การศึกษาสาเหตุและการถ่ายทอดโรคใบหงิกของส้มโอ

Study of Crinkly Leaf Disease and Transmission on Pummelo

แสนชัย คำหล้า กาญจนา วาระวิชะนี

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจแหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญของประเทศไทยที่ปลูกส้มโอพันธุ์ทองดีในพื้นที่ภาคกลาง ในเขตจังหวัดนครปฐม จังหวัดสุโขทัย ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดชัยภูมิ ส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา จังหวัดชัยนาท และส้มโอพันธุ์ทับทิมสยาม จังหวัดนครศรีธรรมราช ทำการเก็บตัวอย่างใบและกิ่งส้มโอที่แสดงอาการใบหงิก ย่น บิดบริเวณขอบใบและมักแสดงอาการโปร่งแสงตามแนวเส้นใบ นำตัวอย่างส้มโอมาทำการติดตาหรือเสียบยอดบนต้นตอส้มโอพันธุ์ทองดีเพื่อใช้เป็นแหล่งเชื้อพันธุ์ และสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่างส้มโอที่แสดงอาการใบหงิกเพื่อตรวจสอบเชื้อสาเหตุด้วยเทคนิคพีซีอาร์พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยคู่ไพรเมอร์ 3202fw/6rev และได้ชิ้นดีเอ็นเอขนาดประมาณ 444 bp จำนวน 24 ตัวอย่าง สำหรับใช้เป็นแหล่งของเชื้อไวรัสเพื่อศึกษาการถ่ายทอดโรคในปี 2561 – 2562

คำหลัก : ส้มโอ, ใบหงิก, crinkly leaf disease, pummelo, pomelo, Citrus grandis,

---

รหัสการทดลอง 03-30-60-01-02-02-04-60

คำนำ

จากผลการศึกษาและสำรวจโรคกรีนนิ่งของส้มโอ อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงรายปี 2555 ในโครงการศึกษาการจัดการปุ๋ยและการระบาดของโรคกรีนนิ่งของส้มโอในแหล่งปลูกพื้นที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงรายนอกจากจะพบความเสียหายที่เกิดจากโรคกรีนนิ่งซึ่งมีผลกระทบทำให้ผลส้มโอร่วงก่อนอายุการเก็บเกี่ยวและผลผลิตไม่มีคุณภาพ สร้างปัญหาอย่างมากมายให้กับเกษตรกรชาวสวนส้มในพื้นที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงรายแล้ว ยังพบโรคของส้มโออีกโรคหนึ่งคือโรคใบหงิก (crinkly leaf disease) และเกษตรกรชาวสวนส้มได้กล่าวว่าที่ผ่านมาพบโรคระบาดเพียงเล็กน้อยประมาณ 5–10 เปอร์เซ็นต์ แต่ปัจจุบันโรคระบาดมากเพิ่มมากขึ้นทุกปี บางสวนพบโรคเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผลผลิตลดลง และต้นที่แสดงอาการใบหงิกรุนแรง ผลส้มโอจะเกิดอาการแข็งด้าน ไม่มีคุณภาพและไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ทางกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้ทำการพิสูจน์เบื้องต้น ตามกรรมวิธีทางไวรัสวิทยา พบเพียงบางตัวอย่างประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่เป็นโรคไวรัสทริสเทซ่า แสดงว่าอาการใบหงิกของส้มโอไม่ได้มีสาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัสทริสเทซ่า แต่อาจเกิดจากเชื้อไวรัสชนิดอื่น แม้ว่าไมตรีและคณะ (2529) ได้รายงานว่าอาการใบหงิกที่เกิดบนมะนาวเป็นอาการชนิดหนึ่งของโรคทริสเทซ่า อาจจะเป็นเพราะมะนาวเป็นพืชตระกูลส้มที่อ่อนแอ (susceptible) ต่อไวรัสทริสเทซ่า ซึ่งถ่ายทอดโรคเพลี้ยอ่อนซึ่งพบได้ทั่วไปในส่วนส้ม จึงตรวจพบเชื้อไวรัสเทริสเทซ่าทุกครั้ง ซึ่งตรงกันข้ามกับส้มโอที่ค่อนข้างทนทาน (tolerant) ต่อเชื้อไวรัสทริสเทซ่าในธรรมชาติ และอาการโรคใบหงิกดังกล่าวมีอาการคล้ายกับโรค Citrus variegation ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส Citrus variegation virus (CVV) ที่เกิดกับพันธุ์ส้ม Palestine sweet lime ประเทศ Costa Rica (Moreira et al., 2011) ต่อมา Loconsole และคณะ (2012) ได้ระบุเชื้อสาเหตุของอาการที่ผิดปกติที่เรียกว่า citrus chlorotic dwarf disease ด้วยเทคนิค Hight-troughput sequencing พบว่าเกิดจากเชื้อไวรัสในวงศ์ของ Geminiviridae และได้เสนอชื่อ *Citrus chlorotic dwarf-associated virus* (CCDaV) ซึ่งทำให้ส้มเกิดอาการใบหงิก (Crinkly leaf) บิดเบี้ยวและด่าง (Chlorotic mottle) ผลผลิตลดลงและไม่มีคุณภาพ สำหรับประเทศไทยโรคนี้ยังไม่มีรายงานมาก่อน นอกจากจะพบเป็นกับส้มโอในพื้นที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงรายแล้ว ยังพบเกิดกับส้มโอในจังหวัดนครปฐม ราชบุรี พิจิตร สุโขทัย นครนายกและปราจีนบุรี และคงจะแพร่ระบาดไปยังจังหวัดอื่นๆอีก โดยนำกิ่งพันธุ์เป็นโรคขยายปลูก ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาและพิสูจน์ว่าอาการใบหงิกที่เกิดบนส้มโอโดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุ์ทองดีว่ามีสาเหตุจากเชื้ออะไรและสามารถถ่ายทอดแพร่ระบาดได้อย่างไร เพื่อจะได้หาแนวทางอย่างมีประสิทธิภาพในการป้องกันและควบคุมโรคต่อไปในอนาคต

