

ผลของอุณหภูมิต่อแมลงพาหะ *Matsumuratettix hiroglyphicus* นำโรคใบขาวอ้อย

Effect of temperatures on insect vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* associated with sugarcane white leaf disease

ชานันท์ แก้วมณี¹, ยูพา หาญบุญทรง^{1*} และ ทศนีย์ แจ่มจรรยา¹

Chananat Kaewmanee¹, Yupa Hanboonsong^{1*} and Tasanee Jamjanya¹

บทคัดย่อ: โรคใบขาวอ้อยเป็นโรคที่สำคัญต่อการปลูกอ้อย มีสาเหตุจากเชื้อไฟโตพลาสมาซึ่งมีเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* เป็นแมลงพาหะนำโรค อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญต่อการพัฒนาโรคและประสิทธิภาพในการถ่ายทอดเชื้อของแมลงพาหะ ทั้งเพศเมียและเพศผู้ วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอุณหภูมิห้อง (26°C), 20°C, 25°C, 30°C และ 35°C ต่อการเจริญเติบโตของเพลี้ยจักจั่น *M. hiroglyphicus* และปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะ ผลศึกษาพบว่าวงจรชีวิตจากระยะไข่ถึงระยะตัวอ่อนที่อุณหภูมิ 35°C มีวงจรชีวิตสั้นที่สุดคือ 21.34±2.06 วัน เช่นเดียวกับตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาจากแมลงพาหะเพศเมียและเพศผู้ที่มีมากที่สุดที่อุณหภูมิ 35°C คือ 75% และ 65% อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิห้อง ปริมาณของเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะเพศเมียและเพศผู้พบมากที่สุดคือ 31.34x10⁶±20.50x10⁶ และ 19.52x10⁶±11.66x10⁶ copies/ไมโครลิตรของ DNA แมลง จากงานวิจัยนี้พบว่าอุณหภูมิห้อง (26°C) เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมของเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวอ้อยในการเจริญเติบโตในตัวแมลง ในขณะที่อุณหภูมิ 35°C มีผลต่อการเจริญพันธุ์ของแมลงพาหะที่เร็วขึ้นและมีการแพร่กระจายของเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะมากกว่าอุณหภูมิที่ต่ำกว่า

คำสำคัญ: แมลงพาหะ, เชื้อไฟโตพลาสมา, อ้อย, อุณหภูมิ

ABSTRACT: Sugarcane white leaf (SCWL) disease is a major disease of sugarcane production, associated with phytoplasma which transmitted to sugarcane by the leafhopper *M. hiroglyphicus*. Temperature is an important factor for the disease development and the disease transmission efficiency by females and males of insect vector. Therefore, the objectives of this study was to evaluate the effect of the different temperatures (room temperature(26°C), 20°C, 25°C, 30°C and 35°C) on the development of leafhopper *M. hiroglyphicus* and quantification of SCWL phytoplasma in insect vector. The results showed the life cycle from egg to nymph stage was a shortest at 35°C for 21.34±2.06 days. In addition, the presence of SCWL phytoplasma at 35°C was highest in female and male insect vectors at 75% and 65%. However, phytoplasma at the room temperature, infected female and male leafhopper insects had the highest detectable amount of SCWL phytoplasma at 31.34x10⁶±20.50x10⁶ and 19.52x10⁶±11.66x10⁶ copies/μl of insect DNA. These results suggested that the conditions for the development of the phytoplasma are optimum at the lower temperature. This suggested that the temperature is an important factor both in the speed of reproduction of the insect vector (higher temperature) and the multiplication of the SCWL phytoplasma in this insect vector, though at a lower optimum temperature.

