

มูลนิธิโครงการหลวง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ตามโครงการวิจัยที่ 3060-3283 งบประมาณปี 2546

โครงการสำรวจโรคไวรัสในผักและไม้ดอก
Survey on Viral Diseases of Vegetable and
Ornamental Crops

คณะวิจัย

นายประสาธพร สมิตะมาน

นางเกวลิณ คุณาศักดากุล

นางสาวสุรีย์วัลย์ เมฆกมล

นางสาวกาญจนา วิจิตตระกูลถาวร

นางสาวรัตติกาล ธีัญหล้า

ที่ปรึกษาโครงการ

หัวหน้าโครงการ

คณะทำงาน

คณะทำงาน

คณะทำงาน

บทคัดย่อ

การสำรวจโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสในผักและไม้ดอก เพื่อรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นของความเสียหายที่อาจมีสาเหตุมาจากการทำลายของเชื้อไวรัสในพืชที่ปลูกในสถานีนานาชาติ นิธิโครงการหลวง จำนวน 7 สถานี รวมทั้งในส่วนของแปลงปลูกของเกษตรกรที่เป็นสมาชิกของมูลนิธิโครงการหลวงบางสถานี รวมถึงการวินิจฉัยเบื้องต้นให้ทราบสาเหตุของโรค เพื่อนำไปสู่แนวทางในการจัดการโรคอย่างมีประสิทธิภาพนั้น พบว่า การสำรวจโรคในกลุ่มพืชผักที่มีการปลูกในสถานีนานาชาติ มีพืชผักที่แสดงอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส จำนวน 15 ชนิด ส่วนโรคพืชที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในไม้ดอก จำนวน 10 ชนิด อาการของพืชส่วนใหญ่มีลักษณะสีเปลี่ยนไปมีอาการต่าง (color deviation) และรูปร่าง ใบดอก ผล ตลอดจนลำต้น ผิดปกติ (malformation) การตรวจสอบเพื่อวินิจฉัยสาเหตุของโรคโดยให้พืชทดสอบ จำนวน 30 ชนิดร่วมกับการปลูกเชื้อโดยวิธีกล และการตรวจดูความผิดปกติระดับเซลล์โดยการย้อมสีเซลล์ของพืช สามารถพิสูจน์สาเหตุของโรคได้ในระดับหนึ่ง และจากการสำรวจพบอาการของโรคในช่วงเวลาต่างๆ ของการเพาะปลูกซ้ำ ทำให้สามารถบ่งบอกได้ถึงสาเหตุของการเกิดการระบาดของโรคหรือการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในพืชได้ ซึ่งพบว่าในพืชผักมักเกิดจากการระบาดมากโดยแมลงพาหะ การสัมผัส และโดยเมล็ดพันธุ์ ตามลำดับ ส่วนในไม้ดอกนั้นส่วนใหญ่เป็นการระบาดเนื่องจากการติดมากับท่อนพันธุ์เป็นหลัก รองลงมาได้แก่การสัมผัส เนื่องจากการผลิตพืชของมูลนิธิฯ คำนึงถึงการลดการใช้สารเคมีเพื่อกำจัดแมลงที่สามารถเป็นพาหะของโรค การจัดระบบการผลิตที่สามารถลดความเสี่ยงต่อการเข้าทำลายของเชื้อในระยะกล้า จำเป็นจะต้องใช้วิธีการหลายวิธีร่วมกันหลีกเลี่ยงปัจจัยที่จะทำให้เกิดการระบาด และลดความเสียหายของผลผลิตให้มากที่สุด ได้แก่ จัดระยะการปลูกพืชในช่วงแมลงพาหะมีจำนวนน้อย ผลิตต้นกล้าในโรงเรือนกันแมลง และดูแลกำจัดแมลงพาหะเพื่อลดอัตราเสี่ยงของการติดเชื้อโดยใช้สารเคมีที่เหมาะสม กำจัดท่อนพันธุ์ หัวพันธุ์ที่เป็นแหล่งสะสมของเชื้อไวรัส และไม่นำมาส่งเสริมให้เกษตรกรปลูก สำหรับพืชที่ปลูกเพื่อการวิจัยควรให้นักวิจัยหรือผู้ช่วยวิจัยเห็นถึงความสำคัญและเข้าใจถึงการเข้าทำลายและอาการของโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสในพืชแต่ละชนิด

Abstract

The viral diseases occurred in the vegetable and ornamental crops in the seven station areas and some fields belonging to the farmer member of Royal Project Foundation were surveyed and identified. The data obtained would be used for diseases controlling system. Fifteen vegetable crops and ten ornamental crops were shown viral diseases symptoms. Most macroscopic symptoms of both crops were found as color deviation and malformation of leave, petal, stem and fruit. Disease diagnosis in each crop was tested by mechanical inoculation on 30 indexing plants. Observing the staining cell under the microscope also did. The microscopic symptom was determined in term of the organelle malformation and inclusion bodies containing in the infected cell. The symptoms determined in difference time of repeated crop shown the disease epidemiology. In vegetable crops, insect transmission, mechanical transmission and seed transmission caused the outbreak respectively. While, in the ornamental the transmission mainly caused by vegetative propagation and mechanical transmission respectively. Due to the agro-chemical reduction policy, especially the reduction of insecticide for controlling insect vector of viral disease, the farmers have to integrate the disease controlling methods that can be used to avoid risk of virus transmission in the seedling stage. Cultivation management would be consider such as, avoidance timing of insect vector epidemically season, produce seedling in green house with insect net protection, using insecticide in proper time and plant growing stages and getting rid of infected plant parts that might be source of inoculum. Moreover, the grower would really understand viral disease symptom and its transmission. Infected plant should not be introduced to farmer field and research works.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญเรื่อง	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	จ
บทนำ	1
ผลงานวิจัยที่มีมาแล้ว	2
วิธีการวิจัย	3
ผลการวิจัย	6
สรุปและวิจารณ์	45
กิตติกรรมประกาศ	49
เอกสารอ้างอิง	49
รายงานการใช้งบประมาณ	50

มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรเวศน์
วิทยาเขตขอนแก่น

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. อาการของโรคไวรัสและเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคในพืชผักที่สำรวจได้จากสถานีต่าง ๆ ระหว่าง เมษายน 2545 - ธันวาคม 2546	7
2. อาการของโรคไวรัสและเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคในไม้ดอก ที่สำรวจได้จากสถานีต่าง ๆ ระหว่าง เมษายน 2545 - ธันวาคม 2546	8
3. อาการของพืชทดสอบ (Indexing plant) และจำนวนวันแสดงอาการ ภายหลังจากตรวจสอบเชื้อสาเหตุในพืชผักบางชนิดโดยการปลูกเชื้อด้วยวิธีกล (Mechanical inoculation)	10
4. สรุปจำนวนและลักษณะ ความผิดปกติระดับเซลล์ของพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัสในพืชผัก บางชนิด	17
5. สรุปจำนวนและลักษณะ ความผิดปกติระดับเซลล์ของพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัสในไม้ดอก บางชนิด	19
6. สรุปอาการของพืชที่เป็นโรคเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส และเชื้อไวรัสสาเหตุของโรค	48

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	อาการใบด่างเนื่องจากเชื้อไวรัสของแตงกวาญี่ปุ่น (ซ้าย) และใบยอดของ ฟักทองลายข้าวตอกที่ใช้เป็นพืชทดสอบแสดงอาการใบด่างและหย่น หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน (ขวา)	25
2	อาการต่างบริเวณใบยอดของชาโยเต้ เนื่องจากกรเข้าทำลายของเชื้อ ไวรัส	25
3	ฟักทองญี่ปุ่นที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย จะแสดงอาการใบด่าง โดยเฉพาะ บริเวณยอดจะแสดงอาการใบด่าง หักงอ ไม่เจริญ (บนซ้าย-ขวา) และ อาการใบด่างที่เกิดกับแตงกวาที่ใช้เป็นพืชทดสอบหลังการปลูกเชื้อ 14 วัน	26
4	อาการต่างเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสบนใบพริกหวาน (ซ้าย) และ อาการใบด่างที่เกิดกับยาสูบใบเล็กที่ใช้เป็นพืชทดสอบหลังการปลูก เชื้อ 24 วัน (ขวา)	27
5	อาการใบด่าง หักงอ และเส้นใบโต เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อ ไวรัสบนใบพริกหวาน (ซ้าย) และ อาการต่าง เนื้อเยื่อตาย ที่เกิดกับผล อ่อนของต้นที่เป็นโรค	27
6	อาการใบด่างเหลือง ของโรคไวรัสใบด่างเหลืองของมะเขือม่วงในแปลง ปลูก	28
7	อาการใบด่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้มและมีอาการเส้นใบโตของมะเขือ ม่วง	28
8	อาการใบด่าง ยอดบิดของขมิ้นแดงที่เป็นโรคไวรัส (ซ้าย) และอาการ ผลตายเฉพาะบนใบที่ปลูกเชื้อเป็นจุดสีน้ำตาลแดงของพืชทดสอบ <i>Cassia occidentalis</i> หลังการปลูกเชื้อ 5 วัน	29
9	อาการใบด่างขีดเหลืองของอัลสโตรเมเลียที่เป็นโรคไวรัส (ซ้าย) และ ลักษณะผลตายเฉพาะแห่งบนใบ <i>Chenopodium amaranticolor</i> หลัง การปลูกเชื้อ 14 วัน	29

		หน้า
10	อาการใบด่างแบบ Mottling ของเบญจมาศที่เป็นโรคไวรัส (ซ้าย) และลักษณะแผลตายเฉพาะแห่งบนใบ <i>Chenopodium amaranticolor</i> หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน	30
11	อาการใบด่างแบบเห็นขอบเขตของสีที่เปลี่ยนไปได้ชัดเจน (บน) และอาการใบยอดบิดเบี้ยว (ล่าง) ของว่านนางคัมที่เป็นโรคเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส	30
12	อาการใบด่างของว่านสีทศแบบเห็นขอบเขตของสีที่เปลี่ยนไปได้ชัดเจน โดยเฉพาะบริเวณปลายใบ (บน) และอาการใบยอดต่างพร้อมทั้งบิดเบี้ยวของต้นใหม่ (ล่าง) ของว่านสีทศที่เป็นโรคเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส	31
13	อาการใบด่างของหน้าวัวที่เป็นโรคเนื่องจากการเชื้อไวรัส ที่มีลักษณะเป็นวงสีเหลืองเล็ก ๆ สลับกับสีเขียวของใบ (บน) ลักษณะของอาการตายของเนื้อเยื่อเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กบนใบยอด (ล่างขวา) และลักษณะ malformation ของแผ่นใบหน้าวัวที่เชื้อไวรัสทำให้การสร้างเนื้อเยื่อของใบไม่สมบูรณ์ เนื้อใบหายไป (ล่างซ้าย)	32
14	ใบยอดแสดงอาการใบด่างและบิดเบี้ยว (บน) และเกิดการแตกกอนมากแต่ยอดไม่เจริญ (ล่าง) ของสแตติสที่เป็นโรคเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส	33
15	อาการผิดปกติระดับเซลล์ของพริกหวานที่แสดงอาการใบด่าง พบผลึกลักษณะหกเหลี่ยม ภาพ side view (ลูกศรชี้ 1) และ ภาพ top view (ลูกศรชี้ 2) และพบลักษณะผลึกแบบเดียวกันนี้ในเซลล์ผิวใบของพริกหยวกที่แสดงอาการใบด่างเช่นกัน (ลูกศรชี้-ล่าง)	34
16	ความผิดปกติระดับเซลล์ของพริกหวานที่แสดงอาการใบด่าง พบลักษณะของสิ่งแปลกปลอมที่มีรูปร่างไม่แน่นอนเกิดขึ้นภายในเซลล์ผิวใบ	35
17	ลักษณะของ crystalline bodies รูปหกเหลี่ยม ในเซลล์ของแตงกวาญี่ปุ่นที่แสดงอาการใบด่าง	36
18	ลักษณะของ crystalline bodies รูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูนในเซลล์ผิวใบของฟักทองญี่ปุ่นที่แสดงอาการใบด่าง	36

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
19	ลักษณะของ crystalline bodies รูปร่างสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน (ลูกศรชี้) ภายในเซลล์ของมะเขือเทศพันธุ์เชอร์รี่ ที่แสดงอาการใบด่าง
20	ลักษณะของ crystalline bodies รูปหกเหลี่ยม ในเซลล์ของมะเขือม่วง ก้านดำที่แสดงอาการใบด่างเขียว (ลูกศรชี้ 1) และลักษณะของคลอโรพลาสต์แตกเสียหายจับกันเป็นกลุ่ม (ลูกศรชี้ 2)
21	ลักษณะของ crystalline bodies รูปสามเหลี่ยมในเซลล์ของมะเขือม่วง ก้านเขียวที่แสดงอาการใบด่างเหลือง (ลูกศรชี้)
22	ลักษณะ x-bodies ภายในเซลล์ของใบขมิ้นปีเดียมที่แสดงอาการใบด่าง ยอดบิด เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อ CyMV
23	ลักษณะของ crystalline bodies ที่มีรูปร่างเป็นผลึกหกเหลี่ยม (top view / ลูกศรชี้) ภายในเซลล์ ของดอกไม้จีนที่เป็นโรคใบด่าง
24	ลักษณะของผลึกรูปลูกบาศก์ ที่พบภายในเซลล์ของอัลสโตรเมียที่แสดงอาการใบด่างขีด (ลูกศรชี้)
25	ลักษณะของผลึกรูปแท่งตรง ที่พบภายในเซลล์ของว่านนางคุ้มที่แสดงอาการใบด่างขีด (ลูกศรชี้)
26	ลักษณะของ Vacuolate inclusion (ลูกศรชี้) ภายในเซลล์ท้อลำเลียงของลิ้นี่ที่แสดงอาการใบด่าง
27	ลักษณะของ crystalline inclusion (ลูกศรชี้) ภายในเซลล์ผิวใบของหนั้ววู้วที่แสดงอาการใบด่าง
28	ลักษณะของผลึกรูปแท่งหกเหลี่ยม สามเหลี่ยม ที่พบภายในเซลล์ของว่านสี่ทิศที่แสดงอาการใบด่าง (ลูกศรชี้ บน-ล่าง)
29	เพรียอ่อน (บน) และแมลงหวี่ขาว (ล่าง) ที่สามารถเป็นพาหะของเชื้อไวรัสหลายชนิด โดยเฉพาะแมลงหวี่ขาวที่มีระบาดทั่วไปในทุกสถานีของมูลนิธิฯ
30	พืชประดับ และวัชพืชที่แสดงอาการของโรคที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสที่พบในบางสถานีของมูลนิธิฯ ซึ่งอาจเป็นแหล่งของการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสไปสู่พืชปลูกได้ตลอดเวลา

