

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การลดปริมาณ และการแพร่ระบาดของโรคไวรัสในแตงชั้นฟรุ้ด โดยการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน
นักศึกษา	นายศิริชัย ฉาวร
รหัสประจำตัว	44066305
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
พ.ศ.	2549
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. นवलพรรณ งามยี่ตุ่น

บทคัดย่อ

การสุ่มสำรวจอาการของโรคไวรัสที่เข้าทำลายต้นแตงชั้นฟรุ้ดจำนวน 15 แปลง จากแหล่งปลูกในอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร พบว่าแตงชั้นฟรุ้ดแสดงอาการของโรคไวรัส 3 อาการคือ 1) ใบค่างจุดเหลืองรุนแรง 2) ใบค่างสีเขียวเข้มและ 3) ใบค่างเส้นใบเป็น vein banding ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 2.25 จากระดับความรุนแรง 0 - 4 ระดับ และการเกิดโรคไวรัสเฉลี่ย 89.10 เปอร์เซ็นต์ การจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสด้วยพีชทดสอบใน 5 วงศ์ จำนวน 8 ชนิด คือ *Chenopodium amaranthicolor*, *Phaseolus aureus*, *Vigna sesquipedalis*, *Cucumis sativus*, *Gomphrena globosa*, *Passiflora edulis* และ *Passiflora foetida* โดยผ่านทางน้ำคั้น (mechanical sap transmission) พบว่าทั้ง 3 อาการเมื่อถ่ายทอดลงในต้น *C. amaranthicolor* ทำให้เกิดจุดแผลสีน้ำตาลในใบที่ถูกปลูกเชื้อ และต่อมาจุดแผลจะกระจายไปยังใบยอด จากตัวอย่างใบค่างสีเขียวเข้มและ ใบค่างเส้นใบเป็น vein banding ตรงกลางจุดแผลจะแห้งตายและ ขอบจุดแผลจะมีสีชมพูถึงสีแดง และอาการในต้น *P. edulis* และ *P. foetida* จะคล้ายคลึงกันคือ มีการเกิดจุดแผลสีน้ำตาลเล็กๆ ในใบที่ถูกปลูกเชื้อ ต่อมาแสดงอาการจุดแผลกระจายไปยังใบยอด ทำให้ใบยอดค่าง หงิก และเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การตรวจสอบรูปร่างและ ขนาดอนุภาคเชื้อไวรัสของแตงชั้นฟรุ้ดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสเป็นแบบ flexuous มีขนาดยาวเฉลี่ยประมาณ 642 นาโนเมตร ผลการแยกสกัด dsRNA ด้วยชุดสกัด Ultra Clean™ Plant RNA Isolation Kit และ การใช้ Plant concert solution และตรวจสอบ dsRNA โดยใช้เทคนิค gel electrophoresis (agarose gel 0.8 เปอร์เซ็นต์) พบว่าทั้ง 3 อาการตรวจพบ pattern dsRNA ของเชื้อ cucumber mosaic virus ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 1.32×10^6 และ 0.8×10^6 คาลตัน ตามลำดับ การตรวจสอบกลุ่มของเชื้อไวรัสด้วย potyvirus group degenerate primer และการหาอนุกรมวิธานที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยา PCR เทคนิค RT-PCR และตรวจสอบด้วยเทคนิค gel electrophoresis

พบว่าทั้ง 3 อาการมี PCR product ขนาดประมาณ 1200 bp จึงจำแนกได้ว่าอาการทั้ง 3 อาการ มีเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายจัดอยู่ในกลุ่ม potyvirus และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพิ่ม PCR product ของเชื้อคือที่ 56.2 - 65 องศาเซลเซียส ซึ่งจากผลของอาการบนใบแพสชันฟรุต การศึกษาชนิดและอาการบนพืชอาศัย ลักษณะ และรูปร่างของเชื้อ รวมทั้งผลการวิเคราะห์ dsRNA และ ขนาดของ PCR product สามารถจำแนกได้ว่าเป็นเชื้อ passionfruit woodiness virus ซึ่งทำให้สามารถสรุปได้ว่าเชื้อที่เข้าทำลายแพสชันฟรุตมีลักษณะของการเข้าทำลายร่วมของเชื้อ 2 ชนิด คือ cucumber mosaic virus (CMV) และ passionfruit woodiness virus (PWV) แต่ความเข้มข้นของเชื้อทั้งสองชนิดในแต่ละอาการมีอัตราส่วนความเข้มข้นที่แตกต่างกัน จึงทำให้อาการที่แสดงออกที่สำรวจพบมีความแตกต่างกัน

