

- แผนงานวิจัย** : วิจัยอนุกรมวิธาน ซีววิทยา และการจำแนกชนิดโดยดีเอ็นเอบาร์โคดของ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ เพื่อการวิจัยด้านอารักขาพืชในประเทศไทย (โครงการวิจัยเดี่ยว)
- โครงการวิจัย** : วิจัยอนุกรมวิธาน ซีววิทยา และการจำแนกชนิดโดยดีเอ็นเอบาร์โคดของ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ เพื่อการวิจัยด้านอารักขาพืชในประเทศไทย
- กิจกรรม** : สำรวจชนิดและอนุกรมวิธานของศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
- กิจกรรมย่อย** : สำรวจชนิดและอนุกรมวิธานของจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชและจุลินทรีย์ควบคุม โรคพืช
- ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การศึกษาและจำแนกโรค *Leek yellow stripe virus* (LYSV) ในกระเทียม
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)** : Study and Identification of *Leek yellow stripe virus* (LYSV) disease on garlic
- คณะผู้ดำเนินงาน**
- หัวหน้าการทดลอง : สิริศักดิ์ แสนไพศาล<sup>1</sup>

### บทคัดย่อ

การตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัส *Leek yellow stripe virus* (LYSV) ในกระเทียม เกิดจากเชื้อไวรัสกลุ่ม Potyvirus เก็บตัวอย่างใบกระเทียมที่แสดงลักษณะอาการเป็นแถบสีเหลืองอ่อนที่ส่วนปลายใบและเป็นขีดๆ บนใบ ตรวจหาเชื้อไวรัสในกลุ่ม Potyvirus ในแปลงปลูกด้วยชุดตรวจสอบ Pocy kit ก่อนนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนโดยใช้เทคนิค Brandes' dip พบอนุภาคไวรัสชนิดท่อนยาวคด (flexuous rod) มีขนาดความยาว 550-650 นาโนเมตร และ 800-820 นาโนเมตร ปะปนอยู่ด้วยกัน ได้ตรวจจำแนกเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ primer LYSV\_1F 5'ACAAGTAAGAAACAGAAGGACAGC3' LYSV\_2R 5'GAGGTTCCATTTT CAATGCACCAC3' พบแถบอาร์เอ็นเอ LYSV ขนาดประมาณ 409 คู่เบส ตัวอย่างที่ 1, 2 และ 4 จึงทำการศึกษาการถ่ายทอดเชื้อไวรัส บนพืชทดสอบทั้ง 3 ชนิด คือ *Nicotiana benthamiana*, *Chenopodium quinoa* และ *Vigna Sinensis* ในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-28 °C ตรวจพบอาการอาการจุดแผลสีเหลือง

---

<sup>1</sup> สังกัด กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

(chlorotic spot) หลังปลูกเชื้อได้ 12-14 วัน บน *C. Quinoa* ส่วน *N. benthamiana* และ *V. sinensis* ไม่แสดงอาการปรากฏให้เห็น

**คำหลัก:** กระทบเทียม, *Leek yellow stripe virus* (LYSV)

### Abstract

The diagnosis of *Leek Yellow Stripe Virus* (LYSV) in garlic happened from a group of Potyvirus. To begin with, the garlic leaves which show the symptoms of chlorotic yellow stripe at the tip and a small streak on the leaves are collected in order to search for a Potyvirus group in the field with the examination kit, named Pocy kit. After that, they would be studied through the electron microscopy with the technique of Brandes' dip and the flexuous rod virus which has 550 to 650 nanometres and 800 to 820 of length is found jointly. Moreover, the virus is classified examined by the technique of RT-PCR by using primer LYSV\_1F5'ACAAGTAAGAAA CAGAAGGACAGC3' LYSV\_2R 5' GAGGTTCCATTTTCAATGCACCAC3' which can be found around the side of RNA LYSV containing 409 base pairs approximately as in the 1st, 2nd and 4th examples. To be in the next step, the virus transfer would be studied in the differential host plants including *Nicotiana Benthamiana*, *Chenopodium Quinoa*, and *Vigna Sinensis* in the greenhouse with the controlled temperature around 25 to 28 °C. From the symptom examination, the chlorotic yellow spot is found in *C. Quinoa* after 12 to 14 days of virus inoculation; however, the symptom is not shown in *N. Benthamiana* and *V. Sinensis*.

**Keywords:** garlic, *Leek yellow stripe virus* (LYSV)

### คำนำ

ปัจจุบันมีการปลูกกระทบเทียมเพิ่มมากขึ้น ซึ่งต้องประสบปัญหาการระบาดของแมลงและโรคที่มีเชื้อสาเหตุมาจากเชื้อรา แบคทีเรีย ไล้เดือนฝอย รวมทั้งไวรัส ส่งผลกระทบต่อผลผลิตและคุณภาพของกระทบเทียม ซึ่งโรคไวรัสที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Leek yellow stripe virus* (LYSV) เป็นเชื้อในกลุ่ม Potyviruses เมื่อติดเชื้อ LYSV ในแปลงสามารถเข้าทำลายต้นหอมได้ถึง 100% (Bos, 1983) ส่วนการสูญเสียผลผลิตในกระทบเทียมสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ และมากถึง 84 เปอร์เซ็นต์ เมื่อติดเชื้อไวรัสชนิดอื่นในกลุ่ม potyvirus ร่วมด้วย อัตราการงอกในกระทบเทียมได้รับผลกระทบและลดลงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ (Lot et al., 1998) ซึ่งโรคนี้นี้มีเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* และ *Aphis fabae* เป็นพาหะนำโรคที่สำคัญ ทำให้เกิดการแพร่ระบาดในแปลงปลูกและเป็นแมลงปากดูดที่มีความสำคัญต่อการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส (Lunello et al., 2002) พืชสกุลกระทบเทียม (*Allium* spp.) อยู่

ในวงศ์ Alliaceae เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ต่างจากพืชผักในสกุลอื่นๆ ซึ่งส่วนมากเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ มีแหล่งปลูกทั่วโลก พืชสกุลหอมกระเทียมได้แก่ หอมหัวใหญ่ (Onion, *A. cepa* L.) Potato Onion (*A. cepa* var. *aggregatum* G. Don) หอมแดงและหอมแบ่ง (Shallot, *A. ascalonicum* L.) กระเทียม (Garlic, *A. sativum* L.) เป็นต้น ในประเทศไทยพืชสกุลหอมกระเทียมที่ปลูกมากและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ หอมหัวใหญ่ หอมแดง กระเทียม เป็นพืชที่เกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันของไทยแทบทุกครัวเรือน ใช้ปรุงเป็นอาหาร ทำยา และเครื่องสำอาง นอกจากปลูกเพื่อบริโภคภายในประเทศแล้ว ยังส่งออกขายในต่างประเทศทำรายได้ให้เกษตรกรอย่างมาก กระเทียมมีพื้นที่ปลูกทางภาคเหนือ คือ จังหวัดเชียงราย พะเยา ลำปาง ลำพูน เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ตาก แพร่ น่าน อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ จังหวัดนครพนม ศรีสะเกษ ชัยภูมิ และ นครราชสีมา ในปี พ.ศ. 2551 มีพื้นที่ปลูกรวม 87,411 ไร่ ได้ผลผลิต 85,648 ตัน ส่งออกจำนวน 199.2 ตัน มีมูลค่าการส่งออก 8.2 ล้านบาท (กลุ่มวิจัยโรคพืช, 2545) เชื้อไวรัส *Leek yellow stripe virus* (LYSV) เป็นเชื้อในกลุ่ม Potyviruses ซึ่งเมื่อเชื้อ LYSV เข้าทำลายในกระเทียม จะทำให้เกิดแถบสีเหลืองอ่อนที่ส่วนปลายใบ และเป็นขีดๆ มีขนาดเล็กสีเหลืองและทำให้เกิดแถบสีเหลืองผิดปกติบนใบ ส่งผลต่อการสูญเสียผลผลิตพืช *Allium* โดยเฉพาะอย่างยิ่งใกล้ฐานแต่ไม่ได้จำกัดอยู่ในพื้นที่นี้ ในบางกรณีใบทั้งหมดสามารถเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (Bos et al., 1978)

