

ผลการทดลอง

1. การแยกไวรัสบริสุทธิ์และการผลิตแอนติเซรัม

จากการใช้ตัวหุ่นพันธุ์ KC 84-R ตรวจสอบความมีชีวิตของเชื้อ พบว่าตัวหุ่นแสดงอาการจุดสีขีด และ/หรือจุดตายบนใบที่ปลูกเชื้อแล้ว 7 วัน (ภาพที่ 1) และเมื่อใช้ตัวลิสงพันธุ์ไพนาน 9 เป็นพืชเพิ่มปริมาณไวรัส พบว่าตัวลิสงซึ่งปลูกเชื้อสายพันธุ์อ่อน (mild isolate; SB-isolate) แสดงอาการใบต่างวงแหวน (chlorotic ringspot), ค้างใบโอ๊ค (oak leaf pattern) และใบโค้งงอบิดเบี้ยว (ภาพที่ 2) ลูกกลามทั่วทั้งต้น (systemic) เหมือนกับอาการที่แสดงออกบนแหล่งเชื้อเริ่มต้น (source of inoculum)

ผลการแยกไวรัสบริสุทธิ์ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ ICRISAT โดยการเปลี่ยนหม้อหมุนชนิดเหวี่ยงออก (swinging bucket) จาก Beckman SW 27 Rotor เป็น RPS-40T Rotor แทน และเปลี่ยนหม้อหมุนชนิดมุมคงที่ (fixed angle) จาก Beckman R40 Rotor เป็น RP 50-2 Rotor แทน แล้วเพิ่มความเร็วรอบในการหมุนเหวี่ยง แต่ละระยะเวลาหมุนเหวี่ยงลงจากเดิม พบว่าชั้นของไวรัสหลังจากหมุนเหวี่ยงในหม้อหมุนชนิดเหวี่ยงออก ในสารละลายน้ำตาลเข้มข้น 20-60% ครั้งแรกจะอยู่ที่ชั้น 2.2-4.6 ซม. จากก้นหลอด (ภาพที่ 3) ซึ่งเห็นเป็นแถบทึบแสงสีขาวขุ่น และให้ปฏิกิริยาบวกกับ anti-PBNV เมื่อตรวจสอบโดยวิธี DAC-indirect ELISA และเมื่อนำชั้นสีขาวขุ่นดังกล่าวผสมกับสารละลายของตะกอน เพื่อนำไปหมุนเหวี่ยงในชั้นน้ำตาลครั้งที่ 2 (30-60%) เพื่อให้ไวรัสบริสุทธิ์ขึ้น พบชั้นของไวรัสที่ 2.0-3.6 ซม. และพบว่าช่วง 2.8-3.6 จากก้นหลอดมีความเข้มข้นของอนุภาคไวรัสสูงที่สุด เมื่อตรวจสอบโดยวิธี DAC-indirect ELISA (ภาพที่ 3) สารแขวนลอยไวรัสที่ได้จากการละลายตะกอนจากการหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงครั้งสุดท้าย เมื่อนำมาตรวจ absorbance spectrum ในช่วง 200-300 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer พบว่ามีค่าดูดซับแสงสูงสุด (peak

absorbance) ที่ 260 nm โดยให้ค่า absorbance 20-25 หน่วยต่อใบพืชที่ใช้ 100 กรัม (ภาพที่ 4) และให้ค่า A 280/260 เท่ากับ 0.82

สารแขวนลอยไวรัสบริสุทธิ์ที่ได้เมื่อนำมาผลิตแอนติเซรัมในกระต่าย พบว่าแอนติเซรัมที่ได้ทำปฏิกิริยาจำเพาะเจาะจงเฉพาะกับเชื้อ PBNV โดยให้ titer สูงถึง 1:12,800 เมื่อตรวจด้วยวิธี DAC-indirect ELISA (ตารางที่ 1) และการทดสอบแอนติเซรัมที่ได้กับน้ำคั้นของถั่วลิสงปกติ พบว่าสามารถเกิดปฏิกิริยาบวกได้ในช่วงความเจือจาง 1:400 แต่ปฏิกิริยาดังกล่าวจะหมดไปหากผสมน้ำคั้นจากใบพืชปกติลงใน conjugate buffer ที่ใช้ทำเจือจางแอนติเซรัม และบ่มไว้ประมาณ 15 นาที ก่อนที่จะนำไปหยดในหลุมทดสอบ (ตารางที่ 1) การทดสอบใช้แอนติเซรัมที่อัตราเจือจาง 1:3,200 พบว่าแอนติเซรัมที่เก็บครั้งแรกให้ค่า ELISA reading A_{405} เท่ากับ 0.841 ขณะที่แอนติเซรัมที่เก็บครั้งที่ 2 ให้ค่า A_{405} เท่ากับ 0.425 เมื่อใช้น้ำคั้นจากใบถั่วที่เป็นโรคเจือจาง 1:20 ใน coating buffer เป็นแอนติเจน แอนติเซรัมที่เก็บทั้ง 2 ครั้ง ให้ค่า A_{405} ต่ำมากเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำคั้นจากใบถั่วปกติ คือ ให้ค่า -0.008 และ 0.005 ในแอนติเซรัมที่เก็บครั้งแรกและครั้งที่ 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

2. การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานในสภาพไร่

ลักษณะการเจริญเติบโตของถั่วลิสงสายพันธุ์ต่างๆ ที่อายุ 30 และ 60 วัน มีลักษณะดังแสดงในภาพที่ 5 ผลการทดลองพบว่า อัตราการเกิดโรคในทุกสายพันธุ์ ทั้งพืชอายุ 30 และ 60 วันหลังปลูก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) ที่อายุ 30 วันหลังปลูก ถั่วลิสงทุกพันธุ์แสดงอาการถูกเชื้อ PBNV เข้าทำลายเป็นจุดต่างวงแหวนบริเวณใบตอนล่าง และมีบางต้นแสดงอาการยอดไหม้ ลักษณะเดียวกับพันธุ์งวงน้ำเย็นใน infector row (ภาพที่ 6) โดยมีอัตราการเกิดโรคสูงสุด 36.49% ในพันธุ์งวงน้ำเย็น (Wang Namyen) และต่ำสุด 1.67% ในพันธุ์ 2134-I (48)B นอกจากพันธุ์ 2134-I (48)B แล้ว พันธุ์อื่นๆที่มีอัตราการเกิดโรคต่ำ ได้แก่ ICGV 86388, 2192-6(65), ICGV 86031, 86012 x 86030 (Tan), IC 10, ICGV

86300 และ ICGV 86363 มีอัตราการเกิดโรค 3.14, 3.21, 5.49, 5.58, 6.00, 6.33 และ 7.04% ตามลำดับ

การประเมินอัตราการเป็นโรคที่ 60 วันหลังปลูก ให้ผลคล้ายกับอัตราการเกิดโรคที่ 30 วันหลังปลูก ถั่วที่เป็นโรคทั้งหมดในระยะ 60 วันหลังปลูกนี้ แสดงเฉพาะอาการยอดไหม้ ซึ่งเป็นอาการประเภทยุทศาสตร์ (systemic symptom) พันธุ์ที่มีอัตราการเกิดโรคสูงสุด 23.02% คือ พันธุ์วังน้ำเย็น และต่ำสุด 0.57% คือ พันธุ์ IC10 นอกจากนี้ยังมีพันธุ์อื่นๆที่มีอัตราการเกิดโรคต่ำ ได้แก่ ICGV 86388, 2134-I (48)B, 2192-8 (50), 2192-6 (65), IC 34 และ ICGV 86031 มีอัตราการเกิดโรค 0.66, 2.88, 3.26, 4.00, 4.04 และ 4.98% ตามลำดับ

และสังเกตพบว่าถั่วลิสงที่เป็นโรคในระยะนี้ 18 สายพันธุ์ มีอัตราการเกิดโรคลดลง จึงได้กระทำการคัดถั่วลิสงจำนวน 13 พันธุ์ที่มีอัตราการเกิดโรคต่ำกว่า หรือเท่ากับ 10.19% ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 7 เพื่อนำไปทดสอบความต้านทานเชื้อในสภาพเรือนทดลอง

สำหรับจำนวนเพลี้ยไฟที่ตรวจพบในแต่ละพันธุ์หลังปลูกถั่วลิสง 30 วัน เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) แต่เมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างจำนวนประชากรของเพลี้ยไฟกับจำนวนต้นที่แสดงอาการยอดไหม้ ไม่พบว่ามีสหสัมพันธ์ต่อกัน คือ $r = 0.0871$ และเมื่อจำแนกชนิดของเพลี้ยไฟ พบว่าเพลี้ยไฟที่ตรวจพบส่วนใหญ่เป็น *Scirtothrips dorsalis* (ภาพที่ 8) ซึ่งพบในอัตราสูงสุด 8.5 ตัวต่อ 10 ใบยอดในพันธุ์โพนาน 9 และน้อยที่สุด 0.75 ตัวต่อ 10 ใบยอดในพันธุ์ 2134-I (48)B รองลงมาคือ พันธุ์ 2169-5(9) และ IC 34 ซึ่งมี 1 ตัวต่อ 10 ใบยอดเท่านั้น สามารถตรวจพบเพลี้ยไฟดังกล่าวบนต้นโองเหง (*Physalis minima*) และวัชพืชในแปลงทดสอบ สำหรับ *Thrips palmi* (ภาพที่ 9) ส่วนใหญ่พบบนแดงไทยซึ่งปลูกอยู่ข้างเคียงแปลงทดสอบ แต่พบในถั่วลิสงน้อยมาก พันธุ์ถั่วลิสงที่พบ *T. palmi* ในช่วงอายุ 30 วันหลังปลูก ได้แก่ IGT 18, JL 24, วังน้ำเย็น, SK 38, IGT 45 และ IC 23 พบเพลี้ยไฟจำนวน 4, 3, 2, 2, 1 และ 1 ตัวต่อ 40 ใบยอด ตามลำดับ

3. การทดสอบความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ PBNV

3.1 ปฏิกริยาที่แสดงออกบนใบที่ได้รับการปลูกเชื้อ

การทดสอบความต้านทานของถั่วลิสงต่อการเข้าทำลายของเชื้อ PBNV 3 ไอโซเลตที่มีระดับความรุนแรงแตกต่างกัน (ภาพที่ 10 และ 11) พบว่าหลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน ถั่วลิสงแสดงอาการแผลตายสีน้ำตาลขนาดใหญ่ลักษณะเป็นเนื้องาน (necrotic patch) บนใบที่ได้รับการปลูกเชื้อสายพันธุ์ Severe จากอุตรธานี (UD-isolate) และสายพันธุ์ moderate จากนครราชสีมา (NR-isolate) ในทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น (1:10 และ 1:100) (ภาพที่ 12a และ 13) ยกเว้นสายพันธุ์ IC 10, IC 34, ICGV 86031, ICGV 86388 และ ICGV 86363 แสดงอาการจุดตายขนาดเล็ก (pin point necrotic) (ภาพที่ 12b) และพันธุ์ IC 10 แสดงอาการแผลจุดตายขนาดเล็กร่วมกับอาการจุดตายวงแหวน (ภาพที่ 14) สำหรับปฏิกริยาต่อเชื้อสายพันธุ์ mild จากสิงห์บุรี (SB-isolate) ซึ่งเป็นเชื้อสายพันธุ์อ่อน พบว่าค่อนข้างแตกต่างจากปฏิกริยาต่อ 2 สายพันธุ์แรก คือ พันธุ์ที่ได้รับการปลูกเชื้อส่วนใหญ่แสดงอาการด่างวงแหวน (chlorotic ringspot) (ภาพที่ 12c) ยกเว้น IC 10, IC 34, ICGV 86031, ICGV 86388 และ ICGV 86363 ที่แสดงอาการจุดสีซีดขนาดเล็ก (pin point chlorosis) (ภาพที่ 12d) อาการดังกล่าวจะเหมือนกันในทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น เมื่อตรวจผลหลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน

3.2 ปฏิกริยาของพืชต่อการแสดงออกของอาการแบบกระจายทั่วทั้งต้น (systemic infection)

หลังจาก 14 วัน พืชที่ได้รับการปลูกเชื้อซึ่งแสดงอาการติดเชื้อ (localized infection) บนใบที่ได้รับการปลูกเชื้อ (ตารางที่ 4) บางส่วนจะเริ่มแสดงอาการแบบแพร่กระจายทั่วทั้งต้น (systemic symptom) และจากการตรวจผลครั้งสุดท้ายที่ 60 วัน หลังปลูกเชื้อ พบว่าถั่วพันธุ์อ่อนมาตรฐาน JL 24, Tainan 9 และวังน้ำเย็น แสดง

อาการแบบแพร่กระจายทั่วทั้งต้น 100, 75 และ 25% ตามลำดับ เมื่อได้รับการปลูกเชื้อสายพันธุ์ severe จากอุตุธานี ที่ระดับความเข้มข้น 1:10 (ตารางที่ 5 และภาพที่ 15) ขณะที่สายพันธุ์ดังกล่าวแสดงอาการเป็นโรคเพียง 40, 20 และ 20% ตามลำดับ เมื่อได้รับเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 1:100 (ตารางที่ 5 และภาพที่ 16) เชื้อทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นไม่ทำให้พันธุ์ 2192-8(50), 2169-5(9), IC 10, IC 34, ICGV 86031, ICGV 86388 และ ICGV 86363 แสดงอาการเป็นโรค และการตรวจการติดเชื้อหลังจากปลูกเชื้อ 30 วัน โดยวิธี DAC-indirect ELISA ให้ผลลบ แสดงว่าไม่มีการติดเชื้อในลักษณะ latent infection ด้วย

สำหรับปฏิกิริยาต่อเชื้อสายพันธุ์ moderate จากนครราชสีมา พบว่าสายพันธุ์ถั่วลิสงส่วนใหญ่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้ออย่างน้อยที่ระดับความเข้มข้น 1:10 ยกเว้นพันธุ์ ICGV 86363 ที่ไม่แสดงอาการเมื่อได้รับการปลูกเชื้อในทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น สำหรับพันธุ์ที่เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อต่ำที่เชื้อความเข้มข้น 1:10 และไม่ติดเชื้อเลยที่ความเข้มข้น 1:100 ได้แก่ IC 10 และ IC 34 ขณะที่พันธุ์ ICGV 86388 ไม่พบว่าติดเชื้อเมื่อได้รับการปลูกเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 1:10 แต่มีบางต้นแสดงอาการเมื่อปลูกเชื้อความเข้มข้น 1:100 (ตารางที่ 5 และภาพที่ 15, 16) สำหรับพันธุ์อ่อนแอมาตรฐานพบว่าพันธุ์ JL 24, Tainan 9 และวังน้ำเย็น ติดเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 1:10 เท่ากับ 90, 100 และ 100% ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1:100 เท่ากับ 100, 90 และ 90% ตามลำดับ และการตรวจการติดเชื้อในต้นถั่วทุกสายพันธุ์ที่ไม่แสดงอาการติดเชื้อแบบแพร่กระจายทั้งต้นหลังจากปลูกเชื้อ 30 วัน โดยวิธี DAC-indirect ELISA ให้ผลเป็นลบ แสดงว่าไม่มีการติดเชื้อในลักษณะ latent infection ด้วย

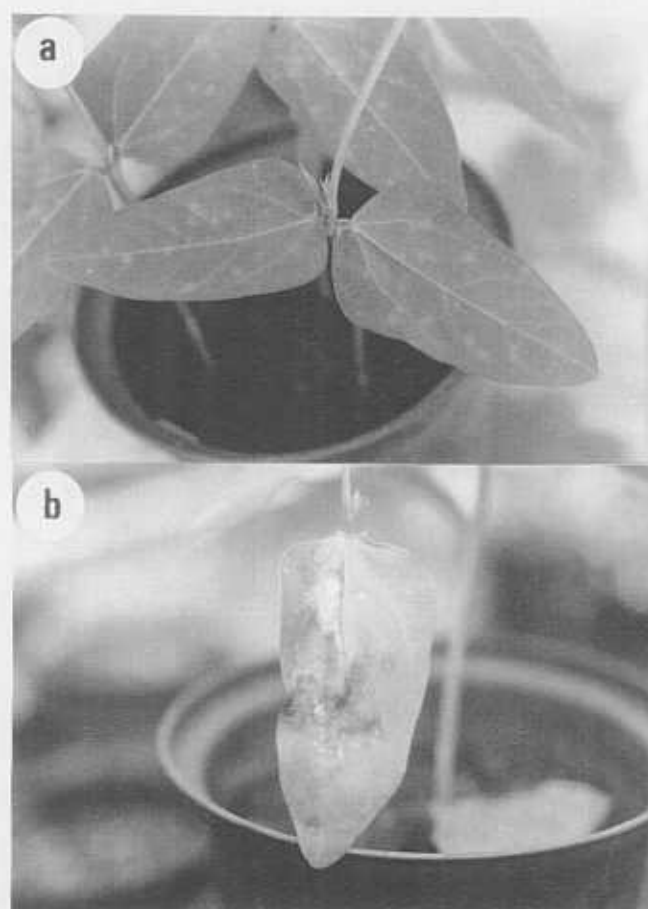
ส่วนการแสดงปฏิกิริยาความต้านทานต่อเชื้อสายพันธุ์ mild จากสิงห์บุรี พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1:10 ทุกพันธุ์แสดงอาการ systemic สูงเกือบทุกพันธุ์ ยกเว้นพันธุ์ IC 10 แสดงอาการ 10%, IC 34 แสดงอาการ 20%, ICGV 86031 แสดงอาการ 30% ขณะที่ IC 14, IC 42, ICGV 86388 และ ICGV 86363 แสดงอาการ 40% (ตารางที่ 5 และภาพที่ 15, 16) มีข้อน่าสังเกตในสายพันธุ์ IC 10 และ 2169-5(9) ที่การแสดงออกของอาการค่อนข้างช้ากว่าสายพันธุ์อื่น คือ ตรวจไม่พบอาการ systemic ที่ 30 วัน (โดยวิธี DAC-indirect ELISA) แต่พบอาการดังกล่าวเมื่อตรวจอีกครั้งที่

60 วันหลังปลูกเชื้อ แสดงให้เห็นถึงการเกิด latent infection ของเชื้อสายพันธุ์นี้ (ภาพที่ 17 และ 18) สำหรับพันธุ์อ่อนแอมาตรฐานทั้ง 3 พันธุ์ พืชจำนวนทั้งหมดแสดงอาการแบบ systemic ส่วนการแสดงผลปฏิกิริยาด้านทานต่อเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 1:100 พบว่าเกือบทุกพันธุ์ไม่แสดงอาการติดเชื้อแบบ systemic และตรวจไม่พบไวรัสแอนติเจน ยกเว้นพันธุ์ 2169-5(9) สำหรับพันธุ์อ่อนแอมาตรฐานพบเพียงพันธุ์ Tainan 9 และ วังน้ำเย็น แสดงอาการติดเชื้อแบบ systemic จำนวน 10% เท่านั้น (ตารางที่ 5 และ ภาพที่ 16)