บทนำ

ผักและไม้ดอกเป็นพืชที่มีความสำคัญที่หารายได้ให้แก่เกษตรกรของมูลนิธิโครงการหลวงเป็นปริมาณมากในแต่ละปี โดยเฉพาะผักมีมูลค่าการขายประมาณ 60 % ของรายได้จากการขายผลผลิตของมูลนิธิโครงการหลวง (ฝ่ายวิจัย มูลนิธิโครงการหลวง) และเนื่องจากมูลนิธิได้ส่งเสริมให้มีการผลิตผักและไม้ดอกมาเป็นระยะเวลานาน รวมถึงเกษตรกรมักนิยมปลูกพืชชนิดเดียวกันซ้ำที่เดิมตลอดทั้งปี ทำให้เกิดปัญหาตามมาในแง่ของการสะสมของโรคและแมลงศัตรูพืชเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส ซึ่งเป็นสาเหตุโรคที่สามารถพืชรูปร่างเชื้ออยู่ในต้นพืชได้ตลอดเวลาและไม่สามารถรักษาให้หายได้โดยการใช้สารเคมี เชื้อนี้อาจแอบแฝงมาในท่อนพันธุ์ที่นำมาทดลองเพื่อส่งเสริมปลูกหรืออาจติดมากับเมล็ดพันธุ์พืช นอกจากนั้นยังสามารถติดไปกับท่อนพันธุ์ทุกครั้งที่มีการขยายพันธุ์โดยการติดตา เสียบยอดหรือปักชำ หรือแม้กระทั่งการสัมผัสต้นที่เป็นโรคขณะที่มีการย้ายกล้าพืช การระบาดของเชื้อไวรัสนั้นนอกจากจะติดไปกับส่วนขยายพันธุ์แล้วเชื้อสาเหตุของโรคยังสามารถถ่ายทอดไปได้ไกลโดยมีแมลงเป็นพาหะ ทำให้การระบาดของโรคเกิดเป็นบริเวณกว้างมากขึ้น ถึงแม้ว่าเชื้อไวรัสนี้ส่วนมากมักไม่ได้ทำให้พืชตายในทันทีก็ตาม แต่ก็ทำให้เกิดความเสียหายทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณของผลผลิต เช่นอาจทำให้พืชแคระแกร็น บิดเบี้ยวผิดปกติ สีเปลี่ยนแปลงไป ไม่ได้ขนาดตามต้องการของฝ่ายตลาด หรือกรณีของผักอาจทำให้รสชาติด้อยลง และหากมีการสะสมของโรคมากขึ้นจะทำให้ไม่สามารถเก็บผลผลิตได้เลย ในปัจจุบันพบว่าเชื้อไวรัสเริ่มมีบทบาทในการทำให้เกิดความเสียหายกับพืชผักและไม้ดอกที่มีการปลูกในสถานที่ต่างๆ ของมูลนิธิโครงการหลวงมากขึ้น หากแต่ยังไม่มีข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับสาเหตุของโรคอย่างเด่นชัดเท่าที่ควร ทำให้การจัดการเกี่ยวกับสาเหตุของโรคทำได้ไม่เต็มที่ ดังนั้นการสำรวจโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในครั้งนี้ จะสามารถให้ข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ต่อการป้องกันหรือการลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับการผลิตผักและไม้ดอกได้ครอบคลุมยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อสำรวจการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในพืชผักและไม้ดอก
2. ประเมินความเสียหายของการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในแปลงปลูก
3. วิจัยยับยั้งเบื้องต้นถึงสาเหตุของโรค

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ดังนั้นการตรวจดูลักษณะอนุภาคของเชื้อจึงจำเป็นต้องอาศัยการตรวจดูผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเป็นหลัก เชื้อไวรัสนี้เป็น Obligate parasite คือเข้าทำลายพืชโดยสามารถอยู่รอดและทวีจำนวนได้เฉพาะในเซลล์พืชที่มีชีวิตเท่านั้น ลักษณะของโรคพืชที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสสามารถแบ่งกว้าง ๆ ได้ 2 ระดับด้วยกัน คือ อาการที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าซึ่งสามารถเกิดความผิดปกติได้ทุกส่วนของพืช และอาการที่เกิดขึ้นในระดับเซลล์ อาการที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่านั้นแบ่งออกได้หลายลักษณะ อาการที่สามารถพบเห็นได้โดยทั่วไปได้แก่อาการสีของพืชเปลี่ยนแปลงไปซึ่งส่วนมากมักตรวจพบได้ง่ายในบริเวณใบพืชเป็นหลัก เช่น อาการด่างเขียว-ขาว/เหลือง ขาวขีด เหลือง หรืออาจมีการสะสมของเม็ดสีอื่นของพืชเกิดขึ้นมาแทน นอกจากนั้นอาจพบบริเวณกลีบดอก หรือก้านดอก เป็นต้น บางครั้งเชื้อไวรัสนี้อาจทำให้พืชเกิดความผิดปกติของรูปร่างไป เช่น อาการบิดเบี้ยวผิดปกติ ใบมีลักษณะจีบย่น ลำต้นแฉะแกร็น หรือมีหลายอาการเกิดร่วมกันก็ได้ ลักษณะอาการบางอย่างที่กล่าวมาอาจนำมาใช้ในการวินิจฉัยเชื้อสาเหตุเบื้องต้นได้บ้างในบางกรณี หากผู้วินิจฉัยมีความชำนาญพอ เนื่องจากลักษณะอาการของโรคจะแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อไวรัสและชนิดของพืชที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย อย่างไรก็ตามการตรวจดูเพียงอาการของโรคที่ปรากฏอาจเกิดความผิดพลาดได้ง่าย จึงจำเป็นจะต้องนำพืชที่เป็นโรคมารตรวจสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยถึงสาเหตุที่แท้จริง วิธีที่สามารถใช้ในการวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสนั้นมีหลายวิธีแตกต่างกันมากทั้งวิธีการ เครื่องมือรวมถึงค่าใช้จ่าย อาจเริ่มตั้งแต่การใช้พืชทดสอบจนถึงการตรวจสอบในระดับโมเลกุลของเชื้อ ในกรณีของการใช้พืชทดสอบ (Indicator plant) นั้นนับเป็นวิธีที่ใช้กันมานานตั้งแต่ Holmes (1929) ค้นพบอาการตายของเนื้อเยื่อบริเวณที่ไวรัสเข้าทำลาย (local lesion) วิธีนี้ให้ผลดีและประหยัดที่สุดในการวินิจฉัยเบื้องต้นถึงสาเหตุของโรค จึงเป็นที่นิยมมาจนถึงปัจจุบัน ข้อจำกัดของวิธีการนี้คือการหาชนิดของพืชที่สามารถให้อาการเฉพาะเจาะจงหลังจากการปลูกเชื้อไวรัสที่ต้องการวินิจฉัยเพื่อทราบชนิดและใช้เวลาค่อนข้างนานในการตรวจสอบผล เช่น การตรวจสอบเชื้อ PVY ที่ทำให้เกิดอาการด่างเหลืองในมันฝรั่ง จะใช้ *Chenopodium quinoa* เป็นพืชทดสอบ โดยพืชจะแสดงอาการแผลจุดสีเหลืองภายหลังการปลูกเชื้อประมาณ 10 วัน เป็นต้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการจัดการวางแผนการปลูกพืชผักและไม้ดอกเพื่อลดความเสี่ยงและความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส

ระเบียบวิธีวิจัย

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัสพร้อมทั้งบันทึกภาพตัวอย่างโรค เพื่อศึกษาลักษณะอาการและความรุนแรงของโรคไวรัสที่พบในพืชผักและไม้ดอก ตามระยะเวลาการปลูก และการเจริญของพืชแต่ละชนิด
2. นำส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรคมาตรวจสอบเบื้องต้นเพื่อจำแนกชนิดของไวรัสในห้องปฏิบัติการโดยใช้พืชทดสอบ (indicator plant)
3. ประเมินความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในพืชแต่ละชนิดในแง่ของเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของไวรัสและผลผลิตในภาพรวม

การสำรวจโรคไวรัสในครั้งนี้ จะสำรวจในพืชผักและไม้ดอกสำคัญที่ได้รับการส่งเสริมให้ปลูกในสถานีของมูลนิธิโครงการหลวงที่มีการผลิตผักและไม้ดอกซึ่งประจำอยู่ที่ต่างๆ จำนวน 7 สถานี ได้แก่ สถานีหนองหอย อินทนนท์ ห้วยลึก แม่ทาเหนือ แม่สาใหม่ และปางดะ แม่สะป๊อก ระยะเวลาในการสำรวจทดสอบ วินิจฉัยสาเหตุของโรค และ ประเมินความเสียหาย ในช่วงการเพาะปลูก และระยะการเจริญของพืชแต่ละชนิดในรอบ 1-2 ปี

วิธีการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างพืช

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัสพร้อมทั้งบันทึกภาพตัวอย่างโรคในผักและไม้ดอกสำคัญที่ได้รับการส่งเสริมให้ปลูกในสถานีของมูลนิธิโครงการหลวง 7 สถานี ได้แก่

- หนองหอย
- อินทนนท์
- ห้วยลึก
- แม่ทาเหนือ
- ปางดะ
- แม่สะป๊อก
- แม่สาใหม่

ประเมินความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในพืชแต่ละชนิดในแง่ของเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของไวรัสและผลผลิตในภาพรวมของพืชแต่ละชนิด

2. การตรวจสอบเชื้อสาเหตุโดยการปลูกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

ทดลองด้วยการปลูกเชื้อโดยวิธีกล (Mechanical inoculation) จากพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัสลงบนพืชทดสอบ 30 ชนิดได้แก่

- *Chenopodium amaranticolor*.
- *Chenopodium quinoa*.
- *Cassia occidentalis*.
- *Physalis floridana*
- *Nicotiana glutinosa*.
- *Nicotiana tabacum*.
- *Lycopersicon esculentum*. (มะเขือเทศ)
- *Eupatorium adenophorum*. (สาบหมา)
- *Cucurbita moschata*. (ฟักทองลายข้าวตอก)
- *Cucumis melo var. cantalopensis*. (แคนตาลูป)
- *Momordica charantia*. (มะระขี้นก)
- *Luffa acutangula*. (บวบ)
- *Pisum sativum*. (ถั่วลันเตา)
- *Synedrella nodiflora*. (ผักแครด)
- *Cleome rutidosperma* DC. (ผักเสี้ยนดอกม่วง)
- *Euphorbia hirta* L. (น้านมราชสีห์)
- *Commelina benghalensis* L. (ผักปลานใบกว้าง)
- *Vigna sinensis* L. (ถั่วพุ่ม)
- *Gomphrena globosa* Linn (บานไม่รู้โรย)
- *Ageratum conyzoides* L. (สาบแ้งสาบกาก)
- *Solanum oleraceus* (A-6)
- Hybrid cucumber
- Straight cucumber
- Navy bean
- Black turtle bean

- Red bean
- Black eye cow pea
- Lima bean
- Cucumber
- พักหอม

2.1 เตรียมน้ำคั้นจากพืชที่แสดงอาการโรคไวรัส (Inoculum)

นำใบของพืชทดสอบที่แสดงอาการของโรคไวรัส เช่น อาการใบด่าง อาการรูปร่างผิดปกติ ขึ้นส่วนของพืชที่เห็นอาการได้ชัดเจนที่สุดคืออาการบริเวณส่วนยอด นำมาบดรวมกับ Phosphate buffer pH 6.8 ในโถรงที่แช่เย็นไว้ ในอัตราส่วนของใบพืชทดสอบ 1 กรัมต่อ buffer 2 มล. แล้วนำน้ำคั้นที่ได้มากรองผ่านผ้าขาวบาง เพื่อแยกเศษพืชออกไป

2.2 การปลูกเชื้อ (Inoculation)

- ปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบโดยวิธี half leaf inoculation เริ่มจากการใช้ผง carborundum โรยลงบนใบพืชทดสอบครึ่งใบ ซ้ายหรือขวา จากนั้นใช้นิ้วมือจุ่มน้ำคั้นพืชที่เตรียมไว้ ป้ายลงไปที่ครึ่งใบที่มีผง carborundum ถูเบาๆไปในทางเดียวกันจากโคนใบมาหาปลายใบ ส่วนอีกครึ่งใบใช้เป็น control ใส phosphate buffer แทนน้ำคั้นพืชที่เป็นโรค แล้วทำการถูเบาๆด้วยมือเช่นกัน ทิ้งไว้นาน 3-5 นาที แล้วล้างเอาส่วนของน้ำคั้นจากพืชที่เหลือและส่วนของผง carborundum ออก ด้วยน้ำกลั่น
- พืชทดสอบที่นำมาปลูกเชื้อจะถูกเก็บในที่มืดก่อนนำมาทดลองเป็นเวลา 1-2 วัน เนื่องจากการเก็บพืชไว้ในที่มืดจะทำให้พืชสังเคราะห์แสงได้น้อยลง และทำให้พืชดึงอาหารที่ใบไปใช้ ซึ่งจะมีผลทำให้พืชก็มีความอ่อนแอ ส่งผลให้เชื้อไวรัสที่ปลูกเชื้อลงไปสามารถเข้าทำลายพืชได้ง่ายขึ้น และเมื่อปลูกเชื้อเรียบร้อยแล้วจะพืชทดสอบเก็บไว้ในที่มืดอีกเป็นเวลา 1 วัน เพื่อให้เห็นอาการชัดเจนขึ้น

2.3 การสังเกตผลการปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ

สังเกตลักษณะของแผล หรืออาการที่เกิดขึ้นบนใบพืชทดสอบทั้งบริเวณใบที่ปลูกเชื้อ และอาการที่ปรากฏบริเวณใบยอดของพืชทดสอบ สรุปเบื้องต้นถึงชนิดเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของอาการของโรคที่ปรากฏบนพืชผักหรือไม้ดอกที่สำรวจได้

3. การตรวจสอบลักษณะความผิดปกติระดับเซลล์ของพืชที่เป็นโรค

นำตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัสในพืชแต่ละชนิด เช่น ส่วนของใบที่แสดงอาการต่าง นำไปล้างด้วยน้ำให้หมดฝุ่น จากนั้นใช้ปากคีบปลายแหลม (Tweezer) ลอกเซลล์ผิวด้านใต้ใบของพืชที่เป็นโรค จนได้เนื้อเยื่อผิว (epidermal cell) บาง ๆ นำมาย้อมสีและเตรียมสไลด์ ก่อนนำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยายประมาณ 400 เท่า สังเกตความผิดปกติของ องค์ประกอบภายในเซลล์พืช เช่น รูปร่างของนิวเคลียส และ เม็ดคลอโรพลาสต์ เป็นต้น และตรวจดูถึง แปลกปลอมที่อาจเกิดขึ้นในเซลล์พืชที่แสดงอาการโรคเปรียบเทียบกับสไลด์เซลล์พืชที่เตรียมจากพืชชนิดเดียวกันที่ไม่แสดงอาการของโรคไวรัส บันทึกลักษณะผิดปกติที่ตรวจพบ

ผลการวิจัย

1. การสำรวจโรคไวรัสในพืชผักและไม้ดอก

จากการสำรวจโรคไวรัสในผักและไม้ดอกในสถานที่ต่างๆ ของมูลนิธิโครงการหลวงโดยภาพรวม พบพืชแสดงอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในหลายลักษณะเกิดขึ้นในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ กลีบดอก ตลอดจนกิ่ง-ก้านและลำต้น ซึ่งอาการผิดปกติที่พบมาก แบ่งเป็น 2 กลุ่มอาการ ได้แก่

1.1.1 อาการใบด่าง พบอาการทั้งแบบด่างชัดเจน (mosaic) ซึ่งสามารถสังเกตเห็นความแตกต่างของสีใบพืชที่เกิดอาการต่างได้ชัดเจน และ ด่างแบบเห็นขอบเขตหรือรอยต่อของสีที่ต่างกันไม่ชัดเจน (mottling)

1.1.2 อาการผิดปกติของอวัยวะพืช พบเป็นในจำนวนที่รองลงมาจากอาการแรก เช่น ใบบิดเบี้ยว เนื้อใบถูกทำลายหรือเนื้อใบไม่เจริญ ทำให้แผ่นใบเรียวเล็กลง หรือความกว้างของแผ่นใบแคบลง หรือแสดงอาการรุนแรงถึงกับไม่มีการสร้างเนื้อเยื่อของใบเลย ซึ่งจะเหลือเพียงเส้นกลางใบเท่านั้น

