

ความสัมพันธ์ของปากใบและสีใบกับระดับความต้านทานโรคราสนิม ในข้าวโพด

Relationship of stomata and leaf color to the resistant level against rust disease of corn

วันเพ็ญ ชลเจริญยง¹, วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์^{1,3}, พลัง สุริหาร^{1,2} และ กมล เลิศรัตน์^{1,2*}

Wanpen Chalorchoenying¹, Weerasak Saksirirat¹, Bhalang Suriharn^{1,2}
and Kamol Lertrat^{1,2*}

บทคัดย่อ: เทคนิควิธีการประเมินความต้านทานโรคที่ถูกต้อง รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ เป็นสิ่งที่จำเป็นในการปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อเพิ่มความต้านทานต่อโรค การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของปากใบและสีใบกับระดับของความต้านทานต่อโรคราสนิม ในข้าวโพด 11 สายพันธุ์/พันธุ์ ปลูกทดสอบ ในฤดูแล้ง ปี 2557/2558 ประเมินระดับความต้านทานต่อโรคราสนิม จำนวน 3 ครั้ง เมื่อข้าวโพดออกดอกไปแล้ว 7, 14 และ 21 เก็บข้อมูลลักษณะปากใบที่ระยะออกไหม และเก็บข้อมูลสีใบที่ระยะข้าวโพดมีใบขยายตัวเต็มที่ 11 ใบ ผลการศึกษา พบว่า ข้าวโพดไร่ NS3 และข้าวโพดข้าวเหนียว Fancy111 มีความต้านทานต่อโรคราสนิมระดับปานกลางถึงสูง ระดับคะแนนของความต้านทานต่อโรคราสนิมที่ประเมิน 7, 14 และ 21 หลังออกดอก มีความสัมพันธ์ทางสถิติในทิศทางลบกับความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านบนใบ ($r = -0.77^{**}$ -0.70^* และ -0.73^{**} ตามลำดับ) ความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบ ($r = -0.79^{**}$ -0.76^* และ -0.79^{**} ตามลำดับ) และค่าสีใบ ($r = -0.59^{**}$ -0.67^{**} และ -0.66^{**} ตามลำดับ) แต่ไม่มีความสัมพันธ์หรือมีความสัมพันธ์ในระดับต่ำกับจำนวนปากใบที่อยู่ด้านบนใบและด้านล่างใบ ความยาวปากใบที่อยู่ด้านบนใบและด้านล่างใบ จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่า ความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านบนใบ ความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบ รวมทั้งค่าสีใบ สามารถนำมาใช้คัดเลือกประชากรข้าวโพดทางอ้อมเพื่อช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ความต้านทานต่อโรคราสนิมในเบื้องต้นได้

คำสำคัญ: การปรับปรุงพันธุ์พืช, สหสัมพันธ์, *Zea mays* L., การคัดเลือกทางอ้อม, *Puccinia polysora* Underw.

ABSTRACT: Accurate, rapid and effective screening techniques for disease resistance is necessary for plant breeding aiming to increase disease resistance in crop species. The objective of this study was to evaluate the relationships among leaf stomatal characters and leaf color with rust (*Puccinia polysora* Underw) resistance levels in 11 accessions of corn. Corn accessions were evaluated for rust resistance in the dry season 2014/2015 at 7, 14 and 21 days after flowering (DAF). Data were also recorded for stomatal characters and leaf color at V11 growth stage. The accessions NS3 and Fancy111 had moderate to high levels of rust resistance. Disease scores for rust resistance evaluated at 7, 14 and 21 DAF were positively correlated with width of stomata at adaxial leaf surface ($r = -0.77^{**}$ -0.70^* and -0.73^{**} , respectively), width of stomata at abaxial leaf surface ($r = -0.79^{**}$ -0.76^* and -0.79^{**} , respectively) and leaf color ($r = -0.59^{**}$ -0.67^{**} and -0.66^{**} , respectively), but they were not correlated or had low correlations with number of leaf stomata and length of leaf stomata (both in adaxial and abaxial). The results suggests that width of leaf stomata on adaxial and abaxial and leaf color can be used for indirect selection of corn at preliminary stage to increase resistance to rust.

Keywords: Plant Breeding, Correlation, *Zea may* L., indirect selection, *Puccinia polysora* Underw.

¹ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002
Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, KhonKaen University,
Thailand 40002

² ศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002
Plant Breeding Research Center for Sustainable Agriculture, Khon Kaen University, Thailand 40002

³ ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002
Agriculture Biotechnology Research Center Sustainable Economic, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

* Corresponding author: kamol9@gmail.com

บทนำ

โรคราสนิม (southern rust) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Puccinia polysora* Underw. เป็นอีกโรคหนึ่งที่ทำให้ความเสียหายให้กับข้าวโพดทั่วโลก ไม่ว่าจะเป็นประเทศสหรัฐอเมริกา (Raid et al. 1988), ทวีปแอฟริกา (Agarwal et al. 2001) และ ทวีปเอเชีย (Chen et al. 2004) โรคราสนิมสามารถทำให้ผลผลิตข้าวโพดลดลง 17-45 เปอร์เซ็นต์ (Rodriguez-Ardon et al., 1980; Raid et al., 1988) ในพื้นที่การผลิตข้าวโพดที่สำคัญของประเทศไทย ที่มีอุณหภูมิต่ำ และความชื้นสูงในช่วงปลายฤดูฝน เป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อแพร่ระบาดของโรคราสนิมในพื้นที่ปลูกข้าวโพด (Auwanich and Anchareesangas, 1998) การป้องกันโรคราสนิมนั้น อาจจะสามารถปฏิบัติได้หลายวิธีการ แต่การใช้พันธุ์ต้านทานนั้น น่าจะเป็นวิธีการป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจากสามารถลดค่าใช้จ่ายในการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชลง ส่งผลต่อความปลอดภัยของเกษตรกรและสภาพแวดล้อม

