หัวข้อเค้าโครงเรื่องของผลงาน
(สายงานวิชาการเกษตร)
(กรณีลักษณะงานวิจัย)

1. ชื่อผลงาน การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพควบคุมโรคอ้อย

2. บทคัดย่อ

การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพควบคุมโรคอ้อย มีวัตถุประสงค์เพื่อ คัดเลือกแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง จากเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Collectotrichum falcatum* และ *Fusarium moniliforme* และโรคเหี่ยวของอ้อยจากเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. subglutinans* ในห้องปฏิบัติการและศึกษาประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสในการควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดง โรคเหี่ยว และการเจริญเติบโตของอ้อยในสภาพโรงเรือน โดยดำเนินการระหว่างปี 2560 - 2562 ณ ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์และโรงเรืองทดลอง กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน โดยดำเนินการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากอ้อยและตัวอย่างอ้อยประกอบด้วย ราก ลำต้น และใบ จากพื้นที่ปลูกอ้อยภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สถานที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี นครสวรรค์ กำแพงเพชร ชลบุรี ระยอง นครราชสีมา ขอนแก่น และมหาสารคาม โดยนำมาแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสได้จำนวน 105 ไอโซเลต แล้วนำมาทดสอบการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคอ้อย 3 ชนิด ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ *C. falcatum F. moniliforme* และ *F. subglutinans* สามารถคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคอ้อยสูงสุด 4 ไอโซเลต ได้แก่ แอคติโนมัยซีส รหัส CB3 KP11 KB17 และ KB21/2 โดยมีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *C. falcatum* 47.37 82.46 73.68 และ 42.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. Moniliforme* 38.77 77.55 32.65 และ 44.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. subglutinans* 48.27 72.41 58.62 และ 34.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ศึกษาประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงและโรคเหี่ยวของอ้อยในสภาพโรงเรือน ซึ่งเมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 KP11 KB17 และ KB21/2 นำมาราดดินบริเวณต้นอ้อยทุกเดือน เมื่ออ้อยอายุ 5 เดือน ดำเนินการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช 3 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อราสาเหตุโรคพืช *C. falcatum* และ *F. moniliforme* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง เชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. subglutinans* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวอ้อย พบว่า ต้นอ้อยที่ราดด้วยเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 KB17 และ KB21/2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *C. falcatum* และรหัสเชื้อแอคติโนมัยซีส KP11 KB21/2 และ CB3 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. moniliforme* ได้ดีกว่าใส่รหัสเชื้ออื่น ต้นอ้อยที่ใส่รหัสเชื้อ KP11 และ KB17 สามารถยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวอ้อยจากเชื้อ *F. subglutinans* ได้ดีกว่าเชื้ออื่น การทดลองในสภาพโรงเรือนทดลอง ศึกษาประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสต่อการเจริญเติบโตของอ้อยในสภาพโรงเรือน นำเชื้อแอคติโนมัยซีสรหัส CB3 KP11 KB17 และ KB21/2 นำมาราดดินบริเวณต้นอ้อยทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ต้นอ้อยที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 มีการเจริญเติบโตในด้านความสูงมากที่สุด ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดินมีกิจกรรมและมีปริมาณสูงสุดในอ้อยที่ใส่รหัสเชื้อรวม ความเขียวของใบอ้อยสูงสุดจากต้นอ้อยที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 และรหัสเชื้อรวม เมื่ออ้อยอายุ 6 เดือน มีปริมาณข้อปล้อง น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของอ้อยที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 สูงสุด

3. หลักการและเหตุผล

อ้อย *(Saccharum officinarum* Linn.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลและพลังงานทดแทนดังจะเห็นได้จากรายงานของสำนักมาตรฐานทางการค้า กรมการค้าต่างประเทศ (2554) ในปี 2554 ประเทศไทยส่งออกน้ำตาลทรายเป็นอันดับ 2 ของโลกรองจากบราซิล โดยปริมาณการผลิตน้ำตาลทรายที่ใช้ในประเทศและส่งออกรวม 180,000 ล้านบาท นอกจากนี้ในฤดูการผลิตปี 2558/59 ประเทศไทยมีพื้นที่ เพาะปลูกอ้อยทั้งประเทศ 11 ล้านไร่ เป็นพื้นที่ปลูกอ้อยส่งโรงงานน้ำตาล 8.1 ล้านไร่ อีก 0.73 ล้านไร่ เป็นพื้นที่สำหรับปลูกขยายพันธุ์ มีผลผลิตอ้อยเข้าโรงงานน้ำตาลทั้งหมด 95.35 ล้านตัน คิดเป็นผลผลิตเฉลี่ย 11.75 ตันต่อไร่ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากปีการเพาะปลูก 2557/58 ที่มีพื้นที่ปลูกอ้อย 0.48 ล้านไร่ มีผลผลิตอ้อยเข้าโรงงานน้ำตาล 66.82 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 11.09 ตันต่อไร่ อย่างไรก็ตาม มีรายงานการพบโรคที่เกิดกับอ้อยประมาณ 45 - 50 โรค ซึ่งเป็นจำนวนเกือบครึ่งหนึ่งของโรคอ้อยที่มีรายงานในโลกนี้ ประมาณ 115 โรค (ธนาคร และคณะ, 2526) และโรคอ้อยที่สำคัญคือ โรคเหี่ยวเน่าแดง ที่เกิดจากเชื้อรา *C. falcatum* ที่สามารถเข้าทำลายอ้อยทางรอยแผล และทางรอยเปิดธรรมชาติของอ้อย และเชื้อ *F. moniliforme* ซึ่งเป็นเชื้อที่อาศัยอยู่ในดิน และเข้าทำลายอ้อยทางรากและโคนต้นของอ้อย ทำให้อ้อยมีอาการยืนต้นตาย ทั้งนี้ยังพบว่าอ้อยบางพันธุ์เป็นโรคเหี่ยวเน่าแดง 30 เปอร์เซ็นต์ และพบอาการเส้นใบแดง 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถ้าแสดงอาการเพียงเส้นใบแดงจะไม่ส่งผลเสียหายมากนัก แต่ทำให้อ้อยแห้งเหี่ยว เร็วกว่าปกติ ส่วนใหญ่จะพบบนใบแก่ที่อยู่ด้านล่างมากกว่าบนใบอ่อน ถ้าเกิดขึ้นกับลำต้นจะทำให้ผลผลิตต่อไร่ลดลง ปริมาณน้ำตาลในอ้อยลดลงหรือเสียหายจนขนส่งเข้าโรงงานไม่ได้ อ้อยตอปีต่อไปไม่สมบูรณ์ (ธนาคร และคณะ, 2526) ซึ่งปรีชา และคณะ (2537) รายงานพบความเสียหายจากโรคเหี่ยวเน่าแดง ในพื้นที่ปลูกอ้อยเขตที่มีสภาพเป็นที่ลุ่ม เคยเป็นนาข้าวมีน้ำท่วมขัง ซึ่งทำให้อ้อยแตกรากอ่อนมาก จึงเหมาะแก่การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช สำหรับการจัดการโรคอ้อยนั้นสามารถปฏิบัติได้หลายวิธี เช่น ใช้ท่อนพันธุ์ที่ต้านทานโรค และการใช้สารเคมีกำจัดโรคพืช แต่ถ้าใช้อย่างไม่ถูกวิธีจะส่งผลต่อการปนเปื้อนในสภาพแวดล้อมได้ และอันตรายต่อสุขภาพของผู้ใช้คือเกษตรกร การใช้วิธีควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี โดยการใช้จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชเป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ลดต้นทุน และมีประสิทธิภาพในการจัดการ โดยพบว่าการใช้เชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ในการควบคุมและยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชนอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตสร้างความแข็งแรงและเพิ่มผลผลิตของพืชได้ (Marja, 2000) โดยเชื้อแอคติโนมัยซีสจะสร้างสารปฏิชีวนะ สารยับยั้ง และเอนไซม์หลายชนิดที่นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ อุตสาหกรรม และทางการเกษตร ซึ่งสารปฏิชีวนะที่ถูกสร้างขึ้นโดยแอคติโนมัยซีส เช่น สารต่อต้านแบคทีเรีย เช่น ampicillin และ penicillin-N (Muller *et al*., 1983) สารที่มีสมบัติต่อต้านเชื้อรา ได้แก่ nystatin polyoxin และ anthracycline การศึกษาในครั้งนี้ จึงทำการแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพควบคุมโรคอ้อย จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ที่พบในอ้อยและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ได้แก่ แบคทีเรียเอนโดไฟท์ตรึงไนโตรเจน เช่น *Gluccnacatobacter diazotrophicus Herbaspirillum seropedicae Herbaspirillum rubrisubalbicans Azospirillum amazonenes* และ *Burkholderia* sp. (Oliveria *et al*., 2002) แบคทีเรียสร้างสารเสริมการเจริญเติบโตของพืช ผลิตฮอร์โมนออกซิน (IAA) และละลายฟอสเฟต เช่น *Herbaspirillum* spp. *Bacillus* spp. (Silva *et al*., 2015) และจุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืช เช่น *Gluconacetobacter diazotrophicus Pseudomonas putida Pseudomonas fluorescens* (Viswanathan *et al*., 2003) และยังพบแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงของอ้อย เช่น ในรายงานของ Sumana and

Singh (2012) พบแอคติโนมัยซีสเป็นเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากอ้อย 5 สายพันธุ์ ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงของอ้อยที่เกิดจากเชื้อ *C. falcatum* ได้ เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อพบว่าเป็น *Streptomyces* sp. และ *Saccharopolyspora* sp.

