

- แผนงานวิจัย** : วิจัยมาตรการสุขอนามัยพืช
- โครงการวิจัย** : วิจัยการศึกษาสถานภาพศัตรูพืชกักกันในประเทศไทย
- กิจกรรม** : การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ
- ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การศึกษาสถานะภาพของเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ringspot virus* (ToRSV) ของมะเขือเทศ
- ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ)** : Study situation of *Tomato black ring virus* (ToBRV) and *Tomato ringspot virus* (ToRSV) disease on Tomato
- คณะผู้ดำเนินงาน**
- หัวหน้าการทดลอง : สิทธิศักดิ์ แสไพศาล¹
- ผู้ร่วมงาน : ชลธิชา รักใคร่¹

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบมะเขือเทศพันธุ์สีดา เทพประทาน เซอร์รี่และราชินีและใบพริกแบบเฉพาะเจาะจง ในช่วงเดือนตุลาคม 2559 ถึงเดือนกันยายน 2561 ในพื้นที่แหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทย ภาคเหนือ จ.เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูนและลำปาง ภาคกลาง จ.สระบุรี เพชรบูรณ์ สุพรรณบุรี กาญจนบุรีและราชบุรี ภาคตะวันตก จ.ตาก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จ.ขอนแก่น กาฬสินธุ์ หนองบัวลำภู มุกดาหาร หนองคาย สกลนคร นครพนม นครราชสีมาและอำนาจเจริญ ที่แสดงลักษณะอาการคล้ายโรคไวรัส ใบเป็นจุดและขยายออกเป็นวงสีดำ อาการ (mottle) เป็นดวงขีดและอาการ necrotic spot ทั้งบนใบและผลมะเขือเทศ รวมจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 389 ตัวอย่าง เมื่อตรวจสอบตัวอย่างทั้งหมดเพื่อหาเชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) และ *Tomato black ring virus* (ToBRV) ด้วยวิธี Indirect ELISA ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัสจากตัวอย่างใบมะเขือเทศและตัวอย่างใบพริกทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าในแหล่งปลูกมะเขือเทศที่สำคัญในประเทศไทยนั้นยังไม่พบการระบาดของเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV

คำหลัก : มะเขือเทศ, โรคไวรัส, ELISA, การตรวจสอบ

¹ สังกัด สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

Abstract

Examining and collecting specifically samples of tomato leaves including Sida, Thep Prathan, and Cherry as well as also the samples of pepper leaves during October, 2016 to September, 2018 in the important cultivated plants in northern Thailand including Chiang Rai, Chiang Mai, Lamphun, and Lampang provinces, in the central Thailand including Saraburi, Phetchabun, Suphan Buri, Kanchana Buri, and Ratchaburi provinces, in the western Thailand including Tak, as well as in northeast Thailand including Khon Kaen, Kalasin, Nong Bua Lam Phu, Mukdahan, Nong Khai, Sakon Nakhon, Nakhon Phanom, Nakhon Ratchasima and Amnat Charles provinces. Moreover, the samples used in this survey contain the similar characteristics as the virus disease in which the leaves are dotted and expand to be a black circle; additionally, the leaves contain mottle symptom and necrotic spot symptom on both tomato and its leaves in the number of 389 samples. When examining the whole samples to find the *Tomato ringspot virus* (ToRSV) and *Tomato black ring virus* (ToBRV) with the Indirect ELISA method, the result finds no virus from the samples of tomato leaves and pepper leaves at all which can present that the important cultivated plants in Thailand have no outbreak of the ToRSV and ToBRV.