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดให้ต้านทานต่อโรคราสนิมนั้น การประเมินระดับความต้านทานต้องสร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคและปลูกถ่ายเชื้อเข้าสู่ต้นข้าวโพด สำหรับ สภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคนั้น อุณหภูมิ ควรอยู่ระหว่าง 23-28 องศาเซลเซียส ส่วนความชื้นในอากาศต้องมีความชื้นประมาณ 95-100 เปอร์เซ็นต์ ทำให้โรคราสนิม มีการระบาดมากในช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาว (Melching, 1975 ; สมเกียรติและคณะ, 2521; สุธาทิพย์, 2532) เชื้อราสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคราสนิมนั้น ดำรงชีวิตแบบ obligate parasite ซึ่งต้องอาศัยอยู่บนเซลล์ของพืชที่มีชีวิต เชื้อรานชนิดนี้ ไม่สามารถเจริญเติบโตอยู่บนเศษซากพืชที่ตายแล้วได้ (Deacon, 2006) จึงไม่สามารถเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ต้องมีการเลี้ยงเชื้อไว้ด้านบนพืชอาศัยเท่านั้น นอกจากนี้แล้ว การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานต้องทำในระยะหลังข้าวโพดออกดอก ซึ่งเป็นระยะที่โรคแสดงอาการ เห็นได้ว่า การปลูกเชื้อ การเลี้ยงเชื้อ และการคัดเลือกพันธุ์เพื่อความต้านทานต่อโรคราสนิมนั้น ค่อนข้างทำได้ยาก และต้องใช้เวลานาน

ปากใบของข้าวโพดเป็นช่องเปิดทางธรรมชาติที่น่าจะมีความสัมพันธ์กับระดับของความต้านทานโรค เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อนั้น เมื่อเชื้อราสนิมตกลงบนใบพืช และมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สปอร์ของเชื้อจะงอก germ tube แล้วสร้าง aspersorium และ infection peg เพื่อแทงเข้าสู่ใบข้าวโพดทางรอยต่อระหว่างเซลล์ผิวใบหรือบริเวณปากใบ (Melching, 1975) นอกจากนี้แล้ว ในพืชแต่ละต้นนั้น มีความหนาแน่นและขนาดของปากใบไม่เท่ากัน (Camargo et al. 2011) และน่าจะส่งผลต่อความต้านทานที่แตกต่างกันด้วย มีหลายงานวิจัยที่ศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะปากใบต่อความต้านทานโรคหลายชนิด เช่น โรคทางใบในข้าวฟ่าง (Kalappanaver and Hiremath, 2000) โรคใบไหม้ของเชื้อแบคทีเรียในข้าว (Shukla and Gangopadhyaya, 1981) และโรคราสนิมในต้นพืช (Sikhandakasmitta et al., 2014) เป็นต้น ในข้าวโพดก็ได้มีการศึกษาแต่เป็นการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของ epidermal cell, hairs และ bulliform cells ในใบของพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอต่อโรคราสนิม (Ji, 2006) แต่ยังไม่ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับขนาดและจำนวนปากใบที่เชื่อมโยงกับความต้านทานโรคราสนิมในข้าวโพด

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของสีใบและการเกิดโรคปากใบแห้งในข้าว พบว่า ใบข้าวที่มีสีเขียวจะอ่อนแอต่อการเข้าทำลายจากโรคปากใบแห้ง และแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งมากกว่าใบข้าวที่มีสีอ่อน (Lianghua and Zengrong, 1994) สำหรับ พันธุ์ข้าวโพดของประเทศไทย พันธุ์การค้าที่มีสีเขียวเข้มนั้น มักอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคราสนิม (จากการสังเกต) ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า มีการนำเชื้อพันธุกรรมข้าวโพดจากเขตอบอุ่น (temperate) ที่มีสีเขียวเข้ม ใบคงความเขียวชาน และมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงและการใช้ในโตรเจนสูง มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิต ส่งผลให้พันธุ์ข้าวโพดพันธุ์การค้าในปัจจุบัน มีความอ่อนแอต่อโรคราสนิม ค่อนข้างมาก อย่างไรก็ตาม การศึกษาลักษณะของปากใบและสีใบของข้าวโพดที่สัมพันธ์กับระดับของความต้านทานโรคราสนิมยังมีจำกัด ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานทดลองนี้ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับคะแนนการ

เกิดโรคราสนิม และลักษณะของปากใบกับสีเขียว ข้อมูลที่ได้นี้ จะเป็นประโยชน์ต่อนักปรับปรุงพันธุ์เพื่อใช้เป็นเกณฑ์การคัดเลือกทางอ้อมในการประเมินระดับของความต้านทานการเกิดโรคราสนิมในข้าวโพดต่อไป

วิธีการศึกษา

พันธุ์พืชที่ใช้ในการศึกษาและแผนการทดลอง

การศึกษานี้ ใช้ข้าวโพดไร่ ข้าวโพดหวาน และข้าวโพดข้าวเหนียว จำนวน 9 สายพันธุ์/พันธุ์ (Table 1) ที่มีระดับความต้านทานต่อโรคราสนิม และแหล่งที่มาแตกต่างกัน และสายพันธุ์/พันธุ์เปรียบเทียบ (checks) 2 สายพันธุ์/พันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์แท้ข้าวโพด

ไร่ Ki56 (ต้านทาน) และข้าวโพดหวานพันธุ์ ATS5 (อ่อนแอ) ส่วนในพันธุ์การค้าที่นำมาทดสอบนั้นเป็นเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ผ่านการคลุกสารเคมีกันเชื้อรามาก่อน โดยทำการปลูกทดสอบ ในฤดูแล้ง ระหว่างเดือนตุลาคม 2557- มกราคม 2558 ณ หมวดยอดฟ้าฝัก ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (Randomized Complete Blocks Design; RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ แต่ละแปลงย่อยมี 4 แถว แถวยาว 5 เมตร ระยะระหว่างหลุม 25 เซนติเมตร ระยะระหว่างแถว 80 เซนติเมตร อัตราปลูก 1 ต้น/หลุม

Table 1 Corn varieties/lines used in this study

No.	Variety	Variety of type	Types	Origin	Resistant types
1	A5	Inbred line	Waxy corn	Khon Kaen University	S
2	KND	open pollinated	Waxy corn	Khon Kaen University	S
3	SEY37	Inbred line	Sweet corn	Khon Kaen University	NE
4	KAHD102Y	Inbred line	Waxy corn	Khon Kaen University	NE
5	NS3	F ₁ hybrid	Field corn	Chai Nat Field Crops Research Center	MR
6	Fancy111	F ₁ hybrid	Waxy corn	Pacific Seeds (Thai) Ltd	R
7	Hibrix3	F ₁ hybrid	Sweet corn	Pacific Seeds (Thai) Ltd	NE
8	Hibrix39	F ₁ hybrid	Sweet corn	Pacific Seeds (Thai) Ltd	NE
9	Hibrix53	F ₁ hybrid	Sweet corn	Pacific Seeds (Thai) Ltd	NE
10	ATS5	F ₂	Sweet corn	Sweet Corns Products Co., Ltd	S
11	Ki56	Inbred line	Field corn	National Corn and Sorghum Research Center	R

