

การตรวจสอบไวรัส *Maize Chlorotic Mottle Virus*,
Maize Dwarf Mosaic Virus และ *Sugarcane Mosaic Virus*
สาเหตุโรคแห้งตายในข้าวโพดหวาน
Detection of *Maize Chlorotic Mottle Virus*, *Maize Dwarf*
Mosaic Virus and *Sugarcane Mosaic Virus* Associated with
Maize Lethal Necrotic Disease Infecting Sweet Corn

อารมย์ จันทะสอน*, ธีรธรรม กสิปสุวรรณ และธนประสงค์ อยู่พิศิษฐ์ไตรวัติ
วิทยาลัยโพธิวิชชาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก 26120

สิทธิศักดิ์ แสนไพศาล

กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

กรมวิชาการเกษตร แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Arom Jantasorn*, Tatchatan Kleebsuwan and Thanaprasong Oiuphisittraiwat
Bodhivijjalaya College, Srinakharinwirot University, Amphur Ongkharak, Nakhon Nayok 26120

Sitthisak Saepaisal

Plant Virology Section, Plant Pathology Research Group, Plant Protection Research and Development
office, Department of Agriculture, Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900

บทคัดย่อ

โรคแห้งตายในข้าวโพด (maize lethal necrosis disease, MLND) ในประเทศไทยเกิดจากไวรัส *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV), *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) และ *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) งานวิจัยนี้จึงตรวจสอบ MCMV, MDMV และ SCMV ในแหล่งปลูกข้าวโพดหวานที่สำคัญของประเทศไทย โดยสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวโพดหวานพันธุ์ Hibrix 3, พันธุ์อินทรี 2 และพันธุ์หวาน 54 จาก 4 ภูมิภาค และ 9 จังหวัด ของประเทศไทย จำนวน 124 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหาเชื้อดังกล่าวด้วยเทคนิค indirect ELISA จากการศึกษาพบว่า ตัวอย่างข้าวโพดหวานที่เก็บจากภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือมีการเข้าทำลาย ของ SCMV และ MDMV มีค่า OD₄₀₅ เฉลี่ย 0.107-1.00 ทุกตัวอย่างมีการเข้าทำลายของไวรัสทั้ง 2 ชนิด คิดเป็น ร้อยละ 100 ส่วน MCMV ตรวจพบจากตัวอย่างที่เก็บมาจากภาคกลางและภาคตะวันตก มีค่า OD₄₀₅ เฉลี่ย 0.346-1.197 คิดเป็นร้อยละ 31.45 จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเข้าทำลายร่วมกันของ SCMV และ MCMV ในพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวาน ภาคกลางและภาคตะวันตกมีการระบาดของไวรัสที่รุนแรงกว่าในภาค

*ผู้รับผิดชอบบทความ : aromj@g.swu.ac.th

ตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ดังนั้นจึงสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญต่อการวางแผนการปลูกข้าวโพดหวานเพื่อป้องกันโรคและแมลงพาหะ ตลอดจนการจัด zoning เพื่อหลีกเลี่ยงการแพร่ระบาดของไวรัสไปยังแปลงปลูกข้าวโพดหวานแหล่งอื่นของประเทศไทยต่อไป

คำสำคัญ : *Sugarcane mosaic virus* (SCMV); *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV); *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV); ELISA; การตรวจสอบ

Abstract

The most common viruses infected maize in Thailand are *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV), and *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV), the causal agent of maize lethal necrosis disease. The aims of this study were detection of *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV), and *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) in the main sweet corn plantation of Thailand by using the indirect ELISA technique. The one hundred and twenty four samples in 3 cultivars of sweet corn such as Hybrix 3, Insee 2 and Wan 54, which were collected from four regions and nine provinces in Thailand, were studied. Results were shown that samples from the central, western, northeastern, and northern regions were infected by both of SCMV and MDMV in the range of average optical density (OD_{405}) 0.107-1.00 with 100 % infectivity. On the other hand, the samples from central and western regions were infected by MCMV in a range of OD_{405} 0.346-1.197 with 31.45 % infectivity. Results from this study were demonstrated that the combination of SCMV and MCMV infection in sweet corn plantation in the central and western regions had more severe viral outbreaks than in the northeastern and northern regions. These results were used as the basic information, that critical epidemiology of these viruses to sweet corn planning, in order to prevent this disease and insect vector or zoning to avoid viral infections to the other sweet corn plantations in Thailand.

Keywords: *Sugarcane mosaic virus* (SCMV); *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV); *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV); ELISA; detection

1. บทนำ

ข้าวโพดหวาน (*Zea mays* L. var. *saccharata*) เป็นพืชที่จัดอยู่ใน family Poaceae (Gramineae) และเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญต่อมนุษย์และสัตว์ ข้าวโพดหวานจัดเป็นพืชส่งออกที่สำคัญของไทย ซึ่งการส่งออกข้าวโพดหวานนั้นสามารถส่งออกได้หลายรูปแบบ เช่น การแปรรูปข้าวโพดหวานบรรจุกระป๋อง

โดยบรรจุทั้งเมล็ดหรือทั้งฝักข้าวโพด ขณะเดียวกันพบปัญหาทั้งโรคและแมลงเข้าทำลายข้าวโพดในแปลงปลูก โดยเฉพาะปัญหาทางด้านโรคซึ่งมีความสำคัญต่อการเพาะปลูกและการผลิตเมล็ดพันธุ์ของข้าวโพดหวาน จากการเข้าทำลายของไวรัสที่ก่อให้เกิดอาการใบด่างลาย ใบด่างประจุดเหลือง และใบด่างแฉะ ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของข้าวโพดหวานเมื่อถูก

