



การทดสอบความต้านทานอาการใบต่างคล้ายโรคใบต่างมันสำปะหลัง  
ของพันธุ์มันสำปะหลังในธนาคารเชื้อพันธุ์กรรมมันสำปะหลัง

Screening of Mosaic Symptom Resistance like Cassava Mosaic Disease  
of Cassava Varieties in Cassava Germplasm

|                     |                       |                   |                 |
|---------------------|-----------------------|-------------------|-----------------|
| สุวลักษณ์ อะมะวัลย์ | ศิริลักษณ์ ล้านแก้ว   | กุลชาติ นาคจันทิก | นราชัย โพธิ์สาร |
| ธนาวดี คำชู         | ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล | ชลธิชา รักใคร่    | ภูวนารถ มณีโชติ |
| วานิช คำพานิช       | ธิดาวรรณ ชมเดช        | สุนัดดา เขาวลิต   | วาสนา รุ่งสว่าง |
|                     | दनัย ชัยเรือนแก้ว     | จิราพร แก่นทรัพย์ |                 |

สนับสนุนโดย

เงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ธันวาคม 2563

## สารบัญ

|                          | หน้า |
|--------------------------|------|
| สารบัญ                   | i    |
| สารบัญตาราง              | ii   |
| สารบัญภาพ                | iii  |
| บทคัดย่อ                 | 1    |
| คำนำ                     | 2    |
| วิธีดำเนินการ            | 5    |
| ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง   | 15   |
| สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ | 30   |
| คำขอบคุณ                 | 31   |
| เอกสารอ้างอิง            | 32   |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่ |                                                                                                 | หน้า |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1        | ระดับความรุนแรงของโรคไตต่างมึนสำปะหลังของพันธุ์มึนสำปะหลัง หลังใช้แมลง<br>หรีซาวยาสูบถ่ายทอดโรค | 18   |
| 2        | การตรวจพบเชื้อไวรัสในพันธุ์มึนสำปะหลัง หลังใช้แมลงหรีซาวยาสูบถ่ายทอดโรค                         | 19   |
| 3        | ระดับความรุนแรงของโรคไตต่างมึนสำปะหลังของพันธุ์มึนสำปะหลัง หลังการเสียบยอด                      | 22   |
| 4        | ดัชนีการเกิดโรค (%) และระดับความต้านทานของพันธุ์มึนสำปะหลัง หลังการเสียบยอด                     | 23   |
| 5        | การตรวจพบเชื้อไวรัสในพันธุ์มึนสำปะหลังหลังทาน้ำคั้นพืช                                          | 29   |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่ |                                                                                                                             | หน้า |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1      | การทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยแมลงหริ่งขาวยาสูบ                                                                            | 7    |
| 2      | การทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยการเสียบยอด                                                                                  | 10   |
| 3      | การทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยใช้น้ำคั้นพืช                                                                                | 12   |
| 4      | ผลการตรวจใบโอไฮโอของแมลงหริ่งขาวยาสูบที่เก็บจากต้นมันสำปะหลังที่พบอาการใบด่างและการตรวจเชื้อไวรัส SLCMV ในแมลงหริ่งขาวยาสูบ | 16   |
| 5      | พันธุ์มันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลัง จำนวน 17 พันธุ์/สายพันธุ์ หลังเสียบยอด 4 สัปดาห์                       | 24   |
| 6      | ตัวอย่างพันธุ์มันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลัง หลังเสียบยอด 8 สัปดาห์                                         | 27   |

การทดสอบความต้านทานอาการใบด่างคล้ายโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลัง  
ในธนาคารเชื้อพันธุกรรมมันสำปะหลัง

Screening of Mosaic Symptom Resistance like Cassava Mosaic Disease  
of Cassava Varieties in Cassava Germplasm

|                             |                                     |                                 |                               |
|-----------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| สุวลักษณ์ อะมะวัลย์         | ศิริลักษณ์ ล้วนแก้ว                 | กุลชาติ นาคจันทิก               | นราชัย โพธิ์สาร               |
| ธนาบดี คำชู                 | ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล <sup>1/</sup> | ชลธิชา รักใคร่ <sup>1/</sup>    | ภูวนารถ มณีโชติ <sup>1/</sup> |
| วานิช คำพานิช <sup>1/</sup> | ธิดาวรรณ ชมเดช <sup>1/</sup>        | สุนัดดา เชาวลิท <sup>1/</sup>   | วาสนา รุ่งสว่าง <sup>1/</sup> |
|                             | दनัย ชัยเรือนแก้ว <sup>1/</sup>     | จิราพร แก่นทรัพย์ <sup>2/</sup> |                               |

ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย พบการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังในประเทศไทยในปี 2562 มีเชื้อสาเหตุจากไวรัส *cassava mosaic virus* สามารถเข้าทำลายมันสำปะหลังได้ทุกระยะการเจริญเติบโต โดยการติดมากับท่อนพันธุ์และมีแมลงหริ่งขาวยาสูบเป็นพาหะนำโรค ดังนั้นจึงได้ทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลัง ที่มีแถบดีเอ็นเอใกล้เคียงกับพันธุ์ต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง จำนวน 15 พันธุ์/สายพันธุ์ ได้แก่ MMAL 63, MBRA 18, พิรุณ 2, ระยอง 11, MNGA 1, MECU 71, CMR49-22-227, CMR49-54-10, CMR49-54-67, CMR25-32-429Q, 01-77-1, CM4574-7, CMR23-149-59, CMR28-05-13 และ CMR33-35-69 พันธุ์เปรียบเทียบ 2 พันธุ์/สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 และสายพันธุ์ CMR43-08-89 ทดสอบโดยถ่ายทอดเชื้อไวรัส 3 วิธี คือ การใช้แมลงหริ่งขาวยาสูบ การเสียบยอด และการใช้น้ำคั้นจากต้นที่เป็นโรคทาบนใบพืช ตรวจผลหลังจากการถ่ายทอดเชื้อทุกสัปดาห์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช และกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี (พฤษภาคม 2562 – เมษายน 2563) พบว่าวิธีเสียบยอดทำให้เกิดการถ่ายทอดโรคได้โดยตรง มันสำปะหลังทุกพันธุ์แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลังอย่างรุนแรงมีอาการใบด่าง ตันหนาสัน ยอดหด ใบหงิกงอ ใบแห้ว ส่วนวิธีถ่ายทอดโรคโดยใช้แมลงหริ่งขาวยาสูบ และวิธีทาใบมันสำปะหลังด้วยน้ำคั้นใบพืชที่เป็นโรค แม้จะไม่พบอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลังบนต้นที่ทดสอบทั้งหมดทุกพันธุ์ แต่เมื่อนำใบยอดที่แตกใหม่ไปตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ผลปรากฏว่าพบดีเอ็นเอของไวรัสในมันสำปะหลังทุกพันธุ์แม้พืชจะยังไม่แสดงอาการ แสดงให้เห็นว่ามันสำปะหลังทุกพันธุ์/สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบไม่ต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง การเสียบยอดและการตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังและใช้ยืนยันการติดเชื้อของพืชทุกต้นโดยเฉพาะต้นที่ไม่แสดงอาการ

รหัสโครงการวิจัย 620917

<sup>1/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

<sup>2/</sup> สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ อาคารทรัพยากรพันธุกรรมพืชสรีนธร อำเภोधัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12110

## คำนำ

มันสำปะหลัง (*Manihot esculenta* Crantz.) จัดเป็นพืชอาหารที่สำคัญของโลกและเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญในประเทศไทย สร้างรายได้ให้แก่ประเทศจากการส่งออกผลิตภัณฑ์ ปีละ 5-9 หมื่นล้านบาท ในปี 2562 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง 8.82 ล้านไร่ มีผลผลิตหัวสดมันสำปะหลัง 31.08 ล้านตัน คิดเป็นผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่เท่ากับ 3.58 ตัน มีมูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง เท่ากับ 79,785 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2563) ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยองได้รวบรวมเชื้อพันธุกรรมหลักมันสำปะหลังทั้งที่ได้รับมาจากศูนย์เกษตรเขตร้อนนานาชาติ (International Center for Tropical Agriculture: CIAT) จำนวน 559 พันธุ์ และพันธุ์ของไทย จำนวน 262 พันธุ์ รวมทั้งหมด 821 พันธุ์ และได้มีการนำเชื้อพันธุกรรมมันสำปะหลังที่มีอยู่มาใช้ประโยชน์ในงานด้านการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ลักษณะที่ดีตามต้องการ เช่น ผลผลิตสูง ปริมาณแป้งสูง ไซยาไนด์ต่ำ โปรตีนสูง และต้านทานต่อโรคและแมลง เป็นต้น (Wongtiem *et al.*, 2002; Wongtiem *et al.*, 2006)

โรคใบด่างมันสำปะหลัง (cassava mosaic disease, CMD) มีรายงานครั้งแรกในแถบประเทศอัฟริกา ในปี ค.ศ. 1894 จากนั้นปี ค.ศ. 1930-1940 มีรายงานในประเทศมาดากัสกา อูกันดา และแทนซาเนียว่าเกิดจากเชื้อไวรัสสกุล *Begomoviruses* จัดเป็น *cassava mosaic geminiviruses* (CMGs) พบ 7 ชนิดที่เป็นสาเหตุ ได้แก่ *African cassava mosaic virus* (ACMV), *East African cassava mosaic virus* (EACMV), *South African cassava mosaic virus*, *East African cassava mosaic Cameroon virus*, *East African cassava mosaic Malawi virus*, *East African cassava mosaic Kenya virus* และ *East African cassava mosaic Zanzibar virus* ในปี 1993 มีรายงานการค้นพบที่อินเดียเพิ่มขึ้นอีก 2 ชนิด คือ *Indian cassava mosaic virus* (ICMV) และ *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) ลักษณะอาการของพืชที่เป็นโรค ใบแสดงอาการด่างเหลือง ลดรูปและเสียรูปทรง ต้นเตี้ย ลำต้นแฉะแกร็น ทำให้ผลผลิตลดลงมากกว่า 80% โรคใบด่างมันสำปะหลังสามารถเข้าทำลายมันสำปะหลังได้ทุกระยะการเจริญเติบโต โดยการติดมากับท่อนพันธุ์และมีแมลงหีวขาวยาสูบเป็นพาหะนำโรค (Reddy *et al.*, 2009; Legg *et al.*, 2015)

