บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ถั่วเหลือง มีชื่อสามัญในภาษาอังกฤษว่า Soybean, Chinese pea หรือ Manchurian bean ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าต้นกำเนิดของถั่วเหลืองนั้นอยู่ในประเทศ Manchuria แต่ก็ยังไม่มีหลักฐานที่ยืนยันแน่ชัด อย่างไรก็ตามได้มีการปลูกถั่วเหลืองในประเทศจีนกันมาหลายศตวรรษแล้ว ถั่วเหลืองพันธุ์ที่ปลูกในปัจจุบันนี้ สันนิษฐานว่าสืบเชื้อสายมาจากพันธุ์ป่า (wild type) คือ *Glycine usuriensis* Regel and Mack ซึ่งมีขึ้นอยู่ทั่วไปแถบเอเชียตะวันออก ลักษณะของ ถั่วเหลืองพันธุ์ป่านี้ มีลำต้นเล็กยาว ใบแคบเล็ก ดอกสีม่วง ฝักแบนเล็ก เมล็ดยาวรี และมีสีดำ นักพฤกษศาสตร์ชาวรัสเซียได้พบว่า มีถั่วเหลืองซึ่งมีลักษณะอยู่ระหว่างพันธุ์ป่า และถั่วเหลืองพันธุ์ที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบัน ก็คือ *Glycine gracilis* Skvortzov สำหรับชื่อวิทยาศาสตร์ของถั่วเหลืองที่เป็นพันธุ์ปลูกในปัจจุบันคือ *Glycine max* (L.) Merril ซึ่งแต่เดิมมีชื่อว่า *Glycine hispida* (Moench) Maxim ต่อมา Pipe ได้เปลี่ยนใช้ชื่อใหม่เป็น *Soja max* (L.) Piper แต่นักพฤกษศาสตร์อื่นๆ ยังคงลงความเห็นให้จัดถั่วเหลืองอยู่ใน Genus *Glycine* ซึ่งในปัจจุบันนี้ชื่อวิทยาศาสตร์ของถั่วเหลืองพันธุ์ปลูกก็ยังคงเป็น *Glycine max* (L.) Merril อันเป็นที่ยอมรับตามกฎพฤกษศาสตร์สากล (international botanical rules) (ศักดิ์ดา, 2523)

การจำแนกลักษณะทางอนุกรมวิธานของ Genus *Glycine* พบว่าประกอบด้วยหลาย Subgenus เช่นที่ประเทศออสเตรเลียพบ Subgenus ของ *Glycine* มากถึง 12 Subgenera ดังนั้นจึงสันนิษฐานได้ว่าถิ่นกำเนิดของ *Glycine* spp. น่าจะเป็นประเทศออสเตรเลีย ส่วนประเทศสหรัฐอเมริกาปัจจุบันจัดว่าเป็นผู้ผลิตถั่วเหลืองรายใหญ่ของโลก ได้เริ่มนำเอาถั่วเหลืองเข้าไปปลูกเมื่อปี ค.ศ. 1765

การปลูกถั่วเหลืองในประเทศไทยนั้น สันนิษฐานว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้นำมาจากประเทศจีนตอนใต้โดยคนจีนที่อพยพเข้ามาตั้งถิ่นฐานในประเทศไทย และต่อมาได้แพร่หลายเข้ามาในหมู่คนไทยทั่ว ๆ ไป แต่ถั่วเหลืองเริ่มมีบทบาทขึ้นมาอย่างจริงจังในภาคเหนือของประเทศไทย โดย พระยาอนุบาลพาย์พกิจ ข้าหลวงของเชียงใหม่

ในการปลูกถั่วเหลืองฝักสดเพื่อจำหน่าย สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงคือ ผลผลิตและคุณภาพของฝักสด คือจะต้องปลูกให้ได้ผลผลิตฝักสดสูงที่สุดและมีคุณภาพดีที่สุดเป็นที่ต้องการของตลาด ตามมาตรฐานสากลของถั่วเหลืองฝักสด มาตรการสำคัญที่จะใช้ตัดสินคุณภาพหรือเพื่อการจัดเกรดของถั่วเหลืองฝักสด คือ ขนาดและสีของฝัก และรสชาติของเมล็ด ถั่วเหลืองฝักสดที่ได้มาตรฐาน

(เกรด 1) จะต้องมีฝักสีเขียวเข้ม ฝักมีขนาดกว้างไม่น้อยกว่า 1.4 cm ยาวไม่น้อยกว่า 4.5 cm หรือฝักมีน้ำหนักฝักมาตรฐาน 175 ฝัก ไม่น้อยกว่า 500 g เมล็ดมีรสหวานมัน หอม และนุ่ม อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาพบว่าผลผลิตและคุณภาพของฝักและเมล็ด นอกจากจะผันแปรกับสภาพแวดล้อม และฤดูปลูกแล้ว ยังผันแปรกับระยะเวลาที่ทำการเก็บเกี่ยวอีกด้วย (Lumpkins and Konovsley, 1991)

Shanmugasundaram *et al.* (1991) พบว่าสีของฝัก ผลผลิตฝักสด รสชาติ และกรด อะมิโนในเมล็ด จะเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับอายุเก็บเกี่ยว การเก็บเกี่ยวที่อายุอ่อนหรือแก่เกินไปจะทำให้ได้ผลผลิตและคุณภาพต่ำลง ระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมที่สุดสำหรับถั่วเหลืองฝักสด คือในช่วงระยะที่เมล็ดเต่งประมาณ 80 – 90 % จนถึงระยะที่ฝักจะเริ่มเปลี่ยนสี หรือระหว่างระยะ R6 ถึง R7 วิทยา และ สมพร (2534) พบว่าช่วงระยะเวลาจากระยะ R6 ถึง R7 ยังแตกต่างกันไปตามพันธุ์เช่นกัน บางพันธุ์มีช่วงระยะเวลาสั้นมากเพียง 5-7 วัน ในขณะที่บางพันธุ์มีระยะยาวนานถึง 10-15 วัน

การเจริญเติบโตของถั่วเหลืองในระยะต่างๆ (ชาตรี, 2539)