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างส้มโอในแหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญ

1.1 เตรียมต้นกล้าส้มสำหรับใช้เป็นพืชทดสอบและเก็บรักษาตัวอย่างส้มโอที่มีอาการใบหงิก ทำการเพาะเมล็ดพันธุ์ส้ม rough lemon และเมล็ดส้มโอทองดี ทำการคัดแยกต้นกล้าและย้ายปลูกหลังเพาะเมล็ดได้ประมาณ 2 เดือน โดยย้ายลงปลูกในถุงปลูกขนาด 6 x 12 นิ้ว ดูและรักษาจนกระทั่งต้นกล้ามีอายุประมาณ 6 – 8 เดือน จึงสามารถใช้เป็นต้นตอสำหรับติดตาส้มโอพันธุ์ขาวทองดีและส้มโอพันธุ์การค้าอื่นปลอดโรค เพื่อใช้เป็นพืชทดสอบในการถ่ายทอดโรคและเก็บรักษาเชื้อสาเหตุอาการใบหงิกที่ได้ไปเก็บมาจากแปลงเกษตรกร

1.2 สำรวจและเก็บตัวอย่างส้มโอในแหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคอีสาน และ ภาคใต้ ในแหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญของภาคต่าง ๆ ได้แก่ ภาคกลางจังหวัดชัยนาท จังหวัดนครปฐม จังหวัดสุโขทัย ภาคอีสานจังหวัดชัยภูมิ และ ภาคใต้จังหวัดนครศรีธรรมราชนำตัวอย่างกิ่งตาส้มโอที่เก็บมาทำการติดตาหรือเสียบยอดต้นต้นตอที่ได้เตรียมไว้ในข้อ 1.1 เพื่อใช้เป็นแหล่งของส้มโอที่แสดงอาการใบหงิกสำหรับใช้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2. การตรวจสอบสาเหตุอาการใบหงิกด้วยเทคนิคโมเลกุล

