17441

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเกิดโรคของ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV) ใน ฟักทอง

Comparison of Infectivity Assay of Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV) on Pumpkin

T098975

โดย

นาย ชัยยันต์ แดใหญ่

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2543

ปก.
ว.ส.บ.
2543

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....88975
วัน,เดือน,ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

เรื่อง

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเกิดโรคของ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV) ใน ฟักทอง

Comparison of Infectivity Assay of Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV) on Pumpkin

โดย

นาย ชัยยันต์ แคใหญ่

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

.....

(ผศ. ดร. นวลพรรณ งามยี่สุ่น)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ. ดร. วรเดช จันทรสร)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

วันที่ 31 เดือน พ.ค. พ.ศ. 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง :การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเกิดโรคของ Zucchini Yellow Mosiac Virus ในฟักทอง

โดย : นาย ชัยยันต์ แคใหญ่

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

สาขาวิชา : เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

อาจารย์ที่ปรึกษา :.....30/3/2544

(ผศ. ดร. นวลพรรณ งามยี่สุ่น)

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเกิดโรคของ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV) โดยการปลูกและถ่ายทอดเชื้อลงในใบฟักทอง โดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ buffer 3 ชนิด คือ sodium citrate, potassium phosphate และ Tris-HCL พบว่า buffer ที่พืชแสดงอาการใบด่างได้ชัดเจนที่สุดคือ sodium citrate buffer การเปรียบเทียบความเข้มข้น (Molarity) ของ sodium citrate buffer ที่ 0.05, 0.1 และ 0.5 M พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1 M พืชแสดงอาการของโรคได้ดีที่สุด และเปรียบเทียบค่า pH ที่ 5, 6, 7, 8 และ 9 พบว่าที่ pH 8 พืชแสดงอาการใบด่าง ใบหงิกงอ บิดเบี้ยวผิดรูปร่าง แคระแกรนได้ดี สำหรับสาร additive ที่ใช้เติมลงใน sodium citrate buffer คือ สาร 0.5% Polyvinylpyrolidone(P.V.P), 0.5% sodium sulfite และ0.5% 2-mercaptoethanol พบว่าสาร Polyvinylpyrolidone (P.V.P) และสาร sodium sulfite ที่ความเข้มข้น 0.5% สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทองได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Title : Comparison of Infectivity Assay of Zucchini Yellow MosaicVirus (ZyMV) on Pumpkin

By : Mr. Chaiyun Kayai

Degree : Bachelor of Science in Agriculture

Major field : Plant Pest Management Technology

Advisor : N. Ngamyeesoon 30/ ต /2001

(Asst. Prof. Dr. Nualphan Ngamyeesoon)

Comparison studies of efficiency in infectivity assay of Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV) by mechanical sap transmission to pumpkin seedlings using three different buffer included sodium citrate, potassium phosphate and tris-HCL at 0.05, 0.1, 0.5 molarity (M) and different pH level from pH 5 to pH 9 were performed. The result pointed out that the suitable buffer for sap transmission of ZyMV was 0.1 M sodium citrate at pH 8. While, adding 0.5 % polyvinylpyrolidone (P.V.P), 0.5 % sodium sulfite or 0.5 % 2-mercaptoethanol to 0.1 M sodium citrate pH 7.5 revealed that both polyvinylpyrolidone (P.V.P) and sodium sulfite at 0.5 % increased infectivity of ZyMV

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายๆ ท่าน ผู้จัดทำปัญหาพิเศษขอแสดงความขอบคุณอย่างสูงต่อผู้ที่ส่วนช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอบคุณ บิดา มารดา ที่ให้ความอนุเคราะห์ในด้านปัจจัยต่างๆ และกำลังใจอย่างดียิ่ง ขอบคุณอาจารย์ ผศ. ดร. นวลพรรณ งามยี่สุ่น อาจารย์ที่ปรึกษาผู้ซึ่งกรุณาให้คำปรึกษาข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ตลอดจนตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอบคุณ อาจารย์ รศ. ดร.มยุรา สุนย์วีระ และอาจารย์ ผศ.ดร.รัตนา ปรมาคม สำหรับกระถางต้นไม้ที่ใช้ในการทดลอง ขอบคุณรุ่นพี่ปริญญาโท ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาตลอดจนการช่วยเหลือในการทดลองครั้งนี้ ขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช ที่ให้ความสะดวกในด้านอุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ ขอบคุณ เพื่อนๆ ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชชั้นปีที่4 ที่มีส่วนเกี่ยวข้องช่วยเป็นกำลังใจ และให้การช่วยเหลือในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอบคุณสำหรับกำลังใจที่ได้รับจากทุกๆ คนที่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องกับชีวิต นายชัยยันต์ แคใหญ่ และขอขอบคุณสำหรับทุกๆท่านที่มิได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้

ชัยยันต์ แคใหญ่

พฤษภาคม 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.....5
ผลการทดลอง.....12
วิจารย์ผลการทดลอง.....24
สรุปผลการทดลอง.....26
เอกสารอ้างอิง.....27
ภาคผนวก.....29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

1 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ buffer ในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV).....13

2 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของระดับความเข้มข้น Molarity ของ sodium citrate ในการถ่ายทองเชื้อใบด่าง ฟักทอง Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV).....15

3 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพค่า PH ของ sodium citrate buffer 0.1 Mในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV).....17

4 แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสาร additive ในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV).....21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

1 แสดงลักษณะใบด่างฟักทองเนื่องจากได้รับการปลูกเชื้อ
และถ่ายทอดเชื้อ ZyMV.....12

2 แสดงลักษณะใบฟักทองปกติที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ ZyMV.....13

3 แสดงอาการใบด่าง ใบหงิกงอ บิดเบี้ยวผิดรูปร่าง
ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ด้วย sodium citrate
buffer 0.1M pH 7.5 ความเข้มข้นที่ dilution $1:10^{-6}$ 14

4 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทอง
ในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:1,0^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$
และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากความเข้มข้น Molarity
0.05 M sodium citrate buffer.....16

5 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทอง
ในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:1,0^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$
และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากความเข้มข้น Molarity
0.1 M sodium citrate buffer 16

6 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ
dilution ตั้งแต่ control,$1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:1,0^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$
และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากความเข้มข้น Molarity
0.5 M sodium citrate buffer.....17

7 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ
dilution ตั้งแต่ control,$1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:1,0^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$
และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV
ด้วย sodium citrate 0.1 M pH 5.....18

8 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ
dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:1,0^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$
และ$1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV
ด้วย 0.1M sodium citrate buffer pH 6 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$ และ$1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ด้วย 0.1M sodium citrate buffer pH 7.....19

10 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$ และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ด้วย0.1M sodium citrate buffer pH 8..... 20

11 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$ และ$1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ด้วย 0.1M sodium citrate buffer pH 9..... 20

12 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$ และ$1:10^{-6}$ตามลำดับซึ่งเกิดจากถ่ายทอดเชื้อ ZyMV โดยใช้สาร 0.5% polyvinylpyrolidone (P.V.P) เติมลงใน sodium citrate buffer 0.1 M pH 7.5..... 22

13 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$ และ$1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากถ่ายทอดเชื้อ ZyMV โดยใช้ สาร 0.5 % sodium sulfite เติมลงใน sodium citrate buffer 0.1 M pH 7.5.....22

