

การเปรียบเทียบวิธีการผลิตท่อนพันธุ์มันสำปะหลังสะอาดและวิธีการสุ่มเก็บตัวอย่าง เพื่อการตรวจประเมินโรคใบด่างมันสำปะหลัง

Comparison of Cassava Cleaned Seeds Producing Methods and Sampling Methods for Assessment of Cassava Mosaic Disease

กิงกาญจน์ เสาร์คำ^{1,2} นวลนภา เหมเนียม³ จุฑาทิพย์ ถวิลอำพันธ์³ สุกัญญา ฤกษ์วรรณ³
ศิริกาญจน์ หาราชวัฒนกุล⁴ ปภาวี พลีพรหม⁴ สมฤทัย เจ้าวงศ์ดี^{1,2} พรศักดิ์ เอี่ยมนาคะ⁵
ศรียรรษา มลิจารย์³ และ วันวิสา สิริวรรณ^{3,*}

Kingkan Saokham^{1,2}, Nuannapa Hemniam³, Jutathip Thawinampan³, Sukanya Roekwan³
Sirikan Hunsawattanakul⁴, Paphawe Pleeptom⁴, Somruthai Chaowongdee^{1,2}, Pornsak Amnaka⁵
Srihunsu Malichan³ and Wanwisa Siriwan^{3,*}

¹ ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

² ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการ
การอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

³ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

⁴ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

⁵ สถาบันพัฒนามันสำปะหลัง ด้านขุนทด นครราชสีมา 30210

¹ Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

² Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900

³ Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

⁴ Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

⁵ Tapioca Development Institute, Dan Khun Thot, Nakhon Ratchasima 30210

รับเรื่อง: 29 ธันวาคม 2564 Received: 29 December 2021

ปรับปรุงแก้ไข: 20 เมษายน 2565 Revised: 20 April 2022

รับตีพิมพ์: 11 พฤษภาคม 2565 Accepted: 11 May 2022

* Corresponding author: wanwisa.si@ku.th

ABSTRACT: This research aimed to compare the methods for cleaned seed production in nearly infected area and sampling methods for assessment of cassava mosaic disease. The randomized complete block design (RCBD) was applied to comparison of cleaned seed production. There were 4 methods with 4 replications including method 1: non-survey and non-rouging infected plants during plantation, method 2: survey and rouging infected plants when cassava at 2, 4, 5, 6, 7, 8 and 9 months, method 3: survey and rouging infected cassava plants when cassava at 2, 4, 7 and 9 months, and method 4: survey and rouging infected cassava plants when cassava at 2, 4 and 9 months. The result showed that disease incidence of methods 1, 2, 3, and 4 were 11.98 ± 1.35 , 0.49 ± 0.06 , 1.15 ± 0.26 , and $1.68 \pm 0.27\%$ respectively, which were statistically significantly different ($P < 0.05$). The disease incidence of methods 2, 3 and 4 were less than 10% which were acceptable for cleaned seed production. Disease severity was moderate level in all methods. A comparison of sampling methods for disease assessment

consisted of 2 methods including X-shape sampling and Q sampling. Disease incidence of X-shape sampling for disease assessment in methods 1, 2, 3 and 4 were 12.50 ± 2.15 , 0.83 ± 0.96 , 2.50 ± 0.96 and $5.00 \pm 1.36\%$, respectively. Whereas disease incidence of Q sampling for disease assessment in methods 1, 2, 3 and 4 were 11.44 ± 1.13 , 1.50 ± 0.46 , 2.63 ± 0.52 and $3.00 \pm 0.54\%$, respectively. Disease incidence of both sampling methods were not significantly different ($P > 0.05$). Disease detection using PCR technique presented that X-shape sampling and Q sampling in method 1 were 15.00 and 25.00%, respectively while methods 2, 3 and 4 were detected less than 10%. This research indicated that the survey and rouging infected plants when cassava at 2, 4 and 9 months and disease assessment with X-shape sampling and Q sampling might be appropriate procedures for producing cassava cleaned seed.

Keywords: Cassava mosaic disease, cleaned seed, disease incidence, disease assessment

Agricultural Sci. J. (2022) Vol. 53(1): 61–76

ว. วิทยา. กษ. (2565) 53(1): 61–76

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบวิธีการผลิตท่อนพันธุ์สะอาดในพื้นที่ใกล้เคียงการระบาดและวิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อการตรวจประเมินโรคใบด่างมันสำปะหลัง การเปรียบเทียบวิธีการผลิตท่อนพันธุ์สะอาดใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ 4 วิธี วิธีละ 4 ซ้ำ ประกอบด้วย วิธีที่ 1 ไม่มีการสำรวจและไม่ถอนทำลายต้นที่เป็นโรคตลอดระยะเวลาเพาะปลูก วิธีที่ 2 สำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรคเมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 เดือน วิธีที่ 3 สำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรคเมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4, 7 และ 9 เดือน และวิธีที่ 4 สำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรคเมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4 และ 9 เดือน ผลการทดลองพบอัตราการเกิดโรคร้อยละ 11.98 ± 1.35 , 0.49 ± 0.06 , 1.15 ± 0.26 และ 1.68 ± 0.27 ในวิธีที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) วิธีที่ 2, 3 และ 4 มีอัตราการเกิดโรคต่ำกว่าร้อยละ 10 ซึ่งผ่านมาตรฐานการผลิตท่อนพันธุ์สะอาดระดับความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับกลางในทุกวิธีการเปรียบเทียบวิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อการประเมิน

โรคใบด่างมันสำปะหลังประกอบด้วย 2 วิธี คือ วิธี X-shape sampling และ Q sampling อัตราการเกิดโรคจากการประเมินด้วยวิธี X-shape sampling ในวิธี 1, 2, 3 และ 4 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 12.50 ± 2.15 , 0.83 ± 0.96 , 2.50 ± 0.96 และ 5.00 ± 1.36 ตามลำดับ ขณะที่ อัตราการเกิดโรคจากการประเมินด้วยวิธี Q sampling ในวิธี 1, 2, 3 และ 4 มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 11.44 ± 1.13 , 1.50 ± 0.46 , 2.63 ± 0.52 และ 3.00 ± 0.54 ตามลำดับ อัตราการเกิดโรคของทั้ง 2 วิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) การตรวจหาเชื้อโรคด้วยเทคนิค PCR พบว่า การประเมินโรคแบบ X-shape sampling และ Q sampling ในวิธีที่ 1 ตรวจพบเชื้อโรคร้อยละ 15.00 และ 25.00 ตามลำดับ ขณะที่ วิธีที่ 2, 3 และ 4 ตรวจพบเชื้อโรคต่ำกว่าร้อยละ 10.00 ผลวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่า การสำรวจและถอนต้นที่เป็นโรคเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4 และ 9 เดือน และวิธีการประเมินโรควิธี X-shape sampling และ Q sampling อาจเป็นวิธีที่เหมาะสมต่อการผลิตท่อนพันธุ์มันสำปะหลังสะอาด

