19 and 46.66 per cent respectively. The result implied that all four cucurbit plants were susceptible to ZyMV. However, the symptomless leaves from three cucurbit plants were tested for ZyMV by indirect ELISA technique. All samples were infected.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# คำนิยม

ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้จะไม่สามารถบรรลุผลสำเร็จได้ถ้าไม่ได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลที่ทรงเกียรติหลายท่านดังต่อไปนี้

บิดา มารดา ที่ให้ความเอาใจใส่เลี้ยงดูอบรมที่ดีมาโดยตลอด ให้ความอนุเคราะห์ด้านปัจจัยต่าง ๆ จิปาถะ และให้กำลังใจอย่างดียิ่งมาโดยตลอด

ผศ.ดร.นวลพรรณ งามยี่สุ่น อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษนี้ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์และเอื้อเฟื้อสถานที่ทดลอง อุปกรณ์และสารเคมีต่าง ๆ ทำให้ผู้จัดทำสามารถดำเนินการทำปัญหาพิเศษนี้ได้อย่างราบรื่น พร้อมทั้งการตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เจ้าหน้าที่กรมวิชาการเกษตรที่ให้ความอนุเคราะห์ เชื้อ Zucchini yellow mosaic virus (ZyMV) บริสุทธิ์และแอนติซีรัมของเชื้อนี้ด้วย

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช และเจ้าหน้าที่เรือนเพาะชำ ที่ให้ความสะดวกในด้านอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการทดลอง

บรรดาพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่มีส่วนเกี่ยวข้องช่วยเป็นกำลังใจและให้การช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

ทางผู้จัดทำขอแสดงความขอบคุณอย่างสูง ต่อบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษนี้จนประสบความสำเร็จได้ด้วยดี

นงลักษณ์ เจียรพฤฒิเวศน์

เมษายน 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .....i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....ii
คำนิยม .....iii
สารบัญ .....iv
สารบัญตาราง .....v
สารบัญภาพ .....vi
คำนำ .....1
ตรวจเอกสาร .....3
อุปกรณ์และวิธีการ .....6
ผลการทดลอง .....14
สรุป .....27
วิจารณ์ผลการทดลอง .....28
เอกสารอ้างอิง .....30
ภาคผนวก .....33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

1. แสดงเปอร์เซ็นต์ความเป็นโรคและจัดกลุ่มปฏิกิริยา
ของพันธุ์ต่อกลุ่มไวรัสของพืชตระกูลแตงแต่ละพันธุ์ .....23
2. แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสูง(ซม.)
ของต้นปกติและต้นเป็นโรคของพืชตระกูลแตงแต่ละพันธุ์ .....23

ตารางผนวกที่

1. แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้นฟักทอง(ซม.) ในแต่ละกระถาง
เป็นเวลา 4 สัปดาห์ .....34
2. แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้นบวบเหลี่ยม(ซม.) ในแต่ละกระถาง
เป็นเวลา 4 สัปดาห์ .....35
3. แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้นแตงโม(ซม.) ในแต่ละกระถาง
เป็นเวลา 4 สัปดาห์ .....36
4. แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้นแตงไท(ซม.) ในแต่ละกระถาง
เป็นเวลา 4 สัปดาห์ .....37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1. แสดงลักษณะใบฟักทองปกติ .....15
2. แสดงลักษณะใบฟักทองที่เป็นโรค .....16
3. แสดงลักษณะใบบวบเหลี่ยมปกติ .....17
4. แสดงลักษณะใบบวบเหลี่ยมที่เป็นโรค .....18
5. แสดงลักษณะใบแตงโมปกติ .....19
6. แสดงลักษณะใบแตงโมที่เป็นโรค .....20
7. แสดงลักษณะใบแตงไทปกติ .....21
8. แสดงลักษณะใบแตงไทที่เป็นโรค .....22
9. แสดงระดับของสีที่เกิดภายในหลุมทดลองบน polystyrene microtitre plate 1 ภายหลังหยด substrate ในการทำเทคนิค indirect ELISA .....25
10. แสดงระดับของสีที่เกิดภายในหลุมทดลองบน polystyrene microtitre plate 2 ภายหลังหยด substrate ในการทำเทคนิค indirect ELISA .....26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# คำนำ

พืชตระกูลแตง (Cucurbitaceae) มี 96 กลุ่ม (genera) และ 750 ชนิด (species) เป็นผักฤดูร้อนมีอายุปีเดียว มักเจริญเติบโตได้ที่ในสภาพภูมิอากาศเขตร้อนชื้น สามารถปลูกได้กับดินทุกชนิดและปลูกได้ตลอดปี เป็นพืชที่ใช้เป็นอาหารของคนไทยในหลายลักษณะทั้งอาหารคาว เช่น แกงเลียง สามารถใส่ฟักทอง น้ำเต้า หรือบวบเป็นส่วนประกอบของอาหารได้ หรือทำเป็นอาหารหวาน เช่น แกงบวดฟักทอง บัวลอยฟักทอง นอกจากนี้ยังปลูกเพื่อการส่งออกด้วย พืชที่จัดอยู่ในตระกูลได้แก่ แตงโม แตงกวา ฟักทอง บวบ มะระ แตงไท ฟักเขียว น้ำเต้า เป็นต้น

ในปัจจุบันถึงแม้จะมีการนำเทคโนโลยีต่างๆ เข้ามาประยุกต์ใช้ในการเพาะปลูกเพื่อเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้น แต่ก็ยังคงมีการเข้าทำลายของศัตรูของพืชทั้งโรคและแมลงต่อพืชตระกูลแตง โรคที่สำคัญที่มักจะเกิดขึ้น คือ โรคราแป้ง โรคราน้ำค้าง โรคแอนแทรกโนส และโรคที่สำคัญอีกโรคหนึ่ง ได้แก่ โรคไวรัส โรคไวรัสเป็นโรคที่ทำให้เกิดปัญหากับหลายประเทศในทุกส่วนของโลกทั้งในแถบยุโรป แถบตะวันออกกลาง แถบอเมริกา แถบเอเชีย เช่นประเทศไต้หวัน หรือแม้แต่ประเทศไทย เชื้อไวรัสที่สร้างความเสียหายนี้ ได้แก่เชื้อไวรัส zucchini yellow mosaic virus (ZyMV) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้พืชลดการเจริญเติบโต แคระแกรน ใบแสดงอาการด่าง และผิดรูปร่าง นอกจากนี้ยังแสดงอาการด่างขึ้นที่ผลผลิต ทำให้รูปร่างของผลผลิตผิดปกติไปคือ มีขนาดเล็กลง แคระแกรน บิดเบี้ยว น้ำหนักของผลผลิตลดลง (Lisa *et. al.*, 1981; Provvidenti *et. al.*, 1984) ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด เป็นการสูญเสียรายได้ของเกษตรกรและรายได้เข้าประเทศจากการส่งออก เพราะฉะนั้นถ้ามีการทดสอบหาพืชตระกูลแตงที่มีความต้านทานต่อเชื้อ ZyMV ได้ก็สามารถนำพันธุ์พืชที่ต้านทานมาทำการคัดเลือกเพื่อพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีความต้านทานต่อเชื้อ ZyMV ประกอบกับมีการวางแผนการปลูกพืชที่เหมาะสม ก็จะเป็นการช่วยลดความเสียหายของพืชตระกูลแตงต่อเชื้อ ZyMV

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# วัตถุประสงค์

1. ศึกษาระดับความต้านทานของพืชตระกูลแตงบางชนิด ซึ่งได้แก่ ฟักทอง บวบเหลี่ยม แตงโมและแตงไท ต่อเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง (ZyMV)
2. ศึกษาลักษณะอาการและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ภายหลังจากการปลูกเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง (ZyMV)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## การตรวจเอกสาร

Lisa *et. al.*, (1981) ได้ทำการรายงานถึงลักษณะของเชื้อไวรัส ZyMV ขึ้นเป็นครั้งแรกซึ่งตรวจพบในฟักทอง *Cucurbita pepo L.*, ที่ปลูกในประเทศอิตาลี เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืชตระกูลแตงในหลายส่วนของโลก (Lecoq *et. al.*, 1981; Lisa and Lecoq, 1984)

Orozco *et. al.*, (1994) ได้รายงานถึงการตรวจพบเชื้อ zucchini yellow mosaic virus (ZyMV) ซึ่งเป็นการตรวจพบเชื้อใน ZyMV เป็นครั้งแรก ในแตงเทศ (melon. *Cucumis melo*) ที่ปลูกในหมู่บ้าน Tecoman เมือง Colima ประเทศเม็กซิโก ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน ในปี 1993 โดยใช้วิธี indirect ELISA พบว่าเชื้อ ZyMV จะเข้าทำลายแตงเทศ 10-15 เปอร์เซ็นต์ ของแตงเทศที่ปลูกในแปลง