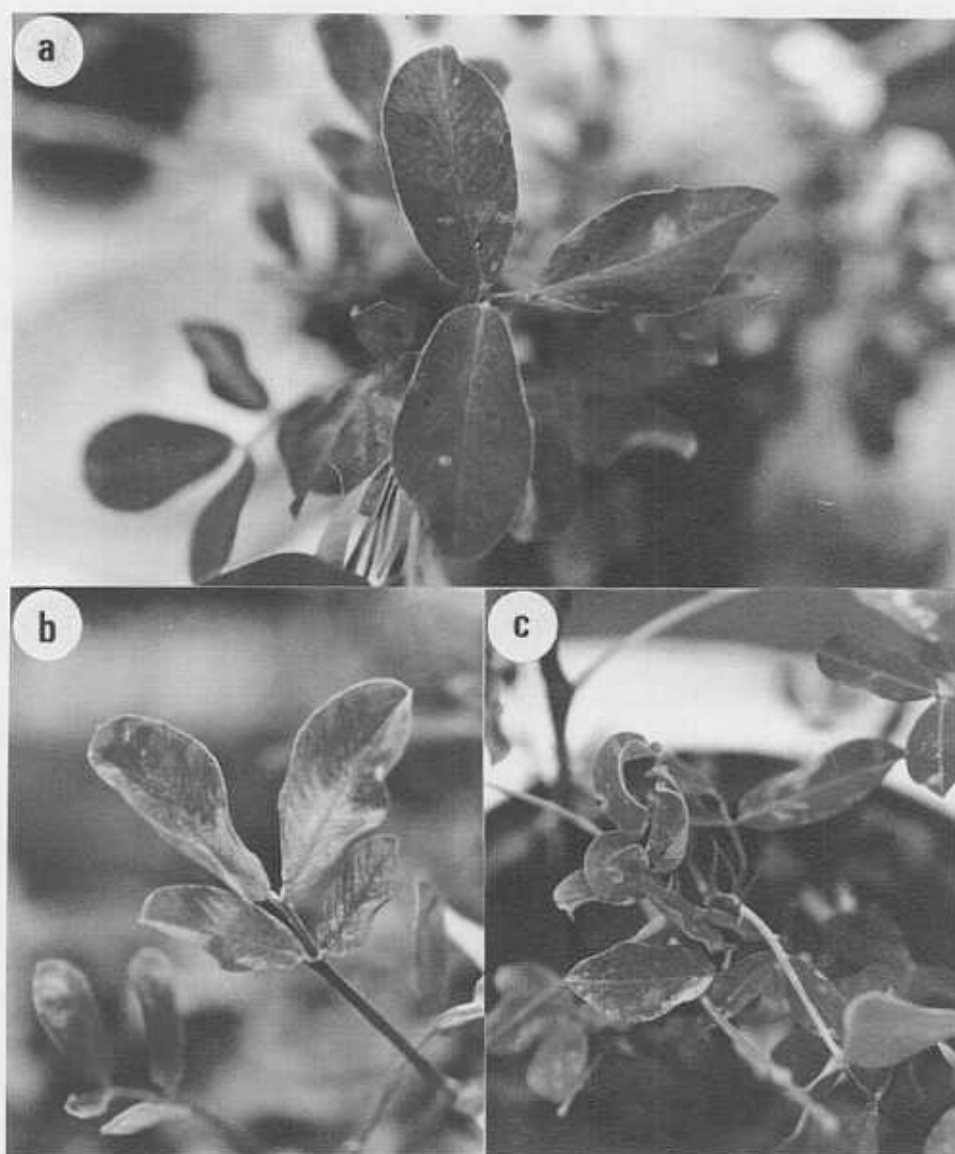
4. การศึกษาลักษณะทางเกษตร (agronomic traits) บางประการ

ผลการทดสอบลักษณะทางเกษตรของถั่วลิสง 13 พันธุ์ ที่แสดงความต้านทานในสภาพไร่ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าลักษณะทางเกษตร 5 ลักษณะ ซึ่งได้แก่ น้ำหนักฝักแห้ง (กิโลกรัม/ไร่), น้ำหนักฝักแห้งต่อต้น (กรัม/ต้น), น้ำหนักเมล็ด (กรัม/ต้น), ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด) และเปอร์เซ็นต์กะเทาะ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6) โดยพบว่าพันธุ์ ICGV 86388 และ IC 34 เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะของน้ำหนักฝักแห้ง (กิโลกรัม/ไร่), น้ำหนักฝักแห้งต่อต้น (กรัม/ต้น) และน้ำหนักเมล็ด (กรัม/ต้น) สูง เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์เปรียบเทียบ คือ Tainan 9, Khon Kaen 60-1 และวังน้ำเย็น ส่วนพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การกะเทาะสูงสุด คือ พันธุ์ IC 10 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 76.62% แต่เป็นพันธุ์ที่มีน้ำหนักขนาด 100 เมล็ดต่ำ ขณะที่พันธุ์ IC 42 มีขนาดเมล็ดใหญ่ที่สุด คือ 42.50 กรัมต่อ 100 เมล็ด เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ Tainan 9, Khon Kaen 60-1 และวังน้ำเย็น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 34.50, 38.00 และ 30.00 กรัมต่อ 100 เมล็ด ตามลำดับ

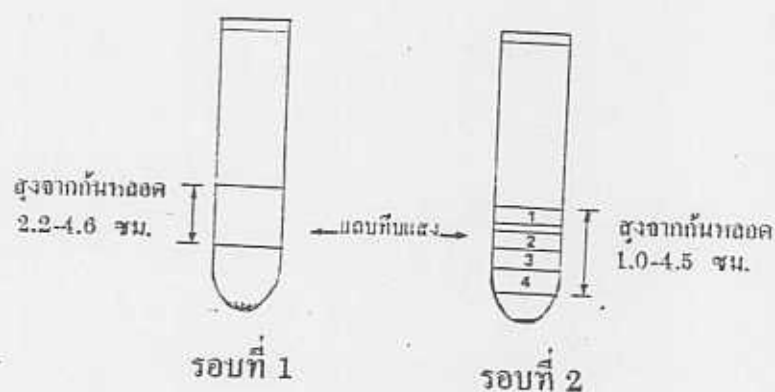
ตารางที่ 7 สรุปจำนวนสายพันธุ์ที่แสดงอาการเป็นโรคยอดไหม้ต่ำกว่า 10% ในสภาพไร่ เมื่ออายุ 60 วัน และน้ำหนักฝักแห้ง (กิโลกรัม/ไร่), ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด) และเปอร์เซ็นต์กะเทาะ และภาพที่ 19 แสดงลักษณะฝักและเมล็ดของ 3 สายพันธุ์ที่มีระดับความต้านทานต่อเชื้อ PBNV สูง ทั้งในสภาพไร่และเรือนทดลอง



ภาพที่ 1 ต้นพันธุ์ KC 84-R แสดงอาการจุดสีน้ำตาล (a) และอาการจุดพวย (b)
หลังจากปลูกเชื้อ PBNV จากต้นลิสง 7 วัน

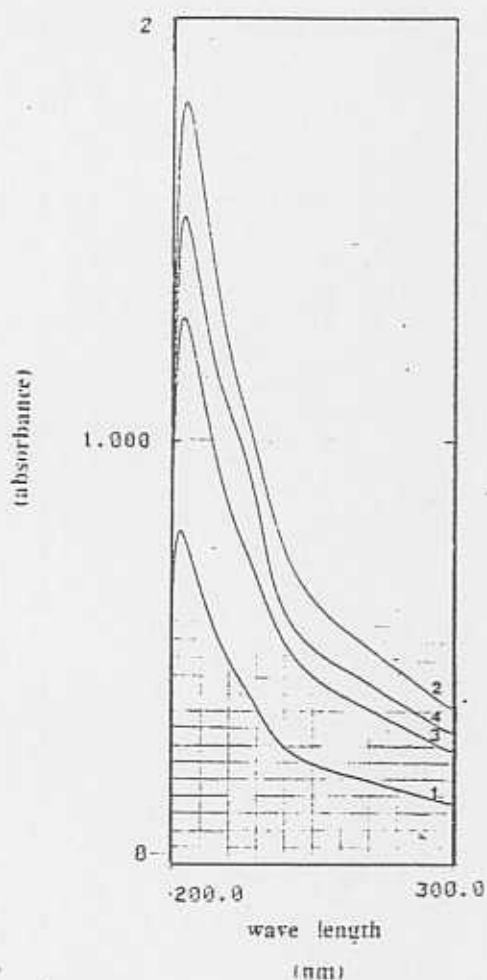


ภาพที่ 2: ถั่วลิสงพันธุ์โหนด 9 แสดงอาการใบต่างวงแหวน (a) ข้างใบโอด (b) และ
ใบโค้งงอบิดเบี้ยว (c) หลังจากปลูกเชื้อ PBNV สายพันธุ์อ่อน (SB-isolate)
30 วัน



ภาพที่ 3 แถบทึบแสงที่นำไปตรวจหาเชื้อ PBNV หลังจากผ่านการหมุนเหวี่ยงในสารละลาย น้ำตาลเข้มข้น 20-60% ที่แรงเหวี่ยง 111,100 g นาน 40 นาที (รอบที่ 1) และในสารละลายน้ำตาลเข้มข้น 30-60% ที่แรงเหวี่ยง 111,100 g นาน 2 ชม. (รอบที่ 2)

- 1 = ชั้นที่สูงจากก้นหลอด 3.8-4.5 ซม.
- 2 = ชั้นที่สูงจากก้นหลอด 2.8-3.6 ซม.
- 3 = ชั้นที่สูงจากก้นหลอด 2.0-2.8 ซม.
- 4 = ชั้นที่สูงจากก้นหลอด 1.0-2.0 ซม.