14 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$ และ$1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากถ่ายทอดเชื้อ ZyMV โดยใช้ สาร 2-mercaptoethanol เติมลงใน sodium citrate buffer 0.1 M pH 7.5.....23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ฟักทองเป็นพืชผักที่คนไทยนิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลายมานานแล้วเพราะฟักทองสามารถนำไปประกอบอาหารได้หลายชนิดทั้งคาวและหวาน และเป็นพืชผักที่มีแคโรทีนสูง เมื่อรับประทานเข้าไปสารแคโรทีนก็จะเปลี่ยนเป็นวิตามินเอ ซึ่งช่วยบำรุงสายตา เนื้อฟักทองมีวิตามินเอถึง 2,220 หน่วยสากล ส่วนยอดฟักทองมีวิตามินเออยู่ถึง 2,780 หน่วยสากล ฟักทองมีชื่อภาษาอังกฤษว่า pumpkin ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cucurbite pepo* (Duck) Pair จัดอยู่ในวงศ์เดียวกับ แฟง แตงโม แตงกวา คือ วงศ์ Cucurbitaceae เป็นไม้เถาอ่อนมีลำต้นเลื้อยไปตามพื้นมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกกันอยู่ในต้นเดียวกัน ต้องอาศัยแมลงในการช่วยผสมเกสร ฟักทองมีหลายพันธุ์มีลักษณะรูปร่าง ขนาด สีสัน รสชาดต่างกัน บางชนิดมีลักษณะสวยงาม นอกจากจะนำไปบริโภคเป็นอาหารแล้วยังสามารถนำไปประดับตกแต่งได้

นอกจากนี้ผู้ปลูกมักประสบปัญหาเกี่ยวกับโรคและแมลง ทำให้คุณภาพและปริมาณของผลผลิตลดลง โรคที่สำคัญที่มักจะเกิดขึ้นคือ โรคราแป้ง โรคราน้ำค้างและโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสซึ่งเป็นโรคที่สำคัญชนิดหนึ่งที่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่ฟักทอง(โสภาพันธุ์และคณะ,2526)ทำให้ปริมาณและคุณภาพผลผลิตลดลงอย่างมากเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายและทำความเสียหายนี้ได้แก่เชื้อ Zucchini yellow Mosaic Virus (ZyMV) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้พืชลดการเจริญเติบโต แคระแกรน ใบแสดงอาการด่าง และผิดรูปร่าง ดังนั้นการทดสอบประสิทธิภาพในการเกิดโรคไวรัส ZyMV จึงนับเป็นวิธีการหนึ่งที่จะใช้สำหรับศึกษาลักษณะและคุณสมบัติของเชื้อเพื่อเป็นแนวทางในการผลิตเซรุ่มของเชื้อที่มีคุณภาพดีเพื่อใช้ในการตรวจสอบเชื้อ ในการเข้าทำลายระยะแรกก่อนที่จะทำความเสียหายแก่ผลผลิตโดยรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดของ buffer ที่ใช้ในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสได้อย่างมีประสิทธิภาพ
2. เพื่อศึกษาระดับ Molarity และ pH ที่เหมาะสมในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสได้
3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสาร additive ในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

เชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV) เป็นเชื้อไวรัสที่อยู่ในกลุ่ม potyvirus อนุภาคของเชื้อเป็นแบบ monopartite genome ประกอบด้วย RNA สายเดี่ยว (single stand RNA) ลักษณะเป็นอนุภาคสายยาว (filamentous) ไม่มีอะไรห่อหุ้ม (ss RNA nonenveloped) มีความยาว 750 นาโนเมตร(nm) กว้าง 11 นาโนเมตร(nm) มี inclusion body แบบ pinwheels สามารถถ่ายทอดผ่านทาง stylet ของเพลี้ยอ่อน *Myzys persicae* และ *Aphis gossipii* แบบ peristent โดยเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* (ถ่ายทอดจากต้น *R. sardous* ไปสู่ต้นแตงเทศและฟักทอง(*Cucurbita pepo*) และเพลี้ยอ่อน *Aphis gossypii* , *A. spiraecola* , *Uroleucom ambrosae* และ *Mysys persicae* (ถ่ายทอดจากต้น *C . pepo* ไปสู่ต้นแตงเทศ (melon) (Orozco. *et. al.*,1994)และจะถ่ายทอดได้ง่ายโดยวิธีกล (mechanical transmission) นอกจากนี้ยังมีโอกาสที่จะถ่ายทอดทางเมล็ด (Provvidenti *et. al.*,1984) เชื้อไวรัสนี้พบว่าจะสร้างความเสียหายอย่างมากกับพืชตระกูลแตงในเขตร้อนทำให้เกิดอาการรุนแรงบนใบและผล

Orozco *et. al.*, (1994) ได้รายงานถึงการตรวจพบเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac (ZyMV) ซึ่งเป็นการตรวจพบเชื้อใน ZyMV เป็นครั้งแรก ในแตงเทศ (melon , *Cucumis melo* .) ที่ปลูกในหมู่บ้าน Tecoman เมือง Colima ประเทศเม็กซิโก ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน ในปี 1993 พบว่าเชื้อ ZyMV จะเข้าทำลายแตงเทศ 10-15% พบว่าเชื้อ ZyMV จะเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการ latent infection ใน *Ranunculus sardous* และจะไม่แสดงอาการติดเชื้อใน *Nicotiana glutinosa* และลักษณะอาการจะใกล้เคียงกับอาการที่เกิดจากเชื้อ watermelon mosiac virus type1 (WMV 1) ดังนั้นจึงเป็นเรื่องยากที่จะเห็นถึงความแตกต่างของอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสทั้ง25ชนิดนี้ ภายใต้สภาพแปลงปลูก (Provvidenti *et. al.*, 1984)

Kim jeongsoo, *et.al.*, (1995). ได้รายงานว่า Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV) ที่แยกจาก *Cucurbita moschata* (CV 'Aihobag') ที่แสดงอาการใบด่าง รูปใบบิดเบี้ยว ผิดรูปร่าง มี dilution end point ที่ $1:10^{-3}$มี thermal inactivation point 50 องศา Longevity in vitro 1 วัน

Garcia (2000) ได้รายงานถึงอาการที่เกิดกับพืชว่าพืชจะแสดงอาการด่างเหลือง necrosis และใบผิดรูปร่างไปและในผลผลิตทั้งหมดที่ติดเชื้อจะมีขนาดเล็กมีตุ่มสีเหลืองกระจายอยู่ทั่วไปและร่วงหล่นได้ง่าย จะแสดงอาการ systemic ในพืชตระกูลแตง จะแสดงอาการ local chlorotic lesion อย่างเดียวใน *Chenopodium quinoa* และ *C. amaranticolor* แต่ในพืชตระกูล Compositae, Legominosae และ Solanaceae จะไม่ติดเชื้อไวรัสนี้ และยังพบว่าอาการของพืชที่ติดเชื้อจะมีขนาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เล็ก มีตุ่มสีเหลืองเงา กระจายทั่วไปบนพื้นสีเขียวของผล ในพืชตระกูล *Cucurbita pepo* L.และ *Cucurbita maxima* พันธุ์ Any.

นอกจากนี้ยังพบว่าในการถ่ายทอดเชื้อนั้นนิยมใช้สาร additive เข้ามาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อสู่พืชอาศัย

Maluf WR.*et. al.*, (1997).รายงานการทดสอบความต้านทานของโรค Papaya Ring Spot Virus โดยใช้ 0.02 M potassium phosphate (pH 7.0) และผสมด้วย 0.01% sodium sulfite เป็น bufferในการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อ Papaya Ring Spot Virus ลงบนแตงโม เพื่อทดสอบความต้านทานของเชื้อ PRSV-W ใน *Cucurbita maxima*

Staniulis J. and Zitikaite I. (1994). รายงานการใช้ Tris-HCL buffer และสาร sodium sulfite และสาร 2-mercaptoethanol โดยใช้ในขบวนการรักษาสภาพของเชื้อ bean yellow mosiac virus ในพืช *Trifolium pratense* ในขณะการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ (purification) เพื่อผลิตเซรุ่มของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง

-เมล็ดฟักทอง

- กระถาง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11 นิ้ว

- ดิน

-โกร่ง

-ใบฟักทองที่เป็นโรคใบด่างจากเชื้อ Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZyMV)

-กระดาษหนังสือพิมพ์

-น้ำแข็ง

1.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการปลูกพืชทดสอบ

-เสียม

-บัวรดน้ำ

-สารฆ่าแมลงเต่าแตง มาลาไทออน , ไดโครโตฟอส

-ปุ๋ยยูเรีย

1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

-บิกเกอร์ขนาดต่าง ๆ

-ไมโครปิเปต, ปิเปต ขนาด 10 และ 20 ml.

- เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่างของสารละลาย (pH meter)

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง -

1.4 สารเคมีที่ใช้ในการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทองที่เกิดจากเชื้อ Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZyMV)

-Buffer : Potassium phosphate buffer 0.1 M. pH 7.0 – 7.5

: Sodium citrate buffer 0.1M pH 7.5

: Tris-HCL buffer 0.1 M pH 7.5

-ผง celite 545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียม buffer ให้บริสุทธิ์

- di – potassium hydrogen orthophosphate (K_2HPO_4)
- potassium di – hydrogen orthophosphate (KH_2PO_4)
- citric acid
- NaOH
- Tris (hydrozymethyl) aminomethane ($NH_2(CH_2OH)_3$)
- Hydrocholric acid (HCl)

1.6 สาร additive ที่ใช้ในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus

- 2-mercaptoethanol
- sodium solfite
- Polyvinylpyrolidone (P.V.P)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีการและการทดลอง

2.1 **การทดลองที่ 1** การปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZyMV)

เตรียมเมล็ดฟักทอง ปลูกลงในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11 นิ้ว โดยนำเมล็ดฟักทองปลูกลงไปในกระถางประมาณ 10 เมล็ดต่อกระถาง จำนวน 10 กระถาง รดน้ำทุกวันจนเมล็ดฟักทองงอก จนกระทั่งใบเลี้ยงเริ่มคลี่บานเต็มที่ประมาณ 7 – 10 วัน ทำการแบ่งต้นฟักทองออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกแบ่งออกเป็น 1 กระถาง ซึ่งจัดเป็นกระถาง control ส่วนกลุ่มที่ 2 จัดเป็น 9 กระถาง ซึ่งเป็นกระถางฟักทองที่ทำการปลูกเชื้อใบด่างฟักทองลงไป โดยการปลูกเชื้อไวรัส ZyMV ผ่านทางน้ำคั้น (mechanical sap transmission) โดยใช้น้ำคั้นจากใบฟักทองที่แสดงอาการใบด่าง ก่อนทำการปลูกเชื้อจะต้องคลุมต้นฟักทองด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ก่อนเป็นเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง เพื่อทำให้พืชอ่อนแอเหมาะต่อการเกิดโรค เมื่อครบกำหนด นำกระดาษหนังสือพิมพ์ที่คลุมต้นฟักทองออก หลังจากนั้นนำโกร่งที่แช่เย็นออกจากตู้เย็น นำใบฟักทองที่เป็นโรคใบด่างฟักทอง จากเชื้อ ZyMV ใส่ลงในโกร่ง บดให้ละเอียดแล้วเติมสารละลาย buffer 0.1 M. pH 7.5 โดยอัตราส่วนของน้ำหนักใบพืชเป็นโรคต่อสารละลาย buffer คือ 1 : 4 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ทำการบดต่อไปจนละเอียด ในขณะที่ทำการบดฟักทองจะต้องควบคุมอุณหภูมิของโกร่งไม่ให้มีอุณหภูมิสูงกว่า 4 ^{o}C เพื่อเป็นการรักษาสภาพเชื้อ ทำได้โดยวางโกร่งบนภาชนะที่ใส่น้ำแข็งรองที่ก้นภาชนะ เมื่อบดใบฟักทองจนละเอียดแล้วเติมผง celite 545 ลงไปเล็กน้อย เพื่อทำให้เกิดบาดแผลบนใบพืช เพื่อที่เชื้อจะเข้าทำลายพืชได้ง่าย ต่อไปจึงทำการปลูกเชื้อโดยใช้นิ้วมือที่ล้างสะอาดแล้วจุ่มน้ำคั้นแล้วทาบนใบฟักทอง จากโคนใบสู่ปลายใบและใช้มืออีกข้างรองรับใบด้านล่าง เมื่อทำการปลูกเชื้อทุกต้นแล้วใช้น้ำล้างเศษพืชที่ติดบนผิวใบออก เพราะอาจเป็นพิษต่อใบฟักทองได้ นำกระดาษหนังสือพิมพ์ชุบน้ำคลุมไว้อีก 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดจึงเอาหนังสือพิมพ์ออก พร้อมสังเกตอาการของโรค ซึ่งเกิดขึ้นภายใน 2 –3 สัปดาห์ แล้วบันทึกผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การทดลองที่ 2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพชนิดของ buffer ในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV)

สำหรับ buffer ที่ใช้ในการทดสอบ แบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ

1. potassium phosphate buffer 0.1 M. pH 7.5

2. sodium citrate buffer 0.1 M. pH 7.5

3. Tris – HCl buffer 0.1 M. pH 7.5

(วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก)

วิธีการ

ปลูกเมล็ดฟักทองใส่กระถางจำนวน 39 กระถาง กระถางละ 3 ต้น แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มแรก control และกลุ่มที่สองเป็นกระถางต้นฟักทองที่ทำการปลูกเชื้อใบด่างฟักทอง Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV) ลงไปบนใบฟักทอง ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 12 กระถาง

1.เตรียมโกร่งมา 3 โกร่ง แช่เย็น 1 คืน นำเชื้อใบด่างฟักทอง ZyMV ใส่ประมาณ 0.5 g. ใส่โกร่งแล้วบดให้ละเอียด

2. นำบิกเกอร์ที่ 1 คือ dilution ที่ $1:10^{-1}$ ที่บรรจุสารละลาย buffer 5 ml. มาเทใส่ในโกร่งที่บดเชื้อละเอียดแล้ว (กำหนดให้เป็น dilution ที่ $1:10^{-1}$)

3. แบ่ง buffer แต่ละชนิดออกเป็น 6 dilution คือ $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:1,0^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ (ซึ่งแต่ละ dilution คือ อัตราส่วนระหว่างใบพืชที่เป็นโรคต่อความเข้มข้นของ buffer) จะได้ buffer ชนิดละ 6 dilution

4. เตรียม buffer ทั้ง 3 ชนิดคือ phosphate, citrate และ Tris–HCl buffer แบ่งออกเป็น buffer ละ 6 บิกเกอร์โดยกำหนดให้บิกเกอร์ที่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 คือที่ $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:1,0^{-3}$,$1:10^{-4}$,$1:10^{-5}$ และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ

5. ปิเปตสารละลาย buffer ใส่ในบิกเกอร์แต่ละ dilution dilution ละ 9 ml. ทำเหมือนกันทั้ง 3 buffer

6. ดูดสารละลายหรือน้ำคั้นที่ได้จากการเตรียม dilution ที่ $1:10^{-1}$มา 1 ml. ใส่ในบิกเกอร์ที่ 2 คือ dilution ที่ $1:10^{-2}$ ผสมเขย่าให้เข้ากัน ทำแบบเดียวกัน ทั้ง 3 buffer จนครบ 6 dilution ในปริมาณที่เท่ากัน ในขณะที่ดูดสารละลาย ควรรักษาอุณหภูมิโดยแช่น้ำแข็ง

7. เติมผง cilite 545 ปริมาณประมาณ 0.0320 g. ใส่ในบิกเกอร์ทุก dilution ทั้ง 3 buffer เพื่อที่จะทำการปลูกเชื้อ นำบิกเกอร์ที่เตรียมไว้จนครบ 6 dilution ไปทำการปลูกเชื้อลงบนใบฟักทองที่ปลูกไว้แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบันทึกผล

บันทึกผลสังเกตอาการของโรคใบด่างฟักทองที่เกิดจากเชื้อ ZyMV ในแต่ละ dilution ของ buffer ทั้ง 3 ชนิด คือ phosphate buffer, citrate buffer และ tris – HCl buffer ตรวจดูว่า buffer ชนิดใดมีประสิทธิภาพสามารทำให้พืชแสดงอาการการเกิดโรคและที่ dilution end point ที่เท่าไร จากนั้นเช็คผลประมาณ 2 – 3 สัปดาห์

2.3 การทดลองที่ 3 การเปรียบเทียบระดับ Molarity ของ sodium citrate buffer ต่อประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV)

วิธีการ

1. นำ sodium citrate buffer 0.1 M pH 7.5 จากการทดลองที่ 2 มาปรับ Molarity คือ 0.05 M, 0.1 M และ 0.5 M.
2. ทำการถ่ายทอดเชื้อด้วยน้ำคั้น (mechanical sap transmission) เช่นเดียวกับการทดลองที่1 โดยการเตรียมน้ำคั้นเป็น dilution ตั้งแต่ $1:10^{-1}$-$1:10^{-6}$

การบันทึกผล

1. ตรวจดูอาการของโรคใบด่างฟักทองทุกสัปดาห์ประมาณ 2 – 3 สัปดาห์
2. เปรียบเทียบอาการของโรคใบด่างฟักทองที่เกิดจาก buffer ในระดับ Molarity ต่าง ๆ
3. บันทึกผลการทดลอง

2.4 การทดลองที่ 3 การเปรียบเทียบค่า pH ของ sodium citrate buffer ต่อประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV)

วิธีการ

1. นำ sodium citrate buffer 0.1 M pH 7.5 จากการทดลองที่ 2 มาปรับค่า pH คือ 5, 6, 7, 8 และ 9 ตามลำดับ
2. ทำการถ่ายทอดเชื้อด้วยน้ำคั้น (mechanical sap transmission) เช่นเดียวกับการทดลองที่1 โดยการเตรียมน้ำคั้นเป็น dilution ตั้งแต่ $1:10^{-1}$-$1:10^{-6}$

การบันทึกผล

1. ตรวจดูอาการของโรคใบด่างฟักทองทุกสัปดาห์ประมาณ 2 – 3 สัปดาห์
2. เปรียบเทียบอาการของโรคใบด่างฟักทองที่เกิดจาก buffer ในระดับ pH ต่าง ๆ
3. บันทึกผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การทดลองที่ 4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสาร additive ในการเติมลงใน sodium citrate buffer ในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosice Virus (ZyMV)

สาร additive ที่ใช้ในการทดสอบ คือ

1. 2-mercaptoethanol
2. Polyvinylpyrolidone (P.V.P)
3. Sodium sulfite

วิธีการ

1.นำsodium citrate buffer 0.1M pH7.5 มาเติมสาร additive คือ0.5%2–mercaptoethanol, 0.5% Polyvinylpyrolidone (P.V.P.), 0.5% sodium sulfide

2. ทำการถ่ายทอดเชื้อด้วยน้ำคั้น (mechanical sap transmission) เช่นเดียวกับการทดลองที่1 โดยการเตรียมน้ำคั้นเป็น dilution ตั้งแต่ $1:10^{-1}$-$1:10^{-6}$

การบันทึกผล

1. ตรวจดูอาการของโรคใบด่างฟักทอง ทุกสัปดาห์ ประมาณ 2 – 3 สัปดาห์
2. เปรียบเทียบอาการของโรคใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ของสาร additive ตรวจดูว่าสาร additive ชนิดใดที่เชื้อสามารถแสดงอาการได้อย่างชัดเจน
3. บันทึกผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

เวลา เริ่มทำการทดลอง ตุลาคม พ.ศ. 2543

สิ้นสุดการทดลอง มิถุนายน พ.ศ. 2544

สถานที่ โรงเพาะชำ ห้องปฏิบัติการโรคพืช ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

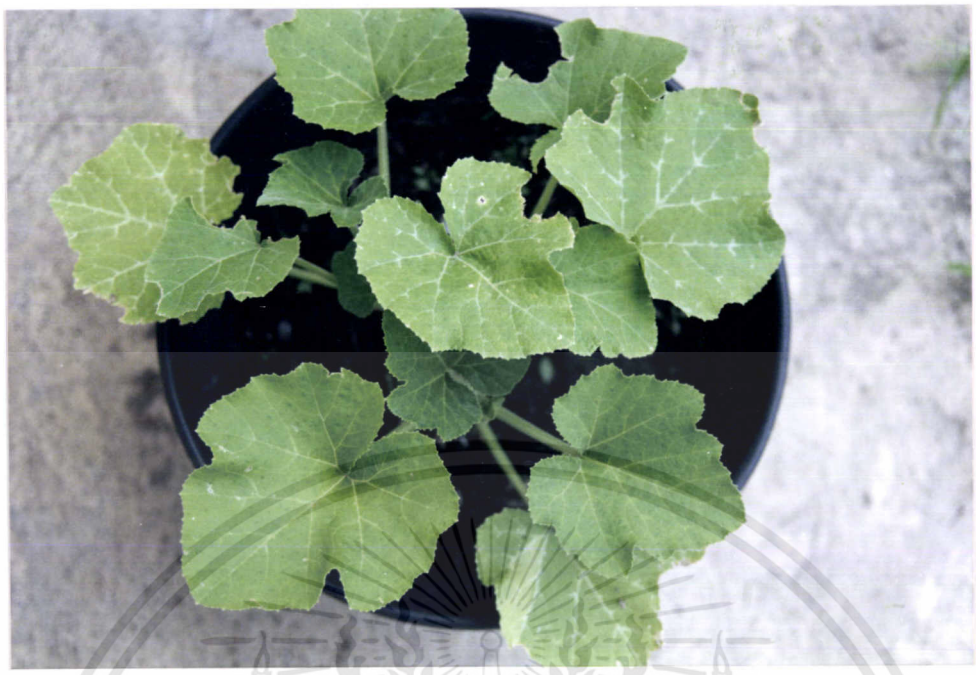
ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 การปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV)

จากการทดลองถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง ZyMV ด้วย potassium phosphate buffer ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.5 โดยการปลูกเชื้อไวรัส ZyMV ผ่านทางน้ำคั้น (mechanical sap transmission) โดยนำน้ำคั้นที่ได้จากการบดใบฟักทองที่เป็นโรคใบด่าง แล้วปลูกเชื้อลงบนใบฟักทอง ซึ่งสังเกตุอาการของโรคได้ภายใน 1-2 สัปดาห์หลังจากการปลูกเชื้อ พบว่าบนใบแท้ของพืชแสดงอาการใบด่าง ใบบิดเบี้ยว ผิดรูปร่าง หงิกงอ ต้นแคระแกรน (ภาพที่ 1) ซึ่งแตกต่างจากใบฟักทองที่ปกติอย่างชัดเจน (ภาพที่ 2)

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะใบด่างฟักทองเนื่องจากได้รับการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อ ZyMV

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะใบฟักทองปกติที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ ZyMV

การทดลองที่ 2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพชนิดของ buffer ในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV)

การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ buffer ทั้ง 3 ชนิด คือ potassium phosphate, sodium citrate และ Tris-HCL ที่ความเข้มข้น 0.1 M pH 7.5 ในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง ZyMV ลงบนใบฟักทอง

ตารางที่ 1. แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ buffer ในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง Zucchini Yellow Mosiac Yirus (ZyMV)

Dilution / Buffer	$1:10^{-1}$	$1:10^{-2}$	$1:10^{-3}$	$1:10^{-4}$	$1:10^{-5}$	$1:10^{-5}$
Potassium phosphate 0.1 M. pH 7.5	-	+	+	+	+	+
Sodium citrate 0.1 M. pH 7.5	+	+	+	+	+	+
Tris – HCl 0.1 M. pH 7.5	-	+	+	+	+	+

