สาเหตุและคุณสมบัติที่สำคัญบางประการของโรคใบหงิกมะเขือเทศ

Causal Agent and Some Important Characters of Tomato Leaf Curl Disease

วารุณี ธนะแพสย์[1] พิสสวรรณ พูลผล[2]
ธีระ สูตะบุตร[3] และ สุพัฒน์ อรรถธรรม[3]
Warunee Thanapase, Pissawan Poolpol,
Thira Sutabutra and Supat Attathom

ABSTRACT

Symptoms of tomato leaf curl disease in Thailand resemble those of tomato leaf curl and tomato yellow leaf curl in the other countries. The cause of which is still uncertain. No low molecular weight nucleic acid was detected from infected tomato The extracted nucleic acid did not infect either tomato or *Gynura* sp. through mechanical inoculation. Infected tomato did not response to tetracycline treatment. Ultrastructural study of phloem tissue of infected plant revealed virus-like spherical particle of 17-20 nm in diameter aggregated in cluster. Same type of particle was found both singly and in pairs in the partially purified virus suspension. It is thus concluded that the causal agent is a virus in the geminivirus group. The virus could be transmitted through tissue implantation and *Bemisia tabaci* Genn. Its host range included *Datura stramonium* L. and *Nicotiana glutinosa* L. Tomato "Sida" and "Morglobe" varieties were infected at the rate of 65-70%. No resistant variety was found.

บทคัดย่อ

โรคใบหงิกมะเขือเทศที่พบในประเทศไทย มีลักษณะอาการคล้ายกับโรค Tomato leaf curl และ Tomato yellow leaf curl ที่พบในต่างประเทศ แต่สาเหตุของโรคยังไม่ได้รับการยืนยันแน่นอน จากการศึกษาคุณสมบัติของโรคพบว่า nucleic acid ที่แยกได้จากมะเขือเทศที่เป็นโรคไม่มีชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และไม่สามารถทำให้มะเขือเทศและก้ามปูลาย (*Gynura* sp.) เป็นโรคเมื่อได้รับการปลูกเชื้อด้วยวิธีกล ต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคไม่ตอบสนองต่อ Tetracycline โครงสร้างจุลภาคของเซลมะเขือเทศที่เป็นโรค มีโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายอนุภาคไวรัสรูปทรงกลม ขนาดเส้นผ่า

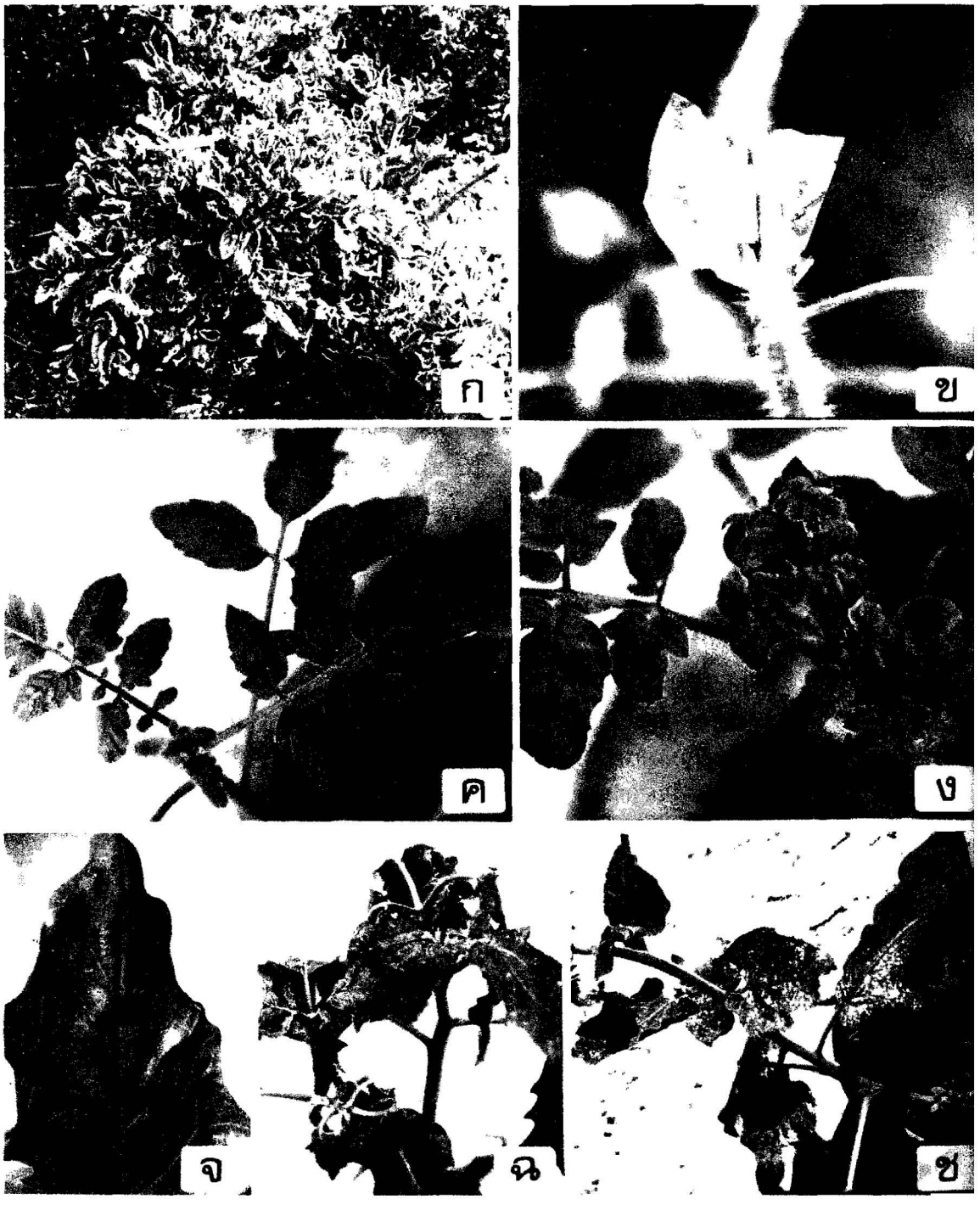
1 วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา วิทยาเขตบางพระ ชลบุรี
2 ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. กำแพงแสน
3 ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Department of Plant Pathology, Kasetsart University