จากการทดสอบควบคุมโรคไวรัสในระยะเวลา 1 ปี ในสภาพพื้นที่ปลูกแตกต่างกัน 3 พื้นที่ คือ แปลงปลูกเชิงเขา แปลงปลูกบนภูเขา และแปลงปลูกบนพื้นที่ราบ โดยการควบคุมโรคคือ 1) การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน โดยการใช้กับดักกาวเหนียวเหลืองร่วมกับการฉีดพ่นสารกำจัดแมลง imidacloprid อัตรา 20 ซีซี /น้ำ 20 ลิตร และการฉีดน้ำมันปิโตรเลียม อัตรา 5 ซีซี /น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นทุก 2 สัปดาห์ 2) การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว โดยใช้สารกำจัดแมลง imidacloprid อัตรา 20 ซีซี /น้ำ 20 ลิตร เพียงอย่างเดียวฉีดพ่นทุก 2 สัปดาห์ และ 3) แปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งวางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 Factorials in RCBD ผลการประเมินระดับความรุนแรงของโรค และการเกิดโรคของทั้ง 3 พื้นที่ พบว่าการใช้วิธีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน สามารถลดระดับความรุนแรงของโรคได้ดีที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้ สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ พบระดับความรุนแรงของโรคที่ระดับ 0.85, 1.07 และ 1.60 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคพบ 58.50, 67.94 และ 78.61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งการใช้วิธีการแบบผสมผสานทำให้ชะลอการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ดีกว่าการใช้ยาฆ่าแมลงเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ การใช้วิธีการแบบผสมผสานสามารถชะลอการเกิดโรคที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้ 7 เดือน การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวชะลอการเกิดโรคได้ 6 เดือน และแปลงปลูกตามธรรมชาติชะลอการเกิดโรคได้เพียง 4 เดือน นอกจากนี้พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานทำให้ได้รับผลผลิตเฉลี่ยต่อเดือนสูงที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติ คือได้รับน้ำหนักผลผลิต 91.19, 49.01 และ 22.38 กิโลกรัม ตามลำดับ และผลการสำรวจชนิด และจำนวนแมลงในแปลงทดลองทั้ง 3 แหล่ง พบเพลี้ยอ่อน 2 ชนิด คือ *Myzus persicae* และ *Aphis gossypii* และด้วงเต่า โดยพบแมลงมากที่สุดแปลงที่ปลูกเชิงเขา รองลงมาคือแปลงปลูกบนที่ราบ และแปลงที่พบแมลงน้อยที่สุดคือแปลงที่ปลูกบนภูเขา และพบว่ามีภาระระบาดของแมลงในช่วงฤดูฝน (เดือนกันยายน - เดือนธันวาคม) มากกว่าในช่วงฤดูร้อน (เดือนมกราคม - เดือนมีนาคม)

Thesis Title	The Decrease of Incidence and Epidemic of Virus on Passionfruit by Integrated Pest Management
Student	Mr. Sirichai Thaworn
Student ID	44066305
Degree	Master of Science (Plant Pest Management Technology)
Programme	Plant Pest Management Technology
Year	2006
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Nualpan Ngamyeesoon

ABSTRACT

Survey of virus disease incidence and disease assessment on passionfruit in 15 growing area of Pathiu district, Chumporn province was determined. The results showed that average virus disease incidence was 89.10 % and average of disease severity was 2.25 (rating scale 0 - 4 level). The diseased plants produced 3 different symptoms on leaves, which were severe mosaic with yellow spots, dark green mottle and mosaic vein banding.

Host range study by mechanical sap transmission of 3 symptoms to test plants in 5 families included *Chenopodium amaranticolor*, *Phaseolus aureus*, *Vigna sesquipedalis*, *Cucumis sativus*, *Gomphrena globosa*, *Passiflora edulis* and *P. foetida*. On *C. amaranticolor* revealed necrotic brown local lesions on inoculated leaves, later went systemic from samples of dark green mottle and mosaic vein banding. On *P. edulis* and *P. foetida* inoculated with 3 different symptoms, showed similar brown spots on inoculated leaves, while upper leaves showed mosaic with leaf distortion and malformation. Examination of virus particles on electromicroscope using leaf dip technique, revealed flexuous rods with an average of 642 nm. in length.

Detection of dsRNA on diseased leaves extracted with Ultra Clean™ Plant RNA Isolation Kit or Plant Concert Solution, and visualised on UV box after eletrophoresis on agarose gel resulted 2 bands with molecular weight of 1.32×10^6 and 0.8×10^6 daltons. The band pattern and the size of dsRNA pointed out the presence of cucumber mosaic virus on diseased leaves. Moreover, using reverses transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) with specific potyvirus group degenerate primer and gradient temperature

resulted in specific band at 1200bp. with optimal temperature at 56.2 ° - 65 °C for the best reaction.

As a result of host range study, particle size, symptoms on diseased leaves, dsRNA analysis and RT-PCR study, it concluded that passionfruits were infected by mixed infection of cucumber mosaic virus and passionfruit woodiness virus. The difference of combination in mix-infection resulted in variation of symptoms.

Control of virus diseases by integrated pest management (IPM) was studied for 1 year. Experiments were conducted on 3 different locations, which were hillside, on the hill and plain land. Three treatments were applied as follow ; IPM treatments using combination of sticky trap, imidacloprid spraying at 20 ml./20 lt. of water and petroleum oil spraying at 5 ml./20 lt. of water, both spraying at 2 weeks interval, chemical treatment using only imidacloprid spraying at 20 ml./20 lt. of water at 2 weeks interval, control treatment (non-treated) using only conventional practice. The experiment was randomized complete block design with three replicates (3 x 3 RCBD) The result of disease assessment and disease incidence in 3 locations indicated that IPM treatment decreased in both aspect with significant results of chemical treatment and control treatment at 0.85, 1.07 , 1.60 and 58.50%, 67.94%, 78.61% respectively. Moreover, IPM treatment also delayed the increasing of 100% virus incidence at 7 months after transplanting, while chemical treatment at 6 months and at 4 months for control treatment. In addition, an average yield with significant result at 91.19, 49.01, 22.38 kg. gained from IPM treatment, chemical treatment and control treatment, respectively.

Study of insect types found 2 species of aphids (*Myzus persicae* and *Aphis gossypii*) and beetles. The insect population was significant different with the most density on hillside, on hill and on land. While, in rainy season (October-December) insect populations were higher than in summer (January-March).