ไวรัสเข้าทำลายโดยเฉพาะบริเวณใบจะเปลี่ยนรูปร่าง ใบเป็นสีเขียวสลับกับเหลือง ใบเป็นจุดต่าง ใบชิด รวมไปถึงลำต้นเตี้ยแคระแกร็นไม่เจริญเติบโต ส่วนผักข้าวโพดจะเล็กฝ่อไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ [1,2] ไวรัสที่สำคัญในการเข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายแก่ข้าวโพดหวานนั้น ได้แก่ *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) และ *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV) ซึ่ง SCMV และ MDMV จัดอยู่ใน family Potyviridae ส่วน MCMV จัดอยู่ใน family Tombusviridae [3] การเข้าทำลายของไวรัสดังกล่าวก่อให้เกิดโรคแห้งตายในข้าวโพด (maize lethal necrosis disease, MLND) จากรายงานของ Wangai และคณะ [4] พบว่าโรคแห้งตายก่อให้เกิดความเสียหายต่อข้าวโพดได้มากถึง 100 % ในประเทศเคนยา และความรุนแรงของโรคจะขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ข้าวโพดและสภาพภูมิอากาศในปีนั้นๆ ถ้าพบ MCMV เข้าทำลายข้าวโพดร่วมกับไวรัสในกลุ่ม Potyviridae เช่น การเข้าทำลายของ MCMV กับ MDMV หรือร่วมกับ *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) ในลักษณะปฏิสัมพันธ์ร่วมกันของเชื้อ (synergistic reaction) ข้าวโพดจะแสดงอาการของโรคที่รุนแรงมากกว่าการเข้าทำลายของไวรัสเพียงชนิดเดียว ส่งผลให้การติดฝักน้อยลง หากเกิดกับข้าวโพดสายพันธุ์ที่มีความอ่อนแอจะไม่ให้ผลผลิต ลำต้นแคระแกร็นอย่างรุนแรง ลำต้นแห้งตาย [4-7] และการเข้าทำลายของ MDMV ร่วมกับ MCMV ก่อให้เกิดความเสียหายในการผลิตข้าวโพดในรัฐแคนซัส ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งได้มีการประเมินความเสียหายจากโรคแห้งตายในข้าวโพด (MLND) [8,9] ไวรัสสามารถถ่ายทอดโรคโดยอาศัยแมลงพาหะซึ่ง SCMV และ MDMV สามารถถ่ายทอดโดยอาศัยเพลี้ยอ่อน ส่วน MCMV สามารถถ่ายทอดโดยอาศัยเพลี้ยไฟ (thrips)

และ ตัว (beetle) [4] นอกจากนี้ MCMV ยังสามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดได้ [10,11] มีการตรวจสอบไวรัสของข้าวโพดในประเทศไทย พบ MCMV ระบาดมากที่สุดคิดเป็น 91 % รองลงมา คือ SCMV และพบการเข้าทำลายร่วมกันของเชื้อทั้ง 2 ชนิด ด้วย [12] นอกจากนี้ยังพบการระบาดของโรคใบต่างลายและใบต่างแคระในแหล่งปลูกข้าวโพดหลายพื้นที่ ซึ่งจากการตรวจสอบของ [13] พบว่าเกิดจาก *Sugarcane mosaic virus* strain MDB (SCMV-MDB) จากการเข้าทำลายของ MCMV และ SCMV หรือถ้าพบเชื้อทั้ง 2 ชนิด เข้าทำลายร่วมกันในพื้นที่ปลูกข้าวโพด อาจก่อให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิตของข้าวโพดอย่างรุนแรงส่งผลกระทบต่อกระบวนการผลิตข้าวโพดของไทย ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องมีการตรวจสอบไวรัสทั้ง 3 ชนิด ในแหล่งปลูกข้าวโพดหวานที่สำคัญของประเทศไทย เพื่อให้ทราบชนิดของไวรัสที่เข้าทำลายพืช ตลอดจนการตรวจสอบตัวอย่างจากลักษณะอาการที่พบเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อที่เข้าทำลาย นำไปสู่การป้องกันโรคในแปลงปลูก ซึ่งวัตถุประสงค์ในการศึกษารุ่นนี้เพื่อตรวจสอบชนิดของไวรัสที่เข้าทำลายข้าวโพดหวาน จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV), *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) และ *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) สาเหตุโรคแห้งตายในแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทยด้วยเทคนิคทางชีววิทยา เพื่อให้การป้องกันโรคมมีประสิทธิภาพและยั่งยืนต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวโพดหวาน

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวโพดหวานจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ Hibrix 3, พันธุ์อินทรี 2 และพันธุ์หวาน 54 ที่แสดงอาการของโรคไวรัสในแหล่งปลูก