ดังนั้นเพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาจำแนกเชื้อไวรัส LYS ในกระเทียม โดยทำการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนดูอนุภาค ศึกษาการถ่ายทอดโรคกับพืชทดสอบ และตรวจสอบทางเซรุ่มวิทยา ด้วยวิธี ELISA หรือใช้วิธี RT-PCR และยังใช้เป็นวิธีช่วยทวนสอบให้ชัดเจนมากขึ้น โดยออกแบบ primers ที่เฉพาะเจาะจง

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
- Ultra-centrifuge
- Spectrophotometer
- ตู้แช่แข็ง 4 และ -20 °C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการปลูกเชื้อไวรัส
- พืชทดสอบและพืชอาศัย

### วิธีการ

#### 1. ตรวจสอบเก็บตัวอย่างใบกระเทียม

ทำการเก็บตัวอย่างใบที่แสดงลักษณะอาการคล้ายโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Leek yellow stripe virus* (LYSV) ในแปลงปลูกของเกษตรกรในพื้นที่ จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดลำพูน ระหว่างเดือนตุลาคม 2559-สิงหาคม 2560 มาศึกษาลักษณะอาการและตรวจหาเชื้อ LYSV

## 2. การตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัส *Leek yellow stripe virus* (LYSV)

### 2.1 ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

นำตัวอย่างกล้วยไม้จากรังกล้วยไม้ ในแต่ละแหล่งปลูกที่เก็บรวบรวมในข้อ 1 มาตรวจสอบหาเชื้อไวรัส โดยตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนด้วยเทคนิค Brandes' dip โดยบดตัวอย่างใบพืชใน 0.05 M โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.2 บนแผ่นไสลด์ ใช้คีมคีบกริด (grid) ขนาด 300 mesh (มีช่องสี่เหลี่ยม 300 ช่องต่อตารางนิ้ว) ที่เคลือบด้วย colloidion เพื่อเป็นเยื่อรองรับบนกริดและเคลือบทับด้วยคาร์บอน (carbon) ฟิล์มบนผิวด้านหน้า มาคว่ำตะลงบนน้ำคั้นพืช แล้วซับส่วนที่เป็นของเหลวรอบกริดให้แห้งด้วยกระดาษกรอง แล้วจึงนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น ก่อนนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope) HITACHI H-7700

### 2.2 การตรวจสอบด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล

สกัดอาร์เอ็นเอจากตัวอย่างใบกระเทียมที่เป็นโรคโดยนำตัวอย่างใบกระเทียมที่เป็นโรค น้ำหนัก 100-200 มิลลิกรัม บดในไนโตรเจนเหลวจนละเอียด ย้ายตัวอย่างลงในหลอดขนาด 1.5 ไมโครลิตร เติม extraction buffer (0.1 M NaCl, 2% SDS, 10 mM EDTA, 50 mM Tris-HCl, pH 9.0) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร แล้วเติม  $\beta$ -mercaptoethanol ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วย vortex และบ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที เติม Phenol:Chloroform:Isoamyl alcohol (25:24:1) ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 16,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 20 นาที ดูส่วนใสใส้หลอดใหม่ แล้วเติม Chloroform:Isoamyl alcohol (24:1) หนึ่งเท่าของปริมาตรส่วนใส ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 20 นาที ดูส่วนใสใส้หลอดใหม่แล้ว เติม Isopropanol ปริมาตร 400 ไมโครลิตร และ 5M NaCl ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มในน้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 20 นาที เทส่วนใสทิ้ง แล้วล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ที่แช่เย็นปริมาตร 300 ไมโครลิตร แล้วหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 2 นาที เทส่วนใสทิ้ง แล้วตากตะกอนประมาณ 20 นาที และเติม diethylpyrocarbonate (DEPC)-dH<sub>2</sub>O ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C