R= Resistant, MR= Moderate resistant, S= Susceptible, NE= No evaluation

การปลูกเชื้อและการประเมินโรค

การประเมินระดับความต้านทานต่อโรคราสนิมนั้น ในสภาพไร่นั้น ปลูกแถวแพร่กระจายเชื้อเพื่อเป็นแหล่งเพาะเชื้อก่อน (source of inoculum) โดยใช้ข้าวโพดหวานพันธุ์ ATS 5 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอ ล้อมรอบพันธุ์ที่ต้องการทดสอบ โดยปลูกล้อมรอบแปลงทดลอง จำนวน 2 แถว ใช้ระยะปลูก 80 x 25 เซนติเมตร จำนวน 2 ต้น/หลุม เมื่อต้นข้าวโพดอายุประมาณ 2 สัปดาห์ก็นำสารละลายของเชื้อราสนิมที่เตรียมไว้จากต้นที่เป็นโรคมามากความเข้มข้นที่ 1×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร โดยฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ซ้ำ 2-3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 1 วัน เพื่อให้เกิดการ

ระบาดของโรคอย่างสม่ำเสมอ จากนั้น 1 สัปดาห์ เมื่อสังเกตเห็นอาการของโรค จึงปลูกข้าวโพดที่ต้องการทดสอบ จำนวน 11 สายพันธุ์ ลงในแปลงทดลอง ประเมินลักษณะความต้านทานโรคราสนิมของประชากรข้าวโพด 3 ครั้ง เมื่อข้าวโพดออกดอกไปแล้ว 7, 14 และ 21 วัน ทำการประเมินโรคราสนิม ตามวิธีของ Holland et al. (1998) โดยการให้คะแนน 1-9 (1 = พืชอ่อนแอที่สุด และ 9 = พืชต้านทานสูงสุด) การให้คะแนนนั้น พิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การเกิดตุ่มแผล (pustule density) บนผิวใบของข้าวโพด 3 ใบ ได้แก่ ใบที่อยู่เหนือฝักบนสุด 1 ใบ และที่อยู่ใต้ฝักบนสุด 2 ใบ แล้วหาค่าเฉลี่ย (เจตษฎา และคณะ, 2552) ดังนี้

คะแนน 1 = เกิดตุ่มแผล 70 % ของพื้นที่ใบ
 คะแนน 2 = เกิดตุ่มแผล 50 % ของพื้นที่ใบ
 คะแนน 3 = เกิดตุ่มแผล 30 % ของพื้นที่ใบ
 คะแนน 4 = เกิดตุ่มแผล 20 % ของพื้นที่ใบ
 คะแนน 5 = เกิดตุ่มแผล 10 % ของพื้นที่ใบ
 คะแนน 6 = เกิดตุ่มแผล 5 % ของพื้นที่ใบ
 คะแนน 7 = เกิดตุ่มแผล 3 % ของพื้นที่ใบ
 คะแนน 8 = เกิดตุ่มแผล 1 % ของพื้นที่ใบ
 คะแนน 9 = เกิดตุ่มแผล 0 % ของพื้นที่ใบ

การวัดลักษณะของปากใบข้าวโพด

วัดลักษณะของปากใบเมื่อใหม่โผล่พ้นเปลือกหุ้ม ผักยาว 2-3 เซนติเมตร ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนต้นทั้งหมด เก็บข้อมูล โดยสุ่มเก็บจำนวน 10 ต้น ในสายพันธุ์แท้ และลูกผสมเดี่ยว และสุ่มเก็บ 20 ต้น ในพันธุ์ผสมเปิด และ F_2 เก็บในส่วนของใบตำแหน่งที่ 5 ที่ขยายตัวเต็มที่นับจากยอดลงมา ทำการเก็บรักษา สภาพของใบโดยใช้สารเคมีลอคกิ้งผิวใบและน้ำยาคงสภาพเซลล์ FAA (formalin acetic acid alcohol) ทาบนผิวใบด้านล่าง และด้านบน รวมทั้งหมด 6 ตำแหน่ง จากนั้น ลอกน้ำยาทาเล็บจากผิวใบ มาวางบนสไลด์ ปิดด้วย cover glass แล้วตรวจสอบดูภายใต้ กล้องจุลทรรศน์ (Carl Zeiss Primo Star) โดยใช้กำลัง ขยายของเลนส์วัตถุขนาด X10 ทำการบันทึกภาพด้วย กล้องถ่ายภาพ (Cannon, Japan) และนับจำนวนปาก ใบ ซึ่งข้อมูลจำนวนปากใบที่ได้จะนำไปคำนวณหา จำนวนปากใบ บนพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ส่วนการวัด ขนาดของปากใบตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยายของเลนส์วัตถุขนาด X40 ทำการบันทึก ภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และใช้โปรแกรม AxioVision SE64 Rel. 4.8 คำนวณหาขนาดของปากใบ

การวัดความเข้มของสีใบข้าวโพด

เมื่อข้าวโพดพัฒนาถึงระยะที่มีใบขยายตัวเต็มที่ จำนวน 11 ใบ หรือ Vegetative 11 (V11) ทำการวัด ปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วย Chlorophyll Meter รุ่น SPAD 502 โดยสุ่มวัดจำนวน 10 ต้น ต้นละ 3 ใบ ในใบที่ 3, 5 และ 7 ที่คลี่กางเต็มที่นับจากยอดลงมา โดยแต่ละ ใบจะวัดส่วนซ้ายและขวาของใบ ส่วนละ 3 ตำแหน่ง

รวมทั้งหมด 6 ตำแหน่ง แล้วนำค่า SPAD ทั้งหมดมา หาค่าเฉลี่ยของใบข้าวโพด

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล และ เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละ พันธุ์ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference) วิเคราะห์สหสัมพันธ์ของลักษณะที่ศึกษา ตาม Pearson's correlation analysis และวิเคราะห์สมการ ถดถอย (regression)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การประเมินระดับคะแนนความต้านทานต่อโรคราสนิม