ทั้งนี้กลุ่มอาการดังกล่าวข้างต้น ส่วนใหญ่มักพบว่าพืชจะแสดงอาการใบด่างร่วมอยู่กับอาการอื่น ๆ ด้วยเสมอ อาการสีของใบพืชที่เปลี่ยนแปลงหรือแสดงอาการใบด่างนั้นมักพบชัดเจนบริเวณยอดของพืชเป็นหลัก สำหรับอาการของโรคที่พบในแต่ละพืชและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคนั้นมีความใกล้เคียงและแตกต่างกันไปตามระยะการเจริญของพืช และสถานที่ที่ได้สำรวจ ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 อาการของโรคไวรัสและเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคในพืชผัก ที่สำรวจได้จากสถานีต่างๆ ระหว่าง
เมษายน 2545 - ธันวาคม 2546

สถานที่สำรวจ	รายชื่อพืช	อาการของโรค	การเกิดโรค (%)
แม่ทาเหนือ	- แตงกวาญี่ปุ่น - เมล่อน	- ระยะต้นกล้าต้นจะแคะแกรนใบต่างรุนแรง ระยะออกดอกพบใบต่าง - ระยะกล้าใบต่าง ต้นแคะแกรนซีดเหลือง	- ระยะกล้า 6.0 ระยะดอก 15.2 - 6.0
ปางตะ	- แตงกวายุโรป (แปลง IPM) - บัตเตอร์นัท - ฟักจานบิน - ฟักทองญี่ปุ่น - ฟักประดับ - ถั่วแขก (แปลงทดสอบพันธุ์) - ดอกไม้จีน	- ระยะกล้าพบใบต่าง ต้นแคะแกรน - ใบต่างแบบ mottling - ใบต่างแบบ mottling - ใบต่างแบบ mottling - ใบต่างแบบ mottling - ใบต่างชัดเจน - ใบต่างแบบ mottling อาการไม่รุนแรง	- 0.6 - 1.5 - 3.0 - 6.25 - 0.5 - 0.8 - 100
หนองหอย	- มะเขือเทศห่อ - มะเขือเทศเชอร์รี่	- ใบต่างแบบ mottling พบขีดสีม่วงและเนื้อใบตายเป็นจุดๆ กระจายทั่วไป - ใบต่าง หงอกงอ ผลต่าง	- 1.5
ห้วยลึก	- มะเขือม่วง - ฟักทองญี่ปุ่น - แตงกวาญี่ปุ่น	- ใบต่างเหลือง พบในก้านเขียวชัดและมากกว่าก้านดำ อาการจะรุนแรงมากช่วงเป็นต้นกล้าอายุ 2-3 สัปดาห์ - ใบต่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม ยอดหด ใบบิดเบี้ยว เนื้อใบหนาเป็นคลื่น - ใบต่างแบบ mottling ต้นแคะแกรน ยอดหด ซีดเหลือง - ใบต่างรุนแรง โดยเฉพาะระยะออกดอก	- ก้านเขียว 50.5 - ก้านดำ 30.0 - ก้านเขียว 5.9 - 20.25

ขุนห้วยแห้ง	- มะเขือเทศห่อ	- พบอาการยอดหดและด่างเหลืองระยะ ออกดอก	- 2.0
อินทนนท์	- มะเขือเทศห่อ	- ใบด่างเหลือง ใบหงิก ใบเหลืองและพบ อาการเนื้อใบตาย	- 1.5
	- พริกหวาน	- ใบด่างชัดเจน เส้นใบโต ยอดหงิก	- 7.0
	- พริกหยวก	- ใบด่างชัดเจน ยอดหงิก	- 10.4
	- ชุกินี	- ยอดแสดงอาการใบด่างแบบ mottle หด ย่น ต้นแคระแกร็น โดยเฉพาะระยะออก ดอก ที่ผลแสดงอาการผลด่าง บิดเบี้ยวผิด รูปร่าง	- ระยะกล้า 10 - ระยะออก ดอก 50
	- เมล่อน (ในโรง เรือนกันแมลง)	- ไม่พบอาการระยะกล้า พบอาการระยะ ออกดอกและติดผลใบยอดแสดงอาการใบ ด่างแบบ mottle แต่อาการไม่รุนแรง	- 1.0

หมายเหตุ: *จากการสุ่มตรวจในแปลงปลูก ประมาณ 100-150 ต้น (ขึ้นกับพื้นที่ปลูก)

ตารางที่ 2 อาการของโรคไวรัสและเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคในไม้ดอก ที่สำรวจได้จากสถานีต่าง ๆ
ระหว่าง เมษายน 2545 - ธันวาคม 2546

สถานที่สำรวจ	รายชื่อพืช	อาการของโรค	แสดงอาการโรค (%)
อินทนนท์	- ชิมิเดียม	- ใบด่างชัดเจนเหลือง ยอดบิด ต้นโทรม เหลือง พบอาการเนื้อเยื่อผิวใบและกลีบดอก ตายเป็นขีดน้ำตาล และพบอาการกลีบดอก ด่างขาวเป็นปื้นๆ ในต้นที่แสดงอาการรุนแรง	- 100
	- วานสีทิศ	- แสดงอาการใบด่าง ทั้งที่เป็นต้นโตจนถึง ต้นที่กำลังให้ดอก รวมทั้งต้นกล้าในกระบะที่ ได้จากการเพาะเมล็ด	- 15.0
	- เฟรินข้าหลวง	- ใบด่าง ผิดรูปร่าง ใบยอดไม่เจริญ พบใน ต้นกล้าในกระบะที่ได้จากการเพาะสปอร์	- 30.5

	- วานนางคุ่ม - ลิลลี่ (งานทดลอง)	และต้นโต - ใบด่างชัดเจน ใบยอดบิดเบี้ยวผิดปกติรูปร่างเนื่องจากพื้นที่ใบบางส่วนไม่ถูกสร้าง - ใบด่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้มแบบ mottling โดยเฉพาะบริเวณยอดเนื้อใบพองหนาเป็นจุด ๆ กระจายทั่วใบ ลำต้นแคระแกร็น ปล้องสั้น ไม่ให้ดอก	- 50 - 100
ปางตะ พุ่งหลวง และแม่สะปือก	- หน้าวัว	- เนื่องจากเป็นพืชที่นำมาปลูกได้มาจากแหล่งเดียวกัน แสดงอาการโรคเช่นเดียวกัน คือใบด่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้มรอยด่างคล้ายจุดไม่ชัดเจน เนื้อใบหยาบและพื้นที่ใบบางส่วนไม่ถูกสร้าง ต้นโทรม ดอกด่างเป็นปื้นขาว เนื้อเยื่อดอกหนาเป็นคลื่น พื้นที่ดอกบางส่วนไม่ถูกสร้าง ทำให้ดอกบิดเบี้ยว	- ปางตะ 35.5 - พุ่งหลวง 10.25 - แม่สะปือก 51.5
ปางตะ	- กระเจียว - วานสีทิด	- ใบด่างโดยมีลักษณะเป็นขีดเหลืองอ่อนตามเส้นใบ ส่วนใหญ่อาการไม่รุนแรง ต้นพืชไม่แสดงอาการแคระแกร็น ส่วนน้อยมีการสะสมของโรคแสดงอาการรุนแรงมากขึ้นโดยต้นพืชแสดงอาการแคระแกร็นร่วมกับใบด่างรุนแรงเนื้อใบหงิกงอ ใบยอดม้วนไม่คลี่ - พืชที่สำรวจได้หัวพันธุ์มาจากอินทนนท์ พืชแสดงอาการโรค เช่นเดียวกัน แต่อาการด่างที่ใบจะแสดงอาการด่างรุนแรงมากกว่า	- 10 (อาการไม่รุนแรง) - 0.25 (อาการค่อนข้างรุนแรง) - 100
ห้วยลึก	- เบญจมาศ - สแตติส	- ใบด่าง - ใบด่างแบบ mottling แคระแกร็น ยอดหดรุนแรง ใบผิดปกติรูปร่าง เล็กเรียว แตกยอดมากจนมีลักษณะเป็นพุ่มฝอย ความรุนแรงของอาการโรคขึ้นกับสายพันธุ์พืช	- 0.9 - 100 (Pink Diamond, SilverDiamond) - 1.5 Lucky - 6.0 Festival - 5.0 Sunny Diamon

2. การตรวจสอบสาเหตุของโรคเบื้องต้น

จากการตรวจสอบสาเหตุของโรคเบื้องต้น โดยใช้การปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบและเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงที่มีรายงานเกี่ยวข้อนั้น พบว่าหลังจากการตรวจสอบโดยการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบแล้ว อาการบนพืชทดสอบที่ปรากฏและสามารถระบุเชื้อสาเหตุได้ค่อนข้างชัดเจนคือ อาการแบบแผลตายเฉพาะแห่ง (local lesion) มากกว่าอาการแบบแพร่กระจาย (systemic symptom) ในส่วนของความชัดเจนในการระบุถึงสาเหตุของโรคโดยอาศัยการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบนี้จะให้ผลเป็นที่แน่ใจมากขึ้นจำเป็นต้องมีพืชทดสอบหลายชนิด

ตัวอย่างโรคพืชที่สำรวจได้และนำมาวินิจฉัยสาเหตุของโรคโดยใช้พืชทดสอบนั้นไม่สามารถให้ตรวจสอบสาเหตุของโรคได้ทุกโรค ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ ลักษณะของการถ่ายทอดเชื้อ ซึ่งเชื้อไวรัสบางชนิดสามารถถ่ายทอดเชื้อโดยการปลูกเชื้อโดยวิธีกล บางชนิดจะสามารถถ่ายทอดเชื้อได้จำเป็นต้องอาศัยแมลงพาหะ ซึ่งจะมีความเฉพาะเจาะจงกันระหว่างเชื้อไวรัสและแมลงพาหะเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย ทำให้ไม่สามารถปลูกเชื้อไวรัสเพื่อทดสอบถึงเชื้อสาเหตุโดยวิธีการใช้แมลงพาหะได้อย่างครอบคลุม ดังนั้นในการทดลองนี้ จึงจำเป็นต้องใช้วิธีการปลูกเชื้อโดยวิธีกลวิธีเดียวเพื่อพิสูจน์เชื้อสาเหตุโรคเป็นเบื้องต้น ผลการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโดยการปลูกเชื้อโดยวิธีกลของโรคพืชที่สำรวจได้ลงบนพืชทดสอบหลาย ๆ ชนิด ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 อาการของพืชทดสอบ (Indexing plant) และจำนวนวันแสดงอาการ ภายหลังจากการตรวจสอบเชื้อสาเหตุในพืชผักบางชนิดโดยการปลูกเชื้อด้วยวิธีกล (Mechanical inoculation)

อาการของโรค	พืชทดสอบ (indexing plant)	อาการ/หลังการปลูกเชื้อ
ใบด่างของรูกินี	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	local lesions/28 วัน
	ถั่วพุ่ม	local lesions/28 วัน
ใบด่างแดง	ฟักหอม	systemic/14 วัน
	ฟักทองลายข้าวตอก	systemic/14 วัน
ใบด่างฟักทอง	ถั่วพุ่ม	local lesion/10 วัน
	ฟักทองลายข้าวตอก	systemic/10 วัน
	Cucumber	systemic/14 วัน
	ผักแครด	systemic/10 วัน

ใบด่างพริก	สาบแครงสาบกา	local lesions/19 วัน
	<i>Nicotiana glutinosa</i>	systemic/24
		Local lesion/19 วัน
	Black eye cow pea	local lesions/7 วัน
	สาบแครงสาบกา	local lesions/7 วัน

หมายเหตุ :

- * - Systemic symptom (อาการแบบแพร่กระจายทั่วต้น / ใบด่าง หักงอ)
- Local lesion (แผลเนื้อเยื่อใบตายเฉพาะแห่งเป็นจุดสีน้ำตาลอ่อน-เข้ม)

3. การตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรคโดยการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ

3.1 อาการของโรคไวรัสในผักและผลการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ

แตงกวาญี่ปุ่น

จากการนำส่วนของใบที่มีลักษณะอาการต่างอย่างเห็นขอบเขตได้ชัดเจน โดยเฉพาะใบบริเวณยอด มาปลูกเชื้อโดยวิธีกลลงบนพืชทดสอบ 2 ชนิด คือ พักทองลาย ข้าวตอก และผักหอม พบว่าพืชทดสอบแสดงอาการหลังการปลูกเชื้อ ดังนี้

- พักทองลายข้าวตอก: จะพบอาการเกิดที่บริเวณของยอดที่เกิดขึ้นมาใหม่มีลักษณะอาการต่างอย่างเห็นได้ชัดเจน เกิดบริเวณพื้นที่สีเขียว (green island) ชัดเจน ใบจะมีลักษณะหักงอไม่สมสัดส่วน ขอบใบจะหยิก มีขนาดเล็กกว่าปกติ จะให้อาการหลังจากทำการปลูกเชื้อแล้วเป็นเวลา 14 วัน (ภาพที่ 1)
- ผักหอม: พบอาการเกิดที่ใบยอดที่ออกมาใหม่ มีลักษณะอาการใบด่างแบบไม่ชัดเจน หลังจากทำการปลูกเชื้อแล้วเป็นเวลา 14 วัน เช่นเดียวกัน

ชุกินี

อาการโรคไวรัสที่พบในชุกินี พบว่าใบมีลักษณะหงิกงอ ขนาดใบเล็กกว่าปรกติ จะมีอาการด่างแบบเห็นขอบเขตของอาการต่างได้ชัดเจน โดยเฉพาะส่วนยอดจะแสดงอาการได้ชัดเจนที่สุด ไม่พบอาการเตี้ยแคระ และเมื่อนำใบพืชที่แสดงอาการดังกล่าว มาทดสอบปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ *Chenopodium amaranticolor* และ ถั่วพุ่ม ให้ผลดังนี้

- *Chenopodium amaranticolor*: พบอาการแผลตายเฉพาะแห่งเป็นจุดกลมเล็ก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 มม. บนใบที่ปลูกเชื้อลงไป ตรงบริเวณกลางแผลจะมีลักษณะเป็นสีขาวและบริเวณขอบแผลจะมีสีน้ำตาลเข้มถึงสีแดง ให้อาการหลังจากการปลูกเชื้อเป็นเวลา 28 วัน
- ถั่วพุ่ม: พบอาการแผลตายเฉพาะแห่งเป็นจุดกลมเล็ก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 มม. บนใบที่ปลูกเชื้อลงไปโดยบริเวณตรงกลางแผลมีลักษณะเป็นสีเหลืองและบริเวณขอบแผลมีสีแดง จะให้อาการหลังจากทำการปลูกเชื้อนาน 28 วัน

ชาโยเต้

พืชที่เป็นโรคแสดงอาการใบด่างเหลืองเขียวโดยเฉพาะใบยอด มักพบอาการหงิกงอร่วมด้วย (ภาพที่ 2) หากอาการรุนแรง จะพบว่า ยอดหดแคระแกร็น แตกยอดได้น้อยลง แต่ไม่พบอาการของโรคที่ผล เมื่อนำพืชที่แสดงอาการมาทดสอบปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ ได้แก่ แดงกวา *Chenopodium amaranticolor* และ สาบแร้งสาบกา พบว่าพืชทดสอบไม่แสดงอาการใดๆ

ผักทองญี่ปุ่น

อาการโรคไวรัสที่พบในผักทองญี่ปุ่น (ผลสีส้ม) พบอาการด่างของส่วนยอดเขียวเข้มสลับเขียวอ่อนชัดเจน และมีอาการใบผิดรูปร่างร่วมด้วย (ภาพที่ 3) และเมื่อนำใบยอดที่แสดงอาการมาปลูกเชื้อลงบนพืชอาศัย 3 ชนิด ได้แก่ ถั่วพุ่ม ผักทองลาย ข้าวตอก แดงกวา *Synedrella nodiflora* และ สาบแร้งสาบกา พบว่าพืชทดสอบแต่ละชนิดให้อาการดังนี้