คำสำคัญ: โรคใบด่างในสำปะหลัง, ท่อนพันธุ์สะอาด, อัตราการเกิดโรค, การประเมินโรค

บทนำ

โรคใบด่างมันสำปะหลัง (Cassava mosaic disease; CMD) พบการระบาดครั้งแรกในประเทศไทยในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2561 แถบจังหวัดที่มีชายแดนติดต่อกับราชอาณาจักรกัมพูชา และแหล่งปลูกมันสำปะหลังสำคัญของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดบุรีรัมย์ ศรีสะเกษ สระแก้ว สุรินทร์ อุบลราชธานี นครราชสีมา และปราจีนบุรี (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2019) รายงานของกองส่งเสริมการอารักขาพืชและจัดการดินปุ๋ย กรมส่งเสริมการเกษตร พบว่า พื้นที่ระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังในปี พ.ศ. 2563–2564 เพิ่มขึ้นจาก 356,000 ไร่ เป็น 661,000 ไร่ จะเห็นได้ว่าพื้นที่การระบาดเพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัวในระยะเวลาเพียงหนึ่งปี โดยพื้นที่การระบาดครอบคลุมมากกว่า 20 จังหวัดที่เป็นแหล่งสำคัญของการปลูกมันสำปะหลังเพื่อซื้อขายท้องถิ่นทั้งในและนอกประเทศ (Department of Agriculture Extension, 2021) โดยเฉพาะอย่างยิ่งจังหวัดนครราชสีมาซึ่งเป็นพื้นที่ระบาดสูงสุด 250,000 ไร่ จังหวัดนครราชสีมาที่มีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังทั้งหมด 1.6 ล้านไร่ และเป็นแหล่งผลิตท้องถิ่นมันสำปะหลังที่สำคัญของประเทศไทย (Office of Agricultural Economics, 2021) นอกจากนี้ ศูนย์ข้อมูลเกษตรแห่งชาติ (ศกช.) ได้ประเมินความเสียหายหากเกิดการระบาดของโรครุนแรง จะส่งผลให้ผลผลิตลดลงประมาณร้อยละ 80–100 และได้วิเคราะห์ผลกระทบทางเศรษฐกิจโดยประมาณการมูลค่าความเสียหายจากจังหวัดที่มีโรคระบาดจำนวน 25 จังหวัด พบว่า ปริมาณผลผลิตมันสำปะหลังที่เสียหายร้อยละ 80 หรือประมาณ 1,131,986 ตัน มีมูลค่าความเสียหาย 2,139 ล้านบาท (Ministry of Commerce, 2021)

โรคใบด่างมันสำปะหลัง หรือ cassava mosaic disease (CMD) มีสาเหตุจากเชื้อไวรัส *Cassava mosaic virus* เป็นสมาชิกของสกุล

Begomovirus วงศ์ Geminiviridae (Brown *et al.*, 2015) *African cassava mosaic virus* (ACMV) เป็นสายพันธุ์ที่พบครั้งแรกในทวีปแอฟริกา (Warburg, 1894) ปัจจุบันเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคใบด่างมันสำปะหลังมี 11 สายพันธุ์ ที่พบการระบาดในแถบทวีปแอฟริกาและเอเชีย สายพันธุ์ *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) พบระบาดในประเทศไทย ราชอาณาจักรกัมพูชา สาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนาม และสาธารณรัฐประชาชนจีน (Wang *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2020; Siriwan *et al.*, 2020) ลักษณะอนุภาคไวรัส SLCMV เป็นแบบทรงกลมคู่ (Geminat particle) มีขนาดอนุภาคประมาณ 18 x 30 นาโนเมตร สารพันธุกรรมเป็นแบบดีเอ็นเอสายเดี่ยววงปิด (Single stranded DNA; ssDNA) จีโนมเป็นแบบ bipartite ประกอบด้วย DNA-A และ DNA-B แต่ละจีโนมมีลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาดประมาณ 2,700 เบส (Briddon *et al.*, 2010)

โรคใบด่างมันสำปะหลังสามารถถ่ายทอดผ่านทางแมลงห้ำขาวยาสูบ (Whitefly; *Bemisia tabaci* (Gennadius) Hemiptera: Aleyrodidae) และท่อนพันธุ์ที่เป็นโรค (Dubern, 1994; Tokunaga *et al.*, 2018) จากรายงานพบว่า แมลงห้ำขาวสามารถเคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแรงลมในอัตรา 100 กิโลเมตรต่อปี หรือ 0.2 เมตรต่อวินาที ในพื้นที่โล่งหรือทะเลทราย (Legg, 2010) การแพร่กระจายของโรคสามารถเป็นไปได้อย่างรวดเร็วและเป็นบริเวณกว้าง ด้วยเหตุนี้โรคใบด่างมันสำปะหลังถูกจัดว่าติดอันดับ 1 ใน 10 ของโรคพืชที่อันตรายที่สุด (Rybicki, 2015) ลักษณะอาการทั่วไปของโรค คือ ใบด่าง ใบเสียรูปทรง ลดรูป ใบยอดที่แตกใหม่จะมีอาการด่าง และลำต้นแคระแกร็น ในกรณีที่เกิดเชื้อจากการใช้ท่อนพันธุ์ที่เป็นโรคปลูกจะส่งผลให้มีการเจริญเติบโตช้าและมีการสะสมของหัวมันสำปะหลังลดลง (Legg *et al.*, 2006) วิธีการควบคุมโรคใบด่างมันสำปะหลังที่มีประสิทธิภาพสูงคือการใช้พันธุ์ต้านทาน (Disease resistance cultivars) (Thresh

and Cooter, 2005) แต่อย่างไรก็ดี การพัฒนาพันธุ์ด้านทานที่ต้านทานโรคและให้ผลผลิตสูงตามความต้องการของเกษตรกรจำเป็นต้องใช้ระยะเวลาในการพัฒนา

ปัญหาการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัวของทุกฤดูกาลเพาะปลูกเกิดจากการขาดแคลนท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่สะอาดไปใช้ปลูกทดแทนในพื้นที่ระบาด การใช้ท่อนพันธุ์สะอาดเป็นวิธีการจัดการโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส โดยเฉพาะโรคใบด่างมันสำปะหลัง จากรายงานพบว่าประเทศที่มีการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังที่มีโครงการการใช้ท่อนพันธุ์สะอาดและลดอัตราการเกิดโรคลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้แก่ ประเทศแทนซาเนีย (Storey, 1936; Childs, 1957) ยูกันดา (Jameson, 1964; Otim-Nape *et al.*, 1998; 2000) เคนยา และไอวอรีโคสต์ (Fauquet *et al.*, 1988) เป็นต้น หลักการและขั้นตอนที่ทำการทดลองในการผลิตท่อนพันธุ์สะอาด รวมทั้งการประเมินโรคในทุกพื้นที่นั้นได้อ้างอิงวิธีการปฏิบัติจากหลักการควบคุมโรคพืช คือ 1) การหลีกเลี่ยงเชื้อโรค (Avoidance of the pathogen) โดยการเลือกแปลงปลูกที่ห่างจากพื้นที่ระบาด และเลือกใช้ส่วนขยายพันธุ์ที่ปราศจากโรค 2) การกีดกันเชื้อโรค (Exclusion of the pathogen) กำจัดเชื้อที่ติดมากับส่วนขยายพันธุ์ และการใช้กฎหมายข้อบังคับเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเคลื่อนย้ายเชื้อโรค 3) การกำจัดเชื้อโรค (Eradication of pathogen) เป็นการทำลายเชื้อโรคที่มีอยู่ในแปลงให้หมดสิ้นไปหรือเหลือน้อยที่สุด และ 4) การป้องกันพืช (Protection of the plant) ป้องกันไม่ให้เชื้อที่ระบาดแพร่กระจายในบริเวณที่ปลูกพืชหรือใกล้เคียง (Juangbhanich, 1982; Agrios, 2005; Thresh and Cooter, 2005; Attathom, 2009)

วิธีการประเมินโรคแบบ Q sampling ถูกส่งเสริมแก่เกษตรกรและผู้ตรวจประเมินแปลงในประเทศแถบแอฟริกาโดย International Institute of Tropical Agriculture (IITA) ให้นำมาใช้ร่วมกับ

