

การพัฒนาเป็นต้นกล้วยไม้ของ Protoplast like bodies (PLBs) ที่ได้จากกล้วยไม้พันธุ์
เอียสกุล (BOM) ที่ติดเชื้อไวรัสและปลอดเชื้อไวรัส Cymbidium Mosaic Virus (CymMV)
Development into Plantlet of Protoplast like Bodies (PLBs) Derived from
Dendrobium Orchids Easakul (BOM) Virus-infected with Cymbidium
Mosaic Virus (CymMV) and Virus-free

ลัทธิตักดิ์ แสไพศาล^{1/*} สุรณี กิรติยะอังกู^{2/} เจตน์ มีญานเยี่ยม^{3/} ดวงพร บุญชัย^{3/}
Sitthisak Saepaisal^{1/} Surapee Kiratiyaangul^{2/} Jade Meyanyieam^{3/} Duangporn Boonchai^{3/}

Received 02 Nov 2021/Revised 08 Apr 2022/Accepted 26 Apr 2022

ABSTRACT

Orchid genus Dendrobium Sonia Earsakul (BOM) has a high rate of infection with the Cymbidium mosaic virus (CymMV) due to the use of propagating techniques of dividing or cutting stem from the virus-infected mother plant. This study investigated effects of CymMV on the growth and development of BOM orchids, by taking the bud fragments of the virus-free and virus-infected orchid and induced the generation of protoplast-like bodies (PLBs) and compared on the formation and the number of PLBs. Results showed that, at 45 days the number of PLBs from virus-free orchids was 2 times over those from virus-infected orchids, and at 65 days the number of PLBs from virus-free orchids increased by 2.5 times more than those from virus-infected orchids and was statistically significant different. When PLBs were cultured on a modified Vacin and Went (VW) medium to induce PLBs to plantlets, virus-free PLBs developed into large plantlets three times faster than those from virus-infected which were also statistically significant different. It was also found that the fresh weight and dry weight of virus-free plants were significantly higher than those infected with the virus. Both groups of orchid plantlets were further cultured in modified VW medium for induction into young plants (transitional stage) to compare growth rates. It was found that after 120 days of culturing, the virus-free plantlets grew 20 percent faster than the virus-infected plantlets, and the young virus-free plants had the height and the mean of the number of roots more

^{1/} สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 10900

^{1/} Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok 10900 Thailand

^{2/} ที่ปรึกษา กรมวิชาการเกษตรฯ กรุงเทพฯ 10900

^{2/} Consultant, Department of Agriculture, Bangkok 10900 Thailand

^{3/} บริษัท กล้วยไม้ไทย จำกัด 254 หมู่ 5 ต. บัวงาม อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี 70210

^{3/} Thai Orchids Co.,LTD 254 Moo.5 Buangarm, Damneonsaduak, Ratchaburi, 70210, Thailand

*Corresponding author: saepaisal@hotmail.com

than 2 times to the virus-infected plants. When the plantlets were taken out of the culture bottle and cultured continuously for 10 months to compare the growth and development of the inflorescences. It was found that the small and medium-sized virus-free plants had larger leaf sizes (leaf width and length) than virus-infected plants which was statistically significant different. At 6 -10 months of age, virus-free plants were larger and had a 35 % faster flowering rate than virus-infected plants.

Keywords: orchid, free-virus, CymMV, protocorm like bodies (PLBs)

บทคัดย่อ

กล้วยไม้พันธุ์เอียสกุล (BOM) มีการติดเชื้อไวรัส Cymbidium mosaic virus (CymMV) ในอัตราสูง จากการขยายพันธุ์ด้วยการผ่าลำหรือตัดชำจากต้นแม่พันธุ์เดิมที่มีการติดเชื้อไวรัส การวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลกระทบของเชื้อไวรัส CymMV ต่อการพัฒนาและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ โดยการนำชิ้นส่วนตาของกล้วยไม้ที่ปลอดเชื้อไวรัสและติดเชื้อไวรัส CymMV มาชักนำให้เกิด protocorm-like bodies (PLBs) เปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนของ PLBs พบว่า ที่ 45 วัน จำนวน PLBs จากกล้วยไม้ที่ปลอดเชื้อไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนได้มากกว่ากล้วยไม้ที่ติดเชื้อไวรัส 2 เท่า และที่ 65 วัน กล้วยไม้ที่ปลอดเชื้อไวรัส เพิ่มจำนวนได้มากกว่า 2.5 เท่า เมื่อนำ PLBs มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Vacin and Went (VW) เพื่อชักนำ PLBs เป็นยอด พบว่า PLBs ที่ปลอดเชื้อไวรัสพัฒนาไปเป็นต้นที่มีขนาดใหญ่ได้เร็วกว่า 3 เท่า มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัสอย่างมีนัยสำคัญ จากนั้น นำต้นอ่อนกล้วยไม้ทั้งสองกลุ่มไปเลี้ยง

ในอาหารแข็งสูตร VW ให้เป็นต้นอ่อนขนาดใหญ่ ก่อนนำออกปลูก พบว่า หลังเพาะเลี้ยง 120 วัน ต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อไวรัสมีการเจริญเติบโตเร็วกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส 20 % มีความสูงต้นและจำนวนรากเฉลี่ยมากกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส 2 เท่า เมื่อนำต้นอ่อนออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ระยะไม้นี้) ทำการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้เป็นระยะเวลา 10 เดือน พบว่า ต้นอ่อนขนาดเล็กและขนาดกลางของต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส มีขนาดใหญ่ (ความกว้างและความยาวใบ) ใหญ่กว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัสอย่างมีนัยสำคัญ และช่วงอายุระหว่าง 6-10 เดือน ต้นปลอดเชื้อไวรัส มีอัตราการออกดอกเร็วกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส ถึง 35 %