- ถั่วพุ่ม: พบว่าเกิดอาการจุดตรงบริเวณที่ทำการปลูกเชื้อลงไป มีลักษณะจุดเป็นวงกลมเล็กๆ บริเวณขอบแผลเป็นสีน้ำตาลเข้มออกแดง ตรงกลางแผลเป็นสีน้ำตาลอ่อน จะให้อาการหลังจากทำการปลูกเชื้อเป็นเวลา 10 วัน

- พักทองลายข้าวตอก: พบว่าเกิดอาการที่ยอดใหม่ที่เกิดมาจะเกิดอาการต่างมองเห็นไม่ค่อยชัดเจนต้องดูในที่ที่มีแสงจัด จะพบอาการหลังจากทำการปลูกเชื้อเป็นเวลา 10 วัน
- แตงกวา: พบว่าเกิดอาการต่างตรงบริเวณใบที่ออกมาใหม่ มีขอบเขตของสีเขียวและสีเหลืองที่ชัดเจน เกิดกระจายอยู่ทั่วไป จะให้อาการหลังจากทำการปลูกเชื้อลงไปเป็นเวลา 14 วัน (ภาพที่ 3)
- *Synedrella nodiflora*: จะพบว่าเกิดอาการที่ใบยอดที่ออกมาใหม่จะมีลักษณะอาการเป็นใบต่าง จะมองเห็นชัดเจนเมื่อดูในที่ที่มีแสงสว่างมากๆ จะพบอาการหลังจากทำการปลูกเชื้อลงไปเป็นเวลา 10 วัน ต่อมาอีกประมาณ 5 วันจะเห็นอาการต่างชัดเจนขึ้นตรงบริเวณส่วนยอดที่ออกมาใหม่
- สาบแร้งสาบกา: จะพบว่าเกิดอาการบริเวณใบที่ทำการปลูกเชื้อลงไป เกิดเป็นจุดกลมเล็กๆ สีน้ำตาลออกแดง เกิดขึ้นประมาณ 2-3 จุดต่อใบ จะพบอาการหลังจากทำการปลูกเชื้อลงไปแล้วเป็นเวลา 19 วัน

เนทเมลลอน

พืชที่พบแสดงอาการส่วนใหญ่อยู่ในระยะกล้า ในแปลงเกษตรกรที่ปลูกในโรงเรือนที่ไม่มีมุ้งตาข่ายกันแมลง อาการทั่วไปของโรคที่พบ พืชมักแสดงอาการใบต่างแบบชัดเจน บริเวณยอดจะพบอาการยอดหย่น ใบมีขนาดเล็กลง ไม่เจริญเติบโต เกษตรกรต้องถอนทิ้งและปลูกใหม่ทดแทน เมื่อนำใบที่แสดงอาการของโรคมาปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ ได้แก่ แตงกวา *Chenopodium amaranticolor* และ สาบแร้งสาบกา พบว่าแตงกวาที่ใช้เป็นพืชทดสอบแสดงอาการยอดต่างหลังการปลูกเชื้อ 14 วัน ส่วนพืชทดสอบอีกสองชนิด ไม่แสดงอาการ

พริกหวาน

พืชที่เป็นโรคแสดงอาการลำต้นเตี้ยแคระยอดแสดงอาการต่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้มชัดเจน ใบมีรูปร่างผิดปกติ บิดเบี้ยวและหงิกงอ บริเวณใบแก่ นอกจากแสดงอาการใบต่างแล้วยังพบอาการเส้นใบใส (vein clearing) ได้ชัดเจน (ภาพที่ 4-5) สำหรับใบอ่อนอาการเส้นใบใสจะสังเกตได้ยากกว่า ต้องสังเกตในที่ที่มีแสงสว่างจึงจะสามารถมองเห็นได้ชัดเจนมากขึ้น และเมื่อนำใบยอดที่แสดงอาการมาปลูกเชื้อลงบน

พืชทดสอบ 3 ชนิด ได้แก่ *Nicotiana glutinosa* Black eye cow pea และสาบแ้ง
สาบกา พบว่าพืชทดสอบแต่ละชนิดให้ผล ดังนี้

- *Nicotiana glutinosa*: พบว่าเกิดอาการต่างที่บริเวณยอดอ่อนที่เกิดมาใหม่และใบมีรูปร่างผิดปกติ (malformation) นอกจากนั้นยังพบจุดสีน้ำตาลเล็กๆเกิดขึ้นทั่วไป (local lesions) หลังจากทำการปลูกเชื้อเป็นเวลา 24 วันและอาการจะชัดเจนขึ้นเรื่อยๆ (ภาพที่ 4)
- Black eye cow pea: พบว่าเกิดอาการจุดตรงบริเวณที่ทำการปลูกเชื้อลงไป มีลักษณะจุดเป็นวงกลมเล็กๆ บริเวณขอบแผลเป็นสีน้ำตาลเข้มออกแดง ตรงกลางแผลเป็นสีน้ำตาลอ่อน จะให้อาการหลังจากทำการปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน
- สาบแ้งสาบกา: พบว่าเกิดอาการจุดตรงบริเวณที่ทำการปลูกเชื้อลงไป มีลักษณะจุดเป็นวงกลมเล็กๆ สีน้ำตาลออกแดง จะให้อาการหลังจากทำการปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน

มะเขือม่วง

อาการผิดปกติของมะเขือม่วงจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสพบว่ามีภาวะรุนแรงมากในสถานีห้วยลึก โดยพบอาการของโรคในมะเขือม่วงทั้งพันธุ์ก้านเขียวและก้านสีม่วง สำหรับลักษณะอาการโรคพบสองลักษณะเช่นกัน ได้แก่

1. อาการด่างเหลือง พืชที่เป็นโรคจะแสดงอาการใบด่างสีเหลืองทั้งใบ หรืออาจสลับด้วยสีเขียว (ภาพที่ 6) จากการนำส่วนยอดที่แสดงอาการมาปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบหลายชนิด เช่น *Nicotiana glutinosa* *Chenopodium amaranticolor* *C. quinoa* และมะเขือยาว (*Solanum melongena*) พบว่าพืชทดสอบไม่แสดงอาการใด ๆ ซึ่งอาจเนื่องมาจากเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคนั้นไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อได้โดยวิธีการปลูกเชื้อโดยวิธีกลได้ ซึ่งตรงกับการตรวจเอกสารพบว่า เชื้อไวรัสนี้จะถ่ายทอดได้โดยมีแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci*) เป็นพาหะไม่ถ่ายทอดโดยวิธีสัมผัส
2. อาการด่างเขียว พืชที่เป็นโรคจะแสดงอาการด่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม บริเวณเขียวเข้มมักมีอาการเนื้อใบหยابหนาร่วมด้วย โดยเฉพาะใบยอด (ภาพที่ 7) ต้นพืชที่เป็นโรคจะแคระแกร็น ผลแสดงอาการด่าง บิดเบี้ยว จากการทดสอบเชื้อสาเหตุโดยการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบเช่นเดียวกับการทดสอบอาการด่างเหลือง พบว่า พืชทดสอบไม่แสดงอาการของโรค เช่นเดียวกัน

3.2 อาการของโรคไวรัสในไม้ดอกและผลการปลูกเชื้อลงบนพืชอาศัย

กล้วยไม้เข็มบีเดียม

อาการของเข็มบีเดียมที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย ใบจะมีลักษณะยอดบิด พบขีดสีม่วงตามทางยาวของใบ และพบอาการใบด่างแบบไม่ชัดเจน ที่ดอกพบอาการกลีบดอกบิดเบี้ยวและพบแผลสีน้ำตาลเล็กๆกระจายบนเนื้อกลีบดอก ลำต้นแฉะแกรน และจากการนำส่วนของใบบริเวณยอดที่มีลักษณะอาการต่างชัดเจน มาปลูกเชื้อโดยวิธีกลแบบครึ่งใบ ลงบนพืชทดสอบ 1 ชนิด คือ *Cassia occidentalis* พบว่าพืชทดสอบแสดงอาการแผลตายเป็นจุดสีน้ำตาลแดงหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน เฉพาะบริเวณใบที่ปลูกเชื้อเท่านั้น (ภาพที่ 8)

อัลสโตรัมเรีย

อาการของอัลสโตรัมเรียที่เป็นโรค พบว่าใบพืชแสดงอาการต่างเป็นขีดสีเหลืองขีดตามแนวเส้นใบคล้ายเส้นไขปลา ใบมีขนาดเล็กลง บางใบมีลักษณะผิวใบเป็นคลื่นไม่เรียบ ลำต้นแฉะแกรน (ภาพที่ 9) พันธุ์กระถาง (Pot plant) จะแสดงอาการได้รุนแรงกว่าพันธุ์ตัดดอกซึ่งสามารถให้ดอกได้ค่อนข้างปกติแม้ในใบจะแสดงอาการต่างก็ตาม ไม่พบอาการต่างที่ดอก หรือลักษณะผิดปกติของกลีบดอก และเมื่อนำใบที่แสดงอาการต่างมาปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ *Chenopodium amaranticolour* และ *C. quinoa* พบว่า พืชทั้งสองชนิดให้อาการแผลตายเฉพาะแห่งเป็นจุดสีส้ม ตามระยะเวลา ดังนี้

- *Chenopodium Amaranticolour* แสดงอาการ ภายใน 14 วันหลังปลูกเชื้อ (ภาพที่ 8)
- *C. quinoa* แสดงอาการ ภายใน 20 วันหลังปลูกเชื้อ

เบญจมาศ

เบญจมาศที่เป็นโรคแสดงอาการใบด่างแบบเห็นขอบเขตของอาการต่างแบบไม่ชัดเจน อาการไม่รุนแรง เมื่อนำใบพืชที่แสดงอาการใบด่างมาปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ *Chenopodium amaranticolour* และ *C. quinoa* พบว่าพืชทดสอบทั้งสองชนิดแสดงอาการแผลตายเฉพาะแห่งเป็นจุดสีม่วงแดง (ภาพที่ 10) ตามระยะเวลา ดังนี้

- *Chenopodium amaranticolor* แสดงอาการหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน
- *C. quinoa* แสดงอาการหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 18 วัน

ว่านนางคุ้ม

พืชที่เป็นโรคจะแสดงอาการใบด่างเขียวเข้มสลับเขียวอ่อนอย่างชัดเจน หากอาการรุนแรงจะพบลักษณะยอดบิด ยอดไหม้ไหม้คด ต้นแคระแกร็น ใบมีขนาดเล็กลง หรืออาจพบอาการเนื่อใบหายไปในบางส่วน ทำให้รูปใบมีลักษณะบิดเบี้ยวผิดรูปร่าง จากการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ ได้แก่ *Chenopodium amaranticolor* และ *C. quinoa* พบว่าพืชทดสอบไม่แสดงอาการของโรค (ภาพที่ 11)

ว่านสีทศ

พืชที่เป็นโรคแสดงอาการ ใบด่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้มอย่างเห็นได้ชัดเจน เกิดทั้งในระยะที่เป็นต้นกล้า (ภาพที่ 12) และระยะออกดอก โดยพบว่า ความรุนแรงของโรคที่ปรากฏขณะสำรวจ ไม่ขึ้นกับอายุของพืช ลักษณะการแพร่ระบาดของโรคเกิดขึ้นได้ ทั้งต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ด และหัวพันธุ์ขนาดใหญ่ จากการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโดยการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ ได้แก่ *Cassia occidentalis*, *Nicotiana glutinosa* และ *Nicotiana tabacum* พบว่า พืชทดสอบไม่แสดงอาการของโรค

ลิ้น

พืชที่เป็นโรคแสดงอาการใบบิดเบี้ยว โดยพบว่าเนื่อใบด้านใดด้านหนึ่งเจริญไม่สมบูรณ์ จึงทำให้เนื่อใบหายไป เกิดลักษณะผิดรูปร่างบิดเบี้ยว โดยเฉพาะต้นกล้าที่เริ่มงอกออกมาจากหัวพันธุ์ พบอาการสีของใบด่างเขียวอ่อนสลับเขียวเข้มแบบไม่ชัดเจน ผิวใบไม่เรียบ ขนาดใบเล็กเรียว เมื่อเกิดอาการรุนแรง จะพบลำต้นแคระแกร็น ปล้องสั้น ทำให้เห็นลักษณะใบเป็นกระจุก ไม่ออกดอก จากการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโดยการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ ได้แก่ *Cassia occidentalis*, *Nicotiana glutinosa* และ *Nicotiana tabacum* พบว่า พืชทดสอบไม่แสดงอาการของโรค

หน้าวัว

อาการของโรคที่ปรากฏ จะพบลักษณะอาการต่างทั้งที่ใบและฐานรองดอก อาการต่างที่ใบ มีลักษณะต่างเป็นจุดเหลือง หรือเป็นวงขนาดเล็ก สีเขียวสลับกับต่าง เหลืองแบบเห็นขอบเขตของรอยต่างไม่ชัดเจน (ภาพที่ 13) สำหรับใบยอดที่ยังอ่อนหรือ ยังไม่คลี่เต็มที่ พบลักษณะสีของใบเปลี่ยนไป ขึ้นกับพันธุ์ของพืช หากเป็นพันธุ์ที่มีใบ อ่อนสีเขียว จะพบอาการต่าง เขียวอ่อนจนถึงสีเหลืองสลับกับสีเขียวเข้ม หากเป็นพันธุ์ ที่มีใบอ่อนสีน้ำตาลแดง จะพบอาการต่างเป็นสีของเนื้อใบเดิมสลับกับสีที่อ่อนกว่าเล็กน้อย หากต้นโทรมมากหรือเป็นโรครุนแรง จะพบอาการตายของเนื้อเยื่อใบอ่อนร่วม ด้วย (ภาพที่ 13) โดยทั่วไปต้นที่แสดงอาการใบต่าง จะมีใบจำนวนน้อย เจริญเติบโตช้า ผิวใบไม่เรียบ มีลักษณะเป็นคลื่น ผิวใบไม่เป็นมัน พันธุ์ที่อ่อนแอ แสดงอาการของโรค รุนแรง มักเป็นพันธุ์ที่มีสีของฐานรองดอกเป็นสีอ่อน เช่น สีขาว เหลือง และชมพูอ่อน เป็นต้น โดยพบว่า เชื้อจะเข้าทำลายพืช ทำให้พืชไม่สามารถสร้างเนื้อของแผ่นใบได้ อย่างสมบูรณ์ เนื้อใบบางส่วนจึงไม่ถูกสร้าง พบว่าเนื้อใบหายไปบางส่วน หรือเหลือเนื้อ ใบแคบครึ่งเดียว (ภาพที่ 13) ต้นที่มีการสะสมของโรคมาก จะพบว่าเกิดการแตกกอมากกว่าปกติ จนมองเห็นลักษณะเป็นพุ่ม ต้นใหม่ไม่เจริญ ก้านใบสั้นผอมบาง ใบเล็ก โทรม และตายในที่สุด

สำหรับอาการที่ฐานรองดอก พบว่า พืชแสดงอาการดอกต่างอย่างชัดเจน อาการต่างที่เกิดขึ้นมีลักษณะตามสีของฐานรองดอกสลับกับสีขาวหรือสีที่ค่อนข้างอ่อน กว่าสีของฐานรองดอกเล็กน้อย ฐานรองดอกอาจแสดงอาการบิดเบี้ยวเนื่องจากเนื้อเยื่อ บางส่วนไม่ถูกพัฒนา นอกจากนั้นยังพบอาการต่างที่ก้านดอกแต่ไม่ชัดเจนนัก หากพืช มีอาการรุนแรงจะพบอาการตายของเนื้อเยื่อของฐานรองดอกร่วมด้วย

จากการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโดยการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ ได้แก่ *Cassia occidentalis*, *Nicotiana glutinosa* และ *Nicotiana tabacum* พบว่า พืชทดสอบไม่ แสดงอาการของโรค

