

## การศึกษาโรคอุบัติใหม่ในมันสำปะหลังที่มีสาเหตุจากเชื้อไฟโตพลาสมา

ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักกันพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ได้กำหนดให้เชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคของมันสำปะหลัง 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อไฟโตพลาสมา *Cassava frogskin* และ *Cassava witches' broom* เป็นศัตรูพืชต้องห้าม เนื่องจากยังไม่มีรายงานการระบาดของโรคนี้ในประเทศไทย โรคมันสำปะหลังที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา ได้แก่ โรค *Cassava frogskin* พบระบาดในประเทศโคลัมเบีย บราซิล เวเนซุเอลา เปรู คอสตาริกา และปานามา โดยเฉพาะที่โคลัมเบียในบางเขตมีรายงานความเสียหายถึงร้อยละ 90 โรค *Cassava antolysis* พบระบาดที่บราซิล โคลัมเบีย และเวเนซุเอลา และโรค *Cassava witches' broom* พบระบาดที่ประเทศบราซิล และเม็กซิโก (Frison and Feliu, 1991) และจากรายงานของ The International Center for Tropical Agriculture (CIAT) เมื่อเดือนมกราคม พ.ศ.2554 พบมันสำปะหลังแสดงอาการพุ่มแจ้ (*witches' broom*) ระบาดมากที่ประเทศเวียดนาม และมีรายงานพบโรคนี้ในกัมพูชา ลาว และฟิลิปปินส์ เช่นกัน สำหรับในประเทศไทยพบมันสำปะหลังที่แสดงอาการพุ่มแจ้เช่นเดียวกัน แต่ยังไม่มีการพิสูจน์โรคว่ามีสาเหตุจากเชื้อชนิดใด นอกจากนี้มีรายงานพบเชื้อไฟโตพลาสมาชนิดอื่นที่ทำให้เกิดโรคในมันสำปะหลัง เช่น เชื้อ *Candidatus Phytoplasma aurantifolia* ในอุกันดา (Arocha *et al.*, 2008) และเชื้อ *Cuban cassava*

*phytoplasma (Candidatus Phytoplasma asteris)* ในคิวบา (Arocha *et al.*, 2009) ซึ่งโรคไฟโตพลาสมา มันสำปะหลังที่มีรายงานพบเหล่านี้มักมีอาการ *witches' broom* ร่วมด้วยเสมอ

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการศึกษาสาเหตุของโรค โดยเฉพาะโรค *witches' broom* ที่ยังไม่มีรายงานสาเหตุโรคในประเทศไทยแต่มีแนวโน้มอาจจะระบาดในอนาคต เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการตรวจวินิจฉัยก่อนพ่นธำนาซีเพื่อเฝ้าระวังและเตรียมความพร้อมในการป้องกันกำจัดก่อนที่จะเกิดความเสียหายกับผลผลิต

**ดร.สุภาพร กลิ่นคง และคณะวิจัย จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์** ได้ดำเนินการศึกษาเพื่อเตรียมความพร้อมดังกล่าว โดยทำการศึกษาสาเหตุของโรค *witches' broom* ในมันสำปะหลังที่ยังไม่มีรายงานสาเหตุโรคในประเทศไทยแต่มีแนวโน้มอาจจะระบาดในอนาคตว่ามีสาเหตุจากเชื้อไฟโตพลาสมาเช่นเดียวกับที่มีรายงานในประเทศใกล้เคียงหรือไม่ หากตรวจพบและจำแนกเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคมันสำปะหลังในประเทศไทยได้ก็จะสามารถไขข้อสงสัยความรู้ที่ได้มาพัฒนาการตรวจวินิจฉัยก่อนพ่นธำนาซีเพื่อเฝ้าระวังและเตรียมความพร้อมในการป้องกันกำจัดก่อนที่จะเกิดความเสียหายกับผลผลิต ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานทั้งราชการ และเอกชน ตลอดจนเกษตรกร

ทั้งนี้ ผลการวิจัย ณ ปัจจุบัน ได้ทำการเก็บตัวอย่างมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคไฟโตพลาสมาในจังหวัดชลบุรี ระยอง อุบลราชธานี นครราชสีมา และบุรีรัมย์ จังหวัดละ 5 แปลง แปลงละ 5 ตัวอย่าง เมื่อนำมาปลูกในโรงเรือนพบว่าใบที่แตกใหม่มีอาการปกติทุกอย่าง จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน 16S rRNA จากมันสำปะหลังที่แสดงอาการโรคแบบรวมทุกต้นในแต่ละแปลง ด้วยเทคนิค nested PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ P1/P7 และ R16F2n/ R16R2 พบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1,300 คู่เบส จากทุกแปลง เมื่อสุ่มโคลนและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไอโซเลท CPHY\_7-6 และ CPHY\_9-5 จากจังหวัดระยอง ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ 1,350 นิวคลีโอไทด์ และนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ในฐานข้อมูล GenBank ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงมากที่สุด พบว่ามีความเหมือนกับยีน 16S rRNA ของพืชต่างๆ เช่น *Manihot esculenta*, *Ricinus communis*, *Hevea brasiliensis* ที่ระดับร้อยละ 98.8-99.8 และมีความเหมือนกับยีน 16S rRNA ของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรค Frog skin ไอโซเลท CIAT\_C7 และ CIAT\_C11 และ '*Manihot esculenta* witches'-broom

phytoplasma strain CaWB-Br02 เพียงร้อยละ 55.7-57.4 ซึ่งแสดงว่าโคลนของไอโซเลท CPHY\_7-6 และ CPHY\_9-5 เป็นยีน 16S rRNA ของมันสำปะหลัง และไพรเมอร์ P1/P7 และ R16F2n/ R16R2 สามารถเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ของมันสำปะหลังได้ด้วย

จากผลการทดลองข้างต้นจึงจำเป็นต้องมีการออกแบบไพรเมอร์ใหม่ให้จำเพาะต่อยีน 16S rRNA ของเชื้อไฟโตพลาสมา โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไฟโตพลาสมาไอโซเลท CIAT\_C7 และ CIAT\_C11 และของมันสำปะหลังไอโซเลท CPHY\_7-6 และ CPHY\_9-5 ทั้งนี้ การดำเนินโครงการวิจัยนี้ จะเป็นการเฝ้าระวังและเตรียมความพร้อมในการป้องกันกำจัดโรคก่อนที่จะเกิดความเสียหาย เนื่องจากหากเกิดการระบาดในประเทศไทยอาจก่อให้เกิดความเสียหายเช่นเดียวกับการระบาดของโรคนี้ในประเทศโคลัมเบียซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายถึง 90% ผลงานจากโครงการนี้จะมีส่วนทำให้ผู้ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตมันสำปะหลังทั้งภาครัฐและเอกชนมีความระมัดระวังในการนำเข้าท่อนพันธุ์ หรือการเลือกใช้ท่อนพันธุ์ที่ปลอดโรค



ภาพที่ 1 ลักษณะอาการของมันสำปะหลังที่เก็บมาศึกษาสาเหตุโรค ได้แก่ อาการลำต้นเตี้ยและใบจำนวนมากที่ลำต้น (ก) แตกพุ่มบริเวณยอด (ข) ยอดแตกพุ่มผอย (ค) ลำต้นแคระแกร็นใบซีดเหลือง (ง และ จ )