Keywords : Tomato, virus diseases, ELISA, detection

คำนำ

เนื่องจากในปัจจุบันการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตรจะต้องมีความตกลงทั่วไปว่าด้วยภาษีศุลกากรและการค้า (General Agreement on Tariff and Trade: GATT) ซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนเป็นองค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ได้กำหนดกฎเกณฑ์และระเบียบเพื่อให้เกิดการค้าเสรีและเป็นธรรม โดยทุกประเทศสมาชิกของ WTO จะต้องปรับลดอัตราอากรขาเข้าลงมาเป็นอันดับแรกสุดของการเปิดการค้าเสรี ในปัจจุบันมาตรการกีดกันด้านภาษีศุลกากรมีแนวโน้มที่จะลดลงเนื่องจากการเปิดเสรีทางการค้าภายใต้เขตการค้าเสรีต่างๆ มีเพิ่มขึ้น แต่ในขณะเดียวกันมาตรการกีดกันทางการค้าที่ไม่มีภาษีศุลกากร (non-tariff barrier, NTB) จะเริ่มมีบทบาทและมีรูปแบบใหม่ ๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งมาตรการที่สำคัญในด้านการเกษตรได้แก่ มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measures : SPS) มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช มีวัตถุประสงค์เพื่อปกป้องชีวิต และสุขภาพมนุษย์ สัตว์ และพืช เพื่อสร้างความมั่นใจต่อความปลอดภัยด้านอาหาร แต่ต้องไม่ใช่สิทธินั้นในทางที่เป็นการสร้างข้อจำกัดทางการค้าหรือเลือกปฏิบัติระหว่างประเทศสมาชิกตามอำเภอใจ ซึ่งการนำมาตรการ SPS มาใช้ควรสอดคล้องกับมาตรฐานตามที่องค์การมาตรฐานระหว่างประเทศกำหนดขึ้น และต้องมีเหตุผล และหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เพียงพอมีการประเมินความเสี่ยง (Risk Assessment) ที่เชื่อถือได้ ซึ่งประเทศคู่ค้ามักนำมาตรการ SPS มาใช้เป็นเครื่องมือในการกีดกันทางการค้ากับสินค้าอาหารประเภทปศุสัตว์ ประมง และพืชผักผลไม้ โดยอ้างการตรวจพบเชื้อโรค โรคแมลง และอื่นๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อภาพลักษณ์

ทางการค้าของประเทศ และเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต ประเทศเกือบทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ได้นำมาตรการสุขอนามัยพืชมาใช้เป็นข้อต่อรองในการส่งออกและนำเข้า โดยที่ประเทศผู้ส่งออกต้องส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออกและข้อมูลของศัตรูพืชแต่ละชนิดตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้น ๆ เข้าประเทศ ขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าจำเป็นต้องมีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่นำเข้าด้วย การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชโดยการศึกษาและการสำรวจแบบติดตามข้อมูลศัตรูพืชในแหล่งปลูกเพื่อเป็นการเฝ้าระวัง (Surveillance) เป็นกระบวนการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งในพื้นที่ ซึ่งการรวบรวมข้อมูลนั้นสามารถทำได้ 2 แบบ ได้แก่การเฝ้าระวังโดยทั่วไป (general surveillance) โดยการค้นคว้าข้อมูลจากแหล่งข้อมูล ได้แก่ข้อมูลข่าวสารศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศ เช่นจาก หน่วยงานภาครัฐ มหาวิทยาลัย ภาคเอกชน ตลอดจนข่าวสารจากแหล่งข้อมูลขององค์กรระหว่างประเทศ เช่น องค์การอาหารและเกษตรแห่งชาติ (Food and Agriculture Organization, FAO) องค์การอารักขาพืชระดับภูมิภาค (Regional Plant Protection Organization, RPPOs) และอื่น ๆ การเฝ้าระวังโดยการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific surveys) สามารถดำเนินการโดยการสำรวจแบบตรวจหา (detection surveys) และการสำรวจแบบมีขอบเขต (delimiting surveys) (McMaugh, 2005) ประโยชน์ของการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจงทั้ง 2 วิธีนั้นนอกจากจะสามารถบอกถึงสถานการณ์ของศัตรูพืชในพื้นที่แล้วยังสามารถใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชในกรณีที่ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้น ๆ เมื่อมีการรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืชแล้ว การที่จะคงสภาพพื้นที่ปลอดศัตรูพืชจะต้องมีการสำรวจแบบตรวจหาอย่างเป็นระบบ ข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการสำรวจติดตามศัตรูพืชเพื่อการเฝ้าระวังนี้จะส่งให้องค์การอารักขาพืชแห่งชาติ (National Plant Protection Organization, NPPO) นำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการเฝ้าระวังนี้สามารถนำไปใช้ในด้านต่างๆ เช่น ใช้ในการสนับสนุนการออกประกาศเรื่องการปลอดศัตรูพืช ตลอดจนที่ดำเนินการโดย NPPO เป็นกระบวนการช่วยตรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ได้ทันเวลา การให้การรับรองพื้นที่ปลอดศัตรูพืช เป็นต้น การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการดำเนินการด้านอื่น ๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แอนติซีรัมเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV)
2. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อโดยวิธี indirect ELISA

