

การคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานโรคไวรัสใบด่างเหลืองในเรือนทดลอง
The Selection of Resistance Mung Bean Varieties to Mungbean
Yellow Mosaic in Greenhouse

กาญจนา วาระวิชนะณี¹ วันเพ็ญ ศรีทองชัย¹
สุนนา งามผ่องใส² เซาวนาถ พฤทธิเทพ²
กลุ่มงานไวรัสวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช¹
ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท สถาบันวิจัยพืชไร่²

บทคัดย่อ

โรคไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (Mung Bean Yellow Mosaic, MYMV) สร้างความเสียหายให้กับพืชตระกูลถั่วได้ทุกระยะการเจริญเติบโตโดยเฉพาะถั่วเขียวผิวมัน เมื่อโรคเข้าทำลายในระยะต้นกล้าจะไม่สามารถเก็บผลผลิตได้เลย ดังนั้นนักปรับปรุงพันธุ์จึงพยายามปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวที่ต้านทานโรค ทั้งนี้ต้องมีวิธีการคัดเลือกพันธุ์ที่ดีและมีประสิทธิภาพควบคู่กันไปด้วย จากการทดลองได้ทำการคัดเลือกถั่วเขียวรวม 11 สายพันธุ์ของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ได้แก่ KPS2, NM94-10, VC02-3-5, VC-07-1-1, CN72, NM54 NM92, SUT1(มทส.1), Ramzan, ชน.80 และ 6601 โดยนำถั่วเขียวทุกสายพันธุ์มาปลูกเชื้อไวรัส MYMV ด้วยแมลงหิวข้าว และสังเกตอาการรวม 45 วัน หลังจากนั้นประเมินความรุนแรงของโรคจากการสังเกตด้วยตาเปล่าและอ้างอิงตามเกณฑ์ Disease Scoring Scale (1-9) for MYMV (Sadiq *et al.*, 2006) พบถั่วเขียว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ KPS2, CN72, SUT1(มทส.1), และ ชน.80 มีการเข้าทำลายของโรคเท่ากับ 100 % คะแนนความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 9 หมายถึงพืชแสดงความอ่อนแอต่อโรคมาก ผลจากการสังเกตโรคด้วยตาเปล่าพบถั่วเขียว 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 6601, NM94-10, VC-07-1-1 มีแนวโน้มนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ได้โดยคะแนนความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 4, 5, 6 ตามลำดับ และถั่วเขียวสายพันธุ์ NM94-10 VC02-3-5 , VC-07-1-, NM54 , NM92 , Ramzan และ 6601 พบบางต้นไม่แสดงอาการโรคใบด่างเหลืองให้เห็นเมื่อสังเกตโรคด้วยตาเปล่า จึงนำมาตรวจหาเชื้อไวรัส MYMV ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ specific primer พบถั่วเขียว 5 สายพันธุ์ ไม่แสดงแถบดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส MYMV ที่ขนาดประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์ ได้แก่ ถั่วเขียวสายพันธุ์ 6601 จำนวน 4 ต้น , VC02-3-5 และ VC-07-1-1 สายพันธุ์ละ 3 ต้น และ NM94-10 และ Ramzan สายพันธุ์ละ 2 ต้นจึงทำการเก็บเมล็ดพันธุ์จากต้นดังกล่าวให้ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาทนำไปปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

