บทคัดย่อ

โรคใบขาวจัดเป็นโรคที่มีความร้ายแรงอันดับหนึ่งของการปลูกอ้อยในประเทศไทยและไม่มี พันธุ์ต้านทานโรค การพยายามลดการระบาดของโรคโดยการใช้ท่อนพันธุ์ปลอดโรคอย่างเดียวไม่สามารถทำได้ ต้องใช้องค์ความรู้หลายๆ ด้านร่วมกัน ทั้งการจัดการท่อนพันธุ์และแมลงพาหะ ซึ่งทั้งสองอย่างเป็นสาเหตุหลักการแพร่ระบาดของโรค แมลงพาหะเพลี้ยจักจั่นนำโรคใบขาวอ้อยเป็นทั้งพาหะ และแหล่งสะสมและเพิ่มปริมาณเพิ่มปริมาณของเชื้อไฟโตพลาสมาด้วย ดังนั้นการควบคุมประชากรหรือการยับยั้งการถ่ายทอดเชื้อสาเหตุของแมลงพาหะ จึงเป็นเป้าหมายสำคัญในการลดการแพร่ระบาดของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย ดังนั้นชุดโครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนางานวิจัยเพื่อแก้ปัญหาการระบาดใบขาวอ้อย โดยการศึกษาปฏิกิริยาสัมพันธ์ของแมลงพาหะ เชื้อไฟโตพลาสมา การเกิดโรคใบขาวอ้อย และการตรวจคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ร่วมอาศัยในแมลงพาหะเพื่อเป็นแนวทางในการจัดการแมลงพาหะนำโรคหรือลดการถ่ายทอดเชื้อสาเหตุโรคของแมลงพาหะ ซึ่งโครงการนี้ประกอบด้วย 2 โครงการวิจัยย่อย คือ 1) การศึกษาปัจจัยต่อการระบาดวิทยาของแมลงพาหะนำโรคใบขาว และ 2) การคัดเลือกชนิดแบคทีเรียร่วมอาศัยจากแมลงพาหะนำโรคใบขาวอ้อย โดยมีรายละเอียดผลโครงการดังนี้

โครงการย่อยที่ 1 มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อการระบาดและความรุนแรงของโรคใบขาวอ้อยจากแมลงพาหะ โดยหารูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนประชากรธรรมชาติของแมลงพาหะ จำนวนเชื้อไฟโตพลาสมาในแมลงพาหะและ ในต้นอ้อยรวมถึงการเกิดโรคใบขาวอ้อยในแต่ละพื้นที่ในสภาพไร่ที่มีความรุนแรงของการระบาดของโรคที่แตกต่างกัน รวมทั้งทดสอบประสิทธิภาพการถ่ายทอดโรคใบขาวอ้อยจากแมลงพาหะจากพื้นที่ที่มีความรุนแรงของโรคใบขาวอ้อยแตกต่างกันในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยทำการสำรวจติดตามจำนวนประชากรแมลง และ จำนวนต้นอ้อยที่แสดงอาการของโรคใบขาว ร่วมกับการตรวจวัดจำนวนเชื้อสาเหตุของโรคในต้นอ้อยที่ไม่แสดงอาการโรค และในตัวแมลงพาหะในสภาพแปลงอ้อยที่มีระดับความรุนแรงของโรคใบขาวแตกต่างกันจากการระบาดมาก (การเกิดโรค มากกว่า 50 %) ปานกลาง (การเกิดโรค น้อยกว่า 50 %) และน้อย การเกิดโรค น้อยกว่า 10 % หรือไม่มีประวัติการระบาดเลย) ในพื้นที่ อ. กุมภวาปี จ. อุดรธานี อ. เขาสวนกวาง และ ต.บ้านค้อ อ. เมือง จ. ขอนแก่น ตามลำดับตั้งแต่เดือนกรกฎาคม –พฤศจิกายน 2557 (ฤดูกาลที่ 1) และ ตั้งแต่เดือน ธันวาคม 2557 –ธันวาคม 2558 ผลการศึกษาพบว่ามีแมลงพาหะ 2 ชนิดในทั้ง 3 พื้นที่สำรวจ ได้แก่ เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) และเพลี้ยจักจั่นหลังขาว *Yamatotettix flavovittatus* Matsumura ซึ่งจำนวนประชากรของเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลพบประมาณประชากรประมาณ 90% ซึ่งมีจำนวนมากกว่าเพลี้ยจักจั่นหลังขาว และเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาลมีประชากรมากในช่วงต้นฝน มิถุนายน- กรกฎาคม ซึ่งเป็นช่วงแรกของการเจริญเติบโตหรืออยู่ในระหว่างย่างปล้อง ส่วนเพลี้ยจักจั่นหลังขาวมีจำนวนประชากร ในช่วงอ้อยเจริญเติบโตเต็มที่จนถึงเก็บเกี่ยวโดยมีประชากรมากในช่วงเดือนกันยายน จำนวนประชากรของแมลงพาหะ พบระบาดมากในพื้นที่ที่มีการเกิดโรครุนแรงมากและ ปานกลาง (ในจังหวัดอุดรธานี) และแมลงเพศเมียมีจำนวนประชากรกว่ากว่าเพศผู้

