

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การตรวจหาสาเหตุและระบาดวิทยาของโรคฝักหด ของถั่วเหลืองฝักสด
ชื่อผู้เขียน	นายสันติ โยธราชญ์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาโรคพืช
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิชชา สอาดสุด ประธานกรรมการ รองศาสตราจารย์ ดร. สมบัติ ศรีชูวงศ์ กรรมการ อาจารย์ ดร. วรवरณ ชาลีพรหม กรรมการ อาจารย์ ดร. อูราภรณ์ สอาดสุด กรรมการ

### บทคัดย่อ

จากการสำรวจถั่วเหลืองที่แสดงอาการฝักหดจากแปลงปลูกเกษตรกร หมู่บ้านสันจำปา อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย พบการระบาดของโรคฝักหดมากกว่า 80% ลักษณะอาการที่พบบนต้นถั่วเหลืองแสดงอาการใบขดค่นเส้นใบมีสีเหลืองใบมีขนาดเล็กค่น ใบแกมีสีเขียวเข้ม ฝักบิดเบี้ยว แก่ช้ากว่าปกติ บางแหล่งปลูกพบอาการต้นตี้ยเส้นใบเหลือง ใบค่างประศิครูป หรือใบหงิกปนอยู่ด้วย เมื่อนำตัวอย่างใบถั่วเหลืองที่แสดงอาการมาตรวจหาเชื้อไวรัสสาเหตุ โดยอาศัยเทคนิค PCR (polymerase chain reaction) ใช้ primer ที่มีความเฉพาะต่อเชื้อไวรัส SCLV (Soybean crinkle leaf virus) คือ TV1 และ TV2 และ primer ที่มีความเฉพาะต่อเชื้อไวรัส CPMMV (Cowpea mild mottle virus) คือ Caria – Uni, CN45, CN47 และ CN55 ทำการตรวจวิเคราะห์ขนาด DNA ของ SCLV บน 0.8% agarose gel พบแถบ DNA ขนาด 770 bp จากตัวอย่างใบถั่วเหลืองค่นที่แสดงอาการฝักหดทั้ง 10 ตัวอย่าง การตรวจวิเคราะห์ขนาด RNA ของ CPMMV บน 1% agarose gel พบแถบ RNA ขนาด 120 bp จากตัวอย่างใบถั่วเหลืองที่แสดงอาการฝักหด 4 ตัวอย่าง เมื่อนำใบถั่วเหลืองที่แสดงอาการใบขดค่นมาตรวจด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องผ่าน(TEM) พบอนุภาคไวรัสลักษณะ rod shape ขนาดความยาว 700 nm จากการตรวจสอบการถ่ายทอดไวรัส

ทางเมล็ดพันธุ์จำนวน 800 เมล็ด ไม่พบต้นกล้าที่แสดงอาการของไวรัส เมื่อนำมาตรวจหาเชื้อสาเหตุ โดยเทคนิค PCR ไม่ปรากฏแถบ DNA และ RNA และเมื่อนำใบถั่วเหลืองจากต้นที่แสดงอาการ ฝักหุดไปถ่ายทอดโดยวิธีกลบนพีชทดสอบ 6 ชนิด พบว่ามีเพียง 3 ชนิดที่แสดงอาการ คือถั่วเหลือง แสดงอาการ mosaic หรือ vein clearing บานไม่รู้โรยแสดงอาการ mosaic และถั่วเขียวแสดงอาการ chlorotic blotch เมื่อนำไปพีชทดสอบทั้ง 6 ชนิด ไปตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยเทคนิค PCR ปรากฏว่า ไม่พบแถบ DNA จากตัวอย่างพีชทดสอบที่ปลูกเชื้อไวรัส SCLV ในการตรวจหาเชื้อ CPMMV พบ แถบ RNA จากใบถั่วเหลือง บานไม่รู้โรย และ ถั่วเขียว มีขนาด 120 bp จากการทดสอบการถ่าย ทอดโรคโดยแมลงหวีขาวจากต้นถั่วเหลืองที่แสดงอาการฝักหุดไปยังต้นยาสูบพบว่าต้นยาสูบแสดง อาการใบขอย่นอย่างรุนแรง และเมื่อทำการถ่ายทอดเชื้อไวรัสสาเหตุทั้ง 2 ชนิด คือ SCLV จากต้น ยาสูบ และ CPMMV จากต้นถั่วเขียวไปยังต้นถั่วเหลือง พบว่าต้นถั่วเหลืองที่ได้รับการถ่ายทอดเชื้อ SCLV จากต้นยาสูบแสดงอาการใบขอย่น ฝักมีขนาดเล็กและหดย่น ต้นถั่วเหลืองที่ได้รับการถ่าย ทอดเชื้อ CPMMV จากต้นถั่วเขียวที่แสดงอาการใบค่างพบว่าฝักมีขนาดปกติไม่แสดงอาการ ฝักหุด เมื่อตรวจหาระยะเวลาในการระบาดของโรคไวรัสที่ทำให้เกิดฝักหุด โดยการปลูกต้นถั่วเหลืองที่มี อายุต่างกันคือ 6 12 18 24 30 และ 36 วัน ทำการถ่ายทอดเชื้อโดยการนำต้นถั่วเหลืองดังกล่าวไป ไว้ในแปลงปลูกถั่วเหลืองที่มีการระบาดของโรคฝักหุดอย่างรุนแรงโดยมีแมลงหวีขาวเป็นพาหะ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าต้นถั่วเหลือง อายุ 36 วัน ที่ติดเชื้อไวรัสฝักหุดจะมีอาการฝักหุดประมาณ 60% แต่ในต้นถั่วเหลืองที่ติดเชื้อเมื่ออายุน้อยกว่านี้จะมีอาการฝักหุดถึง 100% เมื่อทำการทดสอบ สารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงพาหะนำเชื้อสาเหตุ พบว่าสารเคมีกำจัดแมลง cyhalothrin และ triazophos สามารถยับยั้งการออกจากดักแด้ของแมลงหวีขาวได้ดีที่สุด รองลงมาคือ buprofezin scetamiprid methamidaphos ตามลำดับ ส่วนสารเคมีที่กำจัดการออกจากดักแด้ของแมลงหวีขาวได้ น้อยที่สุดคือ methomy