ทำการออกแบบหรือสืบค้นไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อโปรตีนใน ribosome ของไวรัสตรงยีนในส่วนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค (coat protein gene) ของ LYSV เพื่อนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณ cDNA และตรวจสอบโรค LYSV

## 3. ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อบนพืชทดสอบ

นำตัวอย่างใบกระเทียมที่แสดงลักษณะอาการของโรคและที่ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแล้วพบเชื้อ LYSV มาปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ โดยบดใบพืชที่เป็นให้ละเอียดผสมกับ sodium phosphate buffer pH 7.5 ผสมผงซีไลท์ (celite) นำน้ำคั้นทาลงบนใบพืชทดสอบ ได้แก่ ยาสูบ (*Nicotiana benthamiana*), ถั่วพุ่ม (*Vigna sinensis*) และคีนโไปเดียม (*Chenopodium quinoa*) แล้วล้างใบพืชด้วยน้ำสะอาด นำพืชทดสอบไปไว้

ในโรงเรือนปลูกพืชทดสอบควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 เดือน หลังจากนั้นทำการตรวจสอบอาการของพืชทดสอบเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ

### เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2560 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2561

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช  
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 1. ตรวจเก็บตัวอย่างใบกระเทียม และนำไปทดสอบหาเชื้อในพืชทดสอบไวรัส

ได้ทำการเก็บตัวอย่างใบกระเทียมที่มีอาการเป็นแถบสีเหลืองอ่อนและเป็นขีด ๆ บนใบมีขนาดเล็กและทำให้เกิดแถบสีเหลืองผิดปกติบนใบ เป็นลักษณะอาการคล้ายโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Leek yellow stripe virus* (LYSV) จากแปลงปลูกกระเทียมของเกษตรกรในพื้นที่ อ.ไชยปราการ อ.ฝาง จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดลำพูน จำนวน 21 ตัวอย่าง ในระหว่างเดือนตุลาคม-พฤศจิกายน 2560 ในเบื้องต้นได้ใช้ชุดตรวจสอบ POCY kit ของกล้วยไม้ ตรวจตัวอย่างใบกระเทียมที่มีลักษณะอาการดังกล่าวเนื่องจากเชื้อไวรัส LYSV เป็นเชื้อไวรัสที่จัดอยู่ในกลุ่ม Potyvirus ซึ่งผลการตรวจสอบพบเชื้อไวรัสในกลุ่ม Potyvirus กับตัวอย่างใบกระเทียม (Figure 1)

#### 2. การตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัส *Leek yellow stripe virus* (LYSV)

##### 2.1 ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ทำการตรวจหาเชื้อไวรัส LYSV โดยตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนด้วยเทคนิค Brandes' dip นำตัวอย่างใบกระเทียมมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า การตรวจดูด้วยกล้องนั้น พบอนุภาคไวรัส 2 กลุ่ม รวมปะปนอยู่ด้วยกัน (Figure 2) ดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 เป็นอนุภาคไวรัสชนิดท่อนยาวคด (flexuous rod) มีขนาดความยาวประมาณ 550-650 นาโนเมตร

กลุ่มที่ 2 เป็นอนุภาคไวรัสชนิดท่อนยาวคด (flexuous rod) มีขนาดความยาวประมาณ 800-820 นาโนเมตร

และไม่พบอนุภาคไวรัสในตัวอย่างใบกระเทียมปกติ ซึ่งอนุภาคที่ตรวจพบจัดอยู่ในกลุ่ม Potyvirus สอดคล้องกับรายงานของ Fajardo *et al.*, (2001)

