

การศึกษาสถานะภาพของเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ
Tomato ringspot virus (ToRSV) ของมะเขือเทศ

Study Situation of *Tomato black ring virus* (ToBRV) and
Tomato ringspot virus (ToRSV) Disease on Tomato

สิทธิศักดิ์ แสนไพศาล^{1/} ชลธิชา รักใคร่^{2/}

^{1/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{2/} กลุ่มกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Progress report

The field survey and samples collection from tomato leaves; Sida, Thepprathan, Cherry, including collect leaves of peppers during October 2016 to September 2017 for detection of *Tomato black ring virus* (ToBRV) and *Tomato ringspot virus* (ToRSV). All of samples were derived from major area of Thailand; 101 samples were collected from Maung district, Phon Phisai district Nong Khai province and Phannanikhom district Sakon Nakhon province. In the area of Hod district, Mae Chaem district, Chai Prakan district, Fang district Chiang Mai province were 126 samples and 146 samples were collected from Maung district, Ban Fang district, Nam Phong district, Si Chomphu district Khon Kaen province; Nam Nao district Phetchabun province; Yang Talat district, Somdet district Kalasin province and Na Klang district Nong Bua Lam Phu province. The samples were tested by indirect ELISA method, the results showed that was not found virus ToBRV and ToRSV. Now This is still in the process of survey and surveillance during October 2517 – to September 2018

รหัสการทดลอง 03-04-59-04-01-00-05-59

รายงานความก้าวหน้า

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างใบมะเขือเทศพันธุ์สีดา เทพประทาน ราชินีและสีดา รวมทั้งได้เก็บตัวอย่างใบของต้นพริก ในระหว่างเดือนตุลาคม 2559-เดือนกันยายน 2560 เพื่อตรวจหาเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ringspot virus* (ToRSV) จากตัวอย่างทั้งหมดในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของประเทศไทย คือ อ.เมือง อ.โพธาราม จ.หนองคาย และ อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร จำนวน 101 ตัวอย่าง ในพื้นที่ อ.ฮอด อ.แม่แจ่ม อ.ไชยปราการและ อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ จำนวน 126 ตัวอย่าง ในเขตพื้นที่ อ.เมือง อ.บ้านฝาง อ.น้ำพอง อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น อ.น้ำหนาว จ.เพชรบูรณ์ อ.ยางตลาด อ.สมเด็จ จ.กาฬสินธุ์ และ อ.นากลาง จ.หนองบัวลำภู จำนวน 146 ตัวอย่าง ทำการตรวจด้วยวิธี indirect ELISA พบว่าผลการตรวจสอบตัวอย่างทั้งหมดไม่พบเชื้อไวรัส ToBRV และ ToRSV ซึ่งตอนนี้ยังอยู่ในระหว่างการสำรวจและเฝ้าระวัง ในระหว่างเดือนตุลาคม 2560-เดือนกันยายน 2561