แอปพลิเคชันสำหรับลงทะเบียนท่อนพันธุ์ปลอดโรคเพื่อให้เกษตรกรสามารถเลือกซื้อท่อนพันธุ์สะอาดได้ด้วยตนเองผ่านแอปพลิเคชัน (International Institute of Tropical Agriculture, 2016) อย่างไรก็ตามขั้นตอนการผลิตและประเมินโรคที่จะนำไปใช้ในการผลิตท่อนพันธุ์สะอาดในประเทศไทยยังไม่ได้มีการศึกษาจากพื้นที่จริงอย่างแพร่หลาย ส่งผลให้ขาดข้อมูลที่จะนำไปส่งเสริมและเผยแพร่แก่เกษตรกรให้มีความเข้าใจและปฏิบัติได้อย่างถูกต้อง ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีการผลิตและวิธีการประเมินโรคใบด่างมันสำปะหลังในแปลงผลิตท่อนพันธุ์สะอาด โดยมีสมมติฐานของการทดลอง คือ ความถี่ของการสำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรคอาจมีผลต่ออัตราการเกิดโรค และการเลือกใช้การสุ่มตัวอย่างเพื่อการตรวจประเมินโรคน่าจะมีผลต่อการผลิตท่อนพันธุ์สะอาด

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมท่อนพันธุ์สะอาด

คัดเลือกต้นพันธุ์จากแปลงปลูกมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50) ของสถาบันพัฒนามันสำปะหลัง อำเภอสี่คิ้ว จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ไม่มีรายงานการระบาดของโรคและห่างจากพื้นที่ระบาดอย่างน้อย 10 กิโลเมตร จากนั้น ตรวจสอบโรคด้วยการสำรวจแปลงมันสำปะหลังที่อายุ 9 เดือน วิธีการสำรวจคือเดินสำรวจทุกต้น สังเกตอาการเบื้องต้นของโรคจากใบยอด ถ้าต้นที่เป็นโรคจะแสดงอาการดัง Figure 1 จากนั้น เก็บเกี่ยวเมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 10 เดือน และนำท่อนพันธุ์มาใช้ในการทดลอง โดยมีขั้นตอนการผลิตท่อนพันธุ์สะอาด ดังนี้ เตรียมท่อนพันธุ์ให้มีความยาว 20–25 เซนติเมตร มีตาประมาณ 4–5 ตา ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3–4 เซนติเมตร แช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารไทโอะมีโทแซม 25% WG (Thiamethoxam) อัตรา 4 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เป็นเวลา 10 นาที เพื่อกำจัดเพลี้ยหอยและเพลี้ยแป้งสีชมพู

การเตรียมแปลงปลูก

ช่วงเวลาที่ทำการปลูกเป็นฤดูกาลต้นฝน ช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2563 คัดเลือกแปลงปลูกที่สถาบันพัฒนามันสำปะหลัง อำเภอสีกี้ จังหวัดนครราชสีมา โดยห่างจากแปลงที่พบโรคใบด่างมันสำปะหลังอย่างน้อย 500 เมตร และพื้นที่ดังกล่าวไม่มีรายงานการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังมาก่อน จัดเตรียมแปลงขนาด 2.5 ไร่ (ขนาดแปลง 50 x 80 เมตร) จำนวน 16 แปลง เพื่อใช้ในการทดลองวิธีละ 2.5 ไร่ แต่ละแปลงห่างกันประมาณ 1 เมตร จากนั้นเตรียมดินสำหรับปลูกโดยไถดะ 1 ครั้ง และไถพรวน 1-2 ครั้ง ยกร่องปลูกระยะห่างระหว่างสันร่อง 1 เมตร ระยะห่างระหว่างต้น 1 เมตร ปักเฉียง 45 องศา กับพื้นดินลึกประมาณ 10-15 เซนติเมตร โดยปลูกท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง 1,600 ต้นต่อไร่

การให้น้ำ การกำจัดวัชพืช และการใส่ปุ๋ย

ให้น้ำโดยอาศัยน้ำฝน กำจัดวัชพืช ครั้งที่ 1 ประมาณ 45 วันหลังปลูก โดยใช้จอบถากหญ้าพร้อมขุดหลุมใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ที่อัตรา 25-50 กิโลกรัมต่อไร่ และกลบห่างจากต้นมันสำปะหลังประมาณ 20 เซนติเมตร กำจัดวัชพืช ครั้งที่ 2 ประมาณ 90 วันหลังปลูก โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับครั้งที่ 1 และกำจัดวัชพืชครั้งที่ 3 ตามความจำเป็นโดยใช้จอบถาก

วิธีการทดลองเพื่อผลิตท่อนพันธุ์สะอาด

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized complete block design; RCBD) โดยวิธีที่ใช้ในการศึกษาแบ่งออกเป็น 4 วิธี วิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้

วิธีที่ 1 ไม่มีการสำรวจและไม่ถอนทำลายต้นที่เป็นโรคตลอดการเพาะปลูก (ชุดควบคุม)

วิธีที่ 2 สำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรคเมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 เดือน

วิธีที่ 3 สำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรคเมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4 และ 7 และ 9 เดือน

วิธีที่ 4 สำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรคเมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4 และ 9 เดือน

วิธีการสำรวจคือเดินสำรวจมันสำปะหลังทุกต้นและถอนทำลายต้นที่เป็นโรค โดยสังเกตจากลักษณะอาการที่ใบยอด ต้นที่เป็นโรคจะมีลักษณะอาการใบยอดด่างและใบบิดม้วนงอ (Figure 1) จัดบันทึกจำนวนต้นที่เป็นโรคเพื่อใช้ในการคำนวณอัตราการเกิดโรค (Disease incidence) (Waller *et al.*, 2002)

$$\text{อัตราการเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนพืชที่เป็นโรค}}{\text{จำนวนพืชทั้งหมด}} \times 100$$

ขั้นตอนการประเมินโรคและการสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจเชื้อไวรัส SLCMV

การประเมินโรคและสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจเชื้อไวรัส SLCMV เมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 9 เดือน ซึ่งจะมีการเก็บเกี่ยวผลผลิตและท่อนพันธุ์เมื่อมันสำปะหลังมีอายุ 10 เดือน โดยในแต่ละวิธีทำการเปรียบเทียบวิธีการประเมินโรคและสุ่มเก็บตัวอย่าง 2 แบบ ดังนี้

วิธีการที่ 1 เดินสำรวจโรคในแปลงของแต่ละวิธีด้วยการเดินจากมุมแปลงเป็นเส้นทแยงมุม 2 เส้น โดยเรียกวิธีการนี้ว่า X-shape sampling (Siriwan *et al.*, 2020) และประเมินโรคพร้อมกับเก็บตัวอย่างใบของต้นมันสำปะหลัง โดยประเมินโรคและเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 ต้น ดังแสดงใน Figure 2 โดยสัญลักษณ์จุดสีดำ คือ ต้นที่ประเมินโรคและเก็บตัวอย่าง สุ่มเก็บตัวอย่างรวมทั้งหมด 60 ต้นต่อแปลง โดยเก็บตัวอย่างจากใบลำดับที่ 3 นับจากใบยอดลงมาต่อ 1 ต้น เพื่อส่งตรวจเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR)



Figure 1 The symptoms of cassava mosaic disease: leave mostly present mosaic and leave curl on the top part of plant

