

บทที่ 5

วิจารณ์ และสรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจพื้นที่แปลงปลูกของเกษตรกรซึ่งเริ่มในช่วงเดือนกรกฎาคม 2546 ถึงเดือนกรกฎาคม 2547 ในอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร จำนวน 15 แปลงพบว่าพืชแสดงอาการของโรคไวรัสที่แตกต่างกันทั้งหมด 3 อาการ คือ 1) อาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรง 2) ใบด่างสีเขียวเข้ม และ 3) ใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding ซึ่งอาการที่พบทั้งหมดนี้ใกล้เคียงกับการสำรวจของดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) ซึ่งสำรวจโรคใบด่างแพสชันฟรุตตามแหล่งที่สำคัญในประเทศไทย พบอาการของโรคไวรัสจำนวน 2 อาการคือ อาการใบด่างเหลืองสลับเขียว และอาการใบด่างเป็นจุดเหลือง ผลการประเมินระดับความรุนแรงของโรคไวรัสเฉลี่ยทุกแปลงเท่ากับ 2.2 คือพบอาการใบอ่อนของแพสชันฟรุตแสดงอาการทั้งด่าง และหงิกเล็กน้อยหรือพื้นที่ใบเป็นโรคประมาณ 26-50 เปอร์เซ็นต์ และพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 89.06 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับ Xu (1999) พบว่า *Passiflora* spp เป็นโรคไวรัส 30 - 40 เปอร์เซ็นต์ บางครั้งพบ 90 เปอร์เซ็นต์ และดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) พบว่าแพสชันฟรุตของบริษัทสยามอุตสาหกรรมที่จังหวัดระยอง ในปี 2528 - 2529 เป็นโรคใบด่างถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผลผลิตลดลงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

ดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) ศึกษาโรคไวรัสของแพสชันฟรุตในประเทศไทย พบเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายประกอบด้วย 2 ชนิด คือ PWV และ CMV ซึ่งพืชอาศัยของเชื้อไวรัส 2 ชนิดนี้อยู่ในวงศ์ Leguminosae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae และ Passifloraceae จึงได้นำข้อมูลพืชอาศัยนี้มาทดสอบโรคไวรัสจากแหล่งปลูก อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร ว่ามีการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดเหมือนกับที่พบในแหล่งอื่นๆ หรือเปล่า ซึ่งก็พบว่าอาการโรคไวรัสทั้ง 3 อาการ จากแหล่งปลูก อำเภอปะทิว คือ 1) อาการใบด่างจุดเหลืองรุนแรง 2) ใบด่างสีเขียวเข้ม และ 3) ใบด่างเส้นใบมีลักษณะเป็น vein banding สามารถถ่ายทอดลงในต้น *C. amaranticolor* ทำให้เกิดจุดแผลสีน้ำตาลแบบเฉพาะแห่ง (local lesion) ในใบที่ถูกปลูกเชื้อหลังจาก 7 วัน แต่ในอาการที่ 2) และ 3) มีการเกิดจุดแผลแบบกระจายทั่วต้นอีกด้วย (systemic lesion) สำหรับถั่วเขียว และถั่วฝักยาว พบว่าเฉพาะอาการที่ 1) เท่านั้นที่ทำให้เกิดอาการจุดแผลเฉพาะแห่งสีน้ำตาลในถั่วเขียวหลังปลูกเชื้อ 3 วัน และทำให้เกิดอาการด่างเหลืองแบบกระจายทั่วทั้งต้นในถั่วฝักยาวหลังจากปลูกเชื้อ 14 วัน ซึ่งอาการของเชื้อไวรัสที่แสดงในต้นถั่วเขียว และต้น *C. amaranticolor* สอดคล้องกับเชื้อ cucumber mosaic virus (CMV) ซึ่งรายงานโดยธีระ ฐิตะบุตร (2535) พบว่าเชื้อ CMV ทำให้เกิดอาการจุดแผลแห้งตายสีน้ำตาล หลังจากปลูกเชื้อ 3-4 วัน เฉพาะบนใบที่ปลูกเชื้อเท่านั้น ต่อมาอีก 5-6 วันใบจะหลุดร่วง อาการในต้นแพสชันฟรุต (*P. edulis*) และกะทกรกป่า (*P. foetida*) จะใกล้เคียงกันคือ