คำนำ

ถั่วเขียวเป็นพืชไร่ที่ใช้น้ำน้อยกว่าพืชไร่อื่นหลายชนิด จึงสามารถเข้าร่วมกับระบบปลูกพืชได้ดี สามารถทำปุ๋ยพืชสดให้ปริมาณไนโตรเจนสูงเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน ด้านคุณค่าทางอาหารเป็นพืชที่ให้โปรตีนสูง จึงผลิตเพื่อการบริโภคโดยตรงและเป็นวัตถุดิบสำหรับการแปรรูปมากมาย เช่น วุ้นเส้น แป้งถั่วเขียว เป็นต้น ถั่วเขียวที่ปลูกมีอยู่สองชนิด ได้แก่ ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ จากประโยชน์ต่างๆ จึงทำให้ความต้องการใช้ภายในประเทศเพิ่มสูงขึ้นทุกๆ ปี แต่ผลผลิตที่ได้ยังมีคุณภาพต่ำปัญหาส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากโรค เช่น โรคไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (Mung Bean Yellow Mosaic, MYMV) เป็นโรคหนึ่งสร้างความเสียหายกับผลผลิตถั่วเขียวเป็นอย่างมากในหลายประเทศ เช่น อินเดีย ปากีสถาน ศรีลังกา สำหรับในประเทศไทยพบการระบาดของโรคครั้งแรกเมื่อปี 2520 ที่จังหวัดกำแพงเพชร คิดพื้นที่ความเสียหายประมาณ 10,000 ไร่ และต่อมาพบโรคนี้ระบาดรุนแรงขึ้นอีกครั้งในปี 2549 และ 2550 ที่จังหวัดสุโขทัย (Nene 1972) มีได้รายงานว่าถั่วเขียวที่ได้รับเชื้อไวรัส MYMV ในช่วงอายุการเจริญ 1-2 เดือนสามารถสร้างความเสียหายกับผลผลิตถึงประมาณ 35-80 เปอร์เซ็นต์ (Thongmeearkom *et al.*, 1981) ประเทศอินเดียเคยรายงานไว้ว่าโรคนี้สร้างความเสียหายให้กับผลผลิตถั่วเขียวผิวดำ (black gram) ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อโรคเข้าทำลายในระยะต้นกล้า (Nene, 1973) ลักษณะอาการเริ่มแรกใบถั่วเขียวมีจุดด่างสีเหลืองเล็กๆ กระจายให้เห็นที่ใบรวม 3 ใบแรก (compound trifoliate leaves) ต่อมาจุดด่างสีเหลืองขยายใหญ่จนใบเปลี่ยนจากสีเหลืองปนสีเขียวกลายเป็นสีเหลืองจัด ใบยอดที่แตกใหม่จะด่างเหลือง ถ้าถั่วเขียวเป็นโรครุนแรงมากจะสังเกตเห็นใบรวม 3 ใบแรก มีลักษณะเป็นคลื่นม้วนงอลง ลำต้นแคระแกร็น ไม่สามารถออกดอกและติดฝักได้เลย (Chiamsombat, 1991) หากโรคนี้เกิดในระยะที่ติดฝักแล้ว ฝักจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจัด มีขนาดเล็กสั้นผิดปกติคดงอขึ้นข้างบน (บุษราคัม และคณะ, 2538) โรคนี้เกิดจากไวรัสในกลุ่มเจมินีไวรัส (Geminiviruses) Genus *Begomovirus* มีอนุภาคเป็นทรงกลมคู่หลายเหลี่ยมที่ไม่สมบูรณ์ (incomplete icosahedral) อนุภาคมีขนาดประมาณ 18x30 นาโนเมตร จีโนมของไวรัสกลุ่มนี้มี 2 ประเภท คือ แบบโมเลกุลเดี่ยวและแบบโมเลกุลคู่ ดีเอ็นเอทั้ง 2 โมเลกุลมีขนาดใกล้เคียงกันประมาณ 2,500-2,800 นิวคลีโอไทด์ ภายในจีโนมของไวรัสประกอบด้วย ดีเอ็นเอสายเดี่ยว (ssDNA) ขดเป็นวงอยู่ในอนุภาคซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ monopartite genome มีสายพันธุกรรมหนึ่งโมเลกุล และ bipartite genome มีสายพันธุกรรมสองโมเลกุลที่เรียกว่า component A และ component B ถ้ายทอดโรคโดยแมลงหริ่งขาว (*Bemisia tabaci*) แบบ persistent circulative (Harrison and Robinson, 2002)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวจากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท 11 สายพันธุ์ คือ KPS2, NM94-10, VC02-3-5, VC-07-1-1, CN72, NM54 NM92, SUT1(มทส.1), Ramzan, ชน.80 และ 6601
2. อุปกรณ์ทางการเกษตร ได้แก่ โรงเรือนกันแมลง กรงกันแมลง กระจ่าง ตระกร้า แก้วครอบดิน ถูปลูก ปุ๋ย ป้ายชื่อ
3. แมลงพาหะ ได้แก่ แมลงหี่ขาว (*Bemisia tabaci*)
4. ต้นถั่วเขียวที่แสดงอาการโรคไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (Mung Bean Yellow Mosaic)
5. อุปกรณ์ด้านวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ตู้แช่แข็ง -20°C อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath shaker) เครื่องขังละเอียด เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) เครื่อง Thermal cycler เครื่อง Gel electrophoresis
6. สารเคมีวิทยาศาสตร์ เช่น ไนโตรเจนเหลว สารประกอบ CTAB buffer เอ็มไซต์ (Roch) Chloroform Ethanol

