Research Article

Received: March 4, 2020; Accepted: September 26, 2020

การสำรวจโรคใบขาวของอ้อยในอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว

Sugarcane White Leaf Disease Survey in Aranyaprathet District, Sakaeo Province

อารมย์ จันทะสอน*, ศศิธร โคสุวรรณ และธนประสงค์ อยู่พิศิษฐ์ไตรวัติ

วิทยาลัยโพธิวิชชาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก 26120

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรระนอง

ตำบลบางใหญ่ อำเภอกระบุรี จังหวัดระนอง 85110

Arom Jantasorn*, Sasithon Kosuwan and Thanaprasong Oiuphisittraiwat

Bodhivijjalaya College, Srinakharinwirot University,

Ongkharak, Nakhon Nayok 26120

Sitthisak Saepaisal

Ranong Agricultural Research and Development Center,

Bang Yai, Kraburi, Ranong 85110

บทคัดย่อ

โรคใบขาวเป็นโรคที่สำคัญของอ้อย เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา และก่อให้เกิดความเสียหายที่รุนแรงต่อผลผลิตอ้อยในเกือบทุกภูมิภาคของประเทศ ผลการสำรวจแปลงปลูกอ้อยทั้งหมด 57 แปลง ในอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว พบอ้อยที่เป็นโรคใบขาว 13 แปลง ในเขตตำบลหันทราย ตำบลหนองสังข์ ตำบลคลองน้ำใส ตำบลทับพริก ตำบลผ่านศึก ตำบลคลองทับจันทร์ และตำบลเมืองไผ่ นำตัวอย่างอ้อยที่แสดงอาการของโรคมาตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR พบว่าเกิดผลบวกทุกตัวอย่างและมีลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของยีน *16S rRNA* เหมือนกันที่ระดับ 98-99 % จัดเป็นเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาประยุกต์ใช้กับระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ช่วยในการนำเสนอข้อมูลอ้อยที่เป็นโรคเชิงพื้นที่และสร้างแผนที่การระบาดของโรคใบขาวอ้อยของแต่ละตำบลในอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว พ.ศ 2562 ตลอดจนสามารถนำไปใช้เป็นระบบสนับสนุนการตัดสินใจเพื่อวางแผนการปลูกอ้อย เพื่อหลีกเลี่ยงแหล่งปลูกที่มีการระบาดหรือสะสมของเชื้อโรคและไม่นำท่อนพันธุ์อ้อยที่เป็นโรคไปปลูกในแหล่งอื่นต่อไป

คำสำคัญ : โรคใบขาวอ้อย; ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์; การสำรวจโรค

***ผู้รับผิดชอบบทความ** : aromj@g.swu.ac.th **doi:** 10.14456/tstj.2021.52

Abstract

Sugarcane white leaf is a major disease of sugarcane caused by phytoplasma and causing severe damage to sugarcane production in almost all regions of the country. The fifty-seven sugarcane fields at Aranyaprathet district, Sakaeo province, were surveyed. The results showed that sugarcane in thirteen areas located in Han Sai, Nong Sang, Khlong Nam Sai, Thap Phrik, Phan Suek, Khlong Thap Chan, and Muang Phai sub-districts, was found white leaf disease. The white leaf samples collected from the sugarcane field were analyzed for phytoplasma infection by PCR technique. All infected samples were positive with PCR detection, and the nucleotide sequences of *16S rRNA* gene showed 98-99 % similarity with sugarcane white leaf disease. Therefore, the data were applied on geographic information system as an effective tool to present in spatial data and annotate a thematic map of sugarcane white leaf disease in the sugarcane field in the year 2019 at Aranyaprathet district, Sakaeo province. The present study results were basic information to be used as a decision support system for sugarcane planting, white leaf disease infection preventing, and not bringing infected sugarcane to grow in the field.

Keywords: sugarcane white leaf disease; geographic information system (GIS); disease survey

1. บทนำ

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจหลักที่นิยมปลูกเพื่ออุตสาหกรรมของไทย ปลูกได้เกือบทุกภูมิภาคของประเทศ การศึกษาพื้นที่การปลูกอ้อยในประเทศไทยปีการผลิต 2561/62 โดยอาศัยข้อมูลดาวเทียมประกอบกับการเก็บรายละเอียดของข้อมูลภาคพื้นดิน พบว่าภาคตะวันออกมีพื้นที่ปลูกอ้อย 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดปราจีนบุรี สระแก้ว ฉะเชิงเทรา ระยอง ชลบุรี และจันทบุรี มีพื้นที่ปลูกอ้อยรวมทั้งหมด 686,407 ไร่ เพิ่มขึ้นจากปีการผลิต 2560/61 จำนวน 27,158 ไร่ หรือคิดเป็นร้อยละ 4.12 จังหวัดสระแก้วมีพื้นที่ปลูกอ้อยมากที่สุด คือ 453,878 ไร่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอำเภออรัญประเทศมีพื้นที่ปลูกอ้อย 79,159 ไร่ อ้อยจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่รัฐบาลมีการผลักดันนโยบายบริหารพื้นที่เกษตรกรรมของพืช (zoning) โดยเปลี่ยนพื้นที่ปลูกข้าวที่อยู่ในพื้นที่ไม่เหมาะสมไปสู่การปลูกอ้อยโรงงาน [1] อ้อยจัดอยู่ในวงศ์ Gramineae สกุล *Saccharum* ส่วนอ้อยที่นิยมปลูกเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมน้ำตาลทราย คือ *Saccharum officinarum* ปัจจุบันการผลิตอ้อยมีแนวโน้มที่สูงขึ้น เนื่องจากความต้องการของภาคอุตสาหกรรม แต่การผลิตอ้อยของประเทศไทยยังประสบปัญหาเกี่ยวข้องที่หลากหลาย เช่น ความเหมาะสมของสภาพดิน ปริมาณน้ำฝน และอีกปัญหาหนึ่งที่สำคัญส่งผลต่อผลผลิตอ้อย คือ ปัญหาโรคและแมลง สามารถสร้างความเสียหายต่อกระบวนการผลิตและมีวิธีการจัดการที่ซับซ้อนจำเป็นต้องใช้องค์ความรู้และต้นทุนสูง โรคใบขาวอ้อยเป็นโรคที่สำคัญที่สุดของอ้อยและก่อให้เกิดความเสียหายที่รุนแรงต่อผลผลิตอ้อยในเกือบทุกภูมิภาคของประเทศ โดยโรคดังกล่าวก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตร้อยละ 38 คิดเป็นมูลค่าความเสียหายกว่า 1,700 ล้านบาท [2] โรคใบขาวเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา สามารถ

แพร่ระบาดโดยผ่านทางท่อนพันธุ์อ้อย ซึ่งเป็นวิธีการที่ทำให้โรคแพร่ระบาดไปอย่างกว้างขวางและรวดเร็ว ส่วนการแพร่ระบาดโดยอาศัยแมลงพาหะเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาล (*Matsumuratettix hiroglyphicus*) และเพลี้ยจักจั่นหลังขาว (*Yamatotettix flavovittatus*) [3] นั้น แมลงสามารถถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาจากต้นอ้อยที่เป็นโรคไปสู่ต้นอ้อยปกติก่อให้เกิดความเสียหายแก่ต้นอ้อยเป็นบริเวณกว้าง ทำให้ผลผลิตอ้อยลดลงเป็นอย่างมาก ดังนั้นการใช้ท่อนพันธุ์อ้อยที่ปลอดโรคและการควบคุมแมลงพาหะ รวมทั้งการตรวจสอบสภาพแวดล้อมของแหล่งปลูกอ้อย จึงเป็นวิธีการจัดการโรคใบขาวอีกแนวทางหนึ่งที่จะสามารถลดการระบาดของโรค

การประยุกต์ใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ซึ่งเป็นเครื่องมือหนึ่งที่ใช้ในการบริหารจัดการการแพร่กระจายเชิงพื้นที่ เพื่อจัดทำแผนที่ด้วยระบบอัตโนมัติ และสามารถใช้ในการวางแผนและกำหนดขอบเขตการแพร่กระจายของโรคพืชได้โดยมีรายงานก่อนหน้านี้ของ Jantasorn และคณะ [4] ได้ประยุกต์ใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ในการศึกษาการระบาดของโรคไวรัสใบด่างจุดวงแหวนมะละกอในพื้นที่ปลูกมะละกอเพื่อการค้า จังหวัดสระแก้ว อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังมีการนำระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์มาประยุกต์ใช้กับงานวิจัยและโครงการต่าง ๆ เช่น การวิเคราะห์ความต้องการใช้น้ำภาคการเกษตร การทำแผนที่เฉพาะด้านสิ่งแวดล้อม การใช้ประโยชน์ที่ดินและคุณภาพน้ำ การใช้ประโยชน์พื้นที่เกษตรกรรมโดยแบ่งเขตการปลูกพืชเศรษฐกิจบางชนิดเพื่อศึกษาการจัดการโรคและแมลง [5,6] และการศึกษาความหลากชนิดและการแพร่กระจายของแมลงศัตรูกาแฟอราบิกา เป็นต้น [7,8] การสำรวจโรคใบขาวอ้อยในพื้นที่ปลูกอ้อยอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว ร่วมกับการตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อยืนยันลักษณะอาการที่พบและเชื้อสาเหตุโรคใบขาวนั้น เป็นการประเมินพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบและคาดการณ์สถานการณ์ของโรคใบขาวอ้อย โดยใช้ประโยชน์ในการหาแนวทางป้องกันและกำหนดขอบเขตการแพร่กระจายของโรคใบขาวไม่ให้ลุกลามและขยายวงกว้างไปในพื้นที่อื่นที่ยังไม่พบโรค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจโรคใบขาวอ้อยในอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว และตรวจสอบยืนยันเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุของโรคใบขาวอ้อยจากลักษณะอาการที่พบด้วยเทคนิค PCR จากนั้นนำผลจากการทดลองดังกล่าวมาแสดงเป็นแผนที่ภูมิสารสนเทศระบุตำแหน่งพื้นที่ที่มีการพบโรคใบขาวในแหล่งปลูกอ้อยแบบรายตำบลของอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว และใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการจัดการโรคใบขาวอย่างยั่งยืนต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 สำรวจโรคใบขาวในแปลงปลูกอ้อยของอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว

สำรวจโรคใบขาวในแปลงปลูกอ้อยของอำเภออรัญประเทศ เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการตัดสินใจหาพื้นที่ผลิตท่อนพันธุ์อ้อยปลอดโรคและขยายพื้นที่ปลูก ซึ่งในเขตอำเภอดังกล่าวมีพื้นที่ปลูกอ้อยมากที่สุดของจังหวัดสระแก้ว โดยพื้นที่ปลูกอ้อยของอำเภออรัญประเทศส่วนใหญ่ปลูกกระจายอยู่ในตำบลต่าง ๆ ได้แก่ ตำบลหนองสังข์ ตำบลหันทราย ตำบลป่าไร่ ตำบลบ้านด่าน ตำบลฟากห้วย ตำบลท่าข้าม ตำบลคลองน้ำใส ตำบลเมืองไผ่ ตำบลผ่านศึก ตำบลทับพริก และตำบลคลองทับจันทร์ รวมทั้งสิ้น 11 ตำบล สำรวจอ้อยในระยะแตกกอ จากนั้นกำหนดพื้นที่ตัวอย่างในการสำรวจโรคใบขาว ออกแบบฐานข้อมูลในการเก็บรวบรวมข้อมูล และดำเนินการสำรวจข้อมูลเชิงพื้นที่ให้ครอบคลุมพื้นที่ศึกษา พร้อมทั้งเก็บพิกัดเชิงพื้นที่และ

เก็บข้อมูลตามฐานข้อมูลที่ได้ออกแบบไว้ โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมีนาคมถึงกันยายน ปี พ.ศ. 2562 และเก็บตัวอย่างอ้อยที่แสดงอาการโรคใบขาวในพื้นที่ศึกษามาตรวจสอบยืนยันเชื้อไฟโตพลาสมา แปลงปลูกอ้อยที่สำรวจของตำบลต่าง ๆ มีดังนี้ ตำบลหนองสังข์ ตำบลบ้านด่าน ตำบลฟากห้วย ตำบลท่าข้าม ตำบลคลองน้ำใส ตำบลเมืองไผ่ ตำบลผ่านศึก ตำบลทับพริก และตำบลคลองทับจันทร์ ตำบลละ 5 แปลง รวมทั้งสิ้น 45 แปลง ส่วนตำบลหันทราย 2 แปลง และตำบลป่าไร่ 10 แปลง รวมแปลงอ้อยที่สำรวจทั้งหมด 57 แปลง และเมื่อพบอ้อยที่แสดงอาการของโรคใบขาวภายในแปลงที่ศึกษาจะเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบยืนยันเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) และจัดทำแผนที่ภูมิสารสนเทศการพบโรคใบขาวต่อไป