Gracia (2000) ได้รายงานการตรวจพบเชื้อ zucchini yellow mosaic virus เป็นครั้งแรกในเมือง Salta ประเทศอาร์เจนตินา ซึ่งจะแสดงอาการรุนแรงที่ผล squash และที่ต้นฟักทอง (*Cucurbita pepo* L. และ *C. maxima* L. พันธุ์ Any)

Noda *et. al.*, (2536) ได้มีการทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไวรัสของพืชตระกูลแตงจำนวน 635 ตัวอย่าง ใน 10 จังหวัดของภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ของประเทศไทยระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2533 ถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2534 จากการตรวจหาไวรัสในตัวอย่างโดยวิธี direct antigen coating enzyme-linked immunosorbent assay พบไวรัส 7 ชนิด ได้แก่ cucumber mosaic virus (CMV), papaya ringspot virus (PRSV), watermelon mosaic virus 2 (WMV2 ), squash mosaic virus (SqMV), zucchini yellow mosaic virus (ZyMV), tobacco mosaic viru (TMV) และ cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV)

Adlerz *et. al.*, (1983) ได้รายงานว่าเชื้อนี้มีการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ไปในประเทศอัลจีเรีย ประเทศออสเตรเลีย ประเทศอียิปต์ ประเทศฝรั่งเศส ประเทศสหพันธรัฐเยอรมัน ประเทศอิสราเอล ประเทศอิตาลี ประเทศญี่ปุ่น ประเทศจอร์แดน ประเทศเลบานอน ประเทศเมาริตัส ประเทศโมรอคโค ประเทศสเปน ประเทศไต้หวัน ประเทศตุรกี ประเทศอังกฤษ และประเทศสหรัฐอเมริกา

เชื้อ zucchini yellow mosaic virus (ZyMV) เป็นเชื้อไวรัสที่อยู่ในกลุ่ม potyvirus อนุภาคของเชื้อเป็นแบบ monopatite ประกอบด้วย RNA สายเดี่ยว (single strand RNA) (Riechmann *et. al.*, 1992) ลักษณะของอนุภาคเป็นสายยาว (filamentous) ไม่มีอะไรห่อหุ้ม (ss RNA nonenveloped) มีความยาว 750 nm กว้าง 11 nm มี inclusion body แบบ pinwheels สามารถถ่ายทอดผ่านทาง stylet ของเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* และ *Aphis gossypii* (Lecoq *et. al.*, 1981 ; Lisa *et. al.*, 1981) แบบ non-persistent โดยเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* (สามารถเป็นแมลงพาหะถ่ายทอดเชื้อ ZyMV จากต้น *R. sardous* ไปสู่ต้นแตงเทศและฟักทอง (*Cucurbita pepo*)) และเพลี้ยอ่อน *Aphis gossypii* ,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*A. spiraecola, Uroleucon ambrosiae* และ *M. persicae* (จะเป็นแมลงพาหะถ่ายทอดเชื้อ ZyMV จากต้น *C. pepo* ไปสู่ต้นแตงเทศ (melon)) (Orozco *et. al.*, 1994) พร้อมทั้งจะถ่ายทอดได้ง่ายโดยวิธีกล (mechanical transmission) นอกจากนี้ยังมีโอกาสที่จะถ่ายทอดทางเมล็ด ( Holling and Brunt, 1981 ; Lecoq *et. al.*, 1981 ; Lisa *et. al.*, 1981 ; Provvidenti *et. al.*, 1973)เชื้อไวรัสนี้พบว่าจะสร้างความเสียหายอย่างมากกับพืชตระกูลแตงในเขตร้อนทำให้เกิดอาการรุนแรงบนใบและผล

Gracia (2000) ได้รายงานถึงอาการที่เกิดกับพืชว่า พืชจะแสดงอาการด่างเหลือง necrosis และใบผิดรูปร่างไปและในผลผลิตทั้งหมดที่ติดเชื้อจะมีขนาดเล็ก มีตุ่มสีเหลืองกระจายอยู่ทั่วไปและร่วงหล่นได้ง่าย จะแสดงอาการ systemic กับพืชตระกูลแตง ใน *Gomphrena globosa* จะแสดงอาการ local และ systemic และจะแสดงอาการ local chlorotic lesion เพียงอย่างเดียวใน *Chenopodium quinoa* และ *C. amaranticolor* แต่ในพืชตระกูล Compositae, Leguminosae และ Solanaceae จะไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสนี้

Orozco *et. al.*, (1994) พบว่า เชื้อ ZyMV จะเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการ latent infection ใน *Ranunculus sardous* และจะไม่แสดงอาการเป็นโรคใน *Nicotiana glutinosa* และลักษณะอาการจะใกล้เคียงกับอาการที่เกิดจากเชื้อ watermelon mosaic virus type 1 (WMV1) ดังนั้นจึงเป็นเรื่องยากที่จะเห็นถึงความแตกต่างของอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสทั้ง 2 นี้ภายใต้สภาพแปลงปลูก (Holling and Brunt, 1981 ; Lecoq *et. al.*, 1981 ; Lisa *et. al.*, 1981 ; Provvidenti *et. al.*, 1973)

Provvidenti *et. al.*, (1984) รายงานว่าแหล่งของความต้านทานหรือความทนทานของพืชตระกูลแตงต่อเชื้อ ZyMV strain Connecticut และ strain Florida ได้ถูกค้นพบในแตงโม *(Citrullus colocynthis), Cucurbita* spp., แตงเทศ (melon) และ *Lagenaria siceraria*

Gilbert *et. al.*, (1993) ได้รายงานถึงความต้านทานของฟักทอง (*Cucurbia moschata*) ต่อเชื้อ watermelon mosaic virus type 2 (WMV 2) พบว่ายีนที่มีความเกี่ยวข้องต่อการแสดงออกถึงความต้านทานต่อเชื้อ WMV 2 จะแสดงถึงความต้านทานต่อเชื้อ zucchini yellow mosaic virus (ZyMV) ด้วยยีนที่ว่านี้คือ ยีน Zym ซึ่งเป็น single dominant gene และยีนนี้จะทำหน้าที่ไปขัดขวางการเคลื่อนที่ของเชื้อบนใบที่ได้รับการปลูกเชื้อ ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ต้นฟักทองมีความสามารถต้านทานเชื้อ WMV 2 และ ZyMV

Clough and Hamm (1995) ได้ทำการทดลองทำการดัดแปลงยีน (engineered cross protection) ใน 3 สายพันธุ์ของ yellow crookneck squash (*Cucurbita pepo* var. melopepo) และ 5 สายพันธุ์ของแคนตาลูป (*Cucumis melo* L., Reticulatus group CVS. Don Luis, Galleon, Hiline, Mission and paren inbred) เพื่อให้มีความต้านทานต่อเชื้อ zucchini yellow mosaic virus และ watermelon mosaic virus ในปี 1993 และ 1994 พบว่า ในต้นพืชที่มีการดัดแปลงยีนจะทำให้ช่วยลดการเป็นโรคจากเชื้อไวรัสนี้ได้ในทุกตัวอย่างพืชที่ใช้ทดสอบ และจากผลการทดลองนี้ทำให้ทราบว่าพืชที่ถูกดัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แปลงยีนนี้จะไปรบกวนการถอดแบบ (replication) ของเชื้อไวรัสทำให้เชื้อไวรัสไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้

Somowiyarjo *et. al.*, (1985) ได้ทำการทดลองใช้เทคนิค Indirect ELISA (I – ELISA) ในการตรวจหาเชื้อ ZyMV ในน้ำคั้นที่ถูกทำให้บริสุทธิ์ หรือ ในต้นที่ติดโรคโดยใช้ alkaline phosphatase ร่วมกับ goat anti – rabbit IgG บริสุทธิ์ (commercial conjugate) สาเหตุที่ใช้ alkaline phosphatase เพราะว่าจะช่วยส่งเสริมความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อที่ตรวจให้มีการดูดซับมากขึ้นและจะช่วยลดการดูดซับเชื้อทั่วไปที่ไม่ต้องการตรวจ และcommercial conjugateในกระบวนการนี้จะมีความไวของปฏิกิริยามากกว่าในกระบวนการ double antibody sandwich (DAS) – ELISA จะใช้เวลาในการตรวจสอบเชื้อ ZyMV เพียงไม่กี่นาที และวิธี I – ELISA ปกติแล้วจะถูกนำไปใช้เป็นเครื่องมือวินิจฉัยโรคในแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# อุปกรณ์และวิธีการ

## อุปกรณ์

### อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. **อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง**
   - เมล็ดฟักทอง
   - กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 นิ้ว
   - ดิน
   - โกร่ง
   - ใบฟักทองที่เป็นโรคใบด่างจากเชื้อ zucchini yellow mosaic virus (ZyMV)จากกลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร
   - ปิเปตขนาด 5 ml
   - กระดาษหนังสือพิมพ์
   - ภาชนะใส่น้ำแข็ง
   - น้ำแข็ง
   - เมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตงที่นำมาปลูก : เมล็ดฟักทอง เมล็ดแตงโม และ เมล็ดแตงไท จาก บริษัท เจียไต๋ จำกัด เมล็ดบวบเหลี่ยมคัดพิเศษ ตราปลาทอง จาก ห้างพันธุ์พืชย่งเซ้ง เคมีเกษตร
2. **อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยวิธีทาง ELISA**
   - บีกเกอร์ขนาด 50 , 100 และ 500 ml
   - ไมโครปิเปตขนาด 50 ul และ 200 ul
   - ถุงพลาสติกขนาดเล็ก
   - ฉลากติดข้างถุง
   - ขวดฉีดล้างเพลท
   - ตารางตรวจสอบ polystyrene microtitre plate
   - ตัวอย่างพืชทดสอบ
   - นาฬิกาจับเวลา
   - ผ้ากรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3. อุปกรณ์ที่ใช้ในกระถางปลูกพืชทดสอบ**

- เสียม
- บัวรดน้ำ
- ไม้บรรทัด
- ปุ๋ยยูเรีย

**4. สารเคมีที่ใช้ในการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อใบด่างที่เกิดจากเชื้อ zucchini yellow mosaic virus**

- Buffer: phosphate buffer ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ pH 7.6
- ผง Celite 545

**5. สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบทาง ELISA**

- coating buffer (pH 9.6)
- conjugate buffer
- PBS-Tween 20
- p-nitrophenyl phosphate gammaglobulin

**6. แอนติซีรัมของเชื้อ zucchini yellow mosaic virus** ได้รับความอนุเคราะห์จากกลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**วิธีการ**

**1. วิธีการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อไวรัส zucchini yellow mosaic virus มีวิธีการดังนี้**

ทำการปลูกฟักทองลงในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 นิ้ว โดยนำเมล็ดฟักทองปลูก 6-8 เมล็ดต่อกระถางจำนวน 15 กระถาง รดน้ำทุกวันจนเมล็ดงอกเป็นต้น จนกระทั่งใบเลี้ยงเริ่มคลี่บานเต็มที่จะกินเวลาประมาณ 7-10 วัน ทำการแบ่งต้นฟักทองออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกเป็นต้นฟักทองที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ 2 กระถาง เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 2 เพื่อทำการปลูกเชื้อ หลังจากนั้นจะทำการปลูกเชื้อไวรัสโดยผ่านทางน้ำคั้น (mechanical sap transmission) โดยใช้น้ำคั้นจากใบฟักทองที่แสดงอาการใบด่าง ก่อนทำการปลูกเชื้อจะต้องมีการคลุมต้นฟักทองด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ก่อนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้พืชอ่อนแอง่ายต่อการเกิดโรค เมื่อครบกำหนดนำกระดาษหนังสือพิมพ์ที่คลุมต้นฟักทองออก ก่อนทำการปลูกเชื้อจะต้องล้างมือให้สะอาด จากนั้นนำโกร่งบดให้ละเอียดแล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 7.6 โดยอัตราส่วนของน้ำหนักใบพืชเป็นโรคที่ใช้ต่อสารละลายบัฟเฟอร์คือ 1:4 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ทำการบดต่อไปจนละเอียด ในขณะทำการบดใบฟักทองจะต้องควบคุมอุณหภูมิของโกร่งไม่ให้มีอุณหภูมิสูงกว่า 4°C เพื่อเป็นการรักษาสภาพเชื้อโดยการวางโกร่งบนภาชนะที่ใส่น้ำแข็งรองที่ก้นภาชนะ เมื่อบดใบฟักทองแล้วจึงเติมผง Celite 545 ลงไปเล็กน้อยเพื่อทำให้เกิดบาดแผลบนใบพืช เพื่อที่เชื้อจะเข้าทำลายพืชได้ง่าย ต่อไปจึงทำการปลูกเชื้อโดยใช้นิ้วมือจุ่มน้ำคั้นแล้วทาจากโคนใบสู่ปลายใบและใช้มืออีกข้างรองรับใบด้านล่าง เมื่อทำการปลูกเชื้อทุกต้นแล้วใช้น้ำล้างเศษพืชที่ติดบนผิวใบออก เพราะอาจจะมีพิษต่อใบฟักทองได้ นำกระดาษหนังสือพิมพ์ชุบน้ำคลุมไว้ 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดจึงเอาออกและรดน้ำทุกวัน พร้อมทั้งสังเกตอาการของโรคซึ่งเกิดภายใน 2-3 สัปดาห์

**2. การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความต้านทานของพืชทดสอบต่อเชื้อใบด่างฟักทอง (ZyMV)** ทำการปลูกเมล็ดพืชทดสอบ 4 ชนิดคือ ฟักทอง บวบเหลี่ยม แตงโม และแตงไท ลงในกระถาง เส้นผ่านศูนย์กลาง 11 นิ้ว จำนวน 15 กระถาง ๆ ละ 5-7 เมล็ด ใช้ดินกลบพอประมาณ รดน้ำทุกวันจนเมล็ดงอกเป็นต้น ใบเลี้ยงคลี่บานเต็มที่ ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 7-10 วัน แล้วแต่ชนิด ทำการถอนต้นพืชทดสอบให้เหลือกระถางละ 3 ต้นโดยให้กระถางที่ 1 ของแต่ละชนิดเป็นตัวเปรียบเทียบ (control) กระถางที่ 2-15 ทำการปลูกเชื้อ โดยใช้น้ำคั้นจากต้นฟักทองที่แสดงอาการเป็นโรคใบด่างทองที่ได้มาจากข้อ 1. โดยเลือกเก็บใบฟักทองที่เป็นโรคแสดงอาการใบด่างชัดเจนและรุนแรง ทำการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบโดยทำการปลูกเชื้อลงบนใบเลี้ยงทั้งสองใบ ทำเหมือนวิธีการในข้อ1.สังเกตอาการภายใน 7-14 วัน หลังการปลูกเชื้อและถ้าภายใน 14 วันไม่พบอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส บนพืชทดสอบให้ทำการปลูกเชื้อลงไปอีกครั้งเป็นครั้งที่สอง โดยทำการปลูกเชื้อลงไปที่ใบแท้ทุกใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สังเกตอาการของโรคที่เกิดขึ้น หลังจากนั้นอีก 14 วัน จะทำการสุ่มเก็บใบพืชทดสอบที่ไม่แสดงอาการเป็นโรคอีกครั้ง เพื่อนำไปตรวจหาเชื้อไวรัส ZyMV โดยวิธี ELISA Test

**การบันทึกผล**

สังเกตอาการบนพืชทดสอบในแต่ละพันธุ์ วัดขนาดความสูงและพื้นที่ใบของทุกต้น โดยจะทำการวัดทุก ๆ 7 วัน หลังจากปลูกเชื้อทั้งสองครั้ง และจัดกลุ่มปฏิกิริยาของพันธุ์ต่อกลุ่มไวรัส

การจัดกลุ่มปฏิกิริยาของพันธุ์ต่อกลุ่มไวรัสจากจำนวนต้นพืชในแต่ละพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ

I = ปลอดเชื้อไวรัส (Immunity) เป็นโรค 0 เปอร์เซ็นต์

R = ต้านทานต่อเชื้อไวรัส (Resistant) เป็นโรค 0.1-10 เปอร์เซ็นต์

MR = ค่อนข้างต้านทานต่อเชื้อไวรัส (Moderate Resistant) เป็นโรค 10.1- 30 เปอร์เซ็นต์

MS = ค่อนข้างอ่อนแอต่อเชื้อไวรัส (Moderate Susceptible) เป็นโรค 30.1- 50 เปอร์เซ็นต์