ศูนย์กลาง 17–20 nm อยู่รวมกันเป็นกลุ่มในนิวเคลียสของเซลท่ออาหาร และตรวจพบอนุภาคไวรัสรูปทรงกลมขนาดเดียวกันแบบอนุภาคเดี่ยวและอนุภาคคู่ในสารละลายไวรัสค่อนข้างบริสุทธิ์ จึงสรุปได้ว่าโรคใบหงิกมะเขือเทศเกิดจากเชื้อไวรัสที่อยู่ในกลุ่ม geminivirus โรคใบหงิกมะเขือเทศถ่ายทอดได้โดย tissue implantation และแมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* Genn. พืชอาศัยพบมี *Datura stramonium* L. และยาสูบใบเล็ก *(Nicotiana glutinosa* L.) มะเขือเทศพันธุ์สีดา และ Marglobe เป็นโรครุนแรงถึง 65–70% ยังไม่พบพันธุ์มะเขือเทศที่ต้านทานโรค

คำนำ

โรคใบหงิกมะเขือเทศเป็นโรคที่ระบาดทำความเสียหายอย่างรุนแรงกับมะเขือเทศในแทบทุกท้องที่ อาการที่พบทั่วๆไป เริ่มจากอาการใบหงิก ขอบใบม้วนขึ้นหรือลง ผิวใบไม่เรียบ ใบมีลักษณะเหลือง (yellowing) ยอดแตกเป็นพุ่ม ต้นแคระแกร็น ดอกร่วง ให้ผลน้อย ในต่างประเทศได้มีการศึกษาถึงโรคที่มีลักษณะอาการคล้ายกัน คือ Tomato leaf curl และ Tomato yellow leaf curl ว่าเกิดจากเชื้อไวรัสในกลุ่ม Geminivirus (Goodman, 1981) ในประเทศไทยได้มีการศึกษาเกี่ยวกับโรคนี้มาประมาณ 10 ปี และยังไม่พบสาเหตุของโรค จึงได้ทำการศึกษาถึงสาเหตุของโรค คุณสมบัติต่างๆ วิธีการทดสอบพันธุ์ต้านทานโรค ตลอดจนปฏิกิริยาของมะเขือเทศพันธุ์ต่างๆที่มีต่อโรคนี้ เพื่อประโยชน์ในการป้องกันกำจัดโรคต่อไป