ที่สำคัญของประเทศไทย ได้รับความอนุเคราะห์และสนับสนุนการเก็บตัวอย่างเพื่อวิจัยจากกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพิษ สำนักรักษาพัฒนาการอาชีวศึกษา กรมวิชาการเกษตร โดยเก็บตัวอย่างในแต่ละพื้นที่ ดังนี้ คือ เขตภาคเหนือ 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย จำนวน 40 ตัวอย่าง เขตภาคกลาง 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดลพบุรี และสระบุรี จำนวน 20 ตัวอย่าง เขตภาคตะวันตก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี และนครปฐม จำนวน 30 ตัวอย่าง และในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา และหนองคาย จำนวน 34 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 124 ตัวอย่าง โดยสุ่มสำรวจแปลงและคัดเลือกจากอำเภอที่มีพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวานมากหรือปานกลางในแต่ละจังหวัด จังหวัดละประมาณ 20-30 แปลง ซึ่งวิธีการสุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละพื้นที่จะมีจำนวนตัวอย่างที่ไม่เท่ากันเนื่องจากจำนวนพื้นที่ปลูกและจำนวนแปลงปลูกข้าวโพดหวานในพื้นที่นั้น ๆ และการสุ่มเก็บตัวอย่างจะสุ่มเก็บแบบจำเพาะเจาะจงเฉพาะต้นข้าวโพดหวานที่แสดงอาการคล้ายไวรัส ได้แก่ อาการต่าง อาการใบขีด เป็นต้น รวมทั้งรูปแบบการเดินสุ่มเก็บตัวอย่างแบบรูปตัวยคว่ำและหางยสลับกันไป จากนั้นบันทึกข้อมูลลักษณะอาการที่ผิดปกติ ได้แก่ อาการใบต่างลาย ใบต่างประจุดเหลือง และใบต่างแคะ ตลอดจนข้อมูลพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ การเก็บตัวอย่างใบสดข้าวโพดหวานจะห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์จากนั้นใส่ในถุงพลาสติกบรรจุลงในกล่องเก็บความเย็น ซึ่งตัวอย่างทั้งหมดนำมาตรวจสอบโรคไวรัสในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี indirect ELISA โดยทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2.2 การตรวจสอบโรคไวรัสในข้าวโพดหวานด้วยเทคนิค indirect enzyme-linked immunosorbent assay (indirect ELISA)

วิธี indirect ELISA ดัดแปลงมาจาก Clark

และ Adams [14] โดยตรวจสอบ SCMV, MCMV และ MDMV ด้วยชุด Kit Agdia (Agdia, Inc, Diagnostic Center in Elkhart County, Indiana, USA) เตรียม loading diagram สำหรับการทดสอบ coat capture antibody โดยการเจือจาง capture antibody ด้วย carbonate coating buffer (Agdia, Inc.) ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 เท่า (1x) ในอัตราส่วนตามที่ระบุข้างหลอด (ตามคำแนะนำของบริษัท) จากนั้นเติม capture antibody ที่เจือจางแล้วลงใน plate ELISA ปริมาณ 100 ไมโครลิตร บ่มในกล่องความชื้นที่ 37 °C นาน 4 ชม. จากนั้นล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้ง อย่างรวดเร็ว จากนั้นบดตัวอย่างใบข้าวโพดหวานด้วย general extract buffer ในอัตราส่วน 1:10 (weight:general extract buffer) และเติมตัวอย่างพืชที่เป็นโรค (positive control) และตัวควบคุมน้ำคั้นจากใบข้าวโพดหวานปกติ (negative control) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน plate ELISA บ่มในกล่องความชื้นที่ 37 °C นาน 2 ชม. จากนั้นล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้ง อย่างรวดเร็ว เตรียม enzyme conjugate โดยการเจือจางแล้วในปริมาตร 100 ไมโครลิตร ด้วย ECI buffer ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1 เท่า (1x) ในอัตราส่วนที่ระบุข้างหลอด โดยเตรียมก่อนใช้งานประมาณ 10 นาที จากนั้นจึงเติม enzyme conjugate ที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน plate ELISA บ่มในกล่องความชื้นที่ 37 °C นาน 2 ชม. แล้วล้าง plate ด้วย PBST buffer 4-8 ครั้ง อย่างรวดเร็ว ขั้นตอนต่อไปเติม PNP substrate buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุม plate ELISA บ่มในกล่องชื้นที่ 37 °C นาน 30-60 นาที ตรวจสอบผลการทดสอบโดยการดูสีเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ได้แก่ สารละลายบัฟเฟอร์ negative control และ positive control แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วย 3 M sodium hydroxide ปริมาตร 50

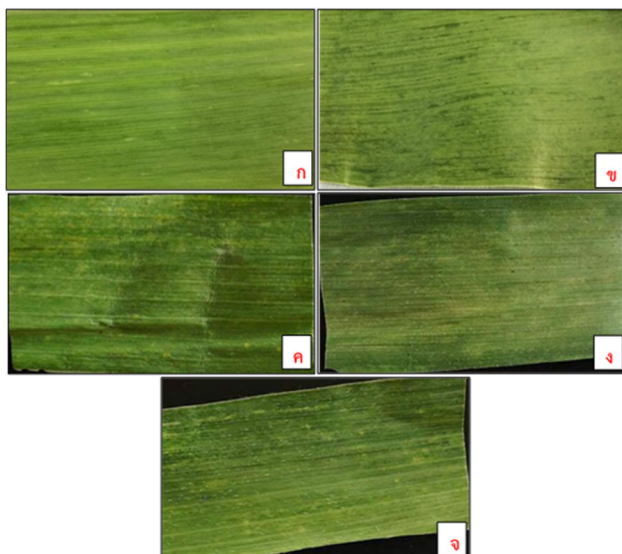
ไมโครลิตร ตรวจสอบผลของปฏิกิริยาด้วยการวัดค่าด้วยเครื่อง Multiskan go (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA.) ซึ่งจะอ่านค่าการดูดกลืนของแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร โดยค่า OD₄₀₅ ที่วัดได้ถือเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของไวรัส

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

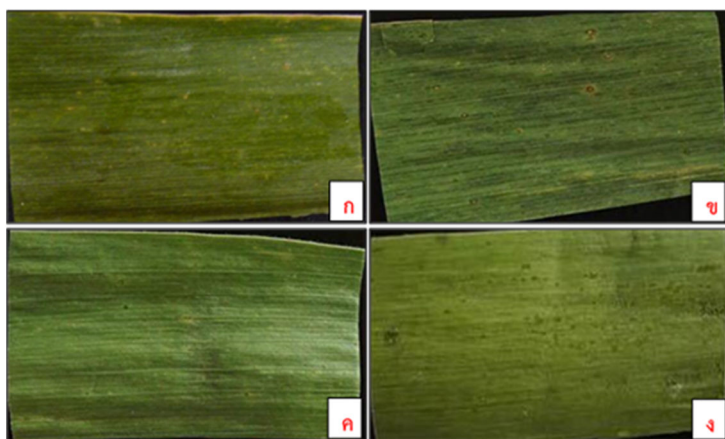
3.1 การสำรวจและศึกษาลักษณะอาการของโรค

การตรวจสอบโรคใบด่างซีดประ ใบด่างลาย และใบด่างแฉะในข้าวโพดหวานพันธุ์การค้าทั้งพันธุ์ Hibrix 3, พันธุ์อินทรี 2 และพันธุ์หวาน 54 ด้วยเทคนิคทางเซรัมวิทยา โดยใช้แอนติซีรัมที่จำเพาะต่อไวรัสทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV), *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) และ *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) ผลการตรวจสอบจากตัวอย่างใบข้าวโพดหวานจากแหล่งปลูกที่สำคัญของประเทศไทย จำนวน 124 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บใบข้าวโพดหวานที่มีลักษณะอาการคล้ายโรคไวรัสพบว่าตัวอย่างภาคกลางประกอบด้วยจังหวัดสระบุรี

อำเภอพระพุทธบาท จำนวน 3 ตัวอย่าง และอำเภอบ้านหมอ จำนวน 1 ตัวอย่าง พบว่ามีลักษณะอาการเป็นซีดประซีดบริเวณกลางใบในระยะแรกจะเกิดเป็นซีดซีดบริเวณโคนใบ ต่อมาจะลุกลามเป็นซีดทั่วทั้งใบ (รูปที่ 1ก) ส่วนจังหวัดลพบุรี อำเภอท่าหลวง จำนวน 6 ตัวอย่าง และอำเภอชัยบาดาล จำนวน 10 ตัวอย่าง ลักษณะอาการที่พบมีซีดประค่อนข้างซีดมากตามแนวความยาวของใบและจะค่อย ๆ ลุกลามทั่วบริเวณใบ (รูปที่ 1ข) และภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดราชบุรี อำเภอบึงสามพัน จำนวน 5 ตัวอย่าง ลักษณะอาการที่พบมีซีดประสีเหลืองซีดสลับกับเขียวเข้มและอ่อน (รูปที่ 1ค) จังหวัดนครปฐม อำเภอกำแพงแสน จำนวน 1 ตัวอย่าง และอำเภอเมือง จำนวน 4 ตัวอย่าง ลักษณะอาการที่พบมีซีดและจุดซีดเหลืองตามแนวใบและมีอาการต่าง (mottle) เป็นดวงซีดขาว (รูปที่ 1ง) และจังหวัดกาญจนบุรี อำเภอเมือง จำนวน 10 ตัวอย่าง อำเภอด่านมะขามเตี้ย จำนวน 3 ตัวอย่าง และอำเภอท่าม่วง จำนวน 7 ตัวอย่าง ลักษณะอาการที่พบมีซีดनुนซีดเหลืองตามโคนใบตลอดจนทั่วทั้งใบ (รูปที่ 1จ)



รูปที่ 1 ลักษณะอาการของไวรัสที่สำรวจพบในข้าวโพดหวานที่เก็บมาจากจังหวัดต่าง ๆ ได้แก่ (ก) สระบุรี (ข) ลพบุรี (ค) ราชบุรี (ง) นครปฐม และ (จ) กาญจนบุรี



รูปที่ 2 ลักษณะอาการของไวรัสที่
สำรวจพบในข้าวโพดหวาน
ที่เก็บมาจากจังหวัดต่าง ๆ
ได้แก่ (ก) นครราชสีมา (ข)
หนองคาย (ค) เชียงใหม่
และ (ง) เชียงราย