หมายเหตุ + เกิดโรคมาก แสดงอาการชัดเจน

\- ไม่เกิดโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของ buffer ทั้ง 3 ชนิดคือ potassium phosphate buffer, sodium citrate buffer และ tris – HCl buffer พบว่า buffer ทั้ง 3 ชนิดที่ใช้ในการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ลงบนใบฟักทอง พืชจะแสดงอาการใบด่าง หงิกงอได้ชัดเจนตั้งแต่ dilution ที่ $1:10^{-1}$ถึง $1:10^{-6}$ทั้ง 3 buffer ซึ่งไม่แตกต่างกันมาก (ตารางที่1) แต่ sodium citrate buffer พบว่าพืชจะแสดงอาการได้สม่ำเสมอ ตั้งแต่ dilution ที่ $1:10^{-1}$ถึง $1:10^{-6}$ลักษณะอาการ พืชจะแสดอาการใบด่าง ใบหงิกงอ ได้ชัดเจน (ภาพที่ 3)

ภาพที่ 3 แสดงอาการใบด่าง ใบหงิกงอ บิดเบี้ยว ลักษณะใบผิดรูปร่าง ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง โดยใช้ sodium citrate buffer 0.1 M pH 7.5 อาการใบด่างฟักทองความเข้มข้นที่ $1:10^{-6}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 การเปรียบเทียบระดับความเข้มข้น Molarity ของ sodium citrate buffer ต่อประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac (ZyMV)

การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ sodium citrate buffer 0.1 M pH 7.5 โดยการปรับความเข้มข้น Molarity เป็น 0.05, 0.1 และ 0.5 M ในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง

ตารางที่ 2. แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของระดับความเข้มข้น Molarity ของ sodium citrate ในการถ่ายทองเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV)

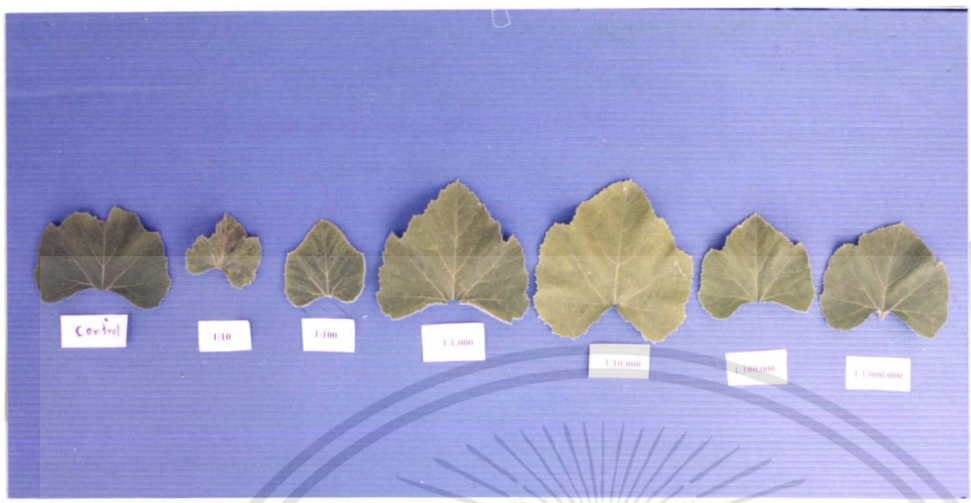
Dilution / Molarity	$1:10^{-1}$	$1:10^{-2}$	$1:10^{-3}$	$1:10^{-4}$	$1:10^{-5}$	$1:10^{-6}$
0.05 M. citrate pH 7.5	+	+	-	-	-	-
0.1 M. citrate pH 7.5	+	+	+	-	-	-
0.5 M. citrate pH 7.5	+	-	-	-	-	-

หมายเหตุ + เกิดโรค หรือแสดงอาการ

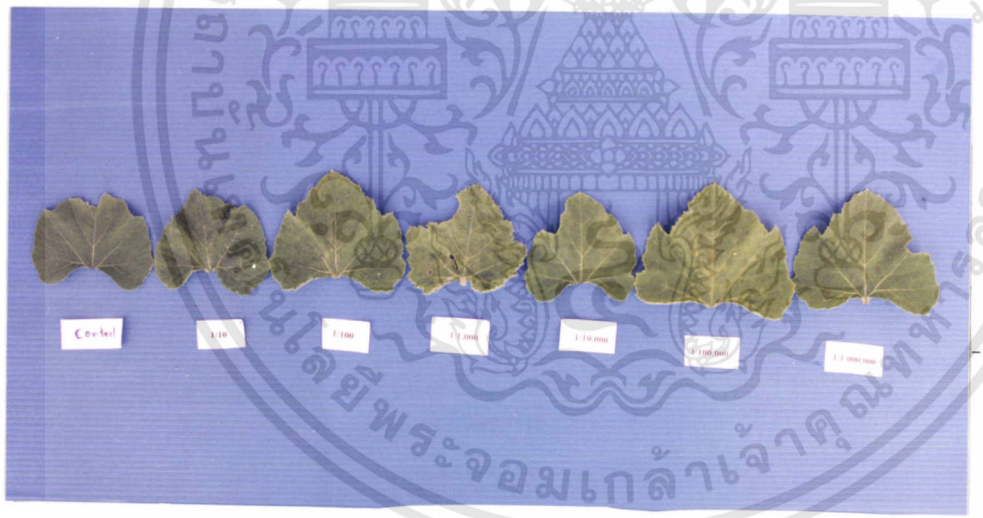
\- ไม่เกิดโรค

จากตารางที่ 2 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของ sodium citrate buffer โดยการปรับความเข้มข้น Molarity ให้เป็น 0.05, 0.1, 0.5 M พบว่าที่ความเข้มข้น 0.05 M พืชจะแสดงอาการของเชื้อไวรัส ZyMV ได้ชัดเจนใบจะหงิกงอาการใบด่างในกระถางที่ dilution$1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$ แต่กระถาง dilution $1:10^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$, $1:10^{-6}$ พืชจะไม่แสดงอาการหรือไม่ติดเชื้อ (ภาพที่ 4)และที่ความเข้มข้น 0.1 M พืชสามารถแสดงอาการใบด่างของเชื้อ ZyMV ได้ชัดเจนเชื้อไวรัส ZyMV จะสามารถแสดงอาการได้ในช่วง dilution $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:10^{-3}$ ซึ่งถือว่าเชื้อ ZyMV สามารถแสดงอาการได้ดี (ภาพที่ 5) ที่ความเข้มข้น 0.5 M พืชจะแสดงอาการที่ในกระถาง dilution $1:10^{-1}$ แต่กระถาง dilution $1:10^{-2}$,$1:10^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$, $1:10^{-6}$ พืชจะไม่แสดงอาการ (ภาพที่ 6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

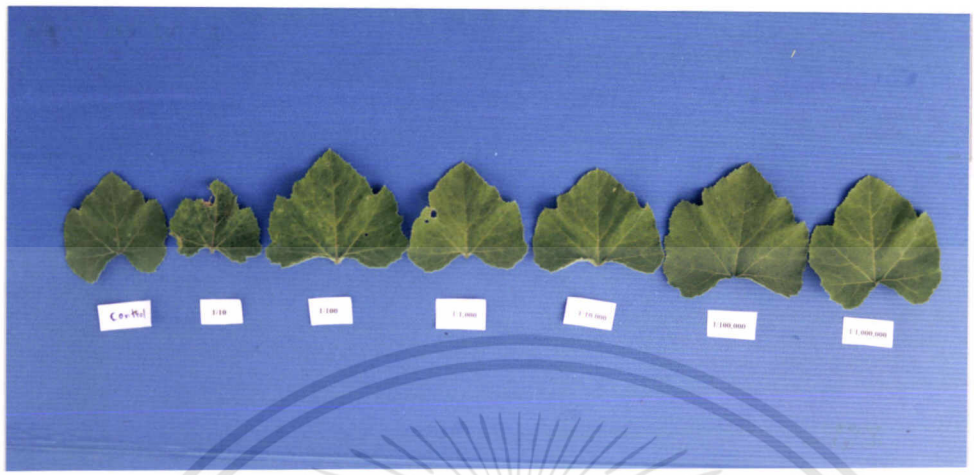


ภาพที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:1,0^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากความเข้มข้น 0.05 M sodium citrate buffer