Keywords: insect vector, phytoplasma, sugarcane, temperature

¹ สาขากีฏวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

Entomology Division, Department of Plant science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, 40002

* Corresponding author: yupa_han@kku.ac.th

บทนำ

โรคใบขาวอ้อย (Sugarcane White Leaf Disease: SCWL) เป็นโรคที่สำคัญและทำความเสียหายต่อการปลูกอ้อยและการผลิตน้ำตาลในประเทศไทย โดยมีสาเหตุจากเชื้อไฟโตพลาสมา อ้อยแสดงอาการใบขาวซีดเนื่องจากสูญเสียคลอโรฟิลล์และอ้อยแตกกอเป็นพุ่มจำนวนมาก (Chen, 1974; Wongkaew et al., 1997) การแพร่กระจายของโรคใบขาวอ้อยมีสาเหตุจากการกระจายท่อนพันธุ์ที่มีเชื้อแฝงอยู่เข้าไปปลูกในแหล่งอื่นๆ และแมลงพาหะนำโรค ได้แก่ เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) และ เพลี้ยจักจั่นหลังขาว *Yamatotettix flavovittatus* (Matsumura) เพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* เป็นแมลงพาหะหลักที่สำคัญซึ่งพบการระบาดมากในช่วงฤดูฝนที่ต้นอ้อยอยู่ในช่วงระยะของการเจริญเติบโตประมาณอายุ 5-6 เดือน และมีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรคใบขาวได้สูงกว่าเพลี้ยจักจั่นหลังขาว *Y. flavovittatus* (Hanboonsong et al., 2006) ซึ่งกลไกการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาของแมลงพาหะเพลี้ยจักจั่นลายจุดสีน้ำตาล *M. hiroglyphicus* จากต้นอ้อยเป็นโรคไปยังต้นอ้อยปกติโดยการเพิ่มปริมาณเชื้อภายในตัวแมลงพาหะและสามารถถ่ายทอดเชื้อจากรุ่นพ่อแม่ไปยังรุ่นลูกและรุ่นต่อไป โดยผ่านทางไข่ได้ (Hanboonsong et al., 2002) แมลงพาหะนำเชื้อไฟโตพลาสมาของอ้อยจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากอ้อยในบริเวณท่ออาหาร (phloem) และถ่ายทอดเชื้อสู่ต้นอ้อยในบริเวณดังกล่าวและเชื้อจะกระจายไปส่วนต่างๆ ของอ้อย การถ่ายทอดเชื้อของแมลงพาหะมีขั้นตอนในการถ่ายทอดเชื่อดังนี้คือ การรับเชื้อ (acquisition access period) การบ่มเชื้อ (incubation access period, latent period) และการถ่ายเชื้อหรือการทำให้ติดเชื้อ (inoculation period) (Christensen et al., 2005; Weintraub and Beanland, 2006) จึงจะทำให้มีการระบาดของโรค การระบาดวิทยาของโรคนั้นขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่าง แมลงพาหะ เชื้อ

โรค และพืชอาศัย รวมทั้งสภาพภูมิอากาศก็เป็นตัวสำคัญที่เอื้ออำนวยให้การพัฒนาของโรคได้รวดเร็วขึ้น อาทิเช่น อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ เป็นต้น อุณหภูมินอกจากมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของแมลงแล้ว อุณหภูมิยังเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายทอดโรคของแมลงพาหะซึ่งมีอย่างน้อย 4 อย่างคือ 1) การเพิ่มปริมาณของเชื้อภายในพืชอาศัย 2) การเพิ่มจำนวนของเชื้อภายในตัวแมลงพาหะ 3) การติดเชื้อและกระจายเชื้อในพืชอาศัย และ 4) พฤติกรรมของแมลงพาหะ เช่น อัตราการกินอาหาร และการเคลื่อนที่ เป็นต้น (Daugherty et al., 2009; Tedeschi and Alma, 2004; Weintraub and Beanland, 2006) ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้คือการศึกษาผลของอุณหภูมิต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* และปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะ ซึ่งทำให้ทราบถึงการระบาดของแมลงพาหะและการแพร่กระจายของเชื้อไฟโตพลาสมาในอุณหภูมิต่างๆ เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมและการจัดการโรคใบขาวอ้อย

วิธีการศึกษา

การเจริญเติบโตของแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* ที่อุณหภูมิต่างๆ