สแตติส

ต้นพืชที่เป็นโรคจะแสดงอาการ ต้นแคระแกร็น ใบยอดต่าง บิดเบี้ยว ใบเล็กลง อย่างเห็นได้ชัดเจน มีการแตกกอมากกว่าปกติ แต่ต้นใหม่ไม่เจริญ จึงทำให้เห็นเป็น ลักษณะแตกกอเป็นพุ่ม (ภาพที่ 14) ความรุนแรงของโรคที่ปรากฏ จะขึ้นอยู่กับพันธุ์ที่ นำมาปลูกพันธุ์ที่ต้านทาน เช่น พันธุ์ Lucky, Festival, และ Sunny Diamond จึงพบ

อาการใบต่างแบบไม่ชัดเจน พืชสามารถเจริญตามปกติได้ แต่สำหรับพันธุ์ Pink Diamond, Silver Diamond จะพบว่าพืชที่เป็นโรคแสดงอาการรุนแรง จนถึงเกิดอาการชาตน้ำ เหี่ยว และตายในที่สุด

จากการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโดยการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ ได้แก่ *Cassia occidentalis*, *Nicotiana glutinosa* และ *Nicotiana tabacum* พบว่า พืชทดสอบไม่แสดงอาการของโรค

3.3 การตรวจดูลักษณะความผิดปกติระดับเซลล์ของพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัส

จากการตรวจดูความผิดปกติระดับเซลล์ของพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัส ทั้งในพืชผักและไม้ดอก โดยวิธีการ ลอกเนื้อเยื่อบริเวณเซลล์ผิวด้านใต้ใบ การตัดเนื้อเยื่อพืชโดยวิธี Free hand section ร่วมกับการย้อมสีเซลล์พืชที่เป็นโรค เปรียบเทียบกับพืชที่ไม่แสดงอาการของโรค พบว่า สามารถตรวจสอบความผิดปกติของพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัสในระดับเซลล์พืช ได้กับพืชบางชนิด ใน 2 ลักษณะ ได้แก่

1. การเกิดสิ่งแปลกปลอม (inclusion bodies) ขึ้นภายในเซลล์พืชที่เป็นโรค 2 แบบด้วยกัน คือ
 - 1.1 สิ่งแปลกปลอมที่มีรูปร่างไม่คงที่ (x-bodies)
 - 1.2 สิ่งแปลกปลอมที่มีรูปร่างเป็นผลึก มีรูปร่างแน่นอน (crystalline bodies)
2. เกิดความผิดปกติของอวัยวะภายในเซลล์พืช เช่น เม็ดคลอโรพลาสต์ แวคิวโอล และ นิวเคลียส เป็นต้น

โดยพบว่าความผิดปกติระดับเซลล์ที่ตรวจพบในเซลล์พืชที่แสดงอาการของโรคไวรัส จะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ดังสรุปในตารางที่ 4 ซึ่งความผิดปกติที่พบมากที่สุดได้แก่ การเกิดผลึกรูปหลายเหลี่ยม รองลงมาได้แก่การเกิดความผิดปกติของเม็ดคลอโรพลาสต์ โดยพบว่า เซลล์ของพืชที่เป็นโรค จะมีเม็ดคลอโรพลาสต์ บิดเบี้ยว จนถึงแตกเสียหายและมักรวมตัวเป็นกระจุก นอกจากนั้นยังพบว่า เซลล์เหล่านี้มักจะมีแวคิวโอลขนาดใหญ่กว่าเซลล์ปกติ

ตารางที่ 4 สรุปจำนวนและลักษณะ ความผิดปกติระดับเซลล์ของพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัสในพืชผัก บางชนิด

พืช	ลักษณะความผิดปกติ	จำนวน(%)	หมายเหตุ
พริกหวาน	ผลึกหกเหลี่ยม	4.0	อินทนนท์
พริกหนุ่ม	ผลึกทรงพีระมิดฐานสี่เหลี่ยม	4.0	ปางตะ
ถั่วแขก	ทรงสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน	5.0	ปางตะ
แตงกวาญี่ปุ่น	ทรงสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน	2.5	ห้วยลึก
มะเขือม่วงก้านดำ(ใบต่างเขียว)	ผลึกแท่งตรง สั้น-ยาว ไม่แน่นอน และผลึกทรงสามเหลี่ยม	5.0	ห้วยลึก

หมายเหตุ * สถานที่ ที่เก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค

ตารางที่ 5 สรุปจำนวนและลักษณะ ความผิดปกติระดับเซลล์ของพืชที่แสดงอาการของโรคไวรัสในไม้ดอก บางชนิด

พืช	ลักษณะความผิดปกติ	จำนวน(%)	หมายเหตุ*
กล้วยไม้เข็มบีเดียม	ผลึกแท่งยาวตรง	6.0	อินทนนท์
อัลไซเมเรีย	ผลึกทรงสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน	2.0	อินทนนท์
หน้าวัว	ผลึกทรงหกเหลี่ยม	2.5	ปางตะ
สีทิศ	ผลึกรูปแท่งยาวตรง	8.0	อินทนนท์
ดอกไม้จีน	ผลึกรูปทรงลูกบาศก์	1.3	ปางตะ
ลิลลี่	ผลึกทรงขนมเปียกปูน และ x-bodies เป็นถุงสี่เหลี่ยม	10.0	อินทนนท์
ว่านนางคุ้ม	ผลึกรูปแท่งยาวตรง	1.5	อินทนนท์
เบญจมาศ	อินทนนท์	2.0	ห้วยลึก

หมายเหตุ * สถานที่ ที่เก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค

พริกหวาน

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาลอกชั้นผิวด้านใต้ใบของพืชที่แสดงอาการ นำมาย้อมสี โดยวางบนหยดสี Azure II บนสไลด์แก้ว วางทิ้งไว้ 2-3 นาที จากนั้นย้ายชิ้นพืชไปวางในหยดน้ำ เพื่อล้างสีส่วนเกินออก ต่อมาจึงนำชิ้นพืชที่ย้อมสีเสร็จแล้วไปวางลงบน Slide ที่มีหยด Lactophenol ปิดทับด้วย cover slide นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ตรวจพบ สิ่งแปลกปลอม (inclusion body) เป็นผลึก (crystalline inclusion bodies) มีรูปร่างเป็นแท่งหกเหลี่ยม (ภาพที่ 15) โดยพบผลึกคิดเป็นจำนวน 4.0% (จากการนับเซลล์พืช 50 เซลล์) ซึ่งในแต่ละเซลล์ที่ตรวจพบ จะมีผลึกอยู่ 2-4 ผลึก นอกจากนั้นยังพบว่า แวคิวโอล มีขนาดใหญ่และแตกเสียหายจำนวนมาก เม็ด Chloroplast มีลักษณะบิดเบี้ยว แตก และอยู่รวมกันเป็นกระจุกซึ่งจะไม่สามารถเห็นได้ในเซลล์ที่เตรียมจากเนื้อเยื่อพืชที่ไม่แสดงอาการ นอกจากนั้นยังสามารถตรวจพบลักษณะของสิ่งแปลกปลอมในเซลล์ที่มีรูปร่างไม่แน่นอนอีกด้วย (ภาพที่ 16)

พริกหยวก

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาลอกชั้นผิวด้านใต้ใบของพืชตัวอย่าง ย้อมด้วย Azure II นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบผลึกทรงพริ้วมีฐานสี่เหลี่ยม จำนวน 4.0 % โดยพบ 1-3 ผลึก ต่อเซลล์ นอกจากนั้นยังพบว่า แวคิวโอลมีขนาดใหญ่และแตก เม็ดคลอโรพลาสต์ มีลักษณะบิดเบี้ยว แตก และอยู่รวมกันเป็นกระจุกซึ่งจะไม่สามารถเห็นได้ในเซลล์ที่ปกติ (ภาพที่ 15)

ถั่วแขก

จากการทดลองนำใบพืชที่แสดงอาการมาลอกชั้นผิวด้านใต้ใบ ย้อมด้วยสี Azure II นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 พบผลึกรูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน จำนวน 5.0 % โดยมีจำนวน 1-2 ผลึกต่อเซลล์ นอกจากนั้นยังพบว่า แวคิวโอลมีขนาดใหญ่และแตก เม็ดคลอโรพลาสต์ มีขนาดใหญ่บิดเบี้ยว และมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและอยู่รวมกันเป็นกระจุก

แดงกวาญี่ปุ่น

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาลอกชั้นผิวด้านใต้ใบ ย้อมด้วย acid fusine นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่า ลักษณะของสิ่งแปลกปลอมแบบ crystalline bodies มีลักษณะรูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน (ภาพที่ 17) โดยจะพบในเซลล์พืชคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 2.5% โดยพบ 1-2 ผลึก/เซลล์ นอกจากนั้นยังพบว่า แวคิวโอลของเซลล์ที่เป็นโรคมีขนาดใหญ่และแตก เม็ดคลอโรพลาสต์มีขนาดใหญ่รูปร่างส่วนใหญ่จะบิดเบี้ยว และรวมกันเป็นกระจุก

พักทองญี่ปุ่น

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาลอกชั้นผิวด้านใต้ใบ ย้อมด้วย acid fusine นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบผลึกที่มีลักษณะรูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน (ภาพที่ 18) โดยจะพบในเซลล์พืชคิดเป็น 5% เซลล์ละประมาณ 1-2 ผลึก นอกจากนั้นยังพบว่า แวคิวโอลมีขนาดใหญ่ เม็ดคลอโรพลาสต์บิดเบี้ยว และมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและอยู่รวมกันเป็นกระจุกซึ่งจะไม่สามารถเห็นได้ในเซลล์ที่ปกติ

มะเขือเทศเชอร์รี่

จากการนำใบพืชที่แสดงอาการใบด่างเหลืองมาลอกชั้นผิวด้านใต้ใบ ย้อมด้วย acid fusine นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบผลึกที่มีลักษณะรูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน (ภาพที่ 19) โดยจะพบในเซลล์พืชคิดเป็น 5% เซลล์ละประมาณ 3-4 ผลึก

มะเขือม่วงก้านดำ (อาการด่างเขียว)

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาลอกชั้นผิวด้านใต้ใบ ย้อมด้วย acid fusine นำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบลักษณะของสิ่งแปลกปลอมแบบผลึก ที่มีลักษณะเป็นรูปหกเหลี่ยม และรูปสี่เหลี่ยม ในจำนวน 5 % โดยสามารถตรวจพบทั้งแบบแท่งยาว และรูปสามเหลี่ยม ในปริมาณใกล้เคียงกัน เซลล์ละ 3-4 ผลึก นอกจากนั้นยังตรวจพบแวคิวโอลมีขนาดใหญ่ คลอโรพลาสต์ ขนาด

ใหญ่บิดเบี้ยวและมีจำนวนหนาแน่นอยู่รวมกันเป็นกระจุก ซึ่งไม่พบในเซลล์พืชที่ไม่แสดงอาการ

มะเขือม่วงก้านเขียว (อาการใบด่างเหลือง)

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาดกชั้นผิวด้านใต้ใบ ย้อมด้วย acid fusine นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสีเปลี่ยนแปลงปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบผลึกรูปสามเหลี่ยม และสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ จำนวน 3.0 % โดยมีจำนวนผลึก 1-2 ผลึกต่อเซลล์ นอกจากนั้นยังพบ แวกคิวโอล มีขนาดใหญ่และแตก ซึ่งจะไม่สามารถเห็นได้ในเซลล์ที่ปกติ

กล้วยไม้เข็มบีเคียม

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาดกชั้นผิวด้านใต้ใบ ย้อมด้วย acid fusine นำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าผลึกรูปสี่เหลี่ยมแท่งยาว และพบ vacuolate inclusion จำนวนมาก (ภาพที่ 22)

ดอกไม้อื่น

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการต่างสีเขียวย่นมดลัดสีเขียวย่อน มาดกชั้นผิวด้านใต้ใบย้อมด้วย acid fusine นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสีเปลี่ยนแปลงปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าผลึกรูปสี่เหลี่ยมจตุรัส (ภาพที่ 23) จำนวน 1.3 % (เซลล์พืช 30 เซลล์ จะพบ crystalline inclusion bodies จำนวน 1 ผลึก) แวกคิวโอลมีขนาดใหญ่และแตก

อัลสโตรเมียเรีย

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาดกชั้นผิวด้านใต้ใบย้อมด้วย Azure II ตรวจดูด้วยลักษณะสีเปลี่ยนแปลงปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบผลึกสี่เหลี่ยมจตุรัส (ภาพที่ 24) จำนวน 2.0 % โดยพบเซลล์ละ 1-2 ผลึก นอกจากนั้นยังตรวจพบความผิดปกติของแวคิวโอล ที่มีขนาดใหญ่ แตกเสียหายจำนวนมาก

วุ้นนางคัม

จากการนำใบพืชที่แสดงอาการมาลอกชั้นผิวด้านใต้ใบ นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบสิ่งแปลกปลอม รูปแท่งยาวตรง (ภาพที่ 25) จำนวน 1.5 % และพบว่า จำนวนเม็ดคลอโรพลาสต์หนาแน่น ขนาดใหญ่บิดเบี้ยว อยู่รวมกันเป็นกระจุกซึ่งจะไม่สามารถเห็นได้ในเซลล์ที่ปกติซึ่งจะไม่สามารถเห็นได้ในเซลล์ที่ปกติ

ลิไล

จากการลอกชั้นผิวด้านใต้ใบของพืชที่แสดงอาการ มาเตรียมสไลด์ โดยย้อมด้วยสีย้อม Azure II ทิ้งไว้สักครู่วางชิ้นพืชลงบนหยดน้ำเพื่อล้างสีส่วนเกินออกนำชิ้นพืชที่ย้อมเสร็จแล้วไปวางลงบน slide ที่สะอาดหยด Lactophenol ลงบนชิ้นพืชจากนั้นปิดด้วย cover slide นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบผลิกรูปแท่งสี่เหลี่ยมรูปขนมเปียกปูน จำนวน 10 % (จากการนับเซลล์พืช จำนวน 50 เซลล์) โดยแต่ละเซลล์พบจำนวนผลึก 2 ผลึก เซลล์จำนวนมากมี แวคิวโอลมีขนาดใหญ่และแตก นอกจากนั้นยังพบ vacuolate inclusion เป็นถุงรูปร่างไม่แน่นอนชนิดล้ากระจายอยู่ภายในเซลล์พืชเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 26)

หน้าวัว

เนื่องจากไม่สามารถลอกเซลล์ผิวได้ใบ ของใบหน้าวัวได้ จึงเตรียมตัวอย่างโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาทำการตัดด้วย Freezing microtome แล้วย้อมด้วยสี Azure II นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบผลึกที่มีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมและหกเหลี่ยม (ภาพที่ 27) จำนวน คิดเป็น 2.5 %

วุ้นสีทศ

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาลอกชั้นผิวด้านใต้ใบ ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้ววางลงบนสีย้อม acid fusine ทิ้งไว้ นาน 5 นาที จากนั้นย้ายชิ้นพืชไปวางลงบนหยดน้ำเพื่อล้างสีส่วนเกิน แล้วหยด Lactophenol ลงบนชิ้นพืชจากนั้นปิดด้วย cover slide นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้อง

จุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบสิ่งแปลกปลอม รูปร่างเป็นผลึกหกเหลี่ยมและตามเหลี่ยม (ภาพที่ 28) จำนวน 8.0% (จากการนับเซลล์พืชที่เป็นโรค 50 เซลล์ จะพบ crystalline จำนวน 4 เซลล์) โดยจะพบผลึก จำนวน 3-4 ผลึกต่อเซลล์ นอกจากนั้นยังพบว่า แวกิวโอลมีขนาดใหญ่กว่าในเซลล์ที่ปกติ