วิธีการ

1. สุ่มและเก็บตัวอย่างถั่วเขียวที่แสดงอาการใบด่างเหลือง(Mung Bean Yellow Mosaic ,MYMV) จากแปลงปลูก จ. สุโขทัย และชัยนาท แล้วนำตัวอย่างถั่วเขียวใบด่างเหลืองมาถ่ายทอดโรคลงบนต้นถั่วเขียวปกติโดยใช้แมลงหี่ขาวเป็นพาหะ และเก็บแหล่งเชื้อไว้สำหรับทดสอบในเรือนทดลองต่อไป
2. นำแมลงหี่ขาว (*Bemisia tabaci*) มาปล่อยให้รับเชื้อไวรัส MYMV บนต้นถั่วเขียวที่เป็นโรค นาน 48 ชั่วโมง ก่อนใช้ถ่ายทอดเชื้อไวรัส MYMV ต่อไป
3. ปลูกถั่วเขียวที่ต้องการทดสอบความต้านโรค รวม 11 สายพันธุ์ คือ KPS2, NM94-10, VC02-3-5, VC-07-1-1, CN72, NM54 NM92, SUT1(มทส.1), Ramzan, ชน.80, 6601 พันธุ์ละ 20 ต้น เมื่อต้นกล้าถั่วเขียวมีอายุได้ 5 วัน ใช้ aspirator ดูดแมลงหี่ขาวที่มีเชื้อไวรัส MYMV จำนวน 10-15 ตัว / ต้น มาปล่อยบนต้นถั่วเขียวปกติทั้ง 11 สายพันธุ์ ึ่งให้แมลงถ่ายทอดโรคนาน 48 ชั่วโมง แล้วฉีดยาฆ่าแมลงก่อนนำต้นถั่วเขียวดังกล่าวไปเก็บไว้ในกรงป้องกันแมลงเพื่อสังเกตอาการโรคต่อไป
4. ทำการสังเกตโรคด้วยตาเปล่าและจดบันทึกลักษณะอาการ ความรุนแรงของโรคบนต้นถั่วเขียวทั้ง 11 สายพันธุ์ หลังถ่ายทอดเชื้อไปแล้ว ทุกๆ 7 วัน รวมเป็นเวลา 45 วัน และแสดงระดับความต้านทานโรคเป็นคะแนนความรุนแรงโรค 9 ระดับ ตามวิธีของ Sadiq *et al.*, 2006 (ตารางที่ 1)

$$\text{วิธีคิด } \% \text{ infected} = \frac{\text{infection rate} \times 100}{\text{total number of plant}}$$

ตารางที่ 1 คะแนนความรุนแรงของโรคใบต่างเหลืองถั่วเขียว 9 ระดับ (Disease Scoring Scale (1-9) for MYMV)

% การเข้าทำลายของโรค ต้านทานโรค (Percent Infected)	คะแนนความรุนแรงโรค (Disease Score)	การแสดงระดับ (Disease reaction)
0	1	ไม่แสดงอาการโรค (Immune, I)
1-5	2	ต้านทานมาก (Highly resistant, HR)
6-10	3	ต้านทาน (Resistant, R)
11-20	4	ต้านทานปานกลาง (Moderately resistant, MR)
21-30	5	ทนทาน (Tolerant, T)
31-40	6	ทนทานปานกลาง (Moderately tolerant, MT)
41-50	7	อ่อนแอปานกลาง (Moderately susceptible, MS)
51-80	8	อ่อนแอ (Susceptible, S)
81-100	9	อ่อนแอมาก (Highly susceptible, HS)

5. หลังจากถ่ายทอดโรคไปแล้ว 45 วัน ให้เก็บใบของต้นถั่วเขียวที่ไม่แสดงอาการโรคไวรัสใบต่างเหลืองมาสกัดดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส MYMV ด้วยวิธี CTAB buffer แล้วเก็บดีเอ็นเอที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาตรวจหาเชื้อ MYMV ในขั้นตอน Polymerase Chain Reaction (PCR) ต่อไป

6. ออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงกับเชื้อไวรัส MYMV ที่ส่วน coat protein gene โดยอาศัยฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ จาก GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

7. ทำการสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไวรัส MYMV ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยไพรเมอร์ที่ได้ออกแบบให้เฉพาะเจาะจงกับเชื้อ (specific primer)

