การศึกษาโรคแห้งตายในข้าวโพดหวาน

Study on Maize Lethal Necrosis Disease of Sweet Corn

วาสนา รุ่งสว่าง[1/] คนึงนิตย์ เหรียญวรากร[1,2,3/]

สุภาพร กลิ่นคง[1,2,3/] สุจินต์ ภัทรภูวดล[1,2,3/]

Wasana Rungsawang[1/] Kanungnit Reanwarakorn[1,2,3/]

Supaporn Klinkong[1,2,3/] Sujin Patarapuwado[1,2,3/]

ABSTRACT

Maize Lethal Necrosis Disease (MLND) is a result of a combination of two virus infection, the *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV) and any of the cereal viruses in the Potyviridae group. In this work, effect of co-infection by MCMV and *Sugarcane mosaic virus* strain MDB (SCMV-MDB) in 2 cultivars of sweet corn, Hybrix 3 and Insee 2 was studied. There are 7 treatments namely non-inoculation, inoculation by 0.1M Phosphate buffer pH7.2 (Mock), inoculation by sap of MCMV only, inoculation by sap of SCMV-MDB only, mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:10], mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:5] and MCMV [1:10] and mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:5]. Then, symptoms and disease severity were observed at 7, 14, 21, 28 and 35 days post inoculation (dpi) and evaluated of the disease index (DI). The results showed that co-infection of the both viruses caused more disease severity and increased DI comparing to the single infection of MCMV. Base on this test, co-infection of both viruses in Hybrix 3 and Insee 2 produced a synergistic reaction causing MLND and

[1/] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสาตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

Department of Plant Patholgy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

[2/] ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

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

[3/] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ กรุงเทพฯ.

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

infected plants were killed at 3 weeks after inoculation. Thus, control measures of both viruses should be concerned because both viruses have been found in the major areas of corn production in Thailand.

Key-words: co-infection, *Sugarcane mosaic virus* strain MDB, *Maize chlorotic mottle virus*, corn diseases, field crop diseases

บทคัดย่อ

โรคแห้งตายในข้าวโพด (Maize lethal necrosis disease (MLND)) เกิดจากการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสใบด่างจุดประข้าวโพด (*Maize chlorotic mottle virus* (MCMV)) กับเชื้อในกลุ่ม Potyviridae ในการศึกษาโรคแห้งตายในข้าวโพดครั้งนี้เป็นการศึกษาการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อ MCMV และเชื้อ *Sugarcane mosaic virus* strain MDB (SCMV-MDB) โดยศึกษาในข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 และอินทรี 2 การทดสอบประกอบด้วย 7 กรรมวิธี ได้แก่ (1) ไม่ปลูกเชื้อ (2) ทาใบด้วยบัฟเฟอร์ (3) ปลูกเชื้อ MCMV ชนิดเดียว (4) ปลูกเชื้อ SCMV-MDB ชนิดเดียว (5) ปลูกเชื้อ SCMV-MDB [1:10] ร่วมกับ MCMV [1:10] (6) ปลูกเชื้อ SCMV-MDB [1:5] ร่วมกับ MCMV [1:10] และ (7) ปลูกเชื้อ SCMV-MDB [1:10] ร่วมกับ MCMV [1:5] บันทึกอาการและความรุนแรงของโรคที่ 7, 14, 21, 28 และ 35 วันหลังการปลูกเชื้อ คำนวนค่าดัชนีการเกิดโรคและตรวจวัดปริมาณเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA พบว่าเชื้อ SCMV-MDB มีความรุนแรงในการก่อโรคมากกว่าเชื้อ MCMV และการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้งสองชนิด ส่งผลให้ข้าวโพดหวานทั้ง 2 สายพันธุ์แสดงอาการของโรครุนแรงเพิ่มมากขึ้น มีค่าดัชนีการเกิดโรคสูงถึง 100% หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการเข้าทำลายของเชื้อ MCMV หรือ SCMV-MDB เพียงชนิดเดียว และการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดในข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 และอินทรี 2 ส่งผลให้เกิดโรคแห้งตายในข้าวโพดทั้งสองพันธุ์หลังการปลูกเชื้อ 21 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าในต้นเป็นโรคที่ปลูกเชื้อร่วมกันมีปริมาณเชื้อไวรัส SCMV-MDB มากกว่า MCMV หลังจากปลูกเชื้อ 14 วัน และพบปริมาณไวรัสทั้ง 2 ชนิดในข้าวโพดพันธุ์อินทรี 2 มากกว่าข้าวโพดพันธุ์ไบริกซ์ 3

คำหลัก: การเข้าทำลายร่วมกัน, เชื้อไวรัสใบด่างแคระข้าวโพด, เชื้อไวรัสใบด่างจุดประข้าวโพด, โรคข้าวโพด, โรคพืชไร่

คำนำ

โรคแห้งตายในข้าวโพด (Maize lethal necrosis disease, MLND, or Corn lethal necrosis disease, CLND) ก่อให้เกิดความสูญเสียอย่างรุนแรงในการผลิตข้าวโพด (*Zea mays* L.) ในรัฐแคนซัสประเทศสหรัฐอเมริกา มีการ

ประเมินความเสียหายจาก MLND สูงถึง 50-90% (Niblett and Claflin, 1978; Uyemoto *et al.,* 1980) โดยจะขึ้นอยู่กับพันธุ์ของข้าวโพดและสภาพภูมิอากาศในปีนั้น ๆ ขณะที่ในประเทศเคนยาโรคแห้งตายในข้าวโพดก่อให้เกิดความเสียหายถึง 100% (Wangai *et al*., 2012) ลักษณะอาการของโรคที่พบระบาดรุนแรงในข้าวโพดจะทำให้เกิดอาการใบด่างประอย่างรุนแรง มีแผลไหม้บนใบ ลำต้น และฝักอ่อน (Uyemoto *et al*., 1980; Goldberg and Brakke, 1987) และพบว่าสาเหตุเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ MCMV (*Maize chlorotic mottle virus*) ร่วมกับเชื้อไวรัสในกลุ่ม Potyviridae ในลักษณะปฏิสัมพันธ์ร่วมกันของเชื้อ (synergistic reaction) เช่นการเข้าทำลายของเชื้อ MCMV ร่วมกับเชื้อ *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) หรือร่วมกับเชื้อ *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) (Wu *et al*., 2013; Scheets, 1998; Foster, 1984) การเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อ MCMV และเชื้อ MDMV ส่งผลให้ข้าวโพดแสดงอาการของโรครุนแรงมากกว่าการถูกเข้าทำลายของเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงเชื้อเดียว โดยจะทำให้ข้าวโพดมีอาการใบด่าง (chlorosis) อย่างรุนแรง และเกิดอาการไหม้ (necrosis) ส่งผลให้การติดฝักลดลง หากเกิดในข้าวโพดที่มีสายพันธุ์อ่อนแอจะทำให้ต้นแคระแกร็นอย่างรุนแรง และทำให้พืชตายในที่สุด (Adams *et al.,* 2013; Wangai *et al*., 2012; Xie *et al*., 2011; Doupnik *et al*., 1979; Niblett and Claflin, 1978) นอกจากนี้เชื้อ MCMV ยังสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้อีกด้วย (Shen *et al*., 2011 ; Zhang *et al*., 2011)