เบญจมาศ

จากการทดลองโดยนำใบพืชที่แสดงอาการมาลอกชั้นผิวด้านใต้ใบ ย้อมด้วยสี Azure II นำไปตรวจดูด้วยลักษณะสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ภายในเซลล์พืชภายใต้กล้องพบผลึกรูปแท่งตรง จำนวน 2 % แวกิวโอลมีขนาดใหญ่และแตก เม็ดคลอโรพลาสต์ มีขนาดใหญ่บิดเบี้ยว และมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและอยู่รวมกันเป็นกระจุกซึ่งจะไม่สามารถเห็นได้ในเซลล์ที่ปกติ



ภาพที่ 1

อาการใบด่างเนื่องจากเชื้อไวรัสของแตงกวาญี่ปุ่น (ซ้าย)
และใบยอดของฟักทองลายข้าวดอกที่ใช้เป็นพืชทดสอบแสดงอาการ
ใบด่างและหยดน หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน (ขวา)



ภาพที่ 2

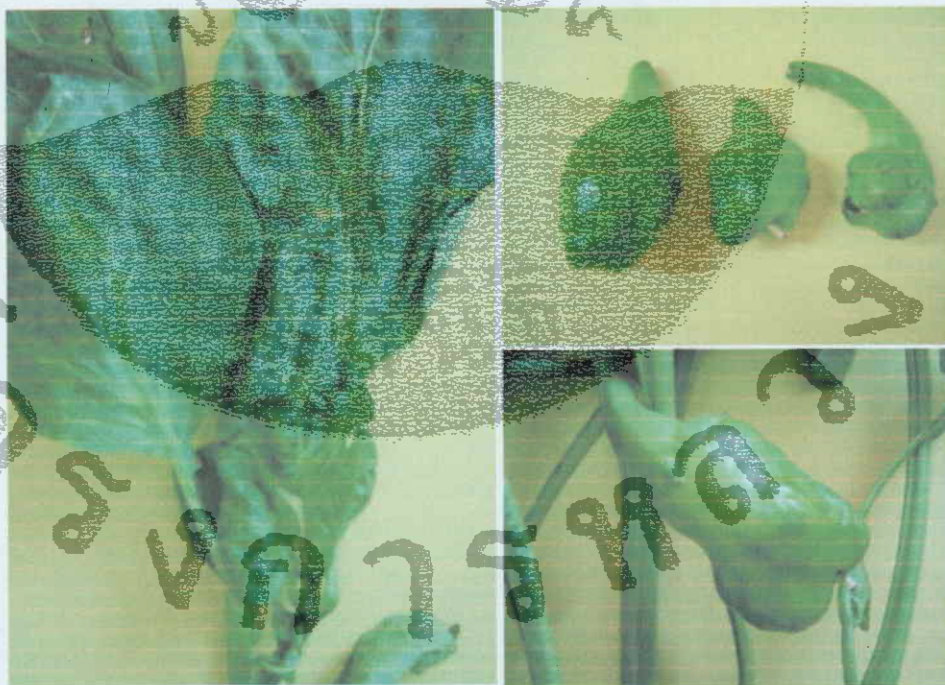
อาการต่างบริเวณใบยอดของชาโยเต้ เนื่องจากการเข้าทำลายของ
เชื้อไวรัส



ภาพที่ 3 พักทองญี่ปุ่นที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย จะแสดงอาการใบด่าง โดยเฉพาะบริเวณยอดจะแสดงอาการใบด่าง หักงอ ไม่เจริญ (บนซ้าย-ขวา) และอาการใบด่างที่เกิดกับแตงกวาที่ใช้เป็นพืชทดสอบ หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน (ล่าง)



ภาพที่ 4 อาการต่างเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสบนใบพริกหวาน (ซ้าย) และ อาการใบด่างที่เกิดกับยาสูบใบเล็กที่ใช้เป็นพืชทดสอบหลังการปลูกเชื้อ 24 วัน (ขวา)



ภาพที่ 5 อาการใบด่าง หักงอ และเส้นใบใส เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสบนใบพริกหวาน (ซ้าย) และ อาการต่าง เนื้อเยื่อตาย ที่เกิดกับผลอ่อนของต้นที่เป็นโรค



ภาพที่ 6

อาการใบด่างเหลือง ของโรคไวรัสใบด่างเหลืองของมะเขือม่วงในแปลงปลูก



ภาพที่ 7

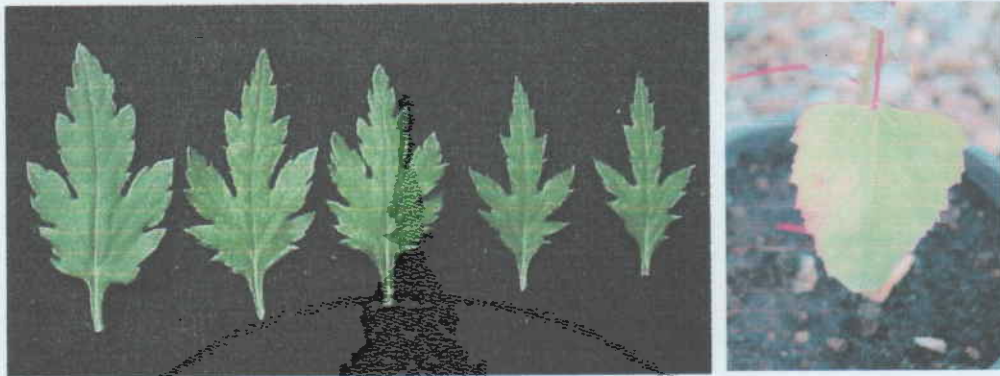
อาการใบด่างเขียวอ่อนตลับเขียวเข้มและมีอาการเส้นใบโต ของมะเขือม่วง



ภาพที่ 8 อาการใบด่างยอดบิดของอิมปีเดียที่เป็นโรคไวรัส (ซ้าย) และอาการแผลตายเฉพาะบนใบที่ปลูกเนื้อเป็นจุดสีน้ำตาลแดงของพืชคัสสอน *Cassia occidentalis* หลังการปลูกเชื้อ 5 วัน

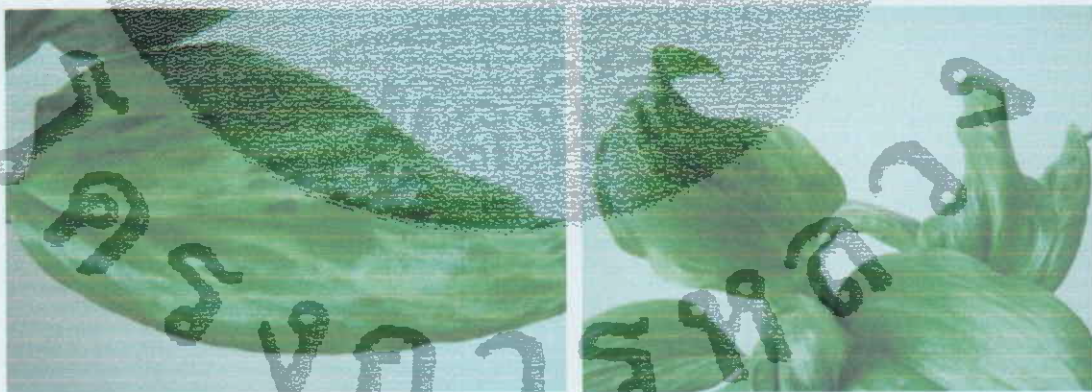


ภาพที่ 9 อาการใบด่างขีดเหลืองของอัลสโตรเมเลียที่เป็นโรคไวรัส (ซ้าย) และลักษณะแผลตายเฉพาะแห่งบนใบ *Chenopodium amaranticolor* หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน



ภาพที่ 10

แสดงอาการใบด่างแบบ Mottling ของเบญจมาศที่เป็นโรคไวรัส (ซ้าย) และลักษณะแผลตายเฉพาะแห่งบนใบ *Chenopodium amaranticolor* หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน



ภาพที่ 11

อาการใบด่างแบบเห็นขอบเขตของสีที่เปลี่ยนไปได้ชัดเจน (บน) และอาการใบยอดบิดเบี้ยว (ล่าง) ของว่านนางคัมที่เป็นโรค เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส



ภาพที่ 12

อาการใบต่างแบบเห็นขอบเขตของสีที่เปลี่ยนไปได้ชัดเจนโดยเฉพาะบริเวณปลานใบ (บน) และ อาการใบยอดต่างพร้อมกับบิดเบี้ยวของต้นใหม่ (ล่าง) ของว่านสีทศที่เป็นโรคเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส



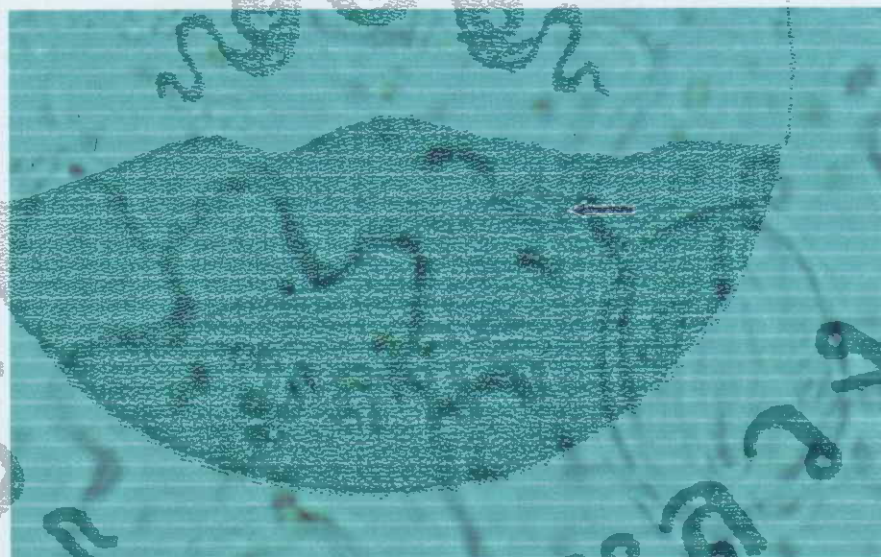
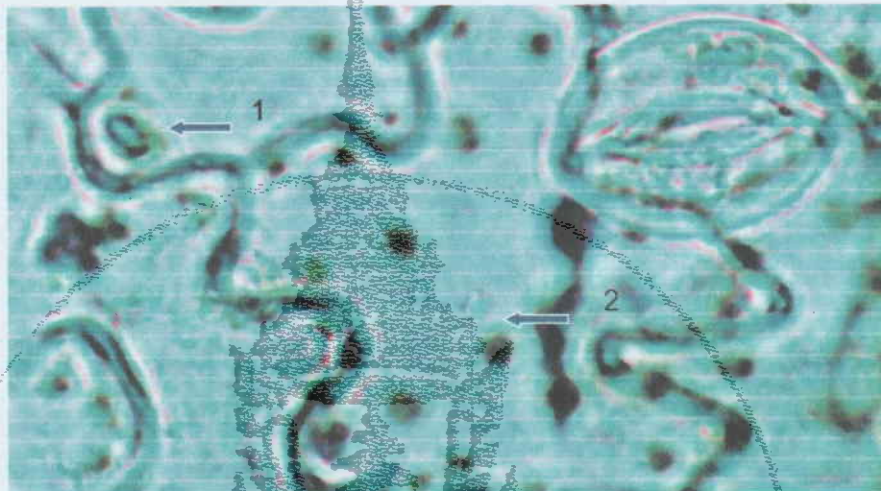
ภาพที่ 13

อาการใบด่างของหน้าวัวที่เป็นโรคเนื่องจากเชื้อไวรัส ที่มีลักษณะเป็น
วงสีเหลืองเล็ก ๆ สลับกับสีเขียวของใบ (บน) ลักษณะของอาการตาย
ของเนื้อเยื่อเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กบนใบยอด (ล่างขวา) และ
ลักษณะอาการ malformation ของแผ่นใบหน้าวัวที่เชื้อไวรัสทำให้การ
สร้างเนื้อเยื่อของใบไม่สมบูรณ์ เนื้อใบหายไป (ล่างซ้าย)



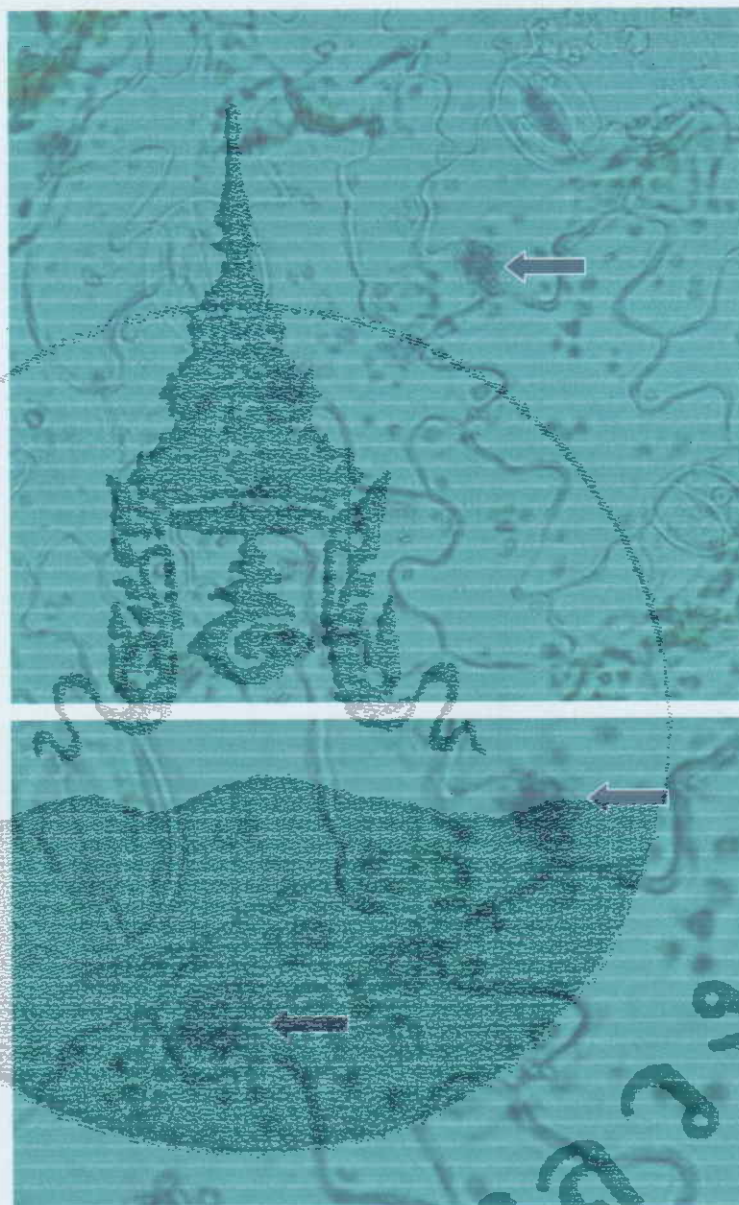
ภาพที่ 14

ใบยอดแสดงอาการใบด่างและบิดเบี้ยว (บน) และเกิดการแตกกอ
มากแต่ยอดไม่เจริญ (ล่าง) ของสแตตีสที่เป็นโรคเนื่องจากการเข้า
ทำลายของเชื้อไวรัส