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล

- สืบค้นข้อมูลลักษณะของเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV) รายละเอียดของเชื้อ ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะอาการโรค การเข้าทำลาย การแพร่ระบาด เป็นต้น

- สืบค้นข้อมูลของพีชากายของเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV) ได้แก่ ชนิดของพีชากาย ชื่อวิทยาศาสตร์ เป็นต้น
- สืบค้นข้อมูลแหล่งปลูกมะเขือเทศ ได้แก่ พื้นที่ปลูก พันธุ์ปลูก
- จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลในการสำรวจ โดยรวบรวมข้อมูลลักษณะอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) และ *Tomato ring spot virus* (ToRSV) พร้อมรูปภาพเพื่อใช้ตรวจสอบอาการที่พบในแปลง ตลอดจนรายละเอียดของลักษณะอาการที่คล้ายกับอาการของพืชเป้าหมาย จัดทำแบบฟอร์มสำรวจ เพื่อบันทึกข้อมูล สถานที่ วันที่เก็บ ข้อมูลพิกัดภูมิศาสตร์

2. การสำรวจ

กำหนดพื้นที่ แหล่งปลูกมะเขือเทศในเขตพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ วางแผนการสำรวจ สำรวจแบบเฉพาะเจาะจง โดยการสำรวจแบบตรวจหา กำหนดพื้นที่ในจังหวัดแต่ละพื้นที่ สำรวจเก็บตัวอย่างใบของต้นมะเขือเทศ รวมทั้งตัวอย่างใบของต้นพริก ที่แสดงอาการคล้ายโรคไวรัสที่เกิดจากเชื้อ *Tomato ringspot virus* (ToRSV) และ *Tomato black ring virus* (ToBRV) ในแหล่งปลูกที่สำคัญในประเทศไทย โดยเก็บในพื้นที่ทั้งภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทำการสุ่มสำรวจแปลงและคัดเลือกจากพื้นที่ที่มีการปลูกมะเขือเทศมากหรือปานกลางในแต่ละจังหวัด ซึ่งวิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละพื้นที่จะมีจำนวนตัวอย่างที่ไม่เท่ากัน เนื่องจากขึ้นอยู่กับจำนวนพื้นที่ปลูกและจำนวนแปลงปลูกในพื้นที่นั้น ๆ และการสุ่มเก็บตัวอย่างจะสุ่มเก็บแบบจำเพาะเจาะจง เฉพาะต้นมะเขือเทศและต้นพริกที่แสดงอาการคล้ายไวรัสที่เกิดจากเชื้อ ToRSV และ ToBRV โดยมีรูปแบบการเดินเก็บแบบสุ่มเป็นรูปตัวยูคว่ำและหงายสลับกันไป เป็นหลักการเก็บแบบ grid pattern (Canada/USA PVY-n Management plan) ที่นำมาใช้สุ่มเก็บตัวอย่างในแปลงปลูกมะเขือเทศและปลูกพริก สำหรับตรวจหาเชื้อไวรัส ToBRV และ ToRSV จะเก็บเฉพาะตัวอย่างที่แสดงอาการที่สงสัยว่าเป็นโรค โดยการเดินสำรวจในแปลงจะหาเฉพาะต้นเป็นโรค เดินแบบ grid pattern จะเดินเป็นรูปตัว U คูแฉกริมตลอดแถวแล้วเดินเว้นไป 10 แถว หรือ 10 เมตร เดินเข้าแถวที่ 10 และ 11 แล้วเดินตลอดแถวมาจนทะลุหัวแถว ขณะเดินสามารถมองสำรวจดูออกไปในรัศมีของแถวที่ 9, 10, 11 และ 12 ได้เป็น 4 แถว เมื่อมาถึงปลายแถวก็เดินขึ้นไปข้างหน้าของแถวที่ยังไม่ได้เดินผ่าน เดินผ่านหัวแถวเว้นไปอีก 10 แถว เดินเข้าระหว่างแถวที่ 20 และ 21 เดินดูได้อีก 4 แถวคือ 19, 20, 21 และ 22 จึงเดินเป็นรูปตัว U คว่ำหงายชนกันไปตลอดแปลง จากนั้นทำการบันทึกข้อมูลพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ การเก็บตัวอย่างใบจะห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ก่อนเก็บใส่ถุงซิปล็อค แล้วบรรจุลงในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็ง เพื่อรักษาความเย็นก่อนนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี Indirect ELISA โดยทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3. การตรวจสอบโรคไวรัสในมะเขือเทศและพริกด้วยเทคนิค Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