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด
นครราชสีมา อำเภอปากช่อง จำนวน 14 ตัวอย่าง
ลักษณะอาการที่พบใบค่อนข้างเหลืองและมีขีดขีดทั่ว
บริเวณใบมีจุดและมีอาการที่เป็นด่างแบบ mottle (รูป
ที่ 2ก) จังหวัดหนองคาย อำเภอเมือง จำนวน 10
ตัวอย่าง และอำเภอโพนพิสัย จำนวน 10 ตัวอย่าง
ลักษณะอาการที่พบบริเวณโคนใบมีขีดและเป็นจุดขีด
เหลืองบริเวณปลายใบมีอาการแห้งเกร็น (รูปที่ 2ข)
และภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอฝาง
จำนวน 2 ตัวอย่าง อำเภอสันทราย จำนวน 4 ตัวอย่าง
อำเภอเชียงดาว จำนวน 4 ตัวอย่าง และอำเภอแม่แตง
จำนวน 10 ตัวอย่าง ลักษณะอาการที่พบใบมีขีดประ
ขีดตามเส้นใบ มีอาการนูนที่ชัดเจน (รูปที่ 2ง) จังหวัด
เชียงราย อำเภอเมือง จำนวน 20 ตัวอย่าง ลักษณะที่
พบใบมีขีดเหลืองขีดทั่วบริเวณใบและมีอาการต่าง
(mottle) เป็นดวงขีด (รูปที่ 2ค)

3.2 การตรวจสอบโรคไวรัสในข้าวโพดหวาน ด้วยเทคนิค indirect enzyme-linked immune- sorbent assay (ELISA)

เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างใบข้าวโพดหวานที่แสดง
อาการคล้ายไวรัสมาตรวจสอบโรคด้วยเทคนิค
indirect enzyme-linked immunosorbent assay
(ELISA) โดยใช้แอนติซีรัมที่มีความจำเพาะต่อ SCMV,

MCMV และ MDMV ผลจากการตรวจสอบพบว่า
ตัวอย่างข้าวโพดหวานที่เก็บมาจากภูมิภาคต่าง ๆ ของ
ไทยเกิดจาก SCMV จำนวน 124 ตัวอย่าง MCMV
จำนวน 39 ตัวอย่าง และ MDMV จำนวน 124 ตัวอย่าง
ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

การตรวจสอบ *Sugarcane mosaic virus*
(SCMV) โดยนำค่า OD_{405} ที่อ่านผลจากเครื่อง ELISA
reader ของตัวอย่างทั้งหมดเปรียบเทียบกับค่า OD_{405}
ของ negative control (0.092) พบว่าตัวอย่างใบ
ข้าวโพดหวานจากภาคกลางพบ SCMV ทุกตัวอย่างคิด
เป็นร้อยละ 100 ได้แก่ จังหวัดสระบุรี มีค่า OD_{405} อยู่
ในช่วง 0.877-1.080 และจังหวัดลพบุรี มีค่า OD_{405}
อยู่ในช่วง 0.120-0.921 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างใบ
ข้าวโพดหวานจากภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดราชบุรี
มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.120-0.588 จังหวัดนครปฐม มี
ค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.107-0.235 และจังหวัด
กาญจนบุรี มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.111-0.354 จาก
ผลการตรวจสอบพบไวรัสทุกตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ
100 และทุกตัวอย่างจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและ
ภาคเหนือพบ SCMV คิดเป็นร้อยละ 100 โดยตัวอย่าง
จากจังหวัดนครราชสีมา มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.129-
0.394 จังหวัดหนองคาย มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.102-
0.784 จังหวัดเชียงใหม่ มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.121-

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบไวรัส *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV), *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) และ *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) จากตัวอย่างใบข้าวโพดหวานที่เก็บจากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทยด้วยวิธี indirect ELISA

ภูมิภาค/จังหวัดที่เก็บ ตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง ทั้งหมด	ผลการตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA (OD)		
		MCMV	SCMV	MDMV
ภาคกลาง				
จังหวัดสระบุรี	4	3 (0.238-0.403)	4 (0.877-1.080)	4 (0.142-0.230)
จังหวัดลพบุรี	16	10 (0.240-1.919)	16 (0.120-0.921)	16 (0.113-0.197)
ภาคตะวันตก				
จังหวัดราชบุรี	5	4 (0.738-1.465)	5 (0.120-0.588)	5 (0.587-0.119)
จังหวัดนครปฐม	5	3 (0.250-0.282)	5 (0.107-0.235)	5 (0.106-0.235)
จังหวัดกาญจนบุรี	20	19 (0.209-1.696)	20 (0.111-0.354)	20 (0.106-0.354)
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ				
จังหวัดนครราชสีมา	14	0 (0.098-0.179)	14 (0.129-0.394)	14 (0.110-0.130)
จังหวัดหนองคาย	20	0 (0.099-0.119)	20 (0.102-0.784)	20 (0.117-0.230)
ภาคเหนือ				
จังหวัดเชียงใหม่	20	0 (0.097-0.254)	20 (0.121-1.916)	20 (0.105-0.180)
จังหวัดเชียงราย	20	0 (0.098-0.130)	20 (0.217-0.611)	20 (0.120-0.190)
จำนวนรวม	124	39	124	124

1.916 และจังหวัดเชียงราย มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.217-0.611 ตามลำดับ

การตรวจสอบ *Maize chlorotic mosaic virus* (MCMV) พบว่าตัวอย่างใบข้าวโพดหวานจากภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดสระบุรี มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.238-0.403 ผลการตรวจสอบพบ MCMV จำนวน 3 ตัวอย่าง จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 75 ส่วนจังหวัดลพบุรี มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.24-1.919 พบ MCMV จำนวน 10 ตัวอย่าง จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 16 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 63 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างที่เก็บมาจากภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดราชบุรี มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.738-1.465 พบ MCMV จำนวน 4 ตัวอย่าง จากจำนวน