การเก็บรวบรวมตัวเต็มวัยแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* มาจากแปลงอ้อย อ.โนนสะอาด จ.อุดรธานี ช่วงเดือนมิถุนายน - ตุลาคม พ.ศ.2554 โดยใช้กับดักแสงไฟระหว่างช่วงเวลา 18:00-20:00 น. เพื่อนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 นำแมลงพาหะจับคู่เพศเมีย:เพศผู้ เท่ากับ 5:5 ตัว ไปเลี้ยงในต้นอ้อยที่ปลูกในกระถางขนาด 4 นิ้วครอบด้วยกรงพลาสติกใสและวางในอุณหภูมิห้อง (เลี้ยงในสภาพธรรมชาติ) และตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 20, 25, 30 และ 35°C ช่วงแสงคือ 12:12 (L:D) เมื่อแมลงวางไข่ให้เชื้อไขแยกมาเลี้ยงในต้นอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 อายุ 1 เดือน (1 ต้น/กรง) อุณหภูมิละ 20 ซ้ำ บันทึกการเจริญเติบโตในทุก

ระยะการเจริญเติบโต ชุดที่ 2 นำแมลงพาหะเลี้ยงเพิ่มปริมาณประชากรรุ่นลูกจนเข้าวัย 4-5 ย้ายไปเลี้ยงในต้นอ้อยที่เป็นโรคใบขาวอ้อยนาน 5 วัน(ระยะรับเชื้อ)จนเป็นตัวเต็มวัย หลังจากนั้นย้ายไปเลี้ยงในต้นอ้อยปกติ นาน 15 วัน(ระยะป่มเชื้อ) และย้ายตัวเต็มวัยแมลงพาหะเพศเมีย 3 ตัว/ต้น และเพศผู้ 3 ตัว/ต้น ไปเลี้ยงในต้นอ้อยปลอดโรคพันธุ์ขอนแก่น 3 อายุ 1 เดือน นาน 5 วัน(ระยะถ่ายทอดเชื้อ)ที่เลี้ยงไว้ในอุณหภูมิห้องและควบคุมอุณหภูมิที่ 20, 25, 30 และ 35°C ช่วงแสงคือ 12:12 (L:D) อุณหภูมิละ 10 ชั่วโมงที่กักตัวการรอดชีวิตและอัตราการตาย นำแมลงชุดที่ 2 ที่รอดชีวิตไปสกัด DNA เพื่อตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในหัวข้อที่ 2 การวิเคราะห์ผลการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SAS (Statistical Analysis Software) version 9.1

การตรวจหาและวัดปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาใน ตัวแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* ที่อุณหภูมิต่างๆ
หลังจากการถ่ายทอดเชื้อของแมลงพาหะสู่ต้นอ้อย ปลอดโรคนำแมลงออกมาเพื่อสกัด DNA แมลงและตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาโดยใช้เทคนิค nested PCR ด้วย ชุด primer ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในส่วนของยีน 16S rRNA และ intergenic spacer region ที่ส่วนของยีน 23S rRNA จำนวน 2 ชุดคือชุดที่ 1 MLO-X (5'-GTTAGGTTAAGTCCTAAAACGAGC-3') และ MLO-Y(5'-GTGAGGCATCCACTGTATGCC-3') ส่วนชุดที่ 2 คือ P1(5'-GTCGTAACAAGGTATCCTACCGG-3') และ P2(5'-GGTGGGCCTAAATGGACTTGAACC-3') (Hanboonsong, 2002) ด้วยเครื่อง T100™ Thermal Cycler (Bio-rad, USA) และวัดปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะที่มีเชื้อไฟโตพลาสมาโดยใช้เทคนิค real-time PCR ด้วย ชุด primer ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยคือ MLO-X(5'-GTTAG-