คำนำ

เนื่องจากในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตรจะต้องมีความตกลงทั่วไปว่าด้วยภาษีศุลกากรและการค้า (General Agreement on Tariff and Trade: GATT) ซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนเป็นองค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ได้กำหนดกฎเกณฑ์และระเบียบเพื่อให้เกิดการค้าเสรีและเป็นธรรม โดยทุกประเทศสมาชิกของ WTO จะต้องปรับลดอัตราอากรขาเข้าลงมาเป็นอันดับแรกสุดของการเปิดการค้าเสรี ในปัจจุบันมาตรการกีดกันด้านภาษีศุลกากรมีแนวโน้มที่จะลดลง เนื่องจากการเปิดเสรีทางการค้าภายใต้เขตการค้าเสรีต่างๆ มีเพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันมาตรการกีดกันทางการค้าที่ไม่ใช่ภาษีศุลกากร (non-tariff barrier, NTB) จะเริ่มมีบทบาทและมีรูปแบบใหม่ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่ง มาตรการที่สำคัญในด้านการเกษตรได้แก่ มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measures : SPS) มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อปกป้องชีวิต และสุขภาพมนุษย์ สัตว์ และพืช เพื่อสร้างความมั่นใจต่อความปลอดภัยด้านอาหาร แต่ต้องไม่ใช่สิทธิอื่นในทางที่เป็นการสร้างข้อจำกัดทางการค้า หรือเลือกปฏิบัติระหว่างประเทศสมาชิกตามอำเภอใจ ซึ่งการนำมาตรการ SPS มาใช้ควรสอดคล้องกับมาตรฐานตามที่องค์กรมาตรฐานระหว่างประเทศกำหนดขึ้น และต้องมีเหตุผล และหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เพียงพอมีการประเมินความเสี่ยง (Risk Assessment) ที่เชื่อถือได้ ซึ่งประเทศคู่ค้ามักนำมาตรการ SPS มาใช้เป็นเครื่องมือในการกีดกันทางการค้ากับสินค้าอาหารประเภทปศุสัตว์ ประมง และพืชผักผลไม้ โดยอ้างการตรวจพบเชื้อโรค โรคแมลง และอื่นๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อภาพลักษณ์ทางการค้าของประเทศ และเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต

ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของ

พืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูของพืชที่นำเข้ามาด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่การเฝ้าระวังโดยทั่วไป (general surveillance) โดยการค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูล ได้แก่ข้อมูลข่าวสารศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ เช่นจาก หน่วยงานภาครัฐ มหาวิทยาลัย ภาคเอกชน ตลอดจนข่าวสารจากแหล่งข้อมูลขององค์กรระหว่างประเทศ เช่น องค์การอาหารและเกษตรแห่งชาติ (Food and Agriculture Organization, FAO) องค์การอารักขาพืชระดับภูมิภาค (Regional Plant Protection Organization, RPPOs) และอื่นๆ การเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveys) สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา (detection surveys) และการสำรวจแบบมีขอบเขต (delimiting surveys) (McMaugh, 2005) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงทั้ง 2 วิธีนั้นนอกจากจะสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่แล้วยังสามารถใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้นๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบ ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่างๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV) แอนติซีรัม
- อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล

- สืบค้นข้อมูลลักษณะของเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV) รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะอาการโรค การเข้าทำลาย การแพร่ระบาด เป็นต้น

- สืบค้นข้อมูลของพืชอาศัยของเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV) ได้แก่ ชนิดของพืชอาศัย ชื่อวิทยาศาสตร์ เป็นต้น

- สืบค้นข้อมูลแหล่งปลูกมะเขือเทศ ได้แก่พื้นที่ปลูก พันธุ์ปลูก

- จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ

โดยรวบรวมข้อมูลลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV) พร้อมรูปภาพเพื่อใช้ตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของลักษณะอาการที่คล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย จัดทำแบบฟอร์มสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูล สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

2. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกมะเขือเทศในเขตพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ วางแผนการสำรวจ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหา กำหนดพื้นที่ ในจังหวัดแต่ละพื้นที่ สำรวจเก็บตัวอย่างใบของต้นมะเขือเทศ รวมทั้งตัวอย่างใบของต้นพริก ที่แสดงอาการคล้ายโรคไวรัสที่เกิดจากเชื้อ *Tomato ringspot virus* (ToRSV) และ *Tomato black ring virus* (ToBRV) ในแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทย ทำการเก็บตัวอย่างในแต่ละพื้นที่ทั้งภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยทำการสุ่มสำรวจแปลงและคัดเลือกจากพื้นที่ที่มีการปลูกมะเขือเทศมากหรือปานกลางในแต่ละจังหวัด ซึ่งวิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละพื้นที่จะมีจำนวนตัวอย่างที่ไม่เท่ากัน เนื่องจากขึ้นอยู่กับจำนวนพื้นที่ปลูกและจำนวนแปลงปลูกในพื้นที่นั้นๆ และการสุ่มเก็บตัวอย่างจะสุ่มเก็บแบบจำเพาะเจาะจง เฉพาะต้นมะเขือเทศและต้นพริกที่แสดงอาการคล้ายไวรัสที่เกิดจากเชื้อ ToRSV และ ToBRV โดยมีรูปแบบการเดินเก็บแบบสุ่มเป็นรูปตัวยูคว่ำและหงายสลับกันไป เป็นหลักการเก็บแบบ grid pattern (Canada/USA PVY-n Management plan) ที่นำมาใช้สุ่มเก็บตัวอย่างในแปลงปลูกมะเขือเทศและปลูกปลูกพริกสำหรับตรวจหาเชื้อไวรัส ToBRV และ ToRSV จะเก็บเฉพาะตัวอย่างที่แสดงอาการที่สงสัยว่าเป็นโรค โดยการเดินสำรวจในแปลงจะหาเฉพาะต้นเป็นโรคเดินแบบ grid pattern จะเดินเป็นรูปตัว U คูแฉกริมตลอดแถวแล้วเดินเว้นไป 10 แถว หรือ 10 เมตร เดินเข้าแถวที่ 10 และ 11 แล้วเดินตลอดแถวมาจนทะลุหัวแถว ขณะเดินสามารถมองสำรวจดูออกไปในรั้วไม้ของแถวที่ 9, 10, 11 และ 12 ได้เป็น 4 แถว เมื่อมาถึงปลายแถวก็เดินขึ้นไปข้างหน้าของแถวที่ยังไม่ได้เดินผ่าน เดินผ่านหัวแถวเว้นไปอีก 10 แถว เดินเข้าระหว่างแถวที่ 20 และ 21 เดินดูได้ อีก 4 แถวคือ 19, 20, 21 และ 22 จึงเดินเป็นรูปตัว U คว่ำหงายชนกันไปตลอดแปลง จากนั้นทำการบันทึกข้อมูลพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ การเก็บตัวอย่างใบจะห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ก่อนเก็บใส่ถุงซิปล้างแล้วบรรจุลงในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง เพื่อรักษาความเย็นก่อนนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Indirect ELISA โดยทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3. การตรวจสอบโรคไวรัสในมะเขือเทศและพริกด้วยเทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

วิธี indirect ELISA ดัดแปลงมาจาก โดยตรวจสอบเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV ด้วยชุด Kit Agdia (Agdia, Inc, Diagnostic center in Elkhart County, Indiana, USA) เตรียม Loading diagram สำหรับการทดสอบ Coat Capture Antibody โดยการเจือจาง Capture Antibody ด้วย Carbonate Coating buffer ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 เท่า (1X) ในอัตราส่วนตามที่ระบุข้างหลอด (ตามคำแนะนำของบริษัท) จากนั้นเติม Capture Antibody ที่เจือจางแล้วลงใน plate ELISA ปริมาณ 100 ไมโครลิตร บ่มในกล่องขึ้นที่ 37°C นาน 4 ชม. จากนั้นล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว บดตัวอย่างใบมะเขือเทศและพริกด้วย General Extract buffer ในอัตราส่วน 1:10 (weight :General Extract buffer) และเติมตัวอย่างพืชที่เป็นโรค (positive control) และตัวอย่างควบคุมน้ำคั้นจากใบมะเขือเทศปกติ (negative control) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงใน plate ELISA บ่มในกล่องความชื้นที่ 37°C นาน 2 ชม. จากนั้นล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว เตรียม Enzyme Conjugate โดยการเจือจางแล้วในปริมาตร 100 ไมโครลิตรด้วย ECI buffer ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 เท่า (1x) ในอัตราส่วนที่ระบุข้างหลอด โดยเตรียมก่อนใช้งาน ประมาณ 10 นาที จากนั้นจึงเติม enzyme conjugate ที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน plate ELISA บ่มในกล่องขึ้นที่ 37°C นาน 2 ชม. แล้วล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว ขั้นตอนต่อไปเติม PNP substrate buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม plate ELISA บ่มในกล่องขึ้นที่ 37°C นาน 30-60 นาที ตรวจสอบผลการทดสอบโดยการดูสีเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ได้แก่ สารละลายบัฟเฟอร์ negative control และ positive control แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย 3 M sodium hydroxide ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตรวจสอบผลของปฏิกิริยาด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Multiskan go (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA.) ซึ่งจะทำการอ่านค่าการดูดกลืนของแสงที่คลื่น 405 นาโนเมตร โดยค่า O.D.405 ที่วัดได้ถือเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของเชื้อไวรัส