จากการประเมินความต้านทานต่อโรคราสนิมของ ข้าวโพดจำนวน 11 พันธุ์/สายพันธุ์ โดยทำการปลูกเชื้อ และประเมินความต้านทานโรคราสนิมของข้าวโพด หลังจากข้าวโพดออกดอกแล้ว 7, 14 และ 21 วัน โดย วิธีให้คะแนน 1- 9 (1 = พืชอ่อนแอที่สุดและ 9 = พืช ต้านทานสูงสุด) (Table 2) พบว่า พันธุ์ข้าวโพดที่นำมา ทดสอบมีระดับคะแนนการเป็นโรคแตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยการเก็บข้อมูลโรค ในครั้งที่ 1 อายุ 7 วันหลังจากออกดอก ข้าวโพดพันธุ์ NS3 มีค่าคะแนนสูงสุดเท่ากับ 8.02 รองลงมา คือ พันธุ์ Fancy111 มีค่าคะแนนเท่ากับ 7.94 ส่วนสายพันธุ์ที่มี ระดับความอ่อนแอมากที่สุด คือ KND มีค่าคะแนน เท่ากับ 4.23 และสายพันธุ์เปรียบเทียบ ATS 5 ซึ่ง อ่อนแอต่อโรคราสนิมมีค่าคะแนนเท่ากับ 4.08 ส่วน สายพันธุ์เปรียบเทียบ Ki56 ซึ่งต้านทานต่อโรคราสนิม มีค่าคะแนนเท่ากับ 8.07

การประเมินคะแนนการเป็นโรคในครั้งที่ 2 อายุ 14 วันหลังจากออกดอก ข้าวโพดพันธุ์ NS3 ยังมีค่า คะแนนสูงสุดเท่ากับ 7.40 รองลงมาคือ พันธุ์ Fancy 111 มีค่าคะแนนเท่ากับ 7.36 ส่วนสายพันธุ์ที่มีระดับ ความอ่อนแอมากที่สุด คือ KND มีค่าคะแนนเท่ากับ 2.62 และสายพันธุ์เปรียบเทียบ ATS 5 ซึ่งอ่อนแอต่อ โรคราสนิมมีค่าคะแนนเท่ากับ 3.34 ส่วนสายพันธุ์ เปรียบเทียบ Ki56 ซึ่งต้านทานต่อโรคราสนิมมีค่า คะแนนเท่ากับ 7.84

ในการประเมินคะแนนการเป็นโรคในครั้งที่ 3 อายุ 21 วันหลังจากออกดอก ข้าวโพดพันธุ์ NS3 มีค่าคะแนนสูงสุดเท่ากับ 6.71 รองลงมาคือ พันธุ์ Fancy 111 มีค่าคะแนนเท่ากับ 6.47 ส่วนสายพันธุ์ที่มีระดับความอ่อนแอมากที่สุด คือ KND มีค่าคะแนนเท่ากับ 2.49 และสายพันธุ์เปรียบเทียบกับ ATS 5 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคราสนิมมีค่าคะแนนเท่ากับ 2.93 ส่วนสายพันธุ์เปรียบเทียบกับ Ki56 ซึ่งต้านทานต่อโรคราสนิมมีค่าคะแนนเท่ากับ 6.68 จากการทดลองนี้ ชี้ให้เห็นว่า โดยทั่วไป ข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวโพดหวานมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคราสนิม มากกว่า ข้าวโพดไร่ โดยแหล่งพันธุ์กรรมความทนทานต่อโรคราสนิมที่ใช้ในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด คือ ข้าวโพด NS3 (ข้าวโพดไร่) และ Fancy 111 (ข้าวโพดข้าวเหนียว)

ลักษณะของปากใบข้าวโพด

จากการวัดลักษณะของปากใบข้าวโพดในแต่ละพันธุ์ (Figure 1) ได้แก่ จำนวน ความกว้าง และความยาวของปากใบ พบว่า ในระหว่างพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ (Table 2) โดยในการวัดจำนวนของปากใบที่อยู่ด้านบนใบ (adaxial) พบว่าจำนวนของปากใบที่อยู่ด้านบนใบ มีค่าระหว่าง 63.85-103.76/พื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร พันธุ์ที่มีจำนวนของปากใบที่อยู่ด้านบนใบมากที่สุดคือ พันธุ์ Hibix3 มีค่าเท่ากับ 103.76/พื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร รองลงมา คือ สายพันธุ์ KAHD102Y มีค่าจำนวนปากใบที่อยู่ด้านบนใบเท่ากับ 83.60/พื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ส่วนพันธุ์ที่มีค่าจำนวนของปากใบที่อยู่ด้านบนใบน้อยที่สุด คือ พันธุ์ KND มีค่าเท่ากับ 63.85/พื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ส่วนจำนวนของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบ (abaxial) มีค่าระหว่าง 81.42-119.14/พื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร พันธุ์ที่มีจำนวนของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบมากที่สุดคือ พันธุ์ Hibix3 มีค่าเท่ากับ 119.14/พื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร รองลงมาคือ สายพันธุ์ KAHD102Y มีค่าจำนวนปากใบที่อยู่ด้านล่างใบเท่ากับ 107.75/พื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ส่วนพันธุ์ที่มีค่าจำนวนของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบน้อยที่สุด คือ พันธุ์ KND มีค่าเท่ากับ 81.42/พื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร จากงานทดลองพบว่าจำนวนปากใบที่อยู่ด้านล่างใบ จะมีจำนวนมากกว่าปากใบที่อยู่ด้านบนใบ ซึ่งสอดคล้องกับงานของทดลอง

(Meidner and Mansfield, 1968; Meyer et al., 1973; สุรศักดิ์, 2539; Kalappanavar and Hiremath, 2000) และจากงานทดลองนี้ พบว่า จำนวนของปากใบในกลุ่มพันธุ์ต้านทานและกลุ่มพันธุ์อ่อนแอไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ ปณวัตร และคณะ (2557) ที่พบว่าความหนาแน่นของปากใบในกลุ่มพันธุ์ต้านทานและกลุ่มพันธุ์อ่อนแอต่อโรคราสนิมของพืชไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ Kalappanavar and Hiremath (2000) รายงานว่าจำนวนและขนาดของปากใบของข้าวฟ่างต่อโรคทางใบ มีความแตกต่างกันระหว่างพันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอ โดยในพันธุ์ต้านทานจะมีค่าน้อยกว่าพันธุ์อ่อนแอ

ลักษณะความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านบนใบมีค่าระหว่าง 21.50-27.57 μm สายพันธุ์ที่มีความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านบนใบมากที่สุดคือ สายพันธุ์ A5 มีค่าเท่ากับ 27.57 μm รองลงมา คือ สายพันธุ์ SEY37 มีค่าเท่ากับ 26.49 μm ส่วนพันธุ์ที่มีความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านบนใบน้อยที่สุด คือ พันธุ์ Fancy111 มีค่าเท่ากับ 21.50 μm ส่วนความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบ มีค่าระหว่าง 22.08-27.55 μm สายพันธุ์ที่มีความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบ มากที่สุดคือ สายพันธุ์ A5 มีค่าเท่ากับ 27.55 μm รองลงมา คือ สายพันธุ์ SEY37 มีค่าความกว้างปากใบที่อยู่ด้านล่างใบเท่ากับ 27.25 μm ส่วนพันธุ์ที่มีความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบน้อยที่สุด คือ พันธุ์ Fancy111 มีค่าเท่ากับ 22.08 μm

ลักษณะความยาวของปากใบที่อยู่ด้านบนใบมีค่าระหว่าง 49.75-60.20 μm พันธุ์ที่มีความยาวของปากใบที่อยู่ด้านบนใบมากที่สุดคือ พันธุ์ KND มีค่าเท่ากับ 60.20 μm รองลงมา คือ สายพันธุ์ SEY37 มีค่าเท่ากับ 59.51 μm ส่วนสายพันธุ์ที่มีความยาวของปากใบที่อยู่ด้านบนใบน้อยที่สุด คือสายพันธุ์ KAHD102Y มีค่าเท่ากับ 49.75 μm ส่วนความยาวของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบมีค่าระหว่าง 47.76-55.96 μm สายพันธุ์ที่มีความยาวของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบมากที่สุดคือ สายพันธุ์ SEY37 มีค่าเท่ากับ 55.96 μm รองลงมา คือ พันธุ์ KND มีค่าความยาวปากใบที่อยู่ด้านล่างใบเท่ากับ 55.62 μm ส่วนสายพันธุ์ที่มีความยาวของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบน้อยที่สุด คือสายพันธุ์ KAHD102Y มีค่าเท่ากับ 47.76 μm

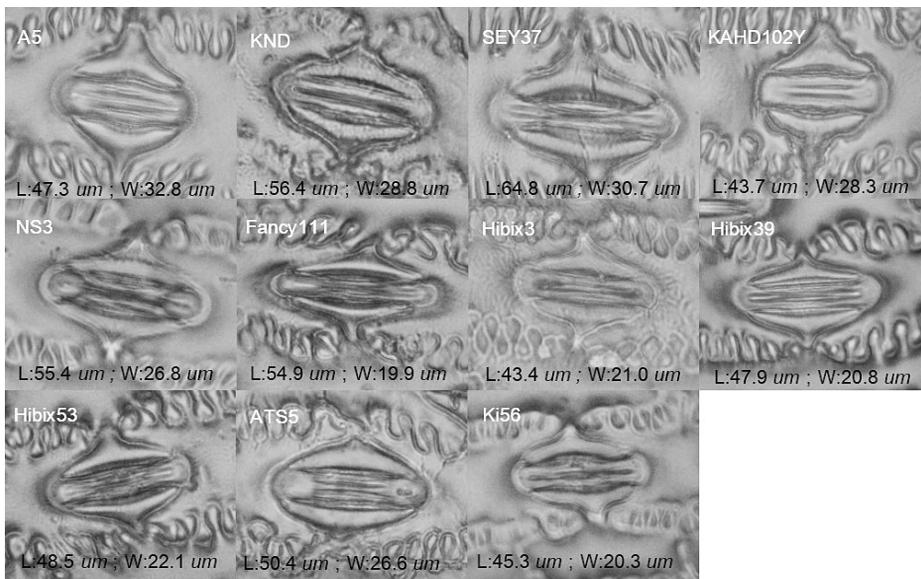


Figure 1 Abaxial stomatal characteristics of corn varieties/lines; Ki56 is southern rust resistant check and AT55 is southern rust susceptible check. L= length; W= width

ระดับความเข้มของสีใบข้าวโพดที่วัดได้จาก Chlorophyll Meter

จากวิเคราะห์ระดับความเข้มของสีใบข้าวโพดในแต่ละพันธุ์ (Figure 2) พบว่า ความเข้มของสีใบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Table 2) โดยมีค่า SPAD อยู่ระหว่าง 38.27 - 53.86 ซึ่งสายพันธุ์

KAHD102Y มีค่า SPAD สูงที่สุดเท่ากับ 53.86 รองลงมาคือ พันธุ์ SEY37 โดยมีค่าเท่ากับ 53.33 ส่วนสายพันธุ์ที่มีค่า SPAD น้อยที่สุด คือสายพันธุ์ Ki56 มีค่าเท่ากับ 38.27 ซึ่งในสายพันธุ์ที่มีสีเขียวเข้มสามารถบ่งชี้ได้ว่ามีระดับไนโตรเจนที่สูง (กึ่งเพชร, 2554)

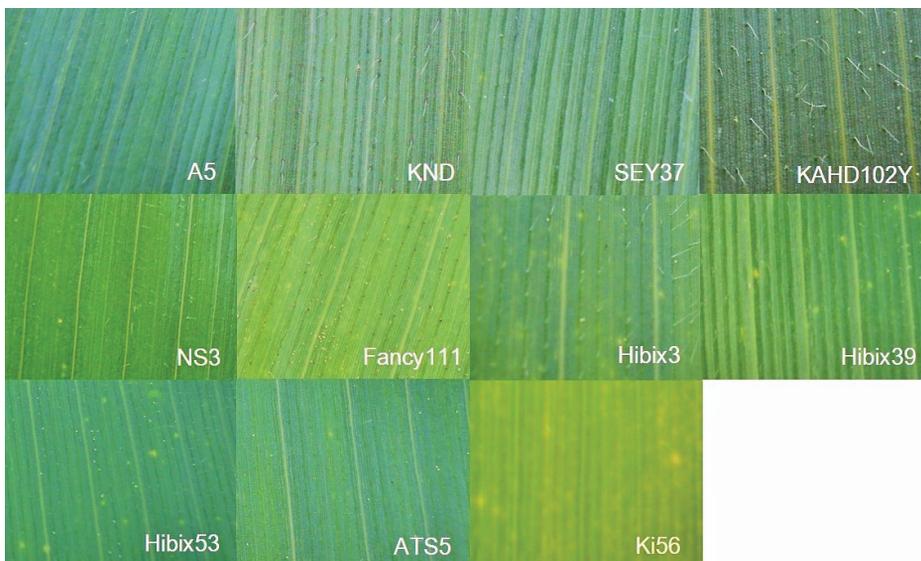


Figure 2 Leaf color of corn varieties/lines used in this study; Ki56 is southern rust resistant check and AT55 is southern rust susceptible check.

