การประเมินปฏิกิริยาของอ้อยพันธุ์ก้าวหน้าต่อแมลงพาหะเพลี้ยจักจั่นปีกลายจุดสีน้ำตาล *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) สาเหตุโรคใบขาวอ้อย

Effect of Promising Sugarcane to Insect Vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) of Sugarcane White Leaf Disease

ทนุธรรม บุญฉิม[1/] รวีวรรณ เชื้อกิตติศักดิ์[2/] ปิยะรัตน์ จังพล[1/]แสงเดือน ชนะชัย[1/]

Thanutham Boonchim[1/] Raweewan Chuakittisak[2/] Piyarat Jangpol[1/] Sangduan Chanachai[1/]

ABSTRACT

Sugarcane white leaf (SCWL) disease is one of the major problems causing the sugarcane yield to decline. Currently, there is no effective method to control. And there are no tolerance or resistance sugarcane varieties. Therefore, selection of tolerance varieties to white leaf disease is one choice to reduce the incidence of SCWL. The objective of this experiment was to study the effect of promising sugarcane varieties to SCWL by using leafhoppers *Matsumuratettix hiroglyphicus* that received phytoplasma from infected sugarcane, incubation, and transmission into various sugarcane varieties. The fiscal year 2020-2021, there were CRD at 6-7 varieties/clones as KK07-037, KK07-250, KK07-599, U-thong 15, U-thong 17, Khon Kaen 3 and Khon Kaen 3 (Control) which detected the pathogen by using real-time PCR. The result shown that promising sugarcane KK07-250, KK07-037 and KK07-599 at 2 months after infected phytoplasma were lowest phytoplasma copies and tolerance to *M. hiroglyphicus* than Khon Kaen 3 while Khon Kaen 3 (Control) showed lower than Khon Kaen 3. However, white leaf symptoms were not observed in all varieties.

Keywords: Promising sugarcane, Tolerance, *M. hiroglyphicus*, Phytoplasma, real-time PCR

[1/] ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ตำบลศิลา อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40000

[1/] Khon Kaen Field Crops Research Center, Sila, Mueang Khon Kaen, Khon Kaen, 40000

[2/] ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี ตำบลท่าช้าง อำเภอสว่างวีระวงศ์ จังหวัดอุบลราชธานี 34190

[2/] Ubonratchathani Field Crops Research Center, Tha chang Sawang Wirawong District, Ubonratchathani 34190

บทคัดย่อ

โรคใบขาวอ้อยเป็นปัญหาหนึ่งที่สำคัญที่ทำให้ผลผลิตอ้อยลดลง ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีวิธีป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพ และยังไม่มีพันธุ์อ้อยทนทานหรือต้านทาน ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์ที่มีความทนทานต่อโรคใบขาวอ้อยจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการลดการเกิดโรคใบขาว การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยก้าวหน้าต่อโรคใบขาวอ้อย โดยใช้เพลี้ยจักจั่นปีกลายจุดสีน้ำตาล *Matsumuratettix hiroglyphicus* ที่ได้รับเชื้อไฟโตพลาสมาจากต้นอ้อยใบขาว ผ่านการบ่มเชื้อในตัวและให้แมลงถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาสู่พันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย เริ่มดำเนินการในปี 2563-2564 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 6-7 กรรมวิธี ได้แก่ พันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย KK07-037 KK07-250 KK07-599 อู่ทอง 15 อู่ทอง 17 ขอนแก่น 3 และขอนแก่น 3 ที่ไม่ผ่านการรับเชื้อ (Control) ตรวจสอบเชื้อด้วยวิธี real-time PCR ผลการทดลอง พบว่าอ้อยพันธุ์ก้าวหน้า KK07-250 KK07-037 และ KK07-599 ที่อายุ 2 เดือนหลังจากได้รับเชื้อไฟโตพลาสมา ตรวจพบปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาต่ำที่สุด และมีความทนทานต่อเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* มากกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่ตรวจพบปริมาณเชื้อสูงที่สุด ในขณะที่พันธุ์ขอนแก่น 3 ที่ไม่ผ่านการถ่ายทอดเชื้อจากแมลงพาหะตรวจพบปริมาณเชื้อต่ำกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่ผ่านการถ่ายทอดเชื้อ อย่างไรก็ตามไม่พบการแสดงอาการใบขาวในทุกพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย

คำสำคัญ: อ้อยพันธุ์ก้าวหน้า ทนทาน เพลี้ยจักจั่นปีกลายจุดสีน้ำตาล ไฟโตพลาสมา ปฏิกิริยาพีซีอาร์สภาพจริง

บทนำ

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ในปี 2564 สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทรายรายงานว่าประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกอ้อย 10.86 ล้านไร่ ให้ผลผลิตรวม 78.69 ล้านตัน สามารถผลิตน้ำตาลได้เป็นอันดับ 3 ของโลกรองจากอินเดีย และบราซิล โดยในปี 2563 ประเทศไทยสามารถส่งออกน้ำตาลจำนวน 6.2 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่า 62.81 ล้านบาท (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2563) โดยปริมาณการส่งออกน้ำตาลลดลงอย่างต่อเนื่องจากปีที่ผ่าน ๆ มา เนื่องจากในการผลิตอ้อยพบปัญหาด้านภัยแล้ง และอีกปัญหาที่สำคัญ คือ โรคใบขาวอ้อย (Sugarcane white leaf disease) ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อไฟโตพลาสมา (Phytoplasma) สามารถทำให้ผลผลิตอ้อยลดลง สร้างความเสียหายอย่างมากโดยเฉพาะอ้อยตอ ทำให้ไม่สามารถไว้ตอได้ อาการของโรคพบได้ตั้งแต่อ้อยเริ่มงอกจนถึงระยะเก็บเกี่ยว โดยอ้อยที่งอกจะแสดงอาการใบขาว มีใบเรียวเล็ก และมีหน่อมากกว่าปกติ หากมีอาการรุนแรงต้นจะแห้งตาย เนื่องจากคลอโรฟิลล์ถูกทำลาย หากเจริญเติบโตต่อไปได้ลำจะเล็ก ข้อปล้องสั้นกว่าต้นปกติ ตาข้างงอกออกมาแสดงอาการใบขาว ในอ้อยบางต้นไม่แสดงอาการใบขาวแต่มีเชื้อสาเหตุโรคแอบแฝงอยู่ เมื่อใช้เป็นท่อนพันธุ์นำไปปลูกก็สามารถแสดงอาการของโรคได้ การแพร่กระจายของเชื้อสามารถถ่ายทอดได้ 2 วิธี คือ (1) การถ่ายทอดผ่านทางท่อนพันธุ์อ้อย ที่มีเชื้อ (2) การถ่ายทอดโดยแมลงพาหะ ได้แก่ เพลี้ยจักจั่นปีกลายจุดสีน้ำตาล *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) (Matsumoto *et al*., 1969; Chen, 1978) และเพลี้ยจักจั่นหลังขาว *Yamatotettix flavovittatus* (Matsumura) (Hanboonsong *et al.*, 2006) โดยแมลงพาหะทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยใช้ส่วนปากที่มีลักษณะเป็นท่อ (Stylet) เจาะและดูดกินน้ำเลี้ยงจากท่ออาหาร (Phloem) ของต้นอ้อยที่มีเชื้อโรค เมื่อแมลงรับเชื้อเข้าไป เชื้อสามารถอาศัยและเพิ่มปริมาณภายในลำตัว และสามารถถ่ายทอดไปยังต้นอ้อยต้นอื่นได้เมื่อถูกแมลงดูดกิน นอกจากนั้น

เชื้อโรคสามารถถ่ายทอดจากแมลงรุ่นสู่รุ่นผ่านทางไข่ ซึ่งเรียกว่า Transovarial transmission (Hanboonsong *et al*., 2002) ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีใดที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคใบขาว ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์อ้อยที่มีความทนทานต่อการดูดกินของแมลงพาหะและการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาสู่ต้นอ้อย จึงเป็นอีกหนึ่งวิธีที่เป็นแนวทางในการลดการระบาดของโรคใบขาวได้อย่างยั่งยืน อีกทั้งยังเป็นข้อมูลที่สำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์อ้อย

อุปกรณ์และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

ดำเนินการทดลองเป็นเวลา 2 ปี คือปี 2563 - 2564 ดังนี้

ปี 2563 วางแผนการทดลองแบบ CRD (Complete Randomized Design) จำนวน 15 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ พันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย KK07-037 KK07-250 KK07-599 อู่ทอง 17 ขอนแก่น 3 และขอนแก่น 3 Control (ไม่ผ่านการถ่ายทอดเชื้อ) ปี 2564 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 15 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ได้แก่ พันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย KK07-037 KK07-250 KK07-599 อู่ทอง 15 อู่ทอง 17 ขอนแก่น 3 และขอนแก่น 3 Control

การดำเนินการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างและการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลง เลี้ยงแมลงพาหะ โดยจับเพลี้ยจักจั่นปีกลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* จากพื้นที่ที่มีการระบาดโดยใช้กับดักแสงไฟ (Black light blue trap) และปล่อยลงในหลอดพลาสติก ที่ครอบต้นอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 เลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงในโรงเลี้ยงแมลงที่มีหลังคาโปร่งแสง ให้ช่วงแสง อุณหภูมิ และความชื้นตามสภาพธรรมชาติ นำแมลงตัวเต็มวัยที่เพาะเลี้ยงได้ในรุ่นลูก (F1) มาทำการศึกษาต่อไป

2. การประเมินจำนวนเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยด้วยเทคนิค real-time PCR

เก็บใบอ้อยในแต่ละพันธุ์/โคลน ส่งไปสกัดดีเอ็นเอและประเมินจำนวนเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค real-time PCR โดยในปี 2563 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 16S-23S ของเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยวิธี nested PCR โดยใช้ไพรเมอร์ MLO-X/Y นำผลผลิตที่ได้มาเจือจาง แล้วนำมาใช้เป็นสารพันธุกรรมต้นแบบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ P1/P2 (ยุพา และคณะ, 2548) ได้ขนาดชิ้นดีเอ็นเอ 210 คู่เบส วิเคราะห์และประเมินจำนวนเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยโปรแกรมจากเครื่อง LightCycler 480 instrument with software version 1.5 (Roche Diagnostic GmbH, Germany)

ปี 2564 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 16S-23S ด้วยวิธี direct PCR ได้ขนาดชิ้นดีเอ็นเอ 700 คู่เบส ด้วยไพรเมอร์ MLO-X/Y (ยุพา และคณะ, 2548) วิเคราะห์และประเมินปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยโปรแกรมจากเครื่อง LightCycler 480 instrument with software version 1.5 (Roche Diagnostic GmbH, Germany)

3. ทดสอบปฏิกิริยาของพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อยต่อโรคใบขาว ในปี 2563 โดยใช้ข้ออ้อยพันธุ์สะอาดได้แก่พันธุ์ KK07-037 KK07-250 KK07-599 อู่ทอง 17 ขอนแก่น 3 และขอนแก่น 3 Control ปลูกอ้อยลงกระถาง เมื่ออ้อยอายุ 1 เดือน สุ่มตรวจวัดปริมาณเชื้อโรคใบขาวด้วยวิธี real-time PCR เพื่อให้มั่นใจว่าต้นอ้อยสะอาด นำเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ตัวเต็มวัยที่ได้จากการเลี้ยงเพิ่มปริมาณมาเลี้ยงด้วยต้นอ้อยที่แสดงอาการโรคใบขาว ครอบด้วยหลอดพลาสติกเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นเลี้ยงด้วยอ้อยปกติเป็นเวลา 15 วัน เพื่อบ่มเชื้อ สุ่มตรวจวัดปริมาณเชื้อโรคใบขาวในเพลี้ยจักจั่นเพื่อให้แน่ใจว่าเพลี้ยจักจั่นมีเชื้อภายในตัวพร้อมที่จะถ่ายทอดเชื้อ นำเพลี้ยจักจั่นที่ผ่านการบ่มเชื้อมา

ทำการทดสอบแบบไม่มีตัวเลือก (No-choice test) มาปล่อยลงกระถางอ้อยชำข้อที่ครอบด้วยหลอดพลาสติกที่เตรียมไว้ข้างต้น จำนวน 5 ตัวต่อกระถาง จำนวน 15 กระถาง เป็นเวลา 3 วัน ตามกรรมวิธีของ จริยา และยุพา (2561) จากนั้นนำแมลงออกจากกระถาง แล้วนำอ้อยในกระถางไปปลูกในแปลง บันทึกการแสดงอาการโรคใบขาวทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 6 เดือน เมื่ออ้อยมีอายุ 2 เดือนหลังปลูกลงแปลง สุ่มตัวอย่างอ้อยมาตรวจวัดปริมาณเชื้อโรคใบขาว ดูแลรักษาแปลงอ้อย โดยใส่ปุ๋ยและให้น้ำตามความเหมาะสม

4. ทดสอบปฏิกิริยาของพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อยต่อโรคใบขาว ในปี 2564 ใช้ข้ออ้อยพันธุ์สะอาด ได้แก่พันธุ์ KK07-037 KK07-250 KK07-599 อู่ทอง 15 อู่ทอง 17 ขอนแก่น 3 และขอนแก่น 3 Control ปลูกอ้อยลงกระถาง เมื่ออ้อยอายุ 1 เดือน สุ่มตรวจวัดปริมาณเชื้อโรคใบขาวด้วยวิธี real-time PCR จากนั้นปฏิบัติตามวิธีของปี 2563 แต่เพิ่มระยะเวลาปล่อยเพลี้ยจักจั่น จาก 3 วัน เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำแมลงออก นำกระถางอ้อยวางไว้ในสภาพโรงเรือน บันทึกการแสดงอาการโรคใบขาวอ้อยทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 6 เดือน เมื่ออ้อยมีอายุ 2 เดือน สุ่มตัวอย่างอ้อยมาตรวจวัด ปริมาณเชื้อโรคใบขาว ดูแลรักษาต้นอ้อยและให้น้ำตามความเหมาะสม

การบันทึกข้อมูล

1. ปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อยก่อนและหลังถ่ายทอดเชื้อ
2. การแสดงอาการใบขาวของพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อยทุก 2 สัปดาห์ หลังถ่ายทอดเชื้อ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และหาข้อมูลความสัมพันธ์ของข้อมูล โดยการ วิเคราะห์สหสัมพันธ์ด้วยวิธี Pearson Correlation ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม Statistical Tool for Agricultural Research (STAR) Version 2.0.1

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปีงบประมาณ 2563 ตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยที่ชำข้อไว้ก่อนการรับเชื้อจากแมลงพาหะ ด้วยวิธี real-time PCR ที่ตำแหน่ง 16S-23S ขนาด 210 คู่เบส พบว่าทั้ง 6 พันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย ได้แก่ KK07-037 KK07-250 KK07-599 อู่ทอง 17 และขอนแก่น 3 มีปริมาณเชื้อเฉลี่ยจำนวน 3896.67 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม โดยพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย ที่พบปริมาณเชื้อสูงที่สุด คือ พันธุ์อู่ทอง 17 มีปริมาณเชื้อจำนวน 5013.33 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม รองลงมาคือพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย KK07-037 KK07-599 KK07-250 และ ขอนแก่น 3 มีปริมาณเชื้อจำนวน 4753.83 4336.67 2975.00 และ 2404.50 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม โดยทุกพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ก่อนที่จะนำเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ไปถ่ายทอดเชื้อ ได้สุ่มตรวจวัดปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในเพลี้ยจักจั่น พบว่ามีเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวเพลี้ยจักจั่นจำนวน 105,340 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม จากนั้นนำเพลี้ยจักจั่นที่มีเชื้อไฟโตพลาสมาไปดูดกินต้นอ้อยที่เตรียมไว้ทดสอบ และย้ายอ้อยปลูกลงในแปลงทดลอง ผลจากการบันทึกการแสดงอาการของโรคใบขาวอ้อยที่ใช้ทดสอบ ทุก ๆ 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 6 เดือน ไม่พบอ้อยแสดงอาการใบขาวในทุกพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย และเมื่ออ้อยอายุ 2 เดือน เก็บตัวอย่างใบอ้อยมาตรวจหาปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมา พบว่าทุกพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย มีปริมาณเชื้อลดลงต่ำกว่าตอนก่อนได้รับเชื้อจากเพลี้ยจักจั่น โดยมีปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาเหลือเฉลี่ยจำนวน 190.37 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช

25 นาโนกรัม พันธุ์ที่พบปริมาณเชื้อต่ำที่สุดคือโคลนพันธุ์ KK07-250 มีปริมาณเชื้อจำนวน 122.20 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม รองลงมาเป็นโคลนพันธุ์ KK07-037 และ KK07-599 มีปริมาณเชื้อจำนวน 156.40 และ 158.00 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 โคลนพันธุ์ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่พบปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมามากที่สุด มีปริมาณเชื้อจำนวน 291.60 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ในขณะที่พันธุ์ขอนแก่น 3 Control มีปริมาณเชื้อจำนวน 186.60 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อยอื่น ๆ