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2559 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2561 (รวม 3 ปี)

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล

โรคของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อไวรัสหรือจุลินทรีย์ที่คล้ายมาโคพลาสมาจัดว่าเป็นโรคที่สำคัญ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกและการผลิตมะเขือเทศมาก หากจะเปรียบเทียบกับโรคที่เกิดจากสาเหตุอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจากมะเขือเทศเป็นพืชที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเข้าทำลาย ของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายพืชได้เกือบทุกชนิด ขณะเดียวกันก็จะก่อให้เกิดอาการต่างๆ ขึ้นได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นอาการแผลจุดดวง เป็นเส้นขีดหรือต่างลาย เหลืองขีด แคระ แกรน ผิดรูปผิดร่าง ยอดดาเหี่ยวเฉาแห้ง ใบม้วนงอเป็นคลื่นบิดเบี้ยว หรือหย่นไม่ออกดอกออกผลหรือผลมีลักษณะผิดปกติ (ไทยเกษตร, 2556)

เชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) มีพืชอาศัยหลักคือ *Fragaria chiloensis* (Chilean strawberry), *Malus domestica* (apple), *Nicotiana tabacum* (tobacco), *Pelargonium* (pelargoniums), *Prunus* (stone fruit), *Prunus armeniaca* (apricot), *Prunus avium* (sweet cherry), *Prunus cerasus* (sour cherry), *Prunus domestica* (plum), *Prunus persica* (peach), *Ribes* (currants), *Rubus* (blackberry, raspberry), *Rubus idaeus* (raspberry), *Vitis* (grape), *Vitis vinifera* (grapevine) มีการถ่ายทอดโรคได้ด้วยไส้เดือนฝอย *Xiphinema americanum sensulato* (Dorylaimidae) และถ่ายทอดได้ด้วยวิธีกล ด้วยการปลูกเชื้อ (inoculation), การ grafting และถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด (Oregon.gov, ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์)

เชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) จัดอยู่ใน Family: Comoviridae และ Genus: Nepovirus พบรายงานครั้งแรกพบในมะเขือเทศ ในประเทศอังกฤษ ปี 1946 ต่อมาพบในพืชหลายชนิด รวมทั้งในวัชพืช พืชอาศัยหลักคือ *Allium cepa* (onion), *Allium porrum* (leek), *Apium graveolens* (celery), *Beta vulgaris* var. *saccharifera* (sugarbeet), *Brassica napus* var. *napobrassica* (swede), *Brassica rapa* subsp. *rapa* (turnip), *Capsicum* (peppers), *Cucumis sativus* (cucumber), *Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (globe artichoke), *Fragaria* (strawberry), *Fragaria ananassa* (strawberry), *Gladiolus hybrids* (sword lily), *Lactuca sativa* (lettuce), *Lycopersicon esculentum* (tomato), *Narcissus* (daffodil), *Phaseolus vulgaris* (common bean), *Prunus persica* (peach), *Ribes* (currants), *Rubus* (blackberry, raspberry), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (potato), *Vitis vinifera* (grapevine) เชื้อไวรัสชนิดนี้สามารถถ่ายทอดได้โดยไส้เดือนฝอย Longidorus และสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด ทำให้พืชได้รับผลกระทบตั้งแต่ระยะต้นกล้า ออกดอกและผล CAB International (2007)