ในประเทศไทยมีรายงานว่ามะเขือเทศที่แสดงอาการดังกล่าวเกิดจากการขาดธาตุแคลเซียม (อนงค์, 2516) ต่อมามีรายงานว่าโรคนี้ถ่ายทอดด้วยวิธีทาบกิ่ง หรือเสียบยอดแต่ไม่ถ่ายทอดด้วยวิธีกล (วินิตา และนวลจันทร์, 2518, วิชัย และ ธีระ, 2521) และถ่ายทอดโดยแมลงหวี่ขาว (วินิตาและนวลจันทร์, 2518) นอกจากนี้ วิชัย และ ธีระ (2521) ยืนยันว่าโรคนี้ไม่ได้เกิดจากการขาดธาตุแคลเซียม และสรุปว่าโรคนี้คล้ายคลึงกับโรค tomato yellow top (TYT) และ tomato yellow leaf curl (TYLC) มากที่สุด โรคทั้งสองนี้ไม่ถ่ายทอดด้วยวิธีกลแต่ถ่ายทอดโดยวิธีทาบกิ่ง (Braithwaite and Blake, 1961; Cohen and Nitzany, 1966) และมีพืชอาศัยอยู่ในวงแคบเฉพาะพืชในวงศ์ Solanaceae เท่านั้น การถ่ายทอดโดยแมลงของโรคทั้งสองแตกต่างกัน TYT ถ่ายทอดโดยเพลี้ยอ่อน *Macrosiphum euphobiae* Thorn. (Braithwaite and Blake, 1961) แต่ TYLC ถ่ายทอดโดยแมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* Genn. (Cohen and Nitzany, 1966) จากการศึกษาลักษณะอาการของโรค การถ่ายทอดโรค และการตรวจไม่พบเชื้อสาเหตุ ทำให้นักโรคพืชตั้งข้อสังเกตว่า โรคนี้อาจจะเกิดจากเชื้อมายโคพลาสมาคล้ายกับโรค tomato big bud (Dana, 1940; Granett and Provvidenti, 1974) และ mal azul (Maramorosch *et al.*, 1970) หรือเกิดจากไวรอยด์บางชนิด เช่น potato spindle tuber viroid (Deiner, 1977) ในปี ค.ศ. 1975 มีการค้นพบเชื้อไวรัสในกลุ่ม Geminivirus ไวรัสบางชนิดในกลุ่มนี้ทำให้เกิดโรคกับมะเขือเทศคล้ายกับโรคใบหงิกมะเขือเทศในประเทศไทย เช่น Brazilian golden mosaic, yellow dwarf, tomato yellow mosaic (Lastra and Gil, 1981) tomato yellow leaf curl (Russo *et al.*, 1980) เชื้อไวรัสเหล่านี้ถ่ายทอดได้ง่ายโดยแมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* Genn. อนุภาคมีขนาดเล็กประมาณ 18–20 nm และมักจะพบอนุภาคอยู่เป็นคู่ๆ (geminated) แตกต่างจากไวรัสในกลุ่มอื่นๆ ไวรัสชนิดนี้ไม่เคยมีรายงานว่าทำให้เกิดโรคกับมะเขือเทศในประเทศไทย



ภาพที่ 1 ก. ลักษณะอาการโรคใบหงิกมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) พันธุ์สีดาในไร่

ข. แสดงการถ่ายทอดโรคโดยวิธี tissue implantation

ค. ง. มะเขือเทศพันธุ์ Marglobe ที่เป็นโรคใบหงิกเนื่องจากการปลูกเชื้อโดยวิธี tissue implantation หลังจากปลูกเชื้อ 10 และ 25 วัน ตามลำดับ

จ. ฉ. อาการของโรคใบหงิกมะเขือเทศบนลำโพง (*Datura stramonium* Linn.) หลังจากปลูกเชื้อ 10 และ 18 วันตามลำดับ

ช. อาการของโรคใบหงิกมะเขือเทศ บนยาสูบใบเล็ก (*Nicotiana glutinosa* Linn.) หลังจากปลูกเชื้อ 21 วัน

อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อโรคใบหงิกมะเขือเทศ เชื้อที่ใช้ในการทดลองได้มาจากมะเขือเทศที่แสดงอาการใบหงิก (ภาพที่ 1 ก.) จากแปลงทดลองภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

1. การแยก nucleic acid จากมะเขือเทศที่เป็นโรคใบหงิก

แยก nucleic acid จากใบมะเขือเทศเป็นโรคและมะเขือเทศปกติด้วยวิธี double phase phenol-alcohol extraction ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ Semancik and Weathers (1972) ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของ nucleic acid ที่แยกได้ด้วย Beckman Acta MIV Ultraviolet Spectrophotometer และ polyacrylamide gel electrophoresis และศึกษาคุณสมบัติของ nucleic acid ในการทำให้เกิดโรคกับมะเขือเทศ และก้ามปูลาย (*Gynura* sp.) โดยทดลองใช้วิธีการปลูกเชื้อ 3 วิธี คือใช้เข็มปลายแหลม ฉีด nucleic acid เข้าลำต้น ใช้มีดโกนจุ่ม nucleic acid แล้วเฉือนลำต้นให้เป็นรอยเล็กๆ และใช้สำลีพันปลายไม้จุ่ม nucleic acid ทาบนใบพืช

2. โครงสร้างจุลภาคของเซลมะเขือเทศที่เป็นโรคใบหงิก นำส่วนก้านใบ เส้นกลางใบ และเส้นใบย่อยของต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการโรคอย่างชัดเจน มาเตรียมตัวอย่างและตัด ultra thin section เพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอน โดยใช้วิธีของ Russo *et al.* (1980)

