รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์อ้อยเพื่ออุตสาหกรรมน้ำตาล

2. โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์อ้อยสำหรับเขตดินทราย ทรายร่วน และร่วนทราย สภาพน้ำฝน

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเพื่อการขยายและกระจายพันธุ์

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) ศึกษารูปแบบการกลับมาติดเชื้อสาเหตุโรคใบขาว

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Study on renewed infectious white leaf disease patterns

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง :	นายธีรวุฒิ วงศ์วรัตน์	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
ผู้ร่วมงาน :	นายภาคภูมิ ถิ่นคำ	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น
	นางสาวมัทนา วานิชย์	ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

5. บทคัดย่อ

โรคใบขาวอ้อย (sugarcane white leaf disease) เกิดจากต้นอ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมา การแพร่กระจายโรคมีสาเหตุหลัก คือ ท่อนพันธุ์ที่ติดเชื้อ และแมลงพาหะ ดังนั้นการลดความรุนแรงของโรควิธีการหนึ่งคือการใช้ท่อนพันธุ์สะอาดที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมามาเป็นต้นกล้าอ้อย จากการทดลองนี้ได้ทำการปลูกอ้อยด้วยท่อนพันธุ์สะอาดที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาในแปลงทดลอง และทำการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาอีกครั้งเมื่อต้นอายุมี 8-9 เดือน พบว่า ตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวอย่างจากแปลงบ้านโนนลาน และแปลงบ้านม่วงโป้ อ. เมือง จ. ขอนแก่น ซึ่งเป็นแปลงที่อยู่ภายนอกศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่นร้อยละ 30 นอกจากนี้ยังพบว่าอีกว่ามีเจอเฉพาะเพลี้ยจักจั่นปีกลายจุดสีน้ำตาลเท่านั้น โดนมีผลรวมช่วงเดือนพฤษภาคมถึงสิงหาคมของบ้านโนนลานและม่วงโป้งนับจำนวนได้ 81 และ 82 ตัว ตามลำดับ โดยพบมากที่สุดคือต้นเดือนกรกฎาคม จำนวน 34 และ 36 ตัว ในขณะที่แปลงในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ตรวจพบการติดเชื้อไฟโตพลาสมาร้อยละ 10-12 และนับจำนวนเพลี้ยจักจั่นเพลี้ยได้ 0-3 ตัว ต้นอ้อยที่ตรวจพบการติดเชื้อไฟโตพลาสมาในแปลงทดลองมีรูปแบบการกลับมาติดเชื้อกระจายทั่วแปลง เนื่องจากการทดลองนี้เป็นแปลงขนาดเล็กทำให้แมลงกระจายทั่วทั้งแปลง ต้นที่พบเชื้อไฟโตพลาสมาจึงมีรูปแบบการกลับมาติดเชื้อในลักษณะการกระจายทั่วแปลงเหมือนการกระจายตัวของแมลง

6. คำนำ

การใช้ท่อนพันธุ์ที่สะอาดซึ่งตรวจไม่พบการติดเชื้อไฟโตพลาสมาชนิดที่เป็นสาเหตุโรคใบขาวอ้อย (sugarcane white leaf disease) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยลดการกระจายเชื้อไฟโตพลาสมา และยังได้ต้นที่แข็งแรงมีโอกาสที่จะไม่มีการแสดงอาการใบขาวได้ แต่อย่างไรก็ตามยังมีอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้เกิดการติดเชื้อไฟโตพลาสมานั้นคือ แมลงพาหะซึ่งที่สามารถถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาได้มี 2 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยจักจั่นปีกลายจุดสีน้ำตาล (*Matsumuratettix hiroglyphicus*; Matsumura) และ เพลี้ยจักจั่นหลังขาว (*Yamatotettix flavovittatus*; Yamato) (Matsumoto *et al*., 1969) เชื้อไฟโตพลาสมาสามารถถ่ายทอดผ่านเพลี้ยตัวแม่ไปยังไข่ได้ เป็นรุ่น