8. ตรวจสอบผล PCR ด้วยเทคนิค Gel electrophoresis หากผลการตรวจสอบไม่พบแถบดีเอ็นเอของไวรัส ที่ขนาดประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์ จะทำการเก็บเมล็ดจากต้นพันธุ์ดังกล่าวให้ศูนย์วิจัยพืชไร่ชยันนาทนำไปปรับปรุงต่อไป

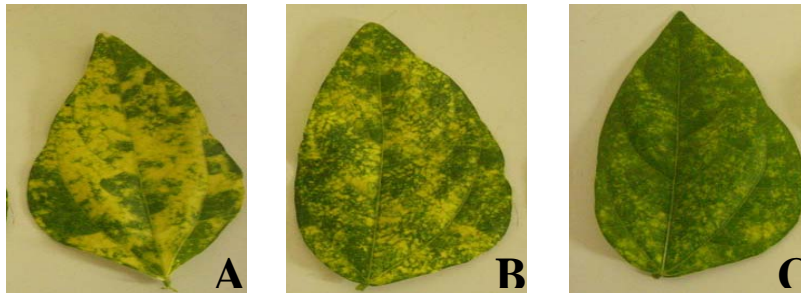
เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2551-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยาและโรงเรือนทดลอง ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ลักษณะอาการของถั่วเขียวทั้ง 11 สายพันธุ์หลังจากการถ่ายทอดโรคด้วยแมลงหวีขาวแล้ว 45 วัน เมื่อถ่ายทอดเชื้อไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (MYMV) ด้วยแมลงหวีขาวไปแล้ว 15 วัน มีถั่วเขียว 6 สายพันธุ์ ที่แสดงอาการจุดด่างสีเหลืองเล็กๆ กระจายไปทั่วใบรวม 3 ใบแรก (compound trifoliolate leaves) ให้เห็นได้เร็วกว่าสายพันธุ์อื่นๆ ที่นำมาทดสอบ ได้แก่ CN72, KPS2, SUT1 (มทส.1) , ชน.80, NM54 และ NM92 ตามลำดับ และหลังจากถ่ายทอดโรคไปแล้วที่ 45 วันจุดด่างสีเหลือง กระจายไปทั่วทุกใบทั้งต้นจนใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจัดไม่แตกต่างกัน สำหรับถั่วเขียวสายพันธุ์ VC02-3-5, VC-07-1-1 และ Ramzan หลังจากถ่ายทอดโรคไปแล้วที่ 45 วัน พืชแสดงอาการจุดด่างเหลือง กระจายไปทั่วใบ ส่วนถั่วเขียวพันธุ์ 6601 และ NM94-10 หลังจากถ่ายทอดโรคไปแล้วที่ 45 วัน พืชแสดงอาการใบด่างเหลืองน้อยกว่าพันธุ์อื่นๆ ใบพืชพบส่วนสีเขียวปนอยู่มากและอาการด่างที่แสดงไม่ชัดเจนในบางต้น (ภาพที่ 1 A, B, C)



ภาพที่ 1 แสดงอาการใบด่างเหลืองของถั่วเขียว 11 สายพันธุ์ หลังจากถ่ายทอดเชื้อไวรัส

MYMV ด้วยแมลงหวีขาวไปแล้ว 45 วัน

1-A : ถั่วเขียวสายพันธุ์ CN72, KPS2, SUT1 (มทส.1) , ชน.80, NM54 และ NM92

1-B : ถั่วเขียวสายพันธุ์ VC02-3-5, VC-07-1-1 และ Ramzan

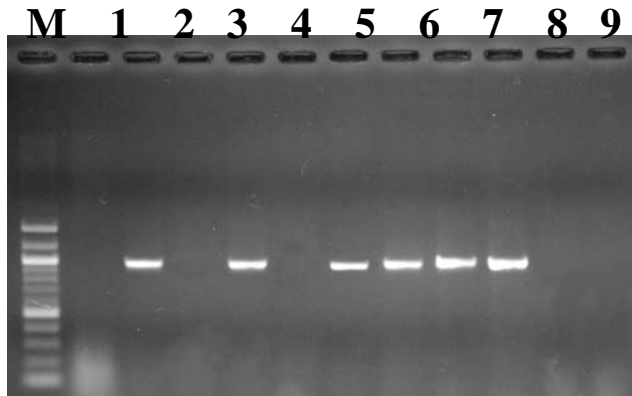
1-C : ถั่วเขียวสายพันธุ์ 6601 และ NM94-10