3. การถ่ายทอดโรค

การถ่ายทอดโรคโดยวิธี Tissue implantation

วิธีการที่ใช้ในการทดลองดัดแปลงมาจากวิธีของ Boss (1967) และ Dimock *et al.*, (1971) นำกิ่งมะเขือเทศที่เป็นโรคใบหงิกที่มีขนาดเท่ากับลำต้นกล้ามะเขือเทศที่ใช้ทดลอง ซึ่งมีอายุ 20-25 วัน มาตัดให้มีขนาดยาวประมาณ 1.5–2 ซม. แล้วผ่าตามยาวทั้งสองข้างให้ชิ้นพืชที่ต้องการซึ่งอยู่ตรงกลางมีความหนาประมาณ 0.15-0.2 ซม. แล้วนำไปสอดเข้าในลำต้นบริเวณโคนต้นมะเขือเทศปกติ พันด้วยเทปใสรอบต้นเพื่อให้ชิ้นพืชสัมผัสกันได้ดี (ภาพที่ 1 ข.) นำไปเก็บไว้ในกรงกันแมลงเพื่อตรวจดูอาการทุกวัน เป็นเวลา 60 วัน พืชเปรียบเทียบ(control) ทำเช่นเดียวกัน แต่ใช้ชิ้นพืชจากต้นปกติแทนชิ้นพืชจากต้นเป็นโรคทำการทดลอง 3 ครั้งต่างเวลากัน

การถ่ายทอดโรคโดยแมลง

เลี้ยงแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci* Genn.) บนต้นยาสูบใบใหญ่ *N. tabacum* Linn. ให้ปราศจากเชื้อย้ายแมลงหวี่ขาวไปดูดกินบนต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคใบหงิกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ย้ายแมลงหวี่ขาว 10–15 ตัว ไปปล่อยลงบนมะเขือเทศปกติที่ปลูกในกรงเลี้ยงแมลงขนาดเล็กกรงละ 1 ต้น ปล่อยให้ดูดกินเป็นเวลา 24 ชั่วโมง กำจัดแมลงหวี่ขาวด้วยยาฆ่าแมลง เก็บพืชทดลองในกรงกับแมลงขนาดใหญ่ สังเกตดูอาการเป็นเวลา 60 วัน พืชเปรียบเทียบ (control) ทำแบบเดียวกัน แต่ให้แมลงดูดกินบนต้นมะเขือเทศปกติแทนต้นเป็นโรค ทำการทดลอง 2 ครั้ง ต่างเวลากัน

4. การทดสอบพืชอาศัยและการเป็นโรคของมะเขือเทศพันธุ์ต่างๆ

ทดสอบพืชอาศัย 8 ชนิด (ตารางที่ 1) ด้วยวิธีการปลูกเชื้อแบบ tissue implantation ปลูกเชื้อบนพืชชนิดละ 15 ต้น ใช้พืชเปรียบเทียบ (control) ชนิดละ 10 ต้นตรวจดูอาการเป็นเวลา 60 วัน ทำการทดลอง 2 ครั้งต่างเวลากัน และศึกษาเปรียบเทียบการเป็นโรคของมะเขือเทศพันธุ์ต่างๆ ด้วยวิธีการปลูกเชื้อแบบ

ตารางที่ 1 พืชอาศัยที่ใช้ในการทดสอบ

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ อังกฤษ/ไทย	
Capsicum frutescens Linn.	tabasco pepper	พริกขี้หนู
Datura stramonium Linn.	Jimson weed	ลำโพง
Gynura sp.	–	ก้ามปูลาย
Lycopersicon esculentum Mill.	tomato	มะเขือเทศ
Nicotiana glutinosa Linn.	–	ยาสูบใบเล็ก
N. tabacum Linn.	tobacco	ยาสูบใบใหญ่
Solanum nigrum Linn.	black nightshade	มะแว้งนก
Vinca rosea Linn.	periwinkle	พังพวย

เดียวกัน ใช้มะเขือเทศพันธุ์ละ 10 ต้นใช้พืชเปรียบเทียบพันธุ์ละ 5 ต้น เก็บต้นพืชทดลองไว้ในกรงกันแมลงเป็นเวลา 60 วัน ทำการทดลอง 2 ครั้งต่างเวลากัน

5. การทดสอบผลตอบสนองต่อ tetracycline hydrochloride

เตรียมชิ้นส่วนของมะเขือเทศที่เป็นโรคเช่นเดียวกับการทดสอบการถ่ายทอดโรคแบบ tissue implantation ในข้อ 4. นำมาแช่ในสารละลาย tetracycline hydrochloride เข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 ppm ในเวลา 20 นาที อีกส่วนหนึ่งนำมาแช่ในสารละลาย tetracycline hydrochloride เข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 10, 20, 30 และ 60 นาที ตามลำดับ ใช้ชิ้นส่วนพืช 5 ชิ้นต่อ treatment นำชิ้นพืชเหล่านั้นไปเสียบเข้าในลำต้นมะเขือเทศปกติตามวิธี tissue implantation เก็บพืชทดลองไว้ในกรงกันแมลง ตรวจดูอาการทุกวันเป็นเวลา 60 วัน พืชเปรียบเทียบทำเช่นเดียวกันแช่ในน้ำกลั่นแทน ทำการทดลอง 2 ครั้งต่างเวลากัน