2.2 การตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยด้วยเทคนิค PCR

2.2.1 การสกัดดีเอ็นจากตัวอย่างอ้อย

สกัดดีอีนเอจากอ้อยที่แสดงอาการโรคใบขาวโดยนำตัวอย่างมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ และบดตัวอย่างให้ละเอียดโดยใช้ไนโตรเจนเหลว แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 2 % CTAB นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และเติมสาร chloroform: isoamyl alcohol (24: 1) แช่น้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยการเติม isopropanol ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70 % ethanol และปล่อยให้ตะกอนดีเอ็นเอแห้ง แล้วละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วยสารละลาย TE buffer ที่ผสม RNase และเก็บรักษาดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2.2.2 การเพิ่มปริมาณยีน *16S rRNA* และการตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค PCR

ตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของอ้อยด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ชุดไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไฟโตพลาสมาในส่วนของยีน *16S rRNA* คือ MLO-X (Forward) 5′-GTTAGGTTAAGTC CTAAAACGAGC-3′ และ MLO-Y (Reverse) 5′-GTG CCAAGGCATCCACTGTATGCC-3′ [9] โดยการทำ master mix ซึ่งประกอบด้วย 10X Buffer (100 mM Tris-HCl, pH 8.3 500 mM KCL) 5 µL, 2.5 mM dNTPs 4 µL, 25 mM $MgCl_2$ 3 µL, *Taq* DNA polymerase (4 unit/µL), 1 µL ของ 10 µM MLO-X และ 10 µM MLO-Y และดีเอ็นเอรวม (~50 ng) 1 µL จากนั้นเติมน้ำให้ครบ 50 µL เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่อง thermal cycler (Analytikjena, Biometra, USA) โดยตั้งโปรแกรม initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 5 นาที จำนวน 1 รอบ และอุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 30 วินาที อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 30 วินาที และ 72 °C เป็นเวลา 45 วินาที จำนวน 35 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 7 นาที จำนวน 1 รอบ ตรวจสอบผลการสังเคราะห์ดีเอ็นเอหลังจากการทำ PCR ด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิสใน 1.2 % agarose gel และ 1X TAE buffer จากนั้นตรวจดูแถบดีเอ็นเอบน UV-transilluminator

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลและการจัดทำแผนที่ด้วยระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์

การวิเคราะห์ข้อมูลและการจัดทำแผนที่ด้วยระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน คือ (1) การลงพื้นที่เพื่อทำการสำรวจข้อมูลตามแปลงปลูกอ้อยของแต่ละตำบลในอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว ด้วยเครื่อง GPS และบันทึกค่าพิกัดข้อมูลลงในฐานข้อมูลที่ได้ออกแบบไว้ พร้อมทั้งถ่ายภาพลักษณะแปลงปลูกรวมทั้งอ้อยที่แสดงอาการโรคใบขาวเพื่อใช้ประกอบการจัดทำฐานข้อมูลใน

รูปแบบระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ (2) การรวบรวมข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการสำรวจทุกแปลงของทุกตำบลในอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว ให้อยู่ในรูปแบบและพิกัดเดียวกัน (3) การนำเข้าข้อมูล ทั้งข้อมูลพิกัดเชิงพื้นที่และข้อมูลเชิงบรรยายเกี่ยวกับตัวอย่างการเกิดโรคใบขาว รวมทั้งมีการตรวจสอบข้อมูลและแก้ไขข้อมูลให้มีความถูกต้อง และ (4) จัดทำแผนที่การพบโรคใบขาวอ้อยในอำเภออรัญประเทศ สำหรับการประยุกต์ใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์โดยการสร้างแผนที่การพบโรคใบขาวอ้อยนั้น คณะผู้วิจัยได้ยืนยันตัวอย่างอ้อยที่เป็นโรคใบขาวด้วยการนำตัวอย่างมาตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยด้วยเทคนิค PCR และถ้าตัวอย่างนั้นเกิดผลบวกในปฏิกิริยา PCR จึงนำมาเชื่อมโยงกับข้อมูลเชิงพื้นที่ เพื่อให้ทราบตำแหน่งการพบโรคใบขาวอ้อยในแต่ละแปลงแบบรายตำบลของแต่ละพื้นที่ของการศึกษาวิจัย

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

การประยุกต์ใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการนำเสนอข้อมูลการสำรวจพบโรคใบขาวในแปลงปลูกอ้อยของอำเภออรัญประเทศ อีกทั้งสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการสำรวจโรคใบขาวมาจัดทำเป็นฐานข้อมูลที่ใช้ในการติดตาม ตรวจสอบของหน่วยงานภาครัฐหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการบริหารจัดการ และวางแผนเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของโรคใบขาวอ้อยในปีต่อ ๆ ไป ทั้งนี้ได้สำรวจโรคใบขาวและเก็บค่าพิกัดในรูปแบบ UTM (universal transverse mercator) ของแปลงปลูกอ้อยทั้ง 11 ตำบล ที่เป็นแหล่งปลูกอ้อยของอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแปลงอ้อยตอ และหากในพื้นที่ศึกษาพบอ้อยที่แสดงอาการใบขาวในแปลงจะเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบยืนยันเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค PCR สำรวจแปลงปลูกอ้อยทั้งหมด 57 แปลง พบโรคใบขาว 13 แปลง ในพื้นที่ศึกษาของ 7 ตำบล (ตารางที่ 1) เก็บพิกัดภูมิศาสตร์ของต้นอ้อยที่เป็นโรคใบขาวในแปลงของแต่ละตำบลเพื่อจัดทำแผนที่การพบโรค จากนั้นนำตัวอย่างใบอ้อยที่แสดงอาการใบบริเวณยอดอ่อนมีสีขาวซีดทั้งใบ ใบเรียวเล็ก ต้นแคระแกร็น และบางพื้นที่มีลักษณะอาการใบอ่อนขาวซีดเกือบทั้งใบปะปนกับใบเหลือง มาตรวจสอบยืนยันการพบเชื้อไฟโตพลาสมาโดยวิเคราะห์ส่วนของยีน *16S rRNA* และผลจากการตรวจสอบด้วย gel electrophoresis แสดงดังรูปที่ 1 จากนั้นเปรียบเทียบค่าความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) จากตัวอย่างอ้อยที่เป็นโรคใบขาวของตำบลต่าง ๆ มาเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลเพื่อระบุเชื้อไฟโตพลาสมาชนิดเดียวกัน ผลการเปรียบเทียบพบค่าความเหมือนระหว่าง 98-99 % ระบุเป็นเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย ดังนั้นตัวอย่างอาการใบขาวที่เกิดผลบวกกับปฏิกิริยา PCR จากตำบลหันทราย ตำบลทับพริก ตำบลคลองน้ำใส ตำบลหนองสังข์ ตำบลเมืองไผ่ ตำบลคลองทับจันทร์ และตำบลผ่านศึก สามารถยืนยันว่าเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย มีรายงานว่าการตรวจสอบโรคใบขาวด้วยเทคนิค PCR และ nested PCR เป็นวิธีการที่นิยมนำมาใช้ตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เนื่องจากสามารถตรวจสอบดีเอ็นเอของเชื้อไฟโตพลาสมาได้อย่างแม่นยำและมีประสิทธิภาพเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในการตรวจสอบเชื้อเมื่อต้องการตรวจสอบท่อนพันธุ์อ้อยปลอดโรคหรือเชื้อสาเหตุในแมลงพาหะ [10-12] เมื่อทราบข้อมูลจากการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการแล้วจึงจัดทำแผนที่เพื่อดูการระบาดของโรคใบขาวอ้อยแบบรายตำบลที่สำรวจพบโรค เพื่อดูการแพร่กระจายของโรคในพื้นที่ โดยสามารถแบ่งจำนวนแปลงอ้อยที่พบโรคตามรายตำบล