ตัวอย่างทั้งหมด 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 80 จังหวัดนครปฐม มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.250-0.282 พบ MCMV จำนวน 3 ตัวอย่าง จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 5 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 60 และจังหวัดกาญจนบุรี มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.209-1.696 พบ MCMV จำนวน 19 ตัวอย่าง จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 20 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 95 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา จังหวัดหนองคาย จังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงราย ผลการตรวจสอบไม่พบ MCMV

การตรวจสอบ *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) พบ MDMV กับตัวอย่างจำนวน 124 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 100 ซึ่งตัวอย่างจากภาคกลาง

ได้แก่ จังหวัดสระบุรี มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.142-0.230 และจังหวัดลพบุรี มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.113-0.197 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างจากภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดราชบุรี มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.119-0.587 จังหวัดนครปฐม มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.106-0.235 และจังหวัดกาญจนบุรี มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.106-0.354 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างจากภาคตะวันออก

เฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.110-0.130 และจังหวัดหนองคาย มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.117-0.230 ตามลำดับ และตัวอย่างจากภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.105-0.180 และจังหวัดเชียงราย มีค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.120-0.190 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของค่า OD_{405} จากผลการตรวจสอบด้วยเทคนิค indirect ELISA ของ *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV) และ *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV)

ภูมิภาค	จังหวัด	อำเภอ	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	Optical density (OD_{405})		
				MDMV	MCMV	SCMV
ภาคกลาง	สระบุรี	พระพุทธบาท	3	0.175	0.346	1.00
		บ้านหม้อ	1	0.230	0.160	0.867
	ลพบุรี	ท่าหลวง	6	0.150	0.847	0.187
		ชัยบาดาล	10	0.151	1.04	0.575
ภาคตะวันตก	ราชบุรี	จอมบึง	5	0.267	1.197	0.267
	นครปฐม	กำแพงแสน	1	0.106	0.135	0.107
		เมืองนครปฐม	4	0.146	0.420	0.147
	กาญจนบุรี	เมืองกาญจนบุรี	10	0.192	0.592	0.168
		ด่านมะขามเตี้ย	3	0.191	0.542	0.241
		ท่าม่วง	7	0.155	0.637	0.124
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	นครราชสีมา	ปากช่อง	14	0.120	0.180	0.512
	หนองคาย	เมืองหนองคาย	10	0.166	0.190	0.484
		โพนพิสัย	10	0.137	0.094	0.412
ภาคเหนือ	เชียงใหม่	ฝาง	2	0.149	0.197	0.870
		สันทราย	4	0.146	0.133	0.986
		เชียงดาว	4	0.154	0.230	0.838
		แม่แตง	10	0.130	0.254	0.516
	เชียงราย	เมืองเชียงราย	20	0.154	0.123	0.425
Negative control			-	0.102	0.279	0.097
จำนวนตัวอย่างที่เป็นโรค				124	39	124

การตรวจสอบไวรัสสาเหตุโรคแห้งตายในข้าวโพดหวานด้วยเทคนิค indirect ELISA จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 124 ตัวอย่าง ตรวจพบ SCMV MCMV และ MDMV ทำให้สามารถวิเคราะห์ได้ถึงการแพร่ระบาดของไวรัส เนื่องจากระดับความเข้มข้นของไวรัสในตัวอย่างที่อ่านได้จากค่า OD₄₀₅ นั้นแสดงให้เห็นถึงค่าความเข้มข้นของปริมาณไวรัสที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับพีซปกติ (negative control) (ตารางที่ 2) ซึ่ง SCMV และ MDMV สาเหตุของโรคใบด่างลายและใบด่างแฉะมีการระบาดมากที่สุดและพบในทุกกลุ่มตัวอย่างจากทุกภูมิภาคที่สำรวจ โดย SCMV และ MDMV นั้นจัดอยู่ในจีนัส (genus) *Potyvirus* และแฟมิลี (family) *Potyviridae* ที่เป็น subgroup เดียวกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ เอื้อมขวัญ และคณะ [13] พบการแพร่ระบาดของโรคใบด่างลายและใบด่างแฉะในแหล่งปลูกข้าวโพดหลายพื้นที่ ซึ่งในเบื้องต้นมีสาเหตุจากไวรัส SCMV ชนิดที่มีความใกล้ชิดกับ MDMV-B ปัจจุบัน International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) ได้กำหนดให้ใช้ชื่อ *Sugarcane mosaic virus strain MDB* (SCMCV-MDB) แทน MDMV-B หากเข้าทำลายพร้อมกันทั้ง 2 ชนิด จะก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรงกับข้าวโพดและถ้าพื้นที่ใดพบ MCMV ร่วมด้วยก็จะยิ่งเพิ่มความรุนแรงของโรค ซึ่งจะส่งผลต่อการเข้าทำลายและการแพร่ระบาดมากยิ่งขึ้น จากการศึกษาของ วาสนา และคณะ [15] พบว่าข้าวโพดหวานสายพันธุ์ Hibirix 3 และพันธุ์อินทรี 2 มีการเข้าทำลายร่วมกันของ MCMV และ SCMV ลักษณะอาการของโรคจะมีความคล้ายคลึงกันมากโดยพบลักษณะอาการต่างประและต่างลายร่วมกับอาการเหลือง อาการใบไหม้ที่ปลายใบ ขอบใบและเนื้อใบข้าวโพดจะแห้งตายปรากฏเด่นชัด ซึ่งข้าวโพดหวานทั้ง 2 สายพันธุ์ จะมีความอ่อนแอต่อโรค นอกจากนี้หากพบการเข้าทำลายของ MCMV ร่วมกับไวรัสในกลุ่ม