S = อ่อนแอต่อเชื้อไวรัส (Susceptible) เป็นโรค 50.1- 100 เปอร์เซ็นต์

**3. การทดลองที่ 2 การตรวจสอบเชื้อไวรัส ZyMV บนพืชตระกูลแตงแต่ละพันธุ์ โดยวิธี ELISA Test (Enzyme – linked Immunosorbent Assay) แบบ Indirect**

สำหรับการตรวจสอบเชื้อไวรัสบนพืชทดสอบโดยใช้เทคนิค indirect ELISA ได้ทำตามขั้นตอนดังนี้

1. ทำการวางแผนการตรวจสอบตัวอย่างลงบนตารางตรวจสอบ จำนวนตัวอย่างทดสอบมีจำนวนทั้งสิ้น 129 ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางการวางแผนบน ELISA plate**

**plate 1**

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| B | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
| C | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 |
| D | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 |
| E | 49 | 50 | 51 | 52 | 53 | 54 | 55 | 56 | 57 | 58 | 59 | 60 |
| F | 61 | 62 | 63 | 64 | 65 | 66 | 67 | 68 | 69 | 70 | 71 | 72 |
| G | 73 | 74 | 75 | 76 | 77 | 78 | 79 | 80 | 81 | 82 | 83 | 84 |
| H | 85 | 86 | 87 | 88 | 89 | 90 | 91 | 92 | 93 | 94 | 95 | 96 |

**plate 2**

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 97 | 98 | 99 | 100 | 101 | 102 | 103 | 104 | 105 | 106 | 107 | 108 |
| B | 109 | 110 | 111 | 112 | 113 | 114 | 115 | 116 | 117 | 118 | 119 | 120 |
| C | 121 | 122 | 123 | 124 | 125 | 126 | 127 | 128 | 129 | | | |
| D | | | | | | | | | | | | |
| E | | | | | | | | | | | | |
| F | | | | | | | | | | | | |
| G | | | | | | | | | | | | |
| H | | | | | | | | | | | | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17450



หมายเหตุ - ตัวอย่างหมายเลข 1-42 เป็นตัวอย่างพืชทดสอบของต้นบวบเหลี่ยม
- ตัวอย่างหมายเลข 43-45 เป็นต้น control ของบวบเหลี่ยม
- ตัวอย่างหมายเลข 46-79 เป็นตัวอย่างพืชทดสอบของต้นแตงไท
- ตัวอย่างหมายเลข 80-82 เป็นต้น control ของแตงไท
- ตัวอย่างหมายเลข 83-117 เป็นตัวอย่างพืชทดสอบของต้นแตงโม
- ตัวอย่างหมายเลข 121-123 เป็น healthy
- ตัวอย่างหมายเลข 124-126 เป็น disease control จากใบฟักทอง
- ตัวอย่างหมายเลข 127-129 เป็น substrate control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ฉลองกรุง

2. นำใบแตงแต่ละพันธุ์ที่ทำการสุ่มเก็บจากส่วนต่าง ๆ มาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำมาคละกันในแต่ละพันธุ์

3. บดตัวอย่างพืชที่ต้องการตรวจสอบ โดยนำตัวอย่างพืชใส่ในถุงพลาสติกขนาดเล็ก จำนวน 1 ตัวอย่าง ต่อ 1 ถุง จากนั้นหยด coating buffer ลงในถุงตัวอย่างให้ได้น้ำคั้นเข้มข้น 1 : 30 (น้ำหนัก : ปริมาตร)

4. หยดน้ำคั้นตัวอย่างพืชทดสอบที่หยดใน coating buffer ลงในเพลท ปริมาณ 100 µl ต่อหลุม (ประมาณหลุมละ 4 หยด โดยการใช้ plasture pipette) ควรระวังการปนเปื้อนในเพลท หรือหลุมอื่น

5. นำเพลทใส่ในถุงพลาสติก ปิดปากถุงให้สนิทแล้ววางบนพื้นเรียบในอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°Cเป็นเวลา 1 คืน)

6. เมื่อครบกำหนด 2 ชั่วโมง ในการบ่มเพลท แล้วทำการล้างเพลท ด้วย PBS – Tween 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที โดย

6.1 สะบัดเพลทแรงๆ เพื่อให้น้ำคั้นออกจากหลุม

6.2 หยด PBS-Tween ลงในหลุม ควรระวังการปนเปื้อนระหว่างหลุม

6.3 วาง เพลท ไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 นาทีเป็นการล้างครั้งที่ 1

6.4 ทำการล้างเช่นนี้จนครบ 3 ครั้ง

6.5 เมื่อล้างครบ 3 ครั้ง คว่ำเพลท โดยตบแรงๆ บนกระดาษซับหรือผ้า

7. หยอด antiserum 1 : 1,500 ซึ่ง เจือจาง ใน conjugate buffer โดยใช้ ZyMV antiserum 10µl ใน conjugate buffer 15 ml

8. จากนั้นนำ ELISA plate ไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

9. ทำการล้าง ELISA plate ด้วย PBS-Tween 3 ครั้งๆละ 3 นาที (ตามข้อ 6)

10. หยด Anti-Goat IgG alkaline phosphate conjugate หลุมละ 100 µl ที่ conjugate ไว้ด้วยเอนไซม์ alkaline phosphate ที่ เจือจางใน conjugate buffer (ความเข้มข้น 1 : 2000 โดยเก็บไว้ใช้ต่อเนื่อง 3 ครั้ง)

11. นำ ELISA plate ไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 – 3 ชั่วโมง

12. ดูด Anti-Goat IgG เก็บเข้าตู้เย็นเพื่อใช้ในครั้งต่อไป (สามารถใช้ต่อเนื่องได้ 3 ครั้ง)

13. ล้าง ELISA plate ด้วย PBS-Tween 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที

14. นำ p – nitrophenyl phosphate 5 mg / 10 ml (2 เม็ด /1 เพลท) ละลายใน substrate buffer แล้วหยด substrate ลงใน ELISA plate หลุมละ 10 µl ทำการตรวจผลปฏิกิริยาหลังจากทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที สังเกตปฏิกิริยาของสารละลายในหลุมที่เปลี่ยนเป็นสีเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การบันทึกผล**

บันทึกจำนวนเปอร์เซ็นต์ต้นพืชทดสอบที่มีการตรวจพบเชื้อ ZyMV

**สถานที่และระยะเวลา**

ห้องปฏิบัติการโรคพืชและเรือนเพาะชำ ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในระหว่างเดือนธันวาคม 2543 – เมษายน 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลการทดลอง

**1. จากการทดลองที่1 การศึกษาระดับความต้านทานของพืชทดสอบแต่ละพันธุ์ต่อเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง (ZyMV)**

จากการสังเกตอาการของต้นพืชทดสอบในแต่ละพันธุ์ ทำให้สามารถแบ่งระดับความต้านทานของพันธุ์พืชทดสอบต่อเชื้อไวรัสในด่างฟักทอง และจัดกลุ่มปฏิกิริยาของพันธุ์ต่อกลุ่มไวรัส ได้ดังนี้

ลักษณะอาการที่เกิดกับพันธุ์พืชทดสอบ

**ฟักทอง**

ภายหลังจากการปลูกเชื้อครั้งแรกแล้ว 7-10 วัน ต้นพืชเริ่มแสดงอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสออกมาที่ใบแท้ลำดับที่ 1 หรือ 2 จะเห็นอาการเป็นจุดสีเหลืองขนาดเล็กกระจายทั่วทั้งใบ หลังจากนั้นประมาณ 3-5 วัน อาการจะเริ่มเปลี่ยนแปลงไป คือ จากใบที่แสดงอาการจุดสีเหลืองขนาดเล็กจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นลักษณะอาการสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวเข้มและมองเห็นอาการได้อย่างชัดเจนที่ใบยอด เมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้นใบยอดแสดงอาการของโรคมากขึ้นโดยรูปร่างของใบจะผิดปกติไป บางใบจะแสดงอาการหงิกหรือมีรอยหยักของขอบใบมากขึ้น หรือใบจะมีลักษณะยาวเรียว (ภาพที่ 2 เปรียบเทียบกับภาพที่ 1 ที่แสดงใบฟักทองปกติ) และพบว่าต้นฟักทองที่ถูกปลูกเชื้อไวรัสจะแสดงอาการเป็นโรคทุกต้น คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะใบฟักทองปกติ

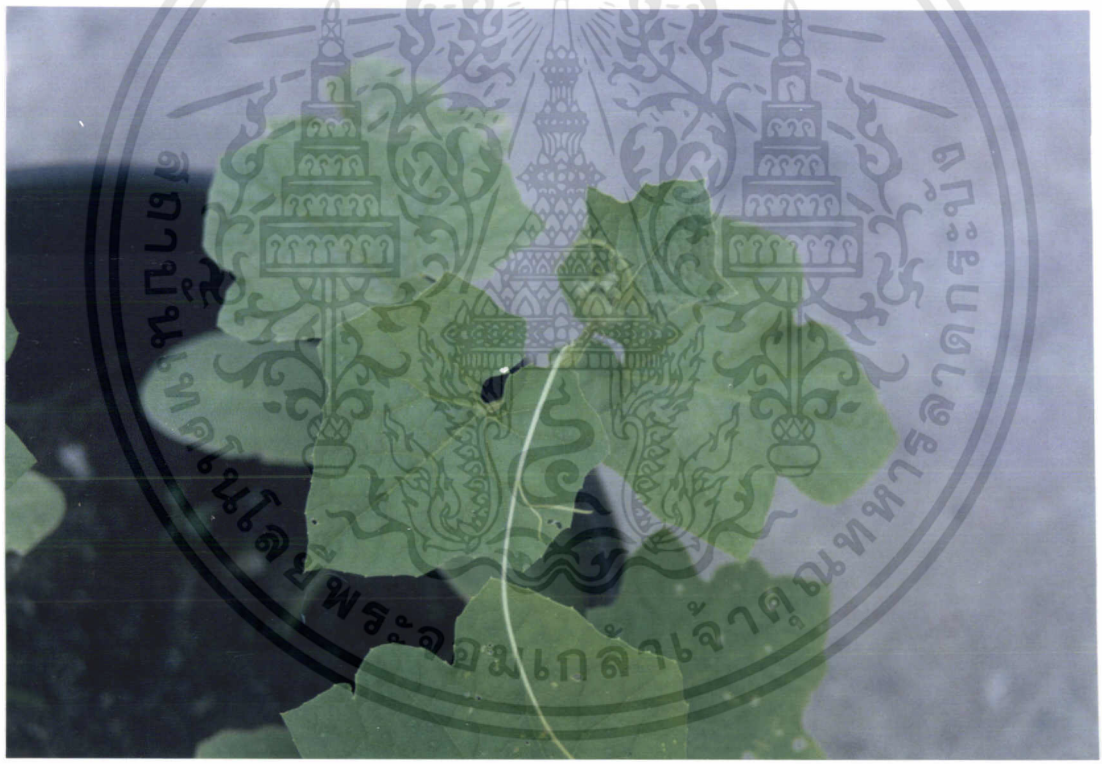
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะใบฟักทองที่เป็นโรค โดยใบจะแสดงอาการด่างสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวเข้มกระจายทั่วทั้งใบ ใบจะมีขนาดเล็กลง รูปร่างบิดเบี้ยว บางใบแสดงอาการหงิกอย่างเห็นได้ชัดเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**บวบเหลี่ยม**

ในระหว่าง 2 สัปดาห์แรกหลังปลูกเชื้อครั้งที่ 1 ต้นพืชไม่แสดงอาการผิดปกติแต่อย่างใด (ภาพที่ 3) จึงทำการปลูกเชื้อซ้ำเป็นครั้งที่ 2 หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ ใบของต้นพืชจะแสดงอาการด่างเหลือง โดยที่เส้นใบจะเห็นเป็นสีเขียวซึ่งในช่วงแรกจะแสดงอาการออกมาไม่ชัดเจน ต่อมาอาการจะชัดเจนมากขึ้นพร้อมทั้งเริ่มมีอาการใบผิดรูปร่างไป คือ ใบจะมีลักษณะเป็นปุ่มนูนเล็กบ้างใหญ่บ้าง มองคล้ายเป็นลูกคลื่นกระจายทั่วทั้งใบ และเมื่ออาการเป็นมากขึ้นจะทำให้ใบย่น ต่อจากนั้นอีกประมาณ 1 สัปดาห์ ที่ใบยอดจะแสดงลักษณะอาการด่างสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวเข้ม โดยจะมีสีเขียวเข้มที่บริเวณเส้นแกนของใบ ใบจะกระด้างและผิดรูปร่างไป (ภาพที่ 4) พบต้นพืชที่แสดงอาการเป็นโรคคิดเป็น 76.19 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะใบบวบเหลี่ยมปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 แสดงลักษณะใบบวบเหลี่ยมที่เป็นโรค โดยใบจะแสดงอาการด่างสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวเข้ม จะมองเห็นสีเขียวเข้มบริเวณเส้นแกนใบ ใบจะมีขนาดเล็กลงกว่าปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**แตงโม**

ภายหลังจากการปลูกเชื้อครั้งแรกไปแล้ว 2 สัปดาห์ พบว่าต้นพืชทดสอบไม่แสดงอาการผิดปกติ (ภาพที่ 5) จึงทำการปลูกเชื้อซ้ำเป็นครั้งที่ 2 ต่อมาอีก 1 สัปดาห์ใบพืชเริ่มแสดงอาการด่างสีเหลืองอ่อนๆ กระจายทั่วทั้งใบแต่ไม่ชัดเจน จากนั้นใบพืชจะแสดงอาการผิดรูปร่างไปทั้งที่ใบยอดและใบล่าง ซึ่งที่บริเวณขอบใบจะม้วนและห่อตัวขึ้นมาทางด้านท้องใบ ใบบิดเบี้ยว (ภาพที่ 6) พร้อมทั้งจะแสดงอาการด่างเหลืองมากขึ้นมองเห็นชัดเจน พบว่ามีต้นพืชแสดงอาการเป็นโรค คิดเป็น 85.71 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 5 แสดงลักษณะใบแตงโมปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 6 แสดงลักษณะใบแตงโมที่เป็นโรค ใบจะแสดงอาการด่างเหลืองอ่อนๆ กระจายทั่วทั้งใบ ใบจะมีรูปร่างบิดเบี้ยวและแคระแกรน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**แตงไท**

ภายหลังจากการปลูกเชื้อครั้งแรกไปแล้ว 2 สัปดาห์ ปรากฏว่าต้นพืชทดสอบไม่แสดงอาการเป็นโรค (ภาพที่ 7) จึงทำการปลูกเชื้อซ้ำเป็นครั้งที่ 2 จากนั้นประมาณ 2 สัปดาห์ ต้นพืชทดสอบเริ่มแสดงอาการเป็นโรค โดยจะสังเกตเห็นอาการที่ใบรองจากใบยอดก่อน คือ จะแสดงอาการด่างเหลืองอ่อนๆ และมีตุ่มนูนเล็กๆ กระจายทั่วทั้งใบ ต่อมาอาการบนใบจะแสดงชัดเจนขึ้นเป็นอาการด่างสีเขียวเข้ม ใบกระด้างขึ้น จากนั้นอาการตุ่มนูนจะมีลักษณะนูนมากขึ้นที่บริเวณท้องใบ โดยส่วนที่นูนขึ้นมาจะมีสีเขียวเข้ม แต่ส่วนที่ไม่นูนขึ้นจะมีสีเขียวอ่อน ใบผิดรูปร่างไป (ภาพที่ 8) พบว่ามีต้นพืชที่แสดงอาการเป็นโรค คิดเป็น 46.66 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 7 แสดงลักษณะใบแตงไทปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 8 แสดงลักษณะใบแตงไทที่เป็นโรค โดยใบจะแสดงอาการพุพองเป็นตุ่มนูนขึ้นมาและที่บริเวณตุ่มนูนจะมีสีเขียว ส่วนบริเวณพื้นเรียบจะมีสีเขียวอ่อนเกือบเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 1** แสดงเปอร์เซ็นต์ความเป็นโรค และจัดกลุ่มปฏิกิริยาของพันธุ์ต่อกลุ่มไวรัส ของพืช ตระกูลแตงแต่ละพันธุ์

| พืชตระกูลแตง | เปอร์เซ็นต์ความเป็นโรค | จัดกลุ่มปฏิกิริยาของพันธุ์ต่อกลุ่มไวรัส |
|---|---|---|
| ฟักทอง | 100 | Susceptible |
| บวบเหลี่ยม | 76.19 | Susceptible |
| แตงโม | 85.71 | Susceptible |
| แตงไท | 46.66 | Moderate Susceptible |