4. วัตถุประสงค์

4.1 เพื่อแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีสปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง *C. falcatum* และ *F. moniliforme* และโรคเหี่ยวของอ้อย *F. subglutinans* ในระดับห้องปฏิบัติการ

4.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสในการควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดง โรคเหี่ยว และการเจริญเติบโตของอ้อยในสภาพโรงเรือน

5. ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ระยะเวลา เริ่มดำเนินการเดือนตุลาคม 2559 สิ้นสุดการวิจัยเดือนกันยายน 2562

สถานที่ดำเนินการ - ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์ทางการเกษตร กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

- โรงเรือนทดลอง กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

6. ผู้ดำเนินการ

6.1 นางสาวกนกวรรณ เชื้อพันธุ์ นักวิชาการเกษตรชำนาญการ มีหน้าที่ เขียนโครงการวิจัย ดำเนินการวิจัย รวบรวมข้อมูลสรุปผลการวิจัย และเขียนรายงานการวิจัย ปฏิบัติงานร้อยละ 80

6.2 นางนวลจันทร์ ชะบา นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ มีหน้าที่ ช่วยดำเนินการวิจัย เก็บข้อมูลและรวบรวมข้อมูล ปฏิบัติงานร้อยละ 10

6.3 นางจันจิรา แสงสีเหลือง นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ มีหน้าที่ ช่วยดำเนินการวิจัย เก็บข้อมูลและรวบรวมข้อมูล ปฏิบัติงานร้อยละ 10

7. อุปกรณ์การทดลอง

7.1 อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

7.1.1 อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานเพาะเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ฟลาสก์ บีกเกอร์ กระบอกตวง haemacytometer แผ่นสไลด์ และ cover slip เป็นต้น

7.1.2 อุปกรณ์ในการแยกเชื้อ ได้แก่ เข็มเขี่ย ลูป มีดผ่าตัด ช้อน ปากคีบ cork borer ตะเกียงแอลกอฮอล์

7.1.3 ไมโครปิเปต

7.1.4 ตู้ปลอดเชื้อ

7.1.5 ตู้บ่มเชื้อ

7.1.6 ตู้อบเครื่องแก้ว

7.1.7 หม้อนึ่งความดัน

7.1.8 อ่างควบคุมอุณหภูมิ

7.1.9 เครื่องหมุนเหวี่ยง

7.1.10 เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ

7.1.11 เครื่องผสมสาร

7.1.12 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

7.2 อาหารเลี้ยงเชื้อราและแอคติโนมัยซีส

7.2.1 Selective media (อาหารสูตร A)

7.2.2 Potato dextrose agar (PDA)

7.2.3 ข้าวฟ่าง

7.3 วัสดุเกษตรที่ใช้ในการปลูกพืชทดสอบ

7.3.1 ท่อนพันธุ์อ้อย พันธุ์ขอนแก่น 3

7.3.2 ปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0 สูตร 18 - 46 - 0 และสูตร 0 - 0 - 60

7.3.3 กระถางปลูกต้นไม้ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว และ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 นิ้ว

7.3.4 กระบะพลาสติก

7.3.5 ดินจักราช

7.3.6 ทราย

7.3.7 ป้ายพลาสติก

7.4 อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง

7.4.1 ถุงพลาสติก

7.4.2 พลั่วมือ

7.4.3 กล่องบรรจุตัวอย่าง

8. ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงาน

8.1 การเก็บตัวอย่างดิน และอ้อย เพื่อแยกเชื้อแอคติโนมัยซีส

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากของอ้อย โดยเก็บที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร และเก็บตัวอย่างอ้อยอายุประมาณ 8 - 12 เดือน โดยเก็บตัวอย่างอ้อยที่มีต้นสมบูรณ์ ประกอบด้วย ราก ลำต้น และใบ พร้อมบันทึกข้อมูลจุดพิกัด และสถานที่เก็บตัวอย่างนำตัวอย่างดินและอ้อยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการแยกเชื้อต่อไป

8.2 การแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากตัวอย่างดิน

แยกแอคติโนมัยซีสจากดินบริเวณรอบรากอ้อย โดยใช้วิธี serial dilution ตามวิธี Nonomura และ Hayakawa (1988) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับแอคติโนมัยซีส (selective media) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 2 - 3 วัน แยกเชื้อให้บริสุทธิ์เก็บไว้ทดสอบต่อไป

8.3 การแยกแอคติโนมัยซีสจากอ้อย

8.3.1 นำตัวอย่างอ้อยมาตัดแบ่งออกเป็น ส่วนราก ส่วนลำต้น และส่วนใบ

8.3.2 ล้างผ่านน้ำ นาน 30 นาที ผึ่งลมให้แห้ง

8.3.3 นำส่วนต่างๆ ของอ้อยไปฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลาย 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 นาน 5 นาที แล้วแช่ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที แล้วแช่ในสารละลาย 1 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaOCl) นาน 10 นาที แล้วนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 3 นาที

8.3.4 ใช้มีดตัดอ้อยให้มีขนาด 1 x 1 ตารางเซนติเมตร นำไปปั่นในสารละลายริงเจอร์ ¼ Ringer's solution จำนวน 3 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลาย 100 ไมโครลิตร นำมา spread ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มีส่วนผสมของสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อรา

8.3.5 นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แยกเชื้อให้บริสุทธิ์เก็บไว้ทดสอบต่อไป

8.4 การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง *C. falcatum* และ *F. moniliforme* เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยว เชื้อรา *F. subglutinans* ในระดับห้องปฏิบัติการ

8.4.1 การทดสอบการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีสในอาหารเลี้ยงเชื้อ

1) นำเชื้อแอคติโนมัยซีสที่ได้จากการแยกเชื้อจำนวน 105 ไอโซเลตมาขีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีสชนิดแข็ง โดยเชื้อ 1 ไอโซเลต มีจำนวน 4 ซ้ำ

2) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

3) บันทึกผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีส โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เจริญเร็วระยะเวลา 5 วัน และกลุ่มที่เจริญช้าระยะเวลามากกว่า 5 วัน

8.4.2 การทดสอบความสามารถของแอคติโนมัยซีส ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง *C. falcatum* และ *F. moniliforme* เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยว เชื้อรา *F. subglutinans* ในระดับห้องปฏิบัติการ

1) นำเชื้อรา *C. falcatum F. moniliforme* และ *F. subglutinans* ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เมื่อเชื้อเจริญได้ 5 - 7 วัน ตัดขอบโคโลนีบริเวณที่เส้นใยกำลังเจริญเติบโตด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร

2) นำไปวางไว้ที่จุดด้านบนที่ห่างจากขอบจานอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) 1 เซนติเมตร แล้วทำการย้ายเชื้อแอคติโนมัยซีสที่มีอายุ 2 - 3 วัน มาทดสอบ โดยใช้เข็มเขี่ยแตะเซลล์ของเชื้อแตะบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) 1 จุด ด้านล่าง โดยห่างจากขอบจานอาหาร 1 เซนติเมตร

3) บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 - 7 วัน วัดขนาดรัศมีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เจริญออกจากจุดศูนย์กลางที่เปลี่ยนแปลงไปและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ทั้ง 3 ชนิด ทำ 3 ซ้ำ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คำนวณจาก

$$\frac{\text{รัศมีเชื้อราที่เจริญในจานเลี้ยงเชื้อควบคุม (R1)} - \text{รัศมีเชื้อราที่เจริญในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบ (R2)}}{\text{รัศมีเชื้อราที่เจริญในจานเลี้ยงเชื้อควบคุม (R1)}} \times 100$$

8.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงและโรคเหี่ยวของอ้อยในสภาพโรงเรือนกระจก

8.5.1 นำเชื้อแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงและโรคเหี่ยวของอ้อยที่คัดเลือกได้จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ จำนวน 4 สายพันธุ์ มาใช้ในการทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 5 ตำรับ 4 ซ้ำ ซึ่งแบ่งเป็น 3 การทดลองย่อยตามชนิดของเชื้อโรค ได้แก่

การทดลองย่อยที่ 1 ทดสอบการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง *C. falcatum*

การทดลองย่อยที่ 2 ทดสอบการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง *F. monilif*orme

การทดลองย่อยที่ 3 ทดสอบการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวอ้อย *F. subglutinans*

ดังนี้

ตำรับการทดลองที่ 1 เชื้อราสาเหตุโรคพืช

ตำรับการทดลองที่ 2 เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยรหัส CB3

ตำรับการทดลองที่ 3 เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยรหัส KP11

ตำรับการทดลองที่ 4 เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยรหัส KB17

ตำรับการทดลองที่ 5 เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยรหัส KB21/2

8.5.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1) การเก็บตัวอย่างดิน และเตรียมดินเพื่อใช้ในการทดลองในสภาพโรงเรือน

1.1) ดำเนินเก็บตัวอย่างดินชุดจักราชในแปลง ตำบลหนองระเวียง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งอยู่ในกลุ่มชุดดินที่ 40 แต่ละจุดใช้พลั่วขุดดินเป็นรูปลิ่มลึกประมาณ 15 เซนติเมตร หลังจากนั้นเก็บดิน โดยใช้พลั่วแซะดินข้างหลุม (ด้านเรียบ) ให้ได้ดินเป็นแผ่นหนา ประมาณ 2 - 3 เซนติเมตร จนถึงก้นหลุม ดินที่ได้เก็บรวบรวมใส่ถุง หรือถังพลาสติกเก็บตัวอย่างจากกองดินนี้เพียง 1 ส่วนให้ได้ดินหนักประมาณครึ่งกิโลกรัม หรือถ้าดินมีหินกรวดปนมาก อาจเก็บมา 1 - 2 กิโลกรัม ใส่ดินลงในถุงพลาสติกที่เตรียมไว้เพื่อส่งวิเคราะห์ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2561)

1.2) เตรียมดินปลูกโดยนำดินผึ่งให้แห้งในที่ร่ม และร่อนผ่านตะแกรงบรรจุในถุงพลาสติกทนร้อน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออีกครั้ง บรรจุในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 นิ้ว กระถางละ 15 กิโลกรัม

2) การเตรียมเชื้อแอคติโนมัยซีส

2.1) การเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีส

- นำข้าวฟ่าง ปริมาณ 50 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

- เขี่ยเชื้อแอคติโนมัยซีส 1 - 2 loop ลงในข้าวฟ่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 - 7 วัน โดยมีการเขย่าข้าวฟ่างในขวดรูปชมพู่ วันละ 1 ครั้ง เพื่อให้เชื้อมีการเจริญเติบโตทั่ววัสดุ ทุกๆ วัน เป็นเวลา 5 - 7 วัน เชื้อแอคติโนมัยซีสจะเจริญในข้าวฟ่าง โดยสังเกตลักษณะของเชื้อที่มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวเกาะอยู่บริเวณรอบๆ ข้าวฟ่างทั้งหมด และเก็บตัวอย่างเชื้อที่เจริญบนข้าวฟ่าง ไปวิเคราะห์ปริมาณแอคติโนมัยซีส และนำไปใช้ทดสอบตามตำรับการทดลองต่อไป