หลังปลูกเชื้อ 10 วัน จะเกิดจุดแผลสีน้ำตาลในใบที่ถูกปลูกเชื้อ (local lesion) และต่อมาจะกระจายไปยังใบยอด (systemic lesion) ทำให้ใบยอดต่าง หัก และเปลี่ยนแปลงรูปร่างซึ่งเหมือนกับดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) รายงานว่าเชื้อ passionfruit woodiness virus เข้าทำลายต้นแพศชันฟรุต และกะทกรกป่าทำให้เกิดอาการใบด่างเหลือง ผิวใบไม่เรียบ ใบยอดหักงอ ถ้าอาการรุนแรงใบจะซีดเหลืองและร่วงหล่น และอาการในต้นบานไม่รู้โรยพบว่า เฉพาะอาการที่ 2) และ 3) เท่านั้นที่แสดงอาการด่างเหลืองแบบกระจายทั่วต้นหลังปลูกเชื้อ 14 วัน ซึ่งในต้นบานไม่รู้โรยที่ปลูกเชื้อ PWV เข้าทำลายจะแสดงอาการเฉพาะอาการด่างจุดเหลืองแบบกระจายทั่วต้นเท่านั้น สำหรับอาการที่ 1) ไม่พบการแสดงอาการด่างจุดเหลือง ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่าความเข้มข้นของเชื้อ PWV มีน้อย จึงไม่สามารถถ่ายทอดลงในต้นบานไม่รู้โรยได้

การแยกสกัด Total RNA และจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสโดยการตรวจสอบ dsRNA ของเชื้อไวรัส ด้วย วิธี gel electrophoresis พบว่าตัวอย่างทั้ง 3 อาการของแพศชันฟรุตคือ ใบด่างเหลือง รุนแรง ใบด่างสีเขียวเข้ม และใบด่างเส้นใบมีลักษณะ vein banding พบลักษณะการเคลื่อนที่ของ dsRNA เชื้อไวรัส มีรูปแบบ pattern ของ RNA4 และ RNA5 คล้ายคลึงกับเชื้อ CMV ซึ่งจากการคำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลของแต่ละอาการของเชื้อไวรัส พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลที่ใกล้เคียงกับเชื้อ CMV มีน้ำหนักโมเลกุล RNA4 เท่ากับ 1.32×10^6 ดาลตัน และ RNA5 เท่ากับ 0.8×10^6 ดาลตัน แสดงให้เห็นว่าทั้ง 3 อาการที่เกิดขึ้นพบการเข้าทำลายของเชื้อ CMV

การตรวจสอบรูปร่าง และขนาดอนุภาคเชื้อไวรัสของแพศชันฟรุตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนจำนวน 2 อาการ คืออาการใบด่างเขียวเข้มพบลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสเป็นแบบ flexuous มีขนาดยาวเฉลี่ยประมาณ 756 นาโนเมตร และใบด่างเส้นใบเป็นแบบ vein banding ตรวจพบลักษณะอนุภาคของเชื้อไวรัสเป็นแบบ flexuous เหมือนกันซึ่งมีความยาวเฉลี่ยประมาณ 529.14 นาโนเมตร