วิธี indirect ELISA ดัดแปลงมาจาก โดยตรวจสอบเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV ด้วยชุด Kit Agdia (Agdia, Inc, Diagnostic center in Elkhart County, Indiana, USA) เตรียม Loading diagram สำหรับการทดสอบ Coat Capture Antibody โดยการเจือจาง Capture Antibody ด้วย Carbonate Coating buffer ให้

ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 เท่า (1X) ในอัตราส่วนตามที่ระบุข้างหลอด (ตามคำแนะนำของบริษัท) จากนั้นเติม Capture Antibody ที่เจือจางแล้วลงใน plate ELISA ปริมาณ 100 ไมโครลิตร บ่มในกล่องขึ้นที่ 37 °C นาน 4 ชม. จากนั้นล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว บดตัวอย่างใบมะเขือเทศและฟริกด้วย General Extract buffer ในอัตราส่วน 1:10 (weight :General Extract buffer) และเติมตัวอย่างพืชที่เป็นโรค (positive control) และตัวอย่างควบคุมน้ำคั้นจากใบมะเขือเทศปกติ (negative control) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงใน plate ELISA บ่มในกล่องความชื้นที่ 37 °C นาน 2 ชม. จากนั้นล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว เตรียม Enzyme Conjugate โดยการเจือจางแล้วในปริมาตร 100 ไมโครลิตรด้วย ECI buffer ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 เท่า (1x) ในอัตราส่วนที่ระบุข้างหลอด โดยเตรียมก่อนใช้งานประมาณ 10 นาที จากนั้นจึงเติม enzyme conjugate ที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน plate ELISA บ่มในกล่องขึ้นที่ 37 °C นาน 2 ชม. แล้วล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้งอย่างรวดเร็ว ขั้นตอนต่อไปเติม PNP substrate buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม plate ELISA บ่มในกล่องขึ้นที่ 37 °C นาน 30-60 นาที ตรวจสอบผลการทดสอบโดยการดูสีเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ได้แก่ สารละลายบัฟเฟอร์ negative control และ positive control แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย 3M sodium hydroxide ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตรวจสอบผลของปฏิกิริยาด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Multiskan go (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA.) ซึ่งจะทำการอ่านค่าการดูดกลืนของแสงที่คลื่น 405 นาโนเมตร โดยค่า O.D.₄₀₅ ที่วัดได้ถือเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของเชื้อไวรัส

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้นเดือนตุลาคม 2559 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2561 (รวม 3 ปี)