วิธีการที่ 2 เดินสำรวจโรคในแปลงของแต่ละวิธีด้วยการสุ่มเลือกพื้นที่ทางด้านหัว ท้าย และกลางของแปลง โดยแบ่งเป็นบล็อกที่มีขนาด 10×4 เมตร จำนวน 5 บล็อก ดังแสดงใน Figure 3 โดยเรียกวิธีการนี้ว่า Q sampling ดัดแปลงวิธีการประเมินโรคจาก International Institute of Tropical Agriculture (2016) ซึ่งประกอบด้วย Q1, Q2, Q3, Q4 และ Q5 โดยแต่ละ Q มีตัวอย่างของต้นมันสำปะหลังที่ต้องประเมินโรคพร้อมกับเก็บตัวอย่างใบจำนวน 40 ต้น สุ่มเก็บตัวอย่างรวมทั้งหมด 200 ต้นต่อแปลง โดยเก็บตัวอย่างจากใบลำดับที่ 3 นับจากใบยอดลงมาต่อ 1 ต้น เพื่อส่งตรวจเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค PCR

ประเมินโรค โดยพิจารณาอัตราการเกิดโรคที่คำนวณจากสัดส่วนจำนวนต้นที่เป็นโรค ลักษณะอาการระดับความรุนแรงของโรค (Disease severity) และสาเหตุของการเป็นโรค (ท่อนพันธุ์หรือแมลงหริ่งขาว) ซึ่งการประเมินระดับความรุนแรงของโรคอ้างอิงจาก Terry (1976) โดยจัดกลุ่มระดับความรุนแรงเป็น 5 ระดับ คือ ระดับ 1 ไม่แสดงอาการของโรค (Highly resistant) ระดับ 2 แสดงอาการเล็กน้อยบนแผ่นใบ (Moderately resistant) ระดับ 3 แสดงอาการต่างเต็มบนแผ่นใบ และใบเริ่มม้วนลู่รูป (Tolerant) ระดับ 4 แสดงอาการต่างทั่วทั้งใบ ใบปิดม้วนงอ และเริ่มลู่รูป (Susceptible) และระดับ 5 แสดงอาการใบปิดม้วนงอ และใบลู่รูปอย่างรุนแรง (Highly susceptible)

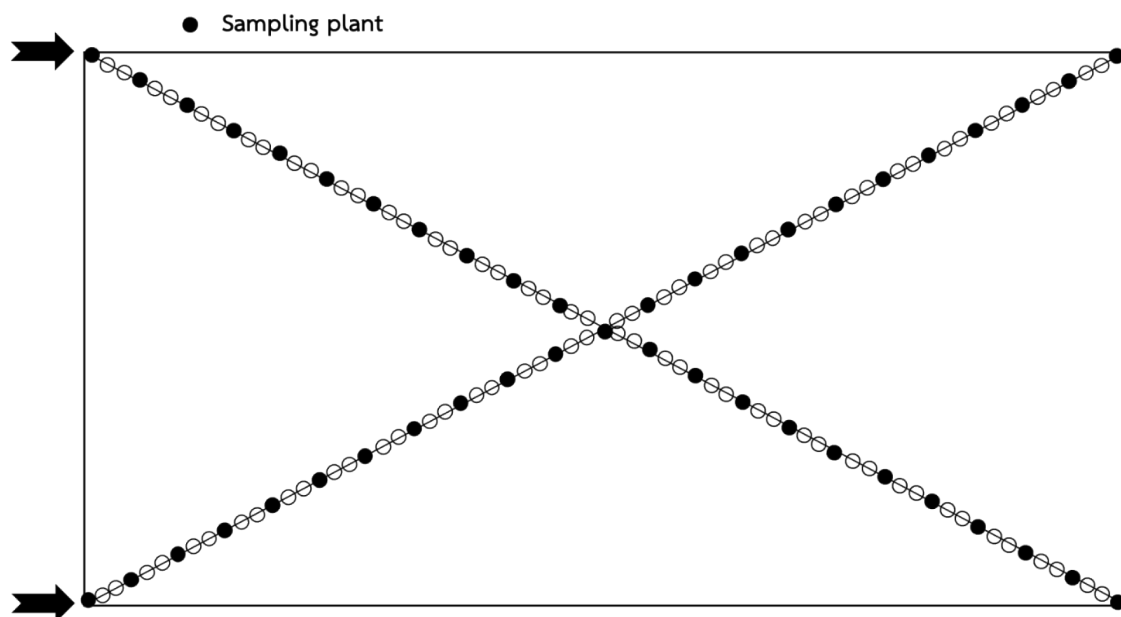


Figure 2 The X-shape sampling method for cassava mosaic disease evaluation in the disease-free stakes field

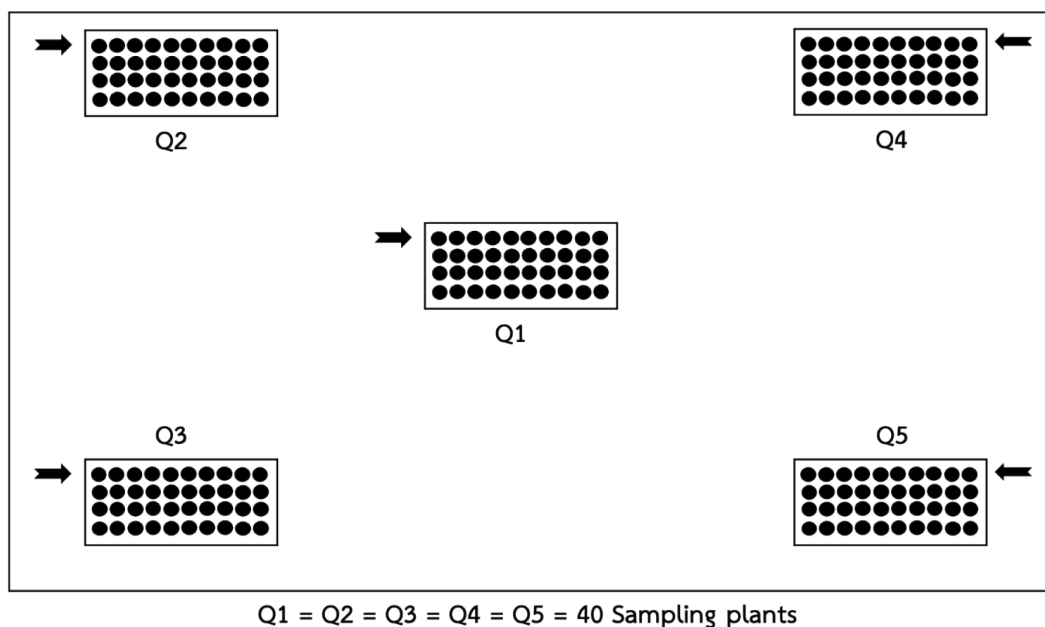


Figure 3 The Q sampling method for cassava mosaic disease evaluation in the disease-free stakes field

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยสำหรับอัตราการเกิดโรคที่ได้จากการประเมินโรคเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 9 เดือน และระดับความรุนแรงของการเกิดโรคด้วยวิธี Bonferroni correction ($P < 0.05$)

การตรวจสอบเชื้อโรคด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR)