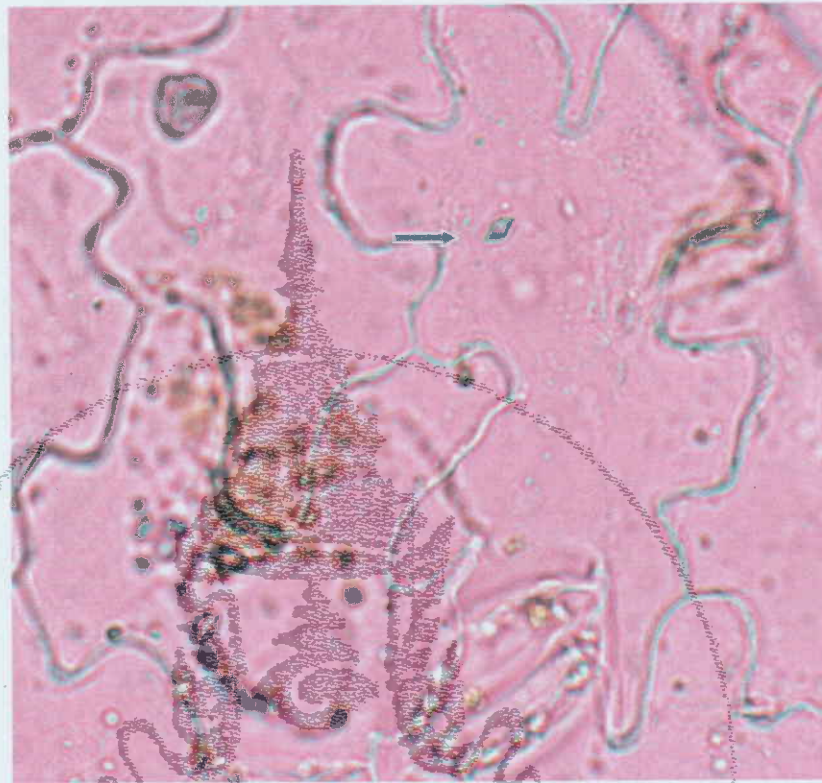


ภาพที่ 15

อาการผิดปกติระดับเซลล์ของพริกหวานที่แสดงอาการใบด่าง พบ
 ผลึกลักษณะหกเหลี่ยม ภาพ side view (ลูกศรที่ 1) และ ภาพ top
 view (ลูกศรที่ 2) และพบลักษณะผลึกแบบเดียวกันนี้ในเซลล์ผิวใบ
 ของพริกหนุ่มที่แสดงอาการใบด่าง เช่นกัน (ลูกศรที่-ล่าง)



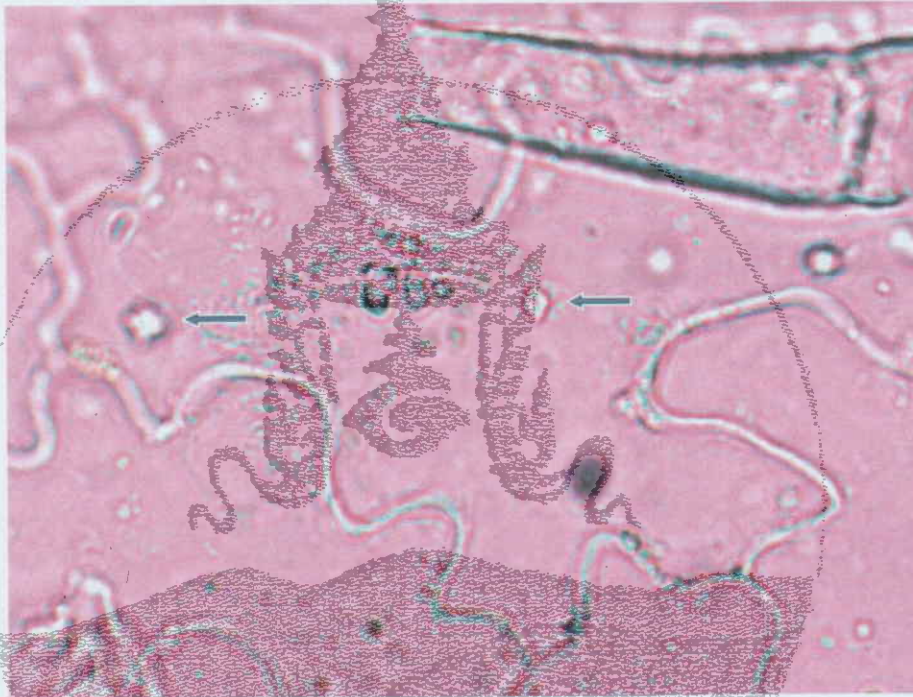
ภาพที่ 16 ความผิดปกติระดับเซลล์ของพริกหวานที่แสดงอาการใบด่าง พบลักษณะของสิ่งแปลกปลอมที่มีรูปร่างไม่แน่นอนเกิดขึ้นภายในเซลล์ผิวใบ (ลูกศรชี้)



ภาพที่ 17 / ลักษณะของinclusion แบบ crystalline bodies รูปหกเหลี่ยม (ลูกศรชี้)
ในเซลล์ของเตงกวาญี่ปุ่นที่แสดงอาการใบด่าง

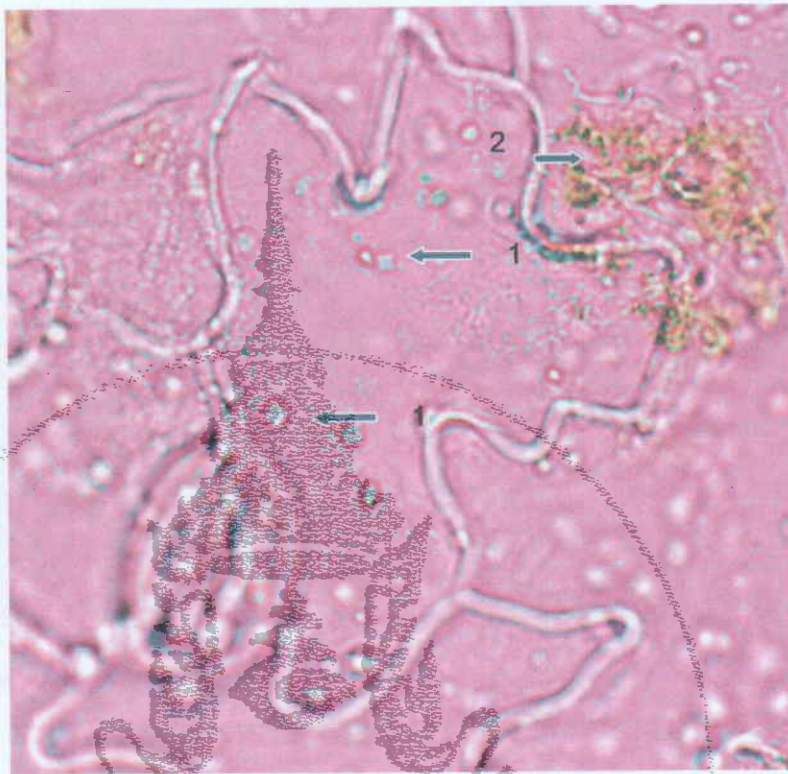


ภาพที่ 18 / ลักษณะของinclusion แบบ crystalline bodies รูปสี่เหลี่ยมขนม
เปียกปูน (ลูกศรชี้) ในเซลล์ผิวใบของผักทองญี่ปุ่นที่แสดงอาการใบด่าง



ภาพที่ 19

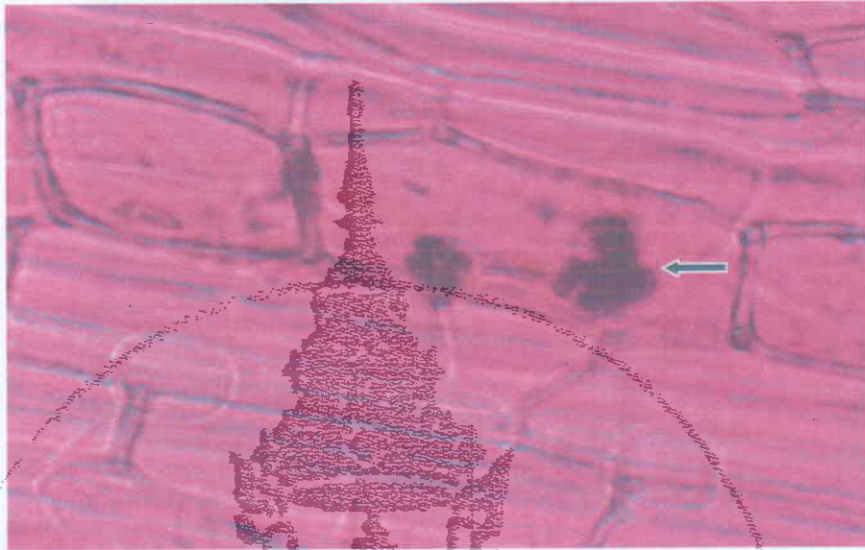
ลักษณะของ crystalline bodies รูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน
(ลูกศรชี้) ภายในเซลล์ผิวใบของมะเขือเทศพันธุ์เชอร์รี่ที่
แสดงอาการใบด่าง



ภาพที่ 20 ลักษณะ crystalline bodies รูปสี่เหลี่ยม ในเซลล์ของมะเขือม่วง
ก้านดำที่แสดงอาการใบต่างเขียว (ลูกศรที่ 1) และคลอโรพลาสต์
แตกเสียหายจับกันเป็นกลุ่ม (ลูกศรที่ 2)



ภาพที่ 21 ลักษณะ crystalline bodies รูปสามเหลี่ยมในเซลล์ของมะเขือ
ม่วงก้านเขียวที่แสดงอาการใบต่างเหลือง (ลูกศรที่ 1)



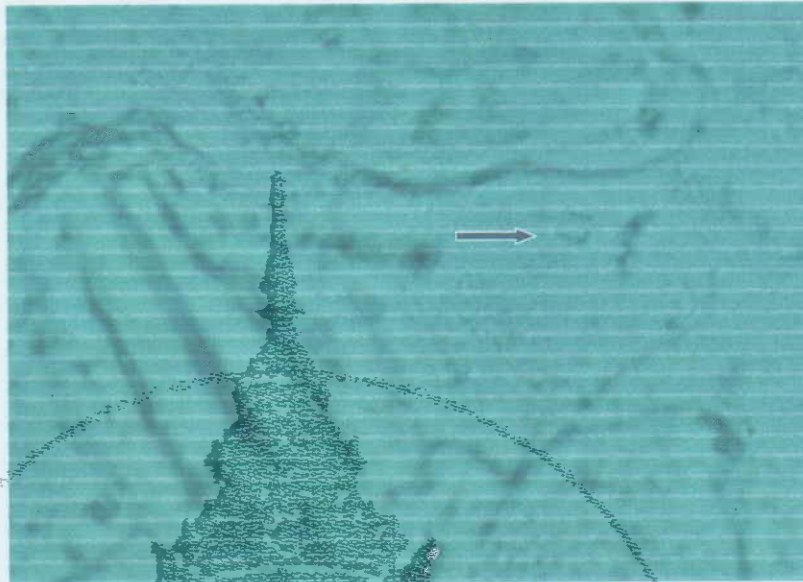
ภาพที่ 22

ลักษณะ inclusion แบบ x-bodies (ลูกศรชี้) ภายใน
เซลล์ของใบกล้วยไม้ชนิดเดียวที่แสดงอาการใบต่าง
ยอดบิด เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อ CyMV

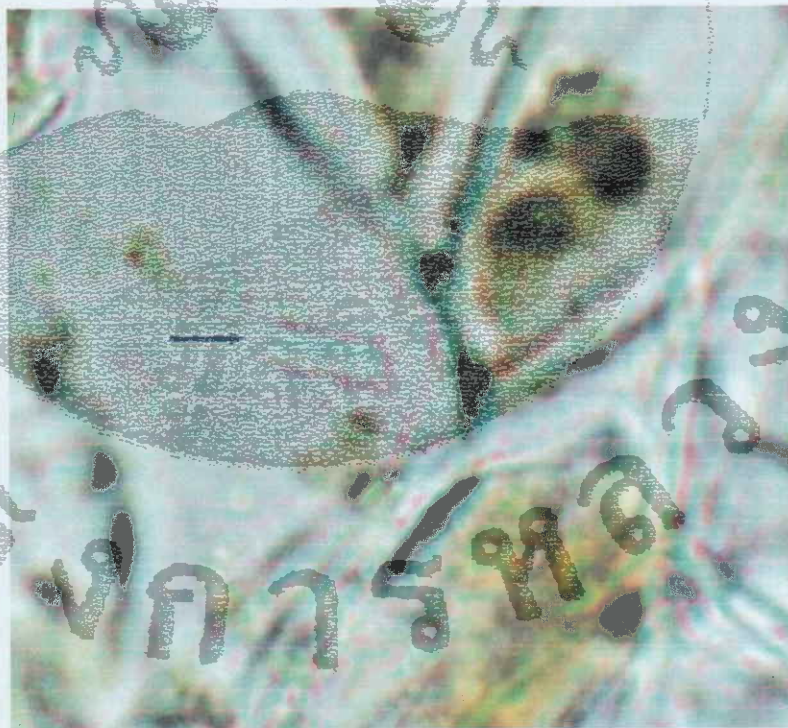


ภาพที่ 23

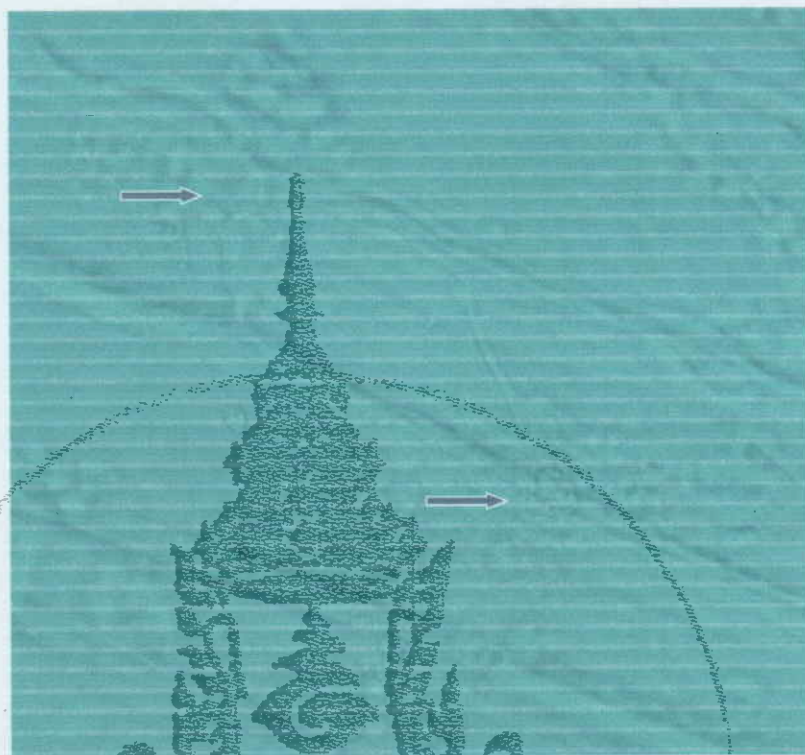
ลักษณะ crystalline bodies ที่มีรูปร่างหกเหลี่ยม (top view
/ ลูกศรชี้) ภายในเซลล์ของดอกไม้อื่นที่เป็นโรคใบต่าง



