จันทร์เพ็ญ ปุ๊กสูงเนิน 2551: การสำรวจและการตรวจวินิจฉัยโรคใบด่างของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อ *Brome mosaic virus* ในประเทศไทย. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์คนึงนิตย์ เหรียญวรากร, Ph.D. 88 หน้า.

งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการสำรวจและตรวจวินิจฉัยโรคใบด่างของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อ *Brome mosaic virus* (BMV) ซึ่งเป็นโรคไวรัสที่พบแพร่ระบาดไปทั่วโลก โดยทำการสำรวจ ในแหล่งปลูกข้าวโพดที่สำคัญของประเทศไทย ในการตรวจใช้เทคนิค enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) พบว่าเชื้อที่แยกได้จากใบข้าวโพดที่เป็นโรคจากจังหวัดราชบุรี (RB) และกาญจนบุรี (KB) สามารถทำให้ *Chenopodium amaranticolor* แสดงอาการแผลจุดเฉพาะแห่ง และข้าวโพดหวาน แสดงอาการด่างทั่วต้น เมื่อนำเชื้อไวรัสทั้ง 2 ไอโซเลท มาเตรียมไวรัสให้บริสุทธิ์ พบว่าได้ไวรัสค่อนข้างบริสุทธิ์ที่มีค่า A_{260}/A_{280} เท่ากับ 1.63 และ 1.60 จากไอโซเลท RB และ KB ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของไวรัสด้วยเทคนิค Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) พบแถบโปรตีน เพียงแถบเดียว มีขนาดประมาณ 21.68 กิโลดาลตัน จากการนำทั้ง 2 ไอโซเลท มาแยกสกัดอาร์เอ็นเอจากไวรัสบริสุทธิ์ ปรากฏแถบอาร์เอ็นเอ 3 ชิ้น เมื่อวิเคราะห์ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อ พบว่ามีความยาวตลอดยีน 573 นิวคลีโอไทด์ แปลรหัสให้โปรตีนขนาด 190 เรสซิดิวส์ ความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ระดับ 99 เปอร์เซ็นต์ และกรดอะมิโน 100 เปอร์เซ็นต์ และมีความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ และกรดอะมิโน กับเชื้อ BMV-F, BMV-R และ BMV-Type จากฐานข้อมูล GenBank ที่ระดับ 73 เปอร์เซ็นต์ และ 76-77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทาง Phylogenetic tree จากข้อมูลกรดอะมิโน พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลทของประเทศไทยถูกจัดกลุ่มแยกออกจากทั้ง 3 สายพันธุ์ ทดสอบความรุนแรงของเชื้อ BMV ทั้ง 2 ไอโซเลท บนข้าวโพด 5 สายพันธ์ ในสภาพโรงเรือน พบว่าเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคและการพัฒนาอาการมีความรุนแรงไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อทดสอบปฏิกิริยาบนพืชทดสอบ และตรวจเชื้อด้วยเทคนิค ELISA พบว่าสามารถแบ่งอาการของพืชทดสอบได้เป็น 3 กลุ่ม คือ พืชทดสอบที่แสดงอาการและตรวจพบเชื้อ พืชทดสอบที่แสดงอาการและตรวจไม่พบเชื้อ และพืชทดสอบที่ไม่แสดงอาการและตรวจไม่พบเชื้อ

ไวรัสไอโซเลท BMV-RB ใช้เป็นแอนติเจน ในการผลิตโพลีโคลนอลแอติบอดีต่อเชื้อ BMV พบว่าแอนติซีรัมที่ผลิตได้สามารถทำปฏิกิริยาได้อย่างจำเพาะกับเชื้อ BMV และไม่ทำปฏิกิริยากับเชื้อ SCMV, MCMV , SCMV-MDB และ CMV ดังนั้นจากลักษณะและคุณสมบัติต่างๆของเชื้อ ที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ จึงเป็นประโยชน์ในการนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวินิจฉัยโรคที่เกิดจากเชื้อ BMV เพื่อการป้องกันกำจัดโรคอย่างมีประสิทธิภาพ

Janpen Pooksungnurn 2008: Survey and Diagnosis of Maize Mosaic Disease Caused by *Brome Mosaic Virus* in Thailand. Master of Science (Agriculture), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Assistant Professor Kanungnit Reanwarakorn, Ph.D. 88 pages.

This research was studied and diagnosised of *Brome mosaic virus* (BMV) which was found worldwide epidemics. By survey of maize mosaic disease caused by BMV in important maize growing areas in Thailand. Two isolates of BMV were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique in Kanchanaburi (KB) and Ratchaburi (RB) provinces. Both isolates caused local lesion on *Chenopodium amaranticolor* and systemic mosaic symptom on sweet corn. They were isolated, multiplied and purified. The purified viruses were shown with A_{260}/A_{280} absorbance ratio at 1.63 and 1.60 from KB and RB isolates, respectively. A single band protein was displayed with approximate at 21.68 kDa by Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) technique. The two isolates were shown three RNA segments by extraction purified viruses. BMV-coat protein gene were composed of 573 nucleotides and encoded for 190 residue. They were displayed similarity of 99% nucleotide and 100% amino acid sequences with each other as well as 73% and 76-77% nucleotide and amino acid sequences, respectively, with GenBank database of BMV-F, BMV-R and BMV-type. Using Phylogenetic tree analysis with amino acid of CP-gene, both Thai isolates were separated groups from those GenBank isolates. By virulent assessment of the Thai isolates on 5 varieties of maize in greenhouse, percentage of maize disease and symptom development were shown the same level in both isolates. Using bioassay and confirming with ELISA technique, indicator plants were separated into three distinct groups, symptom with found BMV, symptom with negative tested BMV and symptomless with negative tested BMV.

Purified BMV-RB isolate was used as an antigen for polyclonal antibody (PAb) production. PAb reacted specifically with the BMV infected plants without cross reaction to SCMV, MCMV, SCMV-MDB and CMV. Base on this research, the characteristic and other properties of BMV have been useful for BMV diagnosis and efficacious disease control.