สำหรับในประเทศไทย โรคใบด่างลายและใบด่างแคระข้าวโพดมีรายงานพบการแพร่ระบาดในแหล่งปลูกข้าวโพดหลายพื้นที่ ในเบื้องต้นพบว่ามีสาเหตุจากเชื้อ SCMV (*Sugarcane mosaic virus*) ชนิดที่มีความใกล้ชิดกับเชื้อ MDMV-B (เอื้อมขวัญและคณะ, 2547) ซึ่งปัจจุบัน ICTV (International Committee on taxonomy of Viruses) ได้มีการกำหนดให้ใช้ชื่อเชื้อ SCMV-MDB (*Sugarcane mosaic virus* strain MDB) แทน ชื่อ MDMV-B และในช่วงปี พ.ศ. 2548-2549 มีการศึกษาและจำแนกไวรัส 2 ชนิดที่เป็นสาเหตุโรคระบาดสำคัญของข้าวโพดหวาน พบว่ามีการระบาดของเชื้อ MCMV มากที่สุดคือ 91% รองลงมาคือเชื้อไวรัส SCMV และพบการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดด้วย (พิสสวรรณและคณะ, 2550)

เนื่องจากมีการระบาดของเชื้อ MCMV และเชื้อ SCMV-MDB ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดของประเทศไทย ดังนั้นพื้นที่ปลูกข้าวโพดจึงมีความเสี่ยงที่จะเกิดการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้งสองชนิด และอาจสร้างความเสียหายที่รุนแรงและส่งผลกระทบต่อผลผลิตของข้าวโพดของเกษตรกรในอนาคตได้ ดังนั้นจึงจำเป็นที่ต้องทำการศึกษาเกี่ยวกับการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส MCMV ร่วมกับเชื้อ SCMV-MDB เพื่อให้ทราบถึงอาการและความรุนแรงของโรคที่อาจมีโอกาสเกิดขึ้น เพื่อเป็นแนวทางและแหล่งของข้อมูลพื้นฐานที่จะนำไปสู่การหาวิธีการในการป้องกัน หรือ

ยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในข้าวโพด และเป็นข้อมูลให้กับนักปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดที่จะสร้างพันธุ์ต้านทานซึ่งเป็นวิธีป้องกันที่มีประสิทธิภาพและยั่งยืนที่สุด

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมเชื้อไวรัสเพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณของเชื้อในต้นข้าวโพด

1.1 เตรียมเชื้อ *Sugarcane mosaic virus* strain MDB (SCMV-MDB) บริสุทธิ์

นำใบข้าวโพดที่ปลูกเพิ่มปริมาณเชื้อ SCMV-MDB ซึ่งแสดงอาการใบด่างมาตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) เพื่อยืนยันผลการเข้าทำลายของเชื้อ จากนั้นสกัดแยกเชื้อไวรัส SCMV ให้บริสุทธิ์ ตามวิธีการของ Bond and Pirone (1971) ดังนี้ ตัดใบข้าวโพดที่แสดงอาการเป็นชิ้นเล็ก ๆ ปั่นด้วยเครื่องปั่นละเอียดร่วมกับ Borate buffer pH 7.8 ที่ผสม 0.2% 2-mercaptoethanol อัตราส่วนน้ำหนักพืช 1 ก./บัฟเฟอร์ 2 มล. จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อกำจัดเศษพืช โดยเก็บเฉพาะส่วนของน้ำคั้น เติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 1 เท่าของน้ำหนักใบพืช กวนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 ˚ซ เป็นเวลา 15 นาที แยกเก็บเฉพาะส่วนใส เติม Polyethylene glycol 6000 (PEG 6000) อัตรา 5% ของปริมาตรส่วนใส กวนที่อุณหภูมิ 4 ˚ซ เป็นเวลา 2 ชม. จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 ˚ซ เป็นเวลา 15 นาที แยกเก็บเฉพาะส่วนตะกอน นำตะกอนมาละลายด้วยสารละลาย Borate buffer pH 7.8 อัตราส่วน 1/10 (v/v) ของน้ำคั้นพืชเริ่มต้น เมื่อตะกอนละลายเรียบร้อยแล้วนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 ˚ซ เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเก็บเฉพาะส่วนใสมาเติม PEG 6000 และ Sodium chloride(NaCl) โดยใช้อัตราส่วนใส 10 มล. ต่อสาร PEG 6000 จำนวน 0.5 ก. และ NaCl จำนวน 0.4 ก. กวนที่อุณหภูมิ 4 ˚ซ นาน 90 นาที เมื่อครบเวลานำของเหลวดังกล่าวไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 ˚ซ เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเก็บเฉพาะตะกอนนำมาละลายด้วยสารละลาย Borate buffer pH 7.8 อัตราส่วน 1/100 (v/v) ของน้ำคั้นพืชเริ่มต้น เมื่อตะกอนละลายนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 ˚ซ นาน 10 นาที จากนั้นเก็บเฉพาะส่วนใสซึ่งเป็นส่วนของสารแขวนลอยของอนุภาคไวรัสบริสุทธิ์ เพื่อนำไปใช้งานต่อไป

1.2 เตรียมเชื้อ *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV) บริสุทธิ์

นำใบข้าวโพดที่ปลูกเพิ่มปริมาณเชื้อ MCMV ซึ่งแสดงอาการด่างจุดประ นำมาตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA เพื่อยืนยันการเข้าทำลายของเชื้อ MCMV จากนั้นนำมาแยกสกัดไวรัส MCMV ให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธีการของ Niblett and Paulsen (1975) ดังนี้ นำใบข้าวโพดที่แสดงอาการใบด่างจุดประมาบดด้วยเครื่องปั่นละเอียดร่วมกับ 0.2 Mdi-Potassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4), pH 5.0 ที่เติม 0.5% 2-

Mercaptoethanol โดยใช้อัตราส่วน 1:2 (w/v) จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 20 นาที แยกเก็บเฉพาะส่วนน้ำใสมาเติมคลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1/4 ของปริมาตรน้ำใส จากนั้นนำไปกวนให้เข้ากันที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 20 นาที

หลังจากนั้นแยกเก็บเฉพาะส่วนน้ำใสชั้นบนมาเติม Polyethylene glycol 6000 อัตรา 6% (w/v) และเติมสาร Potassium chloride (KCl) อัตรา 4% (w/v) กวนให้ละลายเข้ากันที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที แล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 20 นาที แล้วเก็บเฉพาะส่วนของตะกอนมาละลายด้วย 0.02 M K_2HPO_4, pH 5.0 ปริมาตร 1/10 ของปริมาตรน้ำคั้นเริ่มต้น เมื่อตะกอนละลายแล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอน PEG ออกจากไวรัสด้วยความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นแยกเก็บเฉพาะส่วนน้ำใสมาเติม Polyethylene glycol 6000 อัตรา 6% (w/v) และเติมสาร KCl อัตรา 4% (w/v) กวนให้ละลายเข้ากันที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 20 นาที และแยกเก็บเฉพาะส่วนของตะกอนมาละลายด้วย 0.02 M K_2HPO_4, pH 5.0 ปริมาตร 1/100 ของปริมาตรน้ำคั้นเริ่มต้น เมื่อตะกอนละลายหมดนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 °ซ จากนั้นเก็บเฉพาะส่วนใสซึ่งเป็นส่วนของสารแขวนลอยของอนุภาคไวรัสบริสุทธิ์เพื่อนำไปใช้งานต่อไป

1.3 เตรียมน้ำคั้นจากใบพืชเป็นโรคสำหรับปลูกเชื้อแก่พืชทดสอบ

นำสารแขวนลอยของเชื้อไวรัสบริสุทธิ์ที่ได้จากข้อ 1.1 และ 1.2 ไปปลูกเชื้อลงในข้าวโพดปกติเพื่อเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรัสแต่ละชนิดในต้นพืช จากนั้นในสัปดาห์ที่ 1 หลังการปลูกเชื้อจึงเก็บตัวอย่างพืชของแต่ละเชื้อ ซึ่งเริ่มแสดงอาการที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า นำไปตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสแต่ละชนิดด้วยเทคนิค ELISA จากนั้นเมื่อครบ 2 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ จึงเก็บใบข้าวโพดดังกล่าวมาเตรียมน้ำคั้นพืชโดยแยกเตรียมของแต่ละเชื้อดังนี้ เก็บรวบรวมใบพืชเป็นโรคแล้วนำมาบดด้วยเครื่องปั่นละเอียดร่วมกับสารละลาย 0.1 M Phosphate buffer, pH 7.2 ที่ผสม 0.2% Sodium sulfite ที่อัตราส่วนใบพืช 1 ก./บัฟเฟอร์ 2 มล. จากนั้นเจือจางน้ำคั้นที่ได้ด้วยบัฟเฟอร์ชนิดเดียวกันเพื่อให้ได้อัตราส่วนตามที่ต้องการในแต่ละกรรมวิธี และนำไปปลูกเชื้อแก่พืชทดสอบ ประกอบด้วย 7 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 คือ ข้าวโพดปกติ (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 คือ ทาใบพืชด้วย 0.1 M phosphate buffer, pH 7.2 (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 3 คือ ปลูกเชื้อ MCMV

เพียงเชื้อเดียว ด้วยน้ำคั้นจากใบพืชอัตราส่วน 1:10(w/v)

กรรมวิธีที่ 4 คือ ปลูกเชื้อ SCMV เพียงเชื้อเดียว ด้วยน้ำคั้นจากใบพืชอัตราส่วน 1:10(w/v)

กรรมวิธีที่ 5 คือ ปลูกเชื้อ SCMV รวมกับเชื้อ MCMV ด้วยน้ำคั้นจากใบพืช อัตราส่วน 1:10(w/v)

กรรมวิธีที่ 6 คือ ปลูกเชื้อ SCMV อัตราส่วน 1:5(w/v) รวมกับเชื้อ MCMV อัตราส่วน 1:10(w/v)

กรรมวิธีที่ 7 คือ ปลูกเชื้อ SCMV อัตราส่วน 1:10(w/v) รวมกับเชื้อ MCMV อัตราส่วน 1:5(w/v)

2. การเตรียมพืชทดสอบและวิธีการทดสอบ

2.1 การเตรียมพืชทดสอบ

พืชทดสอบสำหรับการทดลอง คือ ข้าวโพดหวานจำนวน 2 สายพันธุ์ได้แก่ พันธุ์ไฮบริกซ์ 3 และพันธุ์อินทรี 2 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูก โดยปลูกลงในกระถางขนาด 6 นิ้ว จำนวน 3-4 ต้น/กระถาง จำนวน 3 กระถาง/กรรมวิธี เมื่อต้นข้าวโพดเจริญเติบโตจนมีใบที่คลี่ออก 2-3 ใบ หรือมีอายุปลูกประมาณ 7 วัน จึงทำการปลูกเชื้อโดยวิธีกลตามกรรมวิธีการทดสอบต่าง ๆ

2.2 การปลูกเชื้อด้วยวิธีกล

นำน้ำคั้นจากใบพืชเป็นโรคที่เตรียมไว้ตามอัตราส่วนของแต่ละกรรมวิธีจากข้อ 1.3 มาเติมผงคาร์บอรันดัมปริมาณ 0.2% ของน้ำคั้นใบพืช แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นใช้พู่กันจุ่มลงในน้ำคั้นทาให้ทั่วใบข้าวโพดทดสอบ ที่ตำแหน่งใบยอดและใบถัดมาจำนวน 2 ใบในแต่ต้น หลังการปลูกเชื้อประมาณ 15-20 นาที จึงล้างใบพืชด้วยน้ำสะอาด

2.3 การตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA

เก็บตัวอย่างใบข้าวโพดทุกต้นในแต่ละกรรมวิธี หลังการปลูกเชื้อ 7 และ 14 วัน นำมาตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA แบบ Direct antigen coating-ELISA (DAC-ELISA) โดยดำเนินการตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Clark and Adam (1977) ใช้อัตราส่วนของใบพืชต่อบัฟเฟอร์ (Carbonate coating buffer, pH 9.6) ที่ 1:10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) และใช้แอนติซีรั่มต่อเชื้อไวรัสใบด่างแคระข้าวโพด (Anti-SCMV-MDB) และแอนติซีรั่มต่อเชื้อไวรัสใบด่างจุดประข้าวโพด (Anti-MCMV) วัดผลของปฏิกิริยาหลังการเติมซับสเตรทและบ่มในที่มืด ณ ช่วงเวลา 30 และ 60 นาที โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical density; OD.) ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยค่า OD. ที่วัดได้ถือเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของเชื้อไวรัส

3. การบันทึกผล

3.1 ลักษณะอาการของโรค

สังเกตและบันทึกลักษณะอาการโรคที่ปรากฏบนใบข้าวโพดและมองเห็นด้วยตาเปล่า

ของข้าวโพดทั้ง 2 สายพันธุ์ในทุกกรรมวิธี ในช่วงเวลาที่ 7, 14 และ 21 วัน หลังการปลูกเชื้อ

3.2 ดัชนีการเกิดโรค (Disease Index)

บันทึกอาการการเกิดโรคด้วยสายตาที่ 7, 14, 21, 28 และ 35 วันหลังการปลูกเชื้อ และประเมินให้ระดับคะแนนตามอาการที่ปรากฏ ซึ่งดัดแปลงจาก Zeng *et al.* (2007) ด้วยเกณฑ์ต่อไปนี้

ระดับคะแนน 0 คือ พืชไม่ปรากฏอาการผิดปกติ

ระดับคะแนน 1 คือ พืชแสดงอาการด่างเล็กน้อยหรือเกิดจุด

ระดับคะแนน 2 คือ พืชแสดงอาการด่างประมาณ 50% ของพื้นที่ใบ

ระดับคะแนน 3 คือ พืชแสดงอาการด่างรุนแรงทั่วทั้งใบ

ระดับคะแนน 4 คือ พืชแสดงอาการด่างรุนแรงร่วมกับอาการไหม้ หรือพืชเตี้ยแคระหรือพืชตาย

จากนั้น นำระดับคะแนนของการประเมินอาการไปคำนวณเพื่อหาค่าของดัชนีการเกิดโรคโดยใช้สมการ (Chen *et al*., 2003) ดังนี้

$$DI = \frac{\sum n_x \times grade_x}{n_{total} \times grade_{hightest}} \times 100\%$$

โดยที่

DI คือ ดัชนีการเกิดโรค (Disease index)

$grade_x$ คือ ระดับคะแนนที่แน่นอน (certain grade)

n_x คือ จำนวนพืชที่ได้ระดับคะแนนนั้น ๆ

$grade_{hightest}$ คือ ระดับคะแนนที่สูงสุด

n_{total} คือ จำนวนพืชทั้งหมด

3.3 บันทึกค่า OD. จากการตรวจสอบโดยวิธี ELISA ของแต่ละกรรมวิธี ที่ 7 และ 14 วันหลังการปลูกเชื้อ ค่า OD. ในกรรมวิธีที่มีค่ามากกว่า 2 เท่าของกรรมวิธีควบคุม (กรรมวิธีที่ 1 และ 2) แสดงว่าตรวจพบเชื้อไวรัสชนิดนั้น ๆ

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะอาการของโรคแห้งตายในข้าวโพด

ลักษณะอาการของโรคแห้งตายในข้าวโพด (MLND) ที่พบในข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 (Figure 1) และอินทรี 2 (Figure 2) ในกรรมวิธีที่ 1 และ 2 ทุกช่วงเวลาหลังการปลูกเชื้อ พบว่าข้าวโพดยังคงมีลักษณะปกติ คือใบมีสีเขียวสม่ำเสมอ ไม่พบอาการด่าง อาการเหลือง หรืออาการไหม้ ส่วนกรรมวิธีการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสเพียงชนิดเดียวคือ MCMV พบว่าที่ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ ข้าวโพดแสดงอาการด่างมีลักษณะเป็นรอยขีดสีเหลือง และอาการด่างจะพัฒนาและเพิ่มพื้นที่มากขึ้นหลังการปลูกเชื้อ 14 และ 21 วัน โดยลักษณะรอยขีดเหลืองจะเชื่อมต่อกันเป็นรอยด่างที่ยาวและกว้างขึ้นกระจายออกไปตามแนวของพื้นที่ใบ ขณะที่ต้นข้าวโพดที่ได้รับเชื้อ SCMV-MDB เพียงอย่างเดียวพบว่าแสดงอาการด่างลาย โดยเริ่มเกิดเป็นอาการจุดด่าง หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน และพัฒนาเป็นแถบด่างสีเขียวอ่อนสลับกับสีเขียวอย่างชัดเจน จากนั้นในช่วง 14 – 21 วันหลังการปลูกเชื้อ อาการ

Figure 1 Symptoms of Maize lethal necrosis disease (MLND) on sweet corn cv. Hybrix3, number 1, 2 and 3 = 7, 14 and 21days post inoculation, respectively. A, B, C, D, E, F and G = Treatment No. 1 (uninoculated plant), 2 (mock-inoculated plant), 3 (MCMV inoculated plant), 4 (SCMV-MDB inoculated plant), 5 (mix-inoculated plant SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:10]), 6 (mix-inoculated plant SCMV-MDB [1:5] and MCMV [1:10]) and 7 (mix-inoculated plant SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:5]), respectively

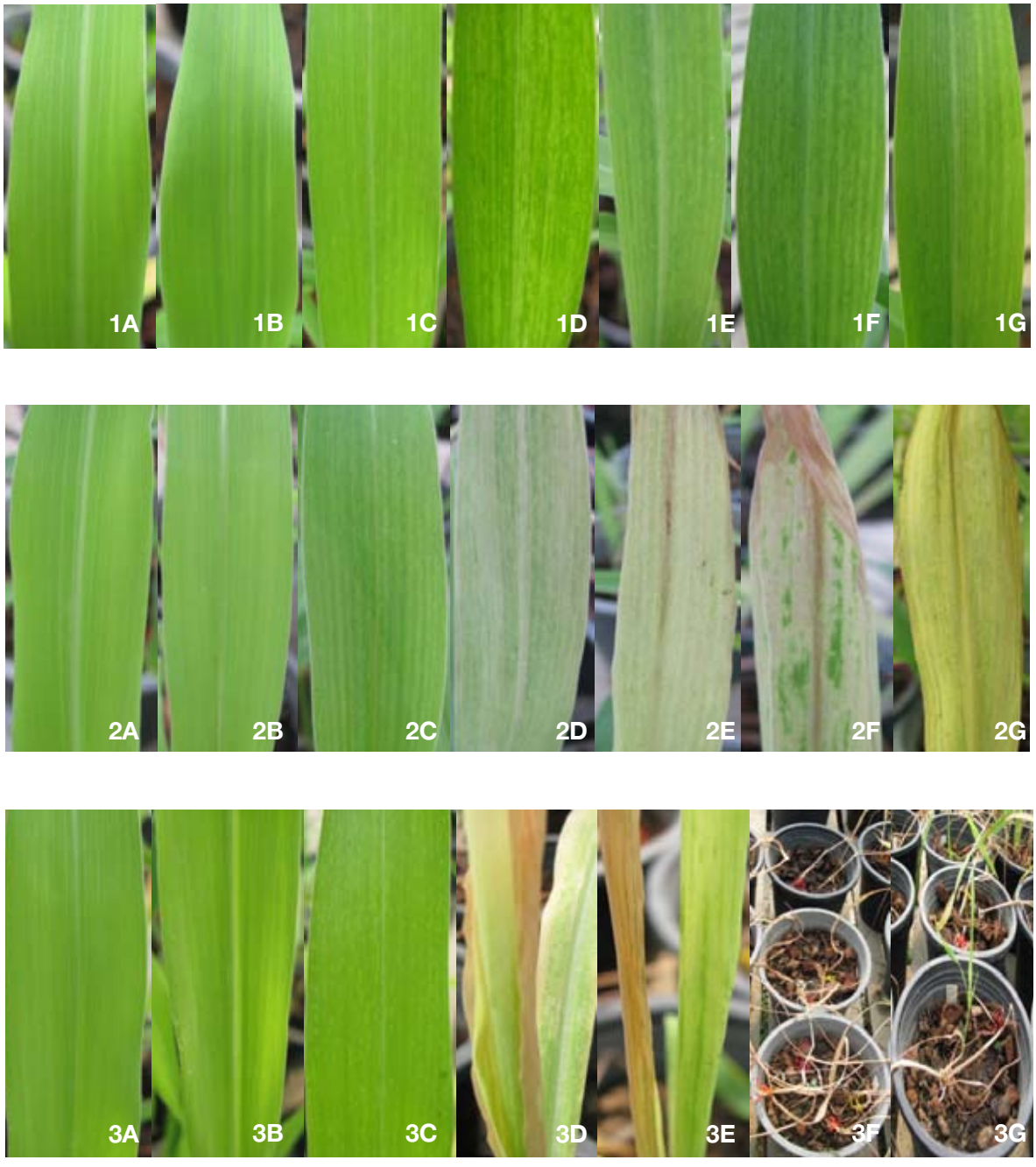

Figure 2 Symptoms of Maize lethal necrosis disease (MLND)on sweet corn cv. Intree 2, number 1, 2 and 3 = 7, 14 and 21days post inoculation, respectively. A, B, C, D, E, F and G = Treatment No. 1 (uninoculated plant), 2 (mock-inoculated plant), 3 (MCMV inoculated plant), 4 (SCMV-MDB inoculated plant), 5 (mix-inoculated plant SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:10]), 6 (mix-inoculated plant SCMV-MDB [1:5] and MCMV [1:10]) and 7 (mix-inoculated plant SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:5), respectively

ด่างจะขยายพื้นที่ไปทั่วทั้งใบจนกระทั่งด่างทั่วต้น และในบางต้นเกิดอาการเนื้อใบและขอบใบไหม้ร่วมด้วย

ขณะที่ในกรรมวิธีที่มีการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดคือ กรรมวิธีที่ 5, 6 และ 7 พบว่าลักษณะอาการของโรคที่ปรากฏในทั้ง 3 กรรมวิธีมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันเมื่อสังเกตอาการด้วยตาเปล่า คือที่ 7 วัน หลังการปลูกเชื้อ ใบข้าวโพดแสดงอาการด่างจุดประเหลืองร่วมกับอาการด่างลาย และพืชเริ่มแสดงอาการเหลืองร่วมกับอาการเนื้อใบและขอบใบไหม้ที่ 14 วัน หลังการปลูกเชื้อ การเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดนี้ส่งผลให้ข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 เกิดอาการใบไหม้และแห้งตาย 100% หลังการปลูกเชื้อ 21 วัน ส่วนในข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 พบว่าลักษณะอาการของโรคที่ปรากฏในทั้ง 3 กรรมวิธีที่มีการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อ มีลักษณะที่คล้ายคลึงกับอาการที่เกิดขึ้นในข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 และเกิดอาการใบไหม้และแห้งตาย 100% หลังการปลูกเชื้อ 21 วัน เช่นกัน ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่า ถ้าข้าวโพดมีการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส SCMV-MBD และ MCMV ร่วมกันไม่ว่าจะมีสัดส่วนของเชื้อไวรัสแต่ละชนิดเท่าใดก็ตามสามารถเกิดความรุนแรงของโรค ทำให้ข้าวโพดเสียหายแห้งตายได้เหมือนกัน

2. ดัชนีการเกิดโรค (Disease Index; DI)

ค่าดัชนีการเกิดโรค (DI) เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงความรุนแรงของการเกิดโรคที่ปรากฏ โดยการสังเกตลักษณะอาการของโรคด้วยตาเปล่าประเมินให้คะแนนอาการ และคำนวณค่า DI ตามสูตร พบว่า ในกรรมวิธีที่ 1 และ 2 ซึ่งเป็นกรรรมวิธีควบคุมข้าวโพดไม่มีอาการผิดปกติตลอดการทดลองคือมีค่า DI เท่ากับ 0% ขณะที่กรรมวิธีที่ 3 (MCMV) และกรรมวิธีที่ 4 (SCMV-MDB) ข้าวโพดได้รับเชื้อไวรัสเข้าทำลายเพียงชนิดเดียว มีค่า DI อยู่ระหว่าง 38.47-88.05% และ 91.67-100% ในข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 (Table 1) และผลปรากฏว่าค่า DI ในกรรมวิธีที่ 3 น้อยกว่าในกรรมวิธีที่ 4 ในทุก ๆ ช่วงเวลาหลังการปลูกเชื้อ เมื่อมีการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิด (กรรมวิธี 5 และ 6) ค่าดัชนีการเกิดโรคเพิ่มขึ้นเป็น 100% ตั้งแต่ที่ 14 วันหลังการปลูกเชื้อ ขณะที่กรรมวิธีที่ 7 ค่า DI จะต่ำกว่า (82.61-95.65%)

ข้าวโพดพันธุอินทรี 2 จะอ่อนแอต่อเชื้อ SCMV-MDB มากกว่าข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 เพราะที่ 14 วันหลังการปลูกเชื้อ จะมีค่า DI สูงถึง 100% (Table 2) ขณะที่ข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 มีค่า DI 100% หลังการปลูกเชื้อ 28 วัน และเมื่อการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัส 2 ชนิด ก็จะมีความรุนแรงของโรคเพิ่มมากขึ้นเป็น 100% เช่นเดียวกัน จากการทดลองในครั้งนี้แสดงว่าให้เห็นว่าข้าวโพดหวานทั้งสองพันธุ์อ่อนแอต่อเชื้อ SCMV-MDB มากกว่าเชื้อ MCMV และข้าวโพดพันธุ์อินทรี 2 จะอ่อนแอต่อเชื้อ SCMV-MDB มากกว่าข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 (Figure 3)

ในการทดสอบครั้งนี้ การเข้าทำลายร่วม

Table 1 Disease index (DI) of each treatments in corn cv. Hybrix 3 at 7, 14, 21, 28 and 35 days post inoculation (dpi)

Treatment[1/]	DI (%) at each dpi.				
	7 dpi	14 dpi	21 dpi	28 dpi	35 dpi
Tr1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tr2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tr3	64.10	82.05	38.47	69.24	55.78
Tr4	91.67	95.31	96.88	100.00	100.00
Tr5	77.50	100.00	100.00	100.00	100.00
Tr6	94.44	100.00	100.00	100.00	100.00
Tr7	82.61	93.47	93.47	93.47	95.65

[1/] Tr1 = Non-inoculation, Tr2 = Inoculation by 0.1M Phosphate buffer. pH7.2 (Mock), Tr3 = Inoculation by sap of MCMV, Tr4 = Inoculation by sap of SCMV-MDB , Tr5 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:10], Tr6 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:5] and MCMV [1:10], Tr7 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:5]

Table 2 Disease index (DI) of each treatments in corn cv. Intree2 at 7, 14, 21, 28 and 35 days post inoculation (dpi)

Treatment[1/]	DI (%) at each dpi.				
	7 dpi	14 dpi	21 dpi	28 dpi	35 dpi
Tr1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tr2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Tr3	70.36	70.37	77.77	81.48	63.89
Tr4	83.33	100.00	100.00	100.00	100.00
Tr5	95.23	100.00	100.00	100.00	100.00
Tr6	87.50	100.00	100.00	100.00	100.00
Tr7	94.88	94.23	94.23	98.08	96.16

[1/] Tr1 = Non-inoculation, Tr2 = Inoculation by 0.1M Phosphate buffer. pH7.2 (Mock), Tr3 = Inoculation by sap of MCMV only, Tr4 = Inoculation by sap of SCMV-MDB only, Tr5 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:10], Tr6 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:5] and MCMV [1:10], Tr7 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:5]

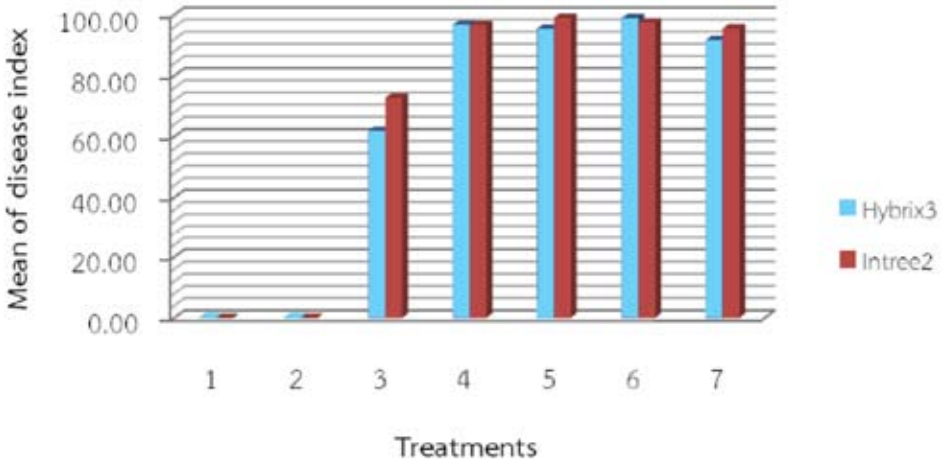

Figure 3 Comparison of disease index(DI) between sweet corn cultivars, Hybrix 3 and Intree 2.Tr1 = Non-inoculation, Tr2 = Inoculation by 0.1 M Phosphate buffer. pH 7.2 (Mock), Tr3 = Inoculation by sap of MCMV only, Tr4 = Inoculation by sap of SCMV-MDB only, Tr5 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:10], Tr6 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:5] and MCMV [1:10], Tr7 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:5]

กันของเชื้อทั้ง 2 ชนิดในกรรมวิธีที่ 5 และ 6 จะมีความรุนแรงของโรคมากกว่ากรรมวิธีที่ที่ 7 เนื่องจากในกรรมวิธีที่ 7 อัตราส่วนความเข้มข้นของเชื้อ SCMV-MDB ในการปลูกเชื้อน้อยกว่าเชื้อMCMV (เชื้อ SCMV-MDB อัตราส่วน 1:10 (w/v) รวมกับเชื้อ MCMV อัตราส่วน 1:5 (w/v) จึงทำให้เกิดความรุนแรงของโรคน้อยกว่า เพราะเชื้อไวรัส MCMV (กรรมวิธีที่ 3) ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคน้อยกว่า SCMV-MDB (กรรมวิธีที่ 4)

ค่าดัชนีการเกิดโรค (DI) ในแต่ละกรรมวิธีของข้าวโพดหวานทั้ง 2 สายพันธุ์ บ่งชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อ MCMV และ เชื้อ SCMV-MDB มีการส่งเสริมกันในการเข้าทำลายข้าวโพดหวาน ซึ่งเกิดความรุนแรงของโรคที่ใกล้เคียงกันและมีความรุนแรงกว่าการเข้าทำลายของเชื้อ MCMV เพียงชนิดเดียวสอดคล้องกับการเกิดโรค MLN หรือ CLN (Xie *et al.,* 2011)

3. ปริมาณเชื้อไวรัสในต้นข้าวโพด

จากการตรวจวัดปริมาณของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA ในต้นพืชพบว่าข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ มีปริมาณเชื้อไวรัส MCMV และ SCMV-MDB เท่ากับ 2.616 และ 2.717 และปริมาณเชื้อไวรัสลดลงเหลือ 1.839 และ 2.592 ตามลำดับหลังการปลูกเชื้อ 14 วัน (Table 3) ขณะที่ข้าวโพดที่มีการ

เข้าทำลายของไวรัส 2 ชนิด (กรรมวิธีที่ 5, 6 และ 7) ปริมาณเชื้อ SCMV-MDB เท่ากับ 2.713, 2.581 และ 2.468 ตามลำดับ และหลังปลูกเชื้อ 7 วัน ซึ่งมีปริมาณมากกว่าเชื้อ MCMV ในทุกกรรมวิธี ถึงอย่างไรก็ตามปริมาณของเชื้อไวรัสลดลงในทุกกรรมวิธีหลังปลูกเชื้อ 14 วัน

ปริมาณเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดในข้าวโพดพันธุ์อินทรี 2 เป็นไปในทิศทางเดียวกับข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 แต่ปริมาณของเชื้อ MCMV ในกรรมวิธีที่ 3 จะมีปริมาณน้อยกว่า ขณะที่ปริมาณเชื้อ SCMV-MDB มีปริมาณสูงกว่ากรรมวิธีที่ 4, 5, 6 และ 7 ที่ 7 วันหลังการปลูกเชื้อซึ่งมีปริมาณไวรัส 2.717, 2.713, 2.581และ 2.468 ตามลำดับ (Table 4) และปริมาณเชื้อ MCMV จะลดลงในทุกกรรมวิธีหลังการปลูกเชื้อ 14 วัน เมื่อพิจารณาจากค่า OD. ของไวรัสทั้ง 2 ชนิด ที่ 7 และ 14 วันหลังการปลูกเชื้อ เปรียบเทียบกับลักษณะอาการของโรค และดัชนีการเกิดโรค พบว่าในข้าวโพดพันธุ์อินทรี 2 ซึ่งอ่อนแอต่อทั้ง 2 เชื้อ (MCMV และ SCMV-MDB) และมีปริมาณเชื้อไวรัส SCMV-MDB ที่เป็นเชื้อที่มีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น ขณะที่ MCMV ลดลง แสดงว่าข้าวโพดพันธุ์อินทรี 2 มีความอ่อนแอต่อโรคมากกว่าข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสใบด่างจุดประข้าวโพด (MCMV) และเชื้อไวรัสใบด่างแคระข้าวโพด (SCMV-MDB) ในข้าวโพดหวาน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ไฮบริกซ์ 3 และพันธุ์อินทรี 2 แสดงลักษณะอาการของโรคในแต่ละกรรมวิธีคล้ายคลึงกันอย่างมาก และอาการที่เกิดจากการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้งสองชนิด (MCMV และ SCMV-MDB) รุนแรงกว่าการเข้าทำลายของเชื้อ MCMV หรือ SCMV-MDB เพียงเชื้อเดียว โดยมีค่าดัชนีการเกิดโรค (DI) สูงถึง 100% และข้าวโพดที่ได้รับการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อไวรัสทั้งสองชนิด พบว่าอาการที่ปรากฏเด่นชัด คือ อาการด่างประและด่างลาย ร่วมกับอาการเหลือง อาการไหม้ที่ปลายใบ ขอบใบและเนื้อใบข้าวโพดจะแห้งตายภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ ในการทดลองครั้งนี้พบว่าข้าวโพดหวานทั้งสองพันธุ์อ่อนแอต่อเชื้อ SCMV-MDB แลพยังพบว่าปริมาณเชื้อไวรัส SCMV-MDB ในข้าวโพดพันธุ์อินทรี 2 เพิ่มมากขึ้นหลังการปลูกเชื้อ ขณะที่เชื้อ MCMV มีปริมาณลดลง แต่ในข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ถึงแม้จะมีปริมาณเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดในปริมาณมาก แต่เปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคต่ำกว่าข้าวโพดพันธุ์อินทรี 2 แสดงว่าข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 มีความต้านทานต่อเชื้อมากว่าข้าวโพดพันธุ์อินทรี 2 ข้อมูลเป็นแนวทางในการเลือกพันธุ์ข้าวโพดที่นำมาปลูก เพื่อลดหรือหลีกเลี่ยงการระบาดและการแพร่กระจายของโรคแห้งตายของข้าวโพด เพื่อเป็นข้อมูลให้นักปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด ทั้งนี้ควรมีมาตรการควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อทั้งสองชนิดอย่างจริงจัง เนื่องจากพบการระบาดของเชื้อทั้ง 2 ชนิด ในพื้นที่ปลูก

Table 3 Optical density (OD.) by ELISA method with absorbance at 405 nm. of MCMV and SCMV-MDB of each treatment in corn cv. Hybrix3 at 7 and 14 days post inoculation

Treatment[1/]	Optical density (OD.)			
	7 dpi[2/]		14 dpi[2/]	
	MCMV	SCMV-MDB	MCMV	SCMV-MDB
Tr1	0.083	0.090	0.086	0.085
Tr2	0.085	0.090	0.089	0.082
Tr3	2.616	0.096	1.839	0.093
Tr4	0.107	2.717	0.089	2.592
Tr5	2.212	2.713	2.026	2.535
Tr6	2.365	2.581	2.018	2.262
Tr7	2.456	2.468	2.023	2.589

[1/] Tr1 = Non-inoculation, Tr2 = Inoculation by 0.1M Phosphate buffer. pH7.2 (Mock), Tr3 = Inoculation by sap of MCMV only, Tr4 = Inoculation by sap of SCMV-MDB only, Tr5 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:10], Tr6 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:5] and MCMV [1:10], Tr7 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:5].

[2/] Tr1 and Tr2 were used as negative controls. OD value of the sample more than 2xOD of negative controls is considered as positive and directly proportional to the amount of virus

Table 4 Optical density (OD.) of ELISA method with absorbance at 405 nm. of each treatment in corn cv. Intree 2 at 7 and 14 days post inoculation

Treatment[1/]	Optical density (OD.)			
	7 dpi[2/]		14 dpi[2/]	
	MCMV	SCMV-MDB	MCMV	SCMV-MDB
Tr1	0.086	0.098	0.090	0.084
Tr2	0.083	0.097	0.086	0.083
Tr3	2.227	0.099	1.458	0.088
Tr4	0.120	2.778	0.087	2.344
Tr5	2.598	2.887	1.822	2.464
Tr6	2.303	2.988	1.948	2.526
Tr7	2.457	2.975	1.899	2.437

[1/] Tr1 = Non-inoculation, Tr2 = Inoculation by 0.1M Phosphate buffer. pH7.2 (Mock), Tr3 = Inoculation by sap of MCMV only, Tr4 = Inoculation by sap of SCMV-MDB only, Tr5 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:10], Tr6 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:5] and MCMV [1:10], Tr7 = Mixed-inoculation by sap of SCMV-MDB [1:10] and MCMV [1:5].

[2/] Tr1 and Tr2 were used as negative controls. OD value of the sample more than 2xOD of negative controls is considered as positive and directly proportional to the amount of virus

ข้าวโพดที่สำคัญของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ และศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่สนับสนุนทุนวิจัย ห้องปฏิบัติการและเครื่องมือทดลอง

เอกสารอ้างอิง

พิสสวรรณ เจียมสมบัติ, สุดฤดี ประเทืองวงศ์, วิบูลย์ จงรัตนเมธีกุล, สุจินต์ ภัทรภูวดล และประชุม จุฑาวรรธนะ. 2550. *การจัดการโรคไวรัสใบด่างลาย (SCMV) ไวรัสใบด่างจุดประเหลือง (MCMV) โรคเหี่ยวและโรคลำต้นเน่าแบคทีเรียของข้าวโพดหวานและแมลงพาหะที่สำคัญ.* ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140. 100 หน้า.

เอื้อมขวัญ จันเต็ม, คนึงนิตย์ เหรียญวรากร, สนธิชัย จันทร์เปรม และสุภาพร กลิ่นคง. 2547. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัสใบด่างแคระจากข้าวโพดในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร* 35: 131-138.

Adams, I. P., D. W. Miano, Z. M. Kinyua, A. Wangai, E. Kimani, N. Phiri, R. Reeder, V. Harju, R. Glover, U. Hany, R. Souza-Richards, P. Deb Nath, T. Nixon, A. Fox, A. Barnes, J. Smith, A. Skelton, R. Thwaites, R. Mumford and N. Boonham. 2013. Use of next-generation sequencing for the identification and characterization of Maize chlorotic mottle virus and Sugarcane mosaic virus causing maize lethal necrosis in Kenya. *Plant Pathology* (Published Online: Doi: 10.1111/j.1365-3059.2012. 02690.x) *Plant Pathology* 62: 741–749.

Bond, W. P. and T. P. Pirone. 1971. Purification and Properties of Sugarcane Mosaic Virus Strains. *Phytopathology.* 71: 56–65.

Chen, J.Y., J.S. Chen, L.H. Cai, H.J. Wang and C.T. Yang. 2003 Molecular detection and pathogenic testing of two viruses infecting cucurbitaceous crops. Acta. *Phytopathol Sin.* 33: 449-455.

Clark, M.F. and A.N. Adam. 1977. Charateristics of the microplasts method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of the

detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475 – 483.

Doupnik, B.Jr. 1979. Status of corn lethal necrosis (virus diseases in the United States)-1979 update. Proc. Annu. *Corn Sorghum Res. Conf.* 34: 16-24.

Foster, D.J. 1984. *An assessment of methods for quantification of genetic resistance to corn lethal necrosis (CLN) in maize (Zea mays L.).* University Microfilms International. The University of Nebraska, Lincoin.

Goldberg, K.B. and M.K. Brakke.1987. Concentration of Maize chlorotic mottle virus increased in mixed infections with Maize dwarf mosaic virus, strain B. *Phytopathol.* 77: 162-167.

Niblett, C.L. and L.E. Claflin. 1978. Corn lethal necrosis-A new virus disease of corn in Kansas. *Plant Dis. Rept.* 62: 15-19.

Niblett, C. L. and Q. Paulsen. 1975. Purification and Further Characterization of *Panicum Mosaic Virus*. *Phytopathol* 65: 1157-1160.

Scheets, K., 1998. Maize chlorotic mottle machlomovirus and wheat streak mosaic rymovirus concentrations increase in the synergistic disease corn lethal necrosis. *Virology* 242(1):28-38. [doi:10.1006/viro. 1997.8989]

Shen, J.G., L. Zhen, N.W. Wang, Z. Yu, M. Li, D.F. Lian and W.Y. Lin. 2011. Maize chlorotic mottle virus and Maize dwarf mosaic virus were intercepted for the first time In Fujian port, *Plant Quarantine* 25(2011) 95.

Uyemoto, J.K., D.L. Bockelman and L.E. Claflin. 1980. Severe outbreak of corn lethal necrosis disease in Kansas. *Plant Dis.* 64: 99-100.

Wangai, A.W., M.G. Redinbaugh, Z.M. Kinyua, D.W. Miano, P.K.Leley, M.Kasina, G.Mahuku, K.Scheets and D.Jeffers. 2012. First report of Maize chlorotic mottle virus and maize lethal necrosis in Kenya. *Plant Disease* 96(10):1582-1583. http://apsjournals.apsnet.org/loi/pdis

Wu, Jian-xiang, Q. Wang, H. Liu, Ya-juan Qian, Y. Xie, and Xue-ping Zhou. 2013. Monoclonal antibody-based serological methods for maize chlorotic mottle virus detection in China* *J Zhejiang Univ Sci B*. Jul 14(7): 555–562.

Xie, L., J. Zhang, Q. Wang, C. Meng, J. Hong and X. Zhou. 2011. Characterization of maize chlorotic mottle virus associated with maize lethal necrosis disease in China. *Journal of Phytopathology* 159:191-193.

Zhang, J.L., H.Y. Li and H. Liang. 2011. Quarantine pest of maizec hlorotic mottle virus was Intercepted for the first time from imported maize seeds mailed from Germany in Heilongjiang port, *Plant Quarantine* 25: 85.

Zeng, R., Q. Liao. J. Feng, D. Li and J. Chen. 2007. Synergy between Cucumber mosaic virus and Zucchini yellow mosaic virus on Cucurbitaceae hosts tested by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica.* 39(6): 431-437.