ภาพที่ 4 แสดงค่า absorbance spectrum ของตะกอนเชื้อ PBNV ที่ผ่านการทำเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี density gradient ร่วมกับ differential centrifugations. (ตะกอนได้จากการนำชั้นเห็บแสงที่อยู่ในระยะต่างกันจากกันหลอด)

หมายเหตุ : 1 = 3.8-4.5 ซม., 2 = 2.8-3.6 ซม., 3 = 2.0-2.8 ซม. และ 4 = 1.0-2.0 ซม. เฉพาะตะกอนจากชั้นที่ 1 ทำเชื้อจาก 1:20 ก่อนนำมาวิเคราะห์ ตะกอนจากชั้นที่เหลือทำเชื้อจาก 1:40

ตารางที่ 1 แสดงค่า titer ที่ได้จากการตรวจสอบโดยวิธี DAC-indirect ELISA ของ antiserum-PBNV จากเลือดที่เก็บครั้งที่ 1 หลังฉีดเชื้อไวรัสครั้งสุดท้าย 10 วัน และครั้งที่ 2 หลังจากฉีดเชื้อไวรัสครั้งสุดท้าย 15 วัน

Dilution ^{1/} ของ anti-PBNV	ค่า ELISA reading (A_{405}) ^{2/}			
	แอนติเซรัมเก็บครั้งที่ 1		แอนติเซรัมเก็บครั้งที่ 2	
	น้ำคั้นพืชเป็นโรค	น้ำคั้นพืชปกติ	น้ำคั้นพืชเป็นโรค	น้ำคั้นพืชปกติ
1:100	1.625	0.198	1.421	0.234
1:200	1.624	0.101	1.444	0.137
1:400	1.502	0.051	1.167	0.057
1:800	1.352	0.007	0.875	0.030
1:1,600	1.140	-0.008	0.657	0.011
1:3,200	0.841	-0.008	0.425	0.005
1:6,400	0.562	0.011	0.428	-0.006
1:12,800	0.358	0.000	0.156	0.000

1/ เจือจางแอนติเซรัมใน conjugate buffer ที่ผสมน้ำคั้นพืชปกติ

2/ วัดได้จากน้ำคั้นพืชเจือจาง 1:20 ด้วย conjugate buffer



ภาพที่ 5 สภาพแปลงทดลองที่ใช้คัดเลือกพันธุ์ถั่วลิสงต้านทานต่อเชื้อ PBNV ในสภาพไร่
หลังปลูกถั่วลิสง 30 วัน (a) และ 60 วัน (b), อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว



ภาพที่ 6 ถั่วลิสงพันธุ์วังน้ำเย็นใน infector row แสดงอาการยอดไหม้ และลำต้น
แคระแกรน หลังปลูกถั่วลิสง 30 วัน

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย อัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนระหว่างพันธุ์และภายในพันธุ์ (F ratio) และค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนภายในพันธุ์ (C.V.) ของลักษณะการเกิดโรคยอดไหม้ จากการทดสอบในสภาพไร่ที่ อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว ระหว่าง 15 มกราคม 2538 - 5 พฤษภาคม 2538

No.	พันธุ์	การเกิดโรค (%) ^{1/}	
		พืชอายุ 30 วัน	พืชอายุ 60 วัน
1	Robut 33-1 x NCAc 2214 (IC10)	6.00 cde	0.57 f
2	ICGV 86388	3.14 de	0.66 f
3	2134-I (48)B	1.67 e	2.88 ef
4	2192-8(50)	11.66 b-e	3.26 def
5	2192-6(65)	3.21 de	4.00 def
6	NCAc 1107 x (NCAc 2232 x NCAc 2214) (IC34)	13.03 bcd	4.04 def
7	ICGV 86031	5.49 cde	4.98 c-f
8	2169-5(9)	15.89 bcd	7.35 b-e
9	ICGV 86300	6.33 cde	8.07 b-e
10	ICGV 86598	18.52 abc	8.23 b-e
11	GP NC 343 (IC42)	11.83 bcd	8.80 a-e
12	Robut 33-1 x NCAc 2214 (IC14)	12.00 bcd	9.29 a-e
13	28-206 (France) x NCAc 10247 (IC22)	11.95 bcd	9.39 a-e
14	ICGV 86363	7.04 cde	10.19 a-e
15	Bhaihwa local (IGT 45)	11.21 bcd	10.81 a-e
16	Khon Kaen 60-1	11.61 bcd	11.11 a-e
17	PI 459088 toyokodach (IGT66)	12.70 b-e	11.89 a-e
18	Manfredi 68 x GP-NC 343 (IC23)	10.27 b-e	11.97 a-e
19	Southern runner	14.90 bcd	12.04 a-d
20	ICGV 86430	9.12 b-e	12.33 a-e
21	Khon Kaen 60-3	9.46 b-e	12.62 a-e
22	NC 5 x GP NC 343 (IGT 18)	12.21 b-e	12.64 a-e
23	UPL-Pn 4 x NC 10247 (INT 24)	12.99 bcd	12.99 a-e

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย อัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนระหว่างพันธุ์และภายในพันธุ์ (F ratio) และค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนภายในพันธุ์ (C.V.) ของลักษณะการเกิดโรคยอดไหม้ จากการทดสอบในสภาพไร่ที่ อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว ระหว่าง 15 มกราคม 2538 - 5 พฤษภาคม 2538 (ต่อ)

No.	พันธุ์	การเกิดโรค (%) ^{1/}	
		พืชอายุ 30 วัน	พืชอายุ 60 วัน
24	SK 38	20.31 bcd	16.62 abc
25	86012 x 86030 (Tan)	5.58 cde	18.35 ab
26	ICGV 86030	23.34 ab	18.69 ab
27	Khon Kaen 60-2	19.01 bcd	19.24 abc
28	NC 7 (INT 25)	18.60 abc	19.31 ab
29	(Goldin-1 x Faizpur 1-5) x NCAc 2232 (IC38)	19.68 abc	20.30 ab
	Susceptible control		
30	JL 24	14.46 bcd	13.78 a-d
31	Tainan 9	13.97 bcd	14.29 a-d
32	Wang Namyen	36.49 a	23.09 a
	F	**	**
	C.V. (%)	42.06	38.35

1/ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของข้อมูลดิบจาก 4 ซ้ำ แต่การวิเคราะห์ทางสถิติใช้ข้อมูลแปลงเป็น arcsin

** มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งเดียวกันที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ย อัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนระหว่างพันธุ์และภายในพันธุ์ (F ratio) และค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนภายในพันธุ์ (C.V.) ของ จำนวนประชากรของเพลี้ยไฟบนถั่วลิสง จากการทดสอบในสภาพไร่ที่ อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว ระหว่าง 15 มกราคม 2538 - 5 พฤษภาคม 2538

No.	พันธุ์	จำนวนเพลี้ยไฟเมื่อพืชอายุ 30 วัน (ตัว/10 ใบยอด)	
		ค่าเฉลี่ย ข้อมูลเดิม	ค่าเฉลี่ยข้อมูล แปลงค่า ¹ /
1	Tainan 9	8.50	0.9473 a
2	ICGV 86598	8.50	0.8911 ab
3	SK 38	5.75	0.8093 abc
4	Khon Kaen 60-2	5.50	0.7865 abc
5	UPL-Pn x NC 10247 (INT 24)	4.75	0.7213 a-d
6	JL 24	4.25	0.6755 a-d
7	Khon Kaen 60-3	3.75	0.6632 a-d
8	Bhaihwa local (IGT 45)	3.75	0.6460 a-e
9	ICGV 86363	4.25	0.6296 a-f
10	Wang Namyen	4.25	0.6148 a-f
11	ICGV 86430	3.75	0.5875 a-f
12	Manfredi 68 x GP-NC 343 (IC 23)	4.00	0.5836 a-f
13	Khon Kaen 60-1	3.00	0.5752 a-f
14	ICGV 86031	3.75	0.5708 a-f
15	Robut 33-1 x NCAc 2214 (IC 14)	2.75	0.5708 a-f
16	(Goldin-1 x Faizpur 1-5) x NCAc 2232 (IC 38)	2.75	0.5708 a-f
17	PI 459088 toyokodach (IGT 66)	2.75	0.5708 a-f
18	GP-NC 343 (IC 42)	2.75	0.5251 a-f
19	Robut 33-1 x NCAc 2214 (IC 10)	2.75	0.4885 a-f
20	NC 7 (INT 25)	2.75	0.4810 b-f

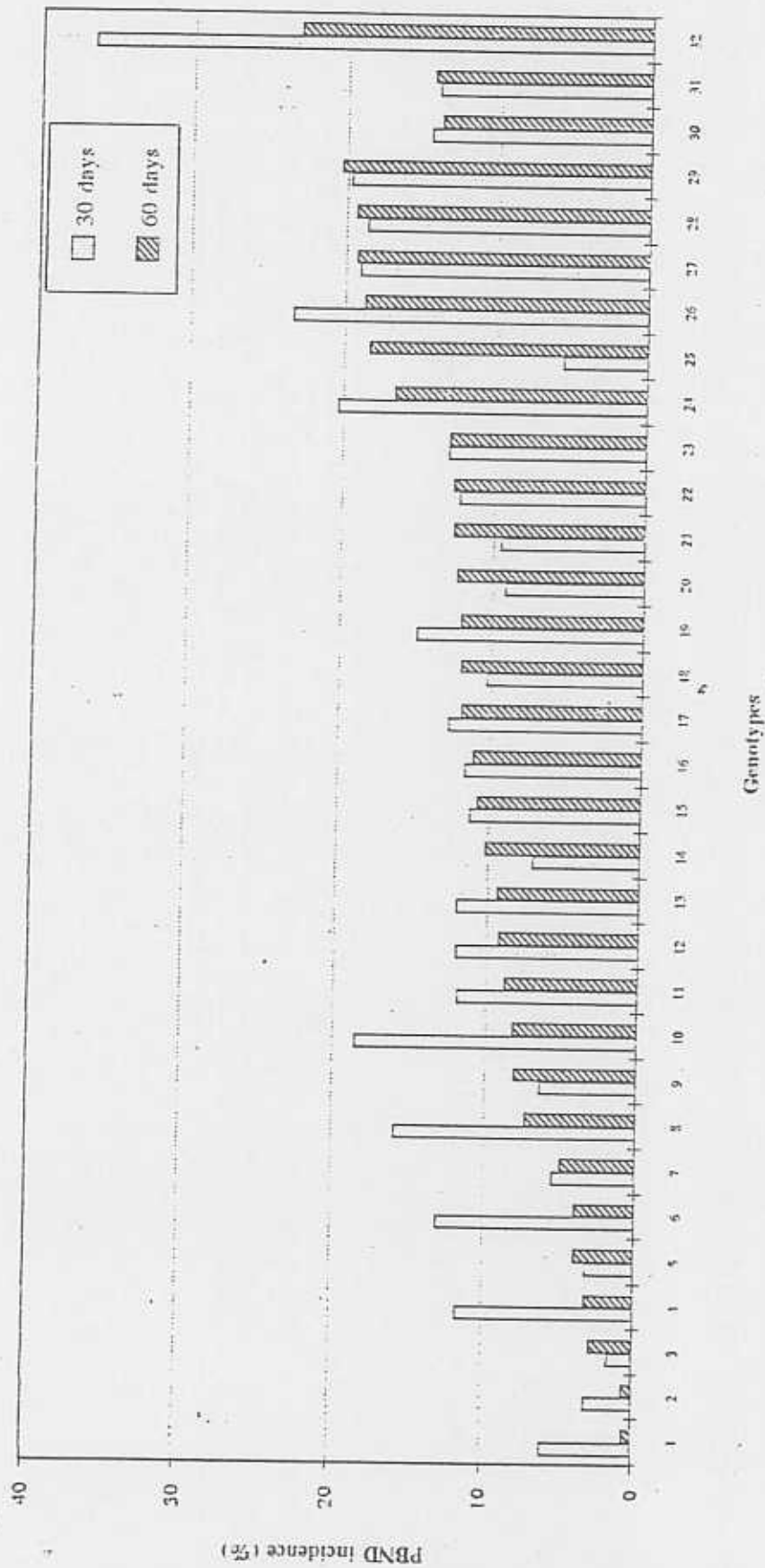
ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ย อัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนระหว่างพันธุ์และภายในพันธุ์ (F ratio) และค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนภายในพันธุ์ (C.V.) ของจำนวนประชากรของเพลี้ยไฟบนถั่วลิสง จากการทดสอบในสภาพไร่ที่ อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว ระหว่าง 15 มกราคม 2538 - 5 พฤษภาคม 2538 (ต่อ)