ในปีงบประมาณ 2564 ตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยที่ชำข้อไว้ก่อนการรับเชื้อจากแมลงพาหะ ด้วยวิธี real-time PCR ที่ตำแหน่ง 16S-23S ขนาด 700 คู่เบส พบว่าทั้ง 7 พันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย ได้แก่ KK07-037 KK07-250 KK07-599 อู่ทอง 15 อู่ทอง 17 และขอนแก่น 3 มีปริมาณเชื้อเฉลี่ยจำนวน 2.58 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม โดยโคลนพันธุ์ที่พบปริมาณเชื้อสูงที่สุด คือโคลนพันธุ์ KK07-599 มีปริมาณเชื้อจำนวน 6.01 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม รองลงมาคือพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย KK07-250 อู่ทอง 15 ขอนแก่น 3 อู่ทอง 17 และ KK07-037 มีปริมาณเชื้อจำนวน 2.87 2.34 1.89 1.52 และ 0.88 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม โดยทุกพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ก่อนที่จะนำเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ไปถ่ายทอดเชื้อ ได้สุ่มตรวจวัดปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในเพลี้ยจักจั่น พบว่ามีเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวเพลี้ยจักจั่น จำนวน 205.39 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม จากนั้นนำเพลี้ยจักจั่นที่มีเชื้อไฟโตพลาสมาไปดูดกินต้นอ้อยที่เตรียมไว้ทดสอบ และย้ายอ้อยปลูกลงแปลง ผลจากการบันทึกการแสดงอาการของโรคใบขาวอ้อยที่ใช้ทดสอบทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 6 เดือน ไม่พบอ้อยแสดงอาการใบขาวในทุกพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย และเมื่ออ้อยอายุ 2 เดือน เก็บตัวอย่างใบอ้อยมาตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมา พบว่าทุกพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย มีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นมากกว่าตอนก่อนได้รับเชื้อจากเพลี้ยจักจั่น โดยมีปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาเฉลี่ยจำนวน 5.81 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม โคลนพันธุ์ที่พบปริมาณเชื้อต่ำที่สุดคือโคลนพันธุ์ KK07-250 มีปริมาณเชื้อจำนวน 1.35 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม รองลงมาเป็นพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย อู่ทอง 15 KK07-037 KK07-599 และอู่ทอง 17 มีปริมาณเชื้อจำนวน 2.33 3.05 7.84 และ 8.12 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 5 พันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย ไม่มีแตกต่างกันทางสถิติกับพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่พบปริมาณเชื้อมากที่สุด ที่มีปริมาณเชื้อจำนวน 13.17 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ในขณะที่พันธุ์ขอนแก่น 3 Control มีปริมาณเชื้อจำนวน 5.20 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อยพันธุ์อื่นเช่นกัน (Table 1)

เมื่อพิจารณาจากผลการทดลองของปี 2563-2564 พบว่า ในปี 2563 ปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยทุกพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อย หลังจากได้รับเชื้อมีความสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในปี 2564 ($r=0.367^*$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่พบว่าปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาที่ตรวจพบในแต่ละพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อยมีความแตกต่างกัน ซึ่งจากการศึกษาของ Buchanan *et al.* (2000) พบว่า โครงสร้างของพืช เช่น ความหนาและความแข็งแรงของผนังเซลล์ ชั้นของแวกซ์ (Wax) และคิวติเคิล (Cuticle) ที่ปกคลุมบริเวณลำต้นและผิวใบช่วยขัดขวางเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยพืชบางชนิดจะมีการสังเคราะห์สารไฟโตแอนทิซิปิน (Phytoanticipin) ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา แบคทีเรีย และเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคพืช ซึ่งโครงสร้างเหล่านี้เป็นเสมือนเกราะป้องกันชั้นแรกของพืช และหลังจากที่ปลูกอ้อยลงแปลงแล้วอ้อยไม่แสดงอาการของโรคใบขาว หรือเมื่อนำตัวอย่างไป