**ตารางที่2** แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสูง ( ซม. ) ของต้นปกติและต้นเป็นโรคของพืชตระกูลแตงแต่ละพันธุ์

| ระยะเวลา | พืชตระกูลแตง | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ฟักทอง | | บวบเหลี่ยม | | แตงโม | | แตงไท | |
| | ต้นปกติ | ต้นเป็นโรค | ต้นปกติ | ต้นเป็นโรค | ต้นปกติ | ต้นเป็นโรค | ต้นปกติ | ต้นเป็นโรค |
| สัปดาห์ที่ 1 | 8.83 | 8.53 | 9.66 | 8.70 | 5.33 | 5.20 | 6.83 | 5.35 |
| สัปดาห์ที่ 2 | 10.42 | 10.42 | 17.00 | 11.60 | 4.83 | 6.25 | 7.16 | 5.52 |
| สัปดาห์ที่ 3 | 14.87 | 14.87 | 38.66 | 27.74 | 10.66 | 11.66 | 14.00 | 10.81 |
| สัปดาห์ที่ 4 | 17.73 | 17.73 | 52.33 | 50.16 | 23.66 | 26.25 | 11.66 | 14.98 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

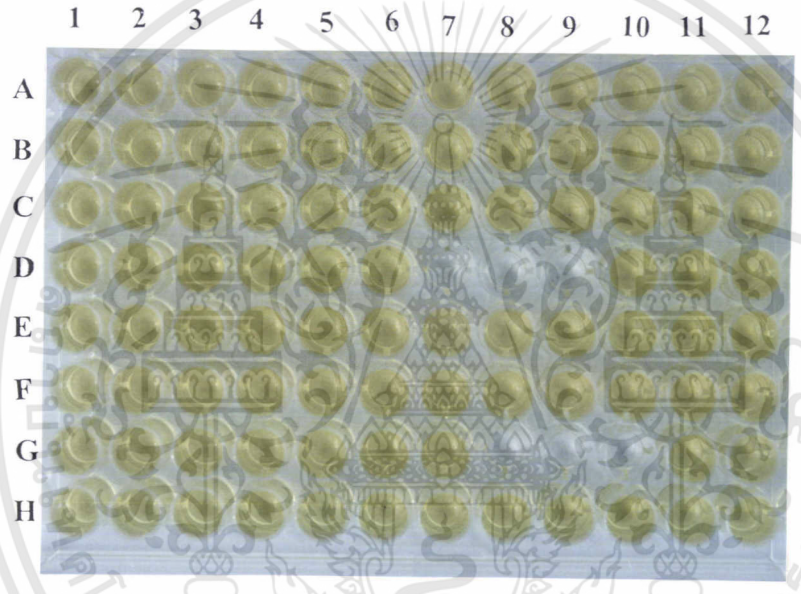
**2. จากการทดลองที่ 2 การตรวจสอบเชื้อไวรัส ZyMV โดยวิธี indirect ELISA**

จากการนำพืชตัวอย่างตระกูลแตงมาตรวจสอบหาเชื้อไวรัสโดยใช้เทคนิค indirect ELISA โดยพืชตระกูลแตงที่นำมาตรวจสอบนี้ได้รับการปลูกเชื้อครั้งที่สองแล้ว หลังจากนั้น 2 สัปดาห์ ไม่แสดงอาการเป็นโรคเกิดขึ้น ซึ่งก็ได้แก่ บวบเหลี่ยม แตงโมและแตงไท ผลจากการหยดสาร substrate ลงไปในplate แล้วประมาณ 30 นาที พบว่าในแต่ละหลุมของตัวอย่างพืชทดสอบทั้ง 3 ชนิด มีสีเหลืองเกิดขึ้นและความเข้มของสีอยู่ในระดับเดียวกันกับสีในหลุมของ disease control เพราะฉะนั้น ในทุกตัวอย่างพืชทดสอบมีการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง (ZyMV) คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 9 แสดงลักษณะของสีที่เกิดภายในหลุมทดลองบน polystyrene microtitre plate 1 ภายหลังหยด substrate ในการทำเทคนิค indirect ELISA

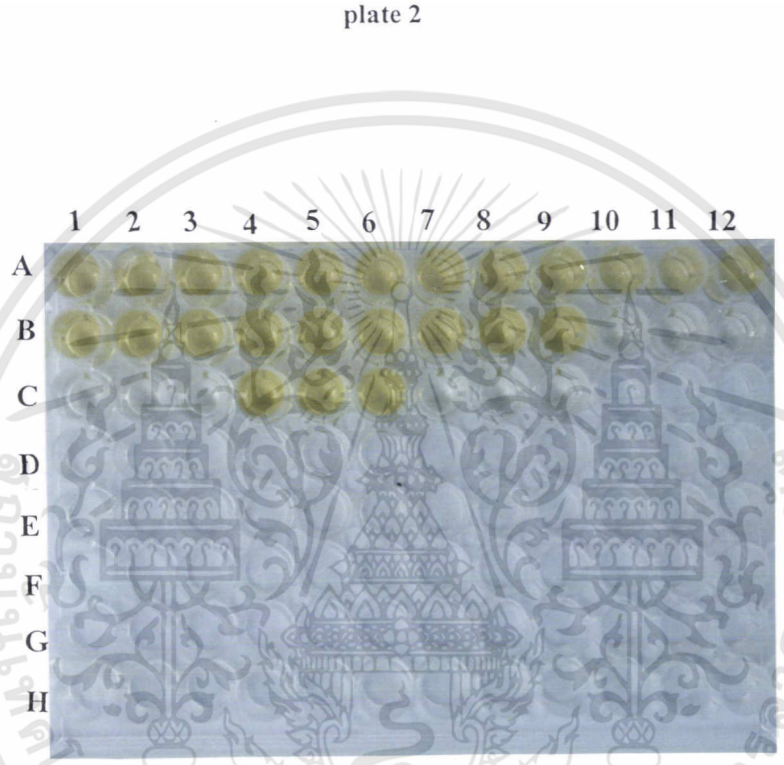
plate 1




หมายเหตุ -แถว D หลุม 7, 8 และ9 เป็น healthy control ของบวบเหลี่ยม
-แถว G หลุม 8, 9 และ10 เป็น healthy control ของแตงไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 10 แสดงลักษณะของสีที่เกิดภายในหลุมทดลองบน polystyrene microtitre plate 2 ภายหลังหยด substrate ในการทำเทคนิค indirect ELISA




หมายเหตุ -แถว B หลุม 10, 11 และ 12 เป็น healthy control ของแตงโม

-แถว C หลุม 1, 2 และ 3 เป็น healthy

-แถว C หลุม 4, 5 และ 6 เป็น disease control จากใบฟักทอง

-แถว C หลุม 7, 8 และ 9 เป็น substrate control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความต้านทานของพืชตระกูลแตงที่นำมาทดสอบทั้ง 4 ชนิด ซึ่งได้แก่ ฟักทอง บวบเหลี่ยม แตงโม และแตงไท พบว่า พืชทดสอบทั้ง 4 ชนิด มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง (ZyMV) โดยฟักทองมีความอ่อนแอมากที่สุด รองลงมา คือ แตงโม บวบเหลี่ยมและแตงไท คิดเป็น 100, 85.71, 76.19 และ 46.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสามารถจัดแบ่งกลุ่มได้ 2 กลุ่ม คือ 1 กลุ่มที่อ่อนแอต่อการเกิดโรค ซึ่งประกอบด้วย ฟักทอง บวบเหลี่ยม และแตงโม และ 2 กลุ่มที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเกิดโรค ซึ่งได้แก่ แตงไท

สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสูงระหว่างพันธุ์แตงที่ได้รับการปลูกเชื้อ และไม่ได้รับการปลูกเชื้อ ZyMV พบว่า ในฟักทองและแตงโมจะมีค่าเฉลี่ยความสูงของพืชทดสอบทั้งสองไม่แตกต่างกัน แต่ในบวบเหลี่ยมและแตงไท ค่าเฉลี่ยความสูงจะมีความแตกต่างกันเล็กน้อย แต่ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยพื้นที่ใบระหว่างต้นที่ได้รับการปลูกเชื้อและไม่ได้รับการปลูกเชื้อ ZyMV พบว่า เกิดความแตกต่างกันในทุกพันธุ์แตงที่ทดสอบ คือ ทั้งในฟักทอง บวบเหลี่ยม แตงโมและแตงไท ขนาดพื้นที่ใบของต้นที่แสดงอาการเป็นโรคจะมีขนาดเล็กกว่าขนาดพื้นที่ใบของต้นที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ

ส่วนผลการทดลองที่ 2 การตรวจสอบหาเชื้อไวรัสโดยใช้เทคนิค indirect ELISA ในน้ำคั้นของพันธุ์แตงที่นำมาทดสอบ พบว่า พืชตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบจะมีเชื้อไวรัสอยู่ในทุกตัวอย่างพืช คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองที่ 1 การศึกษาลำดับความต้านทานของพืชตระกูลแตงบางชนิดต่อเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง (ZyMV) พบว่า ทั้งฟักทอง บวบเหลี่ยม แตงโมและแตงไท ต่างก็มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสนี้ ซึ่งตรงกับการเรียบเรียงข้อมูลของ Osmond and Purcifull (1987) ที่บอกถึงการทดสอบหาพืชอาศัยของเชื้อ ZyMV พบว่า มี *Chenopodium amaranticolor, C. guinoa, Cucume melo, Cucurbita okeechobeensis, Cucurbita pepo, Gomphrena globosa, Luffa acutangula* และ *Ranunculus surdous* เป็นพืชอาศัยที่จะมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อ ZyMV และได้มีรายงานที่สนับสนุนการศึกษานี้ คือ รายงานของ Provvidenti (1986) ที่รายงานว่า พื้นที่ที่มีการปลูกแตงโมทั้งหมด จะมีความอ่อนแอต่อเชื้อ ZyMV แต่ระดับความอ่อนแอของแต่ละพืช จะมีความแตกต่างกัน จะเห็นได้จากการที่ฟักทอง เมื่อได้รับการปลูกเชื้อเพียงครั้งเดียว ก็สามารถแสดงอาการเป็นโรคขึ้นมาได้ แตกต่างจากบวบเหลี่ยม แตงโมและแตงไท ที่ต้องทำการปลูกเชื้อถึง 2 ครั้ง จึงจะแสดงอาการเป็นโรคได้ ซึ่งนั่นแสดงว่า พืชแต่ละชนิด จะมีระดับความต้านทานต่อเชื้อไวรัส ZyMV ที่แตกต่างกัน ซึ่งความต้านทานนี้อาจมียีนควบคุมความต้านทานมากกว่าพันธุ์แตงอื่นที่ใช้ทดสอบ Pitrat and Lecoq (1984) ศึกษาพบว่าใน *Cucumis melo* จะมียีน Zym ซึ่งเป็น single dominant gene ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมความต้านทาน แต่ยีนนี้จะมีความเฉพาะเจาะจงกับ strain ของเชื้อ ZyMV และยีน Zym ยังพบใน ฟักทอง *(Cucurbita moschata)* พันธุ์ Menina ซึ่งมีถิ่นกำเนิดจากโปรตุเกส ทำให้ฟักทองพันธุ์นี้มีความต้านทานต่อเชื้อไวรัส ZyMV และ WMV2 (Gilbert *et. al.*, 1993)

Provvidenti *et. al.*, (1984) พบว่า แหล่งของความต้านทานของแตงโม จะพบในพันธุ์ Egusi *(Citrullus colocynthis)* ที่ปลูกในประเทศไนจีเรีย ซึ่งความต้านทานนี้จะอยู่บน recessive gene ทำให้อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อความต้านทาน คือ ที่อุณหภูมิ 20 $^{\circ}$C จะเกิดการเป็นโรคแบบ systemic และถ้าเป็นอุณหภูมิ 30 $^{\circ}$C พืชจะมีความต้านทานสูง Green(1991) ศึกษาพบว่า ในบวบเหลี่ยม *(Luffa acutangula)* จะมี 2 สายพันธุ์ที่ต้านทานสูงต่อ CMV และมี 20 สายพันธุ์ที่มีความต้านทานสูงต่อ ZyMV

อีกสาเหตุหนึ่ง ที่ทำให้ต้องมีการปลูกเชื้อซ้ำ อาจเป็นเพราะความเข้มข้นของน้ำคั้นที่นำมาปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ อาจจะมีความเจือจางมากไป ทำให้มีอนุภาคของเชื้อไวรัสน้อย จึงมีประสิทธิภาพต่ำในการเข้าทำลายพืช รวมถึงสภาพอากาศในขณะที่ทำการทดลองมีความแปรปรวนค่อนข้างมาก ซึ่งจะมีผลกระทบต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อภายใน cytoplasm ของพืช และเนื่องจากในการทำการทดลอง เป็นการทำในสภาพธรรมชาติ ทำให้ไม่สามารถควบคุมเพลี้ยอ่อนซึ่งสามารถเป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสนี้ได้ (Riechmann *et. al.*,1992) และมีการถ่ายทอดแบบ non-persistent (Lecoq *et.al.*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1981; Dodds *et. al.*, 1984) นอกจากนี้ยังมีเต่าแตงแดง เต่าแตงดำ หนอนกระทู้ และหนอนชอนใบ ที่เข้าทำลายพืชทดสอบ จนทำให้มีพืชทดสอบส่วนหนึ่งตายไป

จากการทดลองที่ 2 หลังจากทำการตรวจสอบหาเชื้อไวรัส ZyMV พบว่าทุกหลุมของตัวอย่างพันธุ์แตงทดสอบเกิดเป็นสีเหลือง แต่ในขณะทำการทดลองนี้ พืชทดสอบยังไม่แสดงอาการของโรคเกิดขึ้น ซึ่งอาจจะเป็นเพราะว่า ปริมาณเชื้อในเซลล์ของพืชยังมีน้อยเกินไป ยังมีการเพิ่มปริมาณของเชื้อ ไม่มากพอที่จะทำให้เกิดความเสียหายกับพืชให้แสดงออกมาให้เห็นชัดเจน หรือที่เรียกว่า latent infection

Osmond and Purcifull (1987) ได้เรียบเรียงไว้ว่า บวบเหลี่ยม *(Luffa acutangula)* จะแสดงอาการ systemic mosaic หรือ latent Orozco *et. al.*, (1994) รายงานว่า เชื้อไวรัส ZyMV จะเข้าทำลาย *Ranunculus sardous* แบบ latent infection ซึ่งการที่ต้นพืชแสดงอาการ latent นี้ ได้สร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรเป็นอย่างมาก เนื่องจากกว่าพืชจะแสดงอาการเกิดโรค เชื้อไวรัสก็ได้แพร่กระจายไปทั่วแปลงปลูก สร้างความเสียหายโดยจะทำให้เกิด อาการบนผลฟักทอง *(Cucurbita pepo* L. และ *Cucurbita maxima* L. พันธุ์ Any) มีขนาดเล็ก มีตุ่มสีเหลืองเงา กระจายทั่วไปบนพื้นสีเขียวบนผล (Gracia, 2000) ทำให้คุณภาพและปริมาณลดลง ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด สูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจ เพราะฉะนั้น ก่อนจะทำการปลูกพันธุ์แตง เกษตรกรควรจะมีการวางแผนป้องกันกำจัดไวรัส เพื่อไม่ให้เกิดความเสียหายนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง

Adlerz, W. C., D. E. Pureifull, G. W. Simone and E. Hiebert. 1983. Zucchini yellow mosaic virus: A Pathogen of squash and other cucurbits in Florida. Proc. Fla. State Hortic. Soc. 96: 72-74

Al – Shahwan, I. M., O. A. Abdalla and M. A. Al – Saleh. 1995. Response of greenhouse – grown cucumber cultivars to an isolate of zucchini yellow mosaic virus (ZyMV). Plant Disease. 79(9) : 898 – 901.

Clough, G. H. and P. B. Hamm. 1995. Coat protein transgenic resistance to watermelon mosaic and zucchini yellow mosaic virus in squash and cantaloupe. Plant Disease. 79 : 1167 – 1109.

Desbiez, C., C. Wipf – Scheibel , F. Granier, C. Robaglia, T. Delaunay and H. Lecoq. 1996. Biological and molecular varia bility of zucchini yellow mosaic virus on the island of Martinique. Plant Disease. 80 : 203 – 207.

Dodds, J. A., J. G. Lee, S. T. Nameth and F. F. Laemmlen. 1984. Phytopathology 74: 221.

Gilbert, F., H. Lecoq, M. Pitrat and J. L. Nicolet. 1993. Resistance of *Cucurbita moschata* to watermelon mosaic virus type 2 and its genetic relation to resistance to zucchini yellow mosaic virus .Euphytica. 69(3) : 231 – 237.

Gracia, D. 2000. First report of zucchini yellow mosaic virus in Argentina. Plant Disease. 84 : 371.

Green, S. K. 1991. Integrated control of virus disease of vegetables in Taiwan. pp. 35 – 68. In Keizi Kiritani, Hong – Ji Su and Yau – I Chu., (eds.), Integrated Control of Plant Virus Diseases. Food and Fertilizer Technology Center For the Asian and pacific Region, Taipei, Taiwan ROC.

Holling, M. and A. A. Brunt. 1981. Potyvirus Group, in Descriptions of plant viruses No. 245. Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists. Kew, Surrey, England.