2. แสดงความต้านทานโรคไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (MYMV) จากคะแนนความรุนแรงของโรค 9 ระดับ ตามวิธีของ M. S. Sadiq *et al.*, 2006 (ตารางที่ 1)

จากการสังเกตอาการโรคด้วยตาเปล่ามีถั่วเขียว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ KPS2, CN72, SUT1 (มทส.1), และ ชน.80 พบการเข้าทำลายของโรคไวรัส MYMV เท่ากับ 100 % คะแนนความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 9 หมายถึงพืชแสดงความอ่อนแอต่อโรคมาก ส่วนถั่วเขียวอีก 7 สายพันธุ์ ยังพบถั่วเขียวบางต้นไม่แสดงอาการโรคใบด่างเหลืองให้เห็น ได้แก่ NM94-10 จำนวน 14 ต้น, VC02-3-5 จำนวน 10 ต้น, VC-07-1-1 จำนวน 13 ต้น, NM54 จำนวน 2 ต้น, NM92 จำนวน 7 ต้น, Ramzan จำนวน 8 ต้น และ 6601 จำนวน 16 ต้น และนำไปถั่วเขียวทั้ง 7 สายพันธุ์ไปสกัด ดีเอ็นเอ เพื่อตรวจหาเชื้อไวรัส MYMV ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

3. ตรวจหาเชื้อไวรัส MYMV ด้วย Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยไพรเมอร์ที่ออกแบบให้เฉพาะเจาะจงกับเชื้อ (specific primer)

นำดีเอ็นเอของถั่วเขียวทั้ง 7 สายพันธุ์ มาตรวจหาเชื้อไวรัส MYMV ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยไพรเมอร์ที่ออกแบบให้จับเฉพาะเจาะจง (specific primer) กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไวรัส MYMV ที่ขนาดประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์ พบว่าถั่วเขียวสายพันธุ์ 6601 จำนวน 16 ต้น ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส MYMV จำนวน 4 ต้น ถั่วเขียวสายพันธุ์ NM94-10 จำนวน 14 ต้น, Ramzan จำนวน 8 ต้น ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส MYMV สายพันธุ์ละ 2 ต้น (ไม่แสดงภาพ) ถั่วเขียวสายพันธุ์ VC02-3-5 จำนวน 10 ต้น, VC-07-1-1 จำนวน 13 ต้น ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส MYMV สายพันธุ์ละ 3 ต้น (ภาพที่ 2) สำหรับถั่วเขียวสายพันธุ์ NM54 และ NM92 ตรวจพบแถบดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส MYMV ขนาดประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์ ในทุกต้นที่ทำการตรวจสอบ (ไม่แสดงภาพ)



ภาพที่ 2 แสดงผลการตรวจสอบเชื้อไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (MYMV) ด้วยเทคนิค PCR ของถั่วเขียวสายพันธุ์ VC02-3-5

ช่องที่ M	= Marker 100 bps DNA Ladder
ช่องที่ 1,3 และ 5	= ต้นถั่วเขียวที่ตรวจไม่พบของเชื้อ MYMV
ช่องที่ 2,4 และ 6-8	= ต้นถั่วเขียวที่ตรวจพบของเชื้อ MYMV
ช่องที่ 9	= ถั่วเขียวที่เป็นโรคไวรัส MYMV จะแสดงแถบดีเอ็นเอประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์
ช่องที่ 10	= ต้นถั่วเขียวปกติ
ช่องที่ 11	= น้ำ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การประเมินความรุนแรงโรคจากการสังเกตด้วยตาเปล่าและอ้างอิงตามเกณฑ์ Disease Scoring Scale (1-9) for MYMV (Sadiq *et al.*, 2006) พบถั่วเขียว 3 พันธุ์ มีแนวโน้มนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 6601 มีต้นถั่วเขียวที่ไม่เป็นโรคถึง 16 ต้น คิดการเข้าทำลายของโรคเท่ากับ 20 % ให้คะแนนความรุนแรงของโรคที่ระดับ 4 ถั่วเขียวสายพันธุ์นี้แสดงความต้านทานโรคปานกลาง รองลงมา คือ สายพันธุ์ NM94-10 มีต้นถั่วเขียวที่ไม่เป็นโรค 14 ต้น คิดการเข้าทำลายโรคเท่ากับ 30 % ให้คะแนนความรุนแรงของโรคที่ระดับ 5 ถั่วเขียวสายพันธุ์นี้แสดงความทนทานโรค และสายพันธุ์ VC-07-1-1 มีต้นถั่วเขียวที่ไม่เป็นโรค 13 ต้น คิดการเข้าทำลายของโรคเท่ากับ 35 % ให้คะแนนความรุนแรงของโรคที่ระดับ 6 ถั่วเขียวสายพันธุ์นี้แสดงความทนทานโรคปานกลาง