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล

โรคของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อไวรัสหรือจุลินทรีย์ที่คล้ายมาโยโคพลาสมาจัดว่าเป็นโรคที่สำคัญ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกและการผลิตมะเขือเทศมาก หากจะเปรียบเทียบกับโรคที่เกิดจากสาเหตุอื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจากมะเขือเทศเป็นพืชที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสที่เข้าทำลายพืชได้เกือบทุกชนิด ขณะเดียวกันก็จะก่อให้เกิดอาการต่าง ๆ ขึ้นได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นอาการแผลจุดดวง เป็นเส้นขีดหรือต่างลาย เหลืองขีด แคระ แกรน ผิดรูปผิดร่าง ยอดตาเหี่ยวเฉาแห้ง ใบม้วนงอเป็นคลื่นบิดเบี้ยว หรือหย่นไม่ออกดอก ออกผลหรือผลมีลักษณะผิดปกติ (ไทยเกษตร, 2556) เชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) มีพืชอาศัยหลักคือ *Fragaria chiloensis* (Chilean strawberry), *Malus domestica* (apple), *Nicotiana tabacum* (tobacco), *Pelargonium* (pelargoniums), *Prunus* (stone fruit), *Prunus armeniaca* (apricot), *Prunus*

avium (sweet cherry), *Prunus cerasus* (sour cherry), *Prunus domestica* (plum), *Prunus persica* (peach), *Ribes* (currants), *Rubus* (blackberry, raspberry), *Rubus idaeus* (raspberry), *Vitis* (grape), *Vitis vinifera* (grapevine) มีการถ่ายทอดโรคได้ด้วยไส้เดือนฝอย *Xiphinema americanum sensulato* (Dorylaimidae) และถ่ายทอดได้ด้วยวิธีกล ด้วยการปลูกเชื้อ (inoculation), การ grafting และถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด (Oregon.gov, ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์) เชื้อไวรัส *Tomato black ring virus* (ToBRV) จัดอยู่ใน Family: Comoviridae และ Genus: Nepovirus พบรายงานครั้งแรกพบในมะเขือเทศ ในประเทศอังกฤษ ปี 1946 ต่อมาพบในพืชหลายชนิด รวมทั้งในวัชพืช พืชอาศัยหลักคือ *Allium cepa* (onion), *Allium porrum* (leek), *Apium graveolens* (celery), *Beta vulgaris* var. *saccharifera* (sugarbeet), *Brassica napus* var. *napobrassica* (swede), *Brassica rapa* subsp. *rapa* (turnip), *Capsicum* (peppers), *Cucumis sativus* (cucumber), *Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (globe artichoke), *Fragaria* (strawberry), *Fragaria ananassa* (strawberry), *Gladiolus hybrids* (sword lily), *Lactuca sativa* (lettuce), *Lycopersicon esculentum* (tomato), *Narcissus* (daffodil), *Phaseolus vulgaris* (common bean), *Prunus persica* (peach), *Ribes* (currants), *Rubus* (blackberry, raspberry), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (potato), *Vitis vinifera* (grapevine) เชื้อไวรัสชนิดนี้สามารถถ่ายทอดได้โดยไส้เดือนฝอย Longidorus และสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด ทำให้พืชได้รับผลกระทบตั้งแต่ระยะต้นกล้า ออกดอกและผล CAB International (2007)