##### 2.2 การตรวจสอบด้วยเทคนิคซีวโมเลกุล

ผล PCR ตัวอย่างกระเทียม ทำการตรวจสอบใบกระเทียม ที่มีลักษณะอาการใบเป็นแถบสีเหลืองอ่อนที่ส่วนปลายใบและเป็นขีด ๆ บนใบมีขนาดเล็กและทำให้เกิดแถบสีเหลืองผิดปกติบนใบ (Figure 1) และเมื่อได้เก็บตัวอย่างใบกระเทียมที่มีลักษณะอาการดังกล่าว มาทำการสกัดอาร์เอ็นเอ ด้วยชุดสกัด 4 ตัวอย่าง

และนำอาร์เอ็นเอที่ได้มาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ primer LYSV\_1F 5' ACAAGTAAGAAACAGAAGGACAGC 3' LYSV\_2R 5' GAGGTTCCATTTTCAAT GCACCAC 3' (Fajardo *et al.*, 2001) หลังตรวจสอบด้วย 1.2% อะกาโรสเจล พบว่ามีปฏิกิริยาเป็นบวก สามารถเกิดแถบอาร์เอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 409 คู่เบส (Figure 3)

### 3. การตรวจสอบและศึกษาการถ่ายทอดเชื้อโดยใช้พืชทดสอบ

หลังนำน้ำคั้นใบกระเทียมที่แสดงลักษณะอาการของโรคและได้ตรวจสอบแล้วว่าพบเชื้อ LYSV ที่ผสมผงซีไลท์ (celite) มาทาบบนบนพืชทดสอบและนำพืชทดสอบไปไว้ในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส พร้อมสังเกตอาการและตรวจสอบอาการต้นพืชทดสอบในเรือนทดลอง หลังจากปลูกเชื้อแล้วเป็นระยะเวลา 2 เดือน ซึ่งจากผลการทดลองหลังปลูกเชื้อแล้ว 12-14 วัน ตรวจไม่พบอาการ systemic บนพืชทดสอบ และหลังปลูกเชื้อครบ 2 เดือน พบว่า ต้นพืชทดสอบยาสูบ (*Nicotiana benthamiana*) และถั่วพุ่ม (*Vigna sinensis*) ไม่แสดงอาการปรากฏให้เห็น มีเพียงคีนโโปเดียม (*Chenopodium quinoa*) ที่แสดงอาการอาการจุดแผลสีเหลือง (chlorotic spot) บนใบที่ปลูกเชื้อ หลังปลูกเชื้อได้ 12-14 วัน (Figure 4) และในพืชทดสอบทั้ง 3 ชนิด ไม่พบอาการที่เกิดจากเชื้อในกลุ่ม Potyvirus ซึ่งจะแสดงลักษณะอาการต่างเป็น systemic symptom ให้เห็น สอดคล้องกับรายงานของ สุวรรณและคณะ, 2536 ที่พบว่าการใช้น้ำคั้นใบกระเทียมที่เป็นโรคปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบด้วยวิธีกลั่น พบแผลจุด local lesion หลังปลูกเชื้อได้ 7 วัน ในขณะที่พืชทดสอบอื่นไม่แสดงอาการ ซึ่งการปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบนั้นทำได้ยาก ต้องปลูกเชื้อซ้ำ 2-3 ครั้ง และต้องเลี้ยงพืชในสภาพที่อุณหภูมิต่ำ 13-17 องศาเซลเซียส พืชจึงแสดงอาการของโรคปรากฏให้เห็น (Bos *et al.*, 1978)