6. การตรวจหาเชื้อไวรัสโดยวิธีแยกเชื้อบริสุทธิ์

นำต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคจากวิธีปลูกเชื้อแบบ tissue implantation มาแล้ว 3 สัปดาห์ เก็บเฉพาะส่วนใบและก้านใบย่อยไว้ที่อุณหภูมิ 4°C นาน 12 ชม. นำมาแยกเชื้อค่อนข้างบริสุทธิ์ด้วยวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Osaki และ Inouye (1978) นำสารละลายที่แยกได้มาตรวจหาอนุภาคไวรัส โดยผสมสารละลาย 1 หยด กับ 10% formalin จำนวน 1 หยดบนกริด (grid) หลังจากทิ้งไว้ 30 นาที ซับให้แห้งย้อมด้วย 2% uranyl acetate (ในน้ำ) จำนวน 7 หยด ซับให้แห้ง แล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอน

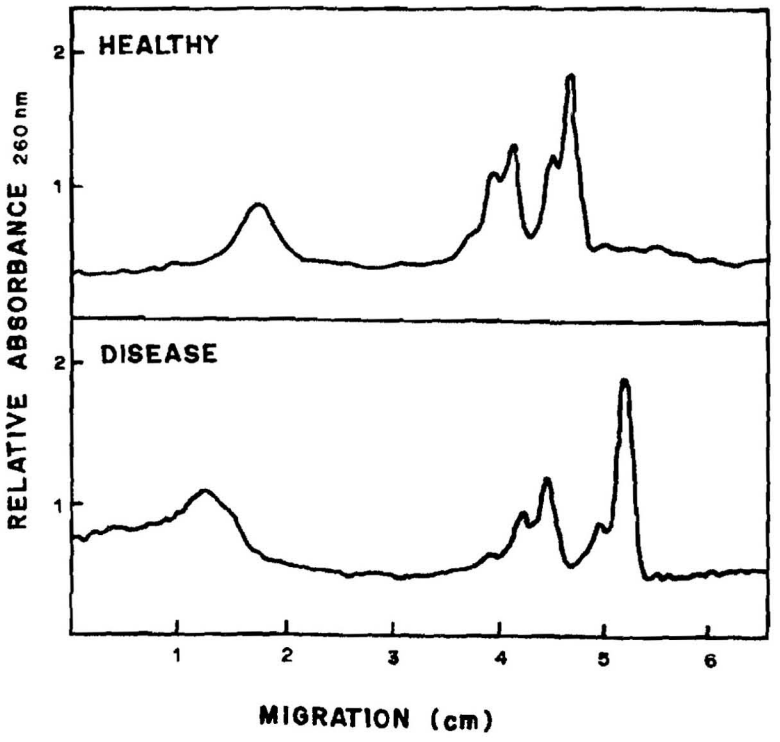
ผล

1. Nucleic acid จากมะเขือเทศที่เป็นโรคใบหงิก

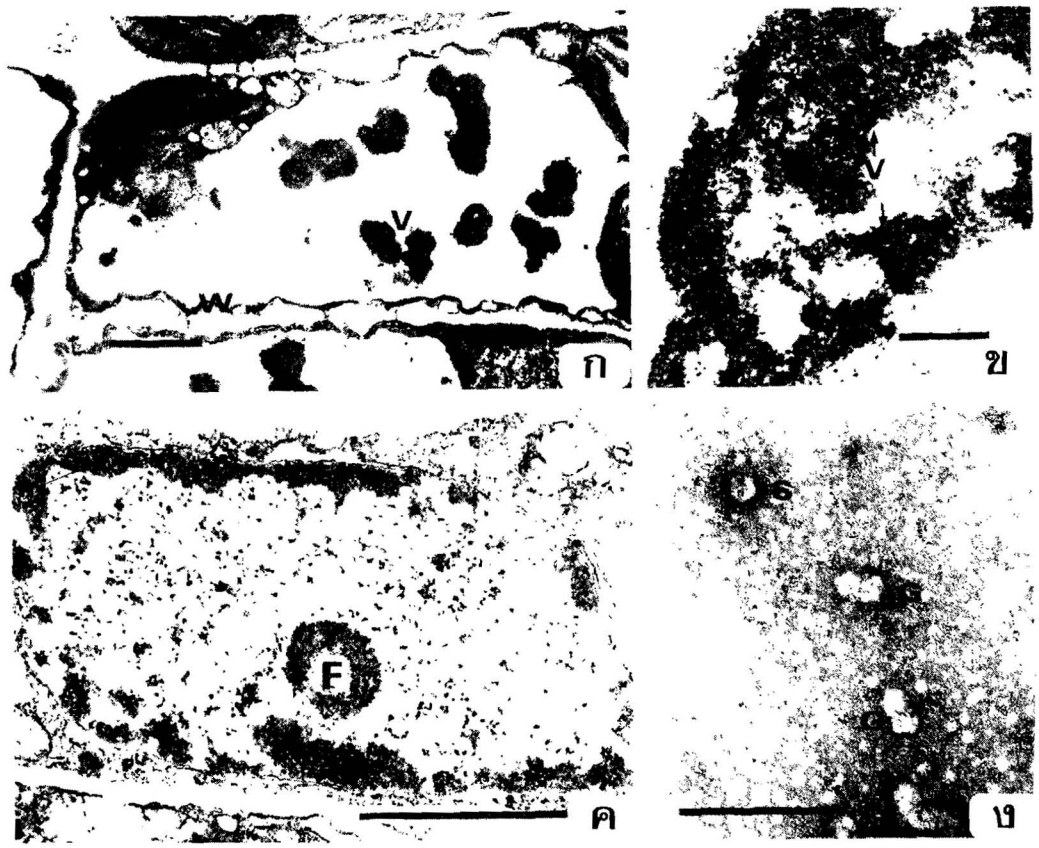
Nucleic acid ที่แยกได้จากต้นมะเขือเทศปกติและต้นที่เป็นโรคใบหงิก มี electrophoretic mobilities เหมือนกัน (ภาพที่ 2) ไม่พบ nucleic acid ชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำในต้นที่เป็นโรค และ nucleic acid ที่แยกได้ไม่ทำให้เกิดโรคกับมะเขือเทศและก้ามปูลาย

2. โครงสร้างจุลภาคของเซลมะเขือเทศที่เป็นโรคใบหงิก

ตรวจพบผลึกคล้ายอนุภาคไวรัส ขนาดอนุภาคประมาณ 17–20 nm อยู่เป็นกลุ่มภายในนิวเคลียสของเซลที่เป็นโรค มีการจัดเรียงตัวของผลึกในลักษณะ fibrillar ring (ภาพที่ 3. ก–ค)



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบ Electrophoretic scanning profiles ของ nucleic acid ที่แยกได้จากมะเขือเทศปกติ (Healthy) และมะเขือเทศเป็นโรคใบหงิก (Disease)



ภาพที่ 3 ก. ผลึกของกลุ่มอนุภาคไวรัส (v) ที่พบในเซลท่ออาหาร w = cell wall เส้นสีดำในภาพมีความยาวเท่ากับ 1,000 nm