ต่อๆ ไป (ยุพา, 2548) เมื่อเชื้อเข้าสู่ต้นอ้อยแล้วจะเพิ่มจำนวนไปพร้อมๆ กับการเจริญเติบโตของอ้อย ดังนั้นแม้จะเริ่มต้นการปลูกอ้อยด้วยท่อนพันธุ์สะอาดแล้วก็ตาม ต้นอ้อยก็อาจจะกลับมาติดเชื้อใหม่ได้ และยังทำให้อ้อยที่ติดเชื้อแสดงอาการใบขาวได้เมื่ออยู่ในภาวะเครียด

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล้าอ้อยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพันธุ์ขอนแก่น3
2. ปุ๋ยเคมี
3. ชุดสกัดดีเอ็นเอลและสารเคมีเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ
4. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
5. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม
6. เครื่องตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์

วิธีดำเนินการ

ขั้นตอนที่ 1 การตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค nested-PCR

1.1 การเตรียมต้นกล้าโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

คัดเลือกต้นอ้อยขอนแก่น3 อายุปลูกประมาณ 8-10 เดือน นำมาตัดเป็นข้อข้อละ 1 ตา นำไปแช่น้ำร้อน 50°C นาน 2 ชั่วโมง นำมาวางเรียงในกระบะทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปิดฝากระบะเพื่อป้องกันน้ำระเหย เมื่ออ้อยงอกเป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ ตัดกล้าอ้อยที่เพาะไว้ในข้อ 1 ให้ชิดท่อนพันธุ์ นำไปล้างน้ำให้สะอาด ตัดเอาส่วนต้นยาวประมาณ 5 เซนติเมตรจากโคน ล้างด้วยน้ำยางล้างจาน 2 ครั้งแล้วล้างน้ำจนสะอาด แช่แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที นำไปล้างด้วยคลอรอกซ์ 38 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 8 นาที โดยเขย่าตลอดเวลาที่ทำการล้าง เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อโรคที่ติดมากับต้นอ้อย หลังจากนั้นจึงล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 ครั้ง แช่ต้นอ้อยในขวดน้ำกลั่นนำไปเข้าตู้ปลอดเชื้อ เพื่อตัดเอาเนื้อเยื่อยอดอ่อน การตัดเนื้อเยื่อยอดอ่อนทำได้โดย ลอกเปลือกหน่ออ้อยแต่ละต้นออกจนถึงยอดอ่อน (meristem) ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปโดม ตัดเอาชิ้นส่วนดังกล่าวให้ได้ชิ้นเล็กที่สุดประมาณ 0.3-0.5 มิลลิเมตร นำเนื้อเยื่อที่ตัดได้มาเลี้ยงในอาหารสูตรอาหารตามกระบวนการผลิตพันธุ์อ้อยปลอดโรคใบขาวตามวิธีการของ นิลุบลและคณะ (2553)

1.2 การสกัดดีเอ็นเอ

เมื่อได้ต้นกล้าอ้อยมาแล้ว เก็บตัวอย่างอ้อยทุกต้น ตามหมายเลขที่ติดป้ายกำกับไว้ทุกต้น เพื่อง่ายต่อการติดตามผลและการวางผังแปลง เก็บเส้นกลางใบอ้อยจากใบบนสุดที่ปรากฏคอใบ (the top visible dewlap leaf) มาสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของชุดสกัดดีเอ็นเอ Phire Plant Direct PCR Master Mix (Thermoscientific, USA) ดังนี้ ตัดเส้นกลางใบเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 1X1 mm ใส่ลงในโกร่ง เติม Dilution Buffer 20 µl น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 20 µl บดให้ละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกัน ตูดสารละลายใส่ลงในหลอด

ทดลองขนาด 1.5 ml นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที ดูดส่วนใสหรือสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้ใส่หลอดทดลองใหม่ ขนาด 1.5 ml เก็บรักษาในช่องแช่แข็ง