Potyviridae ในลักษณะปฏิสัมพันธ์ร่วมกันของเชื้อ (synergistic reaction) เช่น การเข้าทำลายของ MCMV ร่วมกับ MDMV หรือร่วมกับ *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) [16-18] ส่งผลให้ข้าวโพดแสดงอาการของโรครุนแรงมากกว่าการถูกเข้าทำลายของเชื้อชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงเชื้อเดียว สาเหตุการระบาดของไวรัสในข้าวโพดหวานส่วนใหญ่เกิดจากไวรัส 2 ชนิด คือ SCMV และ MCMV เข้าทำลายร่วมกัน [11] นอกจากนี้ SCMV และ MCMV ยังเป็นปัญหาต่อข้าวโพดที่ปลูกในประเทศเอธิโอเปีย [19] จากผลการศึกษาครั้งนี้พบ SCMV และ MDMV จากตัวอย่างข้าวโพดหวานภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ เนื่องด้วย SCMV และ MDMV จัดอยู่ใน family *Potyviridae* เดียวกันดังนั้นเมื่อเข้าทำลายส่วนใหญ่จะพร้อมกันและก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรงมากกว่าการเข้าทำลายจากไวรัสเพียงชนิดเดียว โดยพบไวรัสทั้งสองชนิดคิดเป็นร้อยละ 100 จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด และ MCMV พบในตัวอย่างจากภาคกลางและภาคตะวันตกเท่านั้น ส่วนตัวอย่างจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือไม่พบ MCMV

จากข้อมูลดังกล่าวสามารถใช้เป็นแนวทางในการป้องกันโรคที่เกิดจากไวรัสในข้าวโพดหวาน รวมถึงการควบคุมการแพร่ระบาดของไวรัสโดยอาศัยแมลงพาหะ และการนำเมล็ดพันธุ์จากพื้นที่ปลูกดังกล่าวไปขยายพันธุ์ เพื่อลดการแพร่ระบาดของโรคไปยังแหล่งปลูกอื่นของประเทศไทย ทั้งนี้เกษตรกรผู้ปลูกควรตระหนักถึงความรุนแรงของไวรัสที่เข้าทำลายเนื่องจากส่งผลเสียหายต่อผลผลิตข้าวโพดหวานที่ปลูกเพื่อการค้าและการส่งออก จึงจำเป็นต้องควบคุมและมีการจัด zoning ให้รู้ว่าในพื้นที่ใดที่พบการแพร่ระบาด และพื้นที่ใดที่ยังไม่พบการแพร่ระบาดของไวรัสดังกล่าว เพื่อการป้องกันพื้นที่ปลูกข้าวโพดหวานที่ยัง

ปลอดโรคและปราศจากไวรัสต่อไป

4. สรุป

การตรวจสอบไวรัสในข้าวโพดหวานพันธุ์การค้าจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Hibrix 3 , พันธุ์ อินทรีย์ 2 และพันธุ์หวาน 54 ในพื้นที่ปลูกที่สำคัญของประเทศไทย จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 124 ตัวอย่าง ประกอบด้วยตัวอย่างจากภาคกลางจำนวน 20 ตัวอย่าง ภาคตะวันตก จำนวน 30 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 34 ตัวอย่าง และภาคเหนือ จำนวน 40 ตัวอย่าง พบไวรัสจำนวน 3 ชนิด คือ SCMV สาเหตุโรคใบด่างลาย MDMV สาเหตุโรคใบด่างแฉะ และ MCMV สาเหตุโรคใบด่างขีดประ ผลการตรวจสอบพบ SCMV กับทุกตัวอย่างข้าวโพดหวานที่เก็บมาจากทุกภูมิภาคและทุกจังหวัดของพื้นที่สำรวจ มีค่าเฉลี่ยของ OD_{405} อยู่ในช่วง 0.107-1.00 ซึ่งตัวอย่างมีความเข้มข้นของปริมาณไวรัส และพบ MDMV ทุกตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยของ OD_{405} อยู่ในช่วง 0.106-0.267 ส่วน MCMV พบเพียงตัวอย่างข้าวโพดหวานจากภาคกลางและภาคตะวันตกเท่านั้นมีค่าเฉลี่ยของค่า OD_{405} อยู่ในช่วง 0.346-1.197 ตามลำดับ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างข้าวโพดหวานจากภาคกลางและภาคตะวันตกมีการระบาดของไวรัสที่รุนแรงมากกว่าทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ เนื่องจากมีการเข้าทำลายร่วมกันของ SCMV และ MCMV ดังนั้นควรหลีกเลี่ยงการนำเมล็ดพันธุ์ในพื้นที่ดังกล่าวไปขยายพันธุ์ เนื่องจาก MCMV สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดและควรป้องกันการแพร่ระบาดของไวรัสไปยังแปลงปลูกข้าวโพดหวานแหล่งอื่นของประเทศต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรค

พืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือทางด้านเครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ อีกทั้งเจ้าหน้าที่ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

6. รายการอ้างอิง

- [1] Makone, S.M., Menge, D. and Basweti, E., 2014, Impact of maize lethal necrosis disease on maize yield: A case of Kisii, Kenya, *Int. J. Agric. Ext.* 2(3): 211-218.
- [2] Brewbaker, N.S.J. and Hu, J., 2011, *Maize chlorotic mottle virus*, *Plant Dis.* 79: 1-6.
- [3] Nault, L.R., Styer, W.E., Coffey, M.E., Gordon, D.T., Negi, L.S. and Niblett, C.L., 1978, Transmission of *Maize chlorotic mottle virus* by Chrysomelid beetles, *Phytopathology* 68: 1071-1074.
- [4] Wangai, A.W., Redinbaugh, M.G., Kinyua, Z.M., Miano, D.W., Leley, P.K., Kasina, M., Mahuku, G., Scheets, K. and Jeffers, D., 2012, First report of *maize chlorotic mottle virus* and maize lethal necrosis disease in Kenya, *Plant Dis.* 96: 1582-1583.
- [5] Adams, I.P., Maino, D.W., Kinyua, Z.M., Wangai, A., Kimani, E., Phiri, N., Reeder, R., Harju, V., Glover, R., Hany, U., Souza-Richards, R., DebNath, P., Nixon, T., Fox, A., Barnes, A., Smith, J., Skelton, A., Thwaites, R., Mumford, R. and Boonham, N., 2013, Use of next-generation sequencing for the identification and characterization of *maize chlorotic mottle virus* and *sugarcane mosaic virus* causing maize

- lethal necrosis disease in Kenya, Plant Pathol. 62: 741-749.
- [6] Xie, L., Zhang, Q., Wang, C., Meng, J. Hong. and Zhou, X., 2011, Characterization of *maize chlorotic mottle virus* associated with maize lethal necrosis disease in China, J. Phytopath. 159: 191-193.
- [7] Doupnik, B.Jr., 1979, Status of corn lethal necrosis (virus disease in the United States)-1979 update, Proc. Annu. Corn Sorghum Res. Conf. 34: 16-24.
- [8] Neblett, C.L. and Claflin, L.E., 1978, Corn lethal necrosis-A new virus disease of corn in Kansas, Plant Dis. Rept. 62: 15-19.
- [9] Uyemoto, J.K., Bockelman, D.L. and Claflin, L.E., 1980, Severe outbreak of corn lethal necrosis disease in Kansas, Plant Dis. 64: 99-100.
- [10] Zhang, J.L., Li, H.Y. and Liang, H., 2011, Quarantine pest of *maize chlorotic mottle virus* was intercepted for the first time from imported maize seeds mailed from Germany in Heilongjiang port, Plant Quarantine 25: 85 p.
- [11] Shen, J.G., Zhen, L., Wang, N.W., Yu, Z., Li, M., Lian, D.F. and Lin, W.Y., 2011, *Maize chlorotic mottle virus* and *maize dwarf mosaic virus* were intercepted for the first time in Fujian port, Plant Quarantine 25: 95 p.
- [12] พิสสุวรรณ เจริญสมบัติ, สุดฤดี ประเทืองวงศ์, วิบูลย์ จงรัตน์เมธิกุล, สุจินต์ ภัทรภูวดล และ ประชุม จุฑาวรรณนะ, 2550, การจัดการโรคไวรัสใบด่างลาย (SCMV) ไวรัสใบด่างจุดประเหลือง (MCMV) โรคเหี่ยวและโรคลำต้นเน่าแบคทีเรียของข้าวโพดหวานและแมลงพาหะที่สำคัญ, ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม, 100 น.
- [13] เอี่ยมขวัญ จันเต็ม, คณินนิตย์ เจริญวรกร, สนธิชัย จันทรเปรม และสุภาพร กลิ่นคง, 2547, การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัสใบด่างแคระจากข้าวโพดในประเทศไทย, ว.วิทยาศาสตร์เกษตร 35: 131-138.
- [14] Clark, M.F. and Adams, A.N., 1977, Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses, J. Gen. Virol. 34: 475-483.
- [15] วาสนา รุ่งสว่าง, คณินนิตย์ เจริญวรกร, สุภาพร กลิ่นคง และสุจินต์ ภัทรภูวดล, 2558, การศึกษาโรคแห้งตายในข้าวโพดหวาน, ว.วิชาการเกษตร. 33(1): 42-58.
- [16] Wu, J.X., Wang, Q., Liu, H., Qian, Y., Xie, Y. and Zhou, X.P., 2013, Monoclonal antibody-based serological methods for *maize chlorotic mottle virus* detection in China, J. Zhejiang Univ. Sci. B Jul. 14: 555-562.
- [17] Scheets, K., 1998, *Maize chlorotic mottle machlomovirus* and *wheat streak mosaic rymovirus* concentrations increase in the synergistic disease corn lethal necrosis, Virology 242: 28-38.
- [18] Foster, D.J., 1984, An assessment of methods for quantification of genetic

- resistance to corn lethal necrosis (CLN) in maize (*Zea mays* L.), University Microfilms International, The University of Nebraska, Lincoln.
- [19] Fentahum, M., Feyissa, T., Abraham, A. and Kwak, Hae Ryun., 2016, Detection and characterization of *maize chlorotic mottle virus* and *sugarcane mosaic virus* associated with maize lethal necrosis disease in Ethiopia: an emerging threat to maize production in the region, Eur. J. Plant Pathol. DOI 10.1007/s10658-017-1229-2.