ต่าง ๆ ได้ดังนี้ สำรวจแปลงปลูกอ้อยตอปีที่ 2 ของตำบลหันทราย 2 แปลง พบอ้อยที่แสดงอาการของโรคใบขาวทั้ง 2 แปลง คิดเป็นร้อยละ 100 อ้อยแสดงลักษณะอาการใบบริเวณยอดมีสีขาวซีดทั้งใบ ใบเรียวเล็ก ลำต้นแคระแกร็น นอกจากนี้ยังพบโรคใบขาวในต้นอ้อยกระจายทั่วทั้งแปลงของพื้นที่ศึกษา คาดว่าเกิดจากการติดเชื้อไฟโตพลาสจากท่อนพันธุ์อ้อยที่นำมาปลูกในแปลง ซึ่งตำบลหันทรายมีพื้นที่ปลูกอ้อยน้อย เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่ปลูกข้าวและมันสำปะหลัง ทำให้มีพื้นที่ในการสำรวจอ้อยน้อยกว่าในทุกตำบลของอำเภออรัญประเทศ ส่วนตำบลหนองสังข์สำรวจแปลงอ้อยตอ 5 แปลง พบอ้อยที่แสดงอาการโรคใบขาว 1 แปลง คิดเป็นร้อยละ 20 ของพื้นที่ศึกษา โดยอ้อยแสดงอาการใบขาว 4-5 กอ ใบอ้อยมีลักษณะสีขาวซีดทั้งใบอ่อนและใบแก่ตลอดทั้งต้น ต้นแคระแกร็น ส่วนค่าพิกัดทางภูมิศาสตร์ของต้นอ้อยที่เป็นโรคใบขาวของทั้ง 2 ตำบล แสดงในแผนที่การพบโรคในรูปที่ 2 จากนั้นสำรวจแปลงอ้อยตอที่ปลูกในตำบลคลองน้ำใส 5 แปลง พบอ้อยที่แสดงอาการโรคใบขาว 2 แปลง คิดเป็นร้อยละ 40 พบอ้อยที่ปลูกในแปลงที่สำรวจแสดงอาการของโรคใบขาวกระจายทั่วแปลงในแถวเดียวกัน คาดว่าเกิดจากการติดเชื้อจากท่อนพันธุ์ที่นำมาปลูก เนื่องจากเกษตรกรนำท่อนพันธุ์มาจากแหล่งอื่น ส่วนสภาพแวดล้อมของแปลงนั้นไม่แตกต่างกันเนื่องจากทั้ง 5 แปลง ปลูกในพื้นที่ใกล้กัน (รูปที่ 3)

เกษตรกรส่วนใหญ่ในตำบลทับพริกและตำบลผ่านศึกมีการปลูกพืชไร่ที่สำคัญ ได้แก่ ข้าวโพด และอ้อย ผลการสำรวจแปลงอ้อยตอในตำบลทับพริก 5 แปลง พบอ้อยที่เป็นโรคใบขาว 2 แปลง คิดเป็นร้อยละ 40 ของพื้นที่ศึกษา สำรวจพบโรคใบขาวในอ้อย 3-4

Table 1 Detection of sugarcane white leaf (SCWL) collected from infected sugarcane grown in eleven sub-districts at Aranyaprathet district, Sakaeo province using PCR technique

Location (sub-districts)	No. of field surveyed	No. of field infected by SCWL	PCR detection
Han sai	2	2	+
Thap Phrik	5	2	+
Klong Nam Sai	5	2	+
Nong Sang	5	1	+
Mueang Phai	5	1	+
Klong Thap Chan	5	3	+
Ban Dan	5	0	-
Phan Suek	5	1	+
Fak Huai	5	0	-
Tha Kham	5	0	-
Pa Rai	10	1	-
Total	57	13	12

+ = positive results with PCR detection

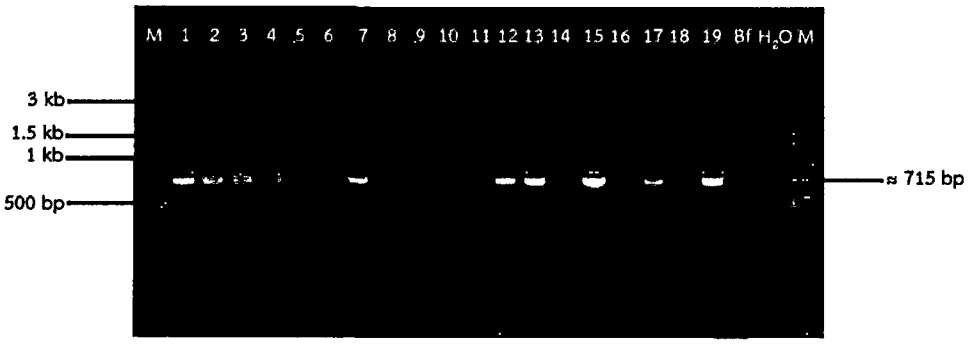

Figure 1 PCR amplification of 16S-23S rRNA intrgenic spacer region (ISR) from selected sugarcane white leaf samples in each sub district at Aranyaprathet district, Sakaeo province with primer MLO-X/MLO-Y. M = DNA marker (100 bp DNA Ladder), Lanes 1-2 DNA from sugarcane collected from Han sai sub-district, Lanes 3-4 DNA from sugarcane collected from Thap Phrik sub-district, Lane 5-6 DNA from sugarcane collected from Klong Nam Sai sub-district, Lanes 7 and 17 DNA from sugarcane collected from Nong Sang sub-district, Lanes 8-11 DNA from sugarcane collected from Pa Rai sub-district, Lanes 12 DNA from sugarcane collected from Mueang Phai sub- district, Lanes 13 DNA from sugarcane collected from Klong Thap Chan sub-district, Lanes 14 DNA from sugarcane collected from Ban Dan sub-district, Lanes 15 DNA from sugarcane collected from Phan Suek sub-district, Lanes 16 DNA from sugarcane collected from Fak Huai sub-district, Lanes 18 DNA from sugarcane collected from Tha Kham sub-district, Lanes 19 DNA from sugarcane white leaf (SCWL, positive control), BF= buffer (negative control) and H_2O = distilled water (negative control)