2.2) วิธีการเตรียมเชื้อแอคติโนมัยซีส

- เตรียมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 270 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่

- นำข้าวฟ่างที่มีการขยายเชื้อแอคติโนมัยซีส ปริมาณ 30 กรัม ใส่ลงในขวด ปิดจุกแล้วนำไปเขย่า เป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้สปอร์หลุดออกมาจากสารละลาย

- หลังจากเขย่านาน 30 นาที นำสารละลายเชื้อแอคติโนมัยซีสไปตรวจนับสปอร์ที่ได้ไปราดบริเวณรอบๆ ต้นอ้อยตามตำรับการทดลอง เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสที่เป็นปฏิปักษ์ที่ควบคุมโรคเหี่ยวในอ้อยปริมาณ 250 มิลลิลิตรต่อต้น

3) การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคพืช

3.1) เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อ *C. falcatum F. moniliforme* และ *F. subglutinans* เลี้ยงบนอาหาร PDA โดยเลี้ยงเจริญเต็มหลอดการทดลอง ซึ่งใช้ระยะเวลา 10 7 และ 5 วัน ตามลำดับ จากนั้นนำสปอร์แขวนลอยไปตรวจนับโดยใช้ Haemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ให้มีความหนาแน่นของสปอร์ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3.2) ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนต้นอ้อย โดยการทำให้ต้นอ้อยมีบาดแผลที่บริเวณราก หลังจากนั้น หยดสารละลายเชื้อราสาเหตุโรคพืชลงบาดแผล ปริมาณ 3 มิลลิลิตร

3.3) เก็บข้อมูลทุก 7 วัน บันทึกผล โดยสังเกตลักษณะการเกิดบาดแผล ขนาดของบาดแผลในการเข้าทำลาย (McMaugh, 2008)

4) การปลูกอ้อยและการดูแลรักษา

4.1) เลือกต้นอ้อย พันธุ์ขอนแก่น 3 ที่มีความสมบูรณ์ตรงตามพันธุ์ อายุประมาณ 8 - 10 เดือน ที่มีการเจริญเติบโตดี ปราศจากโรคและแมลง ตาอ้อยสมบูรณ์

4.2) ทำความสะอาดลำต้นอ้อย ฆ่าเชื้อที่ผิวท่อนอ้อยด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ตัดท่อนอ้อยขนาด 3 นิ้ว ให้มีตาที่สมบูรณ์อย่างน้อย 2 ตา

4.3) เพาะลงในทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วบรรจุในกระบะ รดน้ำให้ชุ่ม ประมาณ 3 - 5 วัน หน่ออ้อยจะงอก เมื่อต้นอ้อยสูง 10 - 15 เซนติเมตร สามารถย้ายปลูกลงในดินที่บรรจุในกระถาง ๆ ละ 15 กิโลกรัม ปลูกลงในกระถางที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 นิ้ว

5) ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน ตามความต้องการธาตุอาหารของอ้อย เท่ากับปริมาณไนโตรเจน 12 กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณฟอสฟอรัส 6 กิโลกรัมต่อไร่ และปริมาณโพแทสเซียม 12 กิโลกรัมต่อไร่ โดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง ดังนี้ ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 46 - 0 - 0 อัตรา 12 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อต้นอ้อย อายุ 1 เดือน และ 3 เดือน ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งส่วน โรยข้างแถวปลูกแล้วพรวนกลบหลังอ้อยงอก 30 วัน และส่วนที่เหลือใส่โรยข้างแถวปลูก แล้วพรวนกลบหลังจากครั้งแรก 60 วัน ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 18 - 46 - 0 อัตรา 6 กิโลกรัมต่อไร่ โรยข้างแถวปลูกแล้วพรวนกลบหลังอ้อยงอก 30 วัน และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 0 - 0 - 60 อัตรา 12 กิโลกรัมต่อไร่ โรยข้างแถวปลูก แล้วพรวนกลบหลังอ้อยงอก 30 วัน โรยให้ทั่วกระถาง (กรมวิชาการเกษตร , 2553)

6) การใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยและเชื้อราสาเหตุโรคพืช

6.1) การใส่เชื้อแอคติโนมัยซีส

- นำสารละลายแอคติโนมัยซีสแต่ละเชื้อที่เตรียมไว้ ราดลงดินบริเวณรากอ้อย ต้นละ 250 มิลลิลิตร ทุกๆ 1 เดือน ในตำรับการทดลองที่ 2 - 5

6.2) การใส่เชื้อราสาเหตุโรคพืช

- อ้อยอายุ 5 เดือน นำเชื้อราสาเหตุโรคพืช มาปลูกเชื้อบนต้นอ้อย โดยนำสารแขวนลอย (suspension) ที่ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ราดลงบนหน่อ โดยการขูดลำต้นให้เกิดบาดแผล แล้วราดสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืช

7) การเก็บข้อมูล

7.1) ข้อมูลดิน

7.1.1) สุ่มตัวอย่างเก็บดินก่อนและหลังการทดลอง เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน

7.1.2) เก็บตัวอย่างดินทุกเดือน ก่อนการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีส เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีส โดยวิธี serial dilution plate count

7.2) การประเมินความเสียหายที่เกิดจากโรคพืช ได้แก่

7.2.1) การประเมินความรุนแรงของโรคแต่ละต้น และประเมินภาพรวมด้วย ดัชนีการเกิดโรค (McMaugh, 2008) การประเมินระดับความรุนแรงของโรค 4 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 ไม่ปรากฏอาการของโรค

ระดับ 1 มีการปรากฏของขนาดแผล จำนวน 1 - 25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ แผลปิด ขนาดเล็ก และไม่มีการพัฒนาของแผลเพิ่มขึ้น

ระดับ 2 มีการปรากฏของขนาดแผล จำนวน 1 - 25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ และมีการพัฒนาของ ขนาดแผล เกิดขึ้นไม่เกิน 1 เท่าตัว

ระดับ 3 มีการปรากฏของขนาดแผล จำนวน 1 - 25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบ แผลปิด และมีการพัฒนาของ ขนาดแผล อย่างต่อเนื่องและลุกลามกระจายทั่วใบ

7.2.2) ตรวจดูอาการของโรคที่เกิดขึ้นและความรุนแรงของการเกิดโรค หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน ตรวจบันทึกผลโดยวัดขนาดแผลบนใบอ้อยและกาบใบอ้อย ที่บ่งบอกถึงความสามารถและระดับในการต้านทานโรคเหี่ยวเน่าแดง (Singh *et al*., 1978)

7.2.3) การศึกษาการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อแอคติโนมัยซีสในอ้อย (Endophyte) โดยใช้เทคนิค Denaturing Grandient Gel Electrophoresis (DGGE)

(1) การสกัดดีเอ็นเอแบคทีเรียจากตัวอย่างพืช

นำตัวอย่างมาสกัดดีเอ็นเอ (DNA) ด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย (GF-1 Bacteria DNA Extraction Kit)

(2) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction; PCR)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างดินเป็นดีเอ็นเอต้นแบบในการสังเคราะห์เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตำแหน่ง V3 region ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้ Universal primer ที่มีความจำเพาะกับช่วง V3 region ใสส่วน 16S rDNA ของแบคทีเรีย ประกอบไปด้วยไพรเมอร์ 338F (5’-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GAC TCC TAC GGG AGG CAG CAG-3’) เป็นฟอร์เวอร์ส ไพรเมอร์ ที่มี GC-clamp และไพรเมอร์ 518R (5’-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3’) เป็นรีเวอร์สไพรเมอร์ (Nakatsu *et al*., 2000)

7.3) ข้อมูลพืช

7.3.1) วิเคราะห์ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสจากตัวอย่างต้นอ้อย

7.3.2) วัดการเจริญเติบโตของต้นอ้อย ได้แก่ ความสูง จำนวนกอ เส้นรอบวงลำต้น วัดค่าความเขียวของใบด้วยเครื่อง Chlorophyll meter SPAD-502 ทุกเดือน

7.3.3) ชั่งน้ำหนักสดและชั่งน้ำหนักแห้งของอ้อย เมื่ออายุ 8 เดือน

8) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยวิธี Duncan’s new multiple range test

8.6 การทดสอบผลของแอคติโนมัยซีสปฏิปักษ์ต่อการเจริญของต้นอ้อยในโรงเรือนกระจก

8.6.1 นำเชื้อแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงและโรคเหี่ยวของอ้อยที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการ มาใช้ในการทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 6 ตำรับ 4 ซ้ำ ดังนี้

ตำรับการทดลองที่ 1 น้ำเปล่า

ตำรับการทดลองที่ 2 เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3

ตำรับการทดลองที่ 3 เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11

ตำรับการทดลองที่ 4 เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17

ตำรับการทดลองที่ 5 เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB 21/2

ตำรับการทดลองที่ 6 เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 + KP11 + KB17 + KB21/2

8.6.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1) การเก็บตัวอย่างดินและเตรียมดินเพื่อใช้ในการทดลองในสภาพโรงเรือน

- ดำเนินการเก็บตัวอย่างดินชุดจักราชในแปลง ตำบลหนองระเวียง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งอยู่ในกลุ่มชุดดินที่ 40 แต่ละจุดใช้พลั่วขุดดินเป็นรูปลิ่มลึกประมาณ 15 เซนติเมตร หลังจากนั้นเก็บดิน โดยใช้พลั่วแซะดินข้างหลุม (ด้านเรียบ) ให้ได้ดินเป็นแผ่นหนา ประมาณ 2 - 3 เซนติเมตร จนถึงก้นหลุม ดินที่ได้เก็บรวบรวมใส่ถุง หรือถังพลาสติกเก็บตัวอย่างจากกองดินนี้เพียง 1 ส่วน ให้ได้ดินหนักประมาณครึ่งกิโลกรัม หรือถ้าดินมีหินกรวดปนมาก อาจเก็บมา 1 - 2 กิโลกรัม ใส่ดินลงในถุงพลาสติกที่เตรียมไว้เพื่อส่งวิเคราะห์ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2561)

- เตรียมดินปลูกโดยนำดินชุดจักราชผึ่งให้แห้งในที่ร่ม และร่อนผ่านตะแกรงให้มีความสม่ำเสมอ โดยใช้ดินกระถางละ 12 กิโลกรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งข้ามคืน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออีกครั้ง บรรจุใส่กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว

2) การเตรียมเชื้อแอคติโนมัยซีส

2.1) การเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีส

- นำข้าวฟ่าง ปริมาณ 50 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

- เขี่ยเชื้อแอคติโนมัยซีส 1 - 2 loop ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีข้าวฟ่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง

- หลังจากนั้นเขย่าเชื้อทุกๆ วัน เป็นเวลา 5 - 7 วัน เชื้อแอคติโนมัยซีสจะเจริญในข้าวฟ่าง โดยเชื้อจะมีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวเกาะอยู่บริเวณรอบๆ ข้าวฟ่าง นำไปใช้เพื่อทดสอบต่อไป

2.2) วิธีการเตรียมเชื้อแอคติโนมัยซีสสำหรับทดสอบ

- เตรียมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 270 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่

- นำข้าวฟ่างที่มีการขยายเชื้อแอคติโนมัยซีส ปริมาณ 30 กรัม ใส่ลงในขวด ปิดฝาแล้วนำไปเขย่า เป็นเวลา 30 - 40 นาที (จนกว่าเชื้อมีลักษณะสีขาวลอยอยู่ในน้ำ)

- หลังจากเขย่าจนครบเวลา นำน้ำที่ได้ไปราดบริเวณรอบๆ ต้นอ้อยตามตำรับการทดลอง เมื่ออ้อยอายุ 1 เดือน จนถึง 6 เดือน เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของอ้อยปริมาณ 250 มิลลิลิตรต่อต้น

2.3) การปลูกอ้อย

- เลือกต้นอ้อย พันธุ์ขอนแก่น 3 ที่มีความสมบูรณ์ตรงตามพันธุ์ อายุประมาณ 8 - 10 เดือน มีการเจริญเติบโตดี ปราศจากโรคและแมลง ตาอ้อยสมบูรณ์

- ทำความสะอาดลำต้นอ้อย ด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ตัดท่อนอ้อยขนาด 3 นิ้ว ให้มีตาที่สมบูรณ์อย่างน้อย 2 ตา

- เพาะลงในทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วบรรจุลงในกระบะ รดน้ำให้ชุ่ม ประมาณ 3 - 5 วัน หน่ออ้อยจะงอก เมื่อต้นอ้อยสูง 10 - 15 เซนติเมตร สามารถย้ายปลูกลงในดินที่บรรจุในกระถางๆละ 10 กิโลกรัม

- ใส่ปุ๋ยต้นอ้อยตามค่าวิเคราะห์ทางเคมีของดิน เมื่อต้นอ้อย อายุ 1 เดือน และ 3 เดือน ใช้ปุ๋ยไนโตรเจน 12 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งส่วนโรยข้างแถวปลูกแล้วพรวนกลบหลังอ้อยงอก 30 วัน และส่วนที่เหลือใส่โรยข้างแถวปลูก แล้วพรวนกลบหลังจากครั้งแรก 60 วัน ใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัส 6 กิโลกรัมต่อไร่ โรยข้างแถวปลูกแล้วพรวนกลบหลังอ้อยงอก 30 วัน ใส่ปุ๋ยโพแทสเซียม 12 กิโลกรัมต่อไร่ โรยข้างแถวปลูก แล้วพรวนกลบหลังอ้อยงอก 30 วัน (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

2.4) การเก็บข้อมูล

2.4.1) ข้อมูลดิน

- เก็บตัวอย่างดินก่อนและหลังการทดลองเพื่อนำมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินและใช้ในการคำนวณการใช้ปุ๋ย

- เก็บตัวอย่างดินทุกเดือนก่อนการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสในแต่ละครั้ง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีส โดยวิธี serial dilution plate

2.4.2 ข้อมูลพืช

- วัดการเจริญเติบโตของต้นอ้อย ได้แก่ ความสูง จำนวนกอ เส้นรอบวงลำต้น วัดค่าความเขียวของใบด้วยเครื่อง Chlorophyll meter SPAD-502 ทุกๆ 1 เดือน

- ชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้น ใบ และราก

3) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยวิธี Duncan’s new multiple range test

9. ผลการทดลองและวิจารณ์

9.1 การเก็บตัวอย่างดินและอ้อย และแยกเชื้อแอคติโนมัยซีส

จากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากอ้อย และอ้อย เพื่อนำมาแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพควบคุมโรคอ้อย ในพื้นที่ปลูกอ้อยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และบันทึกจุดพิกัด และสถานที่เก็บตัวอย่างจากจังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น มหาสารคาม นครสวรรค์ กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี กำแพงเพชร ชลบุรี และระยอง จำนวน 227 ตัวอย่างนำดินบริเวณรากอ้อย ปริมาณ 1 กรัม เจือจางให้เป็น 10^{-4} ถึง 10^{-6} ทำการหยดสารละลายดิน 1 มิลลิลิตร บนจานเลี้ยงเชื้อสำหรับแอคติโนมัยซีส เกลี่ยให้ทั่ว (spread plate) บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 - 3 วัน และนำอ้อยมาตัดแบ่ง ออกเป็น ส่วนราก ส่วนลำต้น และส่วนใบ ล้างผ่านน้ำ ทำความสะอาดที่บริเวณผิวด้วยสารละลาย 0.1 เปอร์เซ็นต์ tween 80 นาน 5 นาที แช่แอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที แช่สารละลาย 1 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaOCl) นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 3 นาที หลังจากนั้นนำส่วนต่างๆของอ้อยไปปั่นในสารละลายริงเจอร์ (¼ Ringger ’s solution) ปริมาณ 3 มิลลิลิตร แล้วดูดสารละลายส่วนของพืช 1 มิลลิลิตร บนจานเลี้ยงเชื้อ เกลี่ยให้ทั่ว (spread plate) บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 14 วัน ซึ่งสามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากดินได้ 99 ไอโซเลต และจากรากอ้อยได้ 6 ไอโซเลต รวม 105 ไอโซเลต

9.2 การทดสอบความสามารถของแอคติโนมัยซีสในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคอ้อย

จากการแยกแอคติโนมัยซีสจากดินและรากอ้อยจากแหล่งปลูกอ้อยต่างๆ ได้จำนวน 105 ไอโซเลต มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับแอคติโนมัยซีสชนิดแข็งในจานเพาะเชื้อ โดย 1 ไอโซเลต บ่มเป็นเวลา 5 วัน และบันทึกการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีส ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเจริญเร็วภายในเวลา 5 วัน และกลุ่มเจริญช้าใช้เวลามากกว่า 5 วัน พบว่า มีจำนวน 13 ไอโซเลตที่เจริญได้ดี สามารถแยกจากดิน 8 ไอโซเลต แยกจากส่วนของรากอ้อย 5 ไอโซเลต จึงคัดเลือกมาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคอ้อย 3 ชนิด ได้แก่ *C. falcatum F. moniliforme* และ *F. Subglutinans* ผลการทดลอง พบว่า แอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากดิน 8 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพแตกต่างกันในการยับยั้งโรคอ้อยทั้ง 3 ชนิด โดยไอโซเลต KP11 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคอ้อย *C. falcatum F. moniliforme* และ *F. subglutinans* ได้สูงสุด 82.46 77.55 และ 72.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับไอโซเลตอื่นๆ รองลงมาคือไอโซเลต CB3 สามารถยับยั้งเชื้อ *C. falcatum* และ *F. subglutinans* ได้ 47.37 และ 48.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไอโซเลต KR2 สามารถยับยั้ง เชื้อ *F. moniliforme* ได้ 46.94 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ไอโซเลต KR6/1 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. falcatum* ได้ และ ไอโซเลต KR6/2 มีประสิทธิภาพต่ำสุดในการยับยั้ง เชื้อ *F. moniliforme* และ *F. subglutinans* 22.45 และ 15.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

สำหรับแอคติโนมัยซีสที่แยกจากรากอ้อย 5 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพในการยับยั้งโรคอ้อยทั้ง 3 ชนิด แตกต่างกันเช่นเดียวกับแอคติโนมัยซีสที่แยกจากดิน โดยไอโซเลต KB17 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคอ้อย *C. falcatum* และ *F. subglutinans* ได้สูงสุด 73.68 และ 58.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไอโซเลต KB21/2 มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *F. moniliforme* ได้สูงสุด 44.90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับไอโซเลตอื่นๆ รองลงมาคือ ไอโซเลต KB21/2 และ KB21/1 สามารถยับยั้งเชื้อ *C. falcatum* ได้ 42.10 และ 40.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไอโซเลต KB21/1 และ KB21/2 สามารถยับยั้งเชื้อ *F. subglutinans* ได้ 36.21 และ 34.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไอโซเลต KB17 สามารถยับยั้งเชื้อ *F. moniliforme* ได้ 32.65 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ ไอโซเลต KB9/2 มีประสิทธิภาพต่ำสุดในการยับยั้ง เชื้อ *F. moniliforme* ได้ 24.49 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบแอคติโนมัยซีสแยกจากดินปลูกอ้อยในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคอ้อย

ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง		
	C. falcatum.	*F. Moniliformi*	*F. Subglutinans*
KR6/2	17.54 e	22.45 f	15.52 f
KR6/1	0f	18.37 g	27.59 d
KR5/3	22.81 d	30.61 d	29.31 d
KR1	22.81 d	26.53 e	22.41 e
CB3	47.37 b	38.77 c	48.27 b
KR2	33.33 c	46.94 b	36.21 c
KP5	15.79 e	32.65 d	17.24 f
KP11	82.46 a	77.55 a	72.41 a
F-test	**	**	**
CV (%)	6.13	5.44	5.95

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบแอคติโนมัยซีสแยกจากรากอ้อยในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคอ้อย

ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง		
	C. falcatum	*F. Moniliformi*	*F. Subglutinans*
KB9/1	17.54 c	26.53 cd	18.97 c
KB9/2	17.54 c	24.49 d	18.97 c
KB21/1	40.35 b	28.57 c	36.21 b
KB21/2	42.10 b	44.90 a	34.48 b
KB17	73.68 a	32.65 b	58.62 a
F-test	**	**	**
CV(%)	5.23	6.36	5.98

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

9.3 ทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงและโรคเหี่ยวของอ้อยในโรงเรือน