คำสำคัญ: กล้วยไม้, ปลอดเชื้อไวรัส, CymMV, แคลลัส

บทนำ

กล้วยไม้ถือเป็นหนึ่งในสินค้าที่เป็นสัญลักษณ์ของประเทศไทย มีส่งออกประมาณ 45 % และอีก 55 % เป็นการผลิตเพื่อใช้ในประเทศ พันธุ์ที่ส่งออกหลัก ได้แก่ สกุลหวาย สกุลมอคคารา และสกุลออนซิเดียม แหล่งผลิตที่มีความสำคัญคือ จ. นครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี กรุงเทพฯ และกาญจนบุรี การส่งออกปี พ.ศ. 2563 (ม.ค. 2563 - ม.ค. 2564) มีมูลค่ารวม 135.99 ล้านบาท ประกอบด้วยดอกกล้วยไม้มีปริมาณ 1,305 ตัน คิดเป็นมูลค่า 101 ล้านบาท และต้นกล้วยไม้มีปริมาณ 2,485 พันต้น คิดเป็นมูลค่า 35 ล้านบาท โดยมีคู่ค้าสำคัญ คือ ดอกกล้วยไม้: ญี่ปุ่น เวียดนาม สหรัฐอเมริกา จีน และอิตาลี (81.79 %) และ ต้นกล้วยไม้: เนเธอร์แลนด์ บราซิล ญี่ปุ่น อินเดีย และสหรัฐอเมริกา (74.09 %) (อภิญา, 2564) ปัญหาศัตรูพืชที่สำคัญของกล้วยไม้ส่งออกคือเชื้อไวรัส โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่มีการระบาดในประเทศไทยและจำเป็นต้องมีการตรวจรับรองตามเงื่อนไขการส่งออก ได้แก่ CymMV

และ Odontoglossum ringspot virus (ORSV) ซึ่งเชื้อไวรัสจะเข้าทำลายกล้วยไม้ทำให้เกิดอาการผิดปกติ เช่น ต้นแคระแกร็น ใบต่าง ช่อดอกไม่สมบูรณ์ ดอกต่าง Khentry *et al.* (2006) รายงานว่า มีไวรัสมากกว่า 50 ชนิดที่แพร่ระบาดในกล้วยไม้และในจำนวนนั้นพบว่า ORSV และ CymMV เป็นไวรัสที่เข้าทำลายกล้วยไม้มากที่สุดทั่วโลก (Chang *et al.*, 2005; Zettler *et al.*, 1990; Wong *et al.*, 1994) การติดเชื้อไวรัสเพียงชนิดเดียว ทำให้กล้วยไม้มีการเจริญเติบโตและคุณภาพของดอกลดลง ในขณะที่การติดเชื้อร่วมกันจะส่งผลให้มีความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นและอาจทำให้พืชตายได้ (Moraes *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2013) ในประเทศไทยมีรายงานว่า พบไวรัสบนกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ ประมาณ 25 ชนิด แต่มีเพียง 3-4 ชนิด ที่มีความสำคัญและสร้างความเสียหายต่อการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้มากที่สุด คือ CymMV (ธีระ, 2532; สุรภี, 2554)

เชื้อไวรัส CymMV จัดอยู่ในสกุล *Potexvirus* วงศ์ *Flexiviridae* ไวรัสนี้มีรูปร่างเป็นท่อนยาวคด ขนาด 480x13 นาโนเมตร (Zettler *et al.*, 1990) และ Wong *et al.* (1994) รายงานว่า ลักษณะอาการที่เกิดจากเชื้อ CymMV มีหลายแบบ เช่น อาการ chlorotic streak ตามความยาวของใบ มักพบบนใบที่โตเต็มที่ ส่วนใบบริเวณยอดแสดงอาการใบต่างเป็นทาง บางครั้งพบอาการต่างที่บริเวณกลีบดอกกล้วยไม้ ยอดมีอาการบิดเป็นเกลียว เชื้อ CymMV มีการถ่ายทอดด้วยวิธีกล (Brunt *et al.*, 1996)

จากการสำรวจการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* ในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทย ต้นพันธุ์ของกล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวายส่วนใหญ่มีการติดเชื้อไวรัส CymMV โดยเฉพาะแปลงที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการผ่าลำหรือตัดชำจากต้นเดิมที่มีอายุมาก มีการติดเชื้อไวรัสถึง 100 % เนื่องจาก ต้นแม่พันธุ์เดิมมีการติดโรค 100 % แต่แปลงที่ขยายพันธุ์ด้วย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ไม่มีการตรวจสอบโรคให้ปลอดเชื้อไวรัส CymMV ก่อน พบว่า มีโอกาสติดเชื้อไวรัส CymMV อัตราประมาณ 60-70 % ด้วยเหตุผลที่ไวรัสไม่ได้เข้าไปอยู่ในทุกเซลล์ เมื่อมีการเพิ่มจำนวน Protoplast like bodies (PLBs) ที่รวดเร็ว จึงมี PLBs ที่ไม่มีเชื้อไวรัสขยายเพิ่มขึ้นมา ทำให้ตรวจพบต้นปลอดเชื้อไวรัสปะปนอยู่ในการเพาะเลี้ยงในอัตรา 30-40 % (สุรภี และคณะ, 2554) เนื่องจากโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสไม่สามารถกำจัดได้ในแปลงปลูก จึงมีการแนะนำให้ผลิตต้นพืชที่ปราศจากไวรัส เพื่อใช้เริ่มต้นในการผลิตและใช้ปลูกแทนต้นเก่าที่เป็นโรคในแปลง (Hu and Ferreira, 1994) อย่างไรก็ตาม ในประเทศไทย เกษตรกรผู้ปลูกยังขาดข้อมูลผลกระทบของการเป็นโรคไวรัสต่อผลผลิตและความสมบูรณ์ของต้นกล้วยไม้สกุลหวายตัดดอกที่ชัดเจน จึงไม่ให้ความสำคัญต่อการใช้ต้นพันธุ์กล้วยไม้ที่ปลอดโรค ทำให้เกิดสภาวะการระบาดของโรคไวรัสจากเชื้อ CymMV ทั่วประเทศ และยังไม่มีการประเมินผลเปรียบเทียบความเสียหายของผลผลิตจากต้นเป็นโรคไวรัสกับต้นปลอดโรค ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบอัตราการพัฒนา PLBs จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้พันธุ์เฮียสกุลที่ติดเชื้อไวรัสและปลอดเชื้อไวรัสไปเป็นต้นกล้วยไม้ที่สมบูรณ์ เพื่อให้เห็นถึงผลกระทบต่อการผลิตต้นกล้วยไม้หากมีการนำต้นที่ติดเชื้อไวรัสมาทำการขยายพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมหน่ออ่อนปลอดเชื้อไวรัสและหน่อติดเชื้อไวรัส CymMV ของต้นกล้วยไม้พันธุ์เฮียสกุล (BOM)