2. การสำรวจและเก็บตัวอย่างใบมะเขือเทศ

การสำรวจ เก็บตัวอย่างและตรวจสอบหาเชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) และ *Tomato black ring virus* (ToBRV) ในมะเขือเทศพันธุ์การค้าที่เกษตรกรปลูก ทั้งปลูกกินสดและส่งโรงงาน เช่น พันธุ์สีดา เทพประทานและราชินี เป็นต้น โดยสุ่มเก็บใบมะเขือเทศแบบเฉพาะเจาะจงที่แสดงอาการคล้ายโรคไวรัส ToRSV และ ToBRV ในแปลงปลูกมะเขือเทศในพื้นที่แต่ละภาค ประกอบด้วย ภาคกลาง ได้แก่ จ.สระบุรี สำรวจใน อ.มวกเหล็ก รวมจำนวน 18 ตัวอย่าง จ.เพชรบูรณ์ สำรวจใน อ.น้ำหนาว รวมจำนวน 16 ตัวอย่าง จ.สุพรรณบุรี สำรวจใน อ.อู่ทอง รวมจำนวน 6 ตัวอย่าง จ.กาญจนบุรี สำรวจใน อ.ท่าม่วง รวมจำนวน 18 ตัวอย่าง จ.ราชบุรี สำรวจใน อ.จอมบึง รวมจำนวน 7 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บในภาคกลางทั้งหมด 65 ตัวอย่าง ภาคเหนือ ได้แก่ จ.เชียงใหม่ สำรวจใน อ.ฮอด และ อ.สันทราย รวมจำนวน 99 ตัวอย่าง จ.ลำพูน สำรวจใน อ.ป่าซาง รวมจำนวน 8 ตัวอย่าง จ.เชียงราย สำรวจใน อ.เวียงป่าเป้า รวมจำนวน 11 ตัวอย่าง จ.ลำปาง สำรวจใน อ.แจ้ห่ม รวมจำนวน 12 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บในภาคเหนือทั้งหมด 130 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จ.ขอนแก่น สำรวจใน อ.บ้านฝาง อ.เมือง อ.สีชมพู อ.น้ำพองและ อ.หนองเรือ รวมจำนวน 26 ตัวอย่าง จ.กาฬสินธุ์ สำรวจใน อ.ยางตลาด และ อ.สมเด็จ รวมจำนวน 6 ตัวอย่าง จ.หนองบัวลำภู สำรวจใน อ.นากลาง รวมจำนวน 9 ตัวอย่าง จ.มุกดาหาร สำรวจใน อ.หว้านใหญ่ รวมจำนวน 16 ตัวอย่าง จ.หนองคาย สำรวจใน อ.เมือง และ อ.โพนพิสัย รวมจำนวน 27 ตัวอย่าง จ.สกลนคร สำรวจใน อ.พรรณานิคม และ อ.พังโคน รวมจำนวน 26 ตัวอย่าง จ.นครพนม สำรวจใน อ.นาแก และ นาหวัง รวมจำนวน 27 ตัวอย่าง จ.นครราชสีมา สำรวจใน อ.ปากช่อง และ อ.

วังน้ำเขียว รวมจำนวน 42 ตัวอย่าง จ.อำนาจเจริญ สำรวจใน อ.ขามเฒ่า รวมจำนวน 6 ตัวอย่าง รวมจำนวน ตัวอย่างที่เก็บในภาคตะวันออกเฉียงเหนือทั้งหมด 185 ตัวอย่าง ภาคตะวันตก ได้แก่ จ.ตาก สำรวจใน อ.พบพระ รวมจำนวน 9 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บในภาคตะวันตกทั้งหมด 9 ตัวอย่าง รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บทั้งสิ้น 389 ตัวอย่าง (Table 1) และได้สุ่มเก็บใบพริกในพื้นที่ใกล้เคียง ที่มีลักษณะอาการคล้ายเชื้อไวรัสสาเหตุ ซึ่งจากการสำรวจและเก็บตัวอย่าง พบว่าใบของต้นมะเทศรวมทั้งใบต้นพริก มีลักษณะอาการคล้ายเชื้อไวรัสสาเหตุคือ พบใบมีลักษณะเป็นจุด และขยายออกเป็นวงสีดำ เกิดได้ทั้งบนใบและผล ลูกกลมทั่วทั้งใบและมีอาการ (mottle) เป็นดวงขีด อีกทั้งยังพบลักษณะ necrotic spot ทั้งบนใบมะเทศและใบพริก (Figure 1)

3. การตรวจสอบเชื้อไวรัสในมะเทศด้วยเทคนิค ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)