9.3.1 ทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง *C. falcatum*

1) ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดิน

เมื่อดำเนินการเก็บตัวอย่างดินทุกเดือนตั้งแต่อ้อยอายุ 1 - 8 เดือน เพื่อนำมาหาปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีส พบว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดินมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งสามารถแบ่งปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดิน ออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงอ้อย อายุ 1 - 5 เดือนก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช จะเห็นว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 มีปริมาณสูงสุด 5.07 5.93 5.62 5.03 และ 6.63 CFUต่อกรัม ตามลำดับ รองลงมารหัส CB3 KP11 และ KB21/2 มีปริมาณสูงในอ้อยอายุ 1 - 3 เดือน ปริมาณ 5.53 5.74 5.31 และ 5.95 5.08 5.061 และ 5.04 5.92 5.06 CFUต่อกรัม ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าตำรับการทดลองที่ไม่มีการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสก็จะไม่มีปริมาณเชื้อปรากฏ แนวโน้มของปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดินในช่วง 5 เดือนแรกก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช รหัสเชื้อ KB21/2 มีปริมาณต่ำสุด 3.20 CFUต่อกรัม สำหรับปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย ในช่วงอ้อยอายุ 6 - 8 เดือน หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช พบว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่ออ้อยอายุ 8 เดือน จะเห็นว่าทุกตำรับการทดลองที่มีการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 KP11 KB17 และ KB21/2 มีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสมีแนวโน้มสูง แต่ในช่วงที่อ้อยอายุ 6 เดือน พบว่าในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 มีปริมาณ 5.07 CFU ต่อกรัม แต่ไม่แตกต่างจากตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 และ KP11 ปริมาณ 4.08 และ 3.92 CFUต่อกรัม อย่างไรก็ตามปริมาณแอคติโนมัยซีสทุกตำรับการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

2) ปริมาณแอคติโนมัยซีสในอ้อย

เมื่อดำเนินการเก็บอ้อย อายุ 8 เดือน แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากส่วนราก ส่วนลำต้น และส่วนใบ พบว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสจากส่วนต่างๆของอ้อยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งก็จะมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสปริมาณแตกต่างกันในแต่ละรหัสเชื้อพบได้ในใบ ลำต้น และรากของอ้อย ในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 มีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสสูงที่สุด จำนวน 5.62 5.87 และ 6.08 CFUต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย อื่นๆ รองลงมาคือตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 ที่พบปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในส่วนของลำต้น และราก จำนวน 5.23 และ 6.48 CFUต่อกรัม ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามปริมาณแอคติโนมัยซีสในส่วนของลำต้น ในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 และ KB21/2 จำนวน 4.67 และ 4.53 CFUต่อกรัม ตามลำดับมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสต่ำกว่าปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในราก จำนวน 5.27 และ 5.90 CFUต่อกรัม ตามลำดับ

3) การเจริญเติบโตของอ้อย

3.1) ความสูงของอ้อย

จากการเก็บข้อมูลความสูงของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 8 เดือน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ช่วงเวลา ได้แก่ ช่วงแรกต้นอ้อยก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช อายุ 1 - 5 เดือน พบว่า ความสูงของอ้อยที่มีอายุ 3 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และความสูงของอ้อยอายุ 5 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยความสูงของอ้อยที่อายุ 3 และ 5 เดือน ตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีความสูงมากที่สุด โดยมีความสูง 110.3 และ 183.3 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยไม่ความแตกต่างกันทางสถิติ กับตำรับควบคุม ต้นอ้อยช่วงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช อายุ 6 - 8 เดือน พบว่า ความสูงของอ้อยที่อายุ 7 และ 8 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยความสูงของอ้อยตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีความสูงมากที่สุด โดยมีความสูง 212.3 และ 231.5 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB 17 และตำรับควบคุม อย่างไรก็ตามความสูงของต้นอ้อยในตำรับที่มีรหัสเชื้อต่างกัน มีผลจากสภาพแวดล้อมที่ต่างกันด้วย แสงมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ความสูงของอ้อยที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช *C. falcatum*

ตำรับการทดลอง	ความสูง (เซนติเมตร)							
	ก่อนปลูกเชื้อโรค					หลังปลูกเชื้อโรค		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	51.8	82.0	107.0 ab	163.0	185.0 a	197.0	203.5 c	231.0 a
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	54.0	72.0	94.0 bc	142.7	164.3 b	176.3	186.3 b	193.0 c
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	48.5	67.0	89.0 c	134.3	170.3 b	190.8	199.8 b	208.3 b
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	52.0	70.8	90.0 c	141.3	172.0 b	189.0	201.5 b	220.8 a
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2	51.8	82.3	110.3 a	155.5	183.3 a	196.0	212.3 a	231.5 a
F-test	ns	ns	*	ns	**	ns	**	**
CV (%)	13.80	15.15	8.82	9.18	3.65	4.62	3.71	3.58

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

3.2) ความเขียว

จากการเก็บข้อมูลความเขียวของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 8 เดือน เดือน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ช่วงเวลา ได้แก่ ช่วงแรกต้นอ้อยก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช อายุ 1 - 5 เดือน พบว่า ความเขียวของใบอ้อยที่มีอายุ 3 และ 5 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยความเขียวของอ้อยที่อายุ 3 และ 5 เดือน ตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB17 มีความเขียวมากที่สุด โดยมีความเขียว 41.6 และ 40.9 SPAD (reading) ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 และ KP11 อย่างไรก็ตาม ตำรับควบคุมที่ไม่มีการใส่เชื้อมีแนวโน้มความเขียวต่ำที่สุด ต้นอ้อยช่วงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช อายุ 6 - 8 เดือน พบว่าความเขียวของใบอ้อยที่มีอายุ 6 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยความเขียวของอ้อยที่อายุ 6 เดือน ตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีความเขียวมากที่สุดโดยมีความเขียว 32.7 SPAD (reading) โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KB17 และความเขียวของอ้อยที่มีอายุ 7 และ 8 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยความเขียวของใบอ้อยตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีความเขียวมากที่สุด โดยมีความเขียว 31.8 และ 30.9 SPAD (reading) โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB17 อย่างไรก็ตามความเขียวของใบอ้อยในตำรับที่ใส่รหัสเชื้อ KB21/2 มีความเขียวสูงที่สุดหลังจากอ้อยที่ได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KB17 อย่างไรก็ตามตำรับการทดลองควบคุมที่ไม่ใส่รหัสเชื้อความเขียวใบอ้อยมีแนวโน้มต่ำสุด (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ความเขียวของใบอ้อยที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช *C. falcatum*

ตำรับการทดลอง	ความเขียว							
	ก่อนปลูกเชื้อโรค					หลังปลูกเชื้อโรค		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	43.2	39.9	38.1 bc	36.2 b	33.7	28.7 c	27.6 c	26.7 c
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	42.4	39.6	37.7 c	35.7 b	32.8	31.0 b	29.9 b	29.3 b
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	43.7	42.1	40.8 abc	39.5 ab	34.2	31.0 b	30.1 b	29.1 b
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	44.2	42.2	41.6 a	40.9 a	36.5	32.1 ab	31.3 ab	30.4 ab
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	42.9	41.5	40.9 ab	40.0 a	34.1	32.7 a	31.8 a	30.9 a
F-test	ns	ns	*	*	ns	*	**	**
CV (%)	4.13	3.71	4.77	6.48	4.71	3.38	3.08	3.29

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

3.3) เส้นรอบวง

จากการเก็บข้อมูลเส้นรอบวงของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 8 เดือน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ช่วงเวลา ได้แก่ ช่วงแรกต้นอ้อยก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช อายุ 1 - 5 เดือน พบว่า เส้นรอบวงของอ้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ต้นอ้อยช่วงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช อายุ 6 - 8 เดือน พบว่า โดยเส้นรอบวงของอ้อยอายุ 7 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีเส้นรอบวงกว้างที่สุด โดยมีเส้นรอบวงขนาด 2.3 เซนติเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KB17 และ KP11 เส้นรอบวงของอ้อยอายุ 8 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีเส้นรอบวงกว้างที่สุด โดยมีเส้นรอบวงขนาด 2.5 เซนติเมตร อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าเส้นรอบวงของอ้อยมีแนวโน้มต่ำสุดในตำรับการทดลองควบคุมไม่ใส่รหัสเชื้อและตำรับใช้รหัสเชื้อ CB3 (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 เส้นรอบวงอ้อยที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช *C. falcatum*

ตำรับการทดลอง	เส้นรอบวง (เซนติเมตร)							
	ก่อนปลูกเชื้อโรค					หลังปลูกเชื้อโรค		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	0.7	0.9	1.1	1.3	1.6	1.8	2.0 b	2.1 c
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	0.7	0.8	1.0	1.2	1.6	1.8	2.0 b	2.1 c
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	0.6	0.8	1.1	1.3	1.7	2.0	2.2 ab	2.3 b
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	0.7	0.8	1.1	1.4	1.6	2.0	2.2 ab	2.3 b
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	0.7	0.8	1.1	1.6	1.8	2.1	2.3 a	2.5 a
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	**
CV (%)	16.38	14.98	12.57	13.80	10.48	6.78	6.03	4.91

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

4) ดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวเน่าแดง

จากการบันทึกข้อมูลการเกิดโรคเหี่ยวเน่าแดง จากเชื้อ *C. falcatum* ในช่วงอ้อยอายุ 5 เดือน ซึ่งเป็นการบันทึกข้อมูลหลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช 14 วัน โดยประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรค พบว่า ดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวเน่าแดงจากเชื้อ *C. falcatum* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งจะเห็นได้ว่าตำรับการทดลองควบคุมมีดัชนีการเกิดโรคสูงสุด 75 เปอร์เซ็นต์ สำหรับตำรับการทดลองที่มีการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 พบว่า มีดัชนีการเกิดโรคสูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ตำรับการทดลองที่มีการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย ที่ 3 4 และ 5 รหัส KP11 KB17 และKB21/2 มีดัชนีการเกิดโรค 25 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดลองที่มีการเกิดโรคน้อยที่สุด คือ รหัสเชื้อ KP11 ดังนั้น เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัสเชื้อ KP11 สามารถใช้ควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงได้ภายใน 20 วัน หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยเมื่อประเมินผลความเสียหายจากการเกิดโรค พบว่า เชื้อ KP11 KB17 และ KB21/2 อยู่ในระดับ 1 ซึ่งมีการปรากฏของแผล 1 - 25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ ขนาดเล็ก และไม่มีการพัฒนาของแผลเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงว่าเชื้อแอคติโนมัยซิสมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวแดงได้ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 แสดงดัชนีการเกิดโรค