เมื่อตรวจสอบจำนวนเชื้อโตพลาสมาในแมลงพาหะและความรุนแรงของเชื้อในการเกิดโรคในแมลงจากพื้นที่ทั้ง3 แห่ง โดยใช้วิธีการทางชีวโมเลกุล (ด้วย Nested PCR และ Real time PCR ด้วย specific SCWL primer) พบว่าจำนวนเชื้อในตัวแมลง และความรุนแรงของเชื้อในการเกิดโรคไม่มีความแตกต่างกัน ของแมลงจากทั้ง 3 พื้นที่ แต่แมลงตัวเมียพบจำนวนเชื้อสาเหตุโรคมากกว่าแมลงเพศผู้

ความสัมพันธ์ของปัจจัยที่มีผลต่อการระบาดของโรคพบ ว่าจำนวนแมลงพาหะมีผลในทิศทางเดียวกับการระบาดของโรค โดยเมื่อมีจำนวนแมลงพาหะมากจะส่งผลทำให้จำนวนการที่ต้นอ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมา

สาเหตุของโรคก็มากด้วยเช่นกันซึ่งแม้ว่าการแสดงออกของโรคใบขาวไม่สามารถแสดงออกได้ชัดเจน แต่การติดเชื้อโรคใบขาวแต่ไม่แสดงอาการสามารถตรวจพบได้ ดังนั้นข้อมูลจำนวนแมลงพาหะมีผลต่อการระบาดและเกิดโรคใบขาวนี้สามารถนำเป็นแนะนำและใช้ในการป้องกัน ระวังการแพร่ระบาดของโรค ตลอดจนหาทางควบคุมแมลงพาหะต่อไปได้

โครงการย่อยที่ 2 มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียจากเพลี้ยจักจั่นแมลงพาหะทั้งสองชนิดโดยวิธีการแยกออกมาเพาะเลี้ยง และคัดเลือกชนิดที่มีศักยภาพที่คาดว่าสามารถนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงพาหะและควบคุมการแพร่ระบาดของโรคใบขาวได้ และศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียในแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* ด้วย Metagenomics analysis

การศึกษาวิจัยในโครงการย่อยที่ 2 คือศึกษาชนิดของแบคทีเรียร่วมอาศัยในแมลงพาหะนำโรคทั้งสองชนิดที่สามารถแยกออกมาเพาะได้ เพื่อคัดเลือกนำมาศึกษาถึงศักยภาพที่จะนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงพาหะหรือลดการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมา สำหรับเพลี้ยจักจั่น *M.hiroglyphicus* ซึ่งเป็นแมลงพาหะหลัก มีแบคทีเรียเป้าหมายที่คัดเลือก 6 ไอโซเลท คือ *Microbacterium testaceum, Arthrobacter woluwensis, A. nicotianae, Bacillus licheniformis, B. subtilis* และ *B. megaterium* ที่พบว่ามีการแพร่กระจายตัวในประชากรธรรมชาติของแมลงพาหะทุกระยะการเจริญ และพบว่ามีอยู่ในต้นอ้อยที่เป็นพืชอาหาร ทั้ง 6 ชนิด เมื่อให้แมลงได้รับแบคทีเรียเหล่านี้ในอัตราความเข้มข้นที่ระดับสูง พบว่าสามารถก่อให้เกิดโรคในเพลี้ยจักจั่นได้ โดยแมลงมีเปอร์เซ็นต์การตาย 10-30% ซึ่งยังถือว่าเป็นเปอร์เซ็นต์การตายที่ค่อนข้างต่ำ แต่อย่างไรก็ตามมีแบคทีเรีย 5 ไอโซเลท (ยกเว้น *A. nicotianae*) ทำให้อัตราการวางไข่ของแมลงเพศเมียต่ำกว่ากลุ่มควบคุมถึง 50% การคัดเลือก แบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงได้จากแมลงพาหะ *Y. flavovitatus* คือ *A. woluwensis, B. megaterium* และ *B. subtilis* พบว่ามีการแพร่กระจายตัวในประชากรธรรมชาติของแมลงพาหะทุกระยะการเจริญ และสามารถ ก่อให้เกิดโรคในแมลงได้ประมาณ 10-30% เช่นเดียวกัน จากผลการศึกษาได้แบคทีเรียเป้าหมายที่คัดเลือก สามารถก่อให้เกิดโรคในแมลง และมีผลทำให้การขยายพันธุ์ของแมลงลดลง ซึ่งนำไปสู่แนวทางของการศึกษาเพื่อนำไปใช้แบคทีเรียดังกล่าวในการควบคุมแมลงพาหะ

การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียในแมลงพาหะ *M.hiroglyphicus* ด้วยเทคนิค Metagenomic ananlysis ผลการศึกษาการจำแนกพบแบคทีเรีย 2 ชนิดที่พบในอัตราส่วนที่มากในแมลงส่วนใหญ่ คือ *Sulcia muelleri* และ BAMH (Bacterial Associated with *M.hiroglyphicus*) ซึ่งจัดเป็นแบคทีเรียร่วมอาศัยประเภทปฐมภูมิ (Primary endosymbiont) ที่อยู่ในส่วนแบคทริโอม (Bacteriome) ของเพลี้ยจักจั่น