รหัส	**ลำดับการเจริญเติบโต**	**รายละเอียดของการเจริญเติบโต**
V0	ปลูก	
VE	งอกโผล่พ้นผิวดิน	ใบเลี้ยงโผล่พ้นผิวดิน
VC	ระยะใบเลี้ยง	ระยะใบเดี่ยว(unifoliolate leaf) ขอบใบแยกจากกัน
V1	ระยะข้อที่ 1	ต้นถั่วเหลืองมีใบจริงที่เป็นใบเดี่ยวคู่แรก และใบจริงสามใบ (trifoliolate leaf) คลี่ออกเต็มที่
V2	ระยะข้อที่ 2	มีใบจริงสามใบที่ข้อถัดจากใบจริงคู่แรกบานเต็มที่และใบจริงสามใบบนข้อถัดไป ขอบใบแยกออกจากกันแล้ว
V3	ระยะข้อที่ 3	ข้อที่สามนับจากข้อของใบจริงคู่แรก มีใบจริงสามใบคลี่ออกเต็มที่ และใบจริงสามใบขอบใบแยกออกจากกัน
Vn	ระยะข้อที่ n	มีข้อที่ n นับจากข้อของใบจริงคู่แรก มีใบจริงสามใบแผ่เต็มที่ และใบจริงสามใบบนข้อถัดไปขอบใบแยกออกจากกัน

R1	ระยะเริ่มออกดอก	ต้นถั่วเหลืองมีดอกบาน 1 ดอก ที่ข้อใดข้อหนึ่งบนลำต้นหลัก
R2	ระยะดอกบานเต็มที่	เป็นระยะที่ต้นถั่วเหลืองมีดอกบานหนึ่งข้อนับจากข้อยอดสุด (uppermost node) ที่มีใบแผ่ขยายเต็มที่ลงมาหนึ่งข้อ
R3	ระยะเริ่มสร้างฝัก	ฝักเริ่มสร้างยาว 0.5 cm ที่ข้อใดข้อหนึ่งบน 4 ข้อนับจากข้อบนที่มีใบที่แผ่ขยายเต็มที่
R4	ระยะฝักอ่อน	ฝักมีขนาดยาว 2 cm สร้างขึ้นที่ข้อใดข้อหนึ่งบน 4 ข้อนับจากข้อที่มีใบแผ่ขยายเต็มที่
R5	ระยะเริ่มสร้างเมล็ด	เมื่อจับฝักดู จะทราบว่าเมล็ดถั่วเริ่มสร้างขึ้นภายในฝัก ที่ข้อใดข้อหนึ่ง บน 4 ข้อนับจากข้อที่มีใบแผ่ขยายจากยอดบนสุด
R6	ระยะที่เมล็ดโตเต็มที่	เมล็ดภายในฝักมีขนาดโตเต็มที่ ที่ข้อใดข้อหนึ่งบน 4 ข้อนับจากข้อที่มีใบแผ่ขยายเต็มที่จากยอดบนสุด
R7	ระยะฝักสีเหลือง	ถั่วเหลืองแก่ฝักมีสีเหลือง ใบ 50 %มีสีเหลือง
R8	ระยะเก็บเกี่ยว	ถั่วเหลืองแก่จำนวน 95% มีสีน้ำตาล พร้อมที่จะเก็บเกี่ยว

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

มีโรคไวรัสหลายชนิดที่เป็นสาเหตุของโรคถั่วเหลือง ซึ่งทำให้ผลผลิตลดลง Kamiya (1983) รายงานว่าพบไวรัสที่ทำให้เกิดโรคกับถั่วเหลืองทั่วโลกมากกว่า 50 ชนิดและในแถบเอเชียมี 13 ชนิด ตัวอย่างเช่น *Soybean mosaic virus* (SMV), Peanut stripe virus (PSTV), *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV), *Cucumber mosaic virus* – Soybean stunt strain CMV-SS, *Indonesian soybean dwarf virus* (ISDV), *Mungbean yellow mosaic virus* (MYMV), Soybean crinkle leaf virus (SCLV), Cowpea stunt virus (CSV), Soybean yellow mosaic virus (SYMV)

เครือพันธุ์ (2530) ได้มีการสำรวจโดยเก็บตัวอย่างโรคไวรัสของถั่วเหลืองในระหว่างเดือนมิถุนายนถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2530 ในแหล่งปลูกถั่วเหลืองต่างๆ ปรากฏว่าพบเชื้อไวรัส CPMMV เป็นสาเหตุร่วมกับไวรัสใบด่าง SMV ทำให้เกิดโรคใบด่างบนถั่วเหลืองใน 10 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ลำพูน พิษณุโลก นครสวรรค์ ลพบุรี ขอนแก่น สกลนคร ร้อยเอ็ด เลย และพัทลุง และพบว่ามีเชื้อไวรัส CPMMV ปนอยู่ในต้นถั่วเหลืองที่เป็นโรคใบยอดย่น SCLV

โรคใบยอดย่น
(Soybean Crinkle Leaf)