No.	พันธุ์	จำนวนเพลี้ยไฟเมื่อพืชอายุ 30 วัน (ตัว/10 ใบยอด)	
		ค่าเฉลี่ย ข้อมูลเดิม	ค่าเฉลี่ยข้อมูล แปลงค่า ^{1/}
21	Southern runner	2.25	0.4757 b-f
22	2192-6 (65)	2.00	0.4643 b-f
23	NC 5 x GPNC 343 (IGT 18)	3.00	0.4643 b-f
24	ICGV 86030	2.75	0.4331 b-f
25	ICGV 86388	2.25	0.4203 c-f
26	ICGV 86300	2.00	0.4203 c-f
27	86012 x 86030 (Tan)	2.50	0.4203 c-f
28	28-206 (France) x NCAC 10247 (IC 22)	1.75	0.3891 c-f
29	2192-8 (50)	2.50	0.3578 c-f
30	2169-5 (9)	1.00	0.2698 def
31	2134-I (48) B	0.75	0.1945 ef
32	NCAC 1107 x (NCAC 2232 x NCAC 2214) (IC 34)	1.00	0.1747 f
F			*
C.V. (%)			49.08

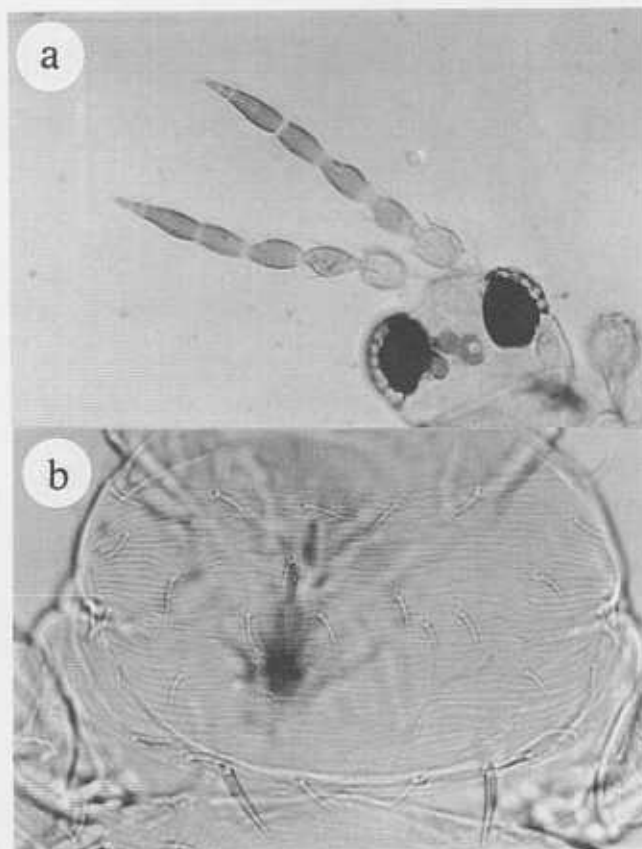
1/ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของข้อมูลดิบจาก 4 ซ้ำของใบยอด 10 ใบต่อสายพันธุ์ แต่การวิเคราะห์ทางสถิติใช้ข้อมูลแปลงเป็น $\log (x + 1)$

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งเดียวกันที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT



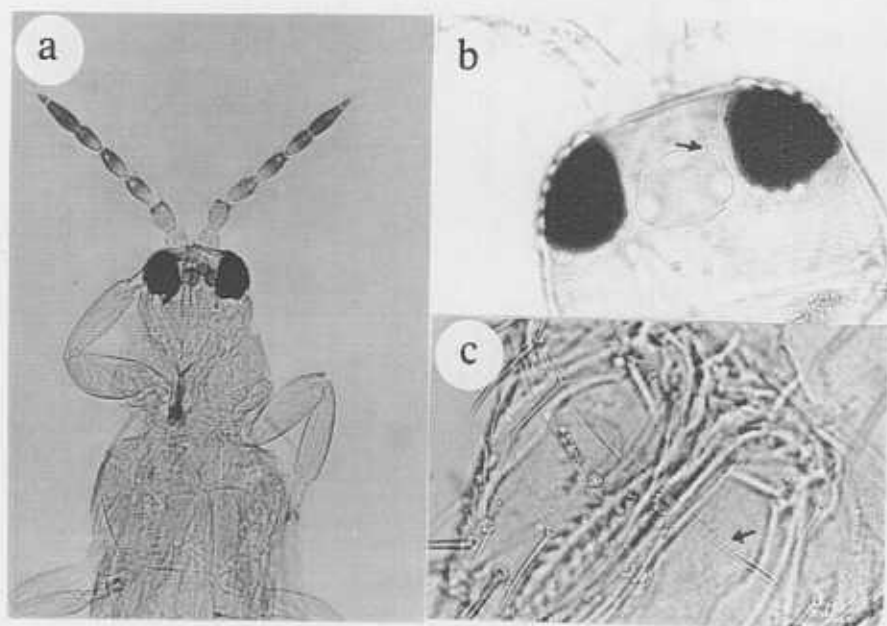
ภาพที่ 7 เปรียบเทียบระดับการเกิดโรคยอดไหม้ (%) ในอวลิสง 32 พันธุ์ ทดสอบในสภาพไร่ ณ อ. วังน้ำเย็น จ. สระแก้ว เมื่อประเมินที่ 30 และ 60 วัน หลังปลูก (ผลการสำรวจสวนพันธุ์อยู่ในตารางที่ 2)



ภาพที่ 8 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แสดงลักษณะของ *Scirtothrips dorsalis*

a : เท้า 8 ปล้อง

b : pronotum มีลายตามขวางที่เด่นและเป็นลายเส้นชัดเจน

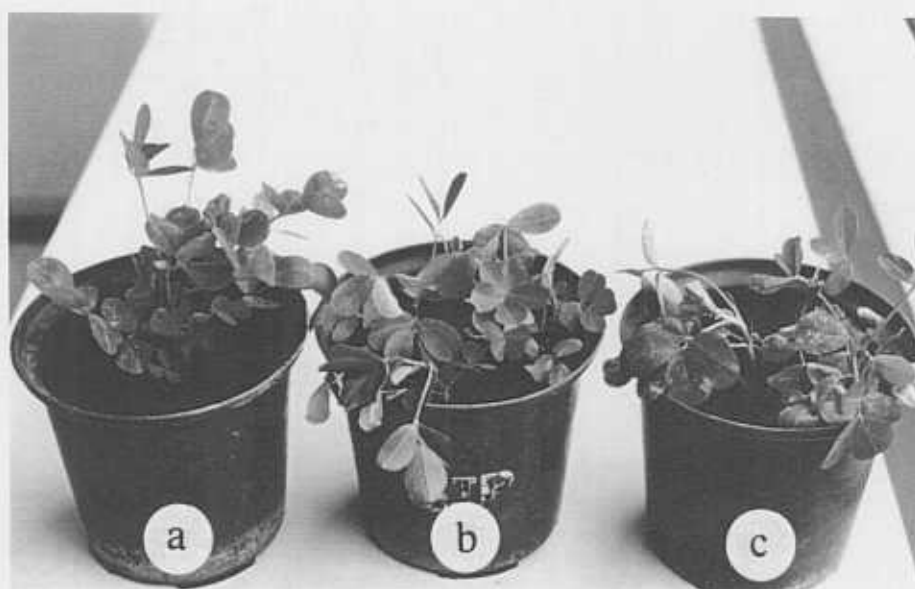


ภาพที่ 9 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แสดงลักษณะของ *Thrips palmi*

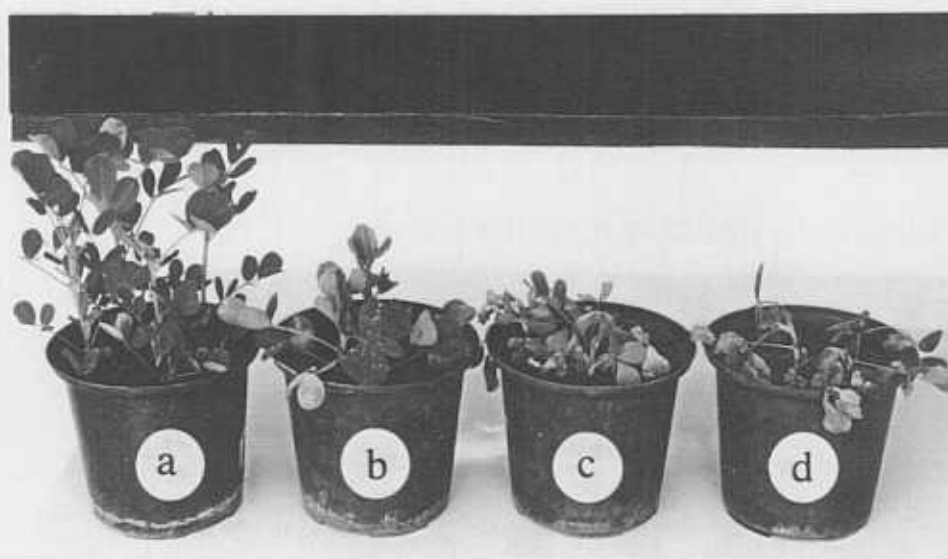
a : ขนาด 7 ปล้อง

b : interocular (ลูกศร) อยู่บริเวณด้านนอกของ ocella triangle

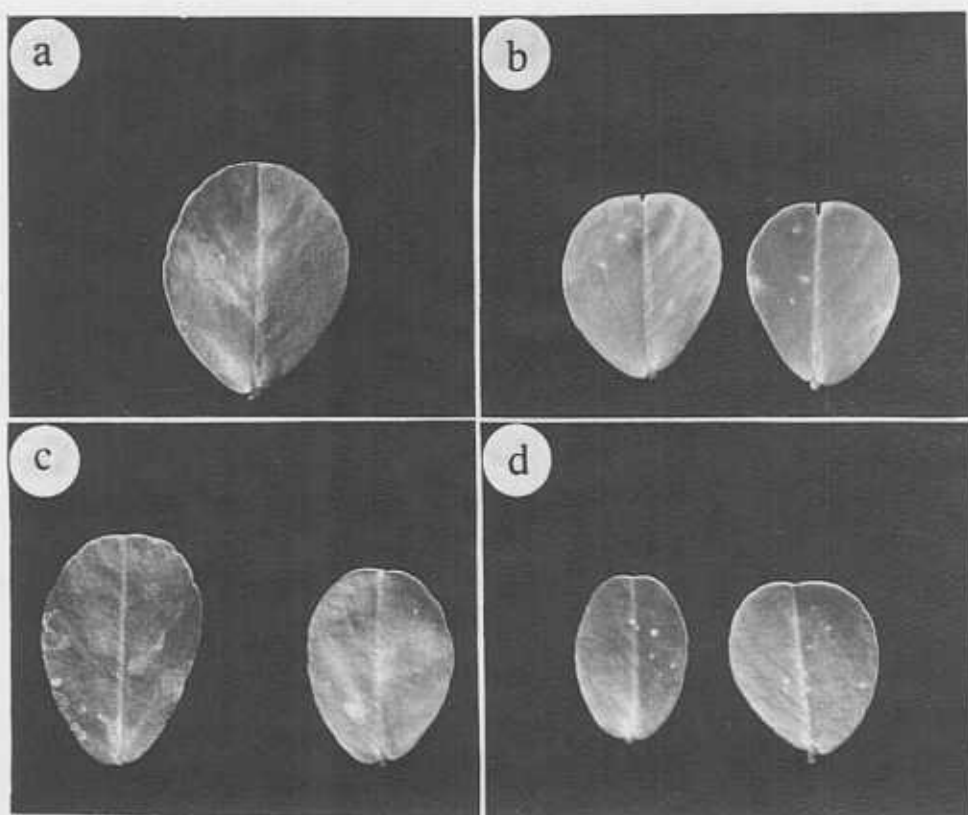
c : tergite ที่ 8 มี comb แบบสมบูรณ์ (ลูกศร)



ภาพที่ 10 เปรียบเทียบความรุนแรงของอาการบนถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 12 วันหลัง
จากปลูกเชื้อ PBNV 3 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 1:10
a = SB isolate, b = NR isolate และ c = UD isolate

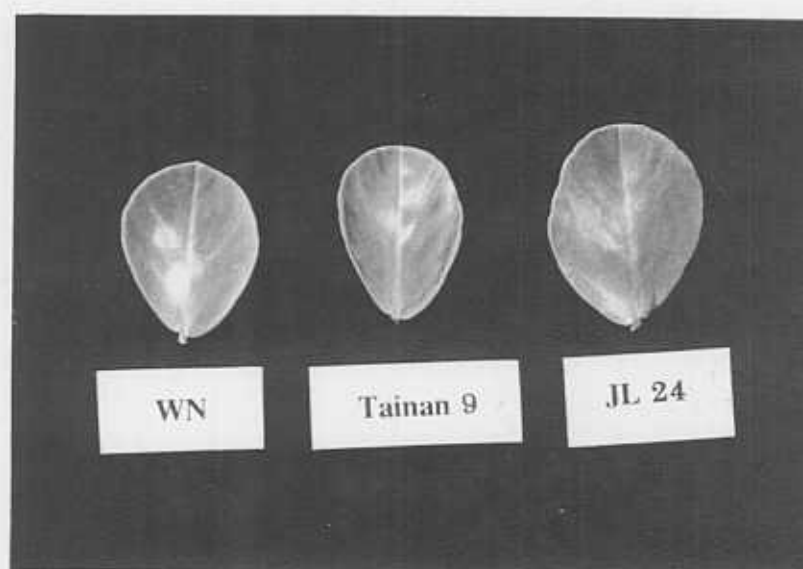


ภาพที่ 11 เปรียบเทียบความรุนแรงของอาการบนถั่วลิสงพันธุ์ไพนาน 9 15 วันหลัง
จากปลูกเชื้อ PBNV 3 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 1:10
a = healthy control, b = SB isolate, c = NR isolate และ
d = UD isolate

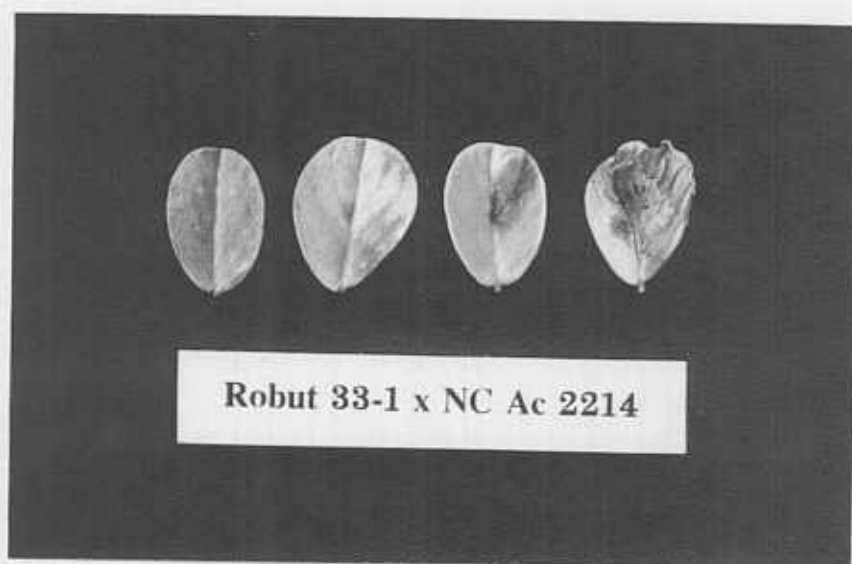


ภาพที่ 12 เปรียบเทียบลักษณะอาการเริ่มแรกบนใบที่ได้รับการปลูกเชื้อ PBNV หลังปลูกเชื้อ 10-15 วัน

- a : อาการบนคายสีน้ำตาล (necrotic patch)
- b : อาการจุดตายขนาดเล็ก (pin point necrotic local lesion)
- c : อาการด่างวงแหวน (chlorotic ringspot)
- d : อาการจุดสีเขียวขนาดเล็ก (pin point chlorosis)



ภาพที่ 13 อาการผลตายที่แสดงออกบนใบหลังจากได้รับการปลูกเชื้อ PBNV UD-isolate
10 วัน ในพันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน
WN = พันธุ์พื้นเมืองของ อ.วังน้ำเย็น จ.สระแก้ว



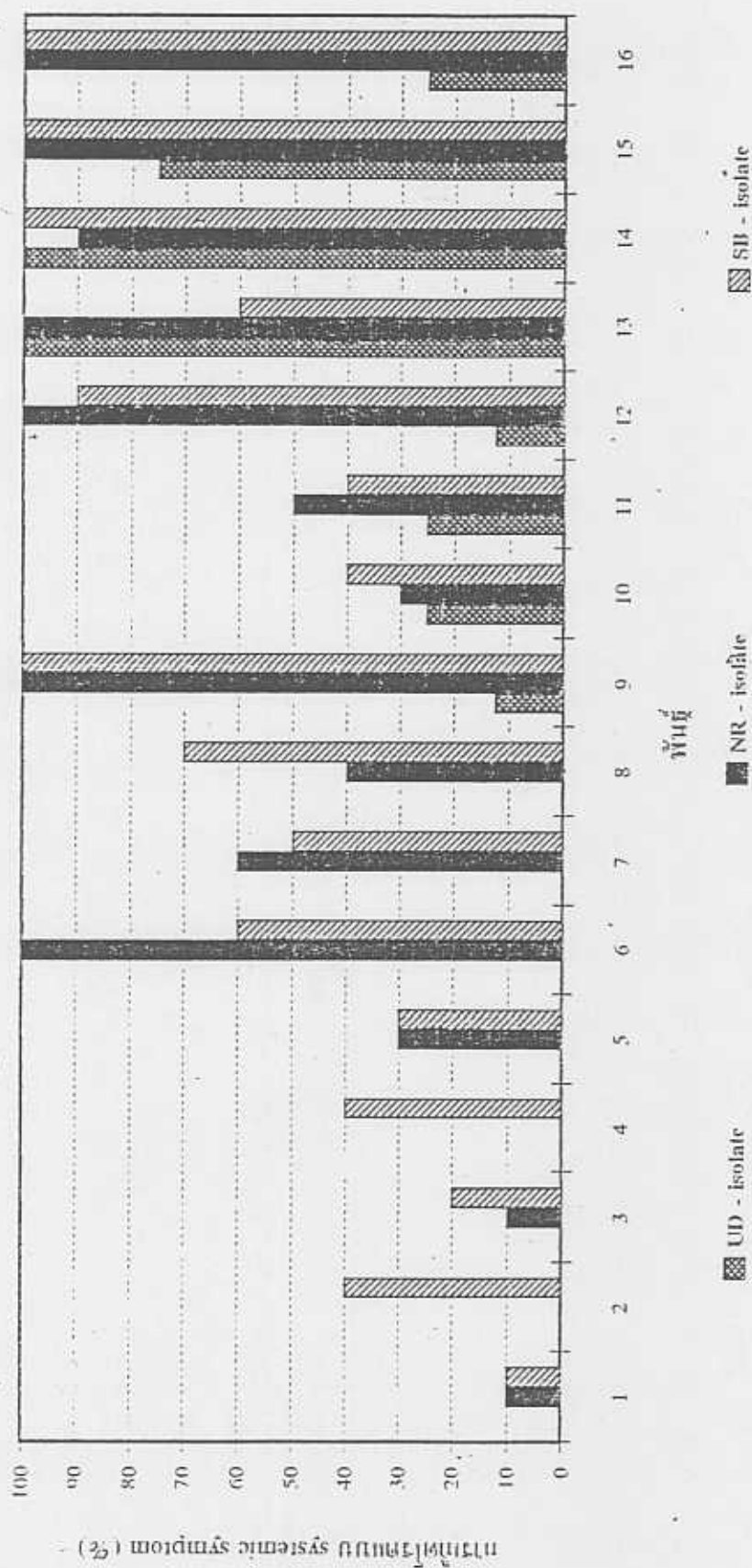
ภาพที่ 14 อาการจุดตายขนาดเล็กและจุดตายวงแหวนบนใบ หลังจากได้รับการปลูกเชื้อ
PBNV UD-isolate 10 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 1:10 ในถั่วลิสงพันธุ์
Robut 33-1 x NC Ac 2214 (IC10) (ลำดับการเกิดจากซ้ายไปขวา)