ข. ภาพผลึกขยายใหญ่ v = virus particle เส้นสีดำในภาพมีความยาวเท่ากับ 100 nm

ค. โครงสร้างผิดปกติในนิวเคลียสของเซลท่ออาหาร ลักษณะคล้าย Fibrillar ring (F) เส้นสีดำในภาพมีความยาวเท่ากับ 500 nm

ง. อนุภาคไวรัส 2 จำพวก แบบที่อยู่เป็นคู่ (Germinate, G) และแบบอยู่เดี่ยว (Single, S) เส้นสีดำในภาพมีความยาวเท่ากับ 100 nm

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนและเปอร์เซ็นต์มะเขือเทศที่เป็นโรคใบหงิกจากการถ่ายทอดโรคโดยวิธี tissue implantation

พันธุ์	จำนวนต้นและเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค (จากการทดลอง 3 ครั้ง)			เฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค
	1	2	3	
[illegible]rglobe	14/20[1](70%)	16/20(80%)	13/20(65%)	71.66
[illegible]trol	0/10	0/10	0/10	0

1 จำนวนต้นที่เป็นโรค/จำนวนต้นที่ปลูกเชื้อ

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนและเปอร์เซ็นต์มะเขือเทศที่เป็นโรคใบหงิกจากการถ่ายทอดโรคโดยแมลงหวี่ขาว

การทดลองครั้งที่	จำนวนแมลงที่ใช้ (ตัวต่อต้น)	จำนวนต้นที่เป็นโรค / จำนวนต้นที่ปลูกเชื้อ	เปอร์เซ็นต์เป็นโรค	พืชเปรียบเทียบ
1	10	17/25	68	0/10
2	15	31/35	88	0/20

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนและเปอร์เซ็นต์ของมะเขือเทศพันธุ์ต่าง ๆ ที่แสดงอาการโรคใบหงิก

พันธุ์	จำนวนต้นและเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค จากการทดลอง 2 ครั้ง		เปอร์เซ็นต์เป็นโรค (เฉลี่ย)
	1	2	
Floradel	6/20[1](60%)	7/10(70%)	65
Marglobe	7/10 (70%)	7/10(70%)	70
Saturn	7/10 (70%)	7/10(70%)	70
Tropic	7/10 (70%)	6/10(60%)	65
Venus	6/10 (60%)	5/10(50%)	55
สีดา	6/10 (60%)	7/10(70%)	65