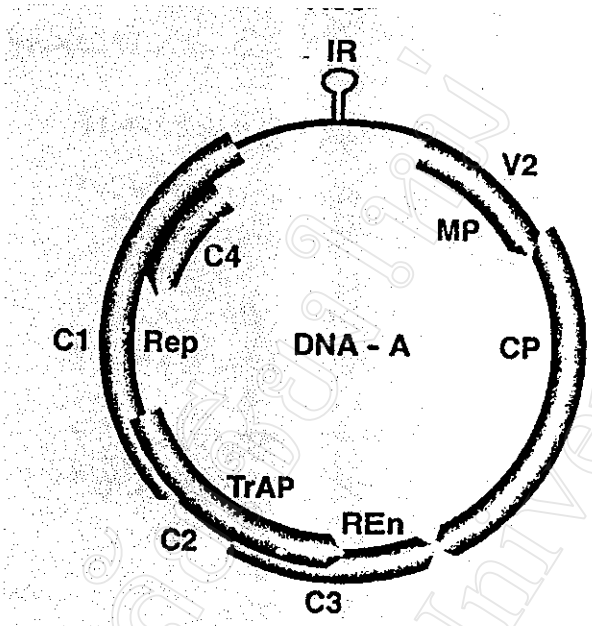
โรคใบยอดย่น soybean crinkle leaf มีรายงานพบในประเทศไทยโดยพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2522 ที่จังหวัดเชียงใหม่ กำแพงเพชร ในปี พ.ศ. 2523 (Iwaki *et al.*, 1986) ได้แยกเชื้อสาเหตุของโรคที่พบในจังหวัดพิษณุโลก แล้วนำไปศึกษา มีรายงานว่าโรคนี้น่าจะเกิดจาก เชื้อไวรัสชนิดหนึ่งซึ่งมีรูปร่างกลม และอยู่เป็นคู่ (*Geminivirus*) โรคนี้ถ่ายทอดได้โดยมีแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) เป็นพาหะ และไม่ถ่ายทอดทางเมล็ดหรือโดยเพลี้ยอ่อน พืชอาศัยของโรคนี้กว้างทั้งในตระกูลถั่วและพืชในตระกูลอื่น เช่น ตระกูลยาสูบและมะเขือ ก็เป็นพืชอาศัยของโรคนี้อยู่หลายชนิด ในระยะที่สังเกตพบโรคนี้ใหม่ ๆ พบว่าโรคนี้เกิดกระจัดกระจาย และเกิดเป็นบางครั้งในแหล่งปลูกถั่วเหลือง ในปี 2527 เกิดโรคนี้ระบาดเป็นพื้นที่หลายพันไร่ในเขตอำเภอศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย และทำให้ผลผลิตของถั่วเหลืองลดลงมาก (สมศักดิ์ และคณะ, 2528)

ลักษณะอาการ

อาการของโรคที่พบบนถั่วเหลืองในภาคเหนือได้แก่ใบยอดมีเส้นใบสีเหลืองและมีขนาดเล็กหดย่นและโค้งงอขึ้นหรือลง ใบแก่สีเขียวเข้มและบิด เส้นใต้ใบมักมีสีเขียวเข้มและนูนออกมาเป็นติ่ง ใบล่างด่างเหลืองคล้ายขาดธาตุอาหาร ฝักบิดเบี้ยว ผิวฝักย่น ฝักแก่ช้ากว่าปกติ และบางครั้งพบอาการต้นเตี้ย อาการของโรคที่พบในภาคกลางได้แก่ใบยอดมีสีเขียวอ่อน เส้นใบสีเหลือง ขอบใบโค้งลงตามความยาว เส้นใบมีติ่งนูนและใบแก่มีสีเขียวเข้ม บางใบมีแถบสีเขียวเข้มตามเส้นใบ ใบหดย่น และโค้งงอ ฝักบิดเบี้ยวและผิวฝักย่น (เตรือพันธุ์, 2530)

เชื้อสาเหตุ

SCLV เป็นเชื้อไวรัสที่อยู่ใน Genus *Begomovirus* Family *Geminiviridae* Order *NIDOVIRALES* ในกลุ่ม *Geminivirus* มีอนุภาคเป็นทรงกลมอยู่ติดกันเป็นคู่โดยมีลักษณะเป็นทรงกลมหลายเหลี่ยมที่ไม่สมบูรณ์ (incomplete icosahedral) แต่ละอนุภาคมีการเกาะตัวกันของ coat protein (CP) gene อนุภาคเป็น 22 capsomer มีเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคเดี่ยว 18 – 20 nm ขนาดความยาวรวมของอนุภาคคู่ประมาณ 30–36 nm อนุภาคไวรัสประกอบด้วย nucleic acid 20–30 % และ protein 70–80 % มียีนเป็น DNA ขดเป็นวง dsDNA 4 – 6 kb genome ของ *Geminivirus* มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 7 - 8 x 10^5 kDa CP อนุภาคไวรัสมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 2.7 x 10^3 – 3.4 x 10^3 kDa *Geminivirus* มีอนุภาคเป็นแบบ bipartite คือ *Geminivirus* ที่มี genome 2 โมเลกุล ซึ่งโครงสร้างแตกต่างกันเรียกว่า component A (ภาพ 1) และ component B หรือ DNA 1 และ DNA 2 ในการเข้าทำลายพืชใบเลี้ยงคู่และถ่ายทอดโรคได้ด้วยแมลงหวี่ขาวเพียง species เดียวคือ *Bemisia tabaci* บน genome ทั้ง 2 โมเลกุลของ *Geminivirus* จะมีบริเวณ intergenic region (IR) ที่มีการเรียงลำดับเบสเหมือนกันในระดับสูงถึง 90 % จัดเป็น DNA ส่วนที่มีการอนุรักษ์ทั้งใน component A และ component B อาจเรียกบริเวณที่เหมือนกันนี้ว่า common region ซึ่งเป็นข้อมูลพันธุกรรม ของ *Geminivirus* ส่วนที่ไม่มีการแปลรหัสเป็นโปรตีน (เยาวภา, 2542)



ภาพ 1 แผนภาพแสดงส่วน genome ของ TYLCV component A intergenic region (IR) ของ Geminivirus TrAP; transcriptional activator protein, Rep; replication-associated protein,Ren; replication enhancer, MP; movement protein,(van Regenmortel *et al.*,2000)

ชนิดของพืชอาศัย

SCLV เข้าทำลายพืชได้มากมายหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชในตระกูลถั่ว SCLV ทำให้เกิดอาการ vein clearing ใน *Cassia tora*, *Phaseolus vulgaris* cv. Top Crop, *Datura stramonium*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana clev*elandii, *N. debn*eyi, *N. glutinosa*, *N. tabacum* cvs. Bright Yellow and Xanthi, *Petunia hybrida*, *Zinnia elegans* อาการ crinkle leaf ใน *Glycine max* อาการ leaf curling ใน *P. vulgaris* cv.Top Crop, *Datura stramonium*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana clevelandii*, *N.glutinosa*, *N. tabacum* cvs. Bright Yellow and Xanthi, *Petunia hybrida* สำหรับอาการ yellow พบใน *N. clevelandii* (Brunt and Crabtree, 1996)