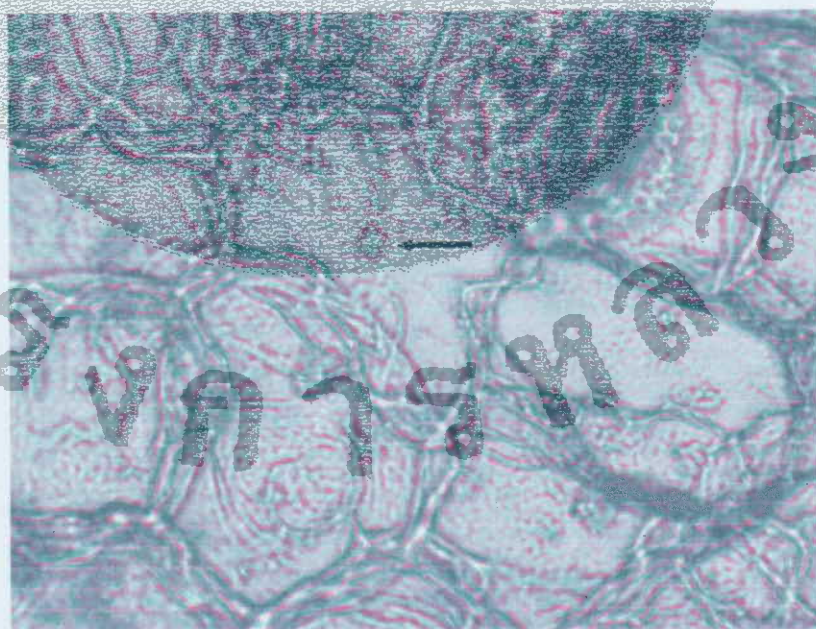
ภาพที่ 24 ลักษณะของผลึกรูปลูกบาศก์ (ลูกศรชี้) ที่พบภายในเซลล์ของอัลสโตรัมเรียที่แสดงอาการใบด่างขีด



ภาพที่ 25 ลักษณะของผลึกรูปแท่งตรง (ลูกศรชี้) และคลอโรพลาสต์ที่แตกเสียหายจำนวนมากในเซลล์ของว่านนางคุ้มที่แสดงอาการใบด่าง



ภาพที่ 26 ลักษณะของ Vacuolate inclusion (ลูกศรชี้) ภายในเซลล์
พอลิเอสเตอร์ของลิลลี่ที่แสดงอาการใบด่าง



ภาพที่ 27 ลักษณะของ crystalline inclusion (ลูกศรชี้) ภายในเซลล์
ผิวใบของหน้าวัวที่แสดงอาการใบด่าง



ภาพที่ 28 ลักษณะของผลึกรูปแท่งหกเหลี่ยม สามเหลี่ยม ที่พบภายในเซลล์
ของว่านสีทศที่แสดงอาการใบด่าง (ลูกศรชี้ บน-ล่าง)



ภาพที่ 29

เพลี้ยอ่อน (บน) และแมลงหวี่ขาว (ล่าง) ที่สามารถเป็นพาหะ
ของเชื้อไวรัสหลายชนิด โดยเฉพาะแมลงหวี่ขาวที่มีระบาดทั่ว
ไปในทุกสถานที่ของมูลนิธิฯ



ภาพที่ 30

พืชประดับ และวัชพืชที่แสดงอาการของโรคที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสที่พบในบางสถานีของมูลนิธิฯ ซึ่งอาจเป็นแหล่งของการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสไปสู่พืชปลูกได้ตลอดเวลา

สรุปและวิจารณ์

1. จากการสำรวจโรคไวรัส พบว่าความรุนแรงของโรคที่จะส่งผลต่อการผลิตจะเกิดช่วงการติดเชื้อในระยะต้นกล้าซึ่งมักมีความอ่อนแอต่อเชื้อแทบทั้งสิ้นโดยเฉพาะในส่วนของพืชผัก ซึ่งส่งผลต่อความรุนแรงของอาการของโรคจนทำให้ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ในที่สุด และโดยที่การถ่ายทอดเชื้อไวรัสส่วนใหญ่มักไม่ถ่ายทอดผ่านเมล็ด ดังนั้นเพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคของพืชผักในช่วงอายุกล้า ควรจัดระบบการเพาะกล้าในโรงเรือนที่สามารถกันแมลงพาหะของเชื้อไวรัส หากสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อในระยะกล้าได้แม้พืชจะสามารถได้รับเชื้อไวรัสเมื่อนำกล้านั้นไปปลูกในสภาพแปลงปลูกแบบเปิดจะทำให้ผลกระทบของการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสต่อผลผลิตลดลง เนื่องจากมีปริมาณของการสะสมของเชือน้อยกว่าการติดเชื้อตั้งแต่ระยะกล้า
2. ในกรณีของเชื้อไวรัสที่สามารถติดมากับเมล็ด เช่น เชื้อไวรัส TMV (*Tobacco mosaic virus*) ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสที่ มักทำให้เกิดอาการ ต่างเขียวเข้ม-เขียวอ่อน ทั้งต่างแบบชัดเจน ไม่ชัดเจน และทำให้เกิดอาการผิดปกติของอวัยวะพืชร่วมด้วยนั้น นอกจากเชื้อจะสามารถถ่ายทอดโรคได้ง่ายโดยวิธีสัมผัส แล้วเชื้อยังสามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดได้ในพืชบางชนิด โดยเฉพาะพืชในตระกูล Solanaceae เช่นเดียวกับเชื้อ CMV (*Cucumber mosaic virus*) ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถถ่ายทอดโรคได้ง่ายโดยมี เพี้ยอ่อนเป็นแมลงพาหะ และสามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดได้ด้วย ในการป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสที่อาจติดมากับเมล็ดพืช อาจทำได้โดยการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์ seed transmission ของเชื้อไวรัสที่ติดมากับเมล็ด โดยการนำเมล็ดมาเพาะในโรงเรือน และตรวจดูลักษณะอาการของโรคไวรัสที่มักแสดงอาการในระยะกล้าได้ และจะเป็นการดีต่อการเฝ้าระวังและการป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อได้มากยิ่งขึ้น
3. สำหรับกรณีของไม้ดอกนั้น ความรุนแรงที่จะมีผลกระทบต่อผลผลิตมีน้อยกว่าพืชผัก แต่จะส่งผลในระยะยาว โดยเฉพาะในกรณีของการเก็บส่วนของแม่พันธุ์ที่มีการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสแล้วติดไปกับส่วนขยายพันธุ์ ซึ่งลักษณะอาการของโรคไวรัสที่ตรวจพบในกลุ่มของไม้ดอกนั้น ส่วนใหญ่พืชจะแสดงอาการผิดปกติของสีที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะสีของใบและดอก ความรุนแรงที่ปรากฏจะขึ้นกับการจัดการและดูแลรักษาเป็นสำคัญ หากพืชได้รับการดูแลจัดการดี อาการที่พบจะน้อย หากปล่อยให้ต้นโทรมอาการของโรคจะทวีความรุนแรงขึ้น

อย่างเห็นได้ชัด อย่างไรก็ตามเชื้อไวรัสจะยังคงสามารถอาศัยและเพิ่มปริมาณอยู่ในต้นพืชที่ติดเชื้อมันได้ตลอดไป และจากการสำรวจยังตรวจพบอาการของโรคในระยะกล้าที่มีการเพาะเมล็ดรวมในระบบเดียวกัน ซึ่งจะทำให้เกิดการติดเชื้อเกิดการปนเปื้อนลามไปทั้งกระบะ โดยการสัมผัสกันของใบหรือรากพืช (Mechanical inoculation) ดังนั้น เพื่อเป็นการเฝ้าระวังและป้องกันโรคไม่ให้เกิดระบาดอย่างกว้างขวาง จำเป็นอย่างยิ่งที่ผู้ปฏิบัติงานดูแลพืชที่จะนำมาใช้เป็นแม่พันธุ์จะต้องรู้และเข้าใจด้านโรคไวรัสเป็นอย่างดี ทั้งเรื่องอาการของโรคที่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า และลักษณะการถ่ายทอดเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของพืชในแต่ละกลุ่มที่รับผิดชอบดูแล

4. พบการระบาดของโรคไวรัสซึ่งส่วนใหญ่สามารถแพร่ระบาดได้โดยมีแมลงเป็นพาหะที่สำคัญ เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว เป็นต้น และจากการสำรวจทำให้พบปริมาณของการเกิดโรคในช่วงหน้าร้อนค่อนข้างมาก เนื่องจากเป็นช่วงที่มีปริมาณและชนิดของแมลงพาหะมาก โดยเฉพาะกรณีของแมลงหวี่ขาวที่มีการระบาดในทุกสถานี (ภาพที่ 29) และยังพบว่าในแปลงปลูกของเกษตรกรมีการปล่อยแปลงให้กร้าง เป็นที่สะสมของโรคและแมลงพาหะของเชื้อไวรัส รวมทั้งการไม่มีความรู้ด้านอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสและการแพร่ระบาด ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการแพร่ระบาดของเชื้อที่สะสมอยู่ในวัชพืชหรือพืชที่ปลูกตกแต่งสถานที่โดยรอบ และเป็นแหล่งของการระบาดของโรคสู่พืชปลูกได้ตลอดเวลา (ภาพที่ 30)
5. โดยทั่วไปการตรวจสอบเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคกับพืชเพื่อจะชี้ชัดถึงชนิดของเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคอย่างแม่นยำนั้นจำเป็นต้องใช้เทคนิคที่ซับซ้อนและเสียค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง ประกอบกับเชื้อไวรัสส่วนใหญ่มักมีการถ่ายทอดเชื้อโดยอาศัยแมลงพาหะ ยิ่งทำให้ยุ่งยากต่อการพิสูจน์สาเหตุโดยใช้วิธีการถ่ายทอดโรค ดังนั้น จากผลการสำรวจลักษณะความผิดปกติของพืชผักและไม้ดอกที่อาจเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส ในสถานีต่าง ๆ ของ มูลนิธิโครงการหลวง รวมถึง ผลการตรวจสอบสาเหตุของอาการโรคที่พบในพืชแต่ละชนิด ทั้งโดยวิธีการพิสูจน์สาเหตุการเกิดโรคโดยวิธีการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบที่ให้อาการทั้งแบบ แผลตายเฉพาะแห่ง และอาการแบบแพร่กระจาย การตรวจดูความผิดปกติระดับเซลล์ของพืชที่แสดงอาการของโรค ตลอดจนการเปรียบเทียบลักษณะอาการของโรคภายนอกที่ปรากฏกับเอกสารอ้างอิง

ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับอาการของโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสในผักและไม้ดอก ทำให้สามารถประเมินถึงข้อสาเหตุของโรค ได้อย่างกว้าง ๆ เท่านั้น อย่างไรก็ตามวิธีการนี้เป็นวิธีการหนึ่งที่เสียค่าใช้จ่ายน้อย ให้ผลค่อนข้างได้ผลดี แต่มีข้อเสียอยู่บ้าง เช่น ยากต่อการควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อการปลูกเชื้อ เช่นอุณหภูมิของโรงเรือนปลูกพืช สภาพของพืชที่นำมาทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งความคงทนของเชื้อไวรัส ซึ่งอาจมีผลต่อการแสดงออกของอาการของพืช และระยะเวลาในการเกิดโรคแตกต่างกันได้ จากการปลูกเชื้อเพื่อถ่ายทอดโรคเปรียบเทียบกับต้นควบคุมจะทำให้สามารถให้บอกได้ว่าในพืชชนิดนั้นมีไวรัสอยู่หรือไม่ แต่ถ้ามีการใช้พืชทดสอบ หลายชนิดมากเพียงพอก็อาจจะทำให้ระบุชนิดของเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้ พบว่าสามารถนำพืชที่มีอยู่ตามธรรมชาติในท้องถิ่นมาใช้ในการพิสูจน์สาเหตุของโรคได้ระดับหนึ่ง ซึ่งเป็นการประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคพืชได้มากขึ้น

6. จากผลการตรวจสอบสาเหตุของความผิดปกติที่อาจเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส โดยอาศัยการตรวจดูอาการของโรค การปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ และ/หรือ ความผิดปกติระดับเซลล์ ดังกล่าวข้างต้น ทำให้สามารถประเมินถึงสาเหตุของโรคได้โดยสังเขป ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สรุปอาการของพืชที่เป็นโรคเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส
และ เชื้อไวรัสสาเหตุของโรค

อาการโรค/พืช	เชื้อไวรัสที่อาจเป็นสาเหตุของอาการโรค
ใบด่างของขลุ่ย	<i>Zucchini yellow fleck virus</i>
ใบด่างพริก (พริกหวาน, พริก หยวก)	<i>Tobacco mosaic virus, Potato virus Y หรือ Cucumber mosaic virus</i>
ใบด่างแตงกวาญี่ปุ่น	<i>Cucumber mosaic virus</i>
ใบด่างฟักทองญี่ปุ่น	<i>Cucumber mosaic virus</i>
ใบด่างเขียวของมะเขือม่วง	<i>Cucumber mosaic virus</i>
ใบด่างเหลืองของมะเขือม่วง	<i>Aifal'a mosaic virus</i>
ใบด่างม่วงของเมลอน	<i>Cucumber mosaic virus</i>
ใบด่าง/ยอดบิด ของเข็มเบญจมาศ	<i>Cymbidium mosaic virus</i>
ใบด่างในเบญจมาศ	<i>Chrysanthemum B carlavirus หรือ Tomato aspermy virus</i>
ใบขีดสีขาวในอัลสโตรอเมียเรีย	<i>Alstroemeria mosaic potyvirus หรือ Alstroemeria streakvirus</i>
ใบด่างวุ้นสีทึบ	<i>Poty virus group</i>
ใบด่างวุ้นนางคุ้ม	<i>Poty virus group</i>
ใบด่างหน้าวัว	<i>Tomato spotted wilt</i>

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณมูลนิธิโครงการหลวงที่ได้ให้การสนับสนุนด้านเงินทุนวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงหัวหน้าศูนย์ สถานีต่าง ๆ ของมูลนิธิฯ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ และเกษตรกร ที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการให้ข้อมูล และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยจนแล้วเสร็จ

เอกสารอ้างอิง

<http://www.Google.com/search?hl=th&ie=UTF-8&9=host+range+of+CMV> (8 ก.ค. 45)

<http://www.orst.edu/Depl/NWREC/zuc.html> (zucchini and summer squash :17 พ.ย. 45)

<http://www.gardenersnet.com/vegetable/zucchini.htm>.(Zucchini : 17 พ.ย. 45)

<http://www.urbanext.uiuc.edu/fiestgarden/planting/dictionary/veggies/zucchini.html>

(Zucchini : 17 พ.ย. 45)

Brunt, A. A., K. Crabtree, M. J. Dallwitz, A. J. Gibbs and L. Watson. 1995. Cucumber Mosaic Cucumovirus. 1484 p.

Burchill, R. T. 1980. Laboratory Methods for Diagnosing Virus Disease of Plants. 26-30 pp.

Dragoljub, D. S., R. E. Ford and M. T. Tosic. 1999. Handbook of Plant Virus Diseases. CRC Press. Washington, D. C., New York. 553 p.

Robinson, R.W. and D.S.Decker-Walters. 1978. Cucurbits. 226 p.

โครงการหลวง. 2533. *Cucurbitaceae* คู่มือส่งเสริมการปลูกพืชผักบนที่สูงของประเทศไทย. หน้า 153-187.

ดวงพร สุวรรณกุล และ รังสิต สุวรรณเขตนิกม. 2544. วัชพืชในประเทศไทย. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 438 หน้า.

ธีระ สุธะบุตร. 2532. โรคไวรัสและโรคคล้ายไวรัสของพืชสำคัญในประเทศไทย. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 129-130.

อนงค์ จันทศรีกุล. 2543. โรคและศัตรูบางชนิดของผักและการป้องกันกำจัดของแตง. 153 หน้า

รายงานการใช้งบประมาณ

รายละเอียดงบประมาณค่าใช้จ่ายของโครงการ แยกตามประเภทหมวดเงิน

งบประมาณที่ใช้เพื่อการวิจัย	ปีที่ 1	ปีที่ 2
ค่าจ้างเก็บข้อมูล	7,500	7,500
ค่าวัสดุเกษตร	20,000	20,000
ค่าสารเคมี	20,000	30,000
ค่าทำรายงาน	5,000	5,000
ค่าเดินทาง (ค่าเดินทางตัดจ่ายให้ฝ่ายยานพาหนะมูลนิธิโครงการหลวง		
รวม	52,500	62,500

โครงการหลวง