

การประเมินความต้านทานของพันธุ์มันสำปะหลังที่นำเข้าจากประเทศไนจีเรียต่อเชื้อ
Sri Lankan Cassava Mosaic Virus สาเหตุโรคใบด่างมันสำปะหลังในสภาพโรงเรือน
Evaluation of Disease Resistance of the Cassava Lines Introduced from
Nigeria to Sri Lankan Cassava Mosaic Virus, the Causal Agent of Cassava
Mosaic Disease, under Greenhouse Conditions

ชลธิชา รักใคร่^{1/} อิดาวรรณ ชมเดช^{1/} วานิช คำพานิช^{1/} พรรณิภา เปชัยศรี^{1/}

दनัย ชัยเรือนแก้ว^{1/} ภูวนารถ มณีโชติ^{1/}

Chonticha Rakkrai^{1/} Tidawan Chomdate^{1/} Wanich Khampanich^{1/} Phannipa Paechaisri^{1/}

Danai Chaireunkaew^{1/} Phoowanarth Maneechoat^{1/}

Received 12 Jul. 2022/Revised 31 Aug 2022/Accepted 11 Sept. 2022

ABSTRACT

The first outbreak of cassava mosaic disease (CMD) in Thailand was reported in 2018. The causal virus was Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV). Due to the uses of the infected cassava cuttings for planting the disease widely spread across the country and caused severe tuber yield losses. One approach applied to control CMD was the use of CMD-resistant cassava lines. In this research, five cassava lines resistant to CMD were introduced from Nigeria and evaluated for resistance to SLCMV under greenhouse conditions. Artificial inoculation was performed by top grafting the virus-free Nigerian cassava lines onto the SLCMV-infected shoots of CMR43-08-89, a susceptible cassava line. Disease severity and incidence were recorded 2-8 weeks after inoculation (WAI). Results revealed that all five Nigeria cassava lines, i.e. IITA-TMS-IBA 980581, IITA-TMS-IBA 972205, IITA-TMS-IBA 980505, IITA-TMS-IBA 920057 and TME B419 were susceptible to SLCMV with 100% disease incidence. All grafted plants gave positive SLCMV detection by PCR by showing a 747 bp fragment of the viral replicase gene. The ranges of mean severity score of the Nigerian cassava lines were 2.11-2.56. The mean severity score of the C33 control line was 1.89 and categorized as resistant (R), while the score of TME3 control line was 2.78 and categorized as susceptible (S). The detection of SLCMV in both symptomatic and asymptomatic tested plants indicated the tolerance reaction of some cassava lines which contained virus but showed less symptom.

Keywords: Cassava mosaic virus, disease resistance, grafting inoculation, disease severity, virus detection

¹ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 50 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹ Plant Protection Research and Development office, Department of Agriculture, 50 Phaholyothin Rd. Chatuchak, Bangkok 10900

*Corresponding author : rakkrai@yahoo.com

บทคัดย่อ

โรคใบด่างมันสำปะหลังแพร่ระบาดเป็นครั้งแรกในประเทศไทย เมื่อปี พ.ศ. 2561 โรคนี้เกิดจากเชื้อ Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) ซึ่งทำความเสียหายต่อผลผลิตมันสำปะหลังของประเทศ จากการนำท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่มีเชื้อมาปลูก ทำให้เกิดการระบาดออกไปเป็นวงกว้าง แนวทางหนึ่งที่น่าสนใจในการควบคุมโรคใบด่างมันสำปะหลังคือการใช้พันธุ์ต้านทานโรค การวิจัยนี้จึงได้ทำการประเมินความต้านทานต่อเชื้อ SLCMV ของสายพันธุ์มันสำปะหลังที่นำเข้าจากประเทศไนจีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ ซึ่งมีความต้านทานต่อโรคใบด่าง ทำการทดสอบในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยปลูกเชื้อ SLCMV ด้วยวิธีการเสียบยอดพันธุ์ที่นำเข้าบนต้นตอพันธุ์ CMR43-08-89 ที่ติดเชื้อ SLCMV ประเมินความรุนแรงของอาการโรคและอัตราการติดเชื้อเป็นระยะเวลา 2-8 สัปดาห์หลังการเสียบยอด ผลการศึกษาพบว่า ในสัปดาห์ที่ 8 มันสำปะหลังจากไนจีเรียทุกสายพันธุ์ ได้แก่ IITA-TMS-IBA980581, IITA-TMS-IBA972205, IITA-TMS-IBA 980505, IITA-TMS-IBA920057 และ TME B419 มีอัตราการติดเชื้อ 100 % โดยตรวจพบยีนเรพลิเคสของเชื้อ SLCMV ขนาด 747 คู่เบส ในมันสำปะหลังทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบ พิสัยค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคของพันธุ์จากไนจีเรียมีค่า 2.11-2.56 ขณะที่พันธุ์ควบคุม C33 มีค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค 1.89 จัดเป็นพันธุ์ต้านทาน (R) แต่พันธุ์ควบคุม TME3 มีค่าเฉลี่ย 2.78 จัดเป็นพันธุ์อ่อนแอ (S) ผลการตรวจพบเชื้อ SLCMV ทั้งในต้นที่พบอาการและไม่แสดงอาการโรค แสดงถึงปฏิกิริยาแบบทนโรคของบางสายพันธุ์ที่มีเชื้อไวรัส แต่แสดงอาการโรคเพียงเล็กน้อย

คำสำคัญ: ไวรัสใบด่างมันสำปะหลัง, ความต้านทานโรค, การเสียบยอด, ความรุนแรงของโรค, การตรวจหาไวรัส

บทนำ

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz) เป็นพืชอาหารหลักที่สำคัญของโลก เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญของมนุษย์และสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศในเขตร้อนของทวีปแอฟริกา อเมริกาใต้ และทวีปเอเชียบางประเทศ เช่น อินโดนีเซีย อินเดีย และฟิลิปปินส์ ศรีลังกา เวียดนาม และกัมพูชา รวมถึงประเทศไทย (Khandare and Choomsook, 2019) ปัญหาสำคัญที่พบในการผลิตมันสำปะหลังคือ การระบาดของารุนแรงของโรคใบด่างมันสำปะหลัง (cassava mosaic disease; CMD) ที่พบครั้งแรกในประเทศแทนซาเนีย ทวีปแอฟริกา ในปี ค.ศ. 1894 ทำให้ผลผลิตหัวมันสำปะหลังลดลง 20-95 % (Fauquet and Fargette, 1990) อาการของ CMD ได้แก่ ใบด่างใบผิดปกติ บิดเบี้ยว ขนาดของใบเล็กลงและต้นมันสำปะหลังแคระแกร็น หัวมันเล็กลงหรือไม่ลงหัว ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรคและอายุของพืชในขณะที่ติดเชื้อ ไวรัสชนิดแรกที่ระบุว่าเป็นสาเหตุโรค ได้แก่ African cassava mosaic virus (ACMV) (Fauquet and Fargette, 1990) และพบเชื้อสาเหตุโรคนี้อีกมากกว่า 12 ชนิด ส่วนใหญ่อยู่ในทวีปแอฟริกา ต่อมาพบโรคนี้ในทวีปเอเชียเริ่มจากประเทศอินเดียและศรีลังกา และตรวจพบเชื้อสาเหตุสองชนิด คือ Indian cassava mosaic virus (ICMV) และ Sri Lankan cassava mosaic virus (Alabi *et al.*, 2011) กลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคใบด่างมันสำปะหลังมีชื่อเรียกว่า cassava mosaic geminiviruses (CMGs) จัดอยู่ในวงศ์ *Geminiviridae* ในสกุล *Begomovirus* เชื้อกลุ่มนี้มีสารพันธุกรรมเป็นดีเอ็นเอรูปทรงเป็นวงกลมสายเดี่ยว มีสองโมเลกุลเรียกว่า DNA-A และ DNA-B แต่ละโมเลกุลมีขนาด 2.7 กิโลเบส บรรจุอยู่ในอนุภาคไวรัสรูปทรงกลมแป้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18 x 30 นาโนเมตร แพร่ระบาดโดยมีแมลงหริ่งขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) เป็นพาหะเชื้อไวรัสคงอยู่ในตัวแมลงหริ่งขาวได้ตลอดอายุขัย

ของแมลง และสามารถติดไปกับท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง เมื่อไวรัสเข้าทำลายต้นมันที่ปลูกจากท่อนพันธุ์เหล่านี้ ทำให้ผลผลิตเสียหาย (Brown *et al.*, 2015)

ในเดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2557-2559 มีรายงานพบโรคใบด่างมันสำปะหลังที่เกิดจากเชื้อ SLCMV ในประเทศกัมพูชาและเวียดนาม ซึ่งเกิดจากการนำท่อนพันธุ์มันสำปะหลังจากประเทศจีนมาปลูก ต่อมาในปี พ.ศ. 2560 เริ่มพบโรคนี้ในประเทศไทยที่ จ. สุรินทร์ ศรีสะเกษ และปราจีนบุรี ซึ่งอยู่ใกล้ชายแดนติดกับประเทศกัมพูชา และแหล่งที่มาของเชื้อมาจากท่อนพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศกัมพูชา (ภูวนารถ และคณะ, 2558) กรมวิชาการเกษตรจึงได้ดำเนินการกำจัดต้นมันที่เป็นโรคโดยวิธีฝังกลบ และจากการติดตามสำรวจเผ่าระวังอย่างต่อเนื่องในปี พ.ศ. 2562-2563 พบว่า โรคใบด่างมันสำปะหลังแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วใน จ. สระแก้ว และอีกหลายจังหวัดในภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง การเกิดโรคมันทั้งที่เกิดจากท่อนพันธุ์ที่นำเข้ามาในแปลงใหม่ และที่เกิดจากการถ่ายทอดโรคโดยแมลงห้ำขาว (ภูวนารถ และคณะ, 2561)

แนวทางในการควบคุมโรคใบด่างมันสำปะหลังอย่างยั่งยืน คือการเพาะปลูกด้วยท่อนพันธุ์สะอาดที่ปราศจากเชื้อ SLCMV และการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรค แหล่งของเชื้อพันธุกรรมที่ต้านทานต่อโรค CMD มีทั้งจากประเทศต่าง ๆ ในทวีปแอฟริกา อินเดีย และสหรัฐอเมริกา ซึ่งมีการปรับปรุงพันธุ์มาเป็นระยะเวลานาน และได้สายพันธุ์มันสำปะหลังที่ทนทานต่อเชื้อ CMGs หลายสายพันธุ์ โดยมีเครื่องหมายโมเลกุล (DNA markers) CMD1 และ CMD2 ที่ใช้ในการคัดเลือกพันธุ์พืชต้านทานเชื้อ CMGs Akano *et al.* (2002) รายงานว่า สายพันธุ์ landrace TME3 และ C33 ของประเทศไนจีเรีย และแคเมอรูน ซึ่งมีแหล่งพันธุ์มาจากสถาบันวิจัย

International Center for Tropical Agriculture (CIAT) และ International Institute of Tropical Agriculture (IITA) มีเครื่องหมายโมเลกุล CMD1 และ CMD2 และต้นพืชไม่แสดงอาการของโรค แม้จะตรวจพบเชื้อไวรัส สำหรับประเทศไทย จีราพร และคณะ (2563) ตรวจหาเครื่องหมายโมเลกุลของความต้านทานโรคในสายพันธุ์มันสำปะหลังจากแหล่งพันธุกรรมของศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง กรมวิชาการเกษตร พบว่า สายพันธุ์ MMAL63 และ CMR23-149-59 มีเครื่องหมายโมเลกุลที่เหมือนกับ TME3 จำนวน 9 ตำแหน่ง อิดาวรรณ และคณะ (2563) ได้ศึกษาวิธีการปลูกเชื้อ SLCMV ที่เหมาะสมในการประเมินระดับความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง โดยทำการเปรียบเทียบวิธีการเสียบยอดและวิธีใช้น้ำคั้นทาบบนใบมันสำปะหลัง ใช้พันธุ์ CMR43-08-89 เป็นพันธุ์ทดสอบ วัดผลการเป็นโรคใบด่างที่ระยะเวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์หลังปลูกเชื้อ ตรวจเชื้อในต้นพืชด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR) พบว่า วิธีการเสียบยอดเป็นวิธีปลูกเชื้อที่เหมาะสมสำหรับประเมินความต้านทานโรค ส่วนวิธีการทาน้ำคั้นบนใบนั้นแม้จะสามารถตรวจพบเชื้อ SLCMV บนใบยอดที่เจริญใหม่ แต่พืชไม่แสดงอาการของโรคใบด่างจึงไม่ใช่วิธีนี้ในการประเมินระดับความต้านทานของพันธุ์มันสำปะหลัง

ในปี พ.ศ. 2562 ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันพัฒนามันสำปะหลัง ร่วมกับกรมวิชาการเกษตร ได้มีโครงการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง โดยการขออนุญาตนำสิ่งต้องห้ามเข้ามาในราชอาณาจักรเพื่อการทดลองหรือวิจัยตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 และที่แก้ไขเพิ่มเติม ตามใบอนุญาตนำเข้า (Import permit) เลขที่ 17/2561 ลงวันที่ 23 ตุลาคม 2561 ซึ่งนำเข้าสายพันธุ์มันสำปะหลังในรูปแบบต้นกล้าเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลอดเชื้อ จำนวน 5 สายพันธุ์ ประกอบด้วย TME B 419, IITA-TMS-IBA 980581,

IITA-TMS-IBA 980505, IITA-TMS-IBA 972205 และ IITA-TMS-IBA 920057 จากสถาบัน IITA มีต้นกำเนิดจากประเทศไนจีเรีย (Egesi *et al.*, 2007; Thuy *et al.*, 2021) ที่มียีน *CMD2* และมีความต้านทานต่อ CMD ดังนั้น การทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบปฏิกิริยาความต้านทานของพันธุ์มันสำปะหลังที่นำเข้าต่อเชื้อ SLCMV ในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยใช้วิธีการเสียบยอดจากต้นพันธุ์ที่นำเข้าจากประเทศไนจีเรีย ลงบนต้นตอที่เป็นโรค หากพบพันธุ์ที่ต้านทานต่อเชื้อ SLCMV จะทำการขยายต้นแล้วนำไปปลูกทดสอบความต้านทานโรคใบด่างในแปลงเพื่อใช้เป็นพันธุ์ทางเลือกให้แก่เกษตรกรหรือใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมต้นตอมันสำปะหลังที่เป็นโรคใบด่างที่เกิดจากเชื้อ SLCMV

ใช้ต้นมันสำปะหลัง CMR43-08-89 (พันธุ์ CMR43-08-89) เป็นแหล่งของเชื้อไวรัส SLCMV สำหรับเป็นต้นตอเพื่อเสียบยอดด้วยพันธุ์ทดสอบจากไนจีเรียที่ปลอดโรค นำท่อนพันธุ์ CMR43-08-89 ที่ตรวจพบเชื้อ SLCMV จากแปลงปลูก จ.สระแก้ว มาเตรียมปลูกที่โรงเรือนสถานกักพืช กรมวิชาการเกษตร ตรวจสอบต้นมันพันธุ์ CMR43-08-89 ที่นำมาใช้ว่ามีเชื้อ SLCMV ด้วยวิธี PCR (ภูวนารถ และคณะ, 2558) และหั่นเป็นท่อนสั้น ๆ ความยาวประมาณ 15 ซม.และตามลักษณะที่ยังงอกได้ดี ปลูกท่อนมันแต่ละท่อนลงในกระถางขนาด 6 นิ้ว ที่มีดินปลูก รดน้ำให้ชุ่มนำไปวางในโรงเรือนกักพืชที่กั้นแบ่งแยกจากที่วางต้นพันธุ์มันปลอดโรค รดน้ำวันเว้นวัน ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ทุก 2 สัปดาห์ และฉีดพ่นสารไทอะมีโทแซม 25 % WG เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง และสารเพนไพรอกซิเมต 5% W/V SC เพื่อป้องกันกำจัดไรแดงเมื่อตรวจพบ ในอัตราตามคำแนะนำเมื่อต้นพันธุ์อายุ 3 เดือน หรือยอดที่มีใบ 3-5 ใบ

และแสดงอาการโรคใบด่างอย่างชัดเจน จึงใช้เป็นต้นตอสำหรับการเสียบยอดด้วยมันสำปะหลังพันธุ์ปลอดโรคที่นำเข้า

2. การเตรียมยอดต้นพันธุ์มันสำปะหลังสายพันธุ์นำเข้าจากประเทศไนจีเรีย

สายพันธุ์มันสำปะหลังที่นำมาทดสอบความต้านทานโรคเป็นพันธุ์ที่นำเข้าจากประเทศไนจีเรีย จำนวน 5 สายพันธุ์ โดยได้รับความอนุเคราะห์ต้นพันธุ์ที่ขยายออกปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเป็นต้นปลอดโรค จากภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พันธุ์ละ 10 กระถาง ได้แก่ พันธุ์ IITA-TMS-IBA 980581, IITA-TMS-IBA 972205, IITA-TMS-IBA 980505, IITA-TMS-IBA 920057 และ TME B419 รวมทั้งปลูกมันสำปะหลังที่ใช้เป็นกรรมวิธีควบคุมพันธุ์ทนทานต่อโรคจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ C33 และ TME 3 ใช้กรรมวิธีควบคุมพันธุ์อ่อนแอ 1 พันธุ์ ได้แก่ CMR43-08-89 ตรวจสอบต้นมันสำปะหลังทุกต้นที่จะนำมาเสียบยอดว่าปลอดจากเชื้อ SLCMV ด้วยวิธีพีซีอาร์

3. การปลูกเชื้อด้วยวิธีเสียบยอด

ใช้วิธีการเสียบยอดแบบ top grafting สำหรับมันสำปะหลัง (Rwegasira and Chrissie, 2015; ธิดาวรรณ และคณะ, 2563) โดยใช้กิ่งพันธุ์ CMR43-08-89 ที่เจริญออกมาจากท่อนพันธุ์ที่เป็นโรคเป็นต้นตอ เลือกกิ่งที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-0.7 ซม. ตัดส่วนยอดทิ้ง ผ่ากลางลำต้นตามแนวตั้งลึกลงไปประมาณ 1.5 ซม จากนั้นตัดกิ่งยอดของมันสำปะหลังพันธุ์นำเข้าจากประเทศไนจีเรีย ความยาวประมาณ 15 ซม. เฉือนส่วนปลายล่างเป็นรูปลิ้น เสียบลงบนกิ่งของต้นตอพันธุ์ CMR43-08-89 ที่เป็นโรค แล้วพันบริเวณรอบแผลที่เสียบยอดด้วยแถบพาราฟิล์มป้องกันน้ำคลุมต้นที่มีการเสียบยอดด้วยถุงพลาสติก และรัดถุง

ด้วยยางที่บริเวณปากกระถาง นำต้นที่ทดสอบไปเก็บไว้ในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 27 °ซ. ปิดล้อยประตูไม่ให้บุคคลภายนอกเข้า-ออก รดน้ำและดูแลเป็นเวลา 7 วัน ให้แผลที่เสียบยอดสมานกันดีแล้วถอดถุงพลาสติกออก จากนั้นย้ายกระถางพืชทดสอบออกไปไว้ในโรงเรือนของสถานกักพืช ทำความสะอาดห้องปฏิบัติการที่เก็บพืชด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อและน้ำยาทำความสะอาดเพื่อกำจัดเชื้อและสิ่งปนเปื้อน

4. การประเมินอัตราการติดเชื้อและระดับความต้านทานโรค

4.1 หลังการเสียบยอดแล้ว 1 สัปดาห์ ตรวจดูรอยแผลที่เชื่อมติดกัน และนับจำนวนต้นที่เสียบยอดติด เพื่อหาอัตราการเสียบยอดได้สำเร็จ และประสิทธิภาพของวิธีการที่นำมาใช้

4.2 บันทึกจำนวนต้นที่เกิดโรค ทุก 2 สัปดาห์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ รวมทั้งตรวจหาเชื้อ SLCMV ด้วยวิธีพีซีอาร์ในสัปดาห์ที่ 8 คำนวณอัตราการติดเชื้อ จากสูตร

$$\% \text{ อัตราการติดเชื้อ} = \frac{\text{จำนวนต้นที่เป็นโรค}}{\text{จำนวนต้นที่เสียบยอด}} \times 100$$

4.3 ประเมินระดับความรุนแรงของโรค ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยให้คะแนนระดับ

ความรุนแรงของโรคใบต่างภายหลังการเสียบยอด เป็น 5 ระดับ (IITA, 1990) ดังนี้

ระดับ 1 ไม่แสดงอาการของโรค

ระดับ 2 ใบมีอาการต่างเล็กน้อย ใบย่อยเปลี่ยนรูปเล็กน้อย โดยพบอาการเพียงหนึ่งใบต่อต้น

ระดับ 3 ใบมีอาการต่างชัดเจน ใบย่อย 2/3 เปลี่ยนรูป แต่ใบเปลี่ยนรูปไม่เกิน 20% ของทั้งต้น

ระดับ 4 ใบต่างรุนแรง ผิดรูปทั้งใบ ใบม้วนหงิกงอ พบอาการประมาณ 40% ของทั้งต้น

ระดับ 5 ใบแสดงอาการต่างรุนแรง ต้นเหี่ยวแห้ง ยอดเหี่ยว ใบหงิกงอ เสียรูป พบอาการ 50% ขึ้นไปของทั้งต้น บันทึกข้อมูลของพืชทุกต้น ในระยะเวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์

4.4 หาค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค (mean severity score) (Lokko *et al.*, 2005) นำค่าเฉลี่ยที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ และจัดทำผลการประเมินระดับความต้านทานตามเกณฑ์ดังนี้ ค่าเฉลี่ย 0-1.0 จัดเป็นระดับต้านทานมาก (HR) ค่าเฉลี่ย 1.1-2.0 เป็นระดับต้านทาน (R) ค่าเฉลี่ย 2.1-3.0 เป็นระดับอ่อนแอ (S) ค่าเฉลี่ย 3.1-5.0 และมากกว่า เป็นระดับอ่อนแอมาก (HS)

4.5 นับจำนวนต้นของแต่ละระดับความรุนแรงของโรค นำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค จากสูตร (Hooda *et al.*, 2018)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวมของ (ระดับความรุนแรงโรค x จำนวนต้นแต่ละระดับ)}}{\text{จำนวนต้นทดสอบทั้งหมด x คะแนนระดับความรุนแรงโรคสูงสุด}} \times 100$$

กำหนดเกณฑ์จัดระดับความต้านทานจากค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค ดังนี้ 0.0-20.0% เป็นระดับต้านทานมาก (HR), 20.1-40.0% เป็นระดับต้านทาน (R), 40.1-60.0% เป็นระดับอ่อนแอ (S), 60.1-100% เป็นระดับอ่อนแอมาก (HS)

5. การตรวจหาเชื้อ SLCMV ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

ดำเนินการในห้องปฏิบัติการไวรัสพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ตามวิธีของภูวนารถ และคณะ (2558) นำใบอ่อนจากต้นมันสำปะหลังแต่ละตัวอย่างน้ำหนัก

100 ก. ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ บดในไนโตรเจนเหลว ให้ละเอียด จากนั้นสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอรวม (Plant genomic DNA Extraction Mini Kit, FAVORGEN, Taiwan) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต ในขั้นตอนสุดท้ายได้สารละลายดีเอ็นเอ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แบ่งดีเอ็นเอมา 3 ไมโครลิตร เพื่อทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ 2 สาย ที่จำเพาะต่อยีนเรพลิเคสของไวรัส SLCMV คือ forward primer AV1432 และ reverse primer AC2178 ให้ผลผลิตดีเอ็นเอขนาด 747 คู่เบส (ภูวนารถ และคณะ, 2561) เตรียมหลอดปฏิกิริยา

พีซีอาร์ ปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร ใช้ส่วนผสมของ Green PCR Master Mix (Biotech rabbit, Germany) ประกอบด้วย 2x master mix buffer ปริมาตร 10 ไมโครลิตร nuclease-free water ปริมาตร 5 ไมโครลิตรไพรเมอร์ forward AV1432 (10 pmole) ปริมาตร 1 ไมโครลิตรไพรเมอร์ reverse AC2178 (10 pmole) ปริมาตร 1 ไมโครลิตรดีเอ็นเอต้นแบบที่สกัดได้จากใบอ่อนมันสำปะหลัง ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ตามขั้นตอนดังนี้ pre-denaturation 94 °ซ. นาน 5 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ จำนวน 35 รอบ แต่ละรอบประกอบด้วย denaturation 94 °ซ. นาน 20 วินาที annealing 56 °ซ. นาน 20 วินาที และ extension 72 °ซ. นาน 45 วินาที และขั้นตอน final extension 72 °ซ. นาน 7 นาที เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์แล้ว ตรวจสอบผลผลิตดีเอ็นเอด้วย agarose gel electrophoresis 1.2 % ที่เติม RedSafe Nucleic Acid Staining Solution, 2000x (INTRON Biotechnology, Korea) ใน 1X TAE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที แล้วตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง ChemiDoc Gel Imaging System (Biorad, USA)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ประสิทธิภาพของการปลูกเชื้อด้วยวิธีการเสียบยอดและอาการของต้นที่ติดเชื้อ

ผลการปลูกเชื้อด้วยการเสียบยอดในระยะสัปดาห์แรก พบการเชื่อมติดของเนื้อเยื่อต้นตอกับยอดที่นำมาเสียบบนพันธุ์ CMR43-08-89 ที่ใช้เป็นพันธุ์ควบคุมชนิดอ่อนแอมาก ในสัปดาห์ที่ 2 (Figure 1) ตรวจนับพันธุ์ที่เสียบยอดได้สำเร็จทั้ง 10 ต้น ได้แก่ พันธุ์ C33, CMR43-08-89, TME B419 และ TMS-IBA980581 ส่วนพันธุ์ TME3, TMS-IBA980505, TMS-IBA972205 และ TMS-IBA920057 เสียบยอดติด จำนวน 8, 7, 6 และ 3 ต้น ตามลำดับ ประสิทธิภาพของการเสียบยอดสำเร็จในช่วง 80-100% มีจำนวน 5 พันธุ์จาก 8 พันธุ์ที่ทดลอง (Table 1) ขณะที่พันธุ์ TMS-IBA920057 มีอัตราเสียบยอดติดและรอดชีวิต

จนสิ้นสุดการทดลองเพียง 30% อาการของต้นที่ได้รับการเสียบยอดในสัปดาห์ที่ 2 พบว่า ใบอ่อนของยอดที่นำมาเสียบเริ่มมีจุดสีขีดประปรายบนใบ ต่อมาในสัปดาห์ที่ 4, 6 และ 8 อาการต่างรุนแรงเพิ่มมากขึ้นเป็นระดับ 3-5 ใบหงิกงอ บิดผิดรูป ขอบใบเว้า ใบม่นและปลายใบหด ซึ่งเป็นลักษณะอาการของโรคใบด่างที่เกิดจากเชื้อ SLCMV (Figure 2)



Figure 1 Artificial inoculation of cassava plant by top grafting technique to evaluate cassava lines for resistance to Sri Lankan cassava mosaic virus. (A) Growing infected CMR 43-08-89 stocks (B) TMS-IBA 972205 cassava plant introduced from Nigeria, regenerated from tissue culture system (C) A top-cut stock plant (D) A scion was inserted into a stock plant (E) Successfully grafted plant (F) Mosaic symptom on an infected CMR 43-08-89 stock plant used as virus inoculum

Table 1 Percentage of grafting success rate at two weeks after graft inoculation (WAI), and percent disease incidence at four and eight weeks after graft inoculation as determined by symptom visualization and PCR

Cassava line	No. of successfully grafted plants /total grafted plants at 2 WAI	Grafting success rate at 2 WAI (%)	Disease incidence (%)	
			4 WAI	8 WAI
TMS-IBA 980581	10/10	100	90.0	100
TMS-IBA 972205	6/10	60	33.3	100
TMS-IBA 980505	7/10	70	71.4	100
TMS-IBA 920057	3/10	30	0.00	100
TME B419	10/10	100	90.0	100
C33	10/10	100	50.0	100
TME3	8/10	80	62.50	100
CMR 43-08-89	10/10	100	80.0	100

2. การเกิดโรคและการประเมินระดับความต้านทานโรค

ในสัปดาห์ที่ 4 (4 WAI) หลังจากเสียบยอด ตรวจดูลักษณะอาการโรคบนยอดที่เสียบกับต้นตอ เป็นโรคด้วยตาเปล่า และนับจำนวนต้นที่พบอาการ คำนวณอัตราการติดเชื้อและเกิดโรค พบว่าพันธุ์ควบคุมแบบต้านทาน C33 และ TME3 มีอาการระดับ 2 มีอัตราเกิดโรค 50 และ 62.5% ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ควบคุมอ่อนแอ CMR 43-08-89 เป็นโรค 80% และ 5 ใน 10 ต้น มีอาการระดับ 4-5 พันธุ์จากไนจีเรีย ได้แก่ TMS-IBA 980581, TME B419, TMS-IBA 980505 และ TMS-IBA 972205 เป็นโรค 88.9, 88.9, 71.4 และ 33.3 % ตามลำดับ แต่ความรุนแรงอาการอยู่ในระดับ 1-3 ไม่พบอาการระดับ 4-5 ส่วนพันธุ์ TMS-IBA 920057 ยังไม่แสดงอาการโรค ต่อมาในสัปดาห์ที่ 8 (8 WAI) ตรวจดูอาการบนต้นพืชร่วมกับการตรวจหาเชื้อ SLCMV พบแถบดีเอ็นเอผลผลิตจากปฏิกิริยาพีซีอาร์ขนาด 747 คู่เบส ของเชื้อไวรัส SLCMV ในมันสำปะหลังทุกต้นทุกพันธุ์ที่เสียบยอดและอยู่รอดชีวิต (Figure 2) พบทั้งต้นที่แสดงอาการรุนแรง (ระดับ 4-5) และไม่รุนแรง (ระดับ 1-3) จึงทำให้มีผลของอัตราการติดโรคทุกพันธุ์เป็น 100% ในการทดลองครั้งนี้ (Table 1) ลักษณะอาการโรคบนพันธุ์อ่อนแอมาก CMR 43-08-89 ที่ปลูกเชื้อ

ด้วยการเสียบยอด มีอาการใบต่างรุนแรง ใบบิด ม้วนงอ ใบย่อยหดหรือไม่พัฒนา ใบมีขนาดเล็กลง ส่วนพันธุ์ควบคุม C33 และพันธุ์นำเข้าจากประเทศไนจีเรียที่เสียบยอด แสดงอาการใบต่างเพียงเล็กน้อย หรือใบมีจุดสีซีดเหลือง ใบผิดรูป และใบย่อยไม่พัฒนา ใบยอดหดเล็กลง (Figure 3)

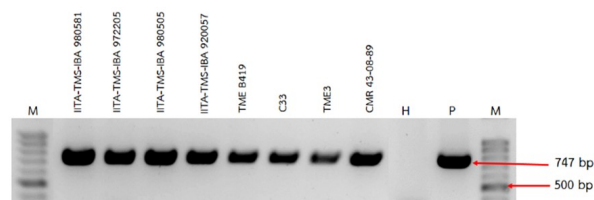


Figure 2 Electrophoresed agarose gel for size determination of PCR- amplified DNA fragments of 747 bp (dark bands) from DNA extract of cassava plant after graft inoculation of Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) for resistance evaluation. M, 100 bp Ladder; H, DNA extract of healthy cassava plant; P, DNA of SLCMV- infected plant. Names of cassava lines under tested were indicated over each column

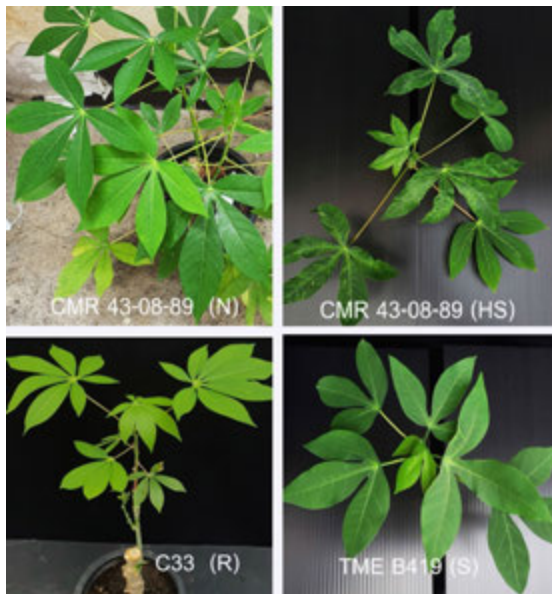


Figure 3 Graft inoculated cassava plants with disease symptoms. CMR 43-08-89 (N) was a non-inoculated plant. The grafted susceptible CMR 43-08-89 (HS) plant showed severe mosaic and deformed leaves. The grafted C33 resistant (R) plant showed mild symptom, and the TME B419 susceptible (S) plant showed severely deformed leaves

คำนวณค่าเฉลี่ยคะแนนความรุนแรงของโรคในสัปดาห์ที่ 2- 8 รวมทั้งวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรม R (ซุคักดี, 2559) พบว่า ในระยะ 2 สัปดาห์แรก ไม่พบอาการโรค มีค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค 1.00-1.22 จากนั้นในสัปดาห์ที่ 4 ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคของพันธุ์อื่นอยู่ในช่วง 1.22-2.11 ส่วนพันธุ์ IITA-TMS-IBA 920057 ยังไม่แสดงอาการ (ค่าเฉลี่ย 1.00) ต่อมา ในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 อาการโรครุนแรงมากขึ้นตามระยะการเจริญของมันสำปะหลัง ทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบมีค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นเป็น 2.11-2.56 แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ พันธุ์ CMR 43-08-89 ที่เป็นพันธุ์ควบคุมแบบอ่อนแอมาก (HS) มีค่าเฉลี่ยอาการ 4.11 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (Table 2) เมื่อจัดระดับความต้านทานต่อเชื้อ SLCMV ตามค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค โดยพันธุ์ C33 มีค่า 1.89 จัดเป็นพันธุ์ต้านทาน (R) พันธุ์ TME3 มีค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค 2.78 และทุกพันธุ์จากไนจีเรียที่นำมาทดสอบ จัดว่าเป็นพันธุ์อ่อนแอ (S) (Figure 4)

Table 2 Mean severity score of graft inoculated cassava lines for evaluation of resistance to Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) from 2 to 8 weeks after inoculation (WAI) and percent disease index at 8 WAI

Cassava line	Mean severity score (weeks after inoculation)				Disease index (%)
	2 WAI	4 WAI	6 WAI	8 WAI	8 WAI
IITA-TMS-IBA 980581	1.2 ^{ns}	2.1ab ^{1/}	2.2b	2.5b	51.1bc ^{1/}
IITA-TMS-IBA 972205	1.0	1.2bc	1.7b	2.6b	51.1bc
IITA-TMS-IBA 980505	1.1	1.7bc	2.1b	2.4b	48.9bc
IITA-TMS-IBA 920057	1.0	1.0c	2.0b	2.3b	46.7bc
TME B419	1.0	2.0ab	2.1b	2.1b	42.2bc
C33	1.0	1.4bc	1.8b	1.9b	37.8c
TME3	1.1	1.7bc	2.4b	2.8b	58.3b
CMR 43-08-89	1.2	2.9a	3.2a	4.1a	82.2a
Mean	1.1	1.7	2.2	2.6	52.3
CV (%)	16.3	28.6	19.7	17.6	16.6

ns = not significant

^{1/}Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

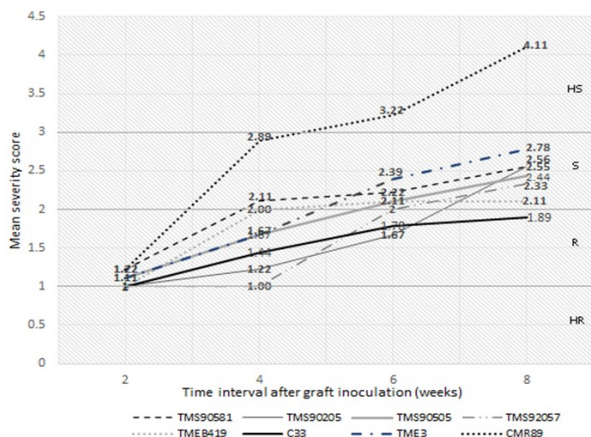


Figure 4 The graphs of mean severity score of disease symptoms development on the tested cassava lines after graft inoculation with SLCMV-infected scion, and their resistance evaluation results (HR, R, S, HS)

คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคโดยใช้ 3 พารามิเตอร์ คือ อัตราการติดเชื้อ คะแนนระดับความรุนแรงของโรค และจำนวนต้นของแต่ละระดับคะแนน พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 พันธุ์จากประเทศไนจีเรีย TMS-IBA 920057 (รอดชีวิตเพียง 3 ต้น) มีค่าดัชนีการเกิดโรคต่ำที่สุด 20.00% รองลงมา คือ พันธุ์ TMS-IBA 972205 มีค่าดัชนีการเกิดโรค 26.67% และพันธุ์ควบคุม C33 แบบต้านทานโรค มีค่าดัชนีการเกิดโรค 28.89 % แตกต่างจากพันธุ์ควบคุมแบบอ่อนแอ CMR 43-08-89 ที่มีค่าดัชนีการเกิดโรคสูงถึง 57.78% และจนถึงสัปดาห์ที่ 8 โรคมีพัฒนาการรุนแรงมากขึ้น ทำให้ค่าดัชนีการเกิดโรคเพิ่มขึ้นสูงที่สุดถึง 82.22% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสายพันธุ์มันสำปะหลังจากไนจีเรีย TMS-IBA 980581, TMS-IBA 972205, TMS-IBA 980505, TMS-IBA 920057, TME B419 ที่มีค่าดัชนีการเกิดโรค 51.11, 51.11, 48.89, 46.67, และ 42.22 % ตามลำดับ ทั้งหมดนี้จัดเป็นพันธุ์อ่อนแอ (S) พันธุ์ควบคุม C33 มีค่าดัชนีการเกิดโรค 37.78% จัดเป็นพันธุ์ต้านทาน (R) และ TME3 มีค่า 58.33% จัดเป็นพันธุ์อ่อนแอ (S) แต่ค่าดัชนีการเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Figure 5)

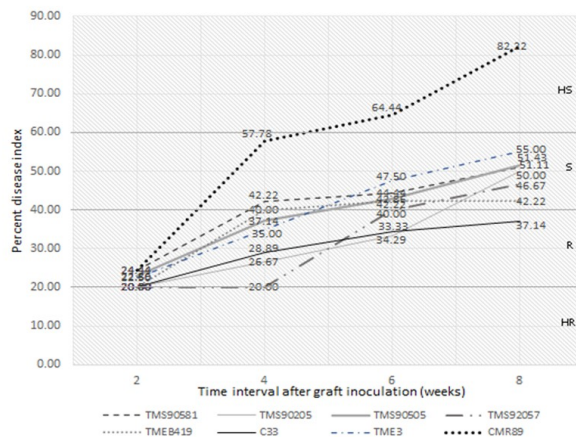


Figure 5 The graphs of percent disease index of the tested cassava lines after graft inoculation with SLCMV-infected scion, and their resistance evaluation results (HR, R, S, HS)

การทดสอบพันธุ์มันสำปะหลังจากประเทศไนจีเรียครั้งนี้ ผู้วิจัยพบว่า ทุกต้นที่เสียบยอดติด สามารถตรวจพบเชื้อ SLCMV ทั้งต้นที่อาการรุนแรงและไม่รุนแรง รวมทั้งมีประสิทธิภาพของการเสียบยอดติดค่อนข้างสูง (ยกเว้นพันธุ์ IITA-TMS-IBA 920057) วิธีที่นำมาใช้จึงมีความเหมาะสมต่อผลสำเร็จของการทดลอง ส่วนระยะเวลาที่ทำการประเมินช่วง 2-8 สัปดาห์ ก็เพียงพอต่อการประเมินผลการทดลอง หรืออาจขยายต่อไปถึง 12 สัปดาห์ตามที่เคยมีผู้รายงานมาก่อนหน้านี้ Monde *et al.* (2012) และ Rwegasira *et al.* (2015) รายงานว่าอายุมันสำปะหลังที่เป็นโรคมีผลต่อความผันแปรของปริมาณเชื้อก่อโรค (inoculum) ในแปลง ซึ่งการทดสอบในโรงเรือนจะควบคุมปริมาณ inoculum ได้ดีกว่า (Houngue *et al.*, 2019) สำหรับวิธีการประเมินความต้านทานโรคใบด่างของมันสำปะหลังนั้น จากผลการทดสอบในงานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่า สามารถใช้ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค (mean severity score) หรือค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค (percent disease index) ได้ทั้งสองค่า ซึ่งให้กราฟรูปแบบเดียวกัน ทั้งนี้ หากใช้ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค

จะสามารถนำไปเปรียบเทียบกับค่าการประเมินสายพันธุ์ของไนจีเรียที่พบในสภาพแปลงตามรายงานที่มีมาก่อนได้ (Asare *et al.*, 2014; Hougue *et al.*, 2019; Thuy *et al.*, 2021)

การประเมินความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของประเทศในทวีปแอฟริกา เช่น ไนจีเรีย แคมเอรูน เบนิน กานา และอีกหลายประเทศ ที่ทำในสภาพแปลงปลูก ใช้เกณฑ์การประเมินความต้านทานโดยใช้ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค ระดับ 1-5 (IITA, 1990; Lokko *et al.*, 2005) โดยให้คะแนนในสัปดาห์ที่ 6-48 หลังปลูกท่อนพันธุ์ หรือใช้วิธีหาผลรวมของจำนวนต้นของแต่ละระดับคะแนน นำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค แล้วจึงจัดระดับความต้านทานซึ่งเหมาะกับสภาพแปลงที่มีการตรวจประเมินเป็นระยะเวลานานหลายเดือน (Ariyo *et al.*, 2015) ทั้งนี้ การใช้ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคโดยตรงอาจให้ผลที่ไม่ตรงกับลักษณะความต้านทานจริงของพันธุ์ Asare *et al.*, (2014) พบว่า เมื่อใช้ค่านี้ประเมินมันสำปะหลัง 35 สายพันธุ์ มี 1 สายพันธุ์ที่มีค่า 1.0-1.1 และไม่พบเชื้อในต้นพืช จัดเป็นพันธุ์ต้านทานมาก แต่อีก 3 พันธุ์อาการไม่รุนแรงมีค่าเฉลี่ย 1.1-2.2 ซึ่งจัดเป็นระดับต้านทานปานกลาง แต่เมื่อตรวจหาเชื้อไวรัสก็พบเชื้อไวรัสในต้นพืชทั้ง 3 พันธุ์ จึงต้องจัดให้เป็นสายพันธุ์ทนโรค (tolerance) ในด้านการใช้เครื่องหมายโมเลกุลของความต้านทานโรค Bi *et al.* (2010) ได้ตรวจพบเครื่องหมายโมเลกุลของยีน *CMD1*, *CMD2* ในทั้ง 4 พันธุ์ดังกล่าวนี้ แสดงว่า ยีนดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคเพียงบางส่วน และมีรายงานของ Okogbenin *et al.* (2012) ที่พบเครื่องหมายโมเลกุลของยีน *CMD3* ดังนั้น ลักษณะความต้านทานโรคใบด่างจึงอาจจะมียีนควบคุมร่วมกันหลายยีน นอกจากนี้ Beyene *et al.* (2016) ยังพบว่า พืชที่นำไปขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงจาก embryogenesis อาจสูญเสียความต้านทานจากยีน *CMD2*

รายงานจากประเทศเบนิน และไนจีเรีย โดย Hougue *et al.* (2019) และ Olasanmi *et al.* (2021) ได้ระบุผลการประเมินพันธุ์ในสภาพแปลงต่อเชื้อ African cassava mosaic virus (ACMV) และ East African cassava mosaic virus (EACMV) ว่า พันธุ์ TME3, TMS-IBA 980581, TMS-IBA 972205, TMS-IBA 980505 จัดเป็นพันธุ์ต้านทานโรค (R) และพบเครื่องหมายโมเลกุล *CMD2* ส่วนพันธุ์ TME B419, TMS-IBA 920057 มีความต้านทานปานกลาง (MR) แต่รายงานของ Thuy *et al.* (2019) ที่ประเมินความต้านทานเชื้อ SLCMV ในสภาพแปลงระยะเวลา 10 เดือน ในประเทศเวียดนาม พบว่า ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคของพันธุ์ควบคุม C33 มีค่า 1.1 และพันธุ์ต้านทานโรคจากไนจีเรียหลายพันธุ์ไม่แสดงอาการของโรคเลย จัดเป็นพันธุ์ต้านทานระดับ HR และ R ซึ่งต่างจากผลการทดลองของการวิจัยนี้ ที่ทำในสภาพโรงเรือนและใช้เชื้อ SLCMV ปลูกเชื้อไว้เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า พันธุ์ C33 มีค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรค 1.89 จัดเป็นระดับ R ส่วนทุกพันธุ์จากประเทศไนจีเรียมีค่าเฉลี่ย 2.11-2.56 จัดเป็นระดับ S ขั้นตอนต่อไปจึงควรทำการประเมินพันธุ์ในสภาพแปลงเป็นระยะเวลานานขึ้น

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการตอบสนองของมันสำปะหลังสายพันธุ์ที่นำเข้าจากประเทศไนจีเรีย 5 สายพันธุ์ต่อเชื้อ SLCMV สาเหตุโรคใบด่างที่ได้รับการปลูกเชื้อด้วยวิธีการเสียบยอด และประเมินระดับความต้านทานโรคในสัปดาห์ที่ 8 หลังการปลูกเชื้อพบว่า การประเมินโดยตรงด้วยค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคหรือคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรคให้ผลสอดคล้องกันสามารถเลือกใช้ได้ทั้งสองค่า โดยที่พันธุ์ควบคุมแบบต้านทาน C33 จัดว่าเป็นพันธุ์ต้านทาน (R) ส่วนพันธุ์ควบคุมแบบต้านทาน TME3 และทั้ง 5 พันธุ์จากไนจีเรีย จัดเป็นพันธุ์

อ่อนแอ (S) และที่สำคัญควรมีการตรวจสอบเชื้อไวรัสในต้นพืชที่ทดสอบทุกต้น เพื่อจัดระดับและลักษณะความต้านทานได้อย่างถูกต้อง รวมทั้งการจับเป็นพันธุ์ทนทานโรค ทั้งนี้ มีข้อเสนอแนะว่าควรทำการวิจัยโดยนำสายพันธุ์จากแหล่งต่าง ๆ มาประเมินความต้านทานต่อเชื้อ SLCMV ให้มากขึ้น และควรมีการทดสอบในสภาพแปลงปลูกร่วมด้วย

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากโครงการแก้ไขปัญหาการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร (ผลผลิตที่ 3) ประจำปีงบประมาณ 2564 ขอขอบพระคุณ ศ.ดร.เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ รศ.ดร.วิจารณ์ วิชชุกิจ มูลนิธิมันสำปะหลังแห่งประเทศไทย และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์พันธุ์มันสำปะหลังที่ทดสอบ รวมทั้งให้คำแนะนำในการทำงานวิจัย และ ผศ.ดร.พิสสรพรรณ เจียมสมบัติ ที่กรุณาให้การสนับสนุนข้อมูลที่สำคัญต่อการทดลองวิจัยให้คำแนะนำระหว่างการประเมินการเกิดโรครวมทั้งตรวจแก้ไขงานทดลองให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

จิราพร แก่นทรัพย์ สุลักษณ์ อะมะวัลย์ ประพิศ วงเทียม อรุโณทัย ชาววา สุภาวดี จ้อเหรียญ ดนัย นาคประเสริฐ และ จินณจาร์ หาญเศรษฐสุข. 2563 การใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังต้านทานโรคใบด่าง (Cassava Mosaic Disease). *วิชาการเกษตร* 38(1): 68-79.