Table 2 Variation in stomatal character, leaf color and disease score of 11 corn varieties/lines.

No.	Variety	Disease score			Stomatal character						Leaf color
		7 DAS	14 DAS	21 DAS	Number mm ²		Length (um)		Width (um)		
					Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower	
1	A5	4.27	3.83	3.18	64.80	93.75	52.83	50.64	27.57	27.55	49.79
2	KND	4.23	2.62	2.49	63.85	81.42	60.20	55.62	25.61	27.18	51.23
3	SEY37	4.87	3.06	2.71	69.16	89.35	59.51	55.96	26.49	27.25	53.33
4	KAHD102Y	4.28	3.74	3.13	83.60	107.75	49.75	47.76	25.59	26.24	53.86
5	NS3	8.02	7.40	6.71	75.47	97.78	58.17	55.36	23.71	24.55	50.33
6	Fancy 111	7.94	7.36	6.47	71.22	92.10	53.26	51.55	21.50	22.08	44.91
7	Hibix3	7.50	6.81	5.64	103.76	119.14	52.36	49.44	21.81	23.42	48.98
8	Hibix39	6.84	5.31	4.52	76.67	97.16	52.83	50.77	22.68	22.94	52.36
9	Hibix53	6.02	4.75	4.33	78.16	96.23	51.63	49.71	21.88	23.51	49.55
10	ATS5 (susceptible check)	4.08	3.34	2.93	72.37	91.20	51.67	50.30	25.16	25.05	50.83
11	Ki56 (resistance check)	8.07	7.84	6.68	67.97	103.05	52.34	50.87	23.04	22.46	38.27
	Min	4.08	2.62	2.49	63.85	81.42	49.75	47.76	21.50	22.08	38.27
	Max	8.07	7.84	6.71	103.76	119.14	60.20	55.96	27.57	27.55	53.86
	Mean	6.02	5.12	4.46	76.51	97.65	54.19	51.67	24.16	24.76	48.89
	LSD	0.71	0.68	0.44	5.06	8.52	2.54	2.00	0.77	0.91	1.85
	F-test	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
	%CV	6.92	7.88	5.85	3.96	5.51	2.76	2.27	1.88	2.15	2.2

** Significant at $P \leq 0.01$

DAS = Days after silking

ความสัมพันธ์ของระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิมกับจำนวนปากใบ

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิมกับจำนวนปากใบที่อยู่ด้านบนใบและปากใบที่อยู่ด้านล่างใบ (Figure 3) พบว่า ระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิมในการเก็บข้อมูลการเกิดโรคที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน หลังจากออกดอกกับจำนวนปากใบที่อยู่ด้านบนใบนั้นไม่มีความสัมพันธ์กัน ส่วนกับจำนวนปากใบที่อยู่ด้านล่างใบนั้นมีความสัมพันธ์กันทางบวกอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีความสัมพันธ์ในระดับต่ำ ($r = 0.37^*$ 0.46^* และ 0.40^* ตามลำดับ) โดยสอดคล้องกับงานทดลองของ Hursh (1924) ที่พบว่าจำนวนและขนาดของปากใบไม่มีความสัมพันธ์กับความต้านทาน โรคราสนิมในข้าวสาลี

ความสัมพันธ์ของระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิมกับความกว้างและความยาวของปากใบ

ระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิมในการเก็บข้อมูลการเกิดโรคที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน หลังจากออกดอกมีความสัมพันธ์ทางสถิติในทิศทางลบกับความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านบนใบ ($r = -0.77^{**}$ -0.70^* และ

-0.73^{**} ตามลำดับ) ความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านล่างใบ ($r = -0.79^{**}$ -0.76^* และ -0.79^{**} ตามลำดับ) ซึ่งพบว่าในโรคราสนิมของข้าวโพดนั้น เชื้อราสนิมเข้าทำลายข้าวโพดโดยเจริญเข้าสู่ต้นข้าวโพดโดยผ่านทางบริเวณปากใบ (Perezny and Kucharek, 1999) การมีปากใบที่แคบนั้น ทำให้มีโอกาสเชื้อเข้าทำลายพืชได้ยาก ดังนั้นจึงทำให้พันธุ์อ่อนแอมีลักษณะความกว้างปากใบมากกว่าพันธุ์ต้านทาน ซึ่งสอดคล้องกับหลายงานทดลองที่ศึกษาโรคในข้าวฟ่าง และถั่ว (Groth and Urs, 1982; Shaik, 1985; Edington et al., 1994a; Aghora, 1999; Kalappanavar and Hiremath, 2000; Divya et al., 2014) แต่ระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิมที่อายุ 7, 14 และ 21 วัน หลังจากออกดอกกับความยาวของปากใบ ไม่มีความสัมพันธ์กัน (Figure 4) สอดคล้องกับงานทดลองของ Shukla and Gangopadhyaya (1981) ที่พบว่าความยาวของปากใบไม่มีความสัมพันธ์กันกับโรคใบไหม้แบคทีเรียในข้าว ซึ่งจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า ความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านบนใบและปากใบที่อยู่ด้านล่างใบ น่าจะสามารถใช้ในการประเมินความต้านทานต่อโรคราสนิมเบื้องต้นในข้าวโพดได้

ความสัมพันธ์ของระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิมกับความเข้มของสีเขียวข้าวโพด

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิมกับสีเขียว (Figure 5) พบว่า ระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิม ในการเก็บข้อมูลอายุ 7, 14 และ 21 วัน หลังจากออกดอก มีความสัมพันธ์ทางลบกับค่าสีเขียว อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($r = -0.59^{**}$ -0.67^{**} และ -0.66^{**} ตามลำดับ) ซึ่งหากสีเขียวอ่อนลง ทำให้ค่าระดับคะแนนความต้านทานโรคราสนิมเพิ่มมากขึ้น กล่าวคือ ถ้าสีเขียวมีค่าลดลง ความต้านทานโรคราสนิมก็จะเพิ่มมากขึ้น ซึ่งคล้ายกับในข้าวที่มีงานทดลองของ (Lianghua and Zengrong, 1994) ที่พบว่าในใบข้าวที่มีสีเขียวเข้มจะเกิดความเสียหายของโรคกาบใบแห้ง และใบไหม้ที่เกิดจากแบคทีเรียมากกว่าใบข้าวที่มีสีอ่อน ซึ่งใบสีเขียวเข้มนั้นอาจ