GTTAAGTCCTAAAACGAGC-3') และ MLO-Y(5'-GTGAGGCATCCACTGTATGCC-3') และใช้น้ำยา EXPRESS SYBR® GreenER™ qPCR SuperMixes (Invitrogen, UK) ด้วยเครื่อง PTC-200 DNA Engine Cycler, Chromo4™ System (Bio-rad, USA) (เพศเมียและเพศผู้อย่างละ 4 ตัวๆละ 2 ซ้ำ/อุณหภูมิ) โดยการวิเคราะห์ผลการตรวจและวัดปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SAS (Statistical Analysis Software) version 9.1

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การเจริญเติบโตของแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* ที่อุณหภูมิต่างๆ

การเจริญเติบโตของแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* ในระยะไข่จนถึงตัวอ่อน ที่เลี้ยงในอุณหภูมิต่างๆ ดังนี้คือ ระยะไข่ที่อุณหภูมิ 35±1°C มีระยะเวลาสั้นที่สุดในการฟักออกมาคือ 6.06±0.85 วัน แตกต่างกับอุณหภูมิอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ(p<0.01) รองลงมาได้แก่ 30±1, อุณหภูมิห้อง(26±2°C), 25±1 และ 20±1°C คือ 6.65±0.73, 7.40±0.50, 7.94±0.94, และ 10.28±1.93 วัน ตามลำดับ เช่นเดียวกับการเจริญเติบโตในระยะตัวอ่อนตั้งแต่วัย 1-5 ที่อุณหภูมิ 35±1°C แตกต่างกับอุณหภูมิอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ รวมทั้งอายุรวมจากไข่ถึงตัวอ่อนแมลงพาหะพบว่าที่อุณหภูมิ 35±1°C ใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดในการพัฒนาการ 21.34±2.06 วัน แตกต่างกับอุณหภูมิอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ รองลงมาได้แก่ 30±1, อุณหภูมิห้อง(26±2°C), 25±1 และ 20±1°C ที่อายุ 24.47±1.68, 28.33±1.78, 29.94±2.32 และ 36.41±2.21 วัน ตามลำดับ (Table 1) ทั้งนี้เห็นได้ว่าที่อุณหภูมิต่างๆจรชีวิตของแมลงพาหะมีอายุยาวนานแต่ที่อุณหภูมิสูงวงจรชีวิตของแมลงพาหะมีอายุเร็วขึ้นในการเจริญเติบโต ทำให้คาดการณ์ว่าหากอุณหภูมิใน

ธรรมชาติเพิ่มสูงขึ้นจะทำให้แมลงพาหะมีวงจรชีวิตที่เร็วขึ้นและสามารถมีประชากรได้หลายรุ่นทำให้เพิ่มช่วงการระบาดของแมลงพาหะที่สามารถถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาลงไปในต้นอ้อยมากครั้งขึ้น ทำให้การแพร่กระจายของเชื้อไฟโตพลาสมามีวงจรกิจกรรมที่รวดเร็วขึ้นในต้นอ้อยเช่นกัน ดังนั้นอ้อยที่เป็นโรคใบขาวอ้อยก็เพิ่มมากขึ้นด้วย เช่นเดียวกับงานทดลองของ Daugherty et al. (2009) ที่รายงานว่าสภาพภูมิอากาศโดยเฉพาะอุณหภูมิที่สูงขึ้นเรื่อยๆ มีผลต่อการระบาดวิทยาของแมลงพาหะ *Graphocephala atropunctata* และเชื้อ *Xylella fastidiosa* สาเหตุของโรค Pierce's disease ขององุ่นมากขึ้นด้วยเช่นกัน คือปริมาณเชื้อ *Xylella fastidiosa* ที่อุณหภูมิ 24.3°C มีมากที่สุด รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 21.4 และ 17.4°C ตามลำดับ และการศึกษาของ Gingery et al. (2004) รายงานว่าที่อุณหภูมิสูง เพี้ยจักจั่น *Graminella nigrifrons* สามารถถ่ายทอดเชื้อ *Maize chlorotic dwarf virus* (MCDV) สาเหตุโรค Stunting disease ของข้าวโพดได้มากที่สุด คือที่อุณหภูมิ 30°C รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 25°C และ 20°C ตามลำดับ

แมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* ที่ถ่ายทอดเชื้อสู่ต้นอ้อยปลอดภัยโรคพบว่าการรอดชีวิตของแมลงพาหะเพศเมียที่อุณหภูมิห้อง (26±2°C) มีมากที่สุดคือ 96.67% รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 20±1°C (90%), 25±1°C (90%), 30±1°C (80%) และ 35±1°C (80%) ตามลำดับ ส่วนการรอดชีวิตของเพศผู้ที่อุณหภูมิ 20±1°C (93.33%) และ 25±1°C (93.33%) มากที่สุด รองลงมาคืออุณหภูมิห้อง (26±2°C), 30±1°C และ 35±1°C ดังนี้คือ 80%, 70% และ 63.33% ตามลำดับ และอัตราการตายของเพศเมียพบว่าที่อุณหภูมิ 30±1°C (20%) และ 35±1°C (20%) มากที่สุด รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 20±1°C (10%), 25±1°C (10%) และอุณหภูมิห้อง (3.33%) ตามลำดับ ส่วนอัตราการตายของเพศผู้พบว่าที่อุณหภูมิ 35±1°C มากที่สุดคือ 36.67% รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30±1°C (30%), อุณหภูมิห้อง (20%), 20±1°C (6.67%) และ 25±1°C (6.67%) ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าทั้งแมลงพาหะเพศเมียและเพศผู้ที่อุณหภูมิ 30±1 และ 35±1°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิสูงทำให้การรอดชีวิตของแมลงลดลง (Figure 1) ทั้งนี้เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงทำให้การเจริญเติบโตของแมลงเร็วกว่าที่อุณหภูมิต่ำและอุณหภูมิสูงทำให้แมลงพาหะมีวงจรชีวิตสั้นลง

Table 1 Development of insect vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* at various temperatures

Temperature (°C)	Average of insect vector <i>Matsumuratettix hiroglyphicus</i> age (days±SD) ^{2/}						
	Egg	Nymph					development stage(egg to nymphs)
		1 st instar	2 nd instar	3 rd instar	4 th instar	5 th instar	
RT ^{3/} (26±2)	7.40±0.50b ^{1/}	3.45±0.51b	3.90±0.64b	3.95±0.88bc	4.74±0.73b	4.94±0.80b	28.33±1.78c
20±1	10.28±1.93a	4.39±1.04a	4.41±0.51a	5.23±0.75a	5.88±0.70a	6.41±0.62a	36.41±2.21a
25±1	7.94±0.94b	3.47±0.51b	3.76±0.66b	4.35±0.93b	5.00±0.73b	5.31±0.48b	29.94±2.32b
30±1	6.65±0.73c	2.82±0.73c	2.88±0.70c	3.69±0.70c	4.06±0.68c	4.33±0.62c	24.47±1.68d
35±1	6.06±0.85d	2.69±0.70c	2.67±0.72c	3.00±0.76d	3.43±0.51d	3.43±0.51d	21.34±2.06e
F-test	**	**	**	**	**	**	**
C.V.(%)	10.16	21.35	18.23	20.06	14.60	12.62	7.13

^{1/}Means followed by the same letter in a column are not significantly different according to DMRT (p<0.05)