ภาพที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:1,0^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากความเข้มข้น 0.1 M sodium citrate buffer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากความเข้มข้น 0.5 M sodium citrate buffer

การทดลองที่ 4 การเปรียบเทียบค่า pH ของ sodium citrate buffer ต่อประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Moisiac Virus (ZyMV)

การเปรียบเทียบค่า pH ของ sodium citrate buffer 0.1 M pH 7.5 นำมาปรับค่า pH เป็น 5, 6, 7, 8 และ 9 ในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง

ตารางที่ 3. แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพค่า pH ของ sodium citrate buffer 0.1 M ในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV)

Dilution / pH	$1:10^{-1}$	$1:10^{-2}$	$1:10^{-3}$	$1:10^{-4}$	$1:10^{-5}$	$1:10^{-6}$
5	+	-	-	-	-	-
6	+	-	-	-	-	-
7	+	+	-	-	-	-
8	+	+	+	+	-	-
9	+	+	-	-	-	-

หมายเหตุ + เกิดโรค หรือแสดงอาการ

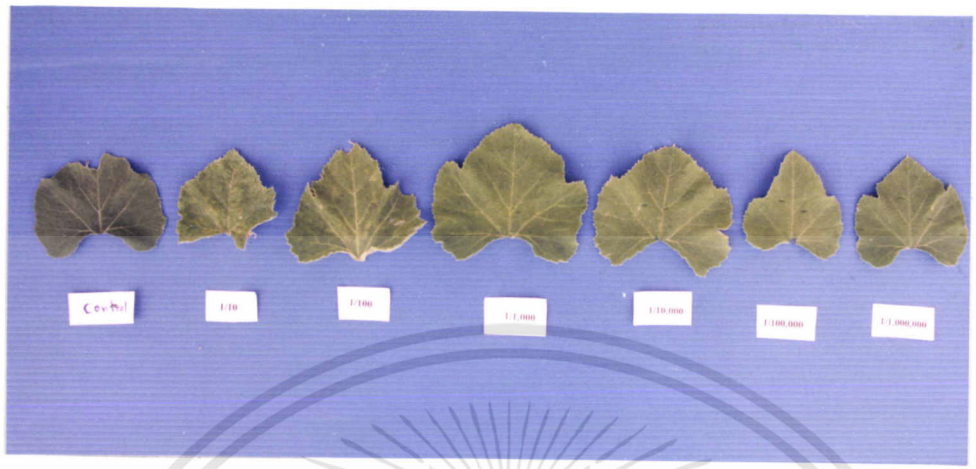
\- ไม่เกิดโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

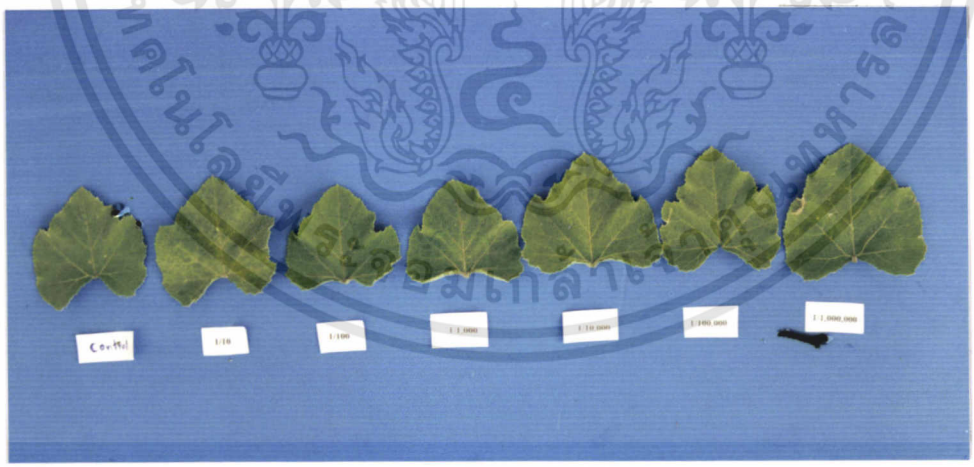
จากตารางที่ 3 การเปรียบเทียบค่า pH ของ sodium citrate buffer 0.1M นำมาปรับค่า pH เป็น 5,6,7,8และ9 แล้วถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ลงบนใบฟักทอง พบว่า pH 5และ pH 6 พืชแสดงอาการใบด่างที่กระถาง dilution $1:10^{-1}$ แต่ dilution $1:10^{-2}$, $1:10^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$, $1:10^{-6}$ พืชไม่แสดงอาการ (ภาพที่ 7และ8) ที่pH 7 พืชแสดงอาการใบด่างได้ที่กระถาง dilution $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$ แต่ dilution $1:10^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ พืชไม่แสดงอาการ(ภาพที่ 9) ในขณะที่ pH 8 พบว่าเชื้อไวรัส ZyMV สามารถแสดงอาการใบด่างและหงิกงอได้ชัดเจนตั้งแต่ dilution $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:10^{-3}$และ $1:10^{-4}$ แต่ที่ dilution $1:10^{-5}$, $1:10^{-6}$ พืชไม่แสดงอาการ(ภาพที่ 10) และที่ pH 9 พืชแสดงอาการใบด่างที่กระถาง dilution $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$ แต่ dilution $1:10^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ พืชไม่แสดงอาการ (ภาพที่ 11) จากการทดลองสรุปว่าที่ pH 8 พืชสามารถแสดงอาการใบด่างฟักทองได้ดีที่สุด

ภาพที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ด้วย 0.1 M sodium citrate buffer pH 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

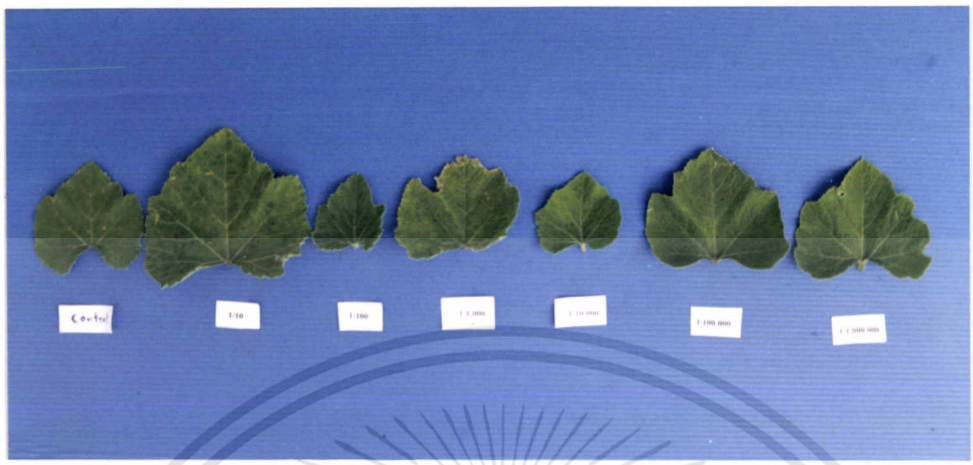


ภาพที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ด้วย 0.1 M sodium citrate buffer pH 6