Lecoq, H., M. Pitrat and M. Clement. 1981. Identification et caracterisation d' un potyvirus provoquant la maladie du rabougrissement jaune du melon. Agronomie1: 857-834.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lecoq, M., F. Gilbert-Albertini, M. Pitrat and J.L. Nicolet. 1993. Resistance of *Cucurbit moschata* to watermelon mosaic virus type 2 and its genetic relation to resistance to zucchini yellow mosaic virus. Euphytica 69(3): 231-237.

Lisa, V., G.Boccatdo,G.D'Agostino, G. Dellavalle and M. D' Aquilio. 1981. Characterization of a potyvirus that causes zucchini yellow mosaic. Phytopathology 71: 667-672.

Lisa, V., and H. Lecoq. 1984. Zucchini yellow mosaic virus. Descriptions of plant viruscs No.282. Commonwealth Mtcological Institute and Association of Applied Bilogists. Kew, England.

Noda, C., K. Kittipakorn, P. Inchan, L. Wannapee and N. Deema. Noda, C., K. Kittpakorn, P. Inchan, L. Wannapee and N. Deema. 2536. Distribution of cucurbit viruses and reactions of some cucurbit species to certain viruses. 341 – 347. ใน : พุทธชาติ ชุณสาคร,(ผู้รวบรวม), ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 สาขาพืช. 3-6 กุมภาพันธ์ 2536. กรุงเทพมหานคร.

Osmond, C. and D. Purcifull. 1987. Zucchini yellow mosaic potyvirus. pp.1415-1418. In Brunt A. A., K. Crabtree, M. J. Dallwitz, A. J. Gibbs and L. Watson (eds.), Viruses of plants. University Press, Cambridge. U. K.

Orozco, M., O. Perez and O. Lopez. 1994. First report of zucchini yellow mosaic virus in *Cucumis melo* in Colima, Mexico. Plant Disease. 78(11) : 1123.

Pitrat, M. and H. Lecoq. 1984. Inheritance of zucchini yellow mosaic virus resistance in *Cucumis melo* L. Euphytica 33: 57-61.

Provvidenti, R. and J. K. Uyemoto. 1973. Chlorotic leaf spotting of yellow summer squash caused by the severe strain of bean yellow mosaic virus. Plant Disease Reporter 57: 280-282.

Provvidenti, R., D. Gonsalves and H. S. Humaydan. 1984. Occurrence of zucchini yellow mosaic virus in cucurbits from Connecticut, New York , Florida and California. Plant Disease. 68(5) : 443 – 446.

Provvidenti, R. 1986. Viral disease of cucurbits and sources of resistance. Plant virus diseases of horicultural crops in the tropics and subtropics. FFTC Book Series No. 33 : 21 – 36.

Riechmann, J. L., S. Lain, and J. A. Garcia. 1992. Highlights and prospects of potyvirus molecular biology. J. Gen. Virol. 73 : 1-16.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Somowiyarjo, S ., N. SaKo and F. Nonaka. 1985. Application of non – precoated indirect enzyme – linked immunosorbent assay for detecting zucchini yellow mosaic virus. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 51 : 569 – 575.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางผนวกที่ 1** แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้นฟักทอง (ซม.) ในแต่ละกระถางเป็นเวลา 4 สัปดาห์

| กระถางที่ | ระยะเวลา (สัปดาห์) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | *1* | *2* | *3* | *4* |
| 1* | 8.83 | 10.00 | 14.00 | 19.66 |
| 2 | 9.33 | 11.00 | 15.00 | 19.00 |
| 3 | 9.50 | 13.66 | 18.66 | 22.00 |
| 4 | 8.00 | 7.66 | 12.00 | 12.00 |
| 5 | 8.00 | 8.66 | 13.33 | 18.66 |
| 6 | 10.16 | 11.66 | 16.66 | 20.66 |
| 7 | 10.16 | 11.66 | 16.33 | 18.33 |
| 8 | 9.00 | 10.66 | 14.66 | 16.38 |
| 9 | 7.30 | 10.66 | 18.00 | 21.66 |
| 10 | 7.66 | 11.00 | 17.33 | 20.33 |
| 11 | 7.16 | 9.33 | 12.00 | 15.33 |
| 12 | 8.50 | 9.66 | 13.33 | 15.66 |
| 13 | 8.66 | 11.00 | 14.00 | 17.33 |
| 14 | 7.83 | 8.33 | 11.33 | 12.66 |
| 15 | 8.16 | 11.00 | 15.00 | 18.33 |

หมายเหตุ * = Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางผนวกที่ 2** แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้นบวบเหลี่ยม (ซม.) ในแต่ละกระถางเป็นเวลา 4 สัปดาห์

| กระถางที่ | ระยะเวลา (สัปดาห์) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | *1* | *2* | *3* | *4* |
| 1* | 9.66 | 17.00 | 38.66 | 52.33 |
| 2 | 12.83 | 14.66 | 38.00 | 53.33 |
| 3 | 8.00 | 10.33 | 29.66 | 65.33 |
| 4 | 7.50 | 14.33 | 38.33 | 48.33 |
| 5 | 11.50 | 14.66 | 47.00 | 69.66 |
| 6 | 8.66 | 13.00 | 27.00 | 42.66 |
| 7 | 9.33 | 13.00 | 28.33 | 53.66 |
| 8 | 6.16 | 8.66 | 14.50 | 35.00 |
| 9 | 7.00 | 9.66 | 23.00 | 40.66 |
| 10 | 8.00 | 7.66 | 25.00 | 62.33 |
| 11 | 6.66 | 9.33 | 21.66 | 42.33 |
| 12 | 8.50 | 13.00 | 29.33 | 54.33 |
| 13 | 10.50 | 13.33 | 22.66 | 52.33 |
| 14 | 8.50 | 8.66 | 21.00 | 52.33 |
| 15 | 8.66 | 12.00 | 23.00 | 36.33 |

หมายเหตุ * = Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางผนวกที่ 3** แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้นแตงโม (ซม.) ในแต่ละกระถางเป็นเวลา 4 สัปดาห์

| กระถางที่ | ระยะเวลา (สัปดาห์) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | *1* | *2* | *3* | *4* |
| 1* | 5.33 | 4.83 | 10.66 | 23.66 |
| 2 | 4.50 | 5.50 | 13.50 | 30.00 |
| 3 | 6.66 | 7.16 | 14.33 | 28.00 |
| 4 | 5.00 | 4.66 | - | - |
| 5 | 5.50 | 5.33 | 12.33 | 23.66 |
| 6 | 5.66 | 5.66 | 9.83 | 20.00 |
| 7 | 4.33 | 4.66 | 9.00 | 33.33 |
| 8 | 4.66 | 7.16 | 9.16 | 12.00 |
| 9 | 5.16 | 5.83 | 8.50 | - |
| 10 | 6.00 | 6.66 | 8.16 | 16.33 |
| 11 | 5.00 | 5.75 | 9.00 | - |
| 12 | 5.33 | 7.66 | - | - |
| 13 | 5.50 | 6.50 | 7.00 | 19.00 |
| 14 | 4.33 | 8.75 | 27.50 | 54.00 |
| 15 | - | - | - | - |

หมายเหตุ * = Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางผนวกที่ 4** แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของต้นแตงไท (ซม.) ในแต่ละกระถางเป็นเวลา 4 สัปดาห์

| กระถางที่ | ระยะเวลา (สัปดาห์) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | *1* | *2* | *3* | *4* |
| 1* | 6.83 | 7.16 | 14.00 | 11.66 |
| 2 | 5.33 | 7.00 | 9.66 | 16.00 |
| 3 | 3.66 | 3.66 | 7.33 | 9.66 |
| 4 | 4.33 | 6.00 | 13.00 | 17.33 |
| 5 | 6.66 | 6.83 | 17.33 | 23.66 |
| 6 | 3.66 | 5.16 | 8.66 | 15.00 |
| 7 | 6.33 | - | - | - |
| 8 | 5.50 | 5.16 | 9.00 | 7.00 |
| 9 | 6.16 | 5.33 | 8.00 | 9.50 |
| 10 | 6.33 | 7.00 | 11.66 | 16.33 |
| 11 | 5.83 | 4.00 | 8.00 | 10.00 |
| 12 | 4.16 | 4.83 | 11.00 | 18.00 |
| 13 | 6.16 | 6.00 | 11.33 | 17.00 |
| 14 | 4.33 | - | - | - |
| 15 | 6.50 | 5.33 | 14.83 | 20.33 |

หมายเหตุ * = Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้