ตัวอย่างใบมันสำปะหลังทั้งหมดที่ได้จากการสุ่มเก็บตัวอย่างวิธี X-shape sampling และวิธี Q sampling จากการทดลองทั้ง 4 วิธี ถูกนำมาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Doyle and Doyle (1987) เพื่อใช้สำหรับตรวจสอบเชื้อไวรัส SLCMV ด้วยเทคนิค PCR จากนั้น นำดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน AV1 ของเชื้อไวรัส SLCMV ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ดังนี้ SLCMV-CP-For 5'GTT GAA GGT ACT TAT TCC C'3 และ SLCMV-CP-Re 5'TAT TAA TAC GGT TGT AAA'3 (Saokham *et al.*, 2021) ปฏิกริยา PCR ปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 2XPCR buffer (PCR Biosystems, UK) 10 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ forward และ reverse (10 พิโกโมลต่อไมโครลิตร) อย่างละ 1 ไมโครลิตร ดีเอ็นเอต้นแบบ (10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร) 1 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อให้มีปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยใช้เครื่อง DNA Thermo Cycler (Bio Rad, USA) โดยปฏิกริยาการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ดังนี้ initial denaturation ที่อุณหภูมิ 96 องศาเซลเซียส 2 นาที เริ่มปฏิกริยาเพิ่มสารพันธุกรรมจำนวน 35 รอบ แต่ละรอบประกอบด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 96 องศาเซลเซียส 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 1 นาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 2 นาที ตามด้วย final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 10 นาที ตรวจสอบขนาด

ของแถบดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส (Gel electrophoresis) โดยใช้ agarose gel ความเข้มข้นร้อยละ 1.2 ที่มีส่วนผสมของ RedSafe (iNtRON Biotechnology, Sangdaewon, South Korea) ใน 0.5X TAE buffer (0.04 M Tris-acetate, 0.001 M EDTA, pH 8.0) และบันทึกภาพเจลภายใต้เครื่อง Gel Doc imaging system (Syngene, Frederick, MD, USA) โดยเปรียบเทียบผลการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของตัวอย่างกับแถบดีเอ็นเอที่แสดงผล positive และ negative

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคใบด่างมันสำปะหลัง

ผลจากการสำรวจการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 9 เดือน พบว่า การเกิดโรคใบด่างมันสำปะหลังในแต่ละวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) โดยวิธีที่ 1 พบการเกิดโรคสูงที่สุดเฉลี่ยร้อยละ 11.98 ± 1.35 และวิธีที่ 2 มีอัตราการเกิดโรคต่ำที่สุดเฉลี่ยร้อยละ 0.49 ± 0.06 ขณะที่ วิธีที่ 3 และ 4 มีอัตราการเกิดโรคร้อยละ 1.15 ± 0.26 และ 1.68 ± 0.27 ตามลำดับ ความรุนแรงของโรคในแต่ละวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) วิธีที่ 1, 2, 3 และ 4 มีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 3.18 ± 0.47 , 2.63 ± 0.47 , 3.25 ± 0.28 และ 3.25 ± 0.28 ตามลำดับ (Table 1) โดยอาการของต้นที่เป็นโรคทั้งหมดที่พบจากการสำรวจแสดงอาการใบด่างและบิดม้วนเสียรูปบริเวณส่วนยอดเท่านั้น (Figure 1) ซึ่งลักษณะอาการดังกล่าวมีสาเหตุมาจากการถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยมีแมลงหริ่งเป็นแมลงพาหะ ซึ่ง Sseruwagi *et al.* (2004) ได้จำแนกสาเหตุการเกิดโรคใบด่างมันสำปะหลังจากลักษณะอาการที่แสดงออกของต้นมันสำปะหลัง กล่าวคือลักษณะอาการใบด่าง บิดม้วนงอทั่วทั้งต้นมีสาเหตุจากการใช้ท่อนพันธุ์ที่เป็นโรคปลูก และลักษณะ

อาการใบต่าง บิดม้วนงอ เฉพาะที่ส่วนยอด มีสาเหตุมาจากแมลงหีวขาวเป็นแมลงพาหะนำเชื้อไวรัส วิธีการจำแนกสาเหตุการเกิดโรคใบต่างมันสำปะหลังจากการสังเกตอาการเป็นวิธีที่แพร่หลายและเป็นที่ยอมรับ ตัวอย่างเช่น การสำรวจโรคใบต่างมันสำปะหลังในประเทศคองโก (Ntawuruhunga *et al.*, 2010) ประเทศแซมเบีย (Mulenga *et al.*, 2016) ประเทศกานา (Torkpo *et al.*, 2018) ประเทศไนจีเรีย (Eni *et al.*, 2021) และประเทศไทย (Saokham *et al.*, 2021) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ลักษณะการแสดงออกของอาการที่พบบริเวณส่วนยอดสามารถเป็นข้อสังเกตแก่เกษตรกรได้ว่าท่อนพันธุ์ที่นำมาใช้ปลูกเป็นท่อนพันธุ์ที่ไม่เป็นโรค แต่มีการเกิดโรคจากการถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยแมลงหีวขาวภายหลังจากการปลูกในแปลง

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวิธีที่ 1 ซึ่งเป็นชุดการทดลองควบคุมที่ไม่มีการสำรวจและไม่ถอนทำลายต้นที่เป็นโรคในแต่ละเดือนที่สำรวจ การเกิดโรคเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 10 ซึ่งไม่สามารถนำท่อนพันธุ์ไปใช้เพาะปลูกในฤดูกาลต่อไปได้ ขณะที่ วิธีที่ 2 ที่มีการสำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรคเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 เดือน มีอัตราการเกิดโรคเฉลี่ยร้อยละ 0.49 แต่ในทางปฏิบัติวิธีนี้จะไม่เอื้ออำนวยแก่เกษตรกร เนื่องจากเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิตจากการจ้างแรงงานเพื่อสำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรค และนำออกจากแปลง และเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 6 เดือนขึ้นไป การสำรวจทำได้ยากเนื่องจากต้นมันสำปะหลังสูงและสัณฐานวิทยาของมันสำปะหลังบางพันธุ์ไม่เอื้ออำนวยในการเดินสำรวจ เช่น มีลำต้นที่แตกกิ่งและลำต้นไม่ตั้งตรง โดยเฉพาะพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (Department of Agriculture

Extension, 2016) ที่ใช้ในการทดลองนี้ สำหรับวิธีที่ 3 มีการสำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรคเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4, 7 และ 9 เดือน และวิธีที่ 4 มีการสำรวจและถอนทำลายต้นที่เป็นโรคเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4 และ 9 เดือน การเกิดโรคของทั้ง 2 วิธีนี้ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีการเกิดโรคเฉลี่ยร้อยละ 1.15 และ 1.16 ตามลำดับ วิธีที่ 4 จึงเป็นวิธีการปฏิบัติที่เกษตรกรสามารถนำไปใช้ผลิตท่อนพันธุ์สะอาดได้ ตามข้อกำหนดของการผลิตท่อนพันธุ์ปลอดโรคที่ยอมรับกันนั้นอัตราการเกิดโรคต้องต่ำกว่าร้อยละ 10 ซึ่งกำหนดไว้ในคู่มือการผลิตท่อนพันธุ์ปลอดโรคในระดับเกษตรกรของ International Institute of Tropical Agriculture (2016)

ความรุนแรงของโรคใบต่างมันสำปะหลังพบระดับปานกลาง (Moderate symptoms) (Terry, 1976) ในทั้ง 4 วิธี และรูปแบบการถ่ายทอดเชื้อไวรัส SLCMV เป็นแบบการถ่ายทอดโดยมีแมลงหีวขาวยาสูบเป็นแมลงพาหะ โดยพบอาการเฉพาะที่ใบยอด (Sseruwagi *et al.*, 2004) นอกจากนี้ Saokham *et al.* (2021) ได้สำรวจการระบาดของโรคใบต่างมันสำปะหลังในประเทศไทยเมื่อเดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2562 พบว่า ระดับความรุนแรงของโรคใบต่างมันสำปะหลังที่ระบาดในประเทศไทยมีความรุนแรงเฉลี่ยในระดับปานกลาง (2–3) และมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 1.21 จัดเป็นความรุนแรงของโรคต่ำ ซึ่งมีผลสอดคล้องกับการทดสอบความต้านทานของโรคใบต่างมันสำปะหลังด้วยวิธีการทาบกิ่งที่พบว่ามันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 มีอัตราการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคต่ำ (Hemnam *et al.*, 2019)