ตำรับการทดลอง	ดัชนีการเกิดโรคพืช (เปอร์เซ็นต์)
	C. falcatum
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	75 a
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	50 b
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	25 c
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	25 c
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	25 c
F-test	**
CV(%)	5.00

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

5) ลักษณะการเกิดโรคเหี่ยวเน่าแดง

จากการสังเกตและบันทึกลักษณะของการเกิดโรคเหี่ยวเน่าแดง หลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช 14 วัน พบว่า ตำรับการทดลองควบคุมมีลักษณะอาการของโรคบริเวณโคนต้นเป็นรอยแผลแดงสีคล้ำเกือบม่วง ขนาดของแผล 4.5 x 9 เซนติเมตร ลำต้นเริ่มมีอาการเหี่ยว บริเวณกาบใบมีแถบสีแดงขึ้นกระจายโดยรอบโคนต้น หน่อที่เกิดใหม่มีอาการเน่า แห้ง และตาย หลังจาการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช 10 - 14 วัน

แผลขยายทั่วบริเวณต้นอ้อย ตำรับการทดลองที่ 2 รหัสเชื้อ CB3 มีรอยแดงที่บริเวณกาบใบและโคนต้น เป็นบริเวณกว้างขนาด 3.5 x 8 เซนติเมตร หน่อที่เกิดใหม่หลังจากได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืชแล้ว มีอาการช้ำ และแห้ง อาการที่เกิดต่างๆ เริ่มดีขึ้น สีของรอยแดงจางลง หน่อที่เกิดมาใหม่เป็นต้นปกติ ภายใน 35 - 40 วัน ตำรับการทดลองที่ 5 รหัสเชื้อ KB21/2 มีรอยแดงที่กาบใบและโคนต้น กระจายรอบบริเวณ รอยแดงมีขนาดไม่ใหญ่ มีจุดช้ำที่บริเวณโคนต้น และที่ปลายยอด หน่อที่เกิดหลังจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืชมีอาการใบแห้ง รากแห้งเพียงเล็กน้อย อาการที่เกิดขึ้นต่าง ๆ เริ่มดีขึ้น และหน่อที่เกิดใหม่มีลักษณะปกติ ภายใน 25 - 30 วัน และตำรับการทดลองที่ 3 และ 4 รหัสเชื้อ KP11 KB17 มีรอยแดงเพียงเล็กน้อยบริเวณโคนต้น หน่อใหม่ที่เกิดเป็นปกติ ภายใน 20 วัน หลังจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

6) การศึกษาแอคติโนมัยซีสในอ้อยโดยเทคนิค DGGE

จากการทดสอบการเข้าอยู่อาศัยของแอคติโนมัยซีส และการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืชในอ้อย โดยแบ่งออกเป็นส่วนราก ลำต้น และใบ พบว่า รหัสเชื้อแอคติโนมัยซิส KB21/2 พบในราก แต่ส่วนลำต้น และใบไม่พบ การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของแถบ DNA เชื้อทดสอบปรากฏว่า ตำรับการทดลองที่ 5 (T5) และ KB21/2 เหมือนกัน ในรากอ้อย แสดงว่ามีความสัมพันธ์กัน แต่สำหรับแอคติโนมัยซีสในตำรับการทดลองรหัสเชื้ออื่น ไม่พบในลำต้น และใบ อย่างไรก็ตามรหัสเชื้อแอคติโนมัยซิสที่ทำการทดสอบ CB3 KP11 และ KB17 ไม่พบลักษณะการเข้าอยู่อาศัยในรากอ้อย แต่มีความสามารถยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวเน่าแดงได้เช่นกัน

9.3.2 ทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง *F. moniliforme*

1) ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดิน

เมื่อดำเนินการเก็บตัวอย่างดินทุกเดือนตั้งแต่อ้อยอายุ 1 - 8 เดือน เพื่อนำมาหาปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีส พบว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดินมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งสามารถแบ่งปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดิน ออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงอ้อย อายุ 1 - 5 เดือน ก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช จะเห็นว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 มีปริมาณสูงสุด จำนวน 5.43 6.21 5.68 4.46 และ 5.55 CFUต่อกรัม ตามลำดับ และในช่วงอ้อยอายุ 3 เดือน เชื้อแอคติโนมัยซีสรหัส KP11 KB17 และ KB21/2 มีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวน 5.26 4.59 และ 5.51 CFUต่อกรัม ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าตำรับการทดลองที่ไม่มีการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสก็จะไม่มีปริมาณเชื้อปรากฏแนวโน้มของปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดินในช่วง 5 เดือนแรกก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช รหัสเชื้อ KP11 มีปริมาณต่ำสุด 4.32 CFUต่อกรัม สำหรับปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย ในช่วงอ้อยอายุ 6 - 8 เดือน หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช พบว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีส มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งรหัส KB17 มีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสมากที่สุด 4.19 4.10 และ 4.36 CFUต่อกรัม ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างจากตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 และ KB21/2 ปริมาณ 4.20 และ 4.10 CFUต่อกรัม อย่างไรก็ตามปริมาณแอคติโนมัยซีสทุกตำรับการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช *F. moniliforme*

ตำรับการทดลอง	ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซิส (CFUต่อกรัม)							
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	0 c	0 c	0 b	0 b	0 c	0 b	0 c	0 c
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	5.43 ab	6.21 a	5.68 a	4.46 a	5.55 a	4.28 a	3.93 ab	4.20 ab
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	4.88 b	5.03 b	5.26 a	4.92 a	4.32 b	4.02 a	3.53 b	3.87 b
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	5.77 a	4.99 b	4.59 a	4.73 a	4.59 ab	4.19 a	4.10 a	4.36 a
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	5.15 ab	5.92 a	5.51 a	4.27 a	4.26 b	4.15 a	4.10 a	4.10 ab
F-test	**	**	**	**	**	**	**	**
CV (%)	11.38	8.09	16.78	10.93	14.09	10.99	9.50	7.82

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

2) ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในอ้อย

เมื่อดำเนินการเก็บอ้อย อายุ 8 เดือน แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากส่วนราก ส่วนลำต้น และส่วนใบ พบว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสจากส่วนต่างๆ ของอ้อยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งก็จะมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสปริมาณแตกต่างกันในแต่ละรหัสเชื้อพบได้ในใบ ลำต้น และรากของอ้อย ในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 มีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสสูงที่สุด จำนวน 4.83 5.93 และ 5.97 CFUต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย อื่นๆ รองลงมาคือตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 CB3 และ KB17 ที่พบปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในส่วนของราก จำนวน 5.86 5.67 และ 5.42 CFUต่อกรัม ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามปริมาณแอคติโนมัยซีสในส่วนของใบและลำต้น ในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยอื่นๆ มีแนวโน้มพบปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยต่ำกว่าปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยในราก

3) การเจริญเติบโตของอ้อย

3.1) ความสูงของอ้อย

จากการเก็บข้อมูลความสูงของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 8 เดือน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ช่วงเวลา ได้แก่ ช่วงแรกต้นอ้อยก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช อายุ 1 - 5 เดือน พบว่า ความสูงของอ้อยที่มีอายุ 5 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และความสูงของอ้อยอายุ 1 3 และ 4 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยความสูงของอ้อยที่อายุ 1 3 4 และ 5 เดือน ตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีความสูงมากที่สุด โดยมีความสูง 66 127.8 167.5 และ 186.8 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับตำรับควบคุม เมื่ออ้อย อายุ 1 และ 5 เดือน ตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ CB3 อ้อยอายุ 4 และ 5 เดือน ตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KP11 อ้อยอายุ 1 3 และ 4 เดือน และตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KB17 อ้อยอายุ 4 เดือน ต้นอ้อยช่วงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช อายุ 6 - 8 เดือน พบว่า ความสูงของอ้อยที่อายุ 6 7 และ 8 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยความสูงของอ้อยตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีความสูงมากที่สุด โดยมีความสูง 197.8 206.8 และ 217.0 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ CB3 (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ความสูงของอ้อยที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช *F. moniliforme*

ตำรับการทดลอง	ความสูง (เซนติเมตร)							
	ก่อนปลูกเชื้อโรค					หลังปลูกเชื้อโรค		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	63.8 ab	77.8	98.0 d	121.8 b	175.5 abc	185.5 b	196.0 b	207.8 bc
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	55.5 bc	81.5	106.0 cd	160.0 a	178.5 ab	189.3 ab	199.8 b	212.5 ab
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	59.0 ab	87.5	120.0 ab	157.8 a	163.8 c	188.8 b	197.8 b	204.8 c
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	46.8 c	80.5	115.5 bc	150.8 a	170.5 bc	184.5 b	197.0 b	204.3 c
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	66.0 a	94.5	127.8 a	167.5 a	186.8 a	197.8 a	206.8 a	217.0 a
F-test	**	ns	**	**	*	*	*	*
CV (%)	10.24	15.05	6.82	8.89	4.64	3.00	2.01	2.42

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

3.2) ความเขียว

จากการเก็บข้อมูลความเขียวของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 8 เดือน เดือน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ช่วงเวลา ได้แก่ ช่วงแรกต้นอ้อยก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช อายุ 1 - 5 เดือน พบว่า ความเขียวของใบอ้อย มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีความเขียวมากที่สุด โดยมีความเขียว 44.6 42.4 41.4 39.6 และ 37.4 SPAD (reading) ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KP11 และ KB21/2 อย่างไรก็ตามตำรับที่ใส่รหัสเชื้อ CB3 มีแนวโน้มความเขียวต่ำที่สุด ต้นอ้อยช่วงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช อายุ 6 - 8 เดือน พบว่าความเขียวของใบอ้อยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KP11 มีความเขียวมากที่สุดโดยมีความเขียว 33.2 32.4 และ 31.7 SPAD (reading) ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KB17 และ KB21/2 อย่างไรก็ตามความเขียวของใบอ้อยในตำรับที่ใส่รหัสเชื้อ KP11 มีความเขียวสูงที่สุดหลังจากอ้อยที่ได้รับการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KB17 และ KB21/2 อย่างไรก็ตามตำรับการทดลองควบคุมที่ไม่ใส่รหัสเชื้อความเขียวใบอ้อยมีแนวโน้มต่ำสุด (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 แสดงความเขียวของอ้อยที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. moniliform*