ตรวจสอบและคัดเลือกหน่ออ่อนต้นกล้วยไม้พันธุ์เฮียสกุล ที่มีความสมบูรณ์แข็งแรง อายุประมาณ 1-1.5 เดือน มีความสูง 3-5 นิ้ว ที่สวนกล้วยไม้ไทย อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี โดยนำตัวอย่างใบจากหน่อต้นกล้วยไม้ที่คัดเลือกไว้มา

ตรวจด้วยชุดตรวจ POCy kit, (CPAK INTER CO.,LTD) หากตรวจพบเชื้อ CymMV จะคัดเลือกมาเพาะเลี้ยงเป็นกลุ่มติดเชื้อไวรัส (V) ส่วนหน่อที่ตรวจแล้วไม่พบไวรัสทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ CymMV, ORSV และ Potyvirus จะทำการตรวจสอบซ้ำอีกครั้ง และตัดหน่อนั้นไปใช้ในการขยายพันธุ์เป็นพันธุ์แบบปลอดเชื้อไวรัส (NV) นำหน่ออ่อนจากต้นพันธุ์ BOM ทั้งแบบ V และ NV มาขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อชักนำให้เกิด PLBs

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อชักนำให้เกิด PLBs จากชิ้นส่วนตาของกล้วยไม้ปลอดเชื้อไวรัสและติดเชื้อไวรัส CymMV

นำหน่ออ่อนของต้นกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุล ที่คัดเลือกได้ทั้งแบบ V และ NV มาทำความสะอาด ตัดรากและกำจัดส่วนของเครื่องปลูกที่ติดกับหน่อให้สะอาด ล้างด้วยน้ำประปา โดยเปิดให้น้ำไหลผ่านประมาณ 4-5 นาที ลอกเอากาบใบที่หุ้มตาออก ระวังไม่ให้เกิดการทำลายตาข้างและตายอด ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox เข้มข้น 10 % นาน 20 นาที และ Clorox เข้มข้น 5 % นาน 10 นาที จากนั้น ล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดส่วนของตาข้างและตายอดเลี้ยงในอาหารดัดแปลงสูตร Vacin and Went (VW) (Vacin and Went, 1949) ที่เติมน้ำตาล 20 ก./ล. น้ำมะพร้าว 150 มล./ล. วางบนเครื่องเขย่าและในห้องปรับอุณหภูมิ 25±2°ซ. ให้แสง 12 ชม./วัน และเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 2 สัปดาห์ เลี้ยงต่อไปอีกประมาณ 5 เดือน เพื่อให้ได้ PLBs ของทั้งแบบ V และ NV ที่เพียงพอประมาณ 40 PLBs การเลี้ยงขยาย PLBs จะทำไว้ 2 ชุดสำหรับตรวจนับเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณ PLBs และสำหรับการกระตุ้นให้เป็นต้นเพื่อใช้ศึกษาในหัวข้อต่อไป ดำเนินการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ บริษัทกล้วยไม้ไทย

3. เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของ PLBs จากชิ้นส่วนตาของกล้วยไม้ปลอดเชื้อไวรัส และติดเชื้อไวรัส CymMV

คัดเลือก PLBs ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 ซม. น้ำหนักสดเฉลี่ย 0.2-0.3 ก. จากขวด NV และมี V ชนิดละ 20 PLBs ใส่ขวดที่มีอาหารเหลว Vacin and Went (VW) ดัดแปลง (ข้อ 2) ขวดละ 1 PLBs วางขวดทั้งหมดบนเครื่องเขย่า (shaker) ความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที ในห้องที่ปรับอุณหภูมิเป็น 25±2°ซ. ให้แสง 12 ชม./วัน และเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 2 สัปดาห์ ทำการตรวจนับจำนวน PLBs ที่เพิ่มขึ้นและบันทึกลักษณะการเจริญเติบโตของ PLBs หลังเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว นาน 30, 45 และ 65 วัน และที่ระยะเวลา 65 วัน นำ PLBs ที่นับแล้วทุกขวดไปชั่งน้ำหนักสดและสุ่มตัวอย่าง PLBs จากทั้ง 20 ขวด ของ V และ NV ตัวอย่างละ 1 ชิ้น ไปตรวจสอบไวรัส ด้วยชุดตรวจ POCy kit จากนั้นจึงนำ PLBs แต่ละขวดแยกใส่ถุงกระดาษ นำเข้าตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 40 °ซ. เป็นเวลา 5 วัน บันทึกผลน้ำหนักแห้ง เปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณ PLBs ของทั้งแบบ V และ NV โดยใช้ t-test

4. การชักนำ PLBs จากชิ้นส่วนตาให้เป็นยอดในสภาพปลอดเชื้อเปรียบเทียบระหว่างต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส และที่ติดเชื้อไวรัส CymMV

4.1 การชักนำ PLBs ให้เป็นยอดในขวดเพาะเลี้ยง

นำชุด PLBs ที่เลี้ยงในข้อ 2 มาชักนำให้เป็นยอดเพื่อเปรียบเทียบระหว่าง NV และ V โดยนำ PLBs ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 ซม. น้ำหนักเฉลี่ย 0.5 ก. มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง (เติมน้ำมะพร้าว 100 มล./ล. น้ำตาลทราย 20 ก./ล. กล้วยหอมบด 100 ก./ล. น้ำต้มมันฝรั่ง 50 ก./ล.) เพื่อชักนำให้ PLBs เกิดเป็นยอด แต่ละขวดใส่ PLBs วางเป็นระยะห่างเท่า ๆ กัน จำนวน 20 ชิ้น