1.3 การตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค nested-PCR

นำสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเป็นสารพันธุกรรมต้นแบบในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR) เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค nested-PCR ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้นตอนแรก (direct PCR) ใช้ไพรเมอร์ชุด MLO-X / MLO-Y ซึ่งเป็นไพรเมอร์ที่ออกแบบมาจากบริเวณ 16S rDNA เป็นบริเวณที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เรียงตัวกันในรูปแบบตำแหน่งอนุรักษ์ทางพันธุกรรม การทำปฏิกิริยาในหลอดทดลองมีปริมาตรสุทธิ 15 µl ประกอบด้วย 1X Phire Plant Direct PCR Master Mix, Primer mixed, DNA template dilution 1 µl โปรแกรมการทำปฏิกิริยา PCR ดังนี้ denature 95°C นาน 1 นาที annealing 55°C นาน 30 วินาที extension 72°C นาน 1 นาที จำนวน 35 รอบ เมื่อเสร็จสิ้นแล้วนำผลผลิต PCR ที่ได้มาเจือจางอัตราส่วน 1:100 และใช้เป็นสารพันธุกรรมต้นแบบใน ขั้นตอนที่สอง ขั้นตอนที่สอง (nested-PCR) ใช้ไพรเมอร์ชุด P1 / P2 ที่ออกแบบมาจากบริเวณ 16S-23S rDNA intergenic spacer region ซึ่งมีความจำเพาะกับเชื้อไฟโตพลาสมา ปริมาตรสุทธิ 15 µl ประกอบด้วย 1X buffer, 1.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTP, 0.5 µM ของแต่ละไพรเมอร์, 0.1 U *Taq* polymerase (Fermentas, EU) และ DNA template 3 µl โปรแกรมการทำปฏิกิริยา PCR ดังนี้ denature 95°C นาน 1 นาที annealing 55°C นาน 30 วินาที extension 72°C นาน 1 นาที จำนวน 35 รอบ นำผลผลิต PCR จากขั้นตอนนี้ไปตรวจสอบผลด้วยวิธี agarose gel electrophoresis และตรวจสอบผลที่ได้ด้วยภายใต้แสง Blue light บันทึกผลด้วยภาพถ่ายดิจิตอล

Table 1 Oligonucleotide of primer sets (ยุพา และคณะ, 2548)

Primer name	Oligonucleotide
MLO-X	GTT AGG TTA AGT CCT AAA ACG AGC
MLO-Y	GTG CCA AGG CAT CCA CTG TAT GCC
P1	GTC GTC ACA AGG TAT CCC TAC CGG
P2	GGT GGG CCT AAA TGG ACT TGA ACC

ขั้นตอนที่ 2 การเตรียมแปลงทดลอง

อนุบาลต้นกล้าอ้อยเฉพาะต้นที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมา ติดป้ายต้นกล้าทุกต้น สำหรับการติดตามผลการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมา ต้นกล้าอ้อยถูกนำลงในถุงดำประมาณ 3-4 สัปดาห์ จากนั้นย้ายลงปลูกในแปลงทดลอง แปลงละ 100 ต้น โดยใช้ระยะปลูก 1.30 x 0.60 เมตร หลุมละ 1 ต้น ตามแบบผังแปลงที่เตรียมไว้

ปี 2561 แปลงศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น จำนวน 1 แปลง

ปี 2562 แปลงบ้านโนนลาน แปลงบ้านม่วงโป้ อ. เมือง จ. ขอนแก่น บ้านละ 1 แปลง แปลงศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น 2 แปลง รวมเป็น 4 แปลง

ให้น้ำทุก 2 สัปดาห์จนต้นกล้าตั้งตัวได้ และมีการให้น้ำเสริมเมื่อฝนทิ้งช่วง ทำการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน

ขั้นตอนที่ 3 ติดตามอ้อยที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาในแปลงทดลองและรูปแบบการกลับมาติดเชื้อ

3.1 ตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อย

เมื่ออ้อยอายุ 8-9 เดือน เก็บเส้นกลางใบอ้อยจากใบบนสุดที่ปรากฏคอใบ (the top visible dewlap leaf) มาสกัดดีเอ็นเอ ตามวิธีการขั้นตอนที่ 2 บันทึกต้นที่ตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมา ลงในแผนผังแปลงทดลอง