ตำรับการทดลอง	ความเขียว							
	ก่อนปลูกเชื้อโรค					หลังปลูกเชื้อโรค		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	43.4 b	41.2 b	39.4 b	37.3 b	35.8 b	30.5 c	29.7 c	29.0 c
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	40.2 d	38.4 c	37.4 c	35.5 c	34.4 c	31.8 b	31.0 b	30.3 b
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	42.8 c	40.4 b	39.7 b	39.2 a	32.9 d	33.2 a	32.4 a	31.7 a
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	43.0b c	40.5 b	39.7 b	38.8 a	35.7 b	32.2 ab	31.3 ab	30.7 ab
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	44.6 a	42.4 a	41.4 a	39.6 a	37.4 a	32.9 ab	32.1 ab	31.4 ab
F-test	**	**	**	**	**	**	**	**
CV (%)	0.81	1.33	1.45	1.89	2.49	2.45	2.56	2.70

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

3.3) เส้นรอบวง

จากการเก็บข้อมูลเส้นรอบวงของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 8 เดือน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ช่วงเวลา ได้แก่ ช่วงแรกต้นอ้อยก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช อายุ 1 - 5 เดือน พบว่า เส้นรอบวงของอ้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ต้นอ้อยช่วงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช อายุ 6 - 8 เดือน พบว่า โดยเส้นรอบวงของอ้อยอายุ 8 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีเส้นรอบวงกว้างที่สุด โดยมีเส้นรอบวงขนาด 2.24 เซนติเมตร อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าเส้นรอบวงของอ้อยมีแนวโน้มต่ำสุดในตำรับการทดลองควบคุมไม่ใส่รหัสเชื้อ และตำรับใช้รหัสเชื้อ CB3 (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 เส้นรอบวงอ้อยที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช *F. moniliforme*

ตำรับการทดลอง	เส้นรอบวง (เซนติเมตร)							
	ก่อนปลูกเชื้อโรค					หลังปลูกเชื้อโรค		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	0.6	0.9	1.0	1.2	1.6	1.9	2.0	2.2 bc
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	0.6	0.8	1.1	1.31	1.5	1.8	2.0	2.1 c
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	0.6	0.8	1.1	1.3	1.7	2.0	2.1	2.3 b
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	0.7	0.8	1.1	1.4	1.7	2.0	2.1	2.3 b
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	0.7	1.0	1.2	1.5	1.8	2.0	2.2	2.24 a
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
CV (%)	15.70	12.24	9.59	11.65	8.08	3.96	3.34	3.72

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

4) ดัชนีการเกิดโรคเน่าเหี่ยวแดง

จากการบันทึกข้อมูลการเกิดโรคเน่าเหี่ยวแดง จากเชื้อ *F. moniliforme* ในช่วงอ้อยอายุ 5 เดือน ซึ่งเป็นการบันทึกข้อมูลหลังจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช 14 วัน โดยประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรค พบว่า ดัชนีการเกิดโรคเน่าเหี่ยวแดงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยในตำรับควบคุมมีดัชนีการเกิดโรคสูงสุด 75 เปอร์เซ็นต์ สำหรับตำรับที่มีการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย พบว่า ดัชนีการเกิดโรคตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 มีดัชนีการเกิดโรคสูง 50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 KP11 และ KB21/2 มีดัชนีการเกิดโรค คือ 25 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดลองที่มีการเกิดโรคน้อยที่สุด คือ รหัสเชื้อ KP11 ดังนั้น เชื้อแอคติโนมัยซิส รหัสเชื้อ KP11 สามารถใช้ควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงได้ภายใน 20 วัน หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยเมื่อประเมินผลความเสียหายจากการเกิดโรค พบว่า เชื้อ CB3 KP11 และ KB21/2 อยู่ในระดับ 1 ซึ่งมีการปรากฏของแผล 1 - 25เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ ขนาดเล็ก และไม่มีการพัฒนาของแผลเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงว่า เชื้อแอคติโนมัยซิสมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าได้ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 แสดงดัชนีการเกิดโรค

ตำรับการทดลอง	ดัชนีการเกิดโรคพืช (เปอร์เซ็นต์)
	F. Moniliformi
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	75 a
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	25 c
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	25 c
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	50 b
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	25 c
F-test	**
CV(%)	2.50

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

5) ลักษณะการเกิดโรครากเน่าและโคนเน่า

จากการสังเกตและบันทึกลักษณะของการเกิดโรครากเน่าและโคนเน่าหลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช 14 วัน พบว่า ตำรับการทดลองควบคุมลักษณะอาการของโรคมีแถบแดงที่กาบใบกว้าง 1 เซนติเมตร ยาว 3.5 เซนติเมตร หลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืชลงบนอ้อย 10 วัน แผลมีขนาดยาวขึ้น มีหน่อใหม่ที่งอก6 หน่อ หลังจากได้ปลูกเชื้อโรค 20 - 25 วัน หน่อที่เกิดใหม่มีอาการแห้ง แล้วตาย ตำรับ

การทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 มีอาการแถบรอยแดงที่บริเวณกาบใบ บริเวณข้ออ้อย ปลายใบมีอาการแห้ง หลังจากที่ได้รับเชื้อ 14 วัน แผลมีลักษณะเป็นแถบเล็กๆ สั้นๆ และไม่มีการขยายแผล วันที่ 17 แผลเริ่มจางลง มีหน่อเกิดใหม่ 3 หน่อ ตอนปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช มีอาการของโรคยอดแห้ง 2 วัน หลังจากนั้นหน่องอกใหม่เป็นต้นปกติ ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 มีรอยแดงที่บริเวณกาบใบ และกระจายอยู่ทั่วไป แผลมีลักษณะเป็นเส้นยาวสีแดงเข้ม หลังจากได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช 14 วัน หน่อที่เกิดใหม่ 4 หน่อ มีอาการ 3 หน่อ หลังจากการปลูกเชื้อ 25 วัน แผลมีสีจางลง หน่อที่แห้งเมื่อเกิดใหม่เป็นต้นปกติ ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัสเชื้อ CB3 มีรอยแดงเป็นเส้นเล็กๆ ปลายใบแห้ง หลังได้รับเชื้อโรค 14 วัน หน่อที่เกิดใหม่ไม่มีอาการของโรค เมื่อสังเกตในวันที่ 20 หลังจากได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช แผลจางลงจนเป็นปกติภายใน 20 - 25 วัน และตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 มีรอยแดงบริเวณกาบใบ ลำต้นมีแถบแดง หน่อใหม่ที่เกิดขึ้นเริ่มแห้งและตาย ในวันที่ 14 หลังจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช แผลเริ่มจางลง และหน่อใหม่งอกเป็นต้นปกติ หลังจากได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช 25 - 30 วัน

6) การศึกษาแอคติโนมัยซีสในอ้อยโดยเทคนิค DGGE

จากการทดสอบการเข้าอยู่อาศัยของแอคติโนมัยซีส และการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืชในอ้อย โดยแบ่งออกเป็นส่วนราก ลำต้น และใบ พบว่า รหัสเชื้อแอคติโนมัยซิส KB21/2 พบในราก แต่ส่วนลำต้น และใบไม่พบ การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของแถบ DNA เชื้อทดสอบปรากฏว่า ตำรับการทดลองที่ 5 (T5) และ KB21/2 เหมือนกัน ในรากอ้อย แสดงว่ามีความสัมพันธ์กัน แต่สำหรับแอคติโนมัยซิสในตำรับการทดลองรหัสเชื้ออื่น ไม่พบในลำต้น และใบ อย่างไรก็ตามรหัสเชื้อแอคติโนมัยซิสที่ทำการทดสอบ CB3 KP11 และ KB17 ไม่พบลักษณะการเข้าอยู่อาศัยในรากอ้อย แต่มีความสามารถยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวเน่าแดงได้เช่นกัน

9.3.3 ทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวในอ้อย *F. subglutinans*

1) ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดิน

เมื่อดำเนินการเก็บตัวอย่างดินทุกเดือนตั้งแต่อ้อยอายุ 1 - 8 เดือน เพื่อทดสอบปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีส พบว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดินมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งสามารถแบ่งปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดิน ออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงอ้อย อายุ 1 - 5 เดือนก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช จะเห็นว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 มีปริมาณสูงสุด 5.93 5.32 5.40 5.23 และ 5.30 CFUต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งในช่วงอ้อยอายุ 1 - 2 เดือน จะมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยสูงทุกตำรับการทดลอง แต่อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าตำรับการทดลองที่ไม่มีการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสก็จะไม่มีปริมาณเชื้อปรากฏ แนวโน้มของปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดินในช่วง 5 เดือนแรกก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช รหัสเชื้อ CB3 KB21/2 และ KP11 มีปริมาณต่ำสุดโดยเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 มีปริมาณต่ำสุดเมื่ออ้อยอายุ 3 และ 4 เดือน จำนวน 4.47 และ 4.30 CFUต่อกรัม เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยรหัส KP11 มีปริมาณต่ำสุดเมื่ออ้อยอายุ 3 เดือน จำนวน 4.43 CFUต่อกรัม แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย เมื่ออ้อยอายุ 4 เดือน สำหรับปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย ในช่วงอ้อยอายุ 6 - 8 เดือน หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช พบว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีส

มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่ออ้อยอายุ 8 เดือน จะเห็นว่าทุกตำรับการทดลองที่มีการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 KP11 KB17 และ KB21/2 มีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสสูง แต่ในช่วงที่อ้อยอายุ 6 เดือน พบว่าในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 มีปริมาณต่ำจำนวน 3.55 CFUต่อกรัม เมื่ออ้อยอายุ 7 เดือน เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 มีปริมาณเชื้อต่ำสุด แต่ไม่แตกต่างจากตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 และ KP11 ปริมาณ 4.35 และ 4.26 CFUต่อกรัม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณแอคติโนมัยซีสทุกตำรับการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