ชูศักดิ์ จอมพุท. 2552. สถิติ: การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัยด้านพืชด้วย “R”. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 362 หน้า.

ธิดาวรรณ ชมเดช ชลธิชา รักใคร่ ณัฐจิมา โฆษิตเจริญกุล วานิช คำพานิช ภูวนารถ มณีโชติ ดนัย ชัยเรือนแก้ว วาสนา รุ่งสว่าง พรธนิภา เปี้ยศรี และชุติมา อ้อมกิ้ง. 2563. ศึกษาวิธีการปลูกเชื้อ Sri Lankan cassava mosaic virus สาเหตุโรค

ใบด่างมันสำปะหลัง. หน้า 103 - 113. ใน: การประชุมวิชาการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประจำปี 2563. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ภูวนารถ มณีโชติ สุนัดดา เชาวลิต กาญจนาวาระวิชนะนี วาสนา รุ่งสว่าง ภาณุวัฒน์ มูลจันทร์ ศิริลักษณ์ ลั่นแก้ว และประภาพร แพงดา. 2558. การสำรวจและเฝ้าระวังโรคใบด่างมันสำปะหลังที่เกิดจากเชื้อไวรัส. หน้า 2118 - 2173. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2558. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร.

ภูวนารถ มณีโชติ สุนัดดา เชาวลิต กาญจนาวาระวิชนะนี วาสนา รุ่งสว่าง ภาณุวัฒน์ มูลจันทร์ ศิริลักษณ์ ลั่นแก้ว และประภาพร แพงดา. 2561. การสำรวจและเฝ้าระวังโรคใบด่างมันสำปะหลังที่เกิดจากเชื้อไวรัส. รายงานผลการวิจัยเรื่องเต็ม ภายใต้โครงการเงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. 52 หน้า.

Akano, A.O., A.G.O. Dixon, C. Mba, E. Barrera and M. Fregene. 2002. Genetic mapping of a dominant gene conferring resistance to cassava mosaic disease. *Theor. Appl. Genet.* 105: 521-525.

Alabi, O.J., P.L. Kumar and R.A. Naidu. 2011. Cassava mosaic disease: A curse to food security in Sub-Saharan Africa. Online. APSnet Features 2011-0701:1-16.

Ariyo, O.A., A.G.O. Dixon, G.I. Atiri, E.W. Gachomo and S.O. Kotchoni. 2015. Disease resistance characterisation of improved cassava genotypes to cassava mosaic disease at different ecozones. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* 48: 504-518.

Asare, P. A., I.K.A. Galyuon, E. Asare-Bediako, J.K. Sarfo and J.P. Tetteh. 2014. Phenotypic and molecular screening of cassava (*Manihot esculentum* Crantz) genotypes for resistance to cassava mosaic disease. *J. Gen. Mol. Virol.* 6: 6-18.

- Beyene G., R.D. Chauhan, H. Wagaba, T. Moll, T. Alicai, D. Miano, J.C. Carrington and N.J. Taylor. 2016. Loss of CMD2-mediated resistance to cassava mosaic disease in plants regenerated through somatic embryogenesis. *Mol. Plant Pathol.* 17:1095-110.
- Bi, H.M.A. and P. Zhang, 2010. Evaluation of cassava varieties for cassava mosaic disease resistance jointly by agro-Inoculation screening and molecular markers. *Afr. J. Plant Sci.* 4: 330-338.
- Brown, J.K., F.M. Zerbini, J.C. Navas, E. Moriones, S.R. Ramos, J.C. Silva, O.E. Fiallo, R.W. Briddon, Z. C. Hernandez, A. Idris, V.G. Malathi, D.P. Martin, B.R. Rivera, S. Ueda and A. Varsani. 2015. Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Arch. Virol.* 160: 1593-1619.
- Egesi, C. N., F.O. Ogbe, M. Akoroda, P. Ilona, and A. Dixon. 2007. Resistance profile of improved cassava germplasm to cassava mosaic disease in Nigeria. *Euphytica.* 155: 215-224.
- Fauquet, C. and D. Fargette. 1990. African cassava mosaic virus: etiology, Epidemiology and control. *Plant Dis.* 74: 404-411.
- Hooda, K.S., P.K. Bagaria, M. Khokhar, H. Kaur, and R. Sujay. 2018. Mass Screening Techniques for Resistance to Maize Diseases. ICAR-Indian Institute of Maize Research, PAU Campus, Ludhiana- 141004, 93pp.
- Houngue, J.A., M. Zandjanakou-Tachin, H.B. Ngalle, J.S. Pita, G.H.T. Cacao, S.E. Ngatate, J.M. Bell, and C. Ahanhanzo. 2019. Evaluation of resistance to cassava mosaic disease in selected African cassava cultivars using combined molecular and greenhouse grafting tools. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 105: 47-53.
- IITA (International Institute of Tropical Agriculture). 1990. Annual Reports, IITA, Ibadan, Nigeria.
- Khandare, V.B. and P. Choomsook. 2019. World trade of cassava with special reference to Thailand. *Int. J. Soc. Sci. Econ. Res.* 4: 5670-5684.
- Lokko, Y., E.Y. Danquah, S.K. Offei, A.G.O. Dixon and M.A. Gedil. 2005. Molecular markers associated with a new source of resistance to the cassava mosaic disease. *Afr. J. Biotechnol.* 4: 873-881.
- Monde, G., J. Walangululu and C. Bragard. 2012. Screening cassava for resistance to cassava mosaic disease by grafting and whitefly inoculation, *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz.* 45: 2189-2201.
- Okogbenin, E., C.N. Egesi, B. Olanmi, O. Ogundapo, S. Kahya, P. Hurtado, J. Marin, O. Akinbo, C. Mba, H. Gomez, C. de Vicente, S. Baiyeri, M. Uguru, F. Ewa and M. Fregene. 2012. Molecular marker analysis and validation of resistance to cassava mosaic disease in elite cassava genotypes in Nigeria. *Crop Sci.* 52: 2576-2586.
- Olanmi, B., M. Kyallo and N. Yao. 2021. Marker-assisted selection complements phenotypic screening at seedling stage to identify cassava mosaic disease-resistant genotypes in African cassava populations. *Sci Rep.* 11, 2850.
- Rwegasira, G.M. and M.E.R. Chrissie. 2015. Efficiency of non-vector methods of cassava brown streak virus transmission to susceptible cassava plants. *Afr. J. Food Agr. Nut. Dev.* 15: 1684-5374.
- Thuy, C.T.L., L.A.B. Lopez-Lavalle, N.A. Vu, N.H. Hy, P.T. Nhan, H. Ceballos, J. Newby, N.B. Tung, N.T. Hien and L.N. Tuan. 2021. Identifying new resistance to cassava mosaic disease and validating markers for the CMD2 locus. *Agriculture* 11: 829-844.