เมื่อนำดีเอ็นเอของถั่วเขียวทั้ง 7 สายพันธุ์ มาตรวจหาเชื้อไวรัส MYMV ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ specific primer พบว่าถั่วเขียวสายพันธุ์ 6601 เหลือต้นถั่วเขียวที่ไม่เป็นโรคใบด่างเหลือ เพียง 4 ต้น เท่านั้น สายพันธุ์ VC-07-1-1 และ VC02-3-5 เหลือต้นถั่วเขียวที่ไม่เป็นโรคใบด่างเหลือสายพันธุ์ละ 3 ต้น ส่วนพันธุ์ NM94-10 และ Ramzan เหลือต้นถั่วเขียวที่ไม่เป็นโรคใบ

ต่างเหลืองสายพันธุ์ละ 2 ต้น เท่านั้น จากผลที่ได้สามารถทำการเก็บเมล็ดจากต้นถั่วเขียวที่ไม่แสดงแถบดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส MYMV ขนาดประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์ ให้ศูนย์วิจัยพืชไร่ ชัยนาทนำไปปรับปรุงต่อไป

สรุปได้ว่าการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวด้วยการประเมินความรุนแรงการเข้าทำลายของโรคจากการสังเกตโรคด้วยตาเปล่า นั้นยังให้ข้อมูลการประเมินโรคที่ผิดพลาดได้ เนื่องจากการสังเกตโรคด้วยตาของผู้ตรวจสอบแต่ละคนอาจมีมาตรฐานแตกต่างกันไป ดังนั้นการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเข้ามาช่วยในการตรวจสอบเพื่อคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวที่ต้านทานโรคไวรัส MYMV ทำให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องมากขึ้น เนื่องจากเทคนิค PCR มีความสามารถในการตรวจได้ถึงระดับยีนของเชื้อสาเหตุ จึงทำให้ผลที่ได้มีความน่าเชื่อถือสูงขึ้น และข้อมูลที่ได้เป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์พืช

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. วันเพ็ญ ศรีทองชัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ขอขอบคุณคุณสุมนา งามผ่องใส ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ด้านเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว และความช่วยเหลือพร้อมคำแนะนำ และขอขอบคุณบุคลากรทุกท่านที่ให้ความสะดวกในด้านต่าง ๆ เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- บุษราคัม อุดมศักดิ์ อัมภา สืบรสปลื้ม และปรีชา สุรินทร์. 2538 งานวิจัยโรคถั่วเขียว ปี 2518-2538 หน้า 129-146. ใน รายงานสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วเขียว ครั้งที่ 6. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท.
- Chiemsombat, P. 1991. Mungbean yellow mosaic disease in Thailand : review in Mungbean yellow mosaic disease, pp. 54-58. *In* Proceedings of an International Workshop July 2-3, 1991. Bangkok. Thailand.
- Harrison, B.D. and D.J. Robinson. 2002. Green shoots of geminivirology. *Physio. and Mol. Plant Pathology* 60 : 215-218.
- Nene, Y. L. 1972. A survey fo viral diseases fo pulse crops in Ultar Pradesh. G.B. Plant University of Agriculture and Technology. Pantnagar (Distt. Nainital), U.P. Research Bulletin No. 4. 191 p.
- Nene, Y. L. 1973. Viral diseases of some warm weather pules crops in India. *Plant Disease report.* 57 : 463-467.

Thongmeearkom, P., K. Kittipakorn and P. Surin. 1981 b. Outbreak of mungbean yellow mosaic disease in Thailand. *Thai. J. Agric. Sci.* 14 : 201-206.

Sadiq, M.S. M. Saleem, S. Haidar and G. Abbas. Niab mung 2006 : A high yielding and disease resistant mungbean variety. *J. Agric. Res.*, 44(2) : 97-103.