วางขวดเพาะเลี้ยงในห้องปรับอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. ให้แสง 12 ชม./วัน เป็นเวลา 60 วัน แล้วนำต้นกล้วยไม้ออกมาจากขวดเพื่อบันทึกผลการเจริญเติบโต ได้แก่ ลักษณะการเจริญและพัฒนาเป็นต้นของ PLBs จำนวนยอดใหม่ที่เกิดขึ้น ขนาดต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของลักษณะต่าง ๆ ระหว่าง NV และ V โดยใช้ t-test

4.2 การเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ให้มีขนาดใหญ่ก่อนนำออกปลูกในสภาพปลอดเชื้อ

ทำการคัดเลือกต้นอ่อนกล้วยไม้ที่ได้จากการชักนำ PLBs ให้เป็นต้นอายุประมาณ 8 เดือน นับตั้งแต่ตัดชิ้นส่วนตามาเลี้ยงในอาหารเหลว ต้นมีความสูงประมาณ 3-4 ซม. มีใบ 2-3 ใบ และมีราก 1-2 ราก เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง (เติมน้ำมะพร้าว 100 มล./ล. น้ำตาลทราย 20 ก./ล. กล้วยหอมบด 100 ก./ล. น้ำต้มมันฝรั่ง 50 ก./ล. และถ่าน 1 ก./ล.) ปักดำต้นกล้าในขวดอาหาร 40 ต้น/ขวด นำขวดไปวางบนชั้นภายใต้โรงเรือนที่ได้รับแสงจากธรรมชาติ ประมาณ 8-10 ชม./วัน อุณหภูมิเฉลี่ย $30-32^{\circ}\text{C}$. เป็นเวลา 120 วัน บันทึกผลการเจริญเติบโต 3 ลักษณะก่อนนำออกปลูกในกระถางไม้เนื้อไม้ ได้แก่ ความสูง จำนวนราก และจำนวนใบ อย่างละ 500 ต้น และเปรียบเทียบขนาดต้น 3 ขนาดตามความสูง ได้แก่ ขนาด 4-8 ซม. (size 1), 9-13 ซม. (size 2) และ 14-18 ซม. (size 3) จากนั้นสุ่มตัวอย่างขนาดละ 100 ต้น มาตรวจสอบหาเชื้อไวรัสด้วย POCy kit

5. เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุลระหว่างต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส และที่ติดเชื้อไวรัส CymMV หลังออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ระยะไม้เนื้อไม้) อายุ 3, 6 และ 10 เดือน

นำต้นกล้วยไม้ (จากข้อ 4) ใส่ตะกร้าพลาสติกและนำไปวางตั้งไว้ในโรงเรือนที่กันฝนและพร่างแสงประมาณ 2 สัปดาห์ แยกต้นกล้วยไม้ NV และ V ปลูกลงในขุยมะพร้าวใส่ลงในกระถาง

พลาสติกขนาด 1 นิ้ว นำกระถางมาวางบนโต๊ะภายใต้โรงเรือนพร่างแสง 70 % ให้น้ำด้วยระบบสปริงเกอร์ วันละ 1 ครั้ง นาน 15 นาที ฟันปุ๋ย สารกำจัดโรคและแมลงสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เมื่อต้นกล้วยไม้มีอายุครบ 3, 6 และ 10 เดือน ทำการสุ่มชนิดละ 500 ต้น นำมาวัดความสูง จำนวนใบ ความกว้างใบ และความยาวใบของลำต้นที่เกิดขึ้นใหม่หลังจากย้ายออกปลูก (ลำหน้า) ก่อนการวัดผลเดือนที่ 10 แบ่งกลุ่มการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ที่มีขนาดแตกต่างกัน 3 ขนาด โดยสุ่มแยกขนาดกล้วยไม้เมื่ออายุ 6 เดือน คือ ขนาดใหญ่ ขนาดกลาง และขนาดเล็ก ของทั้ง NV และ V ขนาดละ 200 ต้น แล้ววางเลี้ยงไว้จนอายุ 10 เดือน เพื่อวัดผลการเจริญเติบโต เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ z-test ของต้นกล้วยไม้ที่ได้จากต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส และที่ติดเชื้อไวรัส CymMV แล้วนำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. คัดเลือกหน่อจากแปลงปลูกกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุล (BOM)

จากการคัดเลือกหน่ออ่อนกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุลในแปลงปลูก ทั้งหมดจำนวนมากกว่า 100 หน่อ พบว่า หน่อของต้นกล้วยไม้ส่วนใหญ่มีการติดเชื้อไวรัสเกือบทั้งหมด ซึ่งเป็นโรคไวรัสที่เกิดจากเชื้อ CymMV ชนิดเดียว 82% มีเพียง 17% ที่พบต้นติดเชื้อไวรัส CymMV และ ORSV ร่วมกัน แต่ไม่พบต้นที่ติดเชื้อไวรัสในกลุ่ม Potyvirus จึงได้คัดเลือกหาหน่อที่ปลอดเชื้อไวรัสเพิ่มเติมเฉพาะหน่อที่มีความสมบูรณ์ ซึ่งจากการสังเกตด้วยตาไม่สามารถระบุได้ว่าหน่อนั้นติดเชื้อไวรัสหรือไม่ จนกว่าจะนำมาตรวจสอบด้วยชุดตรวจสอบคัดกรองกับรายงานของ Zettler *et al.*, 1990 ที่พบเชื้อ CymMV ในกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* มากกว่าชนิดอื่น ๆ ซึ่งเป็นชนิดที่มีการปลูกขายมากกว่า 80% ของกล้วยไม้ทั้งหมด และจากการสำรวจพบว่า กล้วยไม้ที่ได้รับเชื้อ CymMV

