บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาอาการของโรคฮวงลองบิง HLB ในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และแพร่ พบว่ามีอาการคล้ายคลึงกัน โดยพบอาการเริ่มแรกที่ใบยอดหรือใบอ่อน ใบมีสีเหลืองซีด เส้นกลางใบและเส้นแขนงมีสีเขียว หรืออาจมีสีเขียวเฉพาะเส้นกลางใบ นอกจากนี้พบว่าใบที่แตกใหม่มีลักษณะหนากว่าปกติ ใบมีขนาดเล็ก เรียวยาว ปลายใบมีลักษณะตั้งขึ้น และอาจโค้งงอ อาจพบอาการดังกล่าวเพียงบางกิ่งหรือเป็นทั้งต้นขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค บางครั้งพบว่ามีอาการคล้ายกับอาการที่เกิดจากการขาดธาตุ และพบว่าผลจะมีขนาดเล็กและร่วงก่อนสุกได้ ถ้ามีอาการรุนแรงพบว่าจะมีอาการลุกลามทั่วต้น ทำให้ต้นโทรมและยืนต้นตายในที่สุด

การศึกษา ultrastructure ของใบส้มที่เป็นโรคและเชื้อสาเหตุโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน โดยตรวจดูภายในเซลล์ท่ออาหารเปรียบเทียบกับใบส้มปกติ พบเชื้อ fastidious bacteria มีลักษณะกลม รี พบภายในบริเวณเซลล์ท่ออาหารและบริเวณเซลล์ข้างเคียงของใบที่แสดงอาการของโรค แต่ไม่พบลักษณะของเชื้อแบคทีเรียในใบส้มปกติ

การเก็บรักษาตัวอย่างใบส้มที่เป็นโรคไว้ตรวจสอบและแยกสกัดดีเอ็นเอโดยเปรียบเทียบการเก็บรักษา 4 วิธี และทำการตรวจสอบโรคด้วยวิธี PCR ทุก ๆ เดือนหลังการเก็บรักษา พบว่าเมื่อเก็บตัวอย่างใบไว้ที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส หรือการเก็บโดยทำให้แห้งด้วย silica gel สามารถเก็บรักษาตัวอย่างได้นานกว่า 12 เดือน โดยที่ยังสามารถตรวจพบเชื้อสาเหตุโรค การเก็บตัวอย่างไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน แต่หลังจาก 3 เดือนแล้วไม่สามารถตรวจพบเชื้อสาเหตุได้ และการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าหลังจากวันที่ 20 ของการเก็บรักษาไม่สามารถตรวจหาเชื้อสาเหตุได้

การตรวจสอบโรคด้วยเทคนิค PCR โดยทำการตรวจสอบตัวอย่างจากสวนส้มในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และแพร่ ด้วยการใช้ primer OI1/OI2c และ primer A2/J5 พบแถบดีเอ็นเอจำเพาะขนาด 1160 bp และ 703 bp ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามี 31 ตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อสาเหตุของโรคและ 11 ตัวอย่างตรวจไม่พบเชื้อสาเหตุของโรค HLB

การพัฒนาวิธีการวินิจฉัยและตรวจสอบโรค โดยพัฒนาวิธีการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อสาเหตุโดย เปรียบเทียบวิธีการสกัดดีเอ็นเอจาก 5 วิธี พบว่าวิธีที่ 3 ที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Hung *et al.* (1999) เป็นวิธีที่สามารถสกัดดีเอ็นเอของเชื้อสาเหตุได้ มีความสะดวก รวดเร็ว และการทำปฏิกิริยา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

PCR ควรใช้คู่ primer A2/J5 ในการตรวจสอบได้แถบดีเอ็นเอชัดเจนมากกว่าคู่ primer OI1/OI2c

การยืนยันเชื้อสาเหตุที่พบโดยการจำแนกชนิดด้วยการใช้คู่ primer A2/J5 และจากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน ribosomal protein (*rpl*AJ) ของเชื้อสาเหตุและทำการแปลเป็นลำดับกรดอะมิโน และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับที่มีรายงานในฐานข้อมูล GenBank พบว่ามีความเหมือน 100% กับ *Candidatus* Liberobacter asiaticus ดังนั้นสามารถยืนยันได้ว่าเชื้อสาเหตุที่พบในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และแพร่ คือ เชื้อแบคทีเรีย *Candidatus* Liberobacter asiaticus

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved