

# สัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV จากหนอนไหมในประเทศไทย\*\* Morphology of BmNPV - polyhedra of *Bombyx mori* in Thailand\*\*

วัชรพร ปัตตา\* วันวิสาข์ ศิริวัฒน์เมธานนท์ และสิริกัศ สุระพร  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Watcharaporn Pattala\* Wanwisa Siriwattanametanon and Siripuk Suraporn  
Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University

## บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาของ *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) สาเหตุโรคแกระสเซอร์ในหนอนไหม โดยทำการเก็บตัวอย่างหนอนไหมที่แสดงอาการของโรคแกระสเซอร์จากเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมในประเทศไทยจำนวน 26 จังหวัด คือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี อ่างนาจเจริญ ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ขอนแก่น ชัยภูมิ อุดรธานี บึงกาฬ เลย และสกลนคร ภาคเหนือ ได้แก่ เพชรบูรณ์ เชียงราย พะเยา กำแพงเพชร สุโขทัย พิษณุโลก และตาก ภาคกลาง ได้แก่ อุทัยธานี กาญจนบุรี และราชบุรี ภาคใต้ ได้แก่ ชุมพร และระนอง ทำการเก็บตัวอย่างหนอนไหมที่แสดงอาการโรคแกระสเซอร์ ในหนอนไหมวัย 4 และ วัย 5 ทำการตัดขาเทียมหนอนไหม เพื่อแยกผลึกโปรตีนไวรัส (BmNPV-polyhedra) จากเลือดหนอนไหม ด้วยวิธีการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,957 x g เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเก็บสารแขวนลอยผลึกโปรตีนไวรัสในกลูตาราดิไฮด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการศึกษาสัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า ผลการศึกษาพบว่า สัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนที่ทำการสำรวจในประเทศไทย มี 4 รูปแบบ ได้แก่ รูปสี่เหลี่ยม (Cuboidal Shape) รูปหกเหลี่ยม (Hexagonal Shape) รูปแปดเหลี่ยม (Octagonal Shape) และรูปทรงกลม (Globular Shape) โครงสร้างของผลึกโปรตีนไวรัสที่พบมากที่สุดในประเทศไทยคือ รูปทรงกลม และรูปหกเหลี่ยม รองลงมาคือรูปสี่เหลี่ยม และรูปแปดเหลี่ยม คิดเป็นร้อยละ 100, 100, 84.61 และ 73.07 ตามลำดับ การศึกษาในครั้งนี้เป็นการรายงานการพบความหลากหลายของโครงสร้างของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV ที่พบในประเทศไทย ซึ่งจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาความรุนแรงของ BmNPV สาเหตุโรคแกระสเซอร์ต่อไป

**คำสำคัญ :** โรคแกระสเซอร์ นิวคลีโอโพลีโอดีโรไวรัส *Bombyx mori*

\* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)  
e-mail: watchara\_pattala@hotmail.com

## Abstract

Morphology of nucleopolyhedrovirus of *Bombyx mori* (BmNPV) was studied. BmNPV causes grassery disease which is the most severe disease in Thai sericulture. The aim of this study was to investigate the morphology of BmNPV in Thailand. The BmNPV infected Thai silkworm larvae were surveyed and collected from 26 provinces. The collected areas, divided into 4 regions, were the Northeastern: Nakhon Ratchasima, Buriram, Surin, Si-Saket, Ubon Ratchathani, Amnat Chareun, Roi Et, Mahasarakham, Khon Kaen, Chaiyaphum, Udon Thani, Bung Karn, Loei and Sakon Nakhon. The Northern: Phetchabool, Chiang Rai, Phayao, Kamphaeng Phet, Sukhothai, Phitsanulok and Tak. The Center: Uthai Thani, Kanchanaburi and Ratchaburi. The Southern: Chumphon and Ranong. The grassery infected silkworms were collected and BmNPV-polyhedra was harvested by cutting the prolegs of the 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> instar larva. Haemolymph including BmNPV - polyhedra was separated by centrifugation at 1957 x g for 5 minutes. The pellet of BmNPV - polyhedra was suspended in distilled water. We examine the purity of polyhedral by using light microscopy. The morphology of BmNPV-polyhedra was studied and prepared by fixing in 2% of glutaraldehyde at 4 °C and BmNPV-polyhedra were observed by scanning electron microscopy (SEM) at a magnification of 10,000x. The results showed that the morphology of BmNPV-polyhedra were 4 shapes: cuboidal, hexagonal, octagonal, and globular. The globular and hexagonal shape were found in 100 % of silkworm collections and the cuboidal and octagonal were present in 84.61% and 73.07%, respectively. The result obtained from this study will be the basic information for the further virulence determination of grassery disease caused BmNPV.

**Keywords :** Grassery disease, Nucleopolyhedrovirus, *Bombyx mori*

## บทนำ

ไหม (*Bombyx mori*) เป็นแมลงที่มีประโยชน์และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากผลผลิตจากไหม เป็นสินค้าส่งออกและทำเงินตราเข้าประเทศ ผลิตภัณฑ์จากไหมไทยเป็นสินค้าสัญลักษณ์ และสร้างชื่อเสียงให้กับประเทศไทยเช่นเดียวกับ ข้าวหอมมะลิ ที่เป็นข้าวพันธุ์ไทยที่คนรู้จักกันทั่วโลก (Aimsil et al., 2012) ไหมนอกจากจะนำไปทำเป็นผ้าไหมไทยที่ประณีตและสวยงาม แล้วยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านเวชภัณฑ์ และเครื่องสำอาง ในอดีตเกษตรกรเลี้ยงไหมเป็นอาชีพเสริมหลังจากสิ้นสุดฤดูการเก็บเกี่ยวผลผลิตจากไร่ นา และเกษตรกรมีสภาพความเป็นอยู่ที่เรียบง่าย มีนิสัยรักสงบ มีภูมิปัญญาท้องถิ่นอันเป็นเอกลักษณ์ที่สั่งสม และสืบทอดจากคนรุ่นเก่าสู่คนรุ่นใหม่ (Yuyen, 2012) จากการเลี้ยงไหมแบบอาชีพเสริมจึงมีการเลี้ยงไหมเป็นอาชีพหลัก ส่งผลให้มีการเลี้ยงไหมเพิ่มขึ้น ทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ปัญหาที่สำคัญในการเลี้ยงไหม คือ โรคไหม และโรคที่สำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายมากที่สุดคือ โรคแกรสเซอร์รี่ (Grassery) หรือโรคเต้า (Saksung & Tawonanukulkit, 1997) หรือ เรียกว่าโรค Tree Top Disease (Kaewwises, 2006) โรคแกรสเซอร์รี่เกิดจากไวรัส *B. mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) ซึ่งเป็นไวรัสของหนอนไหม อยู่ในวงศ์ Baculoviridae สกุล *Alphababaculovirus* (Goodman et al., 2007) ลักษณะพิเศษของ BmNPV คือ มีผลึกโปรตีน (Polyhedra) ห่อหุ้มอนุภาคไวรัสที่มีรูปร่างเป็นแบบท่อนตรง บรรจุอยู่ภายในผลึกโปรตีน การเข้าทำลาย เป็นแบบหลบซ่อน (Latent Infection) (Suraporn, 2010) BmNPV เข้าทำลายหนอนไหมโดยการกิน จากนั้นผลึกโปรตีนถูกย่อยสลายที่กระเพาะอาหาร ส่วนกลางด้วยสภาพความเป็นด่าง pH 9 – 11 (Dow, 1984) แล้วจึงปล่อยอนุภาคไวรัสออกมาเพิ่มปริมาณในนิวเคลียสของเยื่อกระเพาะอาหาร เมื่อผนังเยื่อกระเพาะอาหารแตก อนุภาคไวรัสจะเข้าไป ในช่องว่างในลำตัวหนอนไหม เพื่อเริ่มกระบวนการเข้าทำลายในเซลล์ใกล้เคียงต่อไป (Attathom & Chaychomsri, 1987) แต่อาการของโรคจะแสดงออกอย่างชัดเจนในระยะหนอนไหมวัย 5 ซึ่งเป็นระยะที่หนอนไหมกำลังสร้างรังไหม พบการระบาดของโรคแกรสเซอร์รี่ระหว่าง 70 - 100 เปอร์เซ็นต์ (Kumpratueang, 1998) ในปี ค.ศ.1988 Attathom & Sinchaisri รายงานการศึกษาลักษณะของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV ที่เก็บตัวอย่างจากเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมใน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบผลึกโปรตีนไวรัสส่วนใหญ่เป็นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ และรูปหกเหลี่ยม รูปทรงกลม เล็กน้อย เนื่องจากความสำคัญของโรคแกรสเซอร์รี่ ได้ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการผลิตไหม และเป็นโรคที่มีความรุนแรง พบการระบาดของโรคในทุกพื้นที่ ทุกภูมิภาคที่มีการเลี้ยงไหมในประเทศไทย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาลักษณะของผลึกโปรตีนไวรัสที่พบว่ามีหลากหลายในโครงสร้างของผลึกโปรตีนอันเป็นผลจากปัจจัยทางสภาพภูมิศาสตร์ และภูมิอากาศในสภาพพื้นที่ ที่แตกต่างกันในประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาความรุนแรง (Virulence) และความสามารถในการเข้าทำลายหนอนไหม (Infectivity) นำไปสู่การพัฒนาการเลี้ยงไหมในอุตสาหกรรมการผลิตให้มีผลผลิตที่มีคุณภาพสูงต่อไป

## วัตถุประสงค์

ศึกษาสัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV จากหนอนไหมในประเทศไทย

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### 1. แหล่งที่มาของไวรัส

เก็บตัวอย่างหนอนไหมที่แสดงอาการของโรคแกรสเซอร์รี่ ในพื้นที่ที่เกษตรกรทำการเลี้ยงไหมในประเทศไทย ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2556 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2557 โดยแบ่งเขตพื้นที่การเก็บตัวอย่างเป็น 4 ภูมิภาค ได้แก่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 14 จังหวัด คือ ร้อยเอ็ด อุตรดิตถ์ บึงกาฬ อุบลราชธานี สุรินทร์ ศรีสะเกษ เลย อำนาจเจริญ บุรีรัมย์ สกลนคร มหาสารคาม ชัยภูมิ ขอนแก่น และ นครราชสีมา ภาคเหนือ 7 จังหวัด คือ เชียงราย พะเยา กำแพงเพชร สุโขทัย พิษณุโลก ตาก และเพชรบูรณ์ ภาคกลาง 3 จังหวัด คือ ราชบุรี กาญจนบุรี และอุทัยธานี ภาคใต้ 2 จังหวัด คือ ระนอง และชุมพร โดยสุ่มเก็บตัวอย่างหนอนไหมจากเกษตรกร 2 ราย ต่อ พื้นที่ พื้นที่ละ 10 ตัว ด้วยวิธีการตัดขาเทียมหนอนไหมที่แสดงอาการของโรคแกรสเซอร์รี่

### 2. การแยกผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV

ทำการแยกผลึกโปรตีนไวรัสโดยตัดขาเทียมหนอนไหม ที่แสดงอาการของโรคแกรสเซอร์รี่ด้วยกรรไกรจุ่มด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol) ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อทำการฆ่าเชื้อบนแป้นทำการแยกผลึกโปรตีนที่อยู่ในน้ำเลือดของหนอนไหม จำนวน 10 ตัว ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดไมโครทิวป์ ขนาดบรรจุ 1.5 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยง  $1,957 \times g$  เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง แล้วทำการคงสภาพผลึกโปรตีน BmNPV ด้วยกลูตาราติไฮด์เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเก็บหลอดบรรจุตัวอย่างเลือดหนอนไหม (Supernatant) ในน้ำแข็ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำกลับมาศึกษาความบริสุทธิ์ของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV ในห้องปฏิบัติการ

### 3. ศึกษาสัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV

ศึกษาความบริสุทธิ์ของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 400 เท่า และศึกษารูปร่างและขนาดของผลึกโปรตีนไวรัสจากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM) ด้วยวิธีการเตรียมผลึกโปรตีนไวรัส ดัดแปลงจากเทคนิควิธีการเตรียมตัวอย่างของ Adams & Wilcox (1982) โดยนำสารแขวนลอยไวรัสบริสุทธิ์ที่คงสภาพด้วยกลูตาราติไฮด์เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ละลายในสารละลายโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ pH 7.2 นำไปหมุนเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว  $1,957 \times g$  เป็นเวลา 5 นาที ที่สภาพอุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นล้าง Fixative ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที ทำการคงสภาพผลึกโปรตีนไวรัส (Post-fix) ด้วยออสเมียมเตตรอกไซด์ ( $OsO_4$ ) เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายโซเดียม

ฟอสเฟตเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 7.2 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่สภาพอุณหภูมิห้อง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที ทำการดึงน้ำออก (Dehydration) โดยแช่ผลึกโปรตีนไวรัสในสารละลายอะซิโตนเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ใช้เวลา 15 นาที ในแต่ละความเข้มข้น แล้วทำการหยดผลึกโปรตีนไวรัสลงบนกระจกปิดสไลด์ รอให้แห้ง หลังจากนั้นนำกระจกปิดสไลด์ไปติดบนสตัปทองเหลือง (Stub) เคลือบตัวอย่างด้วยทอง ศึกษาลักษณะรูปร่างของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และวัดขนาด ความกว้าง x ความยาว ของผลึกโปรตีนไวรัสโดยการสุ่ม จำนวน 20 ผลึก ต่อ ตัวอย่าง ต่อ จังหวัด

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

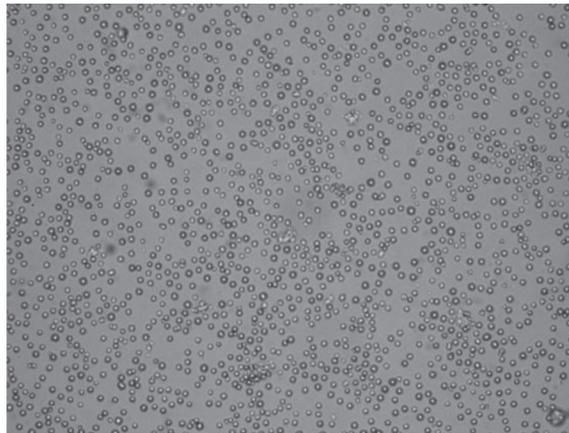
### 1. การแยกผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV จากหนอนไหม

จากการออกสำรวจและศึกษาหนอนไหมที่เป็นโรคแกรสเซอร์ จากเกษตรกรในหมู่บ้านที่เลี้ยงไหมจำนวน 26 จังหวัด ในเขตพื้นที่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ พบว่าลักษณะการเลี้ยงไหมของเกษตรกรเป็นแบบดั้งเดิม ซึ่งเป็นการเลี้ยงไหมแบบครอบครัวเดี่ยว และการเลี้ยงเป็นกลุ่มหรือแบบสหกรณ์ พันธุ์ไหมที่นิยมเลี้ยง ได้แก่ นางสี่ว นางตุ่น นางลาย นางน้อย ซึ่งเป็นไหมไทยพื้นเมืองรังไหมมีขนาดเล็ก สีเหลือง และพบอาการของโรคแกรสเซอร์ในหนอนไหมวัย 4-5 คือ หนอนไหมมีลักษณะตัวซีดเหลืองหรือขาวชून หยุดกินใบหม่อน มีพฤติกรรมไต่ขึ้นตามกระดิ่งหรือที่สูงของภาชนะที่เลี้ยง ผงงลำตัวเปราะและแตก ปล่อยน้ำเลือดสีเหลืองชून ซึ่งมีผลึกโปรตีนไวรัสปนอยู่เป็นจำนวนมาก (Suraporn, 2009) (ภาพที่ 1) หนอนไหมแสดงอาการของโรคให้เห็นในวัย 4 และวัย 5 ก่อนเข้าจ่อสร้างรัง แล้วตายภายใน 3 - 4 วัน ซึ่งเป็นอาการที่ชัดเจน และเป็นลักษณะเอกลักษณ์ของโรคแกรสเซอร์ จากการรายงานการศึกษาอาการของโรคแกรสเซอร์ในห้องปฏิบัติการสามารถมองเห็นอาการของหนอนไหมได้ชัดเจน (Kaewwises, 2006)

ผลการศึกษาความบริสุทธิ์ของผลึกโปรตีนไวรัสที่แยกได้จากหนอนไหมที่แสดงอาการของโรคแกรสเซอร์ และลักษณะของผลึกโปรตีนไวรัส ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าผลึกโปรตีนไวรัสมีลักษณะกลมมน ไม่มีสิ่งปนเปื้อน เนื่องจากในการศึกษาในครั้งนี้ได้ใช้เทคนิคการตัดเฉพาะขาเทียม (Proleg) ของหนอนไหม แยกเอาเฉพาะส่วนของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV ออกมา จึงทำให้ผลึกโปรตีนไวรัสมีความบริสุทธิ์ (ภาพที่ 2) ซึ่งการศึกษาดังกล่าวนี้อาจสอดคล้องกับการแยกผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV ตามวิธีการของ Suraporn et al. (2004) กล่าวคือ เมื่อศึกษาลักษณะของผลึกโปรตีนไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 400 เท่า พบลักษณะผลึกโปรตีนไวรัสเป็นรูปทรงกลม ขนาดเล็ก มีความมันวาวและขอบหนา จำนวนมากกระจายในน้ำเลือดของหนอนไหม



ภาพที่ 1 แสดงอาการของโรคแกรสเซอร์ในหนอนไหมวัย 5 ปล่อน้ำเลือดสีเหลืองชุ่นที่มีผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV ออกมา (ศรีชัย)



ภาพที่ 2 ลักษณะของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 400 เท่า

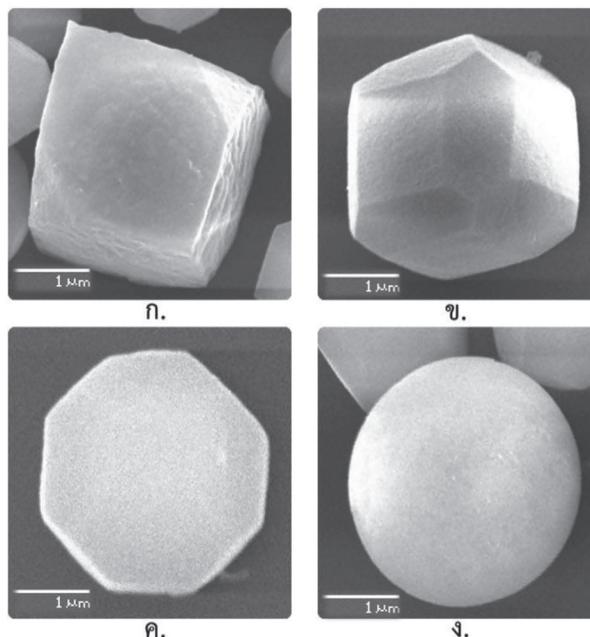
## 2. สัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV

ศึกษารูปร่างและขนาดผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ โดยใช้เกณฑ์การเก็บตัวอย่างหนอนไหมจากพื้นที่ หรือจังหวัดที่มีการเลี้ยงไหมเท่านั้น ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า ตามวิธี Adams & Wilcox (1982) เมื่อสุ่มวัดขนาดของผลึกโปรตีนไวรัส จำนวน 20 ผลึก ต่อ ตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวแทนของแต่ละพื้นที่ของการเก็บตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 26 จังหวัด พบว่า ผลึกโปรตีนไวรัสที่พบจากหนอนไหมที่เป็นโรค

แกระสเซอรีในประเทศไทย มี 4 รูปแบบ คือ รูปสี่เหลี่ยม (Cuboidal Shape) หกเหลี่ยม (Hexagonal Shape) แปดเหลี่ยม (Octagonal Shape) และทรงกลม (Globular Shape) (ภาพที่ 3)

ผลการศึกษาคโครงสร้างของผลึกโปรตีนไวรัสลักษณะรูปสี่เหลี่ยมโดยการศึกษาขนาดความกว้างและความยาว (ตารางที่ 1) พบว่า ขนาดของผลึกโปรตีนไวรัสรูปสี่เหลี่ยมมีขนาดแตกต่างกัน ผลึกโปรตีนไวรัสที่มีขนาดเล็กที่สุดคือ  $1.12 \pm 0.10 \times 1.26 \pm 0.03$  ไมโครเมตร และขนาดใหญ่ที่สุดคือ  $4.57 \pm 0.00 \times 5.44 \pm 0.00$  ไมโครเมตร ซึ่งพบในหนอนไหมของเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมในจังหวัดเลย และจังหวัดเชียงราย คิดเป็นร้อยละ 4.13 และ 1.35 ของรูปสี่เหลี่ยมทั้งหมด ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยของขนาดผลึกโปรตีนไวรัสที่ทำการสำรวจทั่วประเทศเท่ากับ  $2.82 \pm 0.39 \times 3.05 \pm 0.43$  ไมโครเมตร ซึ่งสอดคล้องกับ Attathom & Sinchaisri (1988) ที่อธิบายว่าพบผลึกโปรตีนไวรัสรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีขนาดความยาวประมาณ 5 ไมโครเมตร แต่โดยทั่วไปมีขนาดความยาวเฉลี่ย 2.7 ไมโครเมตร จากการศึกษาในครั้งนี้ไม่พบผลึกโปรตีนไวรัสรูปสี่เหลี่ยมจากเกษตรกร ผู้เลี้ยงไหมจังหวัดบึงกาฬ เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร สุโขทัย

ผลการสำรวจผลึกโปรตีนไวรัสรูปหกเหลี่ยมมีค่าเฉลี่ยของขนาดผลึกโปรตีนไวรัสที่ทำการสำรวจทั่วประเทศเท่ากับ  $2.74 \pm 0.33 \times 2.91 \pm 0.36$  ไมโครเมตร มีขนาดเล็กที่สุดคือ  $1.90 \pm 0.46 \times 2.10 \pm 0.46$  ไมโครเมตร และขนาดใหญ่ที่สุดคือ  $3.51 \pm 0.21 \times 3.58 \pm 0.23$  ไมโครเมตร ซึ่งพบในหนอนไหมของเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมในจังหวัดอุทัยธานี และจังหวัดนครราชสีมา (ตารางที่ 2)



**ภาพที่ 3** สัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนไวรัส (BmNPV-polyhedra) จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope : SEM)  
ก. รูปสี่เหลี่ยม ข. รูปหกเหลี่ยม ค. รูปแปดเหลี่ยม และ ง. ทรงกลม

ตารางที่ 1 ขนาดของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV รูปสี่เหลี่ยม ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) จากตัวอย่างหนอนไหมที่แสดงอาการโรคแกรสเซอร์รี่ ของแหล่งเลี้ยงไหมจำนวน 26 จังหวัด ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้

| ภาค                | จังหวัด     | ขนาดของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV<br>(ไมโครเมตร) |             |
|--------------------|-------------|---|-------------|
|                    |             | กว้าง                                       | ยาว         |
| ตะวันออกเฉียงเหนือ | เลย         | 1.12 ± 0.10                                 | 1.26 ± 0.03 |
|                    | อุดรธานี    | 2.49 ± 0.09                                 | 2.60 ± 0.12 |
|                    | อุบลราชธานี | 2.57 ± 0.43                                 | 2.79 ± 0.46 |
|                    | ชัยภูมิ     | 2.63 ± 0.26                                 | 3.12 ± 0.40 |
|                    | ศรีสะเกษ    | 2.66 ± 0.42                                 | 2.75 ± 0.57 |
|                    | นครราชสีมา  | 2.80 ± 0.28                                 | 2.93 ± 0.35 |
|                    | สุรินทร์    | 2.86 ± 0.21                                 | 3.10 ± 0.42 |
|                    | ร้อยเอ็ด    | 2.88 ± 0.47                                 | 2.92 ± 0.42 |
|                    | สกลนคร      | 2.99 ± 0.15                                 | 3.38 ± 0.26 |
|                    | ขอนแก่น     | 3.16 ± 0.33                                 | 3.41 ± 0.37 |
|                    | อำนาจเจริญ  | 3.03 ± 0.42                                 | 3.27 ± 0.41 |
|                    | บุรีรัมย์   | 3.20 ± 0.00                                 | 3.38 ± 0.00 |
|                    | มหาสารคาม   | 3.41 ± 0.75                                 | 3.55 ± 0.69 |
|                    | บึงกาฬ      | -   | -           |
| เหนือ              | ตาก         | 2.22 ± 0.00                                 | 2.41 ± 0.00 |
|                    | พะเยา       | 2.52 ± 0.00                                 | 2.72 ± 0.00 |
|                    | พิจิตรโลก   | 2.88 ± 0.00                                 | 3.08 ± 0.00 |
|                    | เชียงราย    | 4.57 ± 0.00                                 | 5.44 ± 0.00 |
|                    | เพชรบูรณ์   | -   | -           |
|                    | กำแพงเพชร   | -   | -           |
|                    | สุโขทัย     | -   | -           |
| กลาง               | อุทัยธานี   | 2.43 ± 0.99                                 | 2.61 ± 0.91 |
|                    | กาญจนบุรี   | 2.49 ± 0.43                                 | 2.80 ± 0.32 |
|                    | ราชบุรี     | 3.41 ± 0.88                                 | 3.68 ± 0.96 |
| ใต้                | ระนอง       | 2.50 ± 0.00                                 | 2.50 ± 0.00 |
|                    | ชุมพร       | 3.27 ± 0.19                                 | 3.49 ± 0.48 |

ตารางที่ 2 ขนาดของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV รูปหกเหลี่ยม ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) จากตัวอย่างหนอนไหมที่แสดงอาการโรคแกรสเซอร์รี่ ของแหล่งเลี้ยงไหมจำนวน 26 จังหวัด ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้

| ภาค                | จังหวัด     | ขนาดของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV<br>(ไมโครเมตร) |             |
|--------------------|-------------|---|-------------|
|                    |             | กว้าง                                       | ยาว         |
| ตะวันออกเฉียงเหนือ | เลย         | 2.17 ± 0.39                                 | 2.43 ± 0.37 |
|                    | ร้อยเอ็ด    | 2.54 ± 0.25                                 | 2.71 ± 0.36 |
|                    | มหาสารคาม   | 2.58 ± 0.18                                 | 2.77 ± 0.18 |
|                    | สกลนคร      | 2.67 ± 0.36                                 | 2.81 ± 0.38 |
|                    | บุรีรัมย์   | 2.73 ± 0.52                                 | 3.03 ± 0.62 |
|                    | อุบลราชธานี | 2.74 ± 0.34                                 | 3.03 ± 0.40 |
|                    | ศรีสะเกษ    | 2.82 ± 0.23                                 | 3.03 ± 0.23 |
|                    | บึงกาฬ      | 2.90 ± 0.31                                 | 3.12 ± 0.32 |
|                    | ชัยภูมิ     | 2.91 ± 0.00                                 | 2.62 ± 0.00 |
|                    | ขอนแก่น     | 2.94 ± 0.30                                 | 3.03 ± 0.29 |
|                    | อุดรธานี    | 2.99 ± 0.46                                 | 3.26 ± 0.52 |
|                    | อำนาจเจริญ  | 3.03 ± 0.56                                 | 3.07 ± 0.58 |
|                    | สุรินทร์    | 3.15 ± 0.33                                 | 3.38 ± 0.33 |
|                    | นครราชสีมา  | 3.51 ± 0.21                                 | 3.58 ± 0.23 |
| เหนือ              | พิษณุโลก    | 2.40 ± 0.30                                 | 2.53 ± 0.24 |
|                    | เพชรบูรณ์   | 2.51 ± 0.14                                 | 2.71 ± 0.25 |
|                    | กำแพงเพชร   | 2.52 ± 0.13                                 | 2.74 ± 0.21 |
|                    | พะเยา       | 2.63 ± 0.27                                 | 2.76 ± 0.22 |
|                    | เชียงราย    | 2.93 ± 0.18                                 | 3.06 ± 0.21 |
|                    | สุโขทัย     | 3.01 ± 0.18                                 | 3.03 ± 0.33 |
|                    | ตาก         | 3.32 ± 0.30                                 | 3.50 ± 0.00 |
| กลาง               | อุทัยธานี   | 1.90 ± 0.46                                 | 2.10 ± 0.46 |
|                    | กาญจนบุรี   | 2.75 ± 0.43                                 | 3.13 ± 0.32 |
|                    | ราชบุรี     | 2.91 ± 0.21                                 | 3.15 ± 0.19 |
| ใต้                | ระนอง       | 2.32 ± 0.15                                 | 2.51 ± 0.19 |
|                    | ชุมพร       | 2.41 ± 0.22                                 | 2.80 ± 0.27 |

คิดเป็น ร้อยละ 1.32 และ 1.32 ของรูปหกเหลี่ยมทั้งหมด ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Bergold (1953) ได้รายงานว่าผลึกโปรตีนไวรัสของหนอนไหมส่วนใหญ่เป็นรูปหกเหลี่ยม (Hexagonal) และมีขนาดประมาณ 3 - 5 ไมโครเมตร การสำรวจครั้งนี้สามารถพบทุกพื้นที่ ที่ทำการศึกษานในประเทศไทย

ผลึกโปรตีนไวรัสรูปแปดเหลี่ยมเป็นผลึกโปรตีนไวรัสที่ยังไม่มีการรายงานการสำรวจพบในประเทศไทย การศึกษานี้สามารถสำรวจพบผลึกโปรตีนไวรัสรูปแปดเหลี่ยมในพื้นที่ ที่ทำการศึกษา ได้แก่ อำนาจเจริญ ชัยภูมิ มหาสารคาม บุรีรัมย์ สกลนคร ขอนแก่น สุรินทร์ ศรีสะเกษ ร้อยเอ็ด พะเยา ตาก สุโขทัย กำแพงเพชร เชียงราย พิชณุโลก ราชบุรี อุทัยธานี ชุมพร และระนอง ในขณะที่เดียวกันไม่มีการตรวจพบผลึกโปรตีนไวรัสรูปแปดเหลี่ยมจากเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมจังหวัด เลย อุดรธานี อุบลราชธานี นครราชสีมา บึงกาฬ เพชรบูรณ์ และกาญจนบุรี ผลึกโปรตีนไวรัสรูปแปดเหลี่ยมมีขนาดเล็กที่สุดคือ  $2.36 \pm 0.27 \times 2.47 \pm 0.24$  ไมโครเมตร พบในหนอนไหมของเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมในจังหวัดชุมพร และผลึกโปรตีนไวรัสรูปแปดเหลี่ยมขนาดใหญ่ที่สุดคือ  $3.39 \pm 0.36 \times 3.51 \pm 0.41$  ไมโครเมตร พบในหนอนไหมของเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมในจังหวัดร้อยเอ็ด ผลึกโปรตีนไวรัสรูปแปดเหลี่ยมมีค่าเฉลี่ยของขนาดผลึกโปรตีนไวรัสที่ทำการสำรวจทั่วประเทศเท่ากับ  $2.78 \pm 0.17 \times 2.92 \pm 0.18$  ไมโครเมตร (ตารางที่ 3) คิดเป็นร้อยละ 4.01 และ 5.02 ของรูปแปดเหลี่ยมทั้งหมด ในการศึกษาผลึกโปรตีนไวรัสรูปแปดเหลี่ยม พบเพียงบางจังหวัดเท่านั้น ทั้งนี้จากการศึกษา และค้นคว้าเอกสารงานวิจัย ยังไม่พบมีการรายงานผลึกโปรตีนไวรัสของหนอนไหมรูปแปดเหลี่ยมในประเทศไทย ซึ่งในการรายงานในครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่มีการรายงานพบผลึกโปรตีนไวรัสของหนอนไหมรูปแปดเหลี่ยมในประเทศไทย

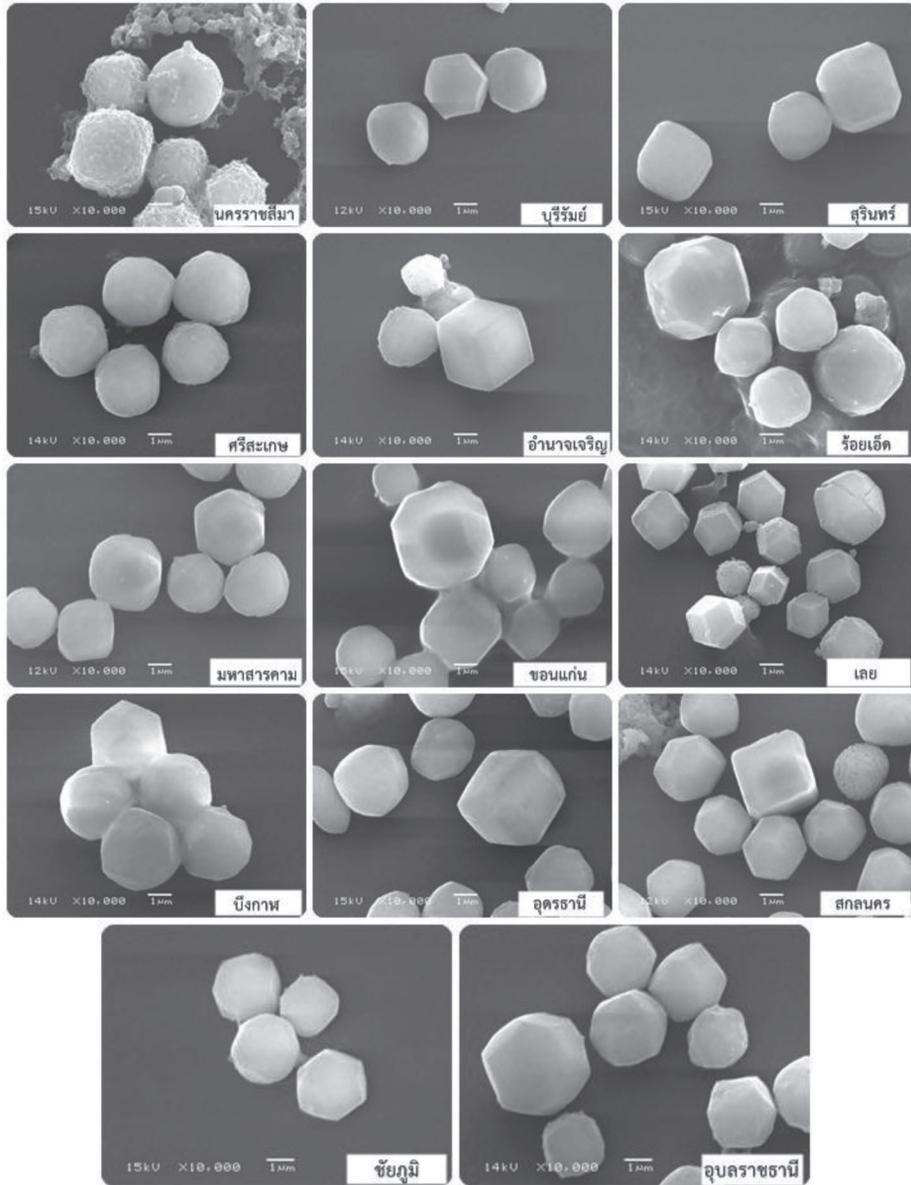
สำหรับผลึกโปรตีนไวรัสรูปทรงกลม จากการรายงานส่วนใหญ่พบผลึกโปรตีนของไวรัส สกุล Nucleopolyhedrovirus ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นรูปทรงกลม ซึ่งในการศึกษานี้มีการตรวจพบผลึกโปรตีนไวรัสรูปทรงกลมครอบคลุมทุกเขตพื้นที่ ที่มีการเก็บตัวอย่าง จากการศึกษาพบผลึกโปรตีนไวรัสทรงกลมมีขนาดเฉลี่ย  $2.73 \pm 0.87 \times 2.84 \pm 0.90$  ไมโครเมตร ขนาดเล็กที่สุดคือ  $1.57 \pm 0.00 \times 1.64 \pm 0.00$  ไมโครเมตร และขนาดใหญ่ที่สุดคือ  $4.87 \pm 0.50 \times 5.05 \pm 0.48$  ไมโครเมตร ซึ่งพบในหนอนไหมของเกษตรกรผู้เลี้ยงไหมในจังหวัดเลย และจังหวัดราชบุรี (ตารางที่ 4) คิดเป็นร้อยละ 0.51 และ 1.02 ของรูปทรงกลมทั้งหมด ซึ่งเป็นผลึกโปรตีนไวรัสรูปทรงกลมที่มีขนาดใหญ่กว่าไวรัส สกุล Nucleopolyhedrovirus ชนิดอื่น ตามที่ Wongwilikhit (2008) ศึกษาสัณฐานวิทยาผลึกโปรตีนไวรัสของ Nucleopolyhedrovirus จำนวน 4 ชนิด คือ HaSNPV, SeMNPV, SIMNPV และ TnMNPV พบว่าผลึกโปรตีนไวรัสของ HaSNPV, SeMNPV, SIMNPV และ TnMNPV มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 1.07, 1.25, 1.90 และ 1.78 ไมโครเมตร ตามลำดับ โดยภาพรวมโครงสร้างของผลึกโปรตีนไวรัสของหนอนไหมที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ จากพื้นที่ ที่ทำการสำรวจพบรูปสี่เหลี่ยม หกเหลี่ยม แปดเหลี่ยม และรูปทรงกลม (ภาพที่ 4 - 7)

ตารางที่ 3 ขนาดของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV รูปแปดเหลี่ยม ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) จากตัวอย่างหนอนไหมที่แสดงอาการโรคแกรสเซอร์รี่ ของแหล่งเลี้ยงไหมจำนวน 26 จังหวัด ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้