ในระยะแรกจะไม่แสดงอาการของโรค จึงเป็นจุดสำคัญหากนำหน่อที่ไม่ได้ตรวจจสอบโรคก่อนไปทำการขยายพันธุ์ จะทำให้เกิดการระบาดของโรคได้

2. เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิด PLBs เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของ PLBs จากชิ้นส่วนตาของกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุล ปลอดเชื้อไวรัส และติดเชื้อไวรัส CymMV

จำนวน PLBs ของกล้วยไม้ทั้งปลอดเชื้อไวรัส และติดเชื้อไวรัสเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตลอดระยะเวลา 65 วัน จำนวนแคลลัสที่ปลอดเชื้อและที่ติดเชื้อไวรัสที่ระยะเวลา 30 วันหลังเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่พบความแตกต่างหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน 45 และ 65 วัน (Table 1) โดยแคลลัสที่ปลอดเชื้อไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนได้มากกว่าแคลลัสที่ติดเชื้อไวรัส พบว่า

มีจำนวน PLBs 31.6 และ 15.6 ก้อน ที่ระยะเวลา 45 วัน และ 162.0 และ 61.8 ก้อน ที่ระยะเวลา 65 วัน ตามลำดับ PLBs จากเนื้อเยื่อกล้วยไม้ที่ปลอดเชื้อไวรัสมีลักษณะเป็นก้อนกลมสีเขียวสม่ำเสมอ ขณะที่ PLBs จากเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อไวรัสจะมีการเจริญเติบโตได้หลายแบบ ได้แก่ เป็นก้อนกลมสีเขียว เป็นชิ้นสีดำคล้ายเซลล์ตาย และมีการพัฒนาเป็นยอดอ่อนและใบขนาดเล็ก (Figure 1) ผลการทดลอง พบว่า การใช้ต้นพันธุ์เป็นโรคทำให้ปริมาณแคลลัสลดลงไปประมาณ 2.6 เท่า และทำให้ก้อนบางส่วนมีความผิดปกติ และพบว่า น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง PLBs ของ NV มีค่าเฉลี่ย 12.16 ก. และ 0.69 ก. มากกว่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของ V ที่มีค่าเฉลี่ย 4.54 และ 0.39 ก. ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (Table 1)

Table 1 Comparison the average number of PLBs after culture for 30, 45 and 65 days and fresh and dry weight at 65 days between virus-free (NV) and virus-infected (V) plant

Types of PLBs	Average number of PLBs (lump)			Average fresh weight	Average dry weight
	30 days	45 days	65 days	(g)	(g)
NV	12.5	31.6	162.0	12.16	0.69
V	7.4	15.6	61.8	4.54	0.39
T-test	ns	*	**	**	**

* significant at 5% level ,** significant at 1 % level, ns = not significant

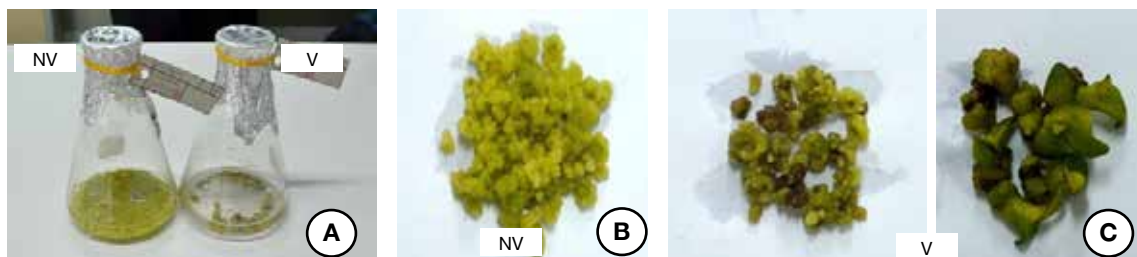


Figure 1 The protocorm-like bodies (PLBs) in liquid food Vacin and Went (VW) after 65 days of culture (A), PLBs virus-free (B) and PLBs virus-infected (C) of Dendrobium Orchids Easakul (BOM)

3. การชักนำ PLBs จากชิ้นส่วนตาให้เป็นยอด ในสภาพปลอดเชื้อ

3.1 การชักนำ PLBs ให้เป็นยอดเปรียบเทียบระหว่างต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส และที่ติดเชื้อไวรัส CymMV

หลังจากเลี้ยง PLBs บนอาหารแข็งสูตร VW ดัดแปลง นาน 60 วัน พบว่า PLBs เริ่มเกิดยอดขนาดเล็กและบางส่วนของ PLBs มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นทั้งต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสและที่ติดเชื้อไวรัส ซึ่งในเบื้องต้นนั้น ต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสมีการพัฒนาเปลี่ยนไปเป็นต้นได้จำนวนมากกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส และมีต้นที่โตกว่า โดยพบว่า PLBs มีการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็น 2 ลักษณะ คือ เกิดเป็นยอดขนาดเล็ก ๆ เกาะกันเป็นก้อน PLBs และ PLBs ที่พัฒนาเป็นต้น โดยเกิดยอดและรากที่สมบูรณ์ ซึ่งสามารถแบ่งขนาดของต้นที่เกิดขึ้น โดยการวัดความสูงของต้นตั้งแต่ปลายยอดถึงปลายรากได้ 3 ขนาด ดังนี้

- 1) ต้นขนาดความสูงไม่เกิน 2.5 ซม. (Size 1)
- 2) ต้นขนาดความสูงตั้งแต่ 2.6-4 ซม. (Size 2)