2) เชื้อแอคติโนมัยซิสในอ้อย หลังจากนำเชื้อสาเหตุโรคพืชมาปลูกบนต้นอ้อย

เมื่อดำเนินการเก็บอ้อย อายุ 8 เดือน แยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากส่วนราก ส่วนลำต้น และส่วนใบ พบว่า ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสจากส่วนต่างๆของอ้อยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งก็จะมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสปริมาณแตกต่างกันในแต่ละรหัสเชื้อพบได้ในใบ ลำต้น และรากของอ้อย ในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 มีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในรากสูงที่สุด จำนวน 6.09 CFUต่อกรัม รองลงมาคือตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 KB17 และ CB3 จำนวน 5.67 5.26 และ 5.17 CFUต่อกรัม แต่อย่างไรก็ตามปริมาณแอคติโนมัยซีสในส่วนของลำต้น ในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 KB17 และ CB3 จำนวน 6.12 4.77 และ 4.06 CFUต่อกรัม ตามลำดับ มีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสต่ำกว่าปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในราก จำนวน 5.27และ 5.90 CFUต่อกรัม ตามลำดับ

3) การเจริญเติบโตของอ้อย

3.1) ความสูงของอ้อย

จากการเก็บข้อมูลความสูงของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 8 เดือน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ช่วงเวลา ได้แก่ ช่วงแรกต้นอ้อยก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช อายุ 1 - 5 เดือน พบว่า ความสูงของอ้อยที่มีอายุ 2 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และความสูงของอ้อยอายุ 5 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยความสูงของอ้อยที่อายุ 2 และ 5 เดือน ตำรับการทดลองควบคุมไม่ใส่รหัสเชื้อมีความสูงมากที่สุด โดยมีความสูง 94.5 และ 199.8 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KB17 ต้นอ้อยช่วงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช อายุ 6 - 8 เดือน พบว่า ความสูงของอ้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามความสูงของต้นอ้อยในตำรับที่มีรหัสเชื้อต่างกันในแต่ละตำรับการทดลอง เมื่ออายุครบ 8 เดือน ความสูงของอ้อยก็ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ความสูงของอ้อยที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. subglutinans*

ตำรับการทดลอง	ความสูง (เซนติเมตร)							
	ก่อนปลูกเชื้อโรค					หลังปลูกเชื้อโรค		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	53.8	94.5 a	108.0	154.5	199.8 a	196.8	208.3	217.0
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	57.0	72.8 b	94.8	139.0	166.8 b	187.0	197.5	207.3
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	51.5	58.8 b	92.5	132.75	160.0 bc	188.0	202.8	212.8
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	59.3	76.8 ab	93.0	123.5	158.8 bc	183.3	202.3	215.5
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	55.0	61.0 b	80.0	112.67	145.0 c	175.7	196.3	217.3
F-test	ns	*	ns	ns	**	ns	ns	ns
CV (%)	11.09	18.42	11.89	13.74	7.75	5.41	3.78	2.41

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

3.2) ความเขียว

จากการเก็บข้อมูลความเขียวของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 8 เดือน เดือน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ช่วงเวลา ได้แก่ ช่วงแรกต้นอ้อยก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช อายุ 1 - 5 เดือน พบว่า ความเขียวของใบอ้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ต้นอ้อยช่วงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช อายุ 6 - 8 เดือน พบว่า ความเขียวของใบอ้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 ความเขียวของอ้อยที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. subglutinans*

ตำรับการทดลอง	ความสูง (เซนติเมตร)							
	ก่อนปลูกเชื้อโรค					หลังปลูกเชื้อโรค		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	42.18	40.4	39.2	37.9	34.9	30.2	29.3	28.7
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	43.9	41.8	40.7	40.0	33.4	32.4	31.6	30.1
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	44.0	42.4	41.4	40.5	34.6	31.7	31.0	30.3
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	43.6	42.4	41.8	41.2	33.7	32.1	31.5	30.7
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	42.5	40.2	39.1	37.5	34.3	32.2	31.1	30.4
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	2.97	3.37	3.90	4.79	4.18	3.34	3.38	3.42

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.3) เส้นรอบวง

จากการเก็บข้อมูลเส้นรอบวงของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 8 เดือน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ช่วงเวลา ได้แก่ ช่วงแรกต้นอ้อยก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช อายุ 1 - 5 เดือน พบว่า เส้นรอบวงของอ้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเส้นรอบวงของอ้อยอายุ 5 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยตำรับการทดลองที่ไม่ใส่รหัสเชื้อ มีเส้นรอบวงกว้างที่สุด โดยมีเส้นรอบวงขนาด 1.9 เซนติเมตร โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ CB3 KP11 KB17 และ KB21/2 ขนาดเส้นรอบวง 1.5 1.6 1.5 และ 1.4 เซนติเมตร ตามลำดับ ต้นอ้อยช่วงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช อายุ 6 - 8 เดือน เส้นรอบวงของอ้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 เส้นรอบวงอ้อยที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืช *F. subglutinans*

ตำรับการทดลอง	เส้นรอบวง (เซนติเมตร)							
	ก่อนปลูกเชื้อโรค					หลังปลูกเชื้อโรค		
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน	8 เดือน
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	0.8	0.9	0.2	1.6	1.9 a	2.0	2.1	2.2
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	0.7	0.9	1.0	1.2	1.5 b	1.9	1.9	2.1
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	0.7	0.8	1.0	1.2	1.6 b	1.8	1.9	2.1
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	0.8	0.9	1.0	1.2	1.5 b	1.7	1.9	2.1
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีส ควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	0.8	0.8	1.1	1.2	1.4 b	1.6	1.9	2.0
F-test	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
CV (%)	12.46	14.51	11.80	17.20	11.93	10.18	7.96	6.14

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

4) ดัชนีการเกิดโรคเหี่ยว

จากการบันทึกข้อมูลการเกิดโรคโรคเหี่ยว จากเชื้อ *F. subglutinans* ในช่วงอ้อยอายุ 5 เดือน ซึ่งเป็นการบันทึกข้อมูลหลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช 14 วัน โดยวัดระดับความรุนแรงในการเกิดโรค พบว่า ดัชนีการเกิดโรคมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งในตำรับที่ไม่มีการใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยมีดัชนีการเกิดโรคสูงสุด 75 เปอร์เซ็นต์ สำหรับตำรับที่มีการใส่เชื้อแอคติโนมัยซิสควบคุมโรคอ้อย พบว่า ในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 KP11 และ KB17 พบว่า มีดัชนีการเกิดโรค 25 เปอร์เซ็นต์ สำหรับตำรับการทดลองที่มีการเกิดโรคน้อยที่สุด คือ ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 ดังนั้น เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 สามารถใช้ควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงได้ภายใน 20 วัน หลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช เมื่อประเมินผลความเสียหายจากการเกิดโรค พบว่า เชื้อ CB3 KP11 KB17 และ KB21/2 อยู่ในระดับ 1 ซึ่งมีการปรากฏของแผล 1 - 25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ ขนาดเล็ก และไม่มีการพัฒนาของแผลเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงว่าเชื้อแอคติโนมัยซิสมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวในอ้อยได้ (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 แสดงดัชนีการเกิดโรค

ตำรับการทดลอง	ดัชนีการเกิดโรคพืช (เปอร์เซ็นต์)
	F. subglutinans
1. เชื้อราสาเหตุโรคพืช	75 a
2. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	25 b
3. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	25 b
4. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	25 b
5. เชื้อราสาเหตุโรคพืช + เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/1	25 b
F-test	**
CV (%)	5.71

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

5) ลักษณะการเกิดโรคเหี่ยว

จากการสังเกตและบันทึกลักษณะของการเกิดโรคเหี่ยวหลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช 14 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ไม่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยลักษณะอาการของโรคมีรอยแดงสีคล้ำ รอยช้ำตามบริเวณกาบใบ ข้อ และลำต้น มีแถบสีแดงเข้มที่บริเวณเส้นกลางใบ ในลำต้น มีเส้นสีแดงกระจายอยู่ในลำต้น เหี่ยวจนเห็นได้ชัดเจน หน่อที่เกิดใหม่มีอาการเน่า แห้ง ตาย หลังจากการปลูกเชื้อรา

สาเหตุโรคพืช 14 วัน แผลขยายทั่วบริเวณต้นอ้อย ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 มีรอยแดงที่บริเวณกาบใบ และกระจายอยู่ทั่วไป เกิดอาการใบเหี่ยวที่บริเวณปลายใบ ลำต้นเหี่ยว อาการที่เกิดขึ้นต่างๆเริ่มดีขึ้น ลำต้นมีการฟื้นตัว รอยแดงจางลง ไม่มีการกระจายไปบริเวณอื่น ภายใน 14 - 20 วัน หลังจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 มีรอยแดง เพียงเล็กน้อยบริเวณกาบใบ หน่อใหม่ที่เกิดเป็นปกติ ภายใน 14 - 18 วัน หลังจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 มีรอยแดงเพียงเล็กน้อยบริเวณกาบใบ หน่อใหม่ที่เกิดเป็นปกติ ภายใน 14 - 20 วัน หลังจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช และตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 มีรอยแดง เพียงเล็กน้อยบริเวณกาบใบ หน่อใหม่ที่เกิดเป็นปกติ ภายใน 14 - 20 วัน หลังจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

6) การศึกษาแอคติโนมัยซิสในอ้อยโดยเทคนิค DGGE

จากการทดสอบการเข้าอยู่อาศัยของแอคติโนมัยซิส และการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืชในอ้อย โดยแบ่งออกเป็นส่วนราก ลำต้น และใบ พบว่า รหัสเชื้อแอคติโนมัยซิส KB21/2 ในราก ส่วนอื่นไม่พบ การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของแถบ DNA เชื้อทดสอบ (T5) และ KB21/2 เหมือนกัน ในรากอ้อย แสดงว่ามีความสัมพันธ์กัน แต่สำหรับรหัสเชื้ออื่น ไม่พบในลำต้น และใบ อย่างไรก็ตามรหัสเชื้อแอคติโนมัยซิสที่ทำการทดสอบ CB3 KP11 และ KB17 ไม่พบลักษณะการเข้าอยู่อาศัยในรากอ้อย แต่มีความสามารถยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวเน่าแดงได้เช่นกัน

9.4 การทดสอบหาแอคติโนมัยซีสต่อการเจริญเติบโตของต้นอ้อยในโรงเรือนทดลอง

9.4.1 สมบัติของดินก่อนการทดลอง

จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีดินก่อนการทดลอง พบว่า ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดินมีค่า 5.45 จัดเป็นดินมีความเป็นกรดจัด (กรมพัฒนาที่ดิน, 2548) ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน 0.365 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในระดับต่ำมาก (ในเนื้อดินค่อนข้างเป็นทรายมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำเสี่ยงต่อการขาดแคลนน้