Table 1 Comparison of cassava mosaic disease assessment of four methods for cassava cleaned seed production

Method	Detail	Number of infected plants in each month								Disease incidence (%)	Disease severity	Type of infection
		2	4	5	6	7	8	9				
1	Non-survey and non-rouging infected plants during plantation (Control)	-	-	-	-	-	-	1,916		11.98 ± 1.35 ^a	3.18 ± 0.47	Whitefly
2	Survey and rouging infected plants when cassava at 2, 4, 5, 6, 7, 8 and 9 months	93	138	75	42	38	63	78		0.49 ± 0.06 ^c	2.63 ± 0.47	Whitefly
3	Survey and rouging infected plants when cassava at 2, 4, 7 and 9 months	105	158	-	-	121	-	184		1.15 ± 0.26 ^{bc}	3.25 ± 0.28	Whitefly
4	Survey and rouging infected plants when cassava at 2, 4 and 9 months	127	109	-	-	-	-	268		1.68 ± 0.27 ^b	3.25 ± 0.28	Whitefly
P-value										<0.001	0.12	

^{a, b, c} Mean values within column followed by the same letter are not significantly different according to the Bonferroni correction at P < 0.05. (-) Non-survey

วิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างโรคใบด่างมันสำปะหลังเพื่อการตรวจประเมินโรคและการตรวจเชื้อไวรัส SLCMV ด้วยเทคนิค PCR

วิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างโรคใบด่างมันสำปะหลังเพื่อการตรวจประเมินโรค

การประเมินโรคใบด่างมันสำปะหลังสำหรับการผลิตท่อนพันธุ์สะอาดในการทดลองครั้งนี้ เลือกใช้รูปแบบการสุ่มเก็บตัวอย่างแบบ X-shape sampling และ Q sampling (Figures 1–2) โดยรูปแบบการสุ่มแบบ X-shape sampling ได้ประยุกต์มาจากงานทดลองการสำรวจโรคใบด่างมันสำปะหลังของ Siriwan *et al.* (2020) และแบบ Q sampling ดัดแปลงจากคู่มือการผลิตท่อนพันธุ์มันสำปะหลังปลอดโรคของ International Institute of Tropical Agriculture (2016) ที่มีการใช้อย่างแพร่หลายสำหรับรับรองท่อนพันธุ์ปลอดโรคในประเทศแถบแอฟริกาแต่ยังไม่ใช้ในประเทศไทย จากผลการทดลองพบว่า การสุ่มเก็บตัวอย่างแบบ X-shape sampling ในวิธีที่ 1, 2, 3 และ 4 มีอัตราการเกิดโรคเฉลี่ยร้อยละ 12.50 ± 2.15 , 0.83 ± 0.96 , 2.50 ± 0.96 และ 5.00 ± 1.36 ตามลำดับ ขณะที่ การสุ่มเก็บตัวอย่างแบบ Q sampling มีอัตราการเกิดโรคเฉลี่ยร้อยละ 11.44 ± 1.13 , 1.50 ± 0.46 , 2.63 ± 0.52 และ 3.00 ± 0.54 ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งการประเมินทั้งสองแบบในแต่ละวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีค่า $P < 0.001$ จากผลการทดลองพบว่า อัตราการเกิดโรคในวิธีที่ 1 ของวิธีประเมินโรคแบบ X-shape sampling และ Q sampling มีค่าสูงกว่าร้อยละ 10 ซึ่งไม่สามารถยอมรับให้ใช้เป็นท่อนพันธุ์สะอาดที่ใช้ปลูกในฤดูกาลต่อไปได้ (International Institute of Tropical Agriculture, 2016) และเมื่อทดสอบทางสถิติระหว่างวิธีการประเมินโรคแบบ X-shape sampling และ Q sampling พบว่า อัตราการเกิดโรคในทุกวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยมีค่า $P > 0.05$ ซึ่งเกษตรกรและผู้ตรวจประเมินแปลงสามารถเลือกใช้วิธีการประเมินแปลงได้ตามความเหมาะสมของพื้นที่

เมื่อพิจารณาขั้นตอนการสุ่มประเมินโรคแบบ Q sampling เป็นการสุ่มจากบริเวณแต่ละมุมของหัวแปลงและท้ายแปลง ซึ่งเป็นการสุ่มตัวอย่างที่พิจารณาลักษณะชีววิทยาของแมลงห้ำขาวในการเข้าทำลายพืชแมลงห้ำขาวเริ่มดูดกินน้ำเลี้ยงของพืชจากบริเวณขอบแปลงและเริ่มขยายเข้าสู่ด้านในของแปลง (Legg, 1994) จากการทดลองพบว่า ต้นที่เกิดโรคพบในบล็อก Q3 ในวิธีที่ 3 และ Q4 ในทุกวิธี ต้นที่พบการเกิดโรคอยู่ในบริเวณหัวมุมแปลงของบล็อก Q3 ในวิธีที่ 3 และ Q4 (Figure 2) ในขณะที่การสุ่มประเมินตัวอย่างแบบ X-shape sampling ถูกออกแบบอ้างอิงจากการสุ่มแบบประชากรแบบ finite population sampling โดยวิธีการนี้ทำการสุ่มเมื่อตัวอย่างประชากรมากกว่า 10,000 ต้นต่อเฮกตาร์ (6.25 ไร่) ซึ่งมีความน่าจะเป็นของการพบประชากรที่เป็นโรคร้อยละ 95 และสามารถพบอัตราการเกิดโรคอย่างน้อยร้อยละ 10 (Hartley and Sielken, 1975) นอกจากนี้ ยังพบว่าวิธีการประเมินแบบ Q sampling มีขั้นตอนในการสุ่มค่อนข้างซับซ้อน ผู้ตรวจประเมินต้องทราบรูปร่างของผังแปลง เพื่อวางบล็อกทั้ง 5 ในการสุ่ม ปัญหาดังกล่าวอาจเกิดขึ้นในกรณีที่แปลงของเกษตรกรมีรูปร่างไม่เป็นสี่เหลี่ยม และการเลือกบล็อกต้องให้ครอบคลุมบริเวณมุมของหัวและท้ายแปลง อีกทั้งอาจมีความคลาดเคลื่อนในการเลือกบล็อกที่อยู่ตรงกลางแปลง (Q1) ที่ต้องขึ้นอยู่กับดุลยพินิจของผู้ตรวจประเมินที่จะปรับเปลี่ยนให้เหมาะสมกับแปลงที่ต้องประเมิน

การทำแปลงท่อนพันธุ์ปลอดโรคมีความสำคัญในการควบคุมการแพร่กระจายของโรคโดยเฉพาะโรคพืชที่ถ่ายทอดแบบไม่อาศัยเพศ (Vegetative propagation) โดยมีส่วนขยายพันธุ์โดยใช้กิ่ง ท่อน หัว และไหล เป็นต้น ประเทศไทยประสบความสำเร็จในการทำแปลงพันธุ์อ้อยสะอาดซึ่งมีการตรวจสอบแปลงพันธุ์และเก็บข้อมูล โดยมีการสำรวจและเก็บข้อมูลโรคและแมลง โดยทำการสำรวจทุกต้นและทุกแถวในแปลงอ้อยหลังปลูก 9 เดือน และเก็บข้อมูลโรคใบขาวอีกครั้งเมื่ออ้อยเจริญเติบโตในระยะต่อ 1 หลังเก็บเกี่ยวผลผลิต