2. การสำรวจและเก็บตัวอย่างใบมะเขือเทศ

การสำรวจ เก็บตัวอย่างและตรวจสอบหาเชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) *Tomato black ring virus* (ToBRV) ในมะเขือเทศพันธุ์การค้าที่เกษตรกรปลูก ทั้งปลูกกินสดและส่งโรงงาน คือพันธุ์เทพประทาน ราชินีและสีดา รวมทั้งได้เก็บตัวอย่างใบของต้นพริกด้วยซึ่งพบว่าเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดนั้น สามารถเข้าทำลายต้นพริกได้ด้วย โดยเทคนิคทางเซรุ่มวิทยาโดยใช้แอนติซีรัมที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV ซึ่งผลการตรวจสอบจากตัวอย่างใบมะเขือเทศและตัวอย่างใบของต้นพริกในพื้นที่ใกล้เคียงจากแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทยในเขตพื้นที่ อ.เมือง อ.โพธาราม จ.หนองคาย และ อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร จำนวน 101 ตัวอย่าง ในพื้นที่ อ.ฮอด อ.แม่แจ่ม อ.ไชยปราการ และอ.ฝาง จ.เชียงใหม่ จำนวน 126 ตัวอย่าง ในเขตพื้นที่ อ.เมือง อ.บ้านฝาง อ.น้ำพอง อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น, อ.น้ำหนาว จ.เพชรบูรณ์, อ.ยางตลาด อ.สมเด็จ จ.กาฬสินธุ์ และ อ.นาแก จ.หนองบัวลำภู รวมทั้งหมดจำนวน 146 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดในตัวอย่างใบทั้งหมด โดยสุ่มเก็บใบมะเขือเทศและใบพริกในพื้นที่ใกล้เคียง ที่มีลักษณะอาการคล้ายเชื้อไวรัสสาเหตุ ซึ่งจากการสำรวจพบว่าใบของต้นมะเขือเทศรวมทั้งใบต้นพริก จะมีลักษณะอาการคล้ายไวรัสสาเหตุคือ พบใบมีลักษณะเป็นจุด และขยายออกเป็นวงสีดำ เกิดได้ทั้งบนใบผล และ ลูกกลมทั่วทั้งใบ และมีอาการเป็นดวงขีด (mottle) (ภาพที่ 1)

3. การตรวจสอบเชื้อไวรัสในมะเขือเทศด้วยเทคนิค ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)

หลังสุ่มเก็บตัวอย่างใบมะเขือเทศที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV มาตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA โดยใช้แอนติซีรัมที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ ToRSV และ ToBRV พบว่าจากการตรวจสอบตัวอย่างใบมะเขือเทศและตัวอย่างใบพริกทั้งหมด ไม่พบเชื้อไวรัสทั้งสองชนิด การตรวจสอบเชื้อ ToRSV โดยนำผลการตรวจสอบของตัวอย่างทั้งหมดเปรียบเทียบกับค่า O.D.₄₀₅ ของ Negative control (0.097) พบว่าทุกตัวอย่างใบมะเขือเทศในทุกพื้นที่ ทั้งจากภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในพื้นที่ปลูกที่สำคัญ มีค่า O.D.₄₀₅ อยู่ในช่วง 0.104-0.114 ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัส ToRSV การตรวจสอบเชื้อ ToBRV พบว่าตัวอย่างใบมะเขือเทศทั้งหมด ในทุกตัวอย่างที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างใบมาตรวจสอบหาเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดนั้น ทั้งจากภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในพื้นที่ปลูกที่สำคัญ เปรียบเทียบกับค่า O.D.₄₀₅ ของ Negative control (0.092) มีค่า O.D.₄₀₅ อยู่ในช่วง 0.095-0.098 ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัส ToBRV