^{2/}Missing data, ^{3/}Room Temperature

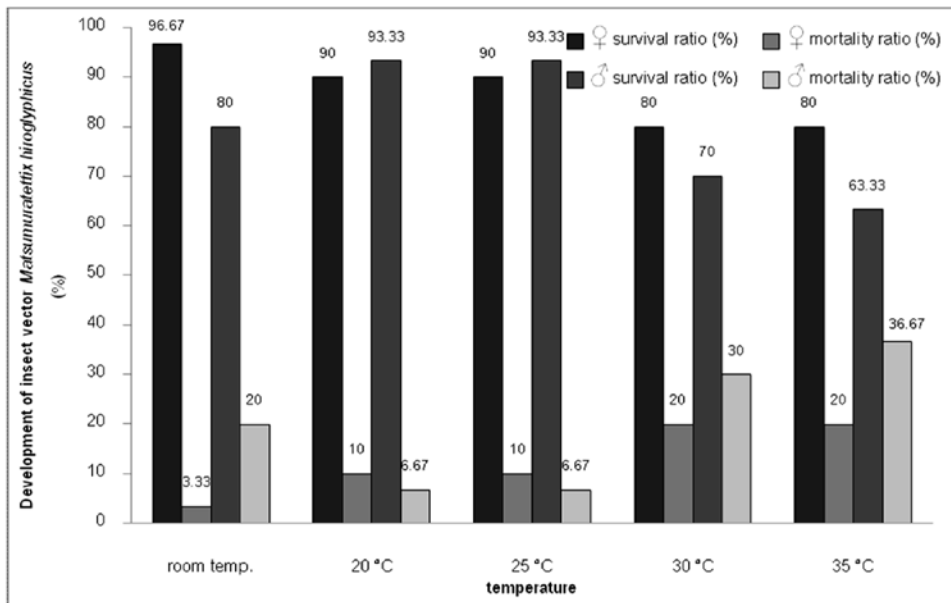


Figure 1 Survival and mortality ratio of insect vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* at various temperatures

การตรวจหาและวัดปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* ที่อุณหภูมิต่างๆ

การตรวจหาเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* เพศเมียพบว่าที่อุณหภูมิ 35±1°C พบมากที่สุดคือ 75% (17 ตัวจาก 24 ตัว) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอุณหภูมิอื่นๆ เช่นเดียวกับเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะเพศผู้พบว่าที่อุณหภูมิ 35±1°C พบมากที่สุดคือ 65% (12 ตัวจาก 19 ตัว) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอุณหภูมิอื่นๆ (Table 2) การวัดปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในแต่ละตัวของแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* เพศเมียที่เลี้ยงบนต้นอ้อยปลอดโรคที่อุณหภูมิห้องมีมากที่สุด $31.34 \times 10^6 \pm 20.50 \times 10^6$ copies/ไมโครลิตรของ DNA แมลง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับอุณหภูมิอื่นๆ รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 20±1, 25±1, 30±1 และ 35±1°C ดัง $10^5 \pm 28.77 \times 10^6$, $5.76 \times 10^5 \pm 3.92 \times 10^6$, $3.07 \times 10^6 \pm 1.80 \times 10^6$ และ $2.41 \times 10^6 \pm 1.26 \times 10^6$ copies/ไมโครลิตรของ DNA แมลง ตามลำดับ เช่นเดียวกับค่า Threshold cycle (Ct) ซึ่งเป็นค่าของรอบที่เริ่มตรวจนับปริมาณเชื้อในตัวแมลงพาหะพบว่าที่อุณหภูมิห้องขึ้นมาเป็นอันดับแรกในรอบที่ 19.03 ± 1.14 แตกต่าง

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอุณหภูมิอื่นๆ รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 20±1, 25±1, 30±1 และ 35±1°C ดังนี้คือ 21.54 ± 3.86 , 22.65 ± 1.34 , 22.87 ± 1.41 และ 23.30 ± 0.99 ตามลำดับ และปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะเพศผู้ที่เลี้ยงบนต้นอ้อยปลอดโรคที่อุณหภูมิห้องมีมากที่สุดคือ $19.52 \times 10^6 \pm 11.66 \times 10^6$ copies/ไมโครลิตรของ DNA แมลง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับอุณหภูมิอื่นๆ รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 20±1, 25±1, 30±1 และ 35±1°C ดังนี้คือ $14.78 \times 10^6 \pm 9.31 \times 10^6$, $5.06 \times 10^6 \pm 3.44 \times 10^6$, $2.79 \times 10^6 \pm 1.67 \times 10^6$ และ $1.02 \times 10^6 \pm 8.01 \times 10^6$ copies/ไมโครลิตรของ DNA แมลง เช่นเดียวกับค่า Ct ของแมลงพาหะที่อุณหภูมิห้องขึ้นมาเป็นอันดับแรกในรอบที่ 19.78 ± 1.08 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอุณหภูมิอื่นๆ รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 20±1, 25±1, 30±1 และ 35±1°C ดังนี้คือ 21.20 ± 2.49 , 22.14 ± 1.49 , 22.83 ± 0.98 และ 23.98 ± 2.16 ตามลำดับ (Table 3) ตามลำดับ ถึงแม้ว่าที่อุณหภูมิ 35 ±1°C มีเปอร์เซ็นต์การพบเชื้อจากจำนวนแมลงที่มากกว่าที่อุณหภูมิห้อง แต่มีจำนวนปริมาณเชื้อต่อตัวในแมลงพาหะน้อยกว่าอุณหภูมิห้อง ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิ 26±2°C เป็น