กอต่อแปลง ซึ่งในตำบลนี้สำรวจอ้อยในระยะแตกกอ จากนั้นนำตัวอย่างที่แสดงอาการใบขาวมาตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในห้องปฏิบัติการ พบว่าทุกตัวอย่างเกิดผลบวกกับการทดสอบด้วยเทคนิค PCR จากนั้นทำแผนที่แสดงการระบาดของโรคโดยเก็บพิกัดกออ้อยที่เกิดโรคใบขาวของตำบลทับพริก ส่วนตำบลผ่านศึกสำรวจอ้อยตอ 5 แปลง พบอ้อยที่แสดงอาการโรคใบขาว 1 แปลง คิดเป็นร้อยละ 20 ซึ่งอ้อยที่ปลูกในตำบลนี้ยังไม่พบการระบาดของโรคที่รุนแรง สำรวจพบอ้อยที่เป็นโรคเพียง 2 กอ เท่านั้น เกษตรกรควรทำลายและนำต้นที่เป็นโรคออกจากพื้นที่เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของโรคไปยังบริเวณอื่น คาดว่าน่าจะติดเชื้อจากท่อนพันธ์ที่นำมาปลูก เมื่อเก็บตัวอย่างใบขาวมาตรวจสอบยืนยันเชื้อสาเหตุของโรคพบว่าเกิดผลบวกกับปฏิกิริยา PCR ทุกตัวอย่าง จากนั้นนำผลการทดสอบมาแสดงในแผนที่ภูมิสารสนเทศและเก็บพิกัดแปลงที่เก็บตัวอย่างแบบ UTM แสดงในรูปที่ 4 พบว่าแปลงปลูกอ้อยของทั้งสองตำบลนี้ยังไม่มีการระบาดของโรคใบขาวที่รุนแรง เกษตรกรควรเลือกใช้ท่อนพันธุ์อ้อยที่ปลอดโรคมาปลูก ส่วนอ้อยที่เป็นโรคควรนำออกจากแปลงเพื่อไม่ให้เกิดการแพร่กระจายของโรคไปยังพื้นที่ปลูกอื่นต่อไป

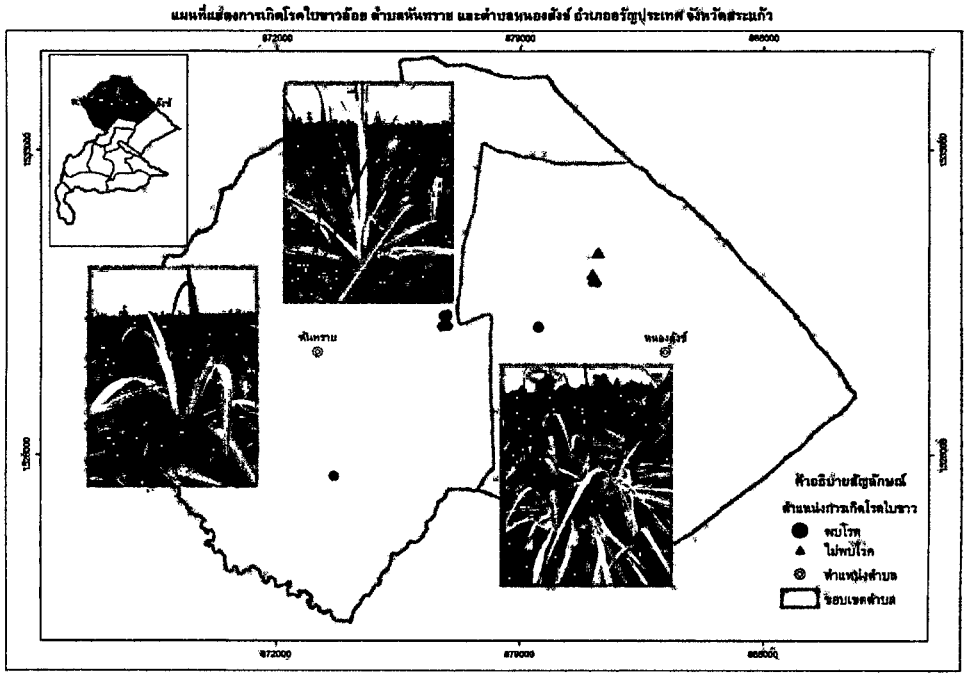

Figure 2 Map showing area of sugarcane white leaf in Han sai and Nong Sang sub distiricts, Aranyaprathet district, Sakaeo province

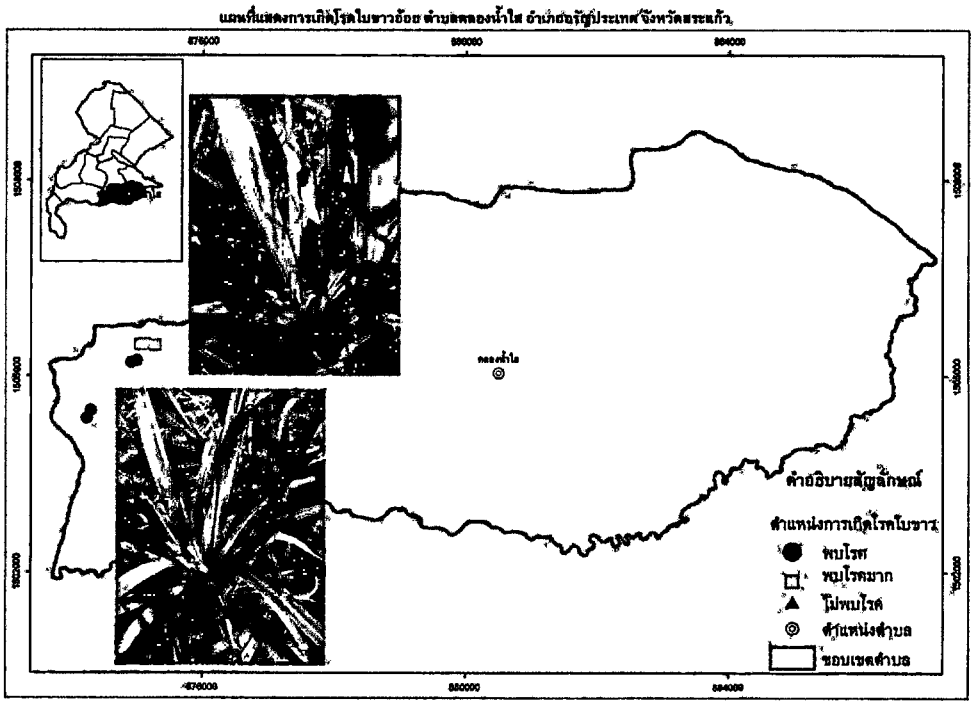

Figure 3 Map showing area of sugarcane white leaf in Klong Nam Sai sub-district, Aranyaprathet district, Sakaeo province