จะเป็นเพราะมีธาตุไนโตรเจนที่สูง ซึ่งธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อพืช ดังนั้นการที่มีไนโตรเจนมากเกินไปจะทำให้เกิดความไม่สมดุลในพืช ทำให้เชื้อโรคเข้าทำลายได้ง่าย (Timothy and Arnold, 2013) และการมีไนโตรเจนมากเกินไปทำให้ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในพืชจะลดลง ซึ่งคลอโรฟิลล์เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ทำให้ผนังเซลล์แข็งแรง ช่วยให้พืชต้านทานโรคและแมลง โดยเฉพาะช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรานอกจากนี้ อีกด้านหนึ่งคลอโรฟิลล์ช่วยให้ช่องปากใบแคบลง (กรมการข้าว, 2549; มนตรี, 2555)

จากการศึกษาการวัดความเข้มสีเขียวของข้าวโพดนั้น ชี้ให้เห็นว่า สีใบที่อายุ 14 และ 21 วัน หลังจากออกดอก น่าจะสามารถใช้ในการประเมินความต้านทานต่อโรคราสนิมเบื้องต้นได้

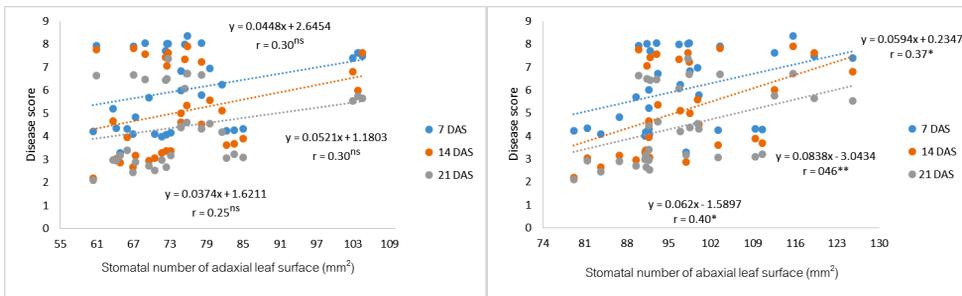


Figure 3 The relationship between level of resistance to rust disease and number of adaxial and abaxial stomata on leaf surface in corn.

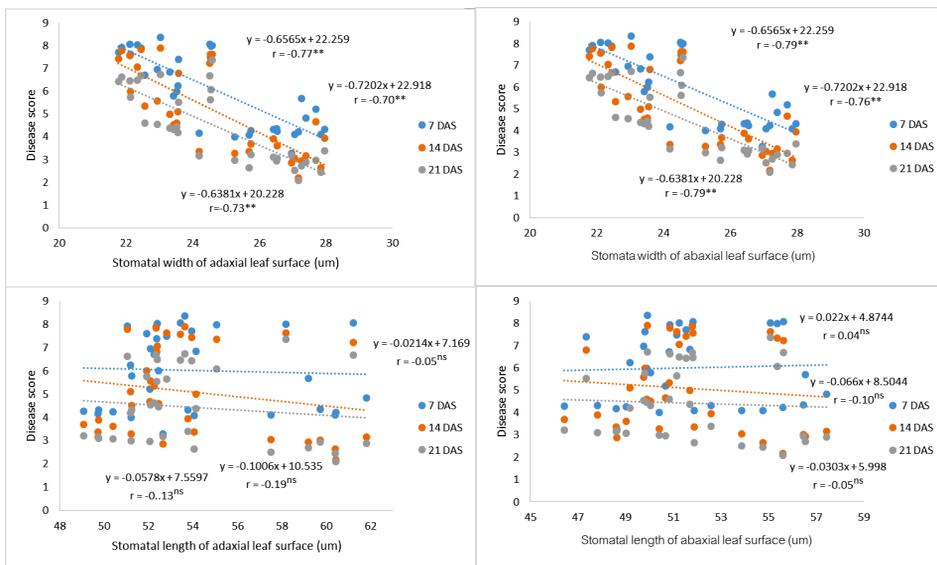


Figure 4 The relationship between level of resistance to rust disease with stomata width and stomata length on leaf surface in corn

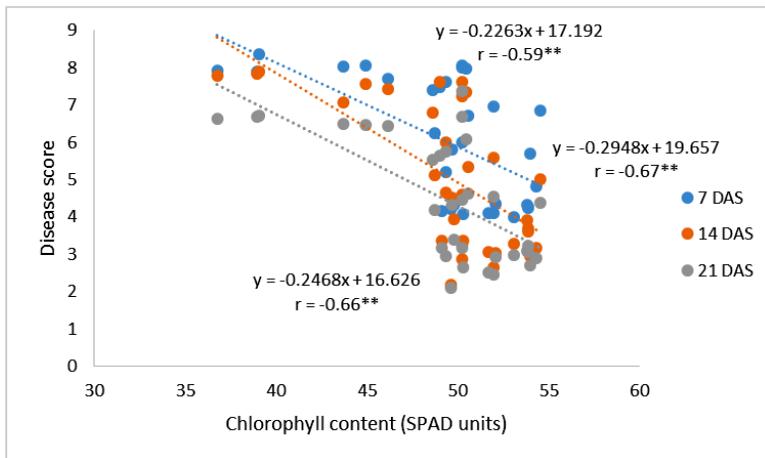


Figure 5 The relationship between level of resistance to rust disease and leaf color in corn.