ผลการศึกษา temperature gradient PCR เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาเพิ่มทวีจำนวนของชิ้น DNA โดยใช้ degenerate primer ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไวรัสสมาชิกในกลุ่ม potyvirus พบว่า ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 56.2 - 65 องศาเซลเซียส สามารถเพิ่มจำนวนของ DNA ของเชื้อไวรัสใบด่างเส้นใบเป็น vein banding ได้ดีที่สุด และผลการใช้กระแสไฟฟ้าในการแยก RT-PCR product (gel electrophoresis) ตรวจสอบกลุ่ม potyvirus ของอาการโรคไวรัส พบว่า RT-PCR product ทั้ง 3 อาการมี genome size ประมาณ 1,200 bp ซึ่งขนาดของ genome size และความจำเพาะกับ primer ของ potyvirus group ทำให้สามารถจำแนกได้ว่าเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายแพศชันฟรุตที่ทำให้เกิดอาการทั้ง 3 เป็นเชื้อไวรัสในกลุ่ม potyvirus

การศึกษาวินิจฉัยจำแนกโรคไวรัสของแพศชันฟรุต จากอาการที่สังเกตพบบนใบแพศชันฟรุต การศึกษาชนิด และอาการของพืชอาศัย การตรวจสอบรูปร่าง และลักษณะของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน รวมทั้งการวิเคราะห์ dsRNA และ ขนาดของ PCR product ทำให้สามารถ

สรุปได้ว่าเชื้อสาเหตุโรคใบด่างของแพสชันฟรุตมี 2 ชนิด คือ cucumber mosaic virus (CMV) และ passionfruit woodiness virus (PWV) ซึ่งตรงกับรายงานของดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) รายงานว่าเชื้อสาเหตุโรคใบด่างของแพสชันฟรุตมี 2 ชนิด คือ cucumber mosaic virus และ passionfruit woodiness virus จากการสำรวจโรคใบด่างแพสชันฟรุตตามแหล่งที่สำคัญในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ชัยนาท ขอนแก่น และ ระยอง แต่ก็ไม่พบว่ามีอาการการเกิดจุดแผลในพืชทดสอบที่แตกต่างกันอยู่บ้าง คืออาการในต้น *C. amaranticolor* ของดวงใจ ชูปัญญา และคณะ (2531) เกิดอาการจุดแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) เพียงอย่างเดียว แต่จากการสำรวจในอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร คือ เกิดอาการจุดแผลทั้งแบบเฉพาะแห่ง (local lesion) และ กระจายทั่วทั้งต้นด้วย (systemic lesion) จากตัวอย่างใบแพสชันฟรุตที่แสดงอาการใบด่างสีเขียวเข้ม และใบด่างเส้นใบเป็นแบบ vein banding ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก strain ของเชื้อไวรัสในแต่ละพื้นที่ที่มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ความเข้มข้นของเชื้อก็แตกต่างกัน อาการที่แสดงออกในแต่ละอาการมีอัตราส่วนความเข้มข้นของเชื้อไวรัส 2 ชนิด ที่เข้าทำลายแตกต่างกัน จึงทำให้อาการที่แสดงออกที่สำรวจพบมีความแตกต่างกัน

การศึกษาการถ่ายทอดทางเมล็ด โดยการนำเมล็ดพันธุ์มาปลูกทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ไม่พบว่ามีโรคเลยกับต้นอ่อนที่มีอายุ 1 เดือนซึ่งสอดคล้องกับ Brunt *et al.* (1996) ซึ่งไม่พบการรายงานว่าเชื้อไวรัสสามารถถ่ายทอดได้ทางเมล็ดของแพสชันฟรุต

จากการศึกษาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไวรัสของแพสชันฟรุตในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรเป็นระยะเวลา 1 ปี โดยเปรียบเทียบ 3 วิธีการ คือ 1) การใช้วิธีแบบผสมผสาน 2) การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงเพียงอย่างเดียว และ 3) แปลงปลูกตามธรรมชาติ ซึ่งแปลงทดลองแต่ละแปลงตั้งอยู่ในบริเวณที่แตกต่างกันคือ แปลงที่ 1 ตั้งอยู่บริเวณเชิง แปลงที่ 2 ตั้งอยู่บนภูเขา และแปลงที่ 3 ตั้งอยู่บนพื้นที่ราบ พบว่าระดับความรุนแรงของโรค และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสใน 3 สภาพพื้นที่เพาะปลูก ทุกสภาพพื้นที่การใช้วิธีการแบบผสมผสาน และ การใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว มีระดับความรุนแรง และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสมีความแตกต่างกันในทางสถิติโดยพื้นที่ 2 ใน 3 แปลงที่ทดสอบการใช้วิธีการผสมผสานพบระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด รองลงมาคือการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และพบระดับความรุนแรงในการเกิดโรคสูงที่สุดในแปลงที่ปลูกตามธรรมชาติ เช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคพบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานช่วยชะลอการเกิดโรคได้ดีที่สุด รองลงมาคือการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติพบการเกิดโรคสูงที่สุด สำหรับระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยต่อปี พบว่าวิธีการผสมผสาน มีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือ มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 0.85, 1.07 และ 1.60 ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยต่อปี พบว่าการใช้วิธีการแบบผสมผสานมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 58.50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือการใช้

ใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 67.94 เปอร์เซ็นต์ และแปลงปลูกตามธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยสูงสุดคือ 78.61 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักผลผลิตที่ได้รับเฉลี่ย 3 เดือน พบว่าการใช้วิธีการผสมผสานได้รับน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยสูงสุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียว และแปลงปลูกตามธรรมชาติคือได้รับน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ย 91.19, 49.01 และ 22.38 กิโลกรัม ตามลำดับ

การสำรวจแมลงพาหะพบ 2 ชนิดคือ เพลี้ยอ่อน และด้วงเต่า สำหรับเพลี้ยอ่อนพบ เพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* และ *Aphis gossypii* จากการการตรวจนับจำนวนแมลงที่ติดอยู่บนกับดักกวางเหนียวในวิธีการที่ใช้วิธีการแบบผสมผสาน พบว่ามีจำนวนเพลี้ยอ่อนเฉลี่ยทั้งปี 4.08 ตัว/กับดัก และด้วงเต่า 1.88 ตัว/กับดัก แสดงให้เห็นว่าแมลงพาหะหลักที่นำเชื้อเข้าสู่แปลงปลูกคือ เพลี้ยอ่อน และชนิดของเพลี้ยอ่อนทั้ง 2 ชนิด ที่ตรวจพบเป็นพาหะของเชื้อ CMV และ PWV ในลักษณะ non-persistent ซึ่งรายงานโดย Brunt *et al.* (1996) โดยปกติแล้วเพลี้ยอ่อนเป็นแมลงที่ระบาดมากในช่วงฤดูร้อนแต่จากการสำรวจในแหล่งปลูกอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพรพบว่าช่วงที่แมลงระบาดมากอยู่ในช่วงฤดูฝน (เดือนกันยายน-เดือนธันวาคม) มากกว่าฤดูร้อน(เดือนมกราคม – เดือนมีนาคม) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเพราะว่าในปีที่ทำการศึกษานั้นเป็นปีที่แห้งแล้งมาก และ ในช่วงฤดูฝนไม่ค่อยมีฝนตกจึงทำให้การระบาดของแมลงจึงไม่เป็นไปตามปกติ

สำหรับวิธีการแบบผสมผสานที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้ นับว่าประสบผลสำเร็จเป็นอย่างดี ในการควบคุมแมลงพาหะทำให้พืชชั้นฟรุ้ต มีระดับความรุนแรงของโรค และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ต่ำกว่าการใช้สารเคมีกำจัดแมลงเพียงอย่างเดียว ทำให้ได้รับผลผลิตมากกว่าอย่างชัดเจนซึ่งสามารถใช้เป็นตัวเลือกอีกแนวทางหนึ่งให้เกษตรกรนำไปใช้ เพื่อเพิ่มคุณภาพ และปริมาณในการผลิตพืชชั้นฟรุ้ต