1–2 เดือน เมื่อพบต้นที่เป็นโรคต้องกำจัดออกจากแปลง (Department of Agriculture, 2015) ในประเทศสหรัฐอเมริกาการผลิตหัวมันฝรั่งปลอดโรคและมีใบรับรอง (Certificate) เพื่อการพาณิชย์ต้องได้รับการประเมินโรคโดยมีอัตราการเกิดโรคใบม้วนที่เกิดจากเชื้อไวรัส

(Potato leafroll virus, PLRV) ร้อยละ 0.5–1.0 อาการต่าง (Mosaic) ร้อยละ 1–2 และอาการหัวบิดจากเชื้อไวรอยด์ (Spindle tuber viroid) ร้อยละ 0.1–2.0 โดยรวมแล้วมีอัตราการเกิดโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัสและไวรอยด์ ร้อยละ 0.5–3.0 (Agrios, 2005)

Table 2 Comparison of disease incidence between two sampling methods among four treatments for cassava cleaned seed production

Method	Detail	Disease incidence (%)		PCR detection (%)	
		X	Q	X	Q
1	Non-survey and non-rouging infected plants during plantation (Control)	12.50 ± 2.15 ^a	11.44 ± 1.13 ^a	15.00	25.00
2	Survey and rouging infected plants when cassava at 2, 4, 5, 6, 7, 8 and 9 months	0.83 ± 0.96 ^c	1.50 ± 0.46 ^c	3.30	3.50
3	Survey and rouging infected plants when cassava at 2, 4, 7 and 9 months	2.50 ± 0.96 ^{bc}	2.63 ± 0.52 ^c	6.60	6.00
4	Survey and rouging infected plants when cassava at 2, 4 and 9 months	5.00 ± 1.36 ^b	3.00 ± 0.54 ^b	8.30	7.50
P-value		<0.001	<0.001		

a, b, c Mean values within column followed by the same letter are not significantly different according to the Bonferroni correction at $P < 0.05$

การตรวจเชื้อไวรัส SLCMV ด้วยเทคนิค PCR

การตรวจสอบเชื้อไวรัส SLCMV ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน AV1 เป็นวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคใบด่างมันสำปะหลังที่เป็นที่ยอมรับในระดับสากล มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ราชอาณาจักรกัมพูชา และสาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนาม (Wang *et al.*, 2016; Minato *et al.*, 2019; Siriwan *et al.*, 2020) เป็นต้น เทคนิค PCR เป็นการตรวจหาลักษณะการติดเชื้อไวรัสแบบแฝง (Latent infection) ซึ่งพืชยังไม่แสดงอาการ (Asymptomatic symptoms) ได้ โดยตรวจสอบเชื้อไวรัสจากตัวอย่างที่สุ่มเก็บมาจากการประเมิน

แบบ X-shape sampling และ Q sampling ใน 4 วิธี ผลการตรวจสอบพบว่า วิธีที่ 1 จากการประเมินแบบ X-shape sampling และ Q sampling ตรวจพบเชื้อไวรัสร้อยละ 15.00 และ 25.00 ตามลำดับ ขณะที่วิธีที่ 2, 3 และ 4 จากการประเมินโรคแบบ X-shape sampling และ Q sampling ตรวจพบเชื้อไวรัสต่ำกว่าร้อยละ 10.00 (Table 2) จากอัตราการเกิดโรคที่ตรวจด้วยเทคนิค PCR ในตัวอย่างเดียวกันกับการประเมินโรคด้วยตาเปล่า พบว่า การตรวจสอบโรคด้วยเทคนิค PCR มีอัตราการเกิดโรคสูงกว่าการประเมินโรคด้วยตาเปล่า แสดงให้เห็นว่ามีการติดเชื้อไวรัสแบบไม่แสดงอาการ (Asymptomatic symptoms)

สรุป

จากการศึกษาการผลิตท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง สะอาดและวิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อการตรวจ ประเมินโรคใบด่างมันสำปะหลังในพื้นที่ใกล้เคียงการ ระบาดของโรค โดยปลูกด้วยท่อนพันธุ์ที่มาจากแหล่งที่ ทราบประวัติและมีการสำรวจและทำลายต้นที่เป็นโรค เมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 9 เดือน พบว่า การสำรวจ และถอนทำลายต้นมันสำปะหลังที่มีอาการของ โรคใบด่างมันสำปะหลังเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุ 2, 4 และ 9 เดือน มีอัตราการเกิดโรคต่ำที่สุด โดยมีอัตรา การเกิดโรคน้อยกว่าร้อยละ 10 และวิธีการสุ่มเก็บ ตัวอย่างเพื่อตรวจประเมินโรคแบบ X-shape

sampling และ Q sampling สามารถใช้ในการ ประเมินโรคได้ทั้ง 2 วิธี เนื่องจากการตรวจสอบเชื้อ ไวรัส SLCMV ด้วยเทคนิค PCR แสดงอัตราการเกิดโรค น้อยกว่าร้อยละ 10

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนโดยมูลนิธิพัฒนา มันสำปะหลังแห่งประเทศไทย และศูนย์ความเป็นเลิศ ด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิต ศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงการ อุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

เอกสารอ้างอิง

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th edition. Academic Press, New York, USA. 922 pp.
- Attathom, S. 2009. Virus Disease of Plant. Petrung Kanpim, Nontaburi, Thailand. 206 pp. (in Thai)
- Briddon, R.W., B.L. Patil, B. Bagewadi, M.S. Nawaz-ul-Rehman and C.M. Fauquet. 2010. Distinct evolutionary histories of the DNA-A and DNA-B components of bipartite begomoviruses. BMC Evol. Biol. 10: 97.
- Brown, J.K., F.M. Zerbin, J. Navas-Castillo, E. Moriones, R. Ramos-Sobrinho, J.C.F. Silva, E. Fiallo-Olivé, R.W. Briddon, C. Hernández-Zepeda, A. Idris, V.G. Malathi, D.P. Martin, R. Rivera-Bustamante, S. Ueda and A. Varsani. 2015. Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. Arch Virol. 160(6): 1593–1619.
- Childs, A.H.B. 1957. Trials with virus resistant cassavas in Tanga province, Tanganyika. East Afr. Agric. For. J. 23(2): 135–137.
- Department of Agriculture. 2015. A Guideline of the Cultivation of Clean Sugarcane Breeding Plots for Farmers. Available Source: www.prangku.sisaket.doae.go.th, July 20, 2021.
- Department of Agriculture Extension. 2016. Classification of Cassava Varieties. Department of Agriculture Extension, Bangkok, Thailand. 96 pp. (in Thai)
- Department of Agriculture Extension. 2021. The Manual of Increasing Effective Cassava Mosaic Disease Controlling. Department of Agriculture Extension, Bangkok, Thailand. 62 pp. (in Thai)

- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19(1): 11–15.
- Dubern, J. 1994. Transmission of African cassava mosaic geminivirus by the whitefly (*Bemisia tabaci*). *Trop. Sci.* 34(1): 82–91.
- Eni, A.O., O.P. Efekemo, O.A. Onile-ere and J.S. Pita. 2021. Survey dataset on the epidemiological assessment of cassava mosaic disease in South West and North Central regions of Nigeria reveals predominance of single viral infection. *Data Brief.* 38: 107282.
- Fauquet, C., D. Fargette and J.C. Thouvenel. 1988. Some aspects of the epidemiology of African cassava mosaic virus in Ivory Coast. *Trop. Pest Manag.* 34(1): 92–96.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2019. The current status of *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) in Thailand. Available Source: <https://www.ippc.int/en/countries/thailand/pestreports/2019/03/the-current-status-of-slcmv-in-thailand/>, July 18, 2021.
- Hartley, H.O. and R.L. Sielken Jr. 1975. A “super-population viewpoint” for finite population sampling. *Biometrics.* 31: 411–422.
- Hemniam, N., K. Saokham, S. Roekwan, S. Hunsawattanakul, J. Thawinampan and W. Siriwan. 2019. Severity of cassava mosaic disease in resistance and commercial varieties by grafting, pp. 794–797. *In Proc. the 14th National Plant Protection Conference*, 12–14 November 2019. (In Thai)
- International Institute of Tropical Agriculture. 2016. Cassava Seed Inspection and Certification Protocol. International Institute of Tropical Agriculture, Tanzania. 23 pp.
- Jameson, J.D. 1964. Cassava mosaic disease in Uganda. *East Afr. Agric. For. J.* 29: 208–213.
- Juangbhanich, P. 1982. Principles of Plant Pathology. Sanmual Chon Co. Ltd., Bangkok, Thailand. 393 pp. (in Thai)
- Legg, J.P. 1994. *Bemisia tabaci*: the whitefly vector of cassava mosaic geminiviruses in Africa: an ecological perspective. *Afr. Crop Sci. J.* 2(4): 437–448.
- Legg, J.P. 2010. Epidemiology of a whitefly-transmitted cassava mosaic geminivirus pandemic in Africa, pp. 233–257. *In P. Stansly and S. Naranjo, eds. Bemisia: Bionomics and Management of a Global Pest.* Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Legg, J.P., B. Owor, P. Sseruwagi and J. Ndunguru. 2006. Cassava mosaic virus disease in East and Central Africa: epidemiology and management of a regional pandemic. *Adv. Virus Res.* 67: 355–418.

- Minato, N., S. Sok, S. Chen, E. Delaquis, I. Phirun, V.X. Le, D.D. Burra, J.C. Newby, K.A.G. Wyckhuys and S. de Haan. 2019. Surveillance for Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) in Cambodia and Vietnam one year after its initial detection in a single plantation in 2015. *PLoS One*. 14(2): e0212780.
- Ministry of Commerce. 2021. Analysis of the cassava mosaic disease situation. Available Source: <https://xn--42ca1c5gh2k.com/14237-2/>, October 25, 2021.
- Mulenga, R.M., J.P. Legg, J. Ndunguru, D.W. Miano, E.W. Mutitu, P.C. Chikoti and O.J. Alabi. 2016. Survey, molecular detection, and characterization of geminiviruses associated with cassava mosaic disease in Zambia. *Plant Dis*. 100(7): 1379–1387.
- Ntawuruhunga, P., G. Okao-Okuja, A. Bembe, M. Obambi, J.C. Armand Mvila and J.P. Legg. 2010. Incidence and severity of cassava mosaic disease in the Republic of Congo. *Afr. Crop Sci. J.* 15(1): 1–9.
- Office of Agricultural Economics. 2021. Agricultural product information. Available Source: <https://www.oae.go.th/view/1/%E0%B8%95%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%B2%E0%B8%87%E0%B9%81%E0%B8%AA%E0%B8%94%E0%B8%87%E0%B8%A3%E0%B8%B2%E0%B8%A2%E0%B8%A5%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%AD%E0%B8%B5%E0%B8%A2%E0%B8%94%E0%B8%A1%E0%B8%B1%E0%B8%99%E0%B8%AA%E0%B8%B3%E0%B8%9B%E0%B8%B0%E0%B8%AB%E0%B8%A5%E0%B8%B1%E0%B8%87/TH-TH>, July 18, 2021.
- Otim-Nape, G.W., A. Bua, J.M. Thresh, Y. Baguma, S. Ogwal, G. Ssemakula, G. Acola and B. Byabakama. 2000. The Current Pandemic of Cassava Mosaic Virus Disease in East Africa and Its Control. *Natural Resources Institute, USA*. 104 pp.
- Otim-Nape, G.W., J.M. Thresh and M.W. Shaw. 1998. The incidence and severity of cassava mosaic virus disease in Uganda: 1990-92. *Trop. Sci.* 38(1): 25–37.
- Rybicki, E.P. 2015. A top ten list for economically important plant viruses. *Arch Virol*. 160: 17–20.
- Saokham, K., N. Hemniam, S. Roekwan, S. Hunsawattanakul, J. Thawinampan and W. Siriwan. 2021. Survey and molecular detection of Sri Lankan cassava mosaic virus in Thailand. *PLoS One*. 16(10): e0252846.
- Siriwan, W., J. Jimenez, N. Hemniam, K. Saokham, D. Lopez-Alvarez, A.M. Leiva, A. Martinez, L. Mwanzia, L.A.B. Lopez-Lavalle and W.J. Cuellar. 2020. Surveillance and diagnostics of the emergent Sri Lankan cassava mosaic virus (Fam. Geminiviridae) in Southeast Asia. *Virus Res*. 285: 197959.

- Sseruwagi, P., W.S. Sserubombwe, J.P. Legg, J. Ndunguru and J.M. Thresh. 2004. Methods of surveying the incidence and severity of cassava mosaic disease and whitefly vector populations on cassava in Africa: a review. *Virus Res.* 100(1): 129–142.
- Storey, H.H. 1936. Virus diseases of East African plants. *East Afr. Agric. For. J.* 1(6): 333–337.
- Terry, E.R. 1976. Description and evaluation of cassava mosaic disease in Africa, pp. 53–54. *In* Proc. the International Exchange and Testing of Cassava Germ Plasm in Africa: Proceedings of an Interdisciplinary Workshop, 17–21 November 1975.
- Thresh, J.M. and R.J. Cooter. 2005. Strategies for controlling cassava mosaic virus disease in Africa. *Plant Pathol.* 54: 587–614.
- Tokunaga, H., T. Baba, M. Ishitani, K. Ito, O.K. Kim, L.H. Ham, H.K. Le, K. Maejima, S. Namba, K.T. Natsuaki, N.V. Dong, H.H. Nguyen, N.C. Nguyen, N.A. Vu, H. Nomura, M. Seki, P. Srean, H. Tanaka, B. Touch, H.X. Trinh, M. Ugaki, A. Uke, Y. Utsumi, P. Wongtiem and K. Takasu. 2018. Sustainable management of invasive cassava pests in Vietnam, Cambodia, and Thailand, pp. 131–157. *In* Crop Production under Stressful Conditions: Application of Cutting-edge Science and Technology in Developing Countries. Springer, Singapore.
- Torkpo, S.K., Y. Gafni, E.Y. Danquah and S.K. Offei. 2018. Incidence and severity of cassava mosaic disease in farmer's fields in Ghana. *Ghana Jnl. Agric. Sci.* 53: 61–71.
- Waller, J.M., J.M. Lenné and S.J. Waller. 2002. *Plant Pathologist's Pocketbook*. CABI Publishing, Wallingford, UK. 450 pp.
- Wang, D., G. Huang, T. Shi, G. Wang, R. Fang, X. Zhang and J. Ye. 2020. Surveillance and distribution of the emergent Sri Lankan cassava mosaic virus in China. *Phytopathology Research.* 2: 18.
- Wang, H.L., X.Y. Cui, X.W. Wang, S.S. Liu, Z.H. Zhang and X.P. Zhou. 2016. First report of Sri Lankan cassava mosaic virus infecting cassava in Cambodia. *Plant Dis.* 100(5): 1029.
- Warburg, O. 1894. Die Kulturpflanzen Usambaras. *Mitteilungen aus den Deutschen Schutzgebieten.* 7: 131–199. (in German)