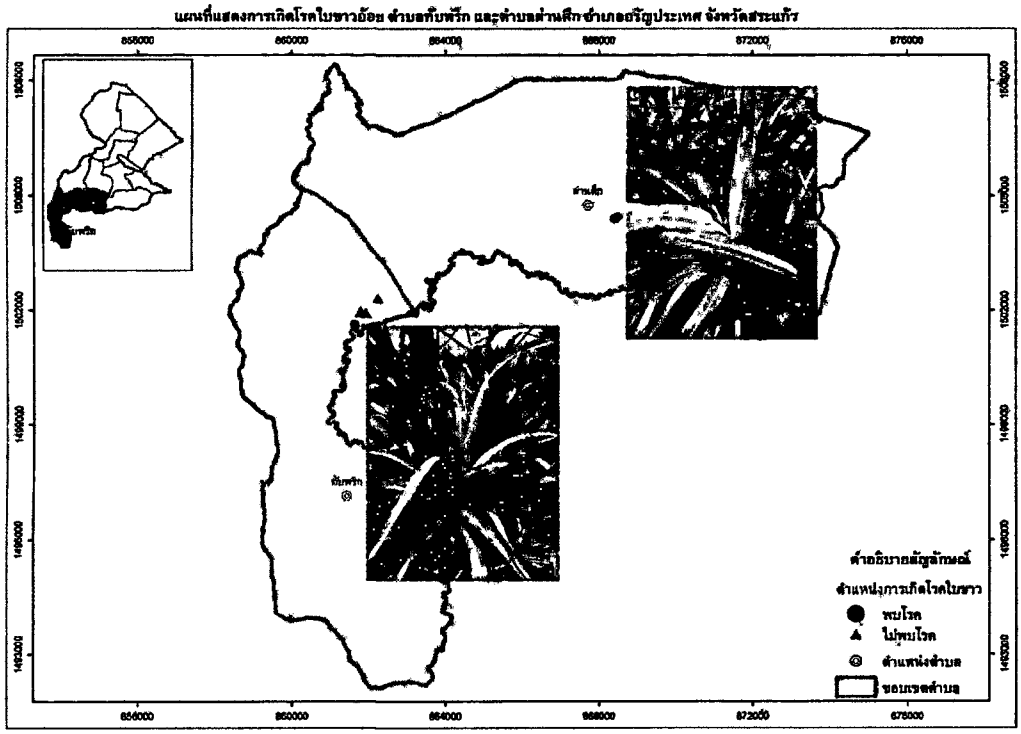

Figure 4 Map showing area of sugarcane white leaf in Thap Phrik and Phan Suek sub-districts, ranyaprathet district, Sakaeo province

สำรวจอ้อยตอที่ปลูกในเขตตำบลคลองทับจันทร์และตำบลเมืองไผ่ ตำบลละ 5 แปลง รวมแปลงอ้อย 10 แปลง พบอ้อยที่เป็นโรคใบขาวดังนี้ แปลงที่ศึกษาของตำบลคลองทับจันทร์พบอ้อยที่เป็นโรคใบขาว 3 แปลง ส่วนในตำบลเมืองไผ่พบอ้อยที่เป็นโรคใบขาว 1 แปลง อ้อยที่ติดเชื้อไฟโตพลาสมาแสดงลักษณะอาการใบอ่อนขาวซีดเกือบทั้งใบปะปนกับใบเหลือง ภายหลังจากนำตัวอย่างที่แสดงอาการใบขาวมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่าทุกตัวอย่างเป็นโรคใบขาวที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย เมื่อนำผลการทดสอบมาจัดทำแผนที่ภูมิสารสนเทศการระบาดของโรครายตำบลโดยเก็บพิกัดแปลงและต้นอ้อยที่เป็นโรคใบขาวแสดงในรูปที่ 5 ผลการสำรวจพบว่าพื้นที่ปลูกอ้อยตอในเขตตำบลคลองทับจันทร์มีจำนวนแปลงที่พบโรคใบขาวมากที่สุด คาดว่าติดจากท่อนพันธุ์ที่เกษตรกรนำมาปลูก ดังนั้นเพื่อไม่ให้โรคมีการแพร่ระบาดกระจายออกไปยังพื้นที่ปลูกอ้อยใกล้เคียง เกษตรกรควรทำลายท่อนพันธุ์ที่เป็นโรคและไม่นำท่อนพันธุ์ดังกล่าวไปขยายพันธุ์ และได้สำรวจอ้อยตอที่ปลูกในตำบลอื่น ๆ อีก 4 ตำบล ได้แก่ ตำบลบ้านด่าน ตำบลฟากห้วย และตำบลท่าข้าม ตำบลละ 5 แปลง รวม 15 แปลง ไม่พบอ้อยที่แสดงอาการใบขาว โดยได้สุ่มเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบโรคด้วยเทคนิค PCR พบว่าอ้อยที่ปลูกในพื้นที่ดังกล่าวยังปลอดจากเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาว และสำรวจอ้อยตอที่ปลูกในตำบลป่าไร่ 10 แปลง พบอ้อยที่แสดงอาการใบขาวซีดบริเวณส่วนยอด 1 กอ แต่เมื่อนำตัวอย่างดังกล่าวมาตรวจสอบโรคด้วยเทคนิค PCR ในห้องปฏิบัติการพบว่าไม่เกิดผลบวก ดังนั้นจึงยังไม่พบโรคใบขาวในแปลงปลูกอ้อยของพื้นที่ที่ศึกษาในตำบลป่าไร่