<b>Thesis Title</b>	<b>Investigation and Epidemiology of the Causal Agent of Pod Crinkle Disease of Vegetable Soybean</b>	
<b>Author</b>	<b>Mr. Santi Yothartha</b>	
<b>M.S.</b>	<b>Plant Pathology</b>	
<b>Examining Committee</b>	<b>Assistant Professor Dr. Vicha Sardsud</b>	<b>Chairman</b>
	<b>Associate Professor Dr. Sombat Srichuwong</b>	<b>Member</b>
	<b>Lecturer Dr. Worawan Chaleeprom</b>	<b>Member</b>
	<b>Lecturer Dr. Uraporn Sardsud</b>	<b>Member</b>

### **Abstract**

A survey on the pod crinkle disease of vegetable soybean plantation at Son Jum Pa village, Amphur Mae Sruay, Chiang Rai province revealed that there were more than 80% diseased plants. Typical symptoms of diseased plants were crinkle leaf, yellow vein, dark green leaf and crinkle pod. Polymerase chain reaction (PCR) technique was employed to detect a virus pathogen which was the causal agent of the disease. The specific primers used were TV1 and TV2 for Soybean crinkle leaf virus (SCLV) and Carla-Uni, CN45, CN47 and CN55 for *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV). SCLV DNA was found on all leaf samples of the diseased plants, but only four leaf samples had CPMMV RNA. The size of SCLV DNA on 0.8% agarose gel analysis was 770 bp and CPMMV RNA was 120 bp on 1 % agarose gel. When the diseased leaf was observed under transmission electron microscope the particles of rod shaped virus with 700 nm in length were seen. Eight hundred seeds collected from the infected plants were planted for testing seed transmission of the virus. PCR technique was also performed to check DNA and RNA of the virus in the seedlings, No disease symptom and neither of DNA or RNA of virus was found in the seedlings. A test on index hosts, the virus could be mechanically transmitted onto

soybean, globeamaranth and mungbean showing mosaic or vein clearing, mosaic and chlorotic blotch symptoms respectively. Only RNA of CPMMV was determined on those three plants. The virus could not be mechanically transmitted onto tobacco, petunia and zinnia. For insect transmission tested, whitefly could transmit the virus from crinkle pod of soybean to tobacco and from disease tobacco back to healthy soybean. The inoculated tobacco plants had severe crinkle leaf symptom. No symptom developed on soybean after inoculation with CPMMV by whitefly from mosaic mungbean. Symptom development at various stages of plant was studied by placing soybean seedlings at 6, 12, 18, 24, 30 and 36 days old in the heavily infected field for 48 hours. The plant naturally inoculated at 36 days old produced only 60% of crinkle pod while 100% was obtained from younger seedlings inoculation. Six insecticides were tested against whitefly, the insect vector. The most effective chemicals against the insect were cyhalothrin and triazophos. Moderately effective chemicals were buprofezin, scetamiprid and methanmidaphos while methomy had no effect on hatching of the insect.