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแมลงพาหะและการเพิ่มขยายปริมาณของเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลง ซึ่ง Richards et.al.(2007) กล่าวว่า การบ่มเชื้อและการแพร่กระจายของเชื้อได้นั้นขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะอุณหภูมิที่เหมาะสม ดังนั้น

อุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญทั้งการเจริญพันธุ์ของแมลงพาหะเร็วขึ้นในอุณหภูมิสูงและการเพิ่มปริมาณของเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะในอุณหภูมิที่เหมาะสมและต่ำกว่าอุณหภูมิสูงดังกล่าว

Table 2 Percentage of sugarcane white leaf phytoplasma and number of infected insect vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* by nested PCR at various temperatures

Temperature (°C)	Female		Male	
	No. of infected insect vector/total number (individuals)	Sugarcane white leaf phytoplasma (%)	No. of infected insect vector/total number (individuals)	Sugarcane white leaf phytoplasma (%)
RT ^{1/} (26±2)	20/29	68.34	16/24	62.33
20±1	19/27	70.00	12/28	45.00
25±1	18/27	61.67	17/28	63.33
30±1	15/24	70.00	11/24	60.00
35±1	17/24	75.00	12/19	65.00
F-test		ns		ns
C.V.(%)		43.01		58.26

^{1/}Room Temperature

Table 3 Average of quantification and threshold cycle (Ct) of sugarcane white leaf phytoplasma in infected insect vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* by real-time PCR at various temperatures

Temperature (°C)	Amount of sugarcane white leaf phytoplasma			
	Female		Male	
	Average (copies/µl of insect DNA)	Threshold cycle (Ct)	Average (copies/µl of insect DNA)	Threshold cycle (Ct)
RT ^{2/} (26±2)	31.34x10 ⁶ ±20.50x10 ⁶ a ^{1/}	19.03±1.14b	19.52x10 ⁶ ±11.66x10 ⁶ a ^{1/}	19.78±1.08b
20±1	23.53x10 ⁶ ±28.77x10 ⁶ ab	21.54±3.86ab	14.78x10 ⁶ ±9.31x10 ⁶ b	21.20±2.49ab
25±1	5.76x10 ⁶ ±3.92x10 ⁶ b	22.65±1.34a	5.06x10 ⁶ ±3.44x10 ⁶ b	22.14±1.49ab
30±1	3.07x10 ⁶ ±1.80x10 ⁶ b	22.87±1.41a	2.79x10 ⁶ ±1.67x10 ⁶ b	22.83±0.98a
35±1	2.41x10 ⁶ ±1.26x10 ⁶ b	23.30±0.99a	1.02x10 ⁶ ±8.01x10 ⁶ b	23.98±2.16a
F-test	*	*	**	*
C.V.(%)	64.14	9.36	41.85	7.94

¹ Means followed by the same letter in a column are not significantly different according to DMRT (p≤0.05) from transformed data in \sqrt{x} ^{2/}RT(Room Temperature)