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการตรวจสอบเชื้อไวรัสในตัวอย่างโคมะเขือเทศพันธุ์สีดา เทพประทาน เซอร์รี่ ราชินีและสีดา รวมทั้งได้เก็บตัวอย่างใบของต้นพริก ในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของประเทศไทย จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด คือ อ.เมือง อ.โพธิ์ชัย จ.หนองคาย และ อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร จำนวน 101 ตัวอย่าง ในพื้นที่ อ.ฮอด อ.แม่แจ่ม อ.ไชยปราการและ อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ จำนวน 126 ตัวอย่าง ในเขตพื้นที่ อ.เมือง อ.บ้านฝาง อ.น้ำพอง อ.สีชมพู จ.ขอนแก่น, อ.น้ำหนาว จ.เพชรบูรณ์, อ.ยางตลาด อ.สมเด็จ จ.กาฬสินธุ์ และอ.นาแก จ.หนองบัวลำภู รวมทั้งหมดจำนวน 146 ตัวอย่าง ผลการตรวจจากตัวอย่าง ไม่พบเชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) และ *Tomato black ring virus* (ToBRV) กับทุกตัวอย่างโคมะเขือเทศที่สำรวจและเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบ ซึ่งตัวอย่างทั้งหมด ไม่มีความเข้มข้นของปริมาณเชื้อไวรัสเมื่อเปรียบเทียบกับชุด control positive จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างโคมะเขือเทศและพริก ในแต่ละพื้นที่ที่ทำการสำรวจนั้น ไม่มีการระบาดของเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV ซึ่ง ณ ตอนนี้อยู่ในระหว่างการสำรวจและเฝ้าระวังในปี 2561



ภาพที่ 1 ลักษณะอาการของไวรัสที่สำรวจพบในแปลงปลูกมะเขือเทศ

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ringspot virus* (ToRSV) จากตัวอย่างใบมะเขือเทศที่เก็บจากภูมิภาคต่างๆของประเทศไทยด้วยวิธี ELISA

ภูมิภาค	จังหวัด	อำเภอ	จำนวน ตัวอย่าง ทั้งหมด	ผลการตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA	
				เชื้อ TBRV	เชื้อ ToRSV
ภาคเหนือ	เชียงใหม่	ฝาง	23	-	-
		ไชยปราการ	40	-	-
		ฮอด	42	-	-
		แม่แจ่ม	21	-	-
จำนวนตัวอย่าง			126	-	-
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	เพชรบูรณ์	น้ำหนาว	30	-	-
		ขอนแก่น	5	-	-
	กาฬสินธุ์	บ้านฝาง	35	-	-
		น้ำพอง	1	-	-
		สีชมพู	7	-	-
		ยางตลาด	25	-	-
		สมเด็จ	1	-	-
		บ้านลาด	27	-	-
	หนองบัวลำภู	นากลาง	15	-	-
	จำนวนตัวอย่าง			146	-

เอกสารอ้างอิง

- ไทยเกษตร (2556). โรคของมะเขือเทศที่เกิดจากไวรัส. สืบค้นเมื่อวันที่ 16 กรกฎาคม 2557 Web site: <http://www.thaikasetsart.com/>
- CAB International (2007). Crop Protection Compendium. Edition.Wallingford, UK: CAB International. www.cabicompendium.org/cpc
- McMaugh, T. 2005. Guidelines for Surveillance for Plant Pests in Asia and the Pacific. ACIAR Monograph No. 119, 192p.
- Oregon.gov. ODA Commodity Inspection, Plant Health: Tomato Ringspot Virus (ToRSV) สืบค้นเมื่อวันที่ 16 กรกฎาคม 2557 Web site: http://www.oregon.gov/ODA/CID/PLANT_HEALTH/pages/tomato_ringspot_virus.aspx