หลังสุ่มเก็บตัวอย่างใบมะเทศและใบพริก ที่แสดงอาการคล้ายเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV มาตรวจสอบหาเชื้อไวรัสโดยวิธี Indirect ELISA ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้แอนติซีรัมที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ ToRSV และ ToBRV พบว่าจากการตรวจสอบตัวอย่างใบมะเทศและตัวอย่างใบพริกทั้งหมด ไม่พบเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดในทุกตัวอย่าง โดยการตรวจสอบเชื้อ ToRSV เมื่อนำผลการตรวจสอบของตัวอย่างทั้งหมดเปรียบเทียบกับค่า OD₄₀₅ ของ Negative control (0.097) พบว่าทุกตัวอย่างใบมะเทศในพื้นที่ปลูกที่สำคัญ ทั้งจากภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันตกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีค่า OD₄₀₅ อยู่ในช่วง 0.104-0.114 ซึ่งผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัส ToRSV ส่วนการตรวจสอบหาเชื้อ ToBRV พบว่าตัวอย่างใบมะเทศและตัวอย่างใบพริกในทุกตัวอย่างทั้งหมด ที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างใบมาตรวจสอบทั้งจากภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันตกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในพื้นที่แหล่งปลูกที่สำคัญ เมื่อตรวจสอบหาเชื้อไวรัส ToBRV โดยเปรียบเทียบกับค่า OD₄₀₅ ของ Negative control (0.092) พบว่ามีค่า OD₄₀₅ อยู่ในช่วง 0.095-0.098 ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัส ToBRV

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการตรวจสอบหาเชื้อไวรัสด้วยวิธี Indirect ELISA ในตัวอย่างใบมะเทศพันธุ์สีดา เทพประทาน เซอร์รี่และราชินี รวมทั้งได้เก็บตัวอย่างใบของต้นพริก ในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของประเทศไทย ประกอบด้วยภาคเหนือ จ.เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูนและลำปาง ในภาคกลางประกอบด้วย จ.สระบุรี เพชรบูรณ์ สุพรรณบุรี กาญจนบุรีและราชบุรี ภาคตะวันตก จ.ตาก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือประกอบด้วย จ.ขอนแก่น กาฬสินธุ์ หนองบัวลำภู มุกดาหาร หนองคาย สกลนคร นครพนม นครราชสีมาและอำนาจเจริญ รวมจำนวนตัวอย่างที่เก็บที่แสดงอาการคล้ายโรคไวรัส จำนวนทั้งสิ้น 389 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อไวรัส *Tomato ringspot virus* (ToRSV) และ *Tomato black ring virus* (ToBRV) จากตัวอย่างใบมะเทศและพริกทั้งหมดที่ตรวจสอบ จึงสามารถสรุปได้ว่าในช่วงเดือนตุลาคม 2559 ถึงเดือนกันยายน 2561 ที่ออกสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละพื้นที่นั้น ไม่มีการระบาดของเชื้อไวรัส ToRSV และ ToBRV ในมะเทศ

เอกสารอ้างอิง

ไทยเกษตร (2556). โรคของมะเขือเทศที่เกิดจากไวรัส. สืบค้นเมื่อวันที่ 16 กรกฎาคม 2557 Web site:

<http://www.thaikasetsart.com/>

CAB International (2007). Crop Protection Compendium. Edition. Wallingford, UK: CAB International.

www.cabicompendium.org/cpc

McMaugh, T. 2005. Guidelines for Surveillance for Plant Pests in Asia and the Pacific. ACIAR

Monograph No. 119, 192p.

Oregon.gov. ODA Commodity Inspection, Plant Health: Tomato Ringspot Virus (ToRSV) สืบค้นเมื่อ

วันที่ 16 กรกฎาคม 2557 Web site: <http://www.oregon.gov/ODA/CID/>

[PLANT_HEALTH/pages/tomato_ringspot_virus.aspx](http://www.oregon.gov/ODA/CID/PLANT_HEALTH/pages/tomato_ringspot_virus.aspx)



Figure 1 characteristics of virus symptoms observed in tomato plots.

Table 1 Detection of *Tomato ringspot virus* (ToRSV) and *Tomato black ring virus* (ToBRV) of tomato in major growing areas by Indirect enzyme-linked immunosorbent assay (Indirect ELISA) technique in 2016-2018.