สรุป

การเจริญเติบโตของแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* ในระยะไข่ถึงระยะตัวอ่อนพบว่าที่อุณหภูมิ $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ มีวงจรชีวิตสั้นที่สุดแตกต่างจากอุณหภูมิอื่นๆ และการพบเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะ *M. hiroglyphicus* เพศเมียและเพศผู้ที่อุณหภูมิ $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ มีมากที่สุดดังนี้คือ 75% และ 65% อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิห้อง ($26\pm 2^{\circ}\text{C}$) เชื้อไฟโตพลาสมามีปริมาณเชื้อต่อตัวแมลงในตัวแมลงพาหะเพศเมียและเพศผู้พบมากที่สุดคือ $31.34\times 10^6\pm 20.50\times 10^6$ และ $19.52\times 10^6\pm 11.66\times 10^6$ copies/ไมโครลิตรของ DNA แมลง ดังนั้นเห็นได้ว่าวงจรชีวิตของแมลงพาหะเร็วขึ้นในช่วงอุณหภูมิสูงแต่เชื้อไฟโตพลาสมาเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิเหมาะสมและต่ำ อุณหภูมินอกจากมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของแมลงแล้ว อุณหภูมิยังเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการถ่ายทอดโรคของแมลงพาหะ เมื่อทราบการเจริญเติบโตของแมลงพาหะ การนำเชื้อไฟโตพลาสมาของแมลงพาหะและการแพร่กระจายเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวแมลงพาหะที่อุณหภูมิต่างๆ ทำให้สามารถพยากรณ์การระบาดของแมลงพาหะและการแพร่กระจายของเชื้อไฟโตพลาสมาที่อุณหภูมิต่างๆ ในสภาพธรรมชาติเพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมและการจัดการโรคใบขาวอ้อยต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย รหัสทุน 6.E.KK/50/B.1 ที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายในงานวิจัย และศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางภาคเกษตร มหาวิทยาลัยร่วม มหาวิทยาลัยขอนแก่น (AG-BIO/PERDO-CHE) ที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่อง real-time PCR

เอกสารอ้างอิง

- Chen, C.T. 1974. Sugarcane white leaf disease in Thailand and Taiwan. Sugarcane Pathologists' Newslet
- Christensen, N.M., K.B. Axelsen, M. Nicolaisen, and A. Schulz. 2005. Phytoplasmas and their interactions with hosts. Trends Plant Sci. 10(11):526-535.
- Daugherty, M.P., D. Bosco and R.P.P. Almeida. 2009. Temperature mediates vector transmission efficiency; inoculums supply and plant infection dynamics. Ann. Appl. Biol. 155:361-369.
- Gingery, R.E., R.J. Anderson, and M.G. Redinbaugh. 2004. Effect to Environmental conditions and leafhopper gender on maize chlorotic dwarf virus transmission by *Graminella nigrifrons* (Homoptera: Cicadellidae). J. Econ. Entomol. 97(3):768-773.
- Hanboonsong, Y., C. Choosai, S. Panyim, and S. Damark. 2002. Transovarial transmission of sugarcane white leaf phytoplasma in the insect vector *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura). Insect Mol. Biol. 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. J. Econ. Entomol. 99:1531-1537.
- Richards, S.L., C.N. Mores, C.C. Lord, and W.J. Tabachnick. 2007. Impact of extrinsic temperature and virus exposure on vector competence of *Culex pipiens quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) for West Nile Virus. Vector Borne Zoonotic Dis. 7(4):629-636.
- Tedeschi, R., and A. Alma. 2004. Transmission of apple proliferation phytoplasma by *Cacopsylla melanoneura* (Homoptera: Psyllidae). J. Econ. Entomol. 97(1):8-13.
- Weintraub, P.G., and L. Beanland. 2006. Insect vectors of phytoplasmas. Annu. Rev. Entomol. 51:91-111.
- Wongkaew, P., Y. Hanboonsong, P. Sirithorn, C. Choosai, S. Boonkroong, T. Tinnangwattana, R. Kitchareanpanya, and S. Damark. 1997. Different of phytoplasma associated with sugarcane and gramineous weed white leaf disease and sugarcane grassy shoot disease by RFLP and sequencing. Theor. Appl. Genet. 95:660-663.