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ตัวอย่างใบกระเทียมที่แสดงลักษณะอาการเป็นแถบสีเหลืองอ่อนที่ส่วนปลายใบและเป็นขีด ๆ บนใบมีขนาดเล็กและทำให้เกิดแถบสีเหลืองผิดปกติบนใบ จากแปลงปลูกกระเทียมของเกษตรกรในพื้นที่ อ.ฝาง อ.ไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดลำพูน จำนวน 21 ตัวอย่าง โดยได้ตรวจในเบื้องต้นด้วยชุดตรวจสอบ POCY kit เนื่องจากเชื้อไวรัส LYSV เป็นเชื้อไวรัสที่จัดอยู่ในกลุ่ม Potyvirus จากผลการตรวจสอบกับตัวอย่างใบกระเทียม ถ้าพบว่ามีเชื้อในกลุ่ม Potyvirus จะนำตัวอย่างใบกระเทียมดังกล่าวมาศึกษาลักษณะอาการของโรคและลักษณะของอนุภาค ซึ่งจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบขนาดอนุภาคไวรัส 2 ขนาด คืออนุภาคไวรัสเป็นชนิดท่อนยาวคด (flexuous rod) มีขนาดความยาวประมาณ 800-820 นาโนเมตร ซึ่งอนุภาคที่ตรวจพบจัดอยู่ในกลุ่ม Potyvirus สอดคล้องกับรายงานของ Fajardo *et al.*, (2001) และยังพบขนาด 550-650 นาโนเมตร เป็นอนุภาคที่สั้นกว่าปะปนอยู่ด้วยและเมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค RT-PCR ด้วย primer LYSV\_1F และ LYSV\_2R พบเชื้อ LYSV ขนาดประมาณ 409 คู่เบส และเมื่อศึกษาบนพืชทดสอบได้แก่ ยาสูบ (*N. benthamiana*), chenopodium (*C. quinoa*) และถั่วพุ่ม (*V. sinensis*) ในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส พบว่าต้นพืชทดสอบยาสูบ (*N. benthamiana*) และถั่วพุ่ม (*V. sinensis*) ไม่แสดงอาการปรากฏให้เห็น

มีเพียงคีนโนโปเดียม (*C. quinoa*) ที่แสดงอาการอาการจุดแผลสีเหลือง (chlorotic spot) บนใบที่ปลูกเชื้อ หลังปลูกเชื้อได้ 12-14 วัน และต้องมีการปลูกเชื้อซ้ำหลายรอบ

### เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2554, โรคผักและการป้องกันกำจัด, หน้า 138.

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี (2557). กระเทียม สืบค้นเมื่อวันที่ 2 มิถุนายน 2557 Web site: <http://th.wikipedia.org/wiki/กระเทียม>

Bos, L. 1983. Viruses and virus diseases of Allium species. Acta Horticulturae 127: 11-29.

Bos, L., Huijberts, N., Huttinga, H., and Maat, D.Z. 1978. *Leek yellow stripe virus* and its relationships to *Onion yellow dwarf virus* - characterization, ecology, and possible control. Netherlands Journal of Plant Pathology 84(5): 185-204.

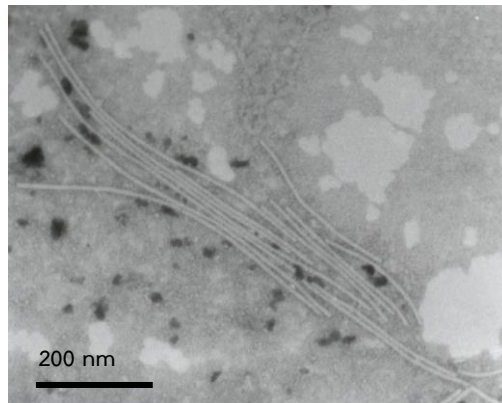
Fajardo, T.V.M. Nishijima, M., Buso, J.A., Torres, A.C., Avila, A.C, and Resende, R.O. 2001. Garlic viral complex: identification of Potyviruses and Carlavirus in Central Brazil. Fitopatologia Brasileira 26(3): 619-626.

Lot, H., Chovelon, V., Souche, S., and Delecolle, B. 1998. Effects of onion yellow dwarf and leek yellow stripe viruses on symptomatology and yield loss of three French garlic cultivars. Plant Disease 82(12): 1381-1385.