การถ่ายทอดโรคและ คุณสมบัติของเชื้อไวรัส

SCLV สามารถถ่ายทอดได้โดยแมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* และยังสามารถถ่ายทอดได้โดยการทาบกิ่ง เชื้อไวรัสไม่สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ และวิธีกล (mechanical inoculation) และไม่ถ่ายทอดโดยเพลี้ยอ่อนถั่วเหลือง (Iwaki *et al.*, 1986)

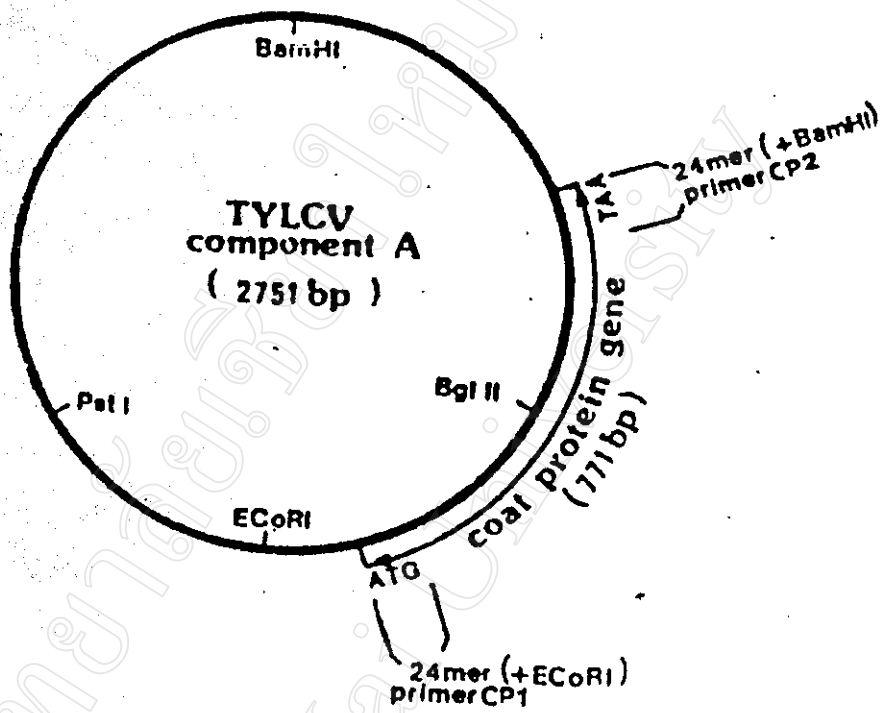
จากการทดลองถ่ายทอดโรคใบยอดย่นโดย เครือพันธุ์ (2530) บนต้นถั่วเหลืองปรากฏว่าโรคที่พบในภาคเหนือและ ภาคกลาง สามารถถ่ายทอดได้โดยแมลงหวี่ขาวในอัตรา 50-100 % และ 25 - 65 % ตามลำดับ เมื่อให้แมลงหวี่ขาวดูดกินพืชเป็นโรคนาน 24 ชั่วโมง แล้วให้ดูดกินบนพืชทดสอบ 25 ชั่วโมงและใช้แมลงหวี่ขาว 50 ตัวต่อต้น นอกจากนี้โรคที่พบในทั้ง 2 ภาค ยังถ่ายทอดได้โดยการทาบกิ่งในอัตรา 5 - 56 %

จากการทดลองถ่ายทอดเชื้อโดย Iwaki *et al.* (1983 b) พบว่าเมื่อนำแมลงหวี่ขาวจำนวน 1, 5 10, 20 และ 40 ตัว ถ่ายทอดลงต้นถั่วเหลืองเป็นเวลา 2 วัน สังเกตอาการพบว่ามีจำนวนต้นที่เป็นโรคเพิ่มมากขึ้นตามจำนวนแมลงหวี่ที่เพิ่มขึ้น 0/15, 3/15, 4/15, 6/15 และ 11/15 ตามลำดับ

การตรวจสอบโดยเทคนิคชีวโมเลกุล

จากการทดลองของพิสสวรรณ และคณะ (2537) ทำการตรวจวินิจฉัยโรคด้วยเทคนิค PCR เพื่อวิเคราะห์ขนาด DNA ที่สังเคราะห์ได้ จากใบถั่วเหลืองที่แสดงอาการใบยอดย่นด้วยเทคนิค electrophoresis พบว่า DNA ที่ได้มีขนาดประมาณ 770 bp ซึ่งใกล้เคียงกับขนาด DNA ส่วนที่เป็น CP ของ TYLCV เมื่อสกัด DNA จาก agarose gel มาวิเคราะห์ข้อมูล sequence แล้วเปรียบเทียบกับ DNA ส่วนที่เป็น CP ของ TYLCV พบว่า DNA ทั้ง 2 ชนิดมี sequence คล้ายคลึงกันมาก

การสังเคราะห์ oligonucleotide primer CP1 และ CP2 ออกแบบและสังเคราะห์จากการสังเคราะห์ DNA primer CP1 ออกแบบสังเคราะห์เริ่มต้นจากลำดับของ *Eco*R I ตามโดย ATG initiation codon จากส่วนของ CP ยืนสืบต่อจาก 15 downstream oligonucleotide primer CP2 ออกแบบสังเคราะห์ส่วน codon C จาก *Bam*HI sequence และส่วนประกอบของ 17 upstream nucleotide TAA จุดสิ้นสุดของ codon จากส่วน CP ยืน (ภาพ 2) โดยลำดับของ CP1 คือ 5′ GAATTCATGTCGAACGTCCAGCA 3′ ส่วนลำดับของ CP2 คือ : 5′ CGGATCCTTAATTCGTCACTGAGT 3′ (Pissawan, 1992)



ภาพ 2 แผนภาพแสดง genome ของ TYLCV component A แสดง coat protein gene existence และ position CP1 และ CP2 primer (Pissawan,1992)

โรคใบด่างประ

(Cowpea Mild Mottle)