แมลงหีวขาวยาสูบ (tobacco whitefly) *Bemisia tabaci* (Gennadius) จัดเป็นศัตรูพืชสำคัญที่มีการระบาดรุนแรงทั่วโลก มีพืชอาศัยมากกว่า 600 ชนิด เช่น พืชตระกูลถั่ว ตระกูลมะเขือ ตระกูลแตงพริก กุหลาบ ฟ้าย กระเจี๊ยบเขียว หน่อไม้ฝรั่ง พืชผักสวนครัวแทบทุกชนิด และพืชวงศ์ Euphorbiaceae ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณใบพืช นอกจากจะทำความเสียหายแก่พืชแล้ว ยังเป็นพาหะนำโรคที่เกิดจากไวรัสไปสู่พืช โดยเฉพาะไวรัสในสกุล *Begomoviruses* (Jones, 2003) โดยไวรัสคงอยู่ในตัวแมลงหีวขาวยาสูบแบบ persistent (circulative, non-propagative) คือ แมลงหีวขาวยาสูบจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นที่เป็นโรคน้อย 15-30 นาที (acquisition period) เมื่อเชื้อไวรัสเข้าไปในตัวแมลงจะใช้เวลาในการฟักตัวมากกว่า 20 ชั่วโมง (incubation period) แล้วใช้เวลาอีกอย่างน้อย 15 นาทีในการดูด

กินพืชใหม่ให้เป็นโรค โดยที่เชื้อสามารถอยู่ในตัวแมลงห้ำขาวยาสูบตลอดช่วงชีวิตของแมลง (Cohen and Nitzany, 1966) อัตราการถ่ายทอดเชื้อจะเพิ่มขึ้นตามความหนาแน่นของประชากรแมลง (Mansour and Al-Musa, 1992) การถ่ายทอดโรคโดยแมลงห้ำขาวยาสูบในสภาพโรงเรือนมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่โดยพฤติกรรมของแมลงห้ำขาวยาสูบจะมีโอกาสถ่ายทอดโรคได้ 20 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนแมลงห้ำขาวยาสูบทั้งหมด คือ แมลงห้ำขาวยาสูบจำนวน 5-6 ตัว จะมีอย่างน้อย 1 ตัว ที่ดูดกินน้ำเลี้ยงจนสามารถถ่ายทอดโรคได้ภายใน 14 ชั่วโมง (Jiang *et al.*, 2000) ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของแมลงห้ำขาวยาสูบสามารถรับและถ่ายทอดเชื้อไปยังต้นปกติได้ แต่เพศเมียมีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสได้ดีกว่าเพศผู้ แต่เชื้อไวรัสไม่สามารถถูกถ่ายทอดไปยังแมลงรุ่นถัดไปได้ (วันเพ็ญ, 2551)

ในปี 2558 กรมวิชาการเกษตรได้รับรายงานการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลัง สาเหตุจากเชื้อไวรัส *Sri Lankan cassava mosaic virus* ในจังหวัดรัตนคีรี ราชอาณาจักรกัมพูชา ซึ่งห่างจากชายแดนประเทศไทยประมาณ 430 กิโลเมตร ในเดือนพฤษภาคม 2561 กรมวิชาการเกษตรได้รับแจ้งจากสมาคมโรงงานผู้ผลิตมันสำปะหลังภาคตะวันออกเฉียงเหนือว่า มีการแพร่ระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังกระจายเป็นบริเวณกว้าง ในเขตพื้นที่อำเภอตะเปียงปราสาท จังหวัดอุดรธานี ประเทศไทย ซึ่งเป็นพื้นที่ใกล้ชายแดนไทย ห่างจากจุดผ่านแดนถาวรช่องสะง่า อำเภอภูสิงห์ จังหวัดศรีสะเกษ เป็นระยะทางประมาณ 36-40 กิโลเมตร (สำนักวิจัยการอารักขาพืช, 2561) กรมวิชาการเกษตรมีมาตรการกักกันพืชควบคุมการนำเข้า โดยกำหนดให้ไวรัสชนิดนี้เป็นศัตรูพืชกักกัน และกำหนดให้มันสำปะหลังเป็นสิ่งต้องห้ามตามกฎหมายกักกันพืช ห้ามนำเข้าส่วนขยายพันธุ์มันสำปะหลังจากทุกแหล่ง เพื่อเป็นการป้องกันการแพร่ระบาดของโรคจากประเทศกัมพูชามายังประเทศไทย ในปี 2563 พบการระบาดในประเทศไทย 25 จังหวัด ได้แก่ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ บุรีรัมย์ นครราชสีมา กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ มหาสารคาม มุกดาหาร ร้อยเอ็ด อำนาจเจริญ ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี สระแก้ว ระยอง นครสวรรค์ สระบุรี ลพบุรี ชัยนาท อุทัยธานี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี และลำปาง คิดเป็นพื้นที่ 442,564 ไร่ (ศูนย์ข้อมูลเกษตรแห่งชาติ, 2563) และยังไม่พบพันธุ์ต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังในพันธุ์ที่เกษตรกรปลูกเพื่อการค้า

สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพร่วมกับศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง ได้ทำการวิจัยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่خاب้างอยู่กับ locus ที่ต้านทานโรคใบด่างชื่อ *CMD2* จำนวน 4 เครื่องหมาย ได้แก่ RME1 NS158 SSRY28 และ NS169 ร่วมกับเครื่องหมายโมเลกุลที่ผู้วิจัยประยุกต์จากชิ้นส่วนยีนที่ตอบสนองต่อเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคใบด่างมันสำปะหลัง อีกจำนวน 2 เครื่องหมาย ได้แก่ EST-R protein และ EST-Kinase รวมทั้งสิ้น 6 เครื่องหมาย ในการคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังในแปลงพ่อแม่พันธุ์มันสำปะหลังและแปลงอนุรักษเชื้อพันธุ์กรรมมันสำปะหลังของศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง ในปีงบประมาณ 2561 พบว่ามี 7 พันธุ์/สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ MMAL 63, MBRA 18, พิรุณ 2, ระยอง 11, CMR49-22-227, CMR49-54-10 และ CMR49-54-67 ในปีงบประมาณ 2562 พบว่ามี 8 พันธุ์/สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ MNGA 1, MECU 71, CMR25-32-429Q, 01-77-1, CM4574-7, CMR23-149-59, CMR28-05-13 และ CMR33-35-69 ที่แสดงแถบดีเอ็นเอใกล้เคียงกับพันธุ์ TME3 ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานโรค

ใบด่างมันสำปะหลัง (กรมวิชาการเกษตรไม่มีพันธุ์ TME3) (จิราพร, 2563) ซึ่งทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ นี้อาจมีความเป็นไปได้ ที่จะเป็นพันธุ์ต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง แต่ทั้งนี้มีความจำเป็นที่จะต้องทำการทดลองกับเชื้อโรคจริง ว่ามีความต้านทานโรคจริงหรือไม่ หากผลการทดสอบพบว่ามีความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังจริง จะนำพันธุ์ที่ต้านทานโรคนี้นี้มาเป็นพ่อแม่พันธุ์ เพื่อพัฒนาพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังต่อไป การตรวจสอบความต้านทานต่อโรคในลักษณะทางฟีโนไทป์โดยการนำพันธุ์/สายพันธุ์ที่ต้านทานมาทดสอบด้วย 3 วิธีการดังนี้ 1) การถ่ายทอดเชื้อด้วยแมลงพาหะคือแมลงหวี่ขาวยาสูบ โดยในการทดลองของ อุไรวรรณ (2554) ทำการศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์เพื่อศึกษาดำเนินงานต้านทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศ (*Tomato yellow leaf curl virus*: TVLCV) โดยใช้แมลงหวี่ขาวยาสูบเป็นพาหะนำโรค พบว่ามีอัตราการเกิดโรคในพันธุ์อ่อนแอ 95-100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากแมลงหวี่ขาวยาสูบถ่ายทอดเชื้อ 10-14 วัน 2) การเสียบยอดโดยใช้ต้นตอที่เป็นโรค แล้วนำทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ข้างต้นมาเสียบบนต้นตอ Wagaba *et al.* (2013) ได้ทำการติดตามของมันสำปะหลังที่เป็นโรค Cassava brown streak disease (CBSD) ซึ่งเชื้อสาเหตุอยู่ในสกุล *Ipomovirus* ลงบนต้นมันสำปะหลังปกติ พบว่า ต้นมันสำปะหลังแสดงอาการของโรคหลังจากติดตาม 2 - 6 สัปดาห์ และ 3) การใช้น้ำคั้นจากต้นที่เป็นโรคเพื่อถ่ายทอดเชื้อไปสู่ต้นปกติ Jose *et al.* (2008) ได้ทำการทดลองโดยใช้น้ำคั้นของใบมันสำปะหลังที่มีเชื้อ SLCMV ทาบนใบพืชตระกูลแตงจำนวน 39 ชนิด พบว่า พืชทั้ง 39 ชนิดติดเชื้อ SLCMV ซึ่งอาการจะแสดงออก 5 - 40 วัน หลังได้รับเชื้อไวรัส ดังนั้นจึงนำมาประยุกต์ใช้กับการทดสอบเพื่อหาความต้านทานของมันสำปะหลังทั้ง 15 พันธุ์/สายพันธุ์ โครงการนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลัง จำนวน 15 พันธุ์/สายพันธุ์ ในธนาคารเชื้อพันธุ์กรรมมันสำปะหลัง ที่มีแถบดีเอ็นเอใกล้เคียงกับพันธุ์ต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังในสภาพโรงเรือน

โครงการทดสอบความต้านทานอาการใบด่างคล้ายโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังในธนาคารเชื้อพันธุ์กรรมมันสำปะหลัง ได้ผ่านความเห็นชอบในหลักการ จากคณะทำงานพิจารณาโครงการวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เมื่อวันที่ 20-21 มีนาคม 2562 ซึ่งในขณะนั้นยังไม่มีมีการประกาศการพบโรคใบด่างมันสำปะหลังในประเทศไทย จึงมีแต่เพียงอาการใบด่างที่คล้ายโรคใบด่างมันสำปะหลังเท่านั้น ในเวลาต่อมาหน่วยงาน International Plant Protection Convention (IPPC) ได้ประกาศในเว็บไซต์ของหน่วยงานว่า พบการระบาดของโรคใบด่างมันสำปะหลังในประเทศไทย เมื่อวันที่ 29 มีนาคม 2562 ซึ่งการประกาศของ IPPC เกิดขึ้นหลังจากที่โครงการได้ผ่านความเห็นชอบแล้ว จึงทำให้โครงการมีชื่อดังกล่าว

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. ท่อนพันธุมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ จำนวน 15 พันธุ์/สายพันธุ์
2. ท่อนพันธุมันสำปะหลังเพื่อเปรียบเทียบ จำนวน 2 พันธุ์/สายพันธุ์
3. ต้นมันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลัง
4. แมลงหีวขาวยาสูบ
5. กระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 นิ้ว
6. ดินผสมสำหรับปลูกต้นไม้
7. ปุ๋ยเคมีเกรด 46-0-0
8. sodium phosphate buffer
9. silicon carbide หรือ ผง carborundum
10. สารเคมีกำจัดแมลง ได้แก่ ไทอะมีโทแซม
11. กรงเลี้ยงแมลงและอุปกรณ์เลี้ยงแมลง
12. ดีเอ็นเอควมคุมเชิงบวกของเชื้อ SLCMV
13. สารเคมีสำหรับสังเคราะห์ชิ้นดีเอ็นเอ เช่น
  - ชุดไพรเมอร์สำหรับสังเคราะห์ชิ้นดีเอ็นเอ
  - ไนโตรเจนเหลว
  - ชุดสกัด Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit (Favorgen, Taiwan)
  - Green PCR Master Mix, 2x (Biotechrabbit, Germany)
  - 100 bp DNA Ladder with 6X Loading Dye (Biotechrabbit, Germany)
  - Agarose gel (SeaKem, USA)
  - RedSafe Nucleic Acid Staining Solution (iNtRON Biotechnology, Korea)
  - 10X TAE Buffer
14. เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น
  - โกร่งบดตัวอย่างพืช
  - เครื่องปั่นตกตะกอน Mini Spin (Eppendorf, USA)
  - เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ Pipetman Kit (Gilson, France)
  - อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
  - เครื่องควบคุมอุณหภูมิ Thermo cycler
  - เครื่องแยกสารพันธุกรรม Wide Mini-Sub Cell GT Basic System (Biorad, USA)
  - เครื่อง ChemiDoc Gel Imaging System (BioRad, USA)

- เครื่องกำหนดตำแหน่ง GPS eTrex-10 (Garmin, USA)
- เครื่องผสมสาร Vortex mixer (Fisher Scientific, USA)
- เครื่องดูดแมลงหีวขาวยาสูบ (Aspirator)
- หลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตร
- หลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 มล. และ 2 มล.
- มีดสำหรับตัดชิ้นส่วนพืช
- พาราฟิล์ม

#### 15. โรงเรือนปลูกพืชทดสอบ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช

### วิธีการ

**การทดลองที่ 1** ทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังโดยใช้แมลงเป็นพาหะนำโรค

- วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) ทำ 3 ซ้ำ 17 กรรมวิธี ได้แก่ พันธุ์ MMAL 63, MBRA 18, MNGA 1, MECU 71, CM4574-7, พิรุณ 2, ระยอง 11, สายพันธุ์ CMR49-22-227, CMR49-54-10, CMR49-54-67, CMR25-32-429Q, CMR23-149-59, CMR28-05-13, CMR33-35-69 และ 01-77-1 และพันธุ์เปรียบเทียบ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 และ สายพันธุ์ CMR43-08-89 (พันธุ์ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

**ขั้นตอนที่ 1** การตรวจหาเชื้อไวรัส SLCMV และจำแนกกลุ่มของแมลงหีวขาวยาสูบที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกัน (Biotypes)

1.1 เลี้ยงขยายเพิ่มปริมาณแมลงหีวขาวยาสูบ โดยใช้มะเขือเปราะเป็นพืชอาศัย โดยนำแมลงหีวขาวยาสูบจากสภาพธรรมชาติที่เก็บมาจากจังหวัดสระแก้ว มาปล่อยลงบนต้นมะเขือเปราะ จากนั้นนำไปไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้แมลงหีวขาวยาสูบเจริญเติบโตและขยายพันธุ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.2 นำแมลงหีวขาวยาสูบตัวเต็มวัยที่เลี้ยงเพิ่มปริมาณไว้ในข้อ 1.1 ไปปล่อยบนต้นมันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลัง ที่เก็บรักษาไว้ที่โรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อให้แมลงหีวขาวยาสูบดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบมันสำปะหลังเป็นระยะเวลา 7 วัน (อุไรวรรณ, 2554)

1.3 สุ่มเก็บแมลงหีวขาวยาสูบ จากข้อที่ 1.2 จำนวน 10 ตัว ไปตรวจหาเชื้อไวรัส SLCMV และจำแนกกลุ่มของแมลงหีวขาวยาสูบที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกันโดยแบ่งจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Mitochondrial cytochrome oxidase I (*mtCOI*)

## ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ

2.1 ปลูกรุ่นมันสำปะหลังพันธุ์ทดสอบ จำนวน 17 พันธุ์/สายพันธุ์ พันธุ์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 กระถาง กระถางละ 1 ต้น

2.2 เมื่อต้นมันสำปะหลังในข้อ 2.1 อายุ 2 เดือน จึงปล่อยแมลงหมีขาวยาสูบในข้อ 1.2 ในระยะตัวเต็มวัยลงบนต้นมันสำปะหลัง จำนวน 20 ตัวต่อต้น แล้วนำไปไว้ในกรงเลี้ยงแมลงที่อยู่ภายในโรงเรือนของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ให้แมลงหมีขาวยาสูบดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบมันสำปะหลังเป็นระยะเวลา 5 วัน (ภาพที่ 1) หลังจากนั้นฉีดพ่นสารเคมีเพื่อกำจัดแมลงหมีขาวยาสูบและหยุดการถ่ายทอดเชื้อ เช่นเดียวกับวิธีการของ อุไรวรรณ (2554)



**ภาพที่ 1** การทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยแมลงหมีขาวยาสูบ

(ก) แมลงหมีขาวยาสูบ

(ข) สภาพการถ่ายทอดเชื้อไวรัสภายในกรงเลี้ยงแมลง ภายในโรงเรือน

2.3 หลังจากกำจัดแมลงหมีขาวยาสูบ 2 สัปดาห์ ทำการประเมินระดับความรุนแรงของการเกิดโรคใบด่างมันสำปะหลัง บนต้นมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบสัปดาห์ละ 1 ครั้ง และเปรียบเทียบในแต่ละพันธุ์จนครบ 8 สัปดาห์

2.4 ในสัปดาห์ที่ 8 นำส่วนยอดของมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบทุกต้น ไปทำการตรวจหาเชื้อไวรัส SLCMV ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ในห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ขั้นตอนที่ 3 การตรวจเชื้อ SLCMV ในพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ตามวิธีการที่อ้างโดย ภูวนารถ และคณะ (2561) ดังนี้

3.1 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างมันสำปะหลังที่เก็บมา ด้วย Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN, Taiwan) ตามคำแนะนำของบริษัท มีขั้นตอนดังนี้

1) บดไขมันสำปะหลังแต่ละตัวอย่างให้มีปริมาณ 100 มิลลิกรัม ด้วยไนโตรเจนเหลวให้ละเอียด ย้ายมาใส่ในหลอดขนาด 2 มิลลิลิตร เติมนัฟเฟอร์ FAPG1 ปริมาตร 400 มิลลิลิตรและเติม RNase A ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่ 65 °C นาน 10 นาที

2) เติมนัฟเฟอร์ FAPG2 ปริมาตร 130 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน วางบนน้ำแข็ง 5 นาที ย้ายส่วนของพีชมาใส่ Filter Column ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 3 นาที จากนั้นดูดส่วนของเหลวใส่ใน Collection tube ขนาด 2 มิลลิลิตร

3) เติมนัฟเฟอร์ FAPG3 ปริมาตร 1.5 เท่าของส่วนของเหลวใส่ที่ได้ ผสมให้เข้ากันแล้วย้ายมาใส่ใน FAPG Column ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 2 นาที ทั้งส่วนใส

4) เติมนัฟเฟอร์ W1 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 1 นาที ทั้งส่วนใส ล้างด้วยบัฟเฟอร์ Wash Buffer ปริมาตร 650 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 1 นาที ทั้งส่วนใส (ทำการล้างด้วยบัฟเฟอร์ซ้ำอีกครั้ง) ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 3 นาที

5) นำ FAPG Column มาวางบนหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม Elution Buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 rpm นาน 2 นาที เสร็จแล้วเก็บดีเอ็นเอที่ได้ไว้ใช้งานในขั้นตอนต่อไป

3.2 ตรวจหาเชื้อ SLCMV จากตัวอย่างด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อ SLCMV โดยใช้ส่วนผสมของ Green PCR Master Mix (Biotech rabbit, Germany) ทำปฏิกิริยาในหลอดพีซีอาร์ ปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

|                      |    |           |
|----------------------|----|-----------|
| 2x master mix buffer | 10 | ไมโครลิตร |
| SLCMV-F (10 pmole)   | 1  | ไมโครลิตร |
| SLCMV-R (10 pmole)   | 1  | ไมโครลิตร |
| Nuclease-free water  | 5  | ไมโครลิตร |
| DNA template         | 3  | ไมโครลิตร |

ผสมส่วนผสมให้เข้ากัน นำไปเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Thermo cycler) โดยทำปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ ดังนี้

|                                 |    |        |
|---------------------------------|----|--------|
| 1) Predenaturation 94 °C        | 5  | นาที   |
| 2) Three step-cycling 35 cycles |    |        |
| Denaturation 94 °C              | 20 | วินาที |
| Annealing 56 °C                 | 20 | วินาที |
| Extension 72 °C                 | 45 | วินาที |
| 3) Final extension 72 °C        | 7  | นาที   |

เมื่อปฏิกิริยาเสร็จสมบูรณ์ ตรวจสอบดีเอ็นเอผลผลิตด้วย 1.2% agarose gel electrophoresis ที่เติม RedSafe Nucleic Acid Staining Solution, 2000x (iNtRON Biotechnology, Korea) ใน 1X TAE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง ChemiDoc Gel Imaging System (Biorad, USA)

**การทดลองที่ 2** ทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังโดยการเสียบยอด

- วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) ทำ 3 ซ้ำ 17 กรรมวิธี ได้แก่ พันธุ์ MMAL 63, MBRA 18, MNGA 1, MECU 71, CM4574-7, พิรุณ 2, ระยอง 11, สายพันธุ์ CMR49-22-227, CMR49-54-10, CMR49-54-67, CMR25-32-429Q, CMR23-149-59, CMR28-05-13, CMR33-35-69 และ 01-77-1 และพันธุ์เปรียบเทียบ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 และ สายพันธุ์ CMR43-08-89 (พันธุ์ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง)

- วิธีปฏิบัติการทดลอง

**ขั้นตอนที่ 1** การทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ

1.1 ปลุกมันสำปะหลังพันธุ์ทดสอบ จำนวน 17 พันธุ์/สายพันธุ์ พันธุ์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 กระถาง กระถางละ 1 ต้น

1.2 นำส่วนยอดของมันสำปะหลังในข้อ 1.1 ที่มีอายุ 2-3 เดือน มาเสียบบนต้นมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคใบด่างมันสำปะหลังที่มีอายุเท่ากัน โดยตัดส่วนยอดของยอดพันธุ์ทดสอบให้เป็นรูปลิ้น นำมาเสียบต้นต่อที่เป็นโรคที่ตัดยอดและบากไว้แล้ว จากนั้นนำพาราฟิล์มมาพันรอบบริเวณที่เสียบยอดเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำเข้ารอยแผล ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดเชื้อรา (ภาพที่ 2) เช่นเดียวกับการของ Wagaba *et al.* (2013)

1.3 ทำการประเมินระดับความรุนแรงของการเกิดโรคใบด่างมันสำปะหลังบนต้นมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบสัปดาห์ละ 1 ครั้ง และเปรียบเทียบในแต่ละพันธุ์ จนครบ 8 สัปดาห์

1.4 ในสัปดาห์ที่ 8 นำส่วนยอดของมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบทุกต้น ไปทำการตรวจหาเชื้อไวรัส SLCMV ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ในห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1)

**ขั้นตอนที่ 2** การตรวจเชื้อ SLCMV ในพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1)



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)

## ภาพที่ 2 การทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยการเสียบยอด

- (ก) การเตรียมต้นตอที่แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลัง
- (ข) การทำรอยบากที่ต้นตอ
- (ค) การเสียบยอดของพันธุ์ทดสอบลงบนต้นตอ
- (ง) การพันพาราฟิล์มรอบบริเวณที่เสียบยอด
- (จ) ต้นมันสำปะหลังที่เสียบยอดแล้วและเก็บรักษาไว้ในโรงเรือน

### การทดลองที่ 3 ทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังโดยใช้น้ำคั้นพืช

- วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block (RCB) ทำ 3 ซ้ำ 17 กรรมวิธี ได้แก่ พันธุ์ MMAL 63, MBRA 18, MNGA 1, MECU 71, CM4574-7, พิรุณ 2, ระยอง 11, สายพันธุ์ CMR49-22-227, CMR49-54-10, CMR49-54-67, CMR25-32-429Q, CMR23-149-59, CMR28-05-13, CMR33-35-69 และ 01-77-1 และพันธุ์เปรียบเทียบ ได้แก่ พันธุ์ระยอง 72 และ สายพันธุ์ CMR43-08-89 (พันธุ์ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคใบด่างมันสำปะหลัง)

#### - วิธีปฏิบัติการทดลอง

##### ขั้นตอนที่ 1 การทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ

1.1 ปลุกมันสำปะหลังพันธุ์ทดสอบ จำนวน 17 พันธุ์/สายพันธุ์ พันธุ์ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 กระถาง กระถางละ 1 ต้น

1.2 นำใบมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคใบด่างมันสำปะหลังมาบดกับ 0.1 M sodium phosphate buffer pH 7.0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในโถรงที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและแช่เย็นไว้แล้ว ใช้อัตราส่วนใบพืช 0.1 กรัม ต่อบัพเฟอร์ 1 มิลลิลิตร ผสมผง carborundum ลงไปในน้ำคั้น และนำไปทาบนต้นมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ (ภาพที่ 3) เช่นเดียวกับวิธีการของ Jose *et al.* (2008)

1.3 ทำการประเมินระดับความรุนแรงของการเกิดโรคใบด่างมันสำปะหลัง บนต้นมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบสัปดาห์ละ 1 ครั้ง และเปรียบเทียบในแต่ละพันธุ์ จนครบ 8 สัปดาห์

1.4 ในสัปดาห์ที่ 8 นำส่วนยอดของมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบทุกต้น ไปทำการตรวจหาเชื้อไวรัส SLCMV ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ในห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1)

ขั้นตอนที่ 2 การตรวจเชื้อ SLCMV ในพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1)



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)

### ภาพที่ 3 การทดสอบการถ่ายทอดเชื้อไวรัสโดยใช้น้ำคั้นพืช

(ก) ใบมันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลัง

(ข) บดใบมันสำปะหลัง ใน 0.1M sodium phosphate buffer

(ค) ผสมผง carborundum ลงไปในน้ำคั้นของใบมันสำปะหลัง

(ง) และ (จ) ทาน้ำคั้นของใบมันสำปะหลังที่มีอาการของโรคบนใบของพันธุ์ทดสอบ

### การบันทึกข้อมูล

1. ประเมินลักษณะอาการที่เกิดขึ้นกับต้นมันสำปะหลังในแต่ละสายพันธุ์ทั้ง 3 การทดลอง ทุกสัปดาห์ จนครบ 8 สัปดาห์ โดยใช้เกณฑ์การประเมินความรุนแรงของโรคที่ดัดแปลงจากวิธีของ Ariyo *et al.* (2015); Islam *et al.* (2010) และ Fauquet and Fargette (1990) แบ่งระดับความรุนแรงในการเกิดโรค หลังจากการถ่ายทอดเชื้อเป็น 6 ระดับ คือ ระดับ 0 – 5 และคำนวณดัชนีการเกิดโรค เพื่อประเมินความต้านทานโรคโดยดัดแปลงจากวิธีของ Havey (1996)

2. บันทึกข้อมูลการวิเคราะห์ตรวจหาเชื้อไวรัส ในห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา

### การประเมินระดับความรุนแรงของโรค

แบ่งระดับความรุนแรงในการเกิดโรคหลังจากการถ่ายทอดเชื้อ ตั้งแต่ ระดับ 0 – 5 ดังนี้

| ลักษณะอาการ                                                                         | ระดับความรุนแรง                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
|   | ระดับ 0 ไม่แสดงอาการของโรค                                                                    |
|  | ระดับ 1 ใบมันสำปะหลังมีอาการต่างเล็กน้อยใบเปลี่ยนรูปเล็กน้อย โดยพบอาการเพียง 1 ใบ             |
|  | ระดับ 2 ใบมันสำปะหลังมีอาการต่างใบเปลี่ยนรูปมากกว่า 1 ใบ แต่ไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งต้น |

| ลักษณะอาการ                                                                         | ระดับความรุนแรง                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | <b>ระดับ 3</b> มันสำปะหลังแสดงอาการใบต่างรุนแรงม้วนหงิกงอ พบอาการประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งต้น                       |
|   | <b>ระดับ 4</b> มันสำปะหลังแสดงอาการใบต่างรุนแรง ต้นหงิกงอ ยอดหด ใบหงิกงอ ใบแห้ง พบอาการประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งต้น |
|  | <b>ระดับ 5</b> มันสำปะหลังแสดงอาการใบต่างรุนแรง ใบหงิกงอเสียรูป พบอาการ 50 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งต้นขึ้นไป                 |

#### คำนวณดัชนีการเกิดโรค และเกณฑ์การประเมินความต้านทานโรค

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (ระดับความรุนแรง} \times \text{จำนวนต้น)} \times 100}{\text{จำนวนต้นทดสอบทั้งหมด} \times \text{คะแนนระดับความรุนแรงสูงสุด}}$$

| ดัชนีการเกิดโรค (%) | ระดับความต้านทาน                      | ตัวย่อ |
|---------------------|---------------------------------------|--------|
| 0 – 10              | ต้านทานมาก (High Resistant)           | HR     |
| 10.1 – 20           | ต้านทาน (Resistant)                   | R      |
| 20.1 – 30           | ต้านทานปานกลาง (Moderately Resistant) | MR     |
| 30.1 – 40           | อ่อนแอ (Susceptible)                  | S      |
| 40.1 – 100          | อ่อนแอมาก (High Susceptible)          | HS     |

## เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ พฤษภาคม 2562 – เมษายน 2563

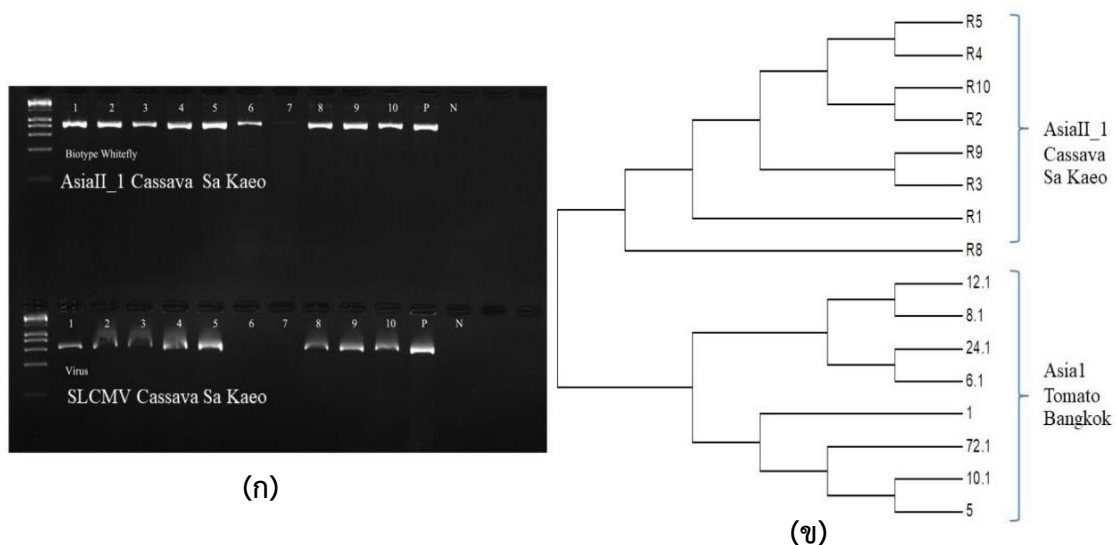
- สถานที่ดำเนินการ 1. แปลงรวบรวมเชื้อพันธุ์กรรมมันสำปะหลัง ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง สถาบันวิจัยพืชไร่ และพืชทดแทนพลังงาน
2. โรงเรือนกักกันพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
3. ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**การทดลองที่ 1** ทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลัง โดยใช้แมลง เป็นพาหะนำโรค

1.1 การตรวจหาเชื้อไวรัส SLCMV และจำแนกกลุ่มของแมลงห้ำขาวยาสูบที่มีลักษณะทาง พันธุ์กรรมเหมือนกัน (Biotypes)

ผลทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ของดีเอ็นเอจากแมลงห้ำขาวยาสูบด้วยไพรเมอร์ Bem-Bt-F (TGR TTT TTT GGT CAT CCR GAA GT) และ Bem-Bt-R (TTT ACT GCA CTT TCT GCC) (Shatters *et al.*, 2009) ของ ยีน *mtCOI* พบแถบดีเอ็นเอขนาด 850 คู่เบส และเมื่อใช้ไพรเมอร์ AV1432 (TGAGCTGCAGTGATGAGTTC) และ AC2178 (AGCCAGAGGCTCTTAGAGTC) ของยีนของเชื้อ SLCMV พบแถบดีเอ็นเอขนาด 747 คู่เบส ตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mtCOI* ที่ได้จากแมลงห้ำขาวยาสูบ พบว่าเป็นไบโอไทป์ Asia II 1 สร้าง phylogenetic tree จากค่าความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mtCOI* ของไบโอไทป์ Asia II 1 กับ Asia 1 พบว่าแยกกันเป็นคนละคลัสเตอร์ (ภาพที่ 4) เช่นเดียวกับสุนัดดา และคณะ (2560) ได้ทำ การสำรวจแมลงห้ำขาวยาสูบที่พบในแปลงมันสำปะหลังในจังหวัดบุรีรัมย์ ศรีสะเกษ สระแก้ว อุบลราชธานี สุรินทร์ และจันทบุรี จำนวน 61 ตัวอย่าง จำแนกโดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *mtCOI* ที่ได้จากแมลง ห้ำขาวยาสูบ จำแนกได้ 2 ไบโอไทป์ ได้แก่ Asia II 1 และ Asia II 6 ในสัดส่วน 77 เปอร์เซ็นต์ และ 23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สอดคล้องกับ Wang *et al.* (2016) พบว่าแมลงห้ำขาวยาสูบจำนวน 6 ตัว ที่เก็บที่ ในแปลงปลูกมันสำปะหลังที่มีการระบาดของเชื้อ (SLCMV) ในกัมพูชานั้นเป็นไบโอไทป์ Asia II 1 เช่นกัน



ภาพที่ 4 ผลการตรวจไบโอไทป์ของแมลงห้ำขาวยาสูบที่เก็บจากต้นมันสำปะหลังที่พบอาการใบด่างและการตรวจเชื้อไวรัส SLCMV ในแมลงห้ำขาวยาสูบ

(ก) อะกาโรสเจลแยกขนาดดีเอ็นเอของยีน *mtCOI* และยีนของไวรัส (ตัวเลขในเจลแสดงเบอร์ตัวอย่างแมลงห้ำขาวยาสูบจำนวน 10 ตัว)

(ข) Phylogenetic tree ที่สร้างจากค่าความแตกต่างของยีน *mtCOI* ของไบโอไทป์ Asia II 1 และ Asia 1 (ตัวเลขใน tree แสดงรหัสตัวอย่างแมลงห้ำขาวยาสูบที่นำมาศึกษา)

1.2 การทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ โดยการถ่ายทอดโรคด้วยแมลงห้ำขาวยาสูบ พบว่า ต้นมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบเริ่มแสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลังในสัปดาห์ที่ 3 จำนวน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ MMAL 63, พิรุณ 2 และสายพันธุ์ CMR33-35-69 ทั้ง 3 พันธุ์แสดงอาการพันธุ์ละ 1 ต้น โดยแสดงอาการในระดับ 1 คือ ใบมันสำปะหลังมีอาการด่างเล็กน้อยใบเปลี่ยนรูปเล็กน้อย โดยพบอาการเพียง 1 ใบ ในสัปดาห์ที่ 4 – 8 ทั้ง 3 ต้นของทั้ง 3 พันธุ์ แสดงอาการรุนแรงในระดับ 2 คือ ใบมันสำปะหลังมีอาการด่าง ใบเปลี่ยนรูปมากกว่า 1 ใบ แต่ไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น ส่วนพันธุ์อื่นที่เหลือ จำนวน 14 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ MBRA 18, MNGA 1, MECU 71, CM4574-7, ระยอง 11, ระยอง 72 สายพันธุ์ CMR49-22-227, CMR49-54-10, CMR49-54-67, CMR25-32-429Q, CMR2 3-149-59, CMR28-05-13, CMR43-08-89 และ 01-77-1 ไม่แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลัง (ตารางที่ 1) ในการทดลองนี้ไม่สามารถวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และคำนวณดัชนีการเกิดโรคได้เนื่องจากจำนวนต้นที่พบอาการของโรคมีเพียง 3 พันธุ์ และพันธุ์ส่วนใหญ่ก็ไม่พบอาการของโรค

1.3 การตรวจเชื้อ SLCMV จากใบยอดของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบเชื้อไวรัสในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ CMR 25-32-429Q พบจำนวน 1 ต้น ใน 7 ต้น คิดเป็น 14.3 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ MNGA 1 พบจำนวน 2 ต้น ใน 8 ต้น คิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ MECU 71 และสายพันธุ์

CMR 49-54-67 พบจำนวน 2 ตัน ใน 7 ตัน คิดเป็น 28.6 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์ CMR23-149-59 และ CMR28-05-13 พบจำนวน 3 ตัน ใน 9 ตัน คิดเป็น 33.3 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์ CMR49-22-227 และ 01-77-1 พบจำนวน 2 ตัน ใน 6 ตัน คิดเป็น 33.3 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ CM 4574-7 และสายพันธุ์ CMR 49-54-10 พบจำนวน 3 ตัน ใน 8 ตัน คิดเป็น 37.5 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ระยะยง 72 พบ 4 ตัน ใน 9 ตัน คิดเป็น 44.4 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ MBRA 18, MMAL 63 และสายพันธุ์ CMR 33-35-69 พบจำนวน 4 ตัน ใน 8 ตัน คิดเป็น 50.0 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์พิจูณ 2 และ สายพันธุ์ CMR 43-08-89 พบจำนวน 5 ตัน ใน 9 ตัน คิดเป็น 55.6 เปอร์เซ็นต์ และพันธุ์ระยะยง 11 พบจำนวน 5 ตัน ใน 8 ตัน คิดเป็น 62.5 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

จากผลการทดลองพบว่า ไม่พบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบเนื่องจากตรวจพบเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคใบด่างมันสำปะหลังในทุกพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ แม้ว่าต้นพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบจะไม่แสดงอาการของโรคก็ตาม ในการทดลองนี้แมลงหริ่งขาวยาสูบสามารถถ่ายทอดโรคได้แต่ต้นมันสำปะหลังแสดงอาการเพียงเล็กน้อย รวมทั้งการตรวจหาเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งเป็นวิธีที่มีความแม่นยำ สามารถใช้ตรวจสอบยืนยันได้ว่าการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในต้นพืชที่ทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับ Chi *et al.* (2020) ทดลองถ่ายทอดโรคใบด่างจากเชื้อ SLCMV ใช้แมลงหริ่งขาวยาสูบ 3 ไบโอดีได้แก่ Asia II 1, MEAM1 และ MED โดยให้แมลงดูดกินพืชเป็นโรค 96 ชั่วโมง ดูดกินพืชปกติ 120 ชั่วโมง ใช้แมลงกลุ่มละ 30 ตัวกับพืช 10 ต้น พบว่า อัตราการถ่ายทอดโรคขึ้นกับไบโอดี กล่าวคืออัตราถ่ายทอดโรคสูงสุด 87.2 เปอร์เซ็นต์ ในไบโอดี Asia II 1, 3.3 เปอร์เซ็นต์ ในไบโอดี MEAM1 และ 16.7 เปอร์เซ็นต์ ในไบโอดี MED ดังนั้นการทดลองจึงควรใช้แมลงหริ่งขาวยาสูบไบโอดี Asia II 1 เป็นแมลงถ่ายทอดโรคใบด่างมันสำปะหลัง

**ตารางที่ 1** ระดับความรุนแรงของโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลัง หลังใช้แมลงหีขาวยาสูบ  
ถ่ายทอดโรค

| ลำดับ | พันธุ์         | สัปดาห์<br>ที่ 3 | สัปดาห์<br>ที่ 4 | สัปดาห์<br>ที่ 5 | สัปดาห์<br>ที่ 6 | สัปดาห์<br>ที่ 7 | สัปดาห์<br>ที่ 8 |
|-------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 1     | CMR 49-22-227  | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 2     | CMR 49-54-67   | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 3     | MBRA 18        | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 4     | 01-77-1        | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 5     | CM 4574-7      | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 6     | CMR 25-32-429Q | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 7     | CMR 23-149-59  | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 8     | CMR 28-05-13   | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 9     | CMR 33-35-69   | 1                | 2                | 2                | 2                | 2                | 2                |
| 10    | MECU 71        | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 11    | MNGA 1         | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 12    | CMR 49-54-10   | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 13    | MMAL 63        | 1                | 2                | 2                | 2                | 2                | 2                |
| 14    | พิจูณ 2        | 1                | 2                | 2                | 2                | 2                | 2                |
| 15    | ระยอง 11       | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 16    | ระยอง 72       | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |
| 17    | CMR 43-08-89   | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                | 0                |

หมายเหตุ : ไม่สามารถวิเคราะห์ความแปรปรวนได้

ตารางที่ 2 การตรวจพบเชื้อไวรัสในพันธุ์มันสำปะหลัง หลังใช้แมลงหวี่ขาวยาสูบถ่ายทอดโรค

| ลำดับ | พันธุ์         | จำนวนต้นที่พบเชื้อไวรัส/<br>จำนวนต้นที่ปลูก | เปอร์เซ็นต์ |
|-------|----------------|---------------------------------------------|-------------|
| 1     | CMR 49-22-227  | 2/6                                         | 33.3        |
| 2     | CMR 49-54-67   | 2/7                                         | 28.6        |
| 3     | MBRA 18        | 3/6                                         | 50.0        |
| 4     | 01-77-1        | 2/6                                         | 33.3        |
| 5     | CM 4574-7      | 3/8                                         | 37.5        |
| 6     | CMR 25-32-429Q | 1/7                                         | 14.3        |
| 7     | CMR 23-149-59  | 3/9                                         | 33.3        |
| 8     | CMR 28-05-13   | 3/9                                         | 33.3        |
| 9     | CMR 33-35-69   | 4/8                                         | 50.0        |
| 10    | MECU 71        | 2/7                                         | 28.6        |
| 11    | MNGA 1         | 2/8                                         | 25.0        |
| 12    | CMR 49-54-10   | 3/8                                         | 37.5        |
| 13    | MMAL 63        | 4/8                                         | 50.0        |
| 14    | พิรุณ 2        | 5/9                                         | 55.6        |
| 15    | ระยอง 11       | 5/8                                         | 62.5        |
| 16    | ระยอง 72       | 4/9                                         | 44.4        |
| 17    | CMR 43-08-89   | 5/9                                         | 55.6        |

## การทดลองที่ 2 ทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังโดยการเสียบยอด

ผลการถ่ายถอดเชื้อไวรัสด้วยวิธีเสียบยอด พบว่า ต้นมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบเริ่มแสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลังในสัปดาห์ที่ 3 มีระดับความรุนแรงที่แตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์ CM 4574-7 แสดงอาการมากที่สุดที่ระดับ 3 คือ มันสำปะหลังแสดงอาการใบด่างรุนแรงม้วนหงิกงอ พบอาการประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น มีค่าดัชนีการเกิดโรค 62.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ MMAL 63, พิรุณ 2, สายพันธุ์ CMR43-08-89, CMR25-32-429Q, CMR33-35-69, CMR49-54-10 และ CMR49-54-67 ที่มีค่าดัชนีการเกิดโรคร้อยระหว่าง 44.4 – 60 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ MBRA 18, MNGA 1, MECU 71, ระยอง 11, ระยอง 72, สายพันธุ์ CMR23-149-59, CMR28-05-13, CMR49-22-227 และ 01-77-1 ที่แสดงอาการที่ระดับ 1 คือ ใบมันสำปะหลังมีอาการต่างเล็กน้อยใบเปลี่ยนรูปเล็กน้อย โดยพบอาการเพียง 1 ใบ และมีค่าดัชนีการเกิดโรคร้อยระหว่าง 11.1 – 33.3 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 4 (ภาพที่ 5) มีระดับความรุนแรงที่แตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์ CM 4574-7 แสดงอาการมากที่สุดที่ระดับ 3 มีค่าดัชนีการเกิดโรค 77.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ MMAL 63, พิรุณ 2, ระยอง 72, สายพันธุ์ CMR43-08-89, CMR28-05-13, CMR33-35-69 และ CMR49-54-10 ที่มีค่าดัชนีการเกิดโรคร้อยระหว่าง 62.2 – 73.3 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ MBRA 18, MNGA 1, MECU 71, ระยอง 11, สายพันธุ์ CMR23-149-59, CMR25-32-429Q, CMR49-22-227, CMR49-54-67 และ 01-77-1 ที่แสดงอาการที่ระดับ 2 คือ ใบมันสำปะหลังมีอาการต่าง ใบเปลี่ยนรูปมากกว่า 1 ใบ แต่ไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งต้น และมีค่าดัชนีการเกิดโรคร้อยระหว่าง 33.3 – 57.8 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 5 มีระดับความรุนแรงที่แตกต่างกันทางสถิติ โดยพันธุ์ CM 4574-7 และสายพันธุ์ CMR 43-08-89 แสดงอาการมากที่สุดที่ระดับ 4 คือ มันสำปะหลังแสดงอาการใบด่างรุนแรง ต้นหดสั้น ยอดหด ใบหงิกงอ ใบแห้ว พบอาการประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของทั้งต้น มีค่าดัชนีการเกิดโรคเท่ากันคือ 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ MMAL 63, พิรุณ 2, ระยอง 11, ระยอง 72, MECU 71, สายพันธุ์ CMR23-149-59, CMR25-32-429Q, CMR28-05-13, CMR33-35-69, CMR49-54-10 และ CMR49-54-67 ที่มีค่าดัชนีการเกิดโรคร้อยระหว่าง 62.9 – 77.1 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ MBRA 18, MNGA 1, สายพันธุ์ CMR49-22-227, และ 01-77-1 ที่แสดงอาการที่ระดับ 2 ที่มีค่าดัชนีการเกิดโรคร้อยระหว่าง 50 – 56 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 6 มีระดับความรุนแรงที่แตกต่างกันทางสถิติ โดยสายพันธุ์ CMR 43-08-89, CMR28-05-13 และพันธุ์ CM 4574-7 แสดงอาการมากที่สุดที่ระดับ 4 มีค่าดัชนีการเกิดโรค 82.9 80 และ 80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ MMAL 63, พิรุณ 2, ระยอง 11, ระยอง 72, MECU 71, สายพันธุ์ CMR23-149-59, CMR25-32-429Q, CMR33-35-69, CMR49-54-10 และ CMR49-54-67 ที่มีค่าดัชนีการเกิดโรคร้อยระหว่าง 68 – 77.5 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ MBRA 18, MNGA 1, สายพันธุ์ CMR49-22-227 และ 01-77-1 ที่แสดงอาการที่ระดับ 3 ที่มีค่าดัชนีการเกิดโรคเท่ากันคือ 60 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 7 มีระดับความรุนแรงที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทุกพันธุ์มีระดับความรุนแรงที่ระดับ 3 และ 4 มีค่าดัชนีการเกิดโรคร้อยระหว่าง 74.3 – 91.4 เปอร์เซ็นต์ และ สัปดาห์ที่ 8 (ภาพที่ 6) มีระดับความรุนแรงที่ไม่แตกต่างกัน

ทางสถิติทุกพันธุ์มีระดับความรุนแรงที่ระดับ 4 มีค่าดัชนีการเกิดโรครอยู่ระหว่าง 88.6 – 94 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาจัดระดับความต้านทานแล้วทุกพันธุ์อยู่ที่ระดับอ่อนแอมาก (HS) (ตารางที่ 3 และ 4)

เมื่อตรวจหาเชื้อไวรัสจากใบยอด พบเชื้อไวรัสในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงไม่พบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ เนื่องจากมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบทุกพันธุ์แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลังที่ระดับความรุนแรงระดับ 4 โดยต้นมันสำปะหลังแสดงอาการโรคระดับต่ำในระยะ 1 - 3 สัปดาห์แรก จากนั้นอาการรุนแรงขึ้นในช่วง 6 - 8 สัปดาห์ ซึ่งวิธีการเสียบยอดจะสามารถถ่ายทอดโรคได้โดยตรง ทำให้ต้นมันสำปะหลังแสดงอาการได้ชัดเจนกว่าวิธีอื่น ๆ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Houngue *et al.* (2019) ประเมินความต้านทานโรคใบด่างของมันสำปะหลัง 24 พันธุ์ โดยใช้วิธี bud grafting มีอัตราติดตาสำเร็จ 65 เปอร์เซ็นต์ และต้นมันสำปะหลังแสดงอาการโรคระดับต่ำในระยะ 1-2 สัปดาห์แรก จากนั้นอาการรุนแรงขึ้นในช่วง 6-10 สัปดาห์ ต่อมาจนพบความแตกต่างของพันธุ์ที่อ่อนแอและต้านทานโรค รวมทั้งตรวจสอบทั้งเชื้อไวรัสในต้นพืชและดีเอ็นเอเครื่องหมายของยีนต้านทาน CMD2 นอกจากนี้ Wagaba *et al.* (2013) ใช้วิธีติดตามเพื่อทดสอบความต้านทานต่อไวรัส cassava brown streak ในมันสำปะหลัง พบว่าอายุของต้นตอและยอดที่เสียบมีผลต่อความสำเร็จในการติดตามและเสียบยอดด้วย แต่วิธีการติดตามเป็นวิธีที่ดีกว่าวิธีอื่นในการประเมินความต้านทานในสภาพโรงเรือน

ตารางที่ 3 ระดับความรุนแรงของโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลัง หลังการเสียบยอด

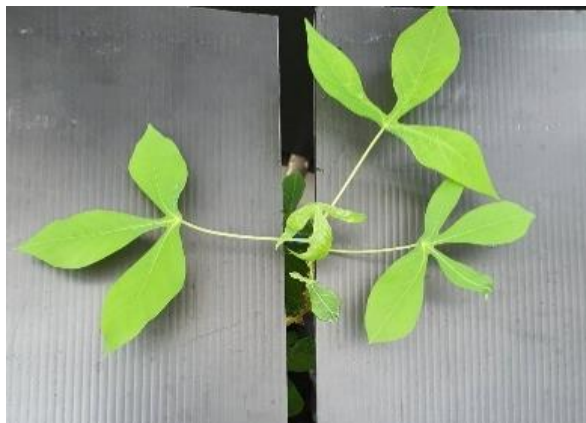
| ลำดับ    | พันธุ์         | สัปดาห์<br>ที่ 3 | สัปดาห์<br>ที่ 4 | สัปดาห์<br>ที่ 5 | สัปดาห์<br>ที่ 6 | สัปดาห์<br>ที่ 7 | สัปดาห์<br>ที่ 8 |
|----------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 1        | CMR 49-22-227  | 0.89 ab          | 1.67 a           | 2.67 ab          | 2.83 a           | 3.67             | 4.67             |
| 2        | CMR 49-54-67   | 2.22 b-g         | 2.89 b-e         | 3.44 bcd         | 3.83 bcd         | 4.06             | 4.56             |
| 3        | MBRA 18        | 0.55 a           | 2.11 ab          | 2.45 a           | 3.00 ab          | 3.94             | 4.72             |
| 4        | 01-77-1        | 1.22 a-d         | 2.44 a-d         | 2.72 abc         | 3.00 ab          | 3.89             | 4.33             |
| 5        | CM 4574-7      | 3.11 g           | 3.89 f           | 4.00 d           | 4.00 d           | 4.17             | 4.56             |
| 6        | CMR 25-32-429Q | 2.55 d-g         | 2.89 b-e         | 3.17 a-d         | 3.33 a-d         | 3.83             | 4.50             |
| 7        | CMR 23-149-59  | 1.67 a-f         | 2.78 b-e         | 3.67 cd          | 3.67 bcd         | 4.00             | 4.50             |
| 8        | CMR 28-05-13   | 1.22 a-d         | 3.11 c-f         | 3.83 d           | 4.00 d           | 4.00             | 4.33             |
| 9        | CMR 33-35-69   | 3.00 fg          | 3.33 def         | 3.72 d           | 3.72 bcd         | 4.22             | 4.61             |
| 10       | MECU 71        | 1.00 abc         | 2.33 abc         | 3.11 a-d         | 3.33 a-d         | 3.67             | 4.55             |
| 11       | MNGA 1         | 1.00 abc         | 1.78 a           | 2.67 ab          | 3.06 abc         | 3.78             | 4.44             |
| 12       | CMR 49-54-10   | 2.78 efg         | 3.56 ef          | 3.78 d           | 3.89 cd          | 4.00             | 4.56             |
| 13       | MMAL 63        | 2.55 d-g         | 3.33 def         | 3.50 bcd         | 3.67 bcd         | 3.95             | 4.39             |
| 14       | พิจูณ 2        | 2.33 c-g         | 3.45 ef          | 3.89 d           | 3.89 cd          | 4.06             | 4.61             |
| 15       | ระยอง 11       | 1.22 a-d         | 2.78 b-e         | 3.39 a-d         | 3.72 bcd         | 4.17             | 4.39             |
| 16       | ระยอง 72       | 1.55 a-e         | 3.11 c-f         | 3.61 bcd         | 3.72 bcd         | 3.94             | 4.78             |
| 17       | CMR 43-08-89   | 2.22 b-g         | 3.66 ef          | 4.00 d           | 4.11 d           | 4.33             | 4.78             |
| mean     |                | 1.83             | 2.89             | 3.39             | 3.57             | 3.98             | 4.55             |
| C.V. (%) |                | 40.07            | 16.15            | 15.02            | 12.10            | 12.62            | 8.20             |

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4 ดัชนีการเกิดโรค (%) และระดับความต้านทานของพันธุ์มันสำปะหลัง หลังการเสียบยอด

| ลำดับ | พันธุ์         | สัปดาห์<br>ที่ 3 | สัปดาห์<br>ที่ 4 | สัปดาห์<br>ที่ 5 | สัปดาห์<br>ที่ 6 | สัปดาห์<br>ที่ 7 | สัปดาห์<br>ที่ 8 | ระดับความ<br>ต้านทาน |
|-------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------------|
| 1     | CMR 49-22-227  | 17.8             | 33.3             | 56.0             | 60.0             | 76.0             | 92.0             | HS                   |
| 2     | CMR 49-54-67   | 44.4             | 57.8             | 67.5             | 75.0             | 91.4             | 91.4             | HS                   |
| 3     | MBRA 18        | 11.1             | 42.2             | 50.0             | 60.0             | 80.0             | 93.3             | HS                   |
| 4     | 01-77-1        | 24.4             | 48.9             | 55.0             | 60.0             | 77.1             | 88.6             | HS                   |
| 5     | CM 4574-7      | 62.2             | 77.8             | 80.0             | 80.0             | 82.9             | 91.4             | HS                   |
| 6     | CMR 25-32-429Q | 51.1             | 57.8             | 64.0             | 68.0             | 80.0             | 92.0             | HS                   |
| 7     | CMR 23-149-59  | 33.3             | 55.6             | 73.3             | 73.3             | 80.0             | 90.0             | HS                   |
| 8     | CMR 28-05-13   | 24.4             | 62.2             | 77.1             | 80.0             | 80.0             | 88.6             | HS                   |
| 9     | CMR 33-35-69   | 60.0             | 66.7             | 75.0             | 75.0             | 82.9             | 91.4             | HS                   |
| 10    | MECU 71        | 20.0             | 46.7             | 62.9             | 68.6             | 77.1             | 88.6             | HS                   |
| 11    | MNGA 1         | 20.0             | 35.6             | 52.5             | 60.0             | 74.3             | 88.6             | HS                   |
| 12    | CMR 49-54-10   | 55.6             | 71.1             | 75.0             | 77.5             | 80.0             | 91.4             | HS                   |
| 13    | MMAL 63        | 51.1             | 66.7             | 70.0             | 72.5             | 77.5             | 88.6             | HS                   |
| 14    | พิจูณ 2        | 46.7             | 68.9             | 77.1             | 77.1             | 80.0             | 91.4             | HS                   |
| 15    | ระยอง 11       | 24.4             | 55.6             | 73.3             | 76.7             | 83.3             | 90.0             | HS                   |
| 16    | ระยอง 72       | 31.1             | 62.2             | 73.3             | 76.7             | 83.3             | 91.0             | HS                   |
| 17    | CMR 43-08-89   | 44.4             | 73.3             | 80.0             | 82.9             | 88.6             | 94.0             | HS                   |

หมายเหตุ : HS คือ อ่อนแอมาก (High Susceptible)



CMR 49-22-227



CMR 49-54-67



MBRA 18



01-77-1



CM 4574-7



CMR 25-32-429Q

ภาพที่ 5 พันธุ์มันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลัง จำนวน 17 พันธุ์/สายพันธุ์  
หลังเสียบยอด 4 สัปดาห์



CMR 23-149-59



CMR 28-05-13



CMR 33-35-69



MECU 71



MNGA 1



CMR 49-54-10

ภาพที่ 5 (ต่อ)



MMAL 63



พืชรูณ 2



ระยอง 11



ระยอง 72



CMR 43-08-89

ภาพที่ 5 (ต่อ)



CMR33-35-69



MECU71



CMR49-54-10



พิจูณ2



ระยอง 11



ระยอง 72

ภาพที่ 6 ตัวอย่างพันธุ์มันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลัง หลังเสียบยอด 8 สัปดาห์

### การทดลองที่ 3 ทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังโดยใช้น้ำคั้นพืช

หลังจากถ่ายทอดเชื้อแล้ว 1 - 8 สัปดาห์ ไม่พบต้นมันสำปะหลังที่แสดงอาการของโรค เมื่อตรวจหาเชื้อไวรัสจากใบยอด พบเชื้อไวรัสในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ CMR 49-22-227 พบจำนวน 6 ต้น ใน 9 ต้น คิดเป็น 66.7 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ MECU 71, 01-77-1, CM 4574-7 และสายพันธุ์ CMR 23-149-59 พบจำนวน 7 ต้น ใน 9 ต้น คิดเป็น 77.8 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ MMAL 63 และสายพันธุ์ CMR 49-54-67 พบจำนวน 8 ต้น ใน 9 ต้น คิดเป็น 88.9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ MBRA 18, MNGA 1, พิรุณ 2, ระยอง 11, ระยอง 72, สายพันธุ์ CMR25-32-429Q, CMR28-05-13, CMR33-35-69, CMR43-08-89 และ CMR49-54-10 พบทุกต้น คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5) ในการทดลองนี้ไม่สามารถวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และคำนวณดัชนีการเกิดโรคได้เนื่องจากทุกพันธุ์ไม่พบอาการของโรค

เนื่องจากตรวจพบเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคใบด่างมันสำปะหลังในทุกพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ แม้ว่าต้นพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบจะไม่แสดงอาการของโรคก็ตาม ดังนั้นการตรวจหาเชื้อไวรัสด้วยเทคนิคพีซีอาร์จึงเป็นวิธีที่มีความแม่นยำ สามารถใช้ตรวจสอบยืนยันได้ว่าการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสในต้นพืชที่ทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Saunders *et al.* (2002) และ Jose *et al.* (2008) ทดลองทาน้ำคั้นใบพืชที่มีเชื้อ SLCMV ที่พบในประเทศศรีลังกาลงบนยาสูบ (*Nicotiana*) 43 ชนิด และพืชอื่นรวมทั้งมันสำปะหลังอีก 38 ชนิด พบว่าเชื้อนี้ถ่ายทอดทางน้ำคั้นไปยังยาสูบได้ทุกชนิด และพืชแสดงอาการของโรคภายในระยะเวลา 10-30 วันหลังถ่ายทอดเชื้อ แต่พืชทดสอบชนิดอื่นรวมทั้งมันสำปะหลังไม่แสดงอาการโดยติดตามสังเกตจนครบ 90 วันหลังถ่ายทอดเชื้อ จึงได้สรุปไว้ว่าวิธีทาน้ำคั้นไม่เหมาะสำหรับการถ่ายทอดเชื้อให้กับมันสำปะหลัง มีงานทดลองที่ถ่ายทอดเชื้อด้วยวิธีกลได้สำเร็จ ทำโดยการใช้เครื่องยิงอนุภาคและใช้ดีเอ็นเอของไวรัสที่โคลนเข้ากับพลาสมิดพาหะ พบว่ามันสำปะหลังแสดงอาการของโรคได้ภายใน 15 วัน (Saunders *et al.*, 2002; Ntui *et al.*, 2015)

ตารางที่ 5 การตรวจพบเชื้อไวรัสในพันธุ์มันสำปะหลัง หลังทาน้ำคั้นพืช

| ลำดับ | พันธุ์         | จำนวนต้นที่พบเชื้อไวรัส/<br>จำนวนต้นที่ปลูก | เปอร์เซ็นต์ |
|-------|----------------|---------------------------------------------|-------------|
| 1     | CMR 49-22-227  | 6/9                                         | 66.7        |
| 2     | CMR 49-54-67   | 8/9                                         | 88.9        |
| 3     | MBRA 18        | 9/9                                         | 100.0       |
| 4     | 01-77-1        | 7/9                                         | 77.8        |
| 5     | CM 4574-7      | 7/9                                         | 77.8        |
| 6     | CMR 25-32-429Q | 9/9                                         | 100.0       |
| 7     | CMR 23-149-59  | 7/9                                         | 77.8        |
| 8     | CMR 28-05-13   | 6/6                                         | 100.0       |
| 9     | CMR 33-35-69   | 9/9                                         | 100.0       |
| 10    | MECU 71        | 7/9                                         | 77.8        |
| 11    | MNGA 1         | 8/8                                         | 100.0       |
| 12    | CMR 49-54-10   | 7/7                                         | 100.0       |
| 13    | MMAL 63        | 8/9                                         | 88.9        |
| 14    | พิรุณ 2        | 8/8                                         | 100.0       |
| 15    | ระยอง 11       | 9/9                                         | 100.0       |
| 16    | ระยอง 72       | 9/9                                         | 100.0       |
| 17    | CMR 43-08-89   | 9/9                                         | 100.0       |

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลัง โดยใช้แมลงหีวขาว ยาสูบเป็นพาหะนำโรค ไม่พบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ เนื่องจากตรวจพบเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคใบด่างมันสำปะหลังในทุกพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ แม้ว่าต้นพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบจะไม่แสดงอาการของโรคก็ตาม โดยแมลงหีวขาวยาสูบไปโอไทป์ Asia II 1 สามารถถ่ายทอดโรคใบด่างมันสำปะหลังได้

2. การทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลัง โดยการเสียบยอด ไม่พบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบ เนื่องจากมันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบทุกพันธุ์แสดงอาการของโรคใบด่างมันสำปะหลังที่ระดับความรุนแรงใกล้เคียงกับพันธุ์อ่อนแอ คือ ที่ระดับ 4 และค่าดัชนีการเกิดโรครอยู่ในช่วง 88.6 – 94 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจัดเป็นพันธุ์อ่อนแอมากต่อโรค วิธีการเสียบยอดมีการเชื่อมต่อของท่อน้ำท่ออาหารระหว่างต้นตอที่เป็นโรคกับยอดของพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ ทำให้เกิดการถ่ายทอดโรคได้โดยตรง ต้นมันสำปะหลังพันธุ์ที่ใช้ทดสอบจึงแสดงอาการของโรคได้อย่างเด่นชัด

3. การทดสอบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลัง โดยใช้น้ำคั้นพืช ไม่พบความต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลังของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบเนื่องจากตรวจพบเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคใบด่างมันสำปะหลังในทุกพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ แม้ว่าต้นพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบจะไม่แสดงอาการของโรคก็ตาม

4. ผลจากการทดสอบความต้านทานโรคโดยการถ่ายทอดเชื้อทั้ง 3 วิธี พบว่าพันธุ์มันสำปะหลังทุกพันธุ์ที่ทดสอบไม่ต้านทานโรคใบด่างมันสำปะหลัง ส่วนวิธีการที่ใช้ทดสอบนั้น พบว่าวิธีการเสียบยอดทำให้มีแหล่งของเชื้อไวรัสเข้าสู่ยอดของพันธุ์มันสำปะหลังที่ใช้ทดสอบได้เป็นระยะเวลานานตลอดการทดลอง ทำให้ต้นมันสำปะหลังพันธุ์แสดงอาการของโรคได้อย่างเด่นชัด จึงสมควรใช้วิธีการเสียบยอดสำหรับการทดสอบสายพันธุ์มันสำปะหลังอื่นๆ ต่อไป และควรศึกษาความทนทานต่อโรคโดยการตัดเอาเฉพาะส่วนยอดของพันธุ์ที่ใช้ทดสอบ มาชักนำให้เกิดรากและปลูกใหม่อีกครั้ง เพื่อดูอาการโรคในระยะยาว ส่วนการใช้แมลงหีวขาวยาสูบถ่ายทอดเชื้อเป็นวิธีการที่ถ่ายทอดเชื้อเพียงระยะเวลานั้น แต่ก็พบว่าแมลงหีวขาวยาสูบสามารถถ่ายทอดโรคได้ แม้มีอัตราการเกิดโรคต่ำมาก เนื่องจากเป็นวิธีการแพร่เชื้อที่เกิดขึ้นได้จริงในธรรมชาติ มีความเหมาะสมสำหรับการศึกษากลไกความต้านทานโรคของพันธุ์มันสำปะหลัง ส่วนวิธีการทาน้ำคั้นพืชไม่เหมาะสำหรับการถ่ายทอดเชื้อให้กับมันสำปะหลัง

5. การตรวจหาไวรัสด้วยเทคนิคพีซีอาร์สามารถตรวจพบดีเอ็นเอของไวรัสได้แม้พืชจะยังไม่แสดงอาการ จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับใช้ยืนยันการติดเชื้อของพืชทุกต้นโดยเฉพาะต้นที่ไม่แสดงอาการ เพื่อแสดงอัตราการเกิดโรคที่ถูกต้อง ทั้งนี้ควรตรวจสอบทั้งจีโนมของดีเอ็นเอ-เอ และ ดีเอ็นเอ-บี เพื่อให้ทราบสายพันธุ์ของเชื้อ SLCMV ที่พบในประเทศไทย

### คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกรมวิชาการเกษตรที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัย ภายใต้โครงการเงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ปี 2562 ขอขอบคุณนางวิไลวรรณ พรหมคำ ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช นางประพิศ วงเทียม ผู้เชี่ยวชาญด้านพืชไร่ นางจินณจาร์ หาญเศรษฐสุข ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยโรคพืช นางสาวชลธิชา รักใคร่ ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช นางนุชนารถ กังพิศดาร ที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตรด้านปฐพีวิทยา นายวันชัย ถนอมทรัพย์ ที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตรด้านพืชไร่ นางพุดนา รุ่งระวี ที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตรด้านวิชาการสถิติและประเมินผลงานวิจัย นายเกรียงไกร จำเริญมา ที่ปรึกษากรมวิชาการเกษตรด้านกีฏวิทยาและอารักขาพืช และ ผศ.ดร.พิสสวรรณ เจียมสมบัติ ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำเสมอมา ตลอดจนผู้มีส่วนช่วยเหลือต่าง ๆ ที่ทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

- จิราพร แก่นทรัพย์. 2563. รายงานความก้าวหน้าโครงการเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการจำแนกและปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง. หน้า 33.
- ภูวนารถ มณีโชติ สุนัดดา เชาวลิต กาญจนา วาระวิชณี วาสนา รุ่งสว่าง ภาณุวัฒน์ มุลจันทร์ ศิริลักษณ์ ล้วนแก้ว และประภาพร แพงดา. 2561. การสำรวจและเฝ้าระวังโรคใบด่างมันสำปะหลังที่เกิดจากเชื้อไวรัส. รายงานผลการวิจัยเรื่องเดิม ภายใต้โครงการเงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 52 หน้า.
- วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2551. โรคพืชที่เกิดจากเจมินีไวรัสในประเทศไทย. สำนักวิจัยการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 70 หน้า.
- ศูนย์ข้อมูลเกษตรแห่งชาติ. 2563. วิเคราะห์สถานการณ์โรคใบด่างมันสำปะหลัง. แหล่งข้อมูล: <http://www.nabc.go.th/disaster/baidang>. ค้นเมื่อ วันที่ 1 ตุลาคม 2563.
- สุนัดดา เชาวลิต ภูวนารถ มณีโชติ ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ ภาณุวัฒน์ มุลจันทร์ วันเพ็ญ ศรีชาติ ศิริลักษณ์ ล้วนแก้ว วาสนา รุ่งสว่าง และวิจิตรา โชคบุญ. 2560. การจำแนกชนิดแมลงหีขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* บนมันสำปะหลังในประเทศไทยโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุล. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 13 “ปฏิรูปอารักขาพืชไทย สู่ประเทศไทย 4.0 เพื่อความมั่นคง มั่งคั่ง และยั่งยืน”. หน้า 787-801.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร ปี 2562. แหล่งข้อมูล: [http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/casava62\(1\).pdf](http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/casava62(1).pdf). ค้นเมื่อ วันที่ 1 เมษายน 2563.
- สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2561. สถานการณ์การระบาดและมาตรการในการเฝ้าระวังป้องกันโรคใบด่างมันสำปะหลัง. กรมวิชาการเกษตร. 6 หน้า.
- อุไรวรรณ พงษ์พยัคเลิศ. 2554. การศึกษาตำแหน่งยีนต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองมะเขือเทศสายพันธุ์ไทย จากมะเขือเทศพันธุ์ป่า *Solanum habrochaites* accession ‘L06112’. วิทยานิพนธ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 90 หน้า.
- 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. Phytopathology Plant Protect.* 48: 504-518.
- Chi, Y., L.L. Pan, S. Bouvaine, Y.Y. Fan, Y.Q. Liu, S.S. Liu, S. Seal and X.W. Wang, 2020. Differential transmission of *Sri Lankan cassava mosaic virus* by three cryptic species of the whitefly *Bemisia tabaci* complex. *Virology*. 540: 141-149.

- Cohen, S. and F.E. Nitzany. 1966. Transmission and host range of the *tomato yellow leaf curl virus*. *Phytopathology*. 56: 1127-1131.
- Fauquet, C. and D. Fargette, 1990. *African cassava mosaic virus*: etiology, epidemiology and control. *Plant Dis*. 74: 404-411.
- Houngue, J.A., M. Zandjanakou-Tachin, H.B. Ngalle, J.S. Pita, G.H.T. Cacaï, S.E. Ngatat 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.
- Havey, M.J. 1996. CMV resistance in three sources of cucumber. *Cucurbit Genet coop*. 19: 32-33.
- Islam, S., A.D. Munshi, B. Mandal, R. Kumar and T.K. Behera. 2010. Genetics of resistance in *Luffa cylindrical* Roem. Against *Tomato leaf curl New Delhi virus*. *Euphytica*. 174(1): 83-89.
- Jiang, Y.X., C. De Blas, L. Barrios and A. Fereres. 2000. Correlation between whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) feeding behavior and transmission of *tomato yellow leaf curl virus*. *Entomological Soc. of Amer*. 93(3): 573-579.
- Jones, D.R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *Eur. J. Plant Pathol*. 109: 195-219.
- Jose, A., T. Makesh Kumar and S. Edison. 2008. Host range of *Sri Lankan cassava mosaic virus*. *J. Root Crops* 34(1): 21-25.
- Legg, J.P., P.L. Kumar, T. Makesh Kumar, L. Tripathi, M. Ferguson, E. Kanju, P. Ntawuruhunga and W. Cuellar. 2015. Cassava Virus Diseases: Biology, Epidemiology, and Management, p. 85-142. In G. Loebenstein and N. I. Katis, eds. *Advances in Virus Research*. Academic Press.
- Mansour, A. and A. Al-Musa. 1992. *Tomato yellow leaf curl virus*: host range and virus-vector relationship. *Plant Pathol*. 41: 122-125.
- Ntui, V.O., K. Kong, R.S. Khan, T. Igawa, G.J. Janavi, R. Rabindran, I. Nakamura and M. Mii. 2015. Resistance to *Sri Lankan cassava mosaic virus* (SLCMV) in genetically engineered cassava cv. KU50 through RNA silencing. *PLoS One*. 10(4): e0120551.
- Reddy, D.V.R., M.R. Sudarshana, M. Fuchs, N.C. Rao and G. Thottappilly. 2009. Genetically engineered virus-resistant plants in developing countries: Current status and future prospects, p. 185-220. In G. Loebenstein and J.P. Carr, eds. *Advances in virus research*. Academic Press.

- Saunders, K., N. Salim, V.R. Mali, V.G. Malathi, R. Briddon, P.G. Markham and J. Stanley. 2002. Characterisation of *Sri Lankan Cassava Mosaic Virus* and *Indian Cassava Mosaic Virus*: Evidence for Acquisition of a DNA B Component by a Monopartite Begomovirus. *Virology*. 293: 63-74.
- Shatters, R.G. J.R, C.A. Powell, L.M. Boykin, H.L. Sheng and C.L. McKenzie. 2009. Improved DNA barcoding method for *Bemisia tabaci* and related Aleyrodidae: development of universal and *Bemisia tabaci* biotype-specific mitochondrial cytochrome c oxidase I polymerase chain reaction primers. *J. Econ. Entomol.* 102: 750-758.
- Wagaba, H., G.T. Beyene, C.T. Trembley, T.T. Alicai, C.M Fauquet and N.J. Taylor. 2013. Efficient transmission of Cassava brown streak disease viral pathogens by chip bud grafting. *BMC Research Notes*. 6: 516.
- Wang, H.L., X.Y. Cui, X.W. Wang, S.S. Liu, Z.H. Zhang and X.P. Zhou. 2016. First Report of *Sri Lankan Cassava Mosaic Virus* Infecting Cassava in Cambodia. *APS J. Plant Disease*. 100: 1029.
- Wongtiem, P., S. Sarakran, A. Youngmod, P. Ekmahachai, W. Watananonta and R. Howeler. 2002. Progress in cassava core germplasm conservation in Thailand. In International of cassava biotechnology network VI. CIAT, Cali, Colombia.
- Wongtiem, P., S. Sarakarn, J. Harnsetasook, A. Youngmod and R. Howeler. 2006. Transfer to, and preliminary evaluation of the CIAT cassava core collection in Thailand. First International Meeting on Cassava Breeding Biotechnology and Ecology. Brasilia, Brazil.