2.1 นำตัวอย่างส้มโอที่มีอาการใบหงิกที่เก็บรักษาไว้ในข้อ 1.1 มาสกัดสารพันธุกรรมเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบหงิกโดยใช้เทคนิค PCR (Polymerase chain reaction) โดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (GeneUp™ Plant DNA Kit) และนำ มาทำปฏิกิริยาเพื่อเพิ่มปริมาณของชิ้น DNA โดยใช้ไพร์เมอร์ 3202fw/6rev (Loconsole G. *et al.,* 2012) Green master mix (promega®) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร, 10 pmol 320fw primer (GTTCTGTGTTTCGACCCGTT) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 10 pmol 6rev primer (GGGATTCGCATGGATAGCTCATCCAA)ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 7 ไมโครลิตร, ตัวอย่างสารละลายดีเอ็นเอ (DNA template) รวมปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำเข้าเครื่อง Thermal cycle โดยตั้งค่าต่างๆ ดังนี้ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที, จำนวน 1 รอบ จากนั้นตามด้วย 94 องศาเซลเซียส 30 วินาที, 55 องศาเซลเซียส 30 วินาที, 72 องศาเซลเซียส 30 วินาที, จำนวน 30 รอบ, 72 องศาเซลเซียส 7 นาที จากนั้นตรวจแถบดีเอ็นเอด้วยวิธีการ electropheressis ใน 1.0% Agarose gel หากมีเชื้อสาเหตุจะตรวจพบแถบดีเอ็นเอขนาด 444 bp

2.2 การตรวจหาสาเหตุของอาการใบหงิกด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

นำตัวอย่างส้มโอที่มีอาการใบหงิกในข้อ 1.1 มาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนด้วยเทคนิค Brandes' dip โดยบดตัวอย่างใบพืชใน 0.05 M โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.2 บนแผ่นไสลด์ นำกริด (grid) ขนาด 300 mesh (มีช่องสี่เหลี่ยม 300 ช่องต่อตารางนิ้ว) มาคว่ำลงบนน้ำคั้นทิ้งไว้ 1 นาที ใช้คีมคีบกริดขึ้นจากน้ำคั้น ซับส่วนที่เป็นของเหลวรอบกริด หยดน้ำกลั่นลงบนกริดเพื่อชะล้างสารโมเลกุลใหญ่ เช่น

เกลือต่างๆออกไป ทำการย้อมสีแบบ negative staining ซึ่งเป็นการย้อมสีพื้นที่รอบๆ อนุภาคของเชื้อไวรัสด้วย 2% Phosphotungstic acid (PTA) นำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

3. การศึกษาการถ่ายทอดอาการใบหงิกของส้มโอ

3.1 การถ่ายทอดโดยทางบาดแผล

ดำเนินการโดยใช้มีดติดตา/ทาบกิ่ง เฉือนต้นที่เป็นโรคใบหงิกที่ได้จากข้อ 1.1 แล้วเฉือนซ้ำบนต้นพืชที่เตรียมไว้บริเวณหน้ามีดจุดเดิม อาจจะทำเครื่องหมายไว้ ทำประมาณ 10–15 ครั้ง ทำทั้งหมด 10 ต้น ส่วนต้นเปรียบเทียบ (control) ก็ทำเช่นเดียวกัน โดยใช้ต้นส้มปลอดโรคแทนต้นที่เป็นโรคใบหงิกทำ 10 ต้นเช่นเดียวกัน แล้วเก็บไว้ในโรงเรือนกันแมลง เพื่อตรวจผลการทดลอง 1–6 เดือน หลังการปลูกเชื้อ

3.2 การถ่ายทอดโรคโดยวิธีติดตา

ดำเนินการโดยใช้ตาส้มที่เป็นโรคใบหงิกที่ได้จากข้อ 1.1 แล้วนำไปติดตาบนพืชทดสอบที่เตรียมไว้ในโดยติดตาจำนวน 2 ตาต่อต้น ทำทั้งหมด 10 ต้น ส่วนต้นเปรียบเทียบ (control) ทำเช่นเดียวกัน โดยใช้ตาส้มปลอดโรคแทนตาที่เป็นโรคใบหงิกทำ 10 ต้น เช่นเดียวกัน แล้วเก็บไว้ในโรงเรือนกันแมลง เพื่อตรวจผลการทดลอง 1–6 เดือน หลังการปลูกเชื้อ

3.3 การศึกษาเปรียบอาการบนส้มโอ/ส้มเขียวหวาน/มะนาว/มะกรูด

ดำเนินการโดยใช้ตาส้มที่เป็นโรคใบหงิกที่ได้จากข้อ 1.1 แล้วนำไปติดตาบนพืชทดสอบส้มโอ/ส้มเขียวหวาน/มะนาวที่เตรียมไว้ สังเกตอาการและตรวจด้วยเทคนิค PCR (polymerase chain reaction)

- การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลข้อมูลพื้นที่เก็บตัวอย่าง ชนิดพืช
2. บันทึกผลการตรวจหาเชื้อโรคสาเหตุของโรคจากแถบดีเอ็นเอ/ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
3. บันทึกผลการถ่ายทอดโรคจากวิธีติดตา/บาดแผล/
4. บันทึกอาการใบหงิกบนส้มโอ/ส้มเขียวหวาน/มะนาว/มะกรูด
5. สถานที่ทำการทดลอง แปลงเกษตรกรจังหวัดเชียงราย ชัยนาท ชัยภูมิ และ จังหวัดนครศรีธรรมราช

โรงเรือนส้ม ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

6. ทำการบันทึกข้อมูล และจัดทำรายงาน

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2560

สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยาและโรงเรือนทดลอง ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักจาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สืบค้นเอกสาร รายงานที่เกี่ยวข้อง เตรียมต้นกล้า/กิ่งตอน/ตาส้มสำหรับใช้ในการทดลอง

จากสืบค้นเอกสารที่มีรายงานเกี่ยวกับโรคของพืชตระกูลส้มในประเทศไทยยังไม่พบว่ามีเอกสารหรือรายงานเกี่ยวกับสาเหตุของอาการดังกล่าวแต่อย่างใด แม้ว่าไมตรีและคณะ (2529) ได้รายงานว่าอาการใบหงิกที่เกิดบนมะนาวเป็นอาการชนิดหนึ่งของโรคทริสเทซ่า เนื่องจากมะนาวเป็นพืชตระกูลส้มที่อ่อนแอ (susceptible) ต่อไวรัสทริสเทซ่าที่พาหะเพลี้ยอ่อน จึงตรวจพบเชื้อไวรัสเทริสเทซ่าทุกครั้ง ซึ่งตรงกันข้ามกับส้มโอที่ค่อนข้างทนทาน (tolerant) ต่อเชื้อไวรัสทริสเทซ่า (mixed infection) ในธรรมชาติ เมื่อตรวจเอกสารที่มีรายงานในต่างประเทศพบว่าอาการโรคใบหงิกดังกล่าวมีอาการคล้ายกับโรค Citrus variegation ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อไวรัส Citrus variegation virus (CVV) ที่เกิดกับพันธุ์ส้ม Palestine sweet lime ประเทศ Costa Rica (Moreira *et al.*, 2011) นอกจากนั้น Loconsole และคณะ (2012) ได้ระบุเชื้อสาเหตุของอาการที่ผิดปกติที่เรียกว่า citrus chlorotic dwarf disease ด้วยเทคนิค Hight-troughput sequencing พบว่าเกิดจากเชื้อไวรัสในวงศ์ของ Geminiviridae และได้เสนอชื่อ *Citrus chlorotic dwarf-associated virus* (CCDaV) สำหรับประเทศไทยยังไม่มีรายงานของเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดนี้ แต่เชื้อไวรัสทั้งสองชนิดนี้สามารถถ่ายโรคได้ด้วยติดตา เสียบยอด การตอนกิ่ง เช่นเดียวกับกับอาการใบหงิกของส้มโอที่พบในประเทศไทย การเตรียมต้นตอสำหรับใช้เก็บรักษาตัวอย่างส้มโอที่แสดงการใบหงิกที่เก็บมาจากแปลงปลูกส้มโอของเกษตรกรในพื้นที่ต่างๆ ที่ไปสำรวจโดยใช้เมล็ดส้มโอพันธุ์ทองดีซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ทำการเพาะเมล็ดส้มโอพันธุ์ทองดีโดยใช้วัสดุปลูกสูตรไทย-เยอรมัน เพื่อป้องกันปัญหาโรครากเน่าโคนเน่าเมื่อต้นกล้าอายุประมาณ 2 - 3 เดือน ทำการย้ายต้นกล้าใส่ในถุงพลาสติกขนาด 6 x 12 นิ้ว แล้วเก็บรักษาไว้ในโรงเรือนกันแมลงของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช ให้น้ำและปุ๋ยอย่างสม่ำเสมอ เมื่อต้นกล้าส้มโอมีอายุได้ 6–8 เดือน จะใช้เป็นต้นตอสำหรับติดตาหรือเสียบยอดส้มโอที่เก็บมาจากแปลงปลูกส้มโอ เพื่อใช้เป็นแหล่งเชื้อสาเหตุของการใบหงิกสำหรับใช้ศึกษาในขั้นตอนการจำแนกเชื้อสาเหตุในขั้นตอนต่อไป

2. สำรวจและเก็บตัวอย่างส้มโอที่มีการอาการใบหงิก

ได้ดำเนินการสำรวจอาการใบหงิกที่พบในแปลงปลูกส้มโอในแหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญต่าง ๆ ได้แก่ อำเภอเมืองและอำเภอมโนรมย์ จังหวัดชัยนาท อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช และ อำเภอบ้านแท่นจังหวัดชัยภูมิ อาการใบหงิกสามารถสังเกตได้ดีในระยะที่ส้มโอกำลังแตกใบอ่อนไปจนถึงระยะใบเพสลาดและพบว่าจะแสดงอาการได้ดีเมื่ออากาศค่อนข้างเย็น และได้นำตัวอย่างกิ่งส้มโอที่แสดงอาการใบหงิกมาติดตาหรือเสียบยอดบนต้นตอส้มโอพันธุ์ทองดีที่ได้เตรียมไว้ในกิจกรรมที่ 1 ประกอบด้วย ตัวอย่างส้มโอจากจังหวัดชัยภูมิ 4 ตัวอย่าง (CCDaV001,CCDaV002,CCDaV003, CCDaV004) จังหวัดชัยนาท 7 ตัวอย่าง (CCDaV005, CCDaV006, CCDaV007, CCDaV008, CCDaV009, CCDaV0010, CCDaV0011) จังหวัดนครศรีธรรมราช 13 ตัวอย่าง

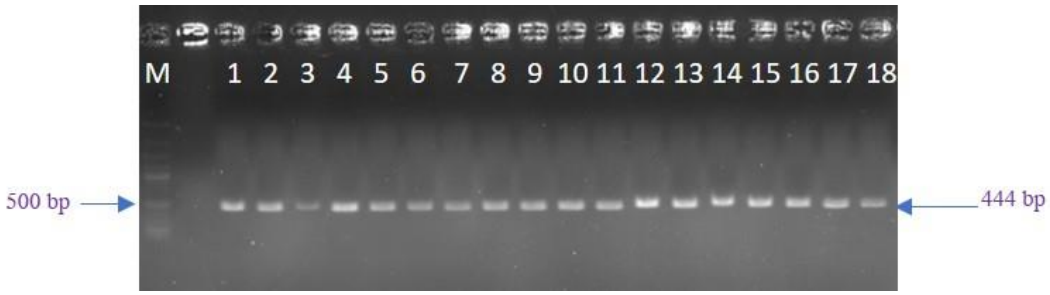
(CCDaV0012, CCDaV0013, CCDaV0014, CCDaV0015, CCDaV0016, CCDaV0017, CCDaV0018, CCDaV0022, CCDaV0023, CCDaV0024, และ CCDaV0025) จังหวัดสุโขทัย 3 ตัวอย่าง (CCDaV0019, CCDaV0020, CCDaV0021) รวม 27 ตัวอย่าง

3. ตรวจสอบเชื้อสาเหตุด้วยเทคนิค PCR และพืชทดสอบ

นำตัวอย่างสารพันธุกรรมจากตัวอย่างส้มโอที่แสดงอาการใบหงิกจำนวน 8 ตัวอย่างที่ได้สกัดไว้ในไตรมาสที่ 3 และสกัดเพิ่มเติมอีก 17 ตัวอย่าง รวม 25 ตัวอย่าง ประกอบด้วยตัวอย่าง CCDaV001, CCDaV002, CCDaV003, CCDaV004, CCDaV005, CCDaV006, CCDaV007, CCDaV008, CCDaV009, CCDaV0010, CCDaV0011, CCDaV0012, CCDaV0013, CCDaV0014, CCDaV0015, CCDaV0016, CCDaV0017, CCDaV0018, CCDaV0019, CCDaV0020, CCDaV0021, CCDaV0022, CCDaV0023, CCDaV0024 และ CCDaV0025 โดยเตรียมอุปกรณ์สำหรับทำปฏิกิริยา PCR และเก็บไว้ในกระติกนำแข็งและจึงเติมสารปฏิกิริยาต่าง ๆ ดังนี้ RNase-Free water 7 µl, PCR buffer (Green master mix) 10 µl, 3202fw primer 1 µl, 6rev primer 1 µl, DNA template 1 µl เมื่อเติมส่วนผสมครบแล้วทำการผสมให้เข้ากันแล้วนำเข้าเครื่อง thermal cycle โดยตั้งโปรแกรมปฏิกิริยาของเครื่อง ดังนี้