โรคใบด่างประของถั่วเหลืองที่พบในประเทศไทยเกิดจาก *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) ไวรัสชนิดนี้พบแพร่ระบาดทั่วไปในเขตร้อนชื้น ทำให้เกิดโรคบนถั่วเหลืองและถั่วลิสงในประเทศไทย มาเลเซีย และ อินโดนีเซีย (Iwaki *et al.*, 1982) บนถั่วลิสงในประเทศอินเดีย (Lizuka and Reddy, 1986) บนถั่วพุ่มในประเทศกาน่า (Brunt and Kenten,1973) บนถั่วแขกในประเทศบราซิล และบนมะเขือเทศในประเทศ ไนจีเรีย (Brunt and Phillips, 1981)

จากการสำรวจของ เครือพันธุ์ (2530) ในช่วงเดือนมิถุนายนถึงพฤศจิกายน 2530 พบว่า CPMMV แพร่ระบาดในหลายจังหวัดในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน พิษณุโลก นครสวรรค์และ สุโขทัย และภาคใต้ได้แก่ จังหวัดพัทลุง ที่จังหวัดสุโขทัยพบ CPMMV ปนอยู่กับไวรัสใบยอดย่นส่วนในอีก 10 จังหวัดพบปนอยู่กับไวรัสใบด่าง จังหวัดที่ไม่พบ CPMMV ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา สุรินทร์ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ กระบี่ นครศรีธรรมราช และภูเก็ต

ลักษณะอาการ

อาการของโรคที่พบในถั่วเหลืองจะแสดงอาการแตกต่างกันไปตามพันธุ์ เช่นทำให้เส้นใบเหลือง และใบด่างประ ในบางพันธุ์มีอาการใบด่างผิวใบขรุขระและเส้นใบไหม้หรือยอดไหม้ แต่บางพันธุ์แสดงอาการใบผิดรูปเกิดอาการใบหยิก (เครือพันธุ์, 2530)

เชื้อสาเหตุ

CPMMV เป็นเชื้อไวรัสที่อยู่ใน Genus *Carlavirus* Family *Closteroviridae* ไวรัสชนิดนี้มีอนุภาคเป็นท่อนค่อนข้างคดมีความยาว 650-700 nm กว้าง 13 nm เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 nm พบเรียงตัวเป็นโครงสร้างรูปขนนก (feather-like structure) และเป็นแบบมัด (bundle-type) มี protein 31-33 kDa มีโครงสร้างแบบ RNA สายเดี่ยว (single-stranded RNA) มีน้ำหนักโมเลกุล 2.5×10^6 kDa โครงสร้างประกอบด้วย nucleic acid 5 %, protein 95 % และ lipid 0 % (Iwaki *et al.*, 1986)

ชนิดของพืชอาศัย

CPMMV เข้าทำลายพืชได้หลายชนิด โดยแสดงอาการของโรคขึ้นกับฤดูกาล CPMMV ทำให้เกิดอาการ chlorotic blotch และ malformation ใน *Vigna unguiculata* cv. Blackeye อาการ necrotic local lesion, chlorotic ring, systemic chlorosis, rolling, veinal necrosis ใน *Arachis hypogaea* สำหรับอาการ vein mosaic และ chlorosis, apical necrosis และ malformation ใน *Canavolia ensiformis* และ *Glycine max* พืชที่แสดงอาการ mottling ได้แก่ *Voandzeia subterranea* และ *Lycopersicon esculentum* (Brunt and Crabtree, 1996)

การถ่ายทอดโรคและ คุณสมบัติของเชื้อไวรัส

โรคไวรัสชนิดนี้ถ่ายทอดได้ง่ายโดยใช้วิธีกล มีแมลงหวี่ขาวยาสูบ เป็นพาหะและถ่ายทอดทางเมล็ด แต่ไม่ถ่ายทอดโดยเพลี้ยอ่อน

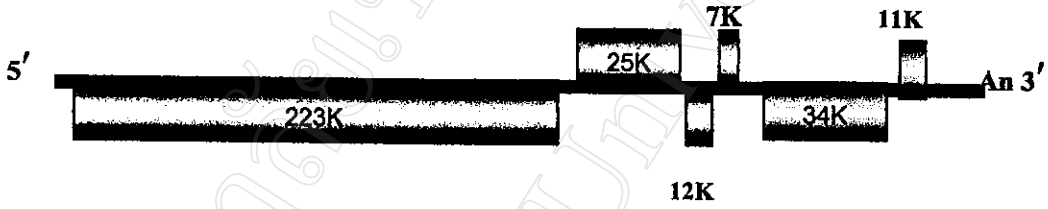
จากการทดลองโดย เครือพันธุ์ (2530) เกี่ยวกับคุณสมบัติในน้ำคั้นเมื่อใช้ ถั่วเหลืองเป็นพืชทดสอบและทดลองที่อุณหภูมิห้อง พบว่าไวรัสยังคงมีความสามารถในการทำให้เกิดโรคในน้ำคั้นหลังจากทำให้เจือจางลง 10-100 เท่า (dilution end point ; DEP) หรือนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 55-60 °C เป็นเวลา 10 นาที (longevity *in vitro* ; LIV) หรือทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 27-32 ° C เป็นเวลา 1-2 วัน

จากการทดลองของ Thongmeearkom *et al.* (1984) นอกจากจะพบว่า CPMMV สามารถถ่ายทอดได้โดยการปลูกเชื้อแบบใช้น้ำคั้นและ มีแมลงหวี่ขาวเป็นพาหะแล้วยังพบว่า CPMMV ถ่ายทอดทางเมล็ดได้ในอัตรา 0.54 % แต่ไม่ถ่ายทอดโดยเพลี้ยอ่อน