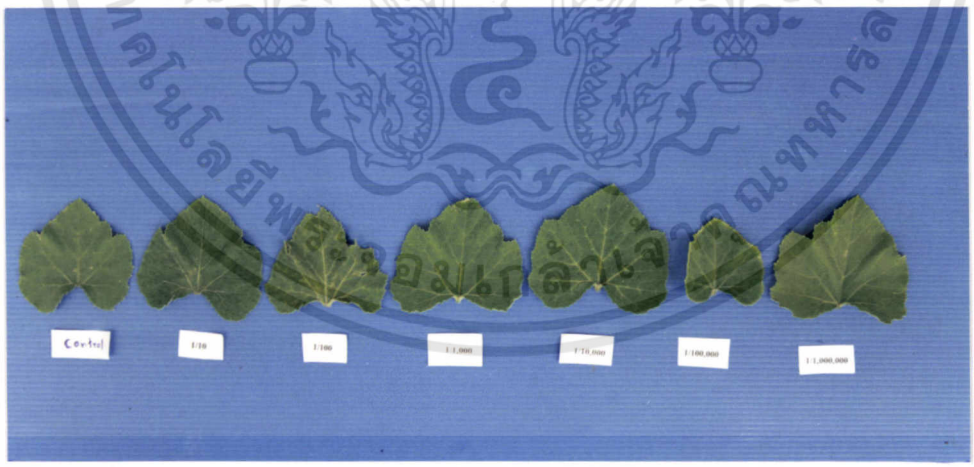


ภาพที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ด้วย 0.1 M sodium citrate buffer pH 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ด้วย 0.1 M sodium citrate buffer pH 8



ภาพที่ 11 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ด้วย0.1 M sodium citrate buffer pH 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17441

การทดลองที่ 5 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสาร additive เติมลงใน sodium citrate buffer ในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV)

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสาร additive ที่เติมลงใน sodium citrate buffer 0.1 M pH7.5 ในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทองซึ่ง ได้แก่ สารPolyvinylpyrolidone(P.V.P), 2-mercaptoethanol ,sodium sulfite

ตารางที่ 4. แสดงการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสาร additive ในการถ่ายทอดเชื้อ Zucchini Yellow Mosiac Virus (ZyMV)

Dilution	$1:10^{-1}$	$1:10^{-2}$	$1:10^{-3}$	$1:10^{-4}$	$1:10^{-5}$	$1:10^{-6}$
Additive + citrate 0.1 M. pH 7.5						
Polyvinylpyrolidone (P.V.P) 0.5 %	+	+	+	+	+	+
Sodium sulfite 0.5 %	+	+	+	+	+	+
2-mercaptoethanol 0.5 %	-	-	-	-	-	-

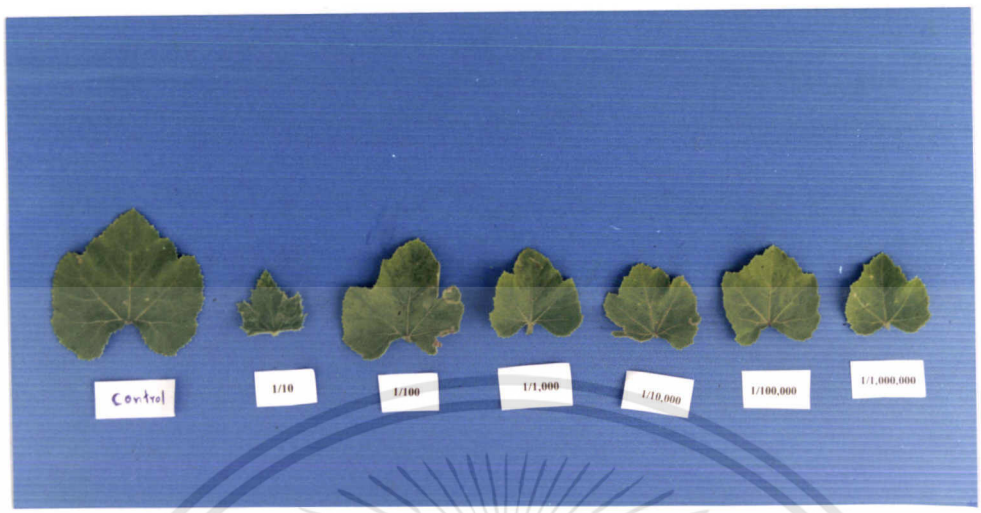
หมายเหตุ + เกิดโรค หรือแสดงอาการ

\- ไม่เกิดโรค

จากตารางที่ 4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสาร additive 3 ชนิดคือ สาร 0.5% Polyvinylpyrolidone (P.V.P), 0.5 % 2-mercaptoethanol และ 0.5 % sodium sulfite ซึ่งเติมลงใน 0.1 M sodium citrate buffer pH 7.5 แล้วถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ลงบนใบฟักทอง พบว่าสาร 0.5 % Polyvinylpyrolidone (P.V.P) และ0.5 % sodium sulfite พืชจะแสดงอาการใบด่าง และใบหงิกงอ ต้นแคระแกรนได้ดีที่ dilution $1:10^{-1}$ ถึง $1:10^{-6}$ (ภาพที่ 12 และ 13) ในขณะที่ สาร 0.5 % 2-Mercaptoethanol ที่เติมลงใน buffer นั้นพบว่าตั้งแต่กระถาง dilution ที่$1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:1,0^{-3}$, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ พืชไม่แสดงอาการใบด่างฟักทองของเชื้อ ZyMV (ภาพที่ 14)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ฉลองกรุงเทพมหานคร



ภาพที่ 12 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV โดยใช้ สาร 0.5% Polyvinylpyrolidone (P.V.P)เติมลงใน 0.1 M sodium citrate buffer pH 7.5

ภาพที่ 13 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV โดยใช้สาร 0.5 % sodium sulfite เติมลงใน0.1 M sodium citrate buffer pH 7.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 14 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะอาการใบด่างฟักทองในแต่ละ dilution ตั้งแต่ control, $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, 1:1,0^{-3}, $1:10^{-4}$, $1:10^{-5}$และ $1:10^{-6}$ ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV โดยใช้สาร 0.5 % 2-mercaptoethanol เติมลงใน 0.1 M sodium citrate buffer pH 7.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบ buffer ทั้ง 3 ชนิด คือ sodium citrate, potassium phosphate, Tris- HCL ที่ใช้ในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง พบว่า buffer ทั้ง 3 ชนิด สามารถทำให้ใบฟักทองแสดงอาการใบด่าง รูปร่างบิดเบี้ยว แคระแกรน ได้ดีในแต่ละ dilution ซึ่ง buffer ทั้ง 3 ชนิดนั้นทำให้ใบฟักทองแสดงอาการใบด่างไม่แตกต่างกันมากนักในแต่ละ dilution แต่ในบาง dilution พบว่าใบฟักทองไม่แสดงอาการใบด่าง อาจมีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมไม่อำนวย เนื่องจากอากาศร้อนจัด พืชจะไม่ค่อยแสดงอาการหรือเกิดจากแมลงพาหะเข้าทำลายทำให้ใบฟักทองเป็นรอยแผลเนื่องจากโดนแมลงกัด

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ Molarity ที่ความเข้มข้น Molarity ต่ำที่ 0.05 และ 0.1 M ของ buffer ที่ใช้ในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทองสามารถทำให้ใบฟักทองแสดงอาการใบด่าง ใบบิดเบี้ยว แคระแกรนได้ดีที่กระถาง dilution ที่ buffer ความเข้มข้นเจือจางมาก ในขณะที่ความเข้มข้นมาก ที่ 0.5 M พืชจะแสดงอาการได้ที่ dilution $1:10^{-1}$ ซึ่ง buffer เจือจางน้อย ซึ่งสอดคล้องกับ Maluf. *et. al.* (1997) ได้รายงานการใช้ potassium phosphate ความเข้มข้น 0.02 M ในการถ่ายทอดเชื้อ papaya ring spot virus ลงบน Watermelon strain เพื่อทดสอบความต้านทานของโรค PRSV-W ใน *Cucurbita maxima* ซึ่งพืชสามารถแสดงอาการได้ดี