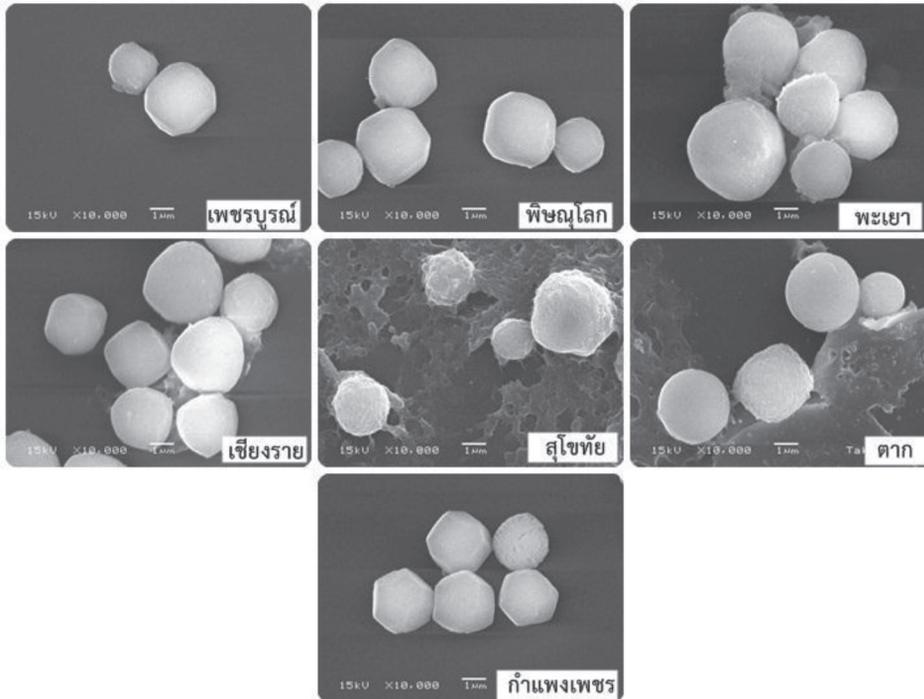
| ภาค                | จังหวัด     | ขนาดของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV<br>(ไมโครเมตร) |             |
|--------------------|-------------|---|-------------|
|                    |             | กว้าง                                       | ยาว         |
| ตะวันออกเฉียงเหนือ | อำนาจเจริญ  | 2.49 ± 0.36                                 | 2.66 ± 0.31 |
|                    | ชัยภูมิ     | 2.63 ± 0.21                                 | 2.76 ± 0.20 |
|                    | มหาสารคาม   | 2.78 ± 0.39                                 | 2.93 ± 0.33 |
|                    | บุรีรัมย์   | 2.86 ± 0.27                                 | 3.03 ± 0.30 |
|                    | สกลนคร      | 2.88 ± 0.21                                 | 3.01 ± 0.16 |
|                    | ขอนแก่น     | 2.92 ± 0.57                                 | 3.07 ± 0.53 |
|                    | สุรินทร์    | 3.18 ± 0.00                                 | 3.40 ± 0.00 |
|                    | ศรีสะเกษ    | 3.37 ± 0.00                                 | 3.43 ± 0.00 |
|                    | ร้อยเอ็ด    | 3.39 ± 0.36                                 | 3.51 ± 0.41 |
|                    | เลย         | -   | -           |
|                    | อุดรธานี    | -   | -           |
|                    | อุบลราชธานี | -   | -           |
|                    | นครราชสีมา  | -   | -           |
|                    | บึงกาฬ      | -   | -           |
| เหนือ              | พะเยา       | 2.42 ± 0.68                                 | 2.49 ± 0.70 |
|                    | ตาก         | 2.53 ± 0.15                                 | 2.67 ± 0.16 |
|                    | สุโขทัย     | 2.61 ± 0.29                                 | 2.69 ± 0.32 |
|                    | กำแพงเพชร   | 2.74 ± 0.29                                 | 2.93 ± 0.28 |
|                    | เชียงใหม่   | 2.84 ± 0.66                                 | 2.93 ± 0.69 |
|                    | พิษณุโลก    | 2.94 ± 0.47                                 | 3.03 ± 0.45 |
|                    | เพชรบูรณ์   | -   | -           |
| กลาง               | ราชบุรี     | 2.61 ± 0.34                                 | 2.74 ± 0.36 |
|                    | อุทัยธานี   | 2.80 ± 0.23                                 | 3.01 ± 0.32 |
|                    | กาญจนบุรี   | -   | -           |
| ใต้                | ชุมพร       | 2.36 ± 0.27                                 | 2.47 ± 0.24 |
|                    | ระนอง       | 2.48 ± 0.37                                 | 2.73 ± 0.48 |

ตารางที่ 4 ขนาดของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV รูปทรงกลม ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) จากตัวอย่างหนอนไหมที่แสดงอาการโรคแกรสเซอร์รี่ ของแหล่งเลี้ยงไหมจำนวน 26 จังหวัด ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้

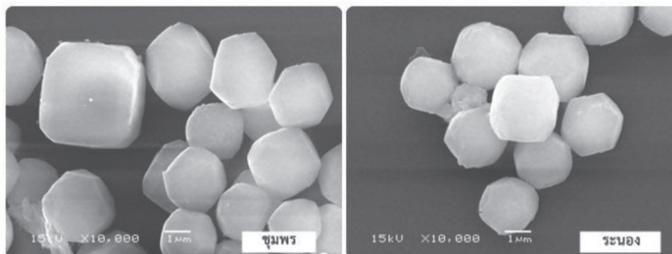
| ภาค                | จังหวัด     | ขนาดของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV<br>(ไมโครเมตร) |             |
|--------------------|-------------|---|-------------|
|                    |             | กว้าง                                       | ยาว         |
| ตะวันออกเฉียงเหนือ | เลย         | 1.57 ± 0.00                                 | 1.64 ± 0.00 |
|                    | มหาสารคาม   | 1.97 ± 0.09                                 | 1.95 ± 0.14 |
|                    | สกลนคร      | 2.01 ± 0.22                                 | 2.16 ± 0.16 |
|                    | อำนาจเจริญ  | 2.33 ± 0.29                                 | 2.42 ± 0.36 |
|                    | บุรีรัมย์   | 2.43 ± 0.16                                 | 2.55 ± 0.25 |
|                    | ชัยภูมิ     | 2.53 ± 0.53                                 | 2.59 ± 0.50 |
|                    | สุรินทร์    | 2.59 ± 0.11                                 | 2.77 ± 0.23 |
|                    | ขอนแก่น     | 2.64 ± 0.30                                 | 2.87 ± 0.36 |
|                    | อุดรธานี    | 2.74 ± 0.38                                 | 2.82 ± 0.35 |
|                    | ศรีสะเกษ    | 2.77 ± 0.35                                 | 2.81 ± 0.40 |
|                    | ร้อยเอ็ด    | 2.80 ± 0.45                                 | 2.92 ± 0.46 |
|                    | บึงกาฬ      | 2.86 ± 0.73                                 | 2.87 ± 0.74 |
|                    | อุบลราชธานี | 2.97 ± 0.24                                 | 3.19 ± 0.20 |
|                    | นครราชสีมา  | 3.16 ± 0.42                                 | 3.28 ± 0.44 |
| เหนือ              | พิษณุโลก    | 2.21 ± 0.32                                 | 2.30 ± 0.25 |
|                    | กำแพงเพชร   | 2.40 ± 0.66                                 | 2.49 ± 0.65 |
|                    | เพชรบูรณ์   | 2.41 ± 0.49                                 | 2.54 ± 0.56 |
|                    | สุโขทัย     | 2.82 ± 0.81                                 | 2.97 ± 0.90 |
|                    | พะเยา       | 2.88 ± 0.52                                 | 2.92 ± 0.52 |
|                    | เชียงราย    | 3.12 ± 0.43                                 | 3.17 ± 0.42 |
|                    | ตาก         | 3.62 ± 0.99                                 | 3.76 ± 1.00 |
| กลาง               | กาญจนบุรี   | 2.63 ± 0.23                                 | 2.73 ± 0.18 |
|                    | อุทัยธานี   | 3.13 ± 1.44                                 | 3.31 ± 1.49 |
|                    | ราชบุรี     | 4.87 ± 0.50                                 | 5.05 ± 0.48 |
| ใต้                | ระนอง       | 2.17 ± 0.37                                 | 2.21 ± 0.37 |
|                    | ชุมพร       | 3.59 ± 0.00                                 | 3.59 ± 0.00 |