ตรวจแล้วมีปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาลดลง เกิดจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณของเชื้อ ทำให้ไม่มีการเกิดโรค เนื่องจากการแสดงออกของอาการโรคใบขาวมากหรือน้อย มีความแปรปรวนซึ่งมีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ ความอุดมสมบูรณ์ของต้นอ้อย ธาตุอาหารในดิน ความเครียด และการขาดน้ำของพืช เป็นต้น (ทักษิณา และคณะ, 2555; พรทิพย์, 2542) ในขณะที่ต้นอ้อยที่ทดลองในกระถางจะพบว่าต้นอ้อยมีปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาสูงขึ้นมากกว่าตอนก่อนรับเชื้อจากแมลงพาหะ เนื่องจากต้นอ้อยอยู่ในกระถางมีพื้นที่จำกัด รากอ้อยไม่สามารถหาอาหารได้เต็มที่ทำให้อ้อยเกิดความเครียด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ วิสุดา และยุพา (2561) ที่ได้ใช้เพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* ที่ได้รับเชื้อ และบ่มเชื้อในตัว 21-42 วัน สามารถถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาสู่ต้นอ้อยที่เลี้ยงไว้ในกระถางในสภาพโรงเรือน โดยเชื้อสามารถเพิ่มปริมาณและแสดงอาการใบขาวได้ อย่างไรก็ตามควรดำเนินการตรวจหาปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาหลังจากได้รับเชื้อในหลายช่วงอายุตามระยะการเจริญเติบโต เพื่อให้ได้ข้อมูลปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมา และการแสดงอาการโรคใบขาวได้มากขึ้น ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์และนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ในขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดสอบปฏิกิริยาของอ้อยพันธุ์ก้าวหน้าต่อโรคใบขาว ในปีงบประมาณ 2563 และ 2564 อ้อยพันธุ์ก้าวหน้า KK07-250 KK07-037 และ KK07-599 ที่อายุ 2 เดือนหลังจากได้รับเชื้อไฟโตพลาสมา ตรวจพบจำนวนเชื้อไฟโตพลาสมาต่ำที่สุด และมีความทนทานต่อเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* มากกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่ตรวจพบปริมาณเชื้อสูงที่สุด ในขณะที่พันธุ์ขอนแก่น 3 ที่ไม่ผ่านการถ่ายทอดเชื้อจากแมลงพาหะตรวจพบปริมาณเชื้อต่ำกว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่ผ่านการถ่ายทอดเชื้อ อย่างไรก็ตามไม่พบการแสดงอาการใบขาวในทุกพันธุ์/โคลนพันธุ์ และพบว่าการทดสอบในสภาพโรงเรือนที่ปลูกในกระถางมีโอกาสตรวจพบปริมาณเชื้อได้สูงกว่า จากการทดลองที่ทำให้ทราบแนวทางในการทดลองต่อไป ว่าในการทดสอบปฏิกิริยาของพันธุ์/โคลนพันธุ์อ้อยต่อแมลงพาหะและโรคใบขาวควรทำการทดสอบอ้อยในกระถางภายใต้สภาพโรงเรือน และตรวจสอบปริมาณเชื้อด้วยวิธี real-time PCR ที่ตำแหน่ง 16S-23S ขนาด 210 คู่เบส เหมาะสำหรับใช้เป็นวิธีประเมินพันธุ์อ้อยทนทานต่อโรคใบขาว เนื่องจากเป็นตำแหน่งที่ตรวจพบปริมาณเชื้อได้สูงกว่าและอ่านผลได้ง่าย

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่นเป็นอย่างสูง ที่ช่วยสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย ขอขอบคุณนักวิชาการเกษตร ผู้ช่วยนักวิจัย และพนักงานราชการทุกท่านที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณสำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

จริยา รอดดี และยุพา หาญบุญทรง. 2561. ระยะเวลาการบ่มและเพิ่มปริมาณเชื้อที่เหมาะสมต่อการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุของโรคใบขาวอ้อยของเพลี้ยจักจั่นพาหะ. *แก่นเกษตร*. 46(6): 1067-1074.

ทักษิณา ศันสยะวิชัย, กาญจนา กิรศักดิ์, ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล, นฤทัย วรสถิต, เพียงเพ็ญ ศรวัต, และนิลุบล ทวีกุล. 2555. การจัดการโรคใบขาวอ้อยด้วยการใช้พันธุ์ปลอดโรค. *แก่นเกษตร*. 40 (ฉบับพิเศษ 3): 241-248.