1 จำนวนต้นที่เป็นโรค/จำนวนต้นที่ปลูกเชื้อ

3. การถ่ายทอดโรค

การถ่ายทอดโรคด้วยวิธี tissue implantation บนมะเขือเทศพันธุ์ Marglobe ทำให้มะเขือเทศเป็นโรคได้ เฉลี่ย 71.66 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) โดยที่มะเขือเทศจะแสดงอาการหลังจากการถ่ายทอดโรค 2–3 สัปดาห์ (ภาพที่ 1. ค, ง) แมลงหวี่ขาวสามารถถ่ายทอดโรคได้ตั้งแต่ 68–88 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 3)

4. การทดสอบพืชอาศัยและการเป็นโรคของมะเขือเทศพันธุ์ต่าง ๆ

นอกจากมะเขือเทศแล้ว พบว่า *Datura stramonium* Linn. และ *Nicotiana glutinosa* Linn. เป็นพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุโรคใบหงิกมะเขือเทศ แสดงอาการแบบ interveinal chlorosis, leaf curl, yellowing และ malformation (ภาพที่ 1. จ, ฉ) และ chlorotic

spot (ภาพที่ 1. ช) *Capsicum frutescens* Linn. *Gynura* sp, *Nicotiana tabacum* Linn. *Solanum nigrum* Linn. และ *Vinca rosea* Linn. ไม่แสดงอาการของโรค

มะเขือเทศทุกสาย พันธุ์เป็นโรค จากการถ่ายทอดโรคด้วยวิธี tissue implantation เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 55–70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4) อาการของโรคบนมะเขือเทศทุกพันธุ์คล้ายคลึงกัน และไม่พบพันธุ์ที่มีแนวโน้มว่าต้านทานโรค

5. ผลตอบสนองต่อ tetracycline hydrochloride

ผลการทดลองปรากฏว่าหากแช่ชิ้นพืชที่ความเข้มข้นต่ำ และเวลาน้อย เช่น 50 ppm นาน 20 นาที และ 100 ppm นาน 10 นาที มะเขือเทศจะแสดงอาการของโรคประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ แต่แช่ที่ความเข้มข้นสูง และเวลามากขึ้น จะไม่พบมะเขือเทศแสดงอาการของโรคเลย ในขณะที่พืชเปรียบเทียบเป็นโรค 75 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ดูเหมือนว่าสาเหตุของโรคใบหงิกมีความไวต่อ tetracycline hydrochloride แต่จากการตรวจดูชิ้นพืชเป็นโรคที่นำมาเสียบเข้าไป ปรากฏว่าในต้นที่ไม่แสดงอาการชิ้นพืชแห้งตาย ส่วนต้นที่แสดงอาการชิ้นพืชยังสดอยู่ พอสรุปได้ว่า tetracycline ไปมีผลทำให้ชิ้นพืชที่เสียบเข้าไปตาย ทำให้ไม่สามารถถ่ายทอดโรคได้ ในกรณีเช่นนี้พอจะกล่าวได้ว่าเชื้อสาเหตุของโรคไม่ตอบสนองต่อ tetracycline

6. การตรวจหาเชื้อไวรัส โดยวิธีแยกเชื้อบริสุทธิ์

จากสารละลายไวรัสค่อนข้างบริสุทธิ์ที่เตรียมได้ ตรวจพบอนุภาคไวรัสรูปทรงกลม และอนุภาคคู่ (geminated particles) (ภาพที่ 8 ง.) อัตราส่วน ระหว่างอนุภาคเดี่ยวและอนุภาคคู่เท่ากับ 1 : 8