3) ต้นขนาดความสูงมากกว่า 4 ซม. (Size 3) (Figure 2) โดยพบว่า จำนวน PLBs ที่พัฒนาเป็นต้นขนาด Size 1 ของต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส (421.5 ต้น) และต้นที่ติดเชื้อไวรัส (423.0 ต้น) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่จำนวนต้น PLBs ขนาด Size 2 และ 3 ของต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส และต้นที่ติดเชื้อไวรัสมีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 2) โดย size 2 มีจำนวน 71.9 และ 27.3 ต้น และ Size 3 มี 10.3 และ 1.3 ต้น ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง พบว่า ต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสมีน้ำหนักเท่ากับ 103.1 ก. และ 5.6 ก. ตามลำดับ มากกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส ที่มีน้ำหนักสดเท่ากับ 71 ก. และน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 4.6 ก. (Table 2) แสดงให้เห็นว่า ต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสมีการพัฒนาเป็นต้น และให้น้ำหนักได้เร็วและดีกว่าในอายุที่เท่ากัน ในสภาพแวดล้อมและอาหารเหมือนกัน จึงทำให้มีจำนวนต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง มากกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส



Figure 2 Comparison protocorm-like bodies (PLBs) of virus-free (NV) and virus-infected (V) and number of plants size 1, 2 and 3 from NV and V of PLBs

Table 2 Comparison average number of plantlets at different sizes, fresh weight and dry weight after 60 days culture protocom-like bodies (PLBs) of NV and V within modified Vacin and Went solid medium

Type	Number of PLBs average small peak (lump)	Average number of plantlets			Average fresh weight (g)	Average dry weight (g)
		Size 1 (≤2.5 cm)	Size 2 (2.6-4 cm)	Size 3 (>4 cm)		
NV	253.0	421.5	71.9	10.3	103.1	5.6
V	199.7	423.0	27.3	1.3	71.0	4.1
t-test	ns	ns	**	**	**	**

* significant at 5% level ,** significant at 1 % level, ns = not significant

3.2 การเลี้ยงต้นกล้วยไม้ให้มีขนาดใหญ่ ก่อนนำออกปลูกในสภาพปลอดเชื้อ

ต้นกล้วยไม้ที่นำมาเลี้ยงในอาหารแข็งเป็นเวลา 120 วัน มีความสูง ความยาวราก ขนาดใบ จำนวนใบใหม่ และรากใหม่เพิ่มขึ้น พบว่า ต้นกล้วยไม้ที่มาจากต้นปลอดเชื้อไวรัสมีความสูงต้นเฉลี่ย 9.8 ซม. และจำนวนรากเฉลี่ย 8.7 ราก ขณะที่ต้นที่มาจากต้นติดเชื้อไวรัสที่มีความสูงต้นเฉลี่ย 9.1 ซม. และมีจำนวนรากเฉลี่ย 4.8 ราก มีความแตกต่างกับต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จำนวนใบไม่แตกต่างกัน จำนวนรากเฉลี่ยของต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส มีค่าเฉลี่ยมากกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัสถึง 2 เท่า (Table 3) นอกจากนี้ยังพบว่า บางส่วนของต้นกล้วยไม้ทั้งที่ปลอดเชื้อไวรัสและติดเชื้อไวรัส CymMV เกิดการแตกต้นเพิ่มขึ้นจากต้นเดิมและมีความแตกต่างกันสถิติ ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบ

เปอร์เซ็นต์ตามขนาดต้นที่แบ่งเป็น 3 ขนาด แสดงใน (Table 4) และพบว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส Size 2 จำนวน 235 ต้น (47.0 %) และ Size 3 จำนวน 11 ต้น (2.2 %) ขณะที่ต้น Size 1 จากต้นที่ติดเชื้อไวรัสมีจำนวน 254 ต้น (50.8 %) ซึ่งมากกว่าต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสที่มีจำนวน 158 ต้น (31.6 %) เนื่องจาก ต้นที่ติดเชื้อไวรัสมีพัฒนาการที่ช้ากว่าต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส จึงยังคงมีขนาดต้นเป็น Size 1 จำนวนที่มากกว่า ดังนั้น ในการปักดำเลี้ยงต้นกล้วยไม้ให้มีขนาดใหญ่ก่อนนำออกปลูกที่ระยะเวลา 120 วัน ในอาหารแข็งนั้น ต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส มีการเจริญเติบโตได้เร็วกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัสประมาณ 20 % (Table 4) และหลังจากการสุ่มตรวจเชื้อไวรัสด้วยชุดตรวจ POCy kit พบว่า ตรวจไม่พบเชื้อ CymMV ในต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส และตรวจพบเชื้อ CymMV ในต้นที่ติดเชื้อไวรัส ทุกตัวอย่าง

Table 3 Comparison of plant height, number of leaves and root of Dendrobium Orchids Easakul (BOM) plantlets between virus-free (NV) and virus-infected (V) after culture in modified Vacin and Went (VW) medium for 120 days

Type	Plant height (cm)	Number of leaves	Number of root
NV	9.8	4.5	8.7
V	9.1	4.7	4.8
t-test	**	ns	**

* significant at 5% level ,** significant at 1 % level, ns = not significant

Table 4 Number of orchid plants at three sizes of orchid virus-free (NV) and virus-infected (V) at 120 days after culture within modified Vacin and Went solid medium

Type of orchid	Sizes of plantlets (cm)					
	Size 1 (4-8)		Size 2 (9-13)		Size 3 (14-18)	
	number of plantlets	percentage (%)	number of plantlets	percent (%)	number of plantlets	percent (%)
NV	158	31.6	324	64.8	18	3.6
V	254	50.8	235	47.0	11	2.2

4. การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้พันธุ์เอเซียสกุลระหว่างต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส และที่ติดเชื้อไวรัส CymMV หลังออกจากขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 3, 6 และ 10 เดือน

การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ที่ช่วงอายุ 3 เดือน ความสูง ความกว้างใบ และความยาวของใบของต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสและต้นที่ติดเชื้อไวรัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่จำนวนใบไม่มีความแตกต่างกัน โดยต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสมีความสูง ความกว้างใบ และความยาวของใบเฉลี่ยเท่ากับ 2.64, 1.75 และ 6.70 ซม. ตามลำดับ ขณะที่ต้นที่ติดเชื้อไวรัสมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.89, 1.45 และ 4.31 ซม. ตามลำดับ (Table 5) ที่อายุ 6 เดือน เฉพาะความกว้างของใบเท่านั้นที่มีความแตกต่างกัน โดยต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสและต้นที่ติดเชื้อไวรัสมีค่าเฉลี่ย 2.59 และ 2.32 ซม. และที่อายุ 10 เดือน ความกว้าง ความยาว และจำนวนใบของต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสและต้นที่ติดเชื้อไวรัสมีความแตกต่างกัน สำหรับความกว้างใบของต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสจะมีการเพิ่มขนาดตามอายุที่เพิ่มขึ้น 3 6 และ 10 เดือน โดยมีความกว้างใบ 1.75 2.59 และ 3.63 ซม. ตามลำดับ ขณะที่ความกว้างใบของต้นที่ติดเชื้อไวรัสมีค่า 1.45 2.32 และ 3.38 ซม. ตามลำดับ แต่ความสูงต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสและต้นที่ติดเชื้อไวรัสที่อายุ 6 และ 10 เดือน ไม่มีความแตกต่างกัน ความไม่ชัดเจนของการเจริญเติบโตที่วัดได้นี้ อาจเป็นผลจากการที่เลือกวิธีการสุ่มแบบกระจายและวัดแบบไม่ซ้ำ

ต้นเดิมอีกในแต่ละครั้งจากจำนวนต้นทั้งหมด 10,000 ต้น เนื่องจากต้นกล้วยไม้ระยะไม้นี้มีขนาดแตกต่างกันมากตั้งแต่ 10-16 ซม.

การเจริญเติบโตแบบแยกขนาดเมื่อต้นกล้วยไม้ อายุ 10 เดือน พบว่า ต้นขนาดเล็กและขนาดกลางของต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส มีขนาดใหญ่กว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัสอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับต้นขนาดใหญ่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสและต้นที่ติดเชื้อไวรัส พบว่า การเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีความสูงเฉลี่ย 16 ซม. จำนวนใบ 4 ใบ (Table 6) สอดคล้องกับ พิสุทธิ (2553) ที่รายงานว่าการติดเชื้อ CymMV ทำให้การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ลดลง เนื่องจาก ไวรัสสามารถเพิ่มปริมาณได้ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเท่านั้น ไวรัสที่เข้าทำลายพืชอาศัยจะรบกวนกลไกการทำงานของพืชอาศัย เช่น การสังเคราะห์แสงและการเจริญเติบโต นอกจากนี้ สิริมา และคณะ (2562) พบว่า ต้นกล้วยไม้ปลอดเชื้อไวรัส CymMV มีความสูงลำ เส้นผ่านศูนย์กลางลำ และจำนวนใบมากกว่าต้นที่ติดเชื้อ CymMV ในขณะที่ต้นติดเชื้อไวรัสมีความเขียวของใบและความหนาใบมากกว่าต้นปลอดเชื้อไวรัส จากการศึกษาที่พบข้อแตกต่างที่ช่วงอายุของต้นกล้วยไม้ประมาณ 10 เดือน เมื่อดำเนินการตัดต้นที่โตเต็มที่จะออกดอกและหยุดการเจริญในด้านความสูงของลำ จึงไม่พบความแตกต่างทางสถิติของความสูงของทั้งต้นที่ปลอดเชื้อไวรัสและต้นที่ติดเชื้อไวรัส จากการสังเกต ต้นที่ปลอดเชื้อ

Table 5 Growth of Dendrobium Orchids Easakul ; (BOM) plantlets virus-free (NV) and CymMV-infected (V) after transplanting 3, 6 and 10 months

type of orchid	3 months				6 months				10 months			
	heights (cm)	leaf width (cm)	leaf length (cm)	No. of leaves	heights (cm)	leaf width (cm)	leaf length (cm)	No. of leaves	heights (cm)	leaf width (cm)	leaf length (cm)	No. of leaves
NV	2.64	1.75	6.70	3.03	6.17	2.59	9.28	3.27	14.13	3.63	13.61	4.03
V	1.89	1.45	4.31	3.06	6.13	2.32	9.56	3.31	13.91	3.38	12.19	4.20
Z- test	**	**	**	ns	ns	**	ns	ns	ns	**	**	**

* significant at 5% level, ** significant at 1 % level, ns = not significant

Table 6 Growth of Dendrobium Orchids Easakul (BOM) plantlets virus-free (NV) and CymMV-infected (V) after transplanting 10 months when measured separately at large, medium and small plant sizes

type of orchid	Small (S)				Medium (M)				Large (L)			
	heights (cm.)	leaf width (cm.)	leaf length (cm.)	No. of leaves	heights (cm.)	leaf width (cm.)	leaf length (cm.)	No. of leaves	heights (cm.)	leaf width (cm.)	leaf length (cm.)	No. of leaves
NV	12.01	3.51a	13.25a	3.81a	14.19	3.62a	13.51a	3.90b	16.17	3.76	14.07	4.40
V	11.73	3.15b	11.5b	3.98b	13.95	3.49b	12.2b	4.08a	16.61	3.64	13.6	4.51
Z- test	Ns	**	**	*	ns	*	**	**	ns	ns	ns	ns

* significant at 5% level, ** significant at 1 % level, ns = not significant

ไวรัสจะมีขนาดต้นที่ใหญ่ มีอัตราการออกดอกเร็ว และมากกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส ถึง 35 % โดยต้นที่ปลอดโรคไวรัสออกดอก 180 ต้นจาก 200 ต้น (90 %) และออกดอกเกือบทุกต้น ส่วนต้นที่ติดเชื้อไวรัส มีจำนวนต้นที่ออกดอกเพียง 110 ต้น จาก 200 ต้น (55 %) จะเห็นได้ว่าต้นที่ปลอดโรคไวรัสโตเร็วกว่าจึงมีการออกดอกเร็วกว่า