พรทิพย์ วงศ์แก้ว. 2542. โครงการการจัดการโรคใบขาวอ้อย ฉบับสมบูรณ์. ขอนแก่นพิมพ์พัฒนาจำกัด , ขอนแก่น. 228 หน้า.

ยุพา หาญบุญทรง วรรณภา ฤทธิสนธิ์ และชุตินันท์ ชูสาย. 2548. การตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในเพลี้ยจักจั่นและการถ่ายทอดโรคโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล. *วารสารวิจัย มข.* 10(1): 13-21.

วิสุดา วรชัย และยุพา หาญบุญทรง. 2561. การคัดเลือกพันธุ์อ้อยทนทานต่อแมลงพาหะ *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) สาเหตุโรคใบขาวอ้อยในสภาพโรงเรือน. *แก่นเกษตร*. 46 (ฉบับพิเศษ 1): 170-175.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2563. การส่งออกน้ำตาลทรายไปจำหน่ายต่างประเทศจำแนกตามบริษัทส่งออก. แหล่งข้อมูล: http://www.ocsb.go.th/upload/cuntry/fileupload/12207-6227.pdf. สืบค้นเมื่อ: 30 กรกฎาคม 2565.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2564. รายงานสถานการณ์การปลูกอ้อยปีการผลิต 2563/2564. สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย.

Buchanan, B. B., W. Gruissem and R. L. Jones. 2000. Biochemistry and molecular biology of plants. ASPP press, Rockville.Dean, R. A. and J. Kuc. 1985. Induced systemic protection in plants. Trends Biotechnol. 3: 125-129.

Chen, C.T. 1978. Vector-pathogen relationships of sugarcane white leaf disease. *Plant Protection Bulletin* of Taiwan. 21(1): 105-110.

Hanboonsong, Y., C. Choosai, S. Panyim and S. Damak. 2002. Transovarial transmission of sugarcane white leaf phytoplasma in the insect vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura). *Insect Molecular Biology*. 11: 97-103.

Hanboonsong, Y., W. Ritthison, C. Choosai and P. Sirithorn. 2006. Transmission of sugarcane white leaf phytoplasma by *Yamatotettix flavovittatus*, a new leafhopper vector. *Entomolgy*. 99: 1531-1537.

Matsumoto, T., C.S. Lee, and W.S. Teng. 1969. Studies on sugarcane white leaf disease of Taiwan, with special reference to the transmission by a leafhopper, *Epitettix hiroglyphicus* Mats. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*. 35: 251-259.

Table 1 Copies number of phytoplasma before- after transmission and total of Sugarcane White Leaf Disease symptom after transmission 6 month in various sugarcane varieties/clone at fiscal year 2020-2021

Variety/clone	Mean of SCWL phytoplasma[3/] before and after transmission									Total plant showing white leaf (%)	n
	Fiscal year 2020[1/]					Fiscal year 2021[2/]					
	Before	n	After		n	Before	n	After	n		
KK07-037	4753.83	6	156.40	b[4/]	5	0.88	7	3.05	6	0	30
KK07-250	2975.00	6	122.20	b	5	2.87	7	1.35	6	0	30
KK07-599	4336.67	6	158.00	b	5	6.01	7	7.84	6	0	30
UT15	-		-			2.34	7	2.33	6	0	15
UT17	5013.33	6	229.29	ab	5	1.52	7	8.12	6	0	30
KK3	2404.50	6	291.60	a	5	1.89	7	13.17	6	0	30
KK3 control	2404.50	6	186.60	ab	5	1.89	7	5.20	6	0	30
Mean	**3896.67**		**190.37**			**2.58**		**5.81**		**0**	
F-Test	**ns**		******			**ns**		**ns**			
C.V. (%)	**54.06**		**30.90**			**174.24**		**162.08**			

[1/] Phytoplasma detection by real-time PCR at 16S-23S 210 bp. and carry out at field condition

[2/] Phytoplasma detection by real-time PCR at 16S-23S 700 bp. and carry out in pot at greenhouse condition

[3/] Phytoplasma copies/ul in plant DNA 25 ng

[4/] Mean in the same column followed by different lowercase was significantly different at the 5% level of probability by DMRT. *=Significant at $p < 0.05$, **=Significant at $p < 0.01$ ns=not significant