สรุปและวิจารณ์

จากการศึกษาคุณสมบัติของnucleic acid ที่แยกได้จากมะเขือเทศเป็นโรค ไม่พบnucleic acid ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ แสดงว่าเชื้อสาเหตุไม่ใช่ไวรอยด์ และการศึกษาโครงสร้างจุลภาคของ มะเขือเทศที่เป็นโรค ไม่พบโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายมายโคพลาสมา และการไม่ตอบสนองต่อ tetracycline hydrochloride แสดงว่าโรคนี้ไม่ได้เกิดจากเชื้อมายโคพลาสมาการพบอนุภาคไวรัสในเซลที่เป็นโรคและในสารละลายที่ได้จากการเตรียมไวรัสบริสุทธิ์ พอจะสรุปได้เป็นครั้งแรกว่า โรคใบหงิกของมะเขือเทศที่พบในประเทศไทย เกิดจากไวรัสที่มีลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 17–20 nm อยู่ในกลุ่ม Geminivirus การทดสอบการเป็นโรค (Pathogenecity test) ของไวรัสที่ตรวจพบจึงจำเป็นต้องทำการทดลองต่อไป โรคนี้ถ่ายทอดได้โดยแมลงหวี่ขาวเปอร์เซ็นต์สูง 68–83 เปอร์เซ็นต์ เป็นเครื่องชี้ให้เห็นว่าแมลงหวี่ขาวเป็นพาหะที่สำคัญในการทำให้โรคแพร่ระบาด แนวทางหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคนี้จึงควรมุ่งไปที่การลดจำนวนแมลงหวี่ขาว ซึ่งอาจทำได้โดยการใช้ยาฆ่าแมลง การที่โรคนี้มีพืชอาศัยเฉพาะเจาะจงอยู่ ในวง solanaceae ก็เป็นแนวทางพิจารณาประกอบการป้องกันกำจัด โดยการทำลายพืชอาศัย นอกจากนี้โรคยังถ่ายทอดได้โดยวิธี tissue implantation ในเปอร์เซ็นต์ค่อนข้างสูง 65–80 % วิธีการถ่ายทอดนี้ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ให้ผลแน่นอนและใช้ตัวอย่างพืชเป็นโรคจำนวนน้อย จึงสามารถทำการปลูกเชื้อได้คราวละมากๆ และสามารถนำวิธีปลูกเชื้อมาใช้ในการทดสอบพันธุ์ต้านทานโรคได้ แต่ก็เป็นที่น่าเสียดายอย่างยิ่งที่ยังไม่พบมะเขือเทศที่ต้านทานต่อโรค มะเขือเทศพันธุ์ที่นิยมปลูกเช่น พันธุ์สีดา และ Marglobe เป็นโรคนี้ได้รุนแรง

เอกสารอ้างอิง

วิชัย โฆสิตรัตน และ ธีระ สูตะบุตร. 2521. การศึกษาหาสาเหตุของโรคใบหงิกของมะเขือเทศ, รายงานการประชุมทางวิชาการและชีววิทยา ครั้งที่ 16 3–5 กุมภาพันธ์ 2521 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วนิตา อธิไภริน และ นวลจันทร์ ดีมา. 2518. การศึกษาการถ่ายทอดโรคใบหงิกของมะเขือเทศ รายงานผลการทดลองและวิจัยประจำปี 2518–19. กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร หน้า 54–57.

อนงค์ จันทรศรีกุล. 2516. ทำอย่างไรกสิกรจึงจะปลูกมะเขือเทศได้ตลอดปีโดยไม่มีโรคสำคัญระบาด. กสิกร. 46(3) : 279–286.

Bos, L. 1967. Graft transmission of plant viruses. In Maramorosch, K. and H. Koprowski. 1967. Methods in Virology. Volume I. New York: Academic Press. 640 p.

Braithwaite, B.M. and C.D. Blake. 1961. Tomato yellow top virus: Its distribution, characteristics, and transmission by the aphid *Macrosiphum euphorbiae* (Thon.). *Aust. J. Agric. Res.* 12 : 1100–1107.

Cohen, S. and F.E. Nitzany. 1966. Transmission and host range of tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology.* 56 : 1127–1131.

Dana, B.F. 1940. Occurrence of big bud of tomato in the Pacific Northwest. *Phytopathology.* 30 : 866–869.

Diener, T.O. 1977. Viroids. In Maramorosch, K. 1977. The atlas of insect and plant viruses. Vol. 8. Ultrastructure in biological systems. New York : Academic Press. 478 pp.

Dimock, A.W., C.M. Geissinger and R.K. Horst. 1971. A new adaptation of tissue implantation for the study of virus and mycoplasma. *Phytopathology.* 61 : 429–430.

Goodman, R.M. 1981. Geminiviruses. *J. gen. Virol.* 54 : 9–21.

Granett, A.L. and R. Provvidenti. 1974. Tomato big bud in New York State. *Plant Dis. Reptr.* 58 : 211–214.

Lastra, R. and F. Gil. 1981. Ultrastructural host cell changes associated with tomato yellow mosaic. *Phytopathology.* 71 : 524–528.

Maramorosch, K., R.R. Granados and H. Hirumi. 1970. Mycoplasma disease of plants and insects. *Adv. Virus Res.* 16 : 135–193.

Osaki, T. and T. Inouye. 1978. Resemblance in morphology and intranuclear appearance of virus isolated from yellow dwarf diseased tomato and leaf curl diseased tobacco. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* 44 : 167–178.

Russo, M., S. Cohen, and G.P. Martell. 1980. Virus-like particles in tomato plants affected by the yellow leaf curl disease. *J. gen Viral* 49 : 209–213.

Semancik, J.S. and J.G. Weathers. 1972. Exocortis virus : An infectious free-nucleic acid plant virus with unusual propertics. *Virology.* 47 : 456–466.