สรุปผลการทดลอง

การเปรียบเทียบการเจริญของ PLBs ของกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุล จากต้นที่ปลอดเชื้อไวรัส และที่ติดเชื้อไวรัส CymMV พบว่า การเจริญของ PLBs ที่มาจากเนื้อเยื่อของต้นกล้วยไม้ปลอดเชื้อไวรัสมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่า PLBs ที่มาจากต้นติดเชื้อไวรัสประมาณ 3 เท่า และยังสามารถให้ PLBs ผิดปกติจนไม่สามารถแตกแคลลัสได้ เมื่อนำ PLBs ให้เป็นยอด พบว่า PLBs ที่มาจากต้นกล้วยไม้ปลอดเชื้อไวรัสมีการพัฒนาเปลี่ยนไปเป็นต้น เกิดยอด และรากที่สมบูรณ์มากกว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส ประมาณ 3 เท่า และพัฒนาไปเป็นต้นที่มีขนาดใหญ่เร็วกว่า มีจำนวนต้นมากกว่า และสมบูรณ์กว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส ประมาณ 10 เท่า และเมื่อทำการปักชำต้นอ่อนกล้วยไม้ในอาหารแข็ง ให้มีขนาดใหญ่ก่อนนำออกปลูกที่ระยะเวลา 120 วัน ต้นอ่อนของกล้วยไม้ปลอดเชื้อไวรัสจะเจริญได้เร็วกว่าประมาณ 20 % ดังนั้น ควรมีการตรวจสอบและเลือกใช้ต้นพันธุ์ที่ปลอดเชื้อไวรัส มาทำพันธุ์จะทำให้ได้ต้นพันธุ์ที่สมบูรณ์ แข็งแรง มีการเจริญเติบโตที่ดี เป็นการเพิ่มปริมาณและคุณภาพต้นกล้วยไม้

คำขอขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบคุณบริษัทกล้วยไม้ไทย จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการเข้าดำเนินการทดลองที่สวนกล้วยไม้

ไทย และขอขอบคุณ คุณพุดนา รุ่งระวี และกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร ที่ช่วยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ รวมทั้งขอขอบคุณ รศ. ดร.พัชรียา บุญกอกแก้ว ที่ให้คำแนะนำในการเก็บข้อมูลเพื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติของโครงการ ให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- พิสุทธิ เอกอำนวยการ. 2553. *โรคและแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ*. พิมพ์ครั้งที่ 3. อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 591 หน้า.
- สุรกี กิริติยะอังกฤษ. 2554. *โรคของกล้วยไม้จากเชื้อไวรัส และการป้องกันกำจัด*. เอกสารวิชาการเผยแพร่ กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 12 หน้า.
- สุรกี กิริติยะอังกฤษ วันเพ็ญ ศรีทองชัย ยาวภา ต้นติวานิช และสิทธิศักดิ์ แสไพศาล. 2554. *การพัฒนาชุดตรวจสอบไวรัสอย่างง่ายและเทคนิคการผลิตกล้วยไม้ปลอดโรคไวรัส*. 56 หน้า.
- สิริมา สิริมา บำรุง ดวงพร บุญชัย อัจฉริยญาณ และ มงคล ชัยพฤษ. 2562. ผลของการติดเชื้อ CyMV ต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและ คุณภาพของกล้วยไม้สกุลหวาย โขเนีย พันธุ์เอียสกุลในสภาพโรงเรือนที่แตกต่างกัน. *ว.วิทยาศาสตร์เกษตร*. 50(3): 309-322.
- อภิญา วิริยะเกิดชัย. 2564. สิ้นค้ากล้วยไม้. สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม ส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. แหล่งที่มา : <https://ditp.go.th/content>. สืบค้น: 15 พฤศจิกายน 2564.
- ธีระ สุตะบุตร. 2532. *โรคไวรัสและโรคคล้ายไวรัสของพืชสำคัญในประเทศไทย*. คณะกรมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 310 หน้า.
- Brunt, A.A., K. Crabtree, M.J. Dallwitz, A.J. Gibbs and L. Watson. 1996. *Viruses of Plants: Descriptions and Lists from the VIDE Database*. CAB international, Wallingford. 1484 p.
- Chang, C., Y.C. Chen, Y.H. Hsu, J.T. Wu, C.C. Hu, W.C. Chang and N.S. Lin. 2005. Transgenic

- resistance to Cymbidium mosaic virus in Dendrobium expressing the viral capsid protein gene. *Transgenic. Res.* 14(1): 41–46.
- Hu, J.S. and S. Ferreira. 1994. Orchid viruses. Detection, transmission and management of Cymbidium mosaic and Odontoglossum ringspot viruses in Dendrobium in Hawaii. *Amer. Orch. Soc. Bull.* 63: 896–898.
- Jean, C.C., A.Z. Cesar and T.C. Jen. 2020. An Overview of Orchid Protocorm-Like Bodies: Mass Propagation, Biotechnology, Molecular Aspects, and Breeding. *Int. J. Mol. Sci.* 21(3): 985.
- Khentry, Y., A. Paradornuwat, S. Tantiwiwat, S. Phansiri and N. Thaveechai. 2006. Incidence of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus in *Dendrobium* spp. in Thailand. *Crop Prot.* 25(9): 926–932.
- Liu, F., Y. Han, W. Li, X. Shi, W. Xu and M. Lin. 2013. Incidence of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus affecting Oncidium orchids in Hainan Island, China. *Crop. Prot.* 54: 176–180.
- Moraes, L.A., K.S. Renate and M.A. Pavan. 2017. Incidence and characterization of viruses infecting orchids in Sao Paulo state, Brazil. *Trop. Plant Pathol.* 42: 126–131.
- Vacin, E.F. and F.W. Went. 1949. Some pH changes in nutrient solutions. *Botanical Gazette.* 110(4): 605-613.
- Wong, S.M., C.G. Chng, Y.H. Lee, K. Tan and F.W. Zetter. 1994. Incidence of Cymbidium mosaic and Odontoglossum ringspot viruses and their significance in orchid cultivation in Singapore. *Crop. Prot.* 13(3): 235–239.
- Zettler, F.W., N.J. Ko, G.C. Wisler, M.S. Elliott and S.M. Wong. 1990. Viruses of orchids and their control. *Plant Dis.* 74(9): 621- 626.