ภูมิภาค	จังหวัด	อำเภอ	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	เปอร์เซ็นต์ตัวอย่างที่เป็นโรค		ค่า O.D ₄₀₅ ของเชื้อ TRSV			ค่า O.D ₄₀₅ ของเชื้อ TBRV		
				เชื้อ	เชื้อ	ตัวอย่างพืชอยู่ในช่วง	Positive	Healthy	ตัวอย่างพืชอยู่ในช่วง	Positive	Healthy
				TORSV	TOBRV						
ภาคกลาง	สระบุรี	มวกเหล็ก	18	0	0	0.691	0.094	0.095	1.762	0.063	0.077
	เพชรบูรณ์	น้ำหนาว	16	0	0	0.107	0.085	0.088	2.652	0.082	0.084
	สุพรรณบุรี	อู่ทอง	6	0	0	3.029	0.070	0.072	2.392	0.062	0.061
	กาญจนบุรี	ท่าม่วง	18	0	0	0.055	0.001	0.001	0.341	0.001	0.001
	ราชบุรี	จอมบึง	7	0	0	2.301	0.094	0.106	14.27	2.596	2.617
ภาคเหนือ	เชียงใหม่	ฮอด	94	0	0	0.699	0.089	0.142	3.600	0.102	0.105
		สันทราย	5	0	0	8.077	1.119	1.739	16.36	1.612	1.483
	ลำพูน	ป่าซาง	8	0	0	2.287	0.185	0.148	3.566	0.164	0.170
	เชียงใหม่	แม่สรวย	11	0	0	2.301	0.094	0.106	0.904	0.096	0.100
	ลำปาง	แจ้ห่ม	12	0	0	0.185	0.001	0.002	0.148	0.001	0.003
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	ขอนแก่น	บ้านฝาง	17	0	0	0.674	0.094	0.104	3.524	0.096	0.100
		เมือง	1	0	0	0.674	0.094	0.124	3.524	0.096	0.115
		สีชมพู	1	0	0	1.293	0.096	0.112	3.639	0.093	0.095
		น้ำพอง	5	0	0	0.547	0.105	0.114	3.556	0.102	0.104
		หนองเรือ	2	0	0	0.830	0.088	0.088	3.717	0.093	0.091

Table 1 (continue)

ภูมิภาค	จังหวัด	อำเภอ	จำนวน ตัวอย่าง ทั้งหมด	เปอร์เซ็นต์ตัวอย่าง ที่เป็นโรค		ค่า O.D405 ของเชื้อ TRSV			ค่า O.D ₄₀₅ ของเชื้อ TBRV			
				เชื้อ TORSV	เชื้อ TOBRV	Positive	Healthy	ตัวอย่างพีช อยู่ในช่วง	Positive	Healthy	ตัวอย่างพีช อยู่ในช่วง	
ภาคตะวันออก	กาฬสินธุ์	ยางตลาด	5	0	0	0.679	0.094	0.117	3.522	0.097	0.098	
เฉียงเหนือ		สมเด็จพระ	1	0	0	2.287	0.123	0.140	3.566	0.109	0.110	
		หนองบัวลำภู	9	0	0	3.532	0.100	0.101	0.862	0.105	0.109	
		มุกดาหาร	16	0	0	1.105	0.094	0.097	3.596	0.089	0.092	
		หนองคาย	26	0	0	0.509	0.070	0.071	0.466	0.074	0.090	
			โพนพิสัย	1	0	0	0.107	0.082	0.088	2.652	0.165	0.089
		สกลนคร	พรรณานิคม	6	0	0	0.699	0.089	0.105	0.046	0.005	0.002
			พังโคน	20	0	0	0.022	0.003	0.002	0.022	0.005	0.004
		นครพนม	นาแก	4	0	0	6.477	0.507	0.306	7.707	4.408	4.259
			นาหวัง	23	0	0	3.875	0.817	0.850	0.923	0.220	2.169
		นครราชสีมา	ปากช่อง	32	0	0	0.862	0.105	0.109	3.532	0.100	0.110
		วังน้ำเขียว	10	0	0	2.298	0.091	0.268	5.602	1.304	1.261	
	อำนาจเจริญ	ชานุมาน	6	0	0	0.547	0.105	0.114	3.566	0.102	0.111	
ภาคตะวันตก	ตาก	พบพระ	9	0	0	0.352	0.069	0.070	0.511	0.076	0.096	
จำนวนตัวอย่างทั้งหมด			389	0	0							