เปรียบเทียบค่า pH ของ buffer ที่ใช้ในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทอง พบว่า ค่า pH 5และ6 ใบฟักทองจะแสดงอาการได้ที่ dilution ที่ buffer เจือจางน้อย ในขณะที่ค่า pH สูงคือ pH 7-9 จะทำให้ใบฟักทองสามารถแสดงอาการใบด่างได้ที่ dilution ที่ buffer เจือจางมาก ซึ่งสอดคล้องกับ วารุณี ลี้พงษ์กุล. (2537) ได้ใช้ potassium phosphate buffer pH 7.0-7.5 ในการถ่ายทอดเชื้อ Papaya Ring Spot Virus (PRSV) ลงบนฟักทอง เพื่อจะทดสอบประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง ซึ่งสามารถทำให้ฟักทองแสดงอาการใบด่างได้ชัดเจน

ประสิทธิภาพของสาร additive ที่เติมลงใน buffer ในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง พบว่า สาร Polyvinylpyrolidone (P.V.P) และ สาร sodium sulfite มีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทองได้ ซึ่งทำให้ใบฟักทองแสดงอาการใบด่าง บิดเบี้ยว แคระแกรนได้ดีในแต่ละ dilution ซึ่งสอดคล้องกับ Maluf. *et. al.*, (1997) ได้ทำการทดสอบความต้านทานของโรค Papaya Ring Spot Virus (PRSV) โดยใช้ 0.02 M potassium phosphate pH 7.0 ผสมกับ 0.01% sodium sulfide ในการปลูกเชื้อและถ่ายทอดเชื้อ PRSV ลงบน Watermelon strain สำหรับสาร 2-mercaptoethanol ไม่ทำให้พืชแสดงอาการ ซึ่งอาจเป็นผลจากความผิดพลาดในการทดลอง เพราะปริมาณของสารที่ใช้ในการทดลองมีผลต่อพืชที่ใช้ อาจทำให้พืชหยุดการเจริญเติบโต แคระแกรน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือตายได้ถ้าใส่สาร additive ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม ซึ่งตรงข้ามกับ Staniulis J. and Zitikaite I. (1994) ได้รายงานการใช้สาร 2-mercaptoethanol ในขบวนการรักษาสภาพเชื้อ bean yellow mosiac virus ในพืช *Trifolium pratense* ในขณะการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ (purification) เพื่อผลิตเซรุ่มของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

sodium citrate buffer ที่ใช้ทดสอบในการถ่ายทอดเชื้อ ZyMV ลงบนใบฟักทอง ใบฟักทองสามารถแสดงอาการใบด่าง แคระแกรน บิดเบี้ยวได้ชัดเจนกว่า potassium phosphate buffer และ Tris –HCLและที่ sodium citrate buffer ความเข้มข้น 0.1 M ใบฟักทองจะแสดงอาการใบด่างได้ดีที่กระถาง dilution $1:10^{-1}$, $1:10^{-2}$, $1:10^{-3}$ ซึ่งเชื้อ ZyMV สามารถแสดงอาการใบด่างฟักทองได้ที่ dilution ที่ buffer เจือจางมาก แต่ที่ความเข้มข้น 0.05 M ใบฟักทองแสดงอาการที่ dilution $1:10^{-1}$ และ $1:10^{-2}$ ในขณะที่ความเข้มข้นที่ 0.5 M ใบฟักทองแสดงอาการที่ dilution $1:10^{-1}$ ซึ่ง buffer เจือจางน้อย soddium citrate buffer 0.1 M pH 8 ฟักทองจะแสดงอาการใบด่าง แคระแกรน บิดเบี้ยว ชัดเจนกว่า pH 5, 6, 7และ pH ที่ 9 นอกจากนี้สาร additive ที่ใช้เติม ลงใน buffer นั้น สาร Polyvinylpyrolidone (P.V.P) และ สาร sodium sulfite สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อใบด่างฟักทองได้ดี ในขณะที่ สาร 2-mercaptoethanol พืชไม่แสดงอาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ธีระ สูตะบุตร. โรคไวรัสและโรคคล้ายไวรัสของพืชสำคัญในประเทศไทย. ฟันนี่พับบลิชชิ่ง . กรุงเทพมหานคร. 310 หน้า .

นวลพรรณ งามยี่สุ่น. 2539. การศึกษาระดับความต้านทานของพืชตระกูลแตงบางชนิดต่อเชื้อไวรัสจุดวงแหวนของมะละกอ. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 14 (2) : 11-16.

เมืองทอง ทวนทวี และ สุรีรัตน์ ปัญญาโต๊ะ. 2525. สวนผัก 1. กลุ่มหนังสือเกษตร. 324 หน้า.

เมืองทอง ทวนทวี และ สุรีรัตน์ ปัญญาโต๊ะ. 2532. สวนผัก 2. กลุ่มหนังสือเกษตร. 456 หน้า.

วารุณี ลี้พงษ์กุล. 2537. การทดสอบประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อไวรัสใบด่างฟักทอง. ปัญหาพิเศษ ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 43 หน้า.

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

Kim Jeongsoo, M.K. Yoon., H.S. Choi., K.H. Lee., G.S. Choi., J.Y. Kim and J.D. Chō. 1995. Zucchini Yellow Mosiac Virus from *Cucurbita moschata* in Korea. RDA-Journal-of-Agricultural-Science-Crop-Protection. 37 (2) :352-362.

Maluf, W.R. , JJ. Pereira and A.R. Fiqueira. 1997. Inheritance of resistance to the Papaya Ring Spot potyvirus - Watermelon strian from two different accessions of winter squash *Cucurbita maxima* Duch. Euphytica. 94 (2) : 163-168.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Provvidenti, R., D. Gonsalves and H.S. humaydan. 1984. Occurrence of zucchini yellow mosiac virus in cucurbita from Connecticut , New York , Florida and California. Plant Disease. 68 :5, 443-446.

Staniulis Jand I. Zitikaite. 1994. Bean yellow mosiac virus isolated from *Trifolium pratense* L. in Lithuania. 2. Purification, serology and electron microscopy. Biologija. No.1, 46-50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการเตรียมสารละลาย buffer ให้บริสุทธิ์

1. การเตรียม Potassium phosphate

ปกติใช้ความเข้มข้นระหว่าง 0.01 และ 0.5 M. และ pH ระหว่าง 7.0 และ 8.0 ต้องเตรียม phosphate buffer ความเข้มข้น 0.5 M. pH 7.5

I ชั่งสาร di – potassium hydrogen orthophosphate (K_2HPO_4) 174 g.ใส่บีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่นลงในบิกเกอร์ 2 l. จัดเป็นสารละลาย A

II ชั่งสาร potassium di – hydrogen orthophosphate (KH_2PO_4) 17 g. ใส่ในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่นใส่บิกเกอร์ 250 ml.จัดเป็นสารละลาย B

III นำสารละลาย A ไปปรับค่า pH ให้ได้ pH 7.5 โดยสารละลาย B เป็นตัวปรับ โดยการเติมลงไปในสารละลาย A จนได้ pH 7.5

2. การเตรียม sodium citrate

ปกติใช้ความเข้มข้นระหว่าง 0.1 และ 0.5 M. และ ระหว่าง pH 6.0 และ 7.4

I ชั่งสาร citric acid 105 g. ใน 1 l. ของ N/1 NaOH

II ใส่ 0.5 M. NaOHเพื่อปรับค่า pH

3 .การเตรียม Tris – HCl

ปกติใช้ความเข้มข้นระหว่าง 0.1 M และ 0.5 M. และ pH ระหว่าง 7.2 และ 8.4

I ชั่งสาร Tris (hydrozymethyl) aminomethane ($NH_2(CH_2OH)_3$) 30.3 g. ใส่บิกเกอร์แล้วเติมน้ำกลั่น 400 ml.

II เตรียม Hydrocholric acid (HCL) ความเข้มข้น 10% ปริมาณ 100 ml เพื่อใช้เป็นตัวปรับ pHในข้อ I ให้ได้ pH 8.0 จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบปริมาณ 500 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้