การตรวจสอบโดยเทคนิคชีวโมเลกุล

Badge *et al.* (1996) ใช้ PCR primer ในการตรวจหาไวรัสในกลุ่ม *Carlavirus* และ จัดจำแนกพวกที่เป็น unknown ของไวรัสในกลุ่ม *Carlavirus* โดยใช้ sequence ซึ่งเป็นตัวแทนของรหัสเริ่มต้นของยีนที่ 11 k ไปจนถึงส่วนของ poly A tail ซึ่งเป็น sequence ที่ทราบแล้วของ *Carlavirus* ที่มีการเรียงตัวกันในบริเวณที่มี sequence อยู่ ซึ่งในทำนองเดียวกันกับบริเวณ 3′ ของยีน 11 K และในบริเวณตำแหน่งที่ 6 ถึง 8 ของ sequence ของ *Carlavirus* ที่มีความผันแปรโดยตำแหน่งของ primer ที่ใช้คือ GGAGTAACC (หรือ T) GAGGTGATACC ซึ่งอยู่เป็นตำแหน่งรหัสสุดท้ายของยีนที่ 11 K ที่มีขนาด 120 bp (ภาพ 3)

จากการตรวจหาไวรัสโดยใช้ primer Carla – Uni ทำ RT- PCR ตรวจหาพบ correctly sized band ขนาด 120 bp จาก CPMMV แต่ไม่พบในไวรัสที่เข้าทำลายพืช พวก *Potato virus* X (PVX) สมาชิกของกลุ่ม *Potex virus* และ*Potato virus* Y (PVY) type สมาชิกของกลุ่ม *Potyvirus* (Badge *et al.*, 1996)



ภาพ 3 แผนภาพ genome ของ *Carlavirus* (van Regenmortel *et al.*, 2000)

ความสำคัญและลักษณะทางชีววิทยาของแมลงหวี่ขาว

แมลงหวี่ขาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bemisia tabaci* Gennadius ชื่อเดิม *B. eongispira* (Azab *et al.*, 1969) ชื่อสามัญ tobacco whitefly หรือ cotton whitefly จัดอยู่ใน Order Aleyrodidae Family Homoptera จากการศึกษาชีวประวัติของแมลงหวี่ขาว โดย วิสุทธิ์ (2509) ซึ่งเลี้ยงแมลงหวี่ขาวบนต้นยาสูบพบว่าแมลงวางไข่เดี่ยว ๆ ด้านใต้ใบ ไข่มีสีเหลืองอ่อน ลักษณะยาวรี มีขั้วหรือก้านยึดติดใบพืช ไข่มีขนาดความยาว 0.18 mm. กว้าง 0.08 mm. ก้านยาว 0.03 mm. ระยะไข่ 6-7 วัน ตัวอ่อนมี 4 ระยะ ระยะที่หนึ่ง 2.05 วัน ระยะที่สอง 2.10 วัน ระยะที่สาม 2.90 วัน ระยะที่สี่ หรือระยะดักแด้ 5.40 วัน ซึ่งจะเห็นอวัยวะขับถ่าย อยู่ส่วนท้ายของ ลำตัวชัดเจนเป็นลักษณะสำคัญของแมลงชนิดนี้ ระยะนี้จะเกาะใบพืชนิ่ง ๆ ไม่ดูดน้ำเลี้ยง ตัวเต็มวัยออกจากดักแด้ จากแนวสีขาวด้านหลังของลำตัว ตัวเต็มวัยมีปีก 2 คู่ สีขาว เส้นปีกมีน้อยมาก พบเพียง 1 – 2 เส้น การสืบพันธุ์เป็นแบบ parthenogenesis คือตัวเมียสามารถออกไข่ฟักออกเป็นตัวโดยไม่ผสมกับตัวผู้ ตัวเมียตัวหนึ่งวางไข่ได้ 27 – 74 ฟอง Gameel (1974) ศึกษาแมลงหวี่ขาวในประเทศซูดาน พบว่า ตัวเมียวางไข่ได้

160.43 ฟอง เฉลี่ยวันละ 1.88 ฟอง โดยจะเริ่มวางไข่ที่ใบล่างก่อน ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นใบอ่อนที่เหนือขึ้นมา ก้านของไข่จะแทงผ่านชั้น epidermis ของพืชตามรอยของ ovipositor และแทงเข้าไปถึง parenchyma เพื่อดูดอาหาร Azab (1971) ศึกษาแมลงหวี่ขาวในประเทศอียิปต์โดยเลี้ยงบนมันเทศ (sweet potato) พบว่ามีชีพจักรประมาณ 17 – 81 วัน ใน 1 ปี จะมี 11 รุ่น ตัวเมียหนึ่งตัววางไข่ได้ 48 – 394 ฟอง ตัวดักแด้ 4 – 23 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้อายุ 2 – 17 วัน เพศเมีย 8 – 60 วัน ที่อุณหภูมิ 22.3 – 28.0 และ 31.0 °C ไข่ของแมลงหวี่ขาวจะฟักใน 7.1– 10.7 วันและ 5 – 9 วันตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงบนใบฝ้าย ระยะไข่จะใช้เวลา 4.8 วัน ระยะตัวอ่อนประมาณ 10 วัน ระยะก่อนเข้าดักแด้ตัวอ่อนมีลำตัวนูนสีเหลืองเข้มขึ้นกว่าเดิม จะลอกคราบห่างกัน 1.5 วัน ดักแด้มีสีเหลืองเข้ม ตารวมของตัวเต็มวัยภายในดักแด้สีแดงเห็นชัดเจน และหลังจากนั้นประมาณ 1 วันจะเป็นตัวเต็มวัย ระยะจากตัวอ่อนถึงตัวเต็มวัยเฉลี่ย 12 วัน ตัวเต็มวัยออกจากดักแด้ในตอนเช้าเป็นส่วนมาก Ohnesorge *et al.* (1980) ได้รายงานว่า แมลงชอบวางไข่ที่ใบแก่ และจะพบปริมาณตัวอ่อนบนใบแก่มากกว่าบนใบอ่อน ซึ่งอาจเป็นเพราะใบแก่มีธาตุอาหารสำคัญเช่น น้ำตาลเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแมลง และพบว่าพืชที่ถูกทำลายจะมีอัตราการหายใจ และปฏิกิริยาทางเคมีของโปรตีนองค์ประกอบของ RNA และ DNA สูงขึ้น

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูถั่วเหลืองทั้งในฤดูแล้งและฤดูฝนในแปลงปลูกถั่วเหลืองในท้องที่จังหวัดเชียงใหม่ (เกศรา และไพศาล, 2523) รายงานว่าแมลงศัตรูถั่วเหลืองส่วนใหญ่เป็นหนอนผีเสื้อ มวนต่างๆ ด้วงปีกแข็ง และแมลงปากดูดขนาดเล็กเช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น และแมลงหวี่ขาว นอกจากแมลงศัตรูดังกล่าวแล้ว ในการสำรวจยังพบแมลงศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์คอยทำลายแมลงศัตรูถั่วเหลืองอยู่หลายชนิดที่เป็นกลุ่มแมลงตัวห้ำ ได้แก่ ด้วงเต่าลาย ด้วงดิน และมวนต่าง ๆ ศัตรูธรรมชาติของแมลงหวี่ขาวในระยะตัวอ่อนได้แก่ไรชนิด erttmocerus และ ตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส (chrysopa) ส่วนตัวเต็มวัยได้แก่ phylline mirid และแมงมุม (El-Helaly *et al.*, 1971)

แมลงหวี่ขาวมีพืชอาศัยหลายชนิด จากการสำรวจในประเทศอินเดียของ Naresh and Nene (1980) พบว่า มีพืชอาศัย 74 ชนิดใน 17 Family คือ Amaranthaceae 3 ชนิด, Balsaminaceae 1 ชนิด Compositae 10 ชนิด Convolvulaceae 4 ชนิด Cruciferae 6 ชนิด Cucurbitaceae 5 ชนิด Euphorbiaceae 3 ชนิด Labiatae 3 ชนิด Leguminosae 20 ชนิด Linaceae 1 ชนิด Malvaceae 5 ชนิด Moraceae 1 ชนิด Myrtaceae 1 ชนิด Pedaliaceae 1 ชนิด Solanaceae 7 ชนิด Umbelliferae 1 ชนิด และ Verbenaceae 2 ชนิด พืชสำคัญในประเทศไทยได้แก่ ยาสูบ (*Nicotiana tabacum*) มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) พริก (*Capsicum* spp.) ฝ้าย (*Gossypium* spp.) ถั่วเหลือง (*Glycine max*) ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea*) มันเทศ (*Ipomele batatus*) มะเขือ (*Solanum* spp.) และวัชพืช เช่น สาบแร้ง (*Gentipida minima*) สาบเสือ (*Eupatorium odoratium*) คุดซู (*Pueraria thumbergiana*)

คราม ขน (*Indigofera hirsuta*) และหญ้าตอบต็อก (*Physalis minima*) จากการศึกษาเรื่องพืชอาหารของ Harakly (1973) รายงานว่า ถ้าเลี้ยงตัวอ่อนแมลงหวี่ขาวด้วยพืชอาหารที่มีความแตกต่างกันในเรื่องของผิวใบ เช่น ผิวใบที่มีขน เช่น ฝ้าย มะเขือ ถั่วเหลือง มันฝรั่งและ ยาสูบ ตัวแก่มีขนาดเล็ก dorsal setae ยาว ในขณะที่พืชที่มีผิวใบเรียบ เช่น มันเทศ ถั่วพุ่ม และผักกาดขาว ตัวแก่มีขนาดใหญ่กว่า และมี dorsal setae เพียงเล็กน้อย Seit (1981) สรุปว่า ในการที่แมลงจะเจริญเติบโต อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ มีความสัมพันธ์กันอย่างมาก ความชื้นสัมพัทธ์สูงอัตราการตายของตัวอ่อนจะมากขึ้น

ความสัมพันธ์ระหว่างแมลงหวี่ขาวและเชื้อไวรัส

การกระจายของแมลงและโรคที่เกิดจากแมลงหวี่ขาว ส่วนใหญ่จะอยู่ในเขตร้อน (tropical country) แต่ก็พบในเขตกึ่งร้อน (sub-tropical country) และเขตอบอุ่น (temperate country) ทำความเสียหายให้กับพืชหลายชนิด Muniyappa (1980) จำแนกโรคไวรัสที่แมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* Genn. เป็นพาหะคือ yellow mosaic, yellow top, leaf curl, yellow leaf curl และ enation leaf curl ในประเทศเวเนซูเอลา Lastra and Uzcategui (1975) รายงานว่า โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสที่ถ่ายทอดโดยแมลงหวี่ขาว 4 ชนิดคือ tomato yellow mosaic, tobacco mosaic, tobacco etch และ cucumber mosaic โดยเฉพาะโรค tomato yellow mosaic พบมากที่สุด การทดลองในห้องปฏิบัติการสามารถถ่ายทอดโดยวิธีกล โดยใช้ 0.1 M potassium phosphate เป็น buffer โรคนี้พบในระยะมะเขือเทศออกดอก 90 – 100 % (Uzcategui and Lastra, 1978) ลักษณะของโรคคือ ใบมีขนาดเล็กลง บิดงอ ผิวใบย่น มีรอยด่างเหลืองขนาดเล็กใหญ่กระจายทั่วใบ (Verma *et al.*, 1985) โรค leaf curl of tomato ใบจะม้วนงอ และเกิดเป็นรอยย่นใต้ผิวใบ ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Tobacco leaf curl virus*

Shaheen (1978) รายงานว่า แมลงตัวเต็มวัย 2 ตัวต่อต้น สามารถทำความเสียหายทางเศรษฐกิจโดยการนำโรคสู่พืช การหลีกเลี่ยงโรคในระยะกล้าควรให้แปลงเพาะกล้าห่างจากแหล่งปลูกพืชที่เป็นโรค โดยเฉพาะพืช Family Solanaceae และพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาว เช่น แตงและถั่วบางชนิด และพืช Family Solanaceae ประมาณ 500 – 1000 เมตร