Lunello, P., Ducasse, D.A., Heiguera, M., Nome, S.F., and Conci, V.C. 2002. An Argentinean isolate of Leek yellow stripe virus from leek can be transmitted to garlic. Journal of Plant Pathology 84(1): 11-17.

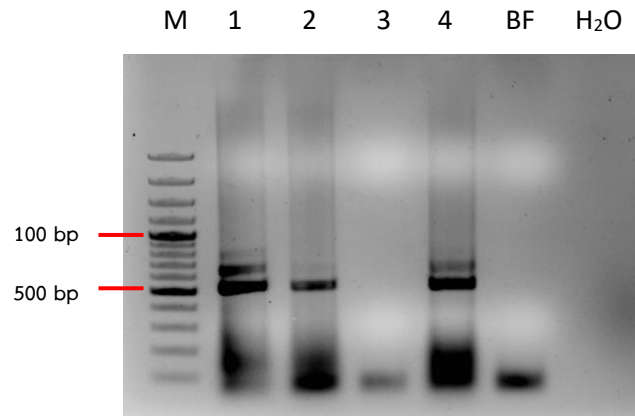


**Figure 1** presenting the characteristics of *Leek Yellow Stripe Virus* (LYSV) in garlic leaves.

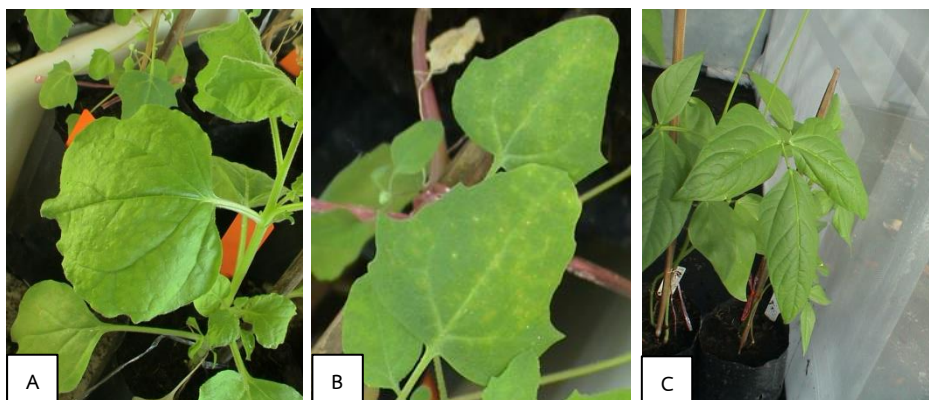


**Figure 2** presenting the particle of *Leek Yellow Stripe Virus* in the garlic leaves showing the symptoms of chlorotic yellow stripe and a small streak on the leaves which is dipped with the negative Brandes method and is examined under the HITACHI H-7700 transmission electron microscopy in the magnification of 70,000 times (80 kv) and in the approximate particle size of 800 to 820 nanometres.





**Figure 3** analysing the RT-PCR result of *Leek Yellow Stripe Virus* with primer (LYSV\_1F and LYSV\_2R) in the size of 409 base pairs which M is DNA Ladder 1kb DNA marker (Thermo ®) 1 to 4 are the examples of the garlic leaves which show the symptoms of chlorotic yellow stripe and a small streak on the leaves resembling the virus in the cultivated plant at Chai Prakan and Fang districts in Chiang Mai and Lamphun provinces which 3 examples are found. 5 is Buffer and 6 is H<sub>2</sub>O



**Figure 4** The characteristics of the plants symptoms after inoculating the *Leek Yellow Stripe Virus*

- A) *Nicotiana Benthamiana* does not show the symptom
- B) *Chenopodium Quinoa* contains the chlorotic yellow spot in 12 to 14 days after inoculating the virus; however, if this symptom is from Potyvirus, it will be spotted as systemic symptom.
- C) *Vigna Sinensis* does not show the symptom.