สรุป

ข้าวโพดไร่ NS3 และข้าวโพดข้าวเหนียว Fancy111 เป็นแหล่งพันธุกรรมที่มีความต้านทานต่อโรคราสนิม ลักษณะความกว้างของปากใบที่อยู่ด้านบนใบและปากใบที่อยู่ด้านล่างใบ และ ลักษณะของสีเขียว น่าจะสามารถใช้ในการประเมินความต้านทานต่อโรคราสนิมในประชากรข้าวโพดได้เบื้องต้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืนคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว. 2549. การปลูก การดูแลรักษา และใช้ปุ๋ยในนาข้าว. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. แหล่งข้อมูล: <https://goo.gl/12fyih>. ค้นเมื่อ 22 มีนาคม 2559.
 กิ่งเพชร แก้วประเสริฐ. 2554. การพัฒนาต้นข้าวที่ต้านทานโรคไหม้ในไร่ของข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เจตษฎา อุดรพันธ์, ทวีศักดิ์ ภู่อกล้า, เฉลิมพล ภูมิไชย์ และประภาศรีพิจิตต์. 2552. การวิเคราะห์พันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะความต้านทานโรคราสนิมในข้าวโพด. น. 35-42. ใน: การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. 17-20 มีนาคม 2552. สาขาพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
 ปณวิตร สิชฌนชกสมิต, อุณารุจ บุญประกอบ และรัตติยาพงศ์พิสุทธา. 2557. การระบาดของโรคราสนิมและความต้านทานของพืชในประเทศไทย. เกษตร. 42(3): 668-673 มนตรี บุญจรัส. 2555. บทบาทของซิลิโคนต่อการบรรเทาความเครียดจากปัจจัยอชีววนะ. แหล่งข้อมูล: <https://goo.gl/gb3zFx>. ค้นเมื่อ 22 มีนาคม 2559.
 สมเกียรติ วิริยะพานิช, ดิลก อัญชลิสังกาศ, วีระ แจ่มกระจ่าง และนิยม จิวจิน. 2521. โรคข้าวโพด. เอกสารวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 22 หน้า.
 สุชาติพิทย์ แสงกุล. 2532. ความรุนแรงของโรคราสนิม *Puccinia polysora* Underw. ต่อข้าวโพดพันธุ์ต่างๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
 สุรศักดิ์ เพิ่มลาภ. 2539. การศึกษาปากใบของพรรณไม้หอมบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
 Agarwal, P. C., R. K. Khetarpal, and M. M. Payak. 2001. Polysora rust of maize caused by *Puccinia polysora*. Indian Journal of Agricultural Sciences. 71: 275-276.
 Aghora, T. S. 1999. Studies on mechanisms of resistance to rust and genetics of quantitative characters in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Ph.D. Thesis. University of Agricultural Sciences, Dharwad, India.

- Auwanich, W., and D. Anchareesangas. 1998. Plant Disease and Microbiology Newsletter. 8(1): 11-14.
- Camargo, R. S., L. C. Forti, R. T. Fujihara, and F. Roces. 2011. Digging effort by leaf-cutting ant queens (*Atta sexdens rubropilosa*) and its effects on survival and colony growth during the claustral phase. *Insectes Sociaux*. 58: 17-22.
- Chen, C. X., Z. L. Wang, D. E. Yang, C. J. Ye, Y. B. Zhao, D. M. Jin, M. L. Weng, and B. Wang. 2004. Molecular tagging and genetic mapping of the disease resistance gene *RppQ* to southern corn rust. *Theoretical and Applied Genetics*. 108: 945-950.
- Deacon, J. W. 2006. *Fungal Biology*. Blackwell Publishing Ltd. 4th Edition, Oxford, UK. 371p.
- Divya, B., T. S. Aghora, A. Rekha, H. P. Sudeep, and B. N. Radha. 2014. Physiological Basis of Rust Resistance in French Bean (*Phaseolus Vulgaris*). *International Journal of Horticulture*. 4(11): 53-57
- Edington, B. R., P. E. Shanahan, and F. H. J. Rijkenberg. 1994a. Breeding for partial resistance in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to bean rust (*Uromyces appendiculatus*). *Annals of Applied Biology*. 124: 341-350.
- Groth, J. V., and N. V. Rama Raje Urs. 1982. Differences among bean cultivars in receptivity to *Uromyces phaseoli* var. *typica*. *Phytopathology*. 72: 374-378.
- Holland, J. B., D. V. Uhr, D. Jeffers, and M. M. Goodman. 1998. Inheritance of resistance to southern corn rust in tropical-by-corn-belt maize populations," *Theoretical and Applied Genetics*. 96(2): 232-241.
- Ji, H. C. 2006. Epidermal cell response to rust hyphae and the resistance mode of tropical maize to southern corn rust (*Puccinia polysora* Underwood). *Journal of Plant Biology*. 49(5): 392-397.
- Kalappanaver, I. K., and R. V. Hiremath. 2000. Studies on stomatal characters in foliar disease resistant and susceptible sorghum genotypes. *Karnataka Journal of Agricultural Science*. 13: 68-72.
- Lianghua, W., and Z. Zengrong. 1994. The relationship between rice leaf color and occurrence of rice diseases and Insects and Its mechanism. *Chinese Journal of Rice Science*. 8(4): 231-235.
- Melching, J.S. 1975. Corn rust: type, races and destructive potential, pp.90-115. In: *Proceeding of the 30th Annual Corn and Sorghum Research Conference*. 30 th ASTA Chicago, USA.
- Meidner, H., and T. A. Mansfield. 1968. *Physiology of stomata*. McGraw-Hill Book, Co., London. 179 p.
- Meyer, B.S., D.B. Anderson, R.H. Bohning, and D.G. Fratiante. 1973. *Introduction to plant physiology* 2nd edition. D. Van Nostrand Company, New York, New York. 565 p.
- Perezny, K., and T. Kucharek. 1999. Rust diseases of several legumes and corn in Florida. Department of 281 Plant Pathology, Florida Cooperative Extension, Gainesville, FL.
- Raid, R. N., S. P. Pennypacker, and R. E. Stevenson. 1988. Characterization of *Puccinia polysora* epidemics in Pennsylvania and Maryland. *Phytopathology*. 78: 579-585.
- Rodrigues-Ardon, R., G. E. Scott, and J. F. Hennen. 1980. Maize yield losses caused by southern corn rust. *Crop Science*. 20: 812-814.
- Shukla, S. N., and S. Gangopadhyaya. 1981. Stomatal index and size of stomatal opening of rice cultivars varying in reaction to bacterial leaf blight. *Proceedings of the Indian National Science Academy*. 4: 557-559.
- Sikhandakasmitta, P., U. Boonprakob, and R. Pongpisutta. 2014. Stone fruit rust epidemiology and resistance of peach in Thailand. *Khon Kaen Agri. J.* 42(3): 668-673.
- Timothy, M. S., and W.S. Arnold. 2013. Mineral nutrition contributes to plant disease and pest resistance. Document is HS1181, one of a series of the Horticultural Sciences Department. Available: <https://edis.ifas.ufl.edu/hs1181>. Accessed March 14, 2016.