3.2 การเก็บแมลงพาหะ

ทำการติดตั้งกับดักกาวเหนียวแมลงกระจายตามร่องแปลงทั่วทั้งแปลง แปลงละ 25 จุด เก็บและเปลี่ยนกับดักกาวเหนียวทุก 2 สัปดาห์ ตรวจสอบชนิดและปริมาณของเพลี้ยจักจั่นปีกลายจุดสีน้ำตาล และเพลี้ยจักจั่นหลังขาว

- เวลาและสถานที่ เริ่มต้น 2560-สิ้นสุด 2562

สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

ไร่เกษตรกร บ้านโนนลาน อ. เมือง จ. ขอนแก่น

ไร่เกษตรกร บ้านม่วงโป้ อ.เมือง จ.ขอนแก่น

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการตรวจหาปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาจากต้นกล้าอ้อยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาจากตัวอย่างอ้อยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระยะก่อนนำลงอนุบาล จำนวน 700 ต้นกล้า พบว่า ปี 2561 และ 2562 สามารถคัดเลือกเฉพาะต้นกล้าที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาได้ปีละ 500 ต้นกล้า ติดหมายเลขต้นกล้าทุกต้นก่อนนำลงไปอนุบาลในถุงดำ ในปีงบประมาณ 2561 ได้ต้นกล้าอ้อยที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพาสมาจำนวน 500 ต้น ลงอนุบาลแต่ช่วงอนุบาลต้นกล้ามีปริมาณฝนตกมาก ความชื้นสูง อุณหภูมิสูง ทำให้เชื้อราจึงระบาดเข้าทำลายต้นกล้าอ้อยจนเกิดความเสียหายจำนวนมาก หลังจากการดูแลรักษาเหลือต้นกล้า 100 ต้น นำมาปลูกในแปลงศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ในขณะที่ปี 2562 ได้ต้นกล้าอ้อยทีตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาจำนวน 500 ต้น พร้อมติดป้ายหมายเลขทุกต้นถูกอนุบาลในถุงดำจนมีการเพิ่มขยายของรากแล้วจึงนำลงแปลงในแปลงแปลงละ 400 ต้นดังนี้ ไร่เกษตรกร แปลงบ้านโนนลาน และ แปลงบ้านม่วงโป้ อ. เมือง จ. ขอนแก่น บ้านละ 1 แปลง แปลงศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น 2 แปลง

ผลการติดตามอ้อยที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาในแปลงทดลองและรูปแบบการกลับมาติดเชื้อ

แปลงศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ปี 2561 ดำเนินการปลูกอ้อยที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสา เมื่อวันที่ 10 กรกฎาคม 2561 จำนวน 100 ต้น ต้นอ้อยเจริญเติบโตได้ปกติ ไม่มีต้นที่แสดงอาการใบขาวในแปลงทดลอง เก็บเส้นกลางใบไปสกัดดีเอ็นเอเพื่อเป็นสารพันธุกรรมต้นแบบในการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทตนิค nested-

PCR พบว่า ตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาจำนวน 12 ต้น ตำแหน่งที่ตรวจพบการติดเชื้อไฟโตพลาสมามีรูปแบบกระจายทั่วแปลงทดลอง (Figure 1A) ปี 2562 ดำเนินการปลูกอ้อยที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสา เมื่อวันที่ 10 มกราคม 2562 จำนวน 2 แปลง แปลงละ 100 ต้น ทั้งสองแปลง ต้นอ้อยเจริญเติบโตได้ปกติ ไม่พบต้นที่แสดงอาการใบขาว เก็บเส้นกลางใบไปสกัดดีเอ็นเอและนำไปเป็นสารพันธุกรรมต้นแบบตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมา พบว่าทั้งสองแปลงเดียวตรวจพบการติดเชื้อไฟโตพลาสมาจำนวน 10 และ 12 ตัวอย่าง (Figure 1B และ 1C) ตำแหน่งที่ตรวจพบการติดเชื้อไฟโตพลาสมามีรูปแบบกระจายทั่วแปลงทดลอง

แปลงบ้านโนนลาน ปี 2562 ดำเนินการปลูกอ้อยที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสา เมื่อวันที่ 21 มกราคม 2561 จำนวน 100 ต้น ต้น ต้นอ้อยเจริญเติบโตได้ปกติ เก็บเส้นกลางใบไปสกัดดีเอ็นเอเพื่อเป็นสารพันธุกรรมต้นแบบในการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทตนิค nested-PCR พบว่า ตรวจพบการติดเชื้อไฟโตพลาสมา 30 ตัวอย่าง ตำแหน่งที่ตรวจพบการติดเชื้อไฟโตพลาสมามีรูปแบบกระจายทั่วแปลงทดลอง แต่ยังไม่มีต้นที่แสดงอาการใบขาวในแปลงทดลอง (Figure 1D)

แปลงบ้านม่วงโป้ ปี 2562 ดำเนินการปลูกอ้อยที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสา เมื่อวันที่ 22 มกราคม 2561 จำนวน 100 ต้น ต้น ต้นอ้อยเจริญเติบโตได้ปกติ เก็บเส้นกลางใบไปสกัดดีเอ็นเอเพื่อเป็นสารพันธุกรรมต้นแบบในการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทตนิค nested-PCR พบว่า ตรวจพบการติดเชื้อไฟโตพลาสมา 30 ตัวอย่าง ตำแหน่งที่ตรวจพบการติดเชื้อไฟโตพลาสมามีรูปแบบกระจายทั่วแปลงทดลอง แต่ยังไม่มีต้นที่แสดงอาการใบขาวในแปลงทดลอง (Figure 1E)

1	5	48	71	94
2	6	49	73	95
3	24	50	74	96
4	25	51	75	97
9	26	53	76	98
10	29	55	78	99
11	30	56	79	100
12	31	57	80	
13	32	58	81	
14	34	60	82	
15	35	61	83	
16	36	62	84	
17	38	63	85	
19	40	64	86	
20	41	65	88	
21	42	66	89	
22	43	67	90	
23	44	68	91	
33	45	69	92	

A) Khon Kaen Field Crops Research Center (KKFCRC) field, 2018

223	224	244	245	265	266	287	288	311	312
222	225	243	246	264	267	286	289	310	313
221	226	242	247	262	268	285	290	309	314
220	227	241	248	261	269	284	291	307	315
219	228	240	249	260	270	283	292	306	316
218	229	239	250	259	271	282	293	305	317
217	230	238	251	258	272	281	294	303	318
216	232	237	252	257	274	280	295	301	319
215	233	236	253	256	275	278	296	300	321
214	234	235	254	255	276	277	298	299	322

B) KKFCRC-1 field, 2019

334	335	354	355	375	376	397	398	418	419
333	336	353	356	374	377	396	399	417	420
332	337	352	357	373	378	395	400	416	421
331	338	351	358	372	379	394	401	415	422
330	339	350	359	371	382	393	402	414	423
329	340	349	360	370	383	392	403	413	424
328	341	348	361	369	384	391	404	412	425
327	342	347	362	368	385	390	405	411	426
326	343	346	364	367	386	389	406	410	427
325	344	345	365	366	387	388	407	408	428

C) KKFCRC-2 field, 2019

119	120	140	430	440	434	438	439	203	456
118	121	139	429	460	458	180	183	202	205
117	122	138	143	471	164	442	184	201	206
116	452	137	144	470	462	463	185	200	207
115	445	450	146	441	437	443	186	199	208
435	126	444	469	461	448	467	187	196	209
113	447	134	148	155	467	175	188	195	210
433	466	133	149	154	169	174	189	194	211
453	129	454	150	472	170	173	190	193	212
110	130	432	151	468	171	172	191	192	213

D) Baan Nonelan field, 2019

11	13	37	38	57	58	79	80	99	100
10	16	36	39	56	59	78	81	98	101
8	17	35	40	55	60	77	82	97	102
7	18	34	41	54	61	76	83	96	103
6	20	33	42	53	62	75	84	95	104
5	21	32	43	52	63	74	85	94	105
4	22	31	44	51	64	73	86	93	106
3	23	30	45	50	65	72	87	92	107
2	24	29	46	49	67	70	88	91	108
1	25	27	47	48	68	69	89	90	109

E) Baan Mongpo field, 2019

Figure 1 layout and position of phytoplasma infection of sugarcane (orang highlights), A) Khon Kaen Field Crops Research Center (KKFCRC) field 2018 B) KKFCRC-1 field 2019 C) KKFCRC-2 field 2019 D) Baan Nonelan field, 2019 E) Baan Mongpo field, 2019

การผลการติดตามและการตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในต้นอ้อยที่ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาก่อนลงปลูกในแปลง พบว่า เมื่ออ้อยอายุ 8-9 เดือน มีต้นอ้อยที่ตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาในแปลงทดลอง โดยพบมากที่สุดจากแปลงที่อยู่ภายนอกศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น และเมื่อ ทำการตรวจสอบแมลงที่ติดกับดักกาว พบว่า มีเฉพาะเพลี้ยจักจั่นปีกลายจุดสีน้ำตาลเท่านั้นในทุกแปลง ผลรวมทั้ง 8 สัปดาห์ของเพลี้ยจักจั่นปีกลายจุดสีน้ำตาลพบที่แปลงบ้านโนนลานและบ้านม่วงโป้มากที่สุด 82 และ 81 ตัว ตามลำดับ (Figure 2) โดยพบมากที่สุดในต้นเดือนกรกฎาคม 2562 จำนวน 34 และ 36 ตัว ตามลำดับ แปลงทดลองภายในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่นพบเพียง 0-3 ตัว เห็นได้ว่าแปลงภายนอกทั้งสองแปลงมีจำนวนตัวอย่างที่ติดเชื้อไฟโตพลาสมาและจำนวนมากแมลงมากกว่าแปลงภายในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ซึ่งจำนวน ลักษณะการกัดกิน และรูปแบบการกระจายของแมลงพาหะ มีผลนำไปสู่ระดับความรุนแรงของโรค (Oliver *et al*., 2017) การเพิ่มจำนวนและการแพร่กระจายเชื้อไฟโตพลาสมาภายในต้นอ้อยจะเพิ่มขึ้น 1-2 เท่า ทุกสัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ และเพิ่มจำนวนสูงสุดเมื่ออายุ 6-9 เดือน (Roddee *et al*., 2017)

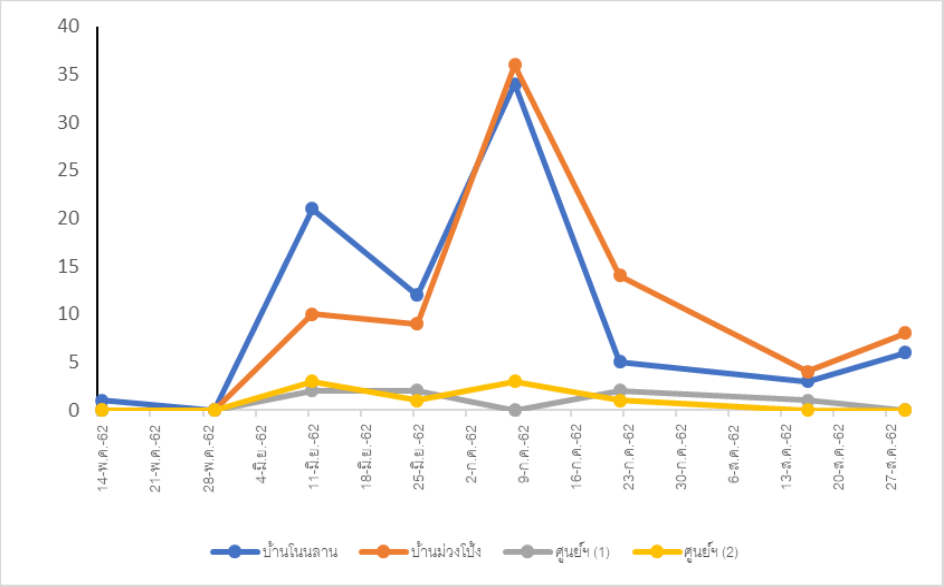

Figure 2 Number of *Matsumuratettix hiroglyphicus*; Matsumura in yellow sticky traps at Baan Nonlane field (blue line), Baan Nonlane field (orang line), KKFCRC-1 field (gray line), and KKFCRC-2 field (yellow line)

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการติดตามต้นกล้าอ้อยที่ไม่พบการติดเชื้อในแปลงทดลองที่อายุอ้อย 8-9 เดือน ในแปลงทดลองพบว่า แปลงที่ตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมามากที่สุดคือแปลงบ้านโนนลาน และบ้านม่วงโป้ คิดเป็นร้อยละ 30 ในขณะที่แปลงภายในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่นตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาร้อยละ 10-12 ทั้งนี้เมื่อเทียบกับการตรวจนับเพลี้ยจักจั่นปักลายจุดสีน้ำตาล จะเห็นได้ว่า แปลงที่ตรวจพบการติดเชื้อไฟโตพลาสมามากจะพบเพลี้ยจักจั่นปัก

ลายจุดสีน้ำตาลมากเช่นกัน เมื่อดูตำแหน่งที่ตรวจการติดเชื้อไฟโตพลาสมาบนแผนผังแปลงจะเห็นได้ว่ามีรูปแบบการกลับมาติดเชื้อที่กระจายทั่วแปลง เนื่องจากการทดลองนี้เป็นแปลงขนาดเล็กทำให้แมลงกระจายทั่วทั้งแปลง ต้นที่พบเชื้อไฟโตพลาสมาจึงมีรูปแบบการกระจายเหมือนการกระจายตัวของแมลง การใช้ท่อนพันธุ์สะอาดร่วมกับการจัดการแปลง ทั้งประเด็นการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินและการควบคุมแมลงพาหะ จะช่วยลดปัญหาโอกาสในการติดเชื้อไฟโตพลาสมาในแปลงลงได้

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำไปประยุกต์ใช้วางแผนการจัดการแปลง เพื่อช่วยลดปัญหาโอกาสในการติดเชื้อไฟโตพลาสมาในแปลง

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

12. เอกสารอ้างอิง

นิลุบล ทวีกุล ทักษิณา ศันสยะวิชัย สุพัตรา ดลโสภณ แฉล้ม มาศวรรณา และศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล. 2553. ติดตามการกลับมาติดเชื้อใหม่ของโรคใบขาวอ้อยในแปลงขยายพันธุ์จากอ้อยปลอดโรค น. 280-288. ใน: รายงานผลการวิจัยปี 2553. ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร.

ยุพา หาญบุญทรง วรรณภา ฤทธิ์สนธิ์ และ ชุตินันท์ ชูสาย. 2548. การตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในเพลี้ยจักจั่นและการถ่ายทอดโรคโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล. วารสารวิจัย มข. 10(1): 13-21.

Matsumoto, T., Lee, C.S. and Teng, W.S. 1969. Studies on sugarcane white disease of Taiwan, with special reference to the transmission by a leafhopper, *Epitettiix hiroglyphicus* mats. Japanese Journal of Phytopathology 35: 251-259.

Oliver, C.Y., Lowery, D.T. and Stobbs L.W. 2009. Phytoplasma diseases and their relationships with insect and plant hosts in Canadian horticultural and field crops. The Canadian Entomologist 141(5): 425-462.

Roddee, J., Kobori, Y. and Hanboosong, Y. 2017. Multiplication and Distribution of Sugarcane White Leaf Phytoplasma Transmitted by the Leafhopper, *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) (Hemiptera: Cicadellidae), in Infected Sugarcane. Sugar Tech 1-9.

13. ภาคผนวก -