Kobotake *et al.* (1981) รายงานว่า *Tobacco leaf curl virus* ทำให้เกิดโรค yellow dwarf disease ในมะเขือเทศ การระบาดของโรคและแมลงมีมากในช่วงปลายเดือนพฤษภาคม อาการของโรคเริ่มพบในกลางเดือนกรกฎาคม และแพร่อย่างรวดเร็วในเดือนสิงหาคม มะเขือเทศ ที่ได้รับเชื้อไวรัสหลังการย้ายปลูก 3 สัปดาห์ ผลผลิตจะลดลง 63 % Cohen and Melamed-Madjar (1978) พบว่าประสิทธิภาพการนำโรคของแมลงนั้น แมลงเพศเมียนำโรคได้มากกว่าเพศผู้ 6 เท่า Butter and Ratual (1977) รายงานว่าแมลงเพศเมียนำโรคได้ 80 % และ 56 % ในเพศผู้

การศึกษาการป้องกันกำจัดแมลงหวี่ขาว

Mazyad *et al.* (1979) พบว่ากับดักแมลงสีเหลืองสามารถดึงดูดแมลงหวี่ขาวและเมื่อใช้แผ่นพลาสติกสีเหลืองคลุมดินระหว่างแถวพืช แล้วพ่นด้วย azinphos – methyl 1 % หลังจากพืชงอก 20 วัน พบว่าป้องกันการแพร่ระบาดของโรคใบหงิกเหลืองได้ผลดี การทดสอบผลการใช้สารกำจัดแมลงประเภท organophosphorus ในห้องปฏิบัติการโดยวิธีหยดลงบนตัวแมลงในระยะต่าง ๆ นั้น Sharaf and Allawi (1980) รายงานว่า parathion และ methyl – parathion มีผลทำให้แมลงทุกวัยมีอัตราการตาย 88 – 100 % ส่วน triazophos มีฤทธิ์สูงต่อระยะไข่และระยะตัวอ่อนแต่ methamidophos, axinphos methyl, pirimiphos – methyl และ methidathion ไม่มีฤทธิ์ต่อระยะไข่ แต่มีฤทธิ์ต่อแมลงในระยะใกล้จะเป็นตัวเต็มวัย (pre - adult stage) และ oxydemeton – methyl และ phosphamidon มีฤทธิ์เฉพาะระยะตัวอ่อนวัยแรกเท่านั้น การทดลองในสภาพไร่ ปรากฏว่าสามารถลดประชากรแมลงหวี่ขาวลงได้

วัชพืชในแปลงปลูกถั่วเหลือง

บนพื้นที่เพาะปลูกของจังหวัดเชียงใหม่ การปลูกพืชนั้นเริ่มในนาข้าวหลังการเก็บเกี่ยวข้าว บางพื้นที่ปลูกพืชอื่นเป็นพืชที่สอง หรือพืชที่สามติดต่อกันไปในแต่ละปี บนแปลงของพืชสำคัญ ๆ แต่ละชนิด เช่น ข้าว ถั่วลิสง และถั่วเหลือง ซึ่งส่วนใหญ่ปลูกแบบไม่ไถพรวนดิน จึงพบวัชพืชพวก หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) กกแห้วหมู (*Cyperus rotundus*) หญ้าข้าวนก (*Echinochloa colona*) และ หญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens*) (ธวัชชัย, 2525)

จากโครงการสำรวจและรวบรวมวัชพืชในแปลงถั่วเหลืองทั่วประเทศ จเร และ ทิพย์พรรณ (2518) ได้พบว่ามีทั้งสิ้น 47 ชนิด ตัวอย่างเช่น

วัชพืชที่สำคัญและพบมากในภาคเหนือ เช่น ลำปาง ลำพูน และเชียงใหม่

1. ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea* L.)
2. หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.)Link)
3. หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.)Vahl)
4. กกขี้หมา (*Cyperus pulcherrimus* Wild ex Kunth)

วัชพืชสำคัญและพบมากในภาคกลาง เช่น ชัยนาท สิงห์บุรี

5. หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.)Gaertn)
6. หญ้าหนวดแมลง (*Boerhavia erecta* L.)
7. กระดุมใบ (*Richardia brasiliensis* Gomez)

วัชพืชสำคัญและพบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น ขอนแก่น กาฬสินธุ์

8. หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis* Nees)
9. ส้มกบหรือผักแว่น (บก) (*Oxalis corniculata* L.)

วัชพืชซึ่งนับว่าพบมากเป็นอันดับรองลงมา เช่น

10. เส้ง (*Melochia corchorifolia* L.)
11. สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.)
12. ผักปราบ (*Commelina diffusa* Burn. f.)
13. หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon* (L).Pers.)
14. กกทราย (*Cyperus iria* L.)
15. กะเม็ง (*Eclipta alba* L.)
16. หญ้า (ผัก) งวงช้าง (*Heliotropium indicum* L.)
17. เทียนนา (*Jussiaea linifolla* Vahl)
18. บานไม่รู้โรยป่า (*Gomphrena celosioides* Mart)

เครือพันธุ์ และคณะ (2543) ตรวจพบ *Geminivirus* ในสภาพธรรมชาติโดยวิธี dot blot hybridization และใช้ DNA-A probe ของ TYLCV เป็นตัวตรวจสอบ พบ *Geminiviurs* ในวัชพืชคือ

1. กะเม็ง (*Eclipta prostata*) อาการ เส้นใบเหลือง ใบหงิก
2. กระทกรก (*Passiflora foetida*) อาการ ใบด่างเหลือง
3. ขี้กาขาว (*Trichosanthes cordata*) อาการใบด่างเหลือง
4. ครอบจักรวาล (*Abutilon indicum*) อาการใบหงิก
5. ผักแครด (*Synedrella nodiflora*) อาการใบด่างเหลือง ใบหงิก
6. พันงูเขียว (*Stachytarpheta jamaicensis*) อาการใบด่าง ใบหงิก
7. โทงเทง (*Physalis minima*) อาการใบด่างเหลือง ใบหงิก
8. Cape Gooseberry (*Physalis floridana*) อาการใบด่างเหลือง
9. มะเขือยักษ์ (*Solanum wrightii*) อาการใบด่างเหลือง
10. ไม้กวาด (*Sida acuta*) อาการใบเหลือง ใบหงิก
11. สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides*) อาการใบด่าง เส้นใบเหลือง
12. หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata*) อาการใบด่างเหลือง ใบหงิก