94.0 องศาเซลเซียส 5 นาที	จำนวน 1 รอบ
94 องศาเซลเซียส 30 วินาที	
55 องศาเซลเซียส 30 วินาที	จำนวน 30 รอบ
72 องศาเซลเซียส 30 วินาที	
72 องศาเซลเซียส 7 นาที	จำนวน 1 รอบ

เมื่อทำปฏิกิริยาเสร็จแล้วนำไปตรวจหาผลผลิตที่ได้โดยวิธี gel electrophoresis โดยใช้ PCR product 8 µl หยอดลงในช่องของ 1.5% agarose gel นำไปตรวจด้วยเครื่อง ChemiDoc™ Imaging Systems พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอได้ขนาดประมาณ 444 bp (ภาพที่ 1) จำนวน 24 ตัวอย่าง ประกอบด้วยตัวอย่าง CCDaV001, CCDaV002, CCDaV003, CCDaV004, CCDaV005, CCDaV006, CCDaV007, CCDaV008, CCDaV009, CCDaV0010, CCDaV0011, CCDaV0012, CCDaV0013, CCDaV0014, CCDaV0015, CCDaV0016, CCDaV0017, CCDaV0018, CCDaV0019, CCDaV0021, CCDaV0022, CCDaV0023, CCDaV0024 และ CCDaV0025 และสำหรับพืชทดสอบอยู่ระหว่างการเตรียมต้นกล้าสำหรับใช้ในการศึกษาการถ่ายทอดอาการใบหงิกในลำดับต่อไป



ภาพที่ 1 PCR products ขนาดประมาณ 444 bp ของตัวอย่างเชื้อไวรัสจากต้นส้มโอที่แสดงอาการใบหงิก หลังเพิ่มปริมาณด้วยไพรเมอร์ 3202fw/6rev บน 1.5% agarose gel ใน TAE buffer

M = 100 bp DNA ladder
1 = sample CCDaV001
2 = sample CCDaV002
3 = sample CCDaV003
4 = sample CCDaV004
5 = sample CCDaV005
6 = sample CCDaV006
7 = sample CCDaV007
8 = sample CCDaV008
9 = sample CCDaV009
10 = sample CCDaV0010
11 = sample CCDaV0011
12 = sample CCDaV0012
13 = sample CCDaV0013
14 = sample CCDaV0014
15 = sample CCDaV0015
16 = sample CCDaV0017
17 = sample CCDaV0023
18 = sample CCDaV0025

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคแหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญได้แก่ จังหวัดชัยนาท จังหวัดนครปฐม พบอาการใบหงิกในทุกแหล่งปลูกโดยอาการสามารถสังเกตได้ง่ายเมื่อต้นส้มโอแตกใบอ่อน ส่วนในระยะใบแก่ค่อนข้างสังเกตุอาการได้ยากหรืออาการอาจจะหายไป จึงควรสอบถามจากเกษตรกรว่าต้นส้มโอในแปลงมีอาการใบหงิกหรือไม่เพื่อให้สามารถเก็บตัวอย่างได้สะดวก

เอกสารอ้างอิง

ไมตรี พรหมมินทร์, กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร, เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์และนวลจันทร์ ดีมา.2529.ความแตกต่างของลักษณะอาการโรคทริสเทซ่าในมะนาวที่เกิดจาก isolate ที่ต่างกัน. วารสารวิชาการเกษตร ปีที่ 4 เล่มที่ 2 หน้า 143-148.

David, M., R. Areddia and 5.M. Garney.1998. Distribution of Citrus variegation virus within citrus hosts. In : Proc. 10th Conf. IOCV, 322-326. IOCV, Riverside, CA

Moreira, L., F. J. Albertazzi, L. Garita, B. Ortiz and W. Villalobos, 2011. First report of Citrus variegation virus in Palestine Sweet lime, as Coffee Shade in Costa Rica. In: Proc. 18th Conf. IOCV. Page

Roistacher, C.N.1991. Graft-Transmission of Citrus Handbook for detection and diagnosis. IOCV.FAO.286p.

Roy, A., A. Fayad, G. Barthe, and R.H. Brlansky. 2005. A multiplex polymerase chain reaction method for reliable, sensitive and simultaneous detection of multiple virus in citrus tree. J. Virol. Meth. 129: 47-55.

whiteside, J.O., S.M. Garney and L.M. Timmer. 1998. Compendium of Citrus Disease. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. 80p.