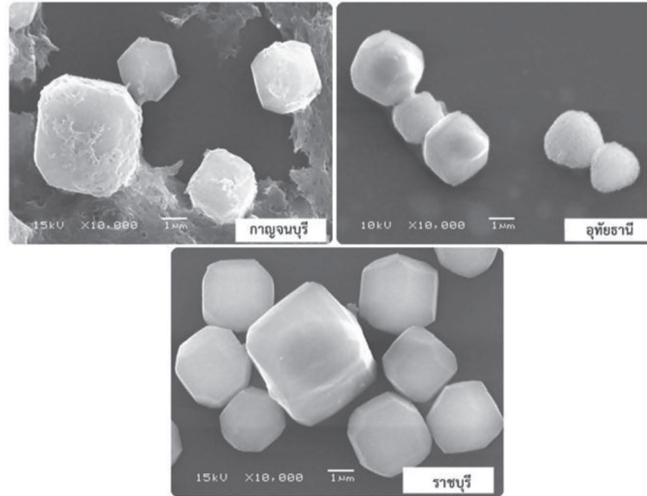
ภาพที่ 4 สัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนไวรัส (BmNPV-polyhedra) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM)



ภาพที่ 5 สัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนไวรัส (BmNPV-polyhedra) ภาคเหนือ จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope : SEM)



ภาพที่ 6 สัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนไวรัส (BmNPV-polyhedra) ภาคใต้ จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope : SEM)



ภาพที่ 7 สัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนไวรัส (BmNPV-polyhedra) ภาคกลาง จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope : SEM)

ในการศึกษครั้งนี้พบโครงสร้างของผลึกโปรตีนไวรัสเป็นรูปแปดเหลี่ยม ซึ่งยังไม่มีรายงานมาก่อนว่าพบโครงสร้างของผลึกโปรตีนไวรัสรูปแปดเหลี่ยมของหนอนไหมในประเทศไทย ดังนั้นลักษณะทางภูมิอากาศ และภูมิศาสตร์ ไม่มีผลต่อรูปร่างหรือโครงสร้างของผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV

### สรุปผลการวิจัย

จากการออกสำรวจและศึกษาหนอนไหมที่เป็นโรคแกรสเซอร์ จำนวน 26 จังหวัด จาก 4 ภาค พบว่า เกษตรกรมีการเลี้ยงไหมเป็นแบบดั้งเดิม และการเลี้ยงเป็นกลุ่มสหกรณ์ ซึ่งนิยมเลี้ยงไหมพันธุ์ไทยพื้นบ้าน ได้แก่ นางสีว นางตุ่น นางลาย นางน้อย และพบหนอนไหมแสดงอาการของโรคแกรสเซอร์ ในวัย 4 – 5 คือ หนอนไหมมีลักษณะตัวซีดเหลือง ผันลำตัวเปราะและแตก หยุดกินใบหม่อน ระยะสุดท้ายก่อนหนอนไหมตาย หนอนไหมจะปล่อยของเหลวสีเหลืองข้น ที่มีผลึกโปรตีนปนอยู่เป็นจำนวนมากออกมา จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของผลึกโปรตีนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบ ผลึกโปรตีนไวรัส BmNPV มี 4 รูปแบบ คือ รูปสี่เหลี่ยม (Cuboidal Shape) หกเหลี่ยม (Hexagonal Shape) แปดเหลี่ยม (Octagonal Shape) และรูปทรงกลม (Globular Shape) มีขนาดกว้าง และยาว เฉลี่ย  $2.82 \pm 0.39 \times 3.05 \pm 0.43$ ,  $2.74 \pm 0.33 \times 2.91 \pm 0.36$ ,  $2.78 \pm 0.17 \times 2.92 \pm 0.18$  และ  $2.73 \pm 0.87 \times 2.84 \pm 0.90$  ไมโครเมตร ตามลำดับ ผลึกโปรตีนไวรัสที่พบมากที่สุด คือ รูปทรงกลม หกเหลี่ยม สี่เหลี่ยม และแปดเหลี่ยม คิดเป็น 100, 100, 84.61 และ 73.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

## References

- Adams, J.R. & Wilcox, T.A. (1982). Scanning electron microscopical comparisons of insect virus occlusion bodies prepared by several techniques. *Journal of Invertebrate Pathology*. 40, 12-20.
- Aimsil, A., Siritanyakit, P. & Prasit, R. (2012). Classification of Hom Mali rice form the other rice varieties by FT-NIR spectroscopy. *J. SDU Res.* 5(2), 37 – 51.
- Attathom, T. & Chaychomrri, S. (1987). *Techniques culture infective virus of insects*. Kamphaeng Saen Campus, Kasetsart university.
- Attathom, T. & Sinchaisri, N. (1988). Nuclear polyhedrosis virus isolated from mulberry silkworm *Bombyx mori* in Thailand. *Journal National Research Council of Thailand*. 20, 59 – 73.
- Bergold, G.H. (1953). *Insect Viruses*. In Smith, K.M. & Lauffer, M.A. (eds). *Advances in Virus Research*. Academic Press, New York, 1, 91 – 139.
- Dow, J. A. (1984). Extremely high pH in biological systems: a model for carbonate transport. *Am. J. Physiol.*, 246. R633 – R636.
- Goodman, D., Ollikainen, N. & Sholley, C. (2007). Baculovirus Phylogeny Based on Genome Rearrangement. *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg, 69 – 82.
- Kaewwises, M. (2006). *Potential Application of PCR-Based Method for Early Detection of Grasserie Disease of Silkworm, Bombyx mori*. Doctor of Philosophy Kasetsart university. (Agricultural Biotechnology), 119 pages: ISBN 974-16-2382-8.
- Kumpratueang, S. (1998). *Development of DNA probe for early detection of grasserie disease of silkworm*. M.S. Thesis. Kasetsart university.
- Saksung, P. & Tawonanukulkit, C. (1997). *Analysis and obstacle to the development mulberry silk*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok.
- Suraporn, S., Chan Han, P., Butiman, C., Wiankaonoi, M., & Sutthisa, W. (2004). Grasserie disease of silkworm, *Bombyx mori* reared with artificial diet and mulberry leaves. *Journal of Science and Technology Mahasarakham University*. 24, 27–32.

- Suraporn, S. (2009). *Silkworm Disease and Detection*. Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University.
- Suraporn, S. (2010). Problem of grassery disease in *Bombyx mori* in Thailand. *Journal of Nong Khai campus*. 5, 38 – 44.
- Wongwilikhit, S. (2008). *Morphological and PCR-Based Typing Identification of Nucleopolyhedrovirus*. M.S. Thesis. Kasetsart university.
- Yuyen, Y. (2012). Indigenous plants of Thaisongdum in Don Maklueasub district, U Thong district, Suphan Buri province. *SDU Res. J.* 5(2), 99 – 112.

### คณะผู้เขียน

#### นางสาววัชรพร ปัตลา

นิสิต วท.ม.ชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150  
e-mail: watchara\_pattala@hotmail.com

#### ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริภักดิ์ สุระพร

อาจารย์ประจำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150  
e-mail: siripuk\_s@yahoo.com

#### ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันวิสาข์ ศิริวัฒน์เมธานนท์

อาจารย์ประจำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150  
e-mail: wanwisa.dodgson@gmail.com