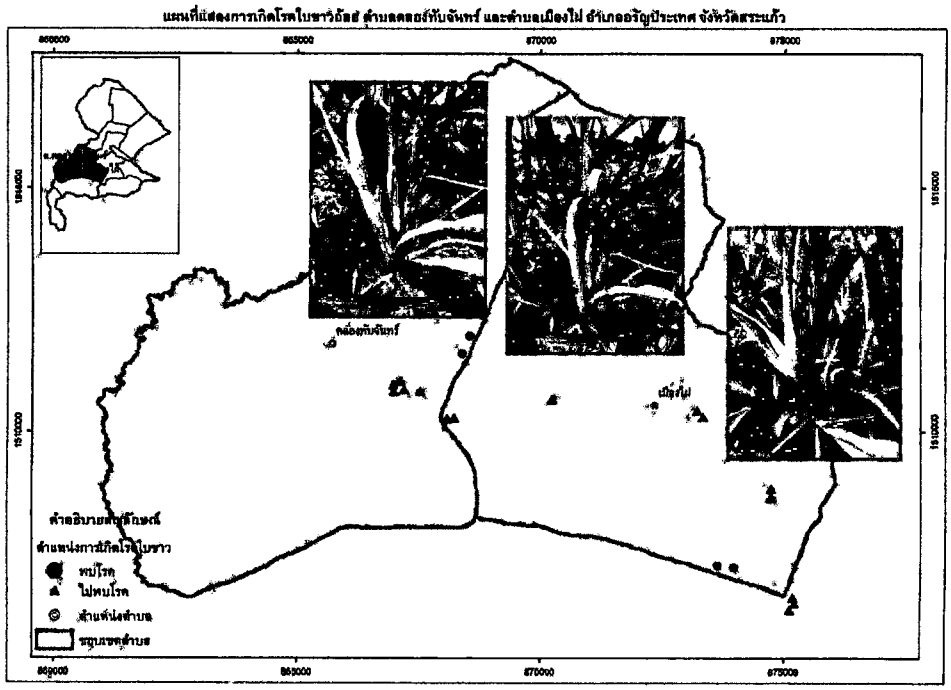

Figure 5 Map showing area of sugarcane white leaf in Klong Thap Chan and Mueang Phai sub-districts, Aranyaprathet district, Sakaeo province

ผลการศึกษาดังกล่าวพบว่าพื้นที่ปลูกอ้อยในตำบลต่าง ๆ ของอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว ที่ศึกษา 57 แปลง พบการระบาดของโรคใบขาวอ้อย 13 แปลง คิดเป็นร้อยละ 23 ของพื้นที่ที่ศึกษาทั้งหมด พบอ้อยที่เป็นโรคแสดงลักษณะอาการใบบริเวณยอดอ่อนมีสีขาวซีดทั้งใบ ใบเรียวเล็ก ต้นแคระแกร็น และบางพื้นที่มีลักษณะอาการใบอ่อนขาวซีดเกือบทั้งใบปะปนกับใบเหลือง นอกจากนี้ยังสำรวจพบอาการใบขาวรุนรงในอ้อยตอที่ปลูกของตำบลหนองสังข์ 4-5 กอ พบว่าบริเวณใบจะมีสีขาวซีดทั้งใบอ่อนและใบแก่ตลอดทั้งกอ คาดว่าเชื้อไฟโตพลาสมาติดมากับท่อนพันธุ์ ซึ่งหากเกษตรกรใช้ท่อนพันธุ์ที่ติดโรคมาขยายพันธุ์ปลูกต่อไปจะทำให้การแพร่กระจายของโรคเป็นไปอย่างกว้างขวางและรวดเร็ว ดังนั้นเกษตรกรควรทำลายหรือกำจัดอ้อยที่เป็นโรคออกจากแปลงและควรนำท่อนพันธุ์ที่ปลอดโรคมาปลูก มีรายงานโดย Taweekull และคณะ [2] และ Parmessure และคณะ [13] พบว่าการผลิตท่อนพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากยอดอ่อน (apical meristem culture) โดยนำอ้อยที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาเลี้ยงอนุบาลในโรงเรือนป้องกันแมลงก่อนนำไปปลูกในสภาพแปลงปลูก และการปลูกอ้อยปลอดโรคใบขาวห่างจากแปลงปลูกอ้อยอื่นประมาณ 1 กิโลเมตร หรือมากกว่า สามารถไว้ตอ 3-4 ตอ จะพบโรคใบขาวน้อยกว่า 1 % นอกจากนี้เชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยยังสามารถถ่ายทอดเชื้อจากต้นอ้อยที่เป็นโรคไปยังต้นอ้อยปกติโดยผ่านทางแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* ซึ่งเชื้อสามารถเพิ่มปริมาณภายในตัวแมลงและถ่ายทอดเชื้อจากรุ่นพ่อแม่ไปยังแมลงรุ่นลูกต่อ ๆ ไปผ่านทางไข่ได้ด้วย [14-16] และปัจจัยสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ความชื้น อุณหภูมิ พืชอาหาร และศัตรูธรรมชาติ ก็มีส่วนสำคัญต่อการระบาดของโรคใบ

ขาวและแมลงพาหะด้วย นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาการของโรคและจำนวนประชากรของแมลงในพื้นที่ [17] ปัจจุบันมีวิธีการป้องกันกำจัดโรคใบขาวในหลากหลายวิธีด้วยการใช้สารเคมี การแช่ท่อนพันธุ์อ้อยด้วยความร้อน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อผลิตอ้อยปลอดโรค การเขตกรรม รวมทั้งการปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อตัดวงจรของโรคและแหล่งอาหารของแมลงพาหะ ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นการจัดการเพื่อลดความรุนแรงและการระบาดของโรคใบขาวเท่านั้น ดังนั้นการเลือกท่อนพันธุ์ที่ปลอดโรคมาปลูกจึงเป็นวิธีการจัดการเบื้องต้นที่สำคัญ ซึ่งปัจจุบันยังไม่พบพันธุ์อ้อยที่สามารถต้านทานต่อโรคใบขาว ส่วนการควบคุมแมลงพาหะก็เป็นอีกหนทางหนึ่งที่สามารถลดการเข้าทำลายของโรค มีรายงานโดย Huadprasit และคณะ [18] ซึ่งพบว่าการควบคุมเพลี้ยจักจั่น (*M. Hiroglyphicus*) ซึ่งเป็นแมลงพาหะนำโรคใบขาวด้วยชีววิธีด้วยรา *Metarhizium* sp. BCC30455 และ *Beauveria bassiana* BCC26682 ทำลายเพลี้ยจักจั่นได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 44 และ 45 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าในบางพื้นที่ปลูกอ้อยของอำเภออรัญประเทศยังไม่พบการแพร่ระบาดของโรคใบขาว ดังนั้นเกษตรอำเภอหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรให้คำแนะนำเกษตรกรได้ทราบถึงปัญหาที่สำคัญของโรคใบขาวที่จะก่อให้เกิดความเสียหายและส่งผลให้อ้อยสูญเสียผลผลิต รวมทั้งวิธีการจัดการโรคเพื่อลดการแพร่ระบาดของโรคและไม่นำท่อนพันธุ์ที่ติดโรคไปขยายพันธุ์ต่อยังพื้นที่อื่น ส่วนแหล่งปลูกที่มีการระบาดหรือพบโรคควรรีบดำเนินการจัดการโรคในเบื้องต้น เช่น การกำจัดอ้อยที่เป็นโรคออกจากแปลงหรือไม่นำไปขยายพันธุ์ต่อ การปลูกพืชหมุนเวียน และการปรับรุงบำรุงดิน แล้วจึงนำท่อนพันธุ์ที่ปลอดโรคมาปลูกต่อไป