ตารางที่ 4 จำนวนต้นแก้วลิสง (%) 13 สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกความต้านทานในสภาพไร่ และที่แสดงอาการติดเชื้อ PBNV บนใบที่ได้รับการปลูกเชื้อ (localized infection) หลังจากได้รับการปลูกเชื้อ PBNV 3 ไอโซเลต ที่ระดับความเข้มข้น 1:10 และ 1:100

No.	พันธุ์	สายพันธุ์ของเชื้อ/ระดับความเข้มข้น/จำนวนต้นติดเชื้อ (%)					
		UD (severe)		NR (moderate)		SB (mild)	
		1:10	1:100	1:10	1:100	1:10	1:100
1	Robut 33-1 x NCAC 2214 (IC10)	100	40	100	100	100	-
2	ICGV 86388	100	40	100	100	100	-
3	NC 1107 x (NC 2232 x NC 2214) (IC34)	100	60	100	100	100	-
4	ICGV 86363	100	10	100	80	100	-
5	ICGV 86031	100	50	100	100	100	-
6	2192-8 (50)	100	80	100	70	100	-
7	2169-5 (9)	100	30	100	100	90	10
8	2134-I (48) B	100	90	100	100	100	-
9	ICGV 86300	100	10	100	90	100	-
10	Robut 33-1 x NCAC 2214 (IC14)	100	60	100	70	100	-
11	GP NC 343 (IC 42)	100	80	100	100	100	-
12	28-206 (France) x NCAC 10247 (IC22)	100	100	100	70	90	-
13	2192-6 (65)	100	40	100	100	90	-
	Susceptible control						
14	JL 24	100	60	100	100	100	-
15	Tainan 9	100	80	100	100	100	10
16	Wang Namyen	100	40	100	100	100	10

ตารางที่ 5 จำนวนต้นถั่วลิสง (%) 13 สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกความต้านทานในสภาพไร่ และที่แสดงอาการเป็นโรคยอดไหม้ในลักษณะแพร่กระจายทั้งต้น หลังจากได้รับการปลูกเชื้อ PBNV 3 ไอโซเลต 60 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 1:10 และ 1:100

No.	พันธุ์	สายพันธุ์ของเชื้อ/ระดับความเข้มข้น/จำนวนต้นติดเชื้อ (%)					
		UD (severe)		NR (moderate)		SB (mild)	
		1:10	1:100	1:10	1:100	1:10	1:100
1	Robut 33-1 x NCAc 2214 (IC10)	-	-	10	-	10	-
2	ICGV 86388	-	-	-	10	40	-
3	NC 1107 x (NC 2232 x NC 2214) (IC34)	-	-	10	-	20	-
4	ICGV 86363	-	-	-	-	40	-
5	ICGV 86031	-	-	30	20	30	-
6	2192-8 (50)	-	-	100	30	60	-
7	2169-5 (9)	-	-	60	50	50	10
8	2134-I (48) B	-	10	40	80	70	-
9	ICGV 86300	12.5	-	100	60	100	-
10	Robut 33-1 x NCAc 2214 (IC14)	25	10	30	-	40	-
11	GP NC 343 (IC 42)	25	10	50	40	40	-
12	28-206 (France) x NCAc 10247 (IC22)	12.5	20	100	20	90	-
13	2192-6 (65)	100	-	100	90	60	-
	Susceptible control						
14	JL 24	100	40	90	100	100	-
15	Tainan 9	75	20	100	90	100	10
16	Wang Namyen	25	20	100	90	100	10



ภาพที่ 15 แสดงจำนวนผู้วินิจฉัยที่เกิดอาการแบบแพร่กระจายทั้งต้น (systemic symptom) (%) หลังจากปลูกเชื้อ PB-NV 3 isolates 60 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 1:10 (เขย่าให้ผสมอย่างสม่ำเสมอในตารางที่ 5)

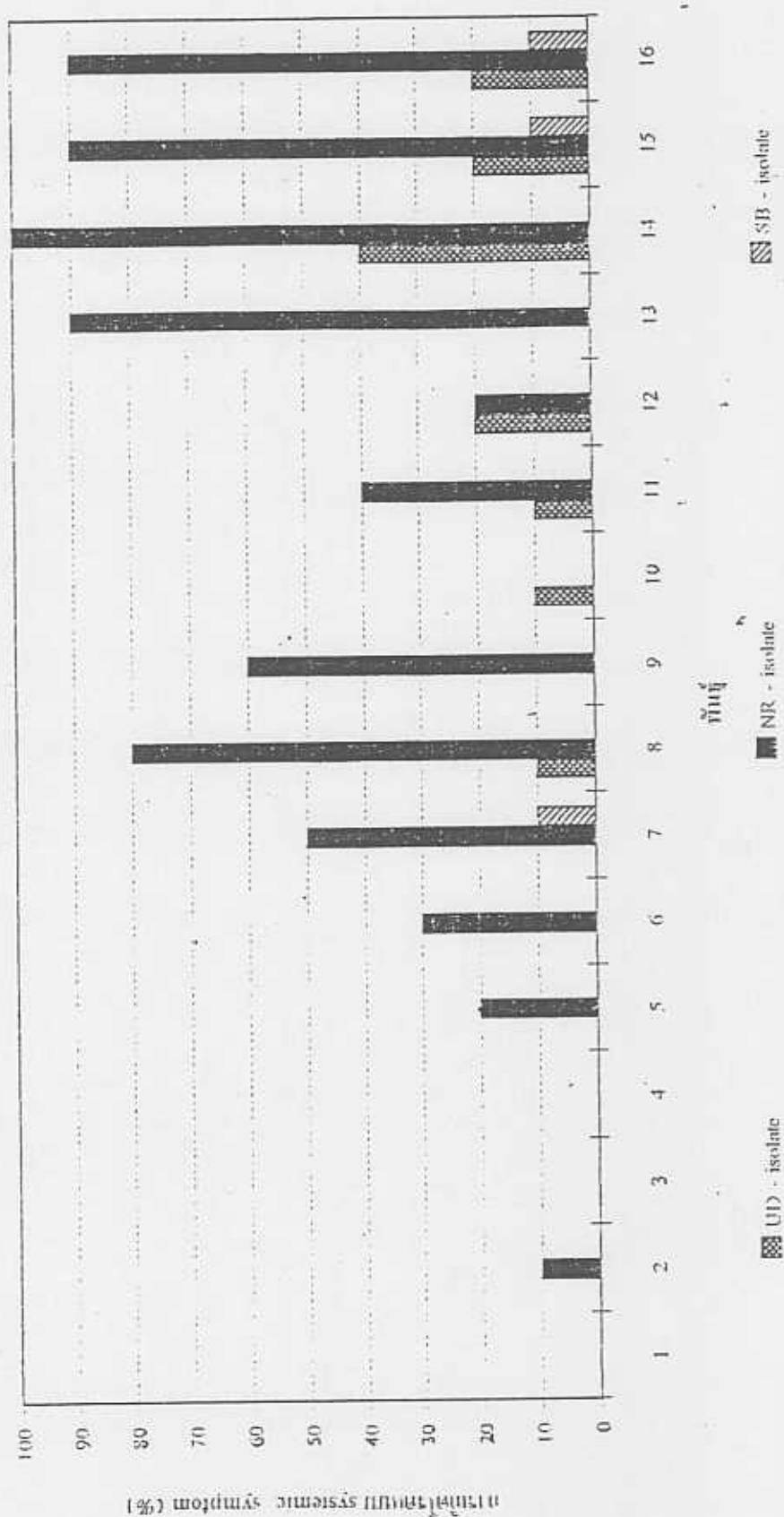
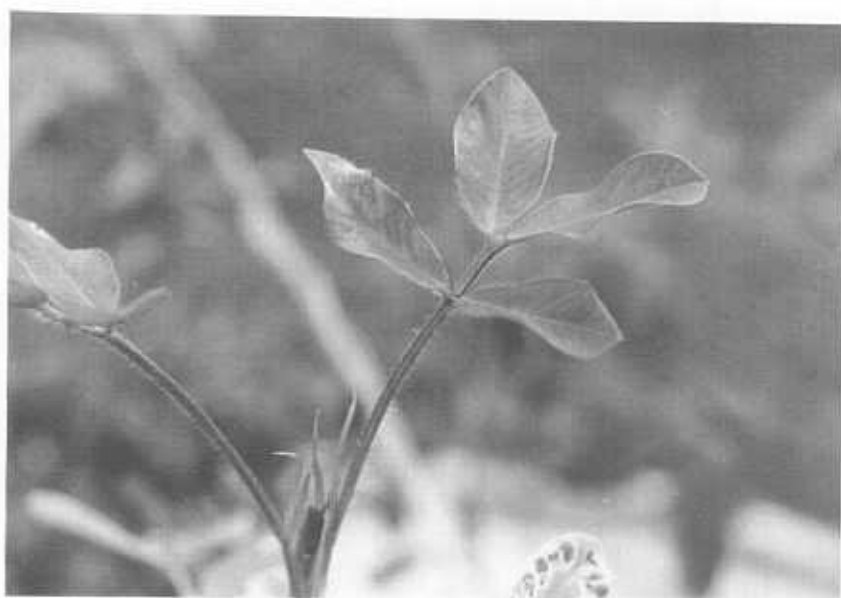