4. สรุป

สำรวจพบอ้อยที่เป็นโรคใบขาว 13 แปลง ในพื้นที่ปลูกอ้อยของตำบลหันทราย ตำบลทับพริก ตำบลคลองน้ำใส ตำบลหนองสังข์ ตำบลเมืองไผ่ ตำบลคลองทับจันทร์ และตำบลผ่านศึก ตรวจสอบยืนยันการพบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวโดยวิเคราะห์ส่วนของยีน *16S rRNA* ด้วยเทคนิค PCR ในห้องปฏิบัติการ และนำผลการทดสอบมาประยุกต์ใช้ร่วมกับระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์สามารถสร้างแผนที่การระบาดของโรคใบขาวอ้อยในแหล่งปลูกอ้อยแบบรายตำบลของอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการศึกษาดังกล่าวเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญและมีประโยชน์ต่อการวางแผนการปลูกอ้อยและการจัดการโรคใบขาวเพื่อหลีกเลี่ยงแหล่งที่มีการระบาดของโรคไปยังพื้นที่ปลูกอื่น ตลอดจนสามารถนำไปใช้เป็นระบบสนับสนุนการตัดสินใจของหน่วยงานที่เกี่ยวข้องหรือเกษตรอำเภอ เพื่อวางแผนการปลูกอ้อยให้เหมาะสมตามพื้นที่ หลีกเลี่ยงแหล่งปลูกที่มีการระบาดและสะสมของเชื้อโรค รวมทั้งการหาวิธีการจัดการโรคอย่างยั่งยืน และไม่นำท่อนพันธุ์อ้อยที่เป็นโรคไปปลูกในแหล่งอื่นต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันยุทธศาสตร์ทางปัญญาและวิจัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โครงการวิจัยเงินรายได้มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2561 (เลขที่สัญญา 121/2562)

6. References

[1] Office of Cane and Sugar Board, Annual Report, Available Source: http://www.ocsb.go.th/upload/journal/fileupload/923-9040.pdf, January 20, 2020. (in Thai)

[2] Taweekull, N., Sansayawichai, T. and Kirasak, K., 2012, Sugar cane white leaf disease management through phyto plasma-free seed cane, Khon Kaen Agric. J. 40(Suppl. 3): 241-248. (in Thai)

[3] Hanboonsong, Y., Ritthison, W., Choosai, C. and Sirithorn, P., 2006, Transmission of sugarcane white leaf phytoplasma by *Yamatotettix flavovittatus*, a new leaf hopper vector, J. Econ. Entomol. 99: 1531-1537.

[4] Jantasorn, A., Kosuwan, S., Somrit, M., Saepaisal, S. and Oiuphisittraiwat, T., 2017, Application of Geographic information system for determining the distribution of papaya ringspot virus in commercial papaya plantation area at Sakaeo province, SWU Sci. J. 33(1): 73-85. (in Thai)

[5] Bunlue, B., 2010, Applications of Geo-informatics in monitoring forest land use changes in Khao Ang Rue Nai Wildlife Sanctuary, Master's Thesis, Kasetsart University, Bangkok, 100 p. (in Thai)

[6] Doydee, P. and Waesorn, S. 2015, Applica tion of geographic information system for selected commercial crop zonation mapping in Nong Han Luang, Sakon Nakhon province, Thailand, pp. 1552-1560, The 53th Kasetsart University Annual Conference, Bangkok. (in Thai)

[7] Michael, L. and Amy, C., 2013. ArcGIS for Desktop. 1st Ed., Esri Press, New York.

[8] Thayaping, P. and Suttiprapan, P., 2015, Geo- information technology application for studying species diversity and distribution of arabica coffee insect pests in Chiangm Mai and Chiang Rai provinces, J. Agric. 3(2): 203-213. (in Thai)

[9] Hanboonsong, Y., Ritthison, W. and Choosai, C., 2005, Molecular detection and transmission of sugarcane white leaf phytoplasma on leafhoppers, KKU Res. J. 10(1): 13-21. (in Thai)

[10] Gundersen, D. and Lee, I.M., 1996, Ultra sensitive detection of phytoplasma by nested PCR assays using two universal primer pairs, Phytopath. Medit. 35: 114-151.

[11] Khan, J.A., Srivastava, P. and Singh, S.K., 2004, Efficacy of nested PCR for the detection of phytoplasma causing spike disease of sandal, Curr. Sci. 86: 1530-1533.

[12] Srivastava, S., Singh, V., Gupta, P.S., Sinha, O. K. and Baitha, A., 2006, Nested PCR assay for detection of sugarcane grassy shoot phytoplasma in the leafhopper vector *Deltocephallus vulgaris*, a first report. Plant Pathol. 55: 25-28.

[13] Parmessure, Y., Aljanabi, S., Saumtally, S. and Dookum-Saumtally, A., 2002, Sugarcane yellow leaf virus and sugarcane yellow phytoplasma: Elimination by tissue culture, Plant Pathol. 51: 561-566.

[14] Chen, C. T. , 1973, Insect transmission sugarcane white leaf disease by single leafhopper *Matsumuratettix hiroglyphicus*

(Matsumura), Taiwan Sugar Rec. Inst. 60: 25-33.

[15] Chen, C.T., 1978, Vector pathogen relation ships of sugarcane white leaf disease, Taiwan Sugar J. 25: 50-54.

[16] Hanboonsong, Y., Choosai, C., Panyim, S. and Damak, S., 2002, Transovarial trans mission of sugarcane white leaf phyto plasma in the insect vector *Matsumura tettix hiroglyphicus* (Matsumura), Insect Mol. Biol. 11: 97-103.

[17] Rattanaboontha, C., Hanboonsong, Y. and Khibsuwan, W., 2012, Logistic regression model for forecasting sugarcane white leaf disease, Khon Kaen Agric. J. 40(Suppl.): 443-448. (in Thai)

[18] Huadprasit, J., Wangkeeree, J. and Hanboonsong, Y., 2017, Efficiency of Metarhizium and Beauveria to control the leafhopper vector, *Matsumuratettix hiro glyphicus*, of sugarcane white leaf, Thai Sci. Technol. J. 25(3): 467-478. (in Thai)