TABLE 10. ผลของปริมาณน้ำชลประทานต่อระบบนิเวศ (systemic symptom) (%) แก้วน้ำปลูกพืช

3 isolates 00 ปี ที่ระดับความเข้มข้น 1:100 (ตรวจได้สารอย่างมีนัยสำคัญในตารางที่ 5)



ภาพที่ 17 ลักษณะอาการแบบแพร่กระจายทั้งต้นของหนอน Robut 33-1 x NCAC 2214
(IC10) หลังปลูกเชื้อ PBNV SB-isolate 60 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 1:10



ภาพที่ 18 ถั่วลิสงพันธุ์ 2169-5(9) อายุ 60 วัน แสดงอาการจุดกระสีซีดบนใบยอดเหนือ
ตำแหน่งใบ ซึ่งไม่พบไวรัสแอนติเจน (ลูกศร) เมื่อตรวจโดยวิธี DAC-
indirect ELISA หลังปลูกเชื้อ PBNV SB-isolate 30 วัน

ตารางที่ 6 ลักษณะทางเกษตรของข้าวสังข์หยดพันธุ์พื้นเมืองที่การเกิดโรคไหม้จาก peanut bud necrosis virus ต่อจากการทดสอบในสภาพไร่ที่อำเภอวังน้ำเย็น จังหวัดสระแก้ว ระหว่าง 15 มกราคม 2538 - 5 พฤษภาคม 2538

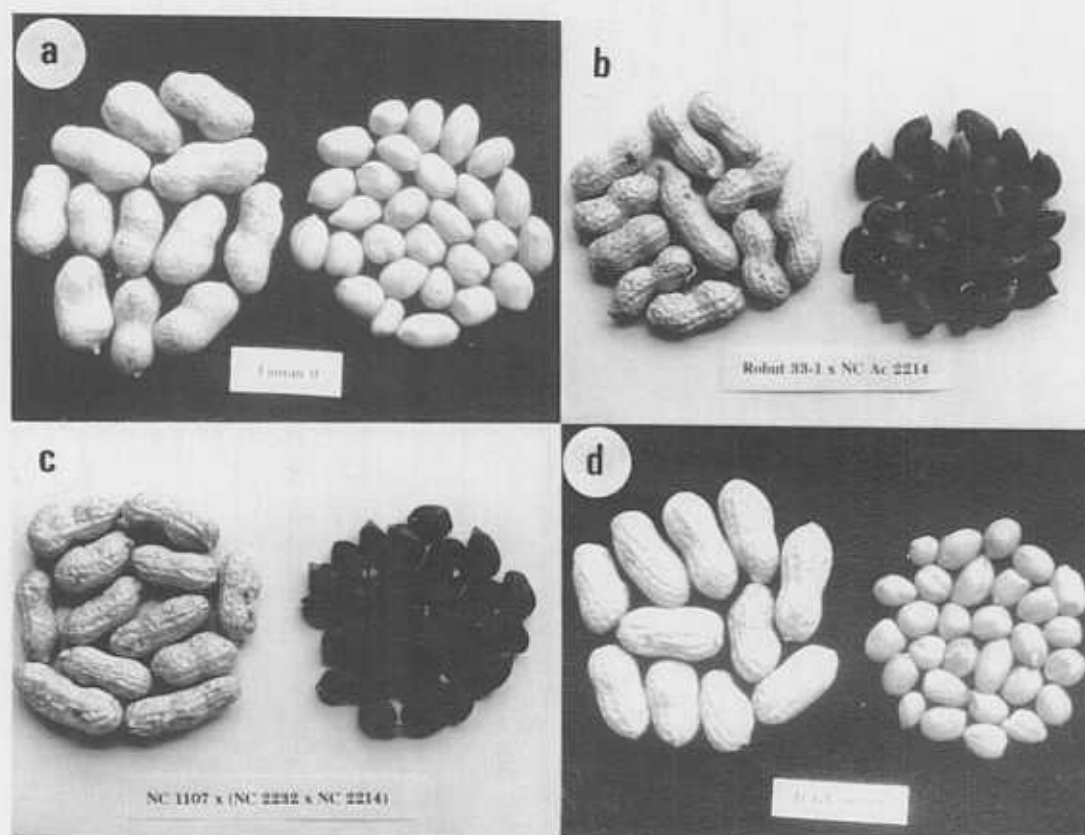
พันธุ์	น้ำหนักหักแห้ง (กิโลกรัม/ไร่)	น้ำหนักหักแห้ง (กรัม/ต้น)	น้ำหนักเมล็ด (กรัม/ต้น)	ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด)	เปอร์เซ็นต์ กะแหว
ICGV 86388	579.74 a	11.47 a	7.58 a	27.00 de	66.06 c
NC 1107 x (NC 2232 x NC 2214)					
(IC 34)	476.27 ab	10.07 ab	7.60 a	21.50 f	75.45 ab
Robut 33-1 x NCAC 2214 (IC10)	323.74 b-e	7.64 a-d	5.85 a-d	21.50 f	76.62 a
2169-5 (9)	305.07 b-e	7.09 bcd	4.72 a-d	30.50 cd	66.69 c
ICGV 86300	301.33 b-e	6.99 bcd	3.48 cde	22.50 ef	49.72 e
28-206 (France) x NCAC 10247					
(IC22)	299.20 b-e	7.02 bcd	4.50 a-d	36.00 b	71.27 abc
2192-6 (65)	283.73 b-e	6.39 bcd	4.29 bcd	28.00 d	67.02 c
Robut 33-1 x NCAC 2214 (IC 14)	256.53 cde	6.78 bcd	4.47 a-d	36.50 b	66.05 c
2192-8 (50)	208.53 c-f	4.95 cde	3.38 cde	27.00 de	68.07 c
ICGV 86363	175.47 def	5.25 cde	3.70 cde	28.00 d	70.07 abc
2134-I (48) B	167.47 ef	4.03 de	2.73 de	34.00 bc	67.72 c
GP NC 343 (IC 42)	165.34 ef	4.98 cde	2.78 de	42.50 a	56.04 d
ICGV 86031	62.40 f	1.61 e	1.05 e	36.00 b	64.95 c
Control					
Khon Kaen 60-1	390.93 bc	8.95 abc	6.14 abc	38.00 b	68.62 bc
Tainan 9	370.67 bcd	9.06 abc	6.86 ab	34.50 bc	75.72 a
Wang Namyen	356.27 b-e	8.66 abc	6.18 abc	30.00 cd	70.37 abc
JL 24	166.94 ef	4.93 cde	3.39 cde	36.00 b	67.61 c
F	11	11	11	11	11
C.V. (%)	28.20	26.05	27.96	6.81	4.40

11 มีนัยสำคัญทางสถิติระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ยในแถวหนึ่งเดียวกันที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 7 ลักษณะทางเกษตรของสายพันธุ์ข้าวซึ่งมีผลจากการเป็นโรคไหม้มากกว่า 10% ในสภาพไร่ เมื่ออายุ 60 วัน

พันธุ์	พื้นที่ผลจากการเป็นโรค (%) (อายุ 60 วัน)	น้ำหนักแห้ง (กิโลกรัม/ไร่)	ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด)	เปอร์เซ็นต์ กะเพาะ
Robut 33-1 x NCac 2214 (IC10)	0.57	323.74	21.50	76.62
ICGV 86388	0.66	579.74	27.00	66.06
2134-I (48) B	2.88	167.47	34.00	67.72
2192-8 (50)	3.26	208.53	27.00	68.07
2192-6 (65)	4.00	283.73	28.00	67.02
NC 1107 x (NC 2232 x NC 2214) (IC 34)	4.04	476.27	21.50	75.45
ICGV 86031	4.98	62.40	36.00	64.95
2169-5 (9)	7.35	305.07	30.50	66.69
ICGV 86300	8.07	301.33	22.50	49.72
GP NC 343 (IC 42)	8.80	165.34	42.50	56.04
Robut 33-1 x NCac 2214 (IC14)	9.29	256.53	36.50	66.05
28-206 (France) x NCac 10247 (IC 22)	9.39	299.20	36.00	71.27
ICGV 86363	10.19	175.47	28.00	70.07
Susceptible control				
JL 24	13.78	166.94	36.00	67.61
Tainan 9	14.29	370.67	34.50	75.72
Wang Nanyen	23.09	356.27	30.00	70.37



ภาพที่ 19 เปรียบเทียบลักษณะของพักและเมล็ดของถั่วลิสง 3 สายพันธุ์ ที่มีระดับความต้านทานต่อเชื้อ PBNV สูง ทั้งในสภาพไร่และเรือนทดลอง

a : Tainan 9 (พันธุ์เปรียบเทียบ)

b : Robut 33-1 x NCAc 2214 (IC 10)

c : NC 1107 x (NC 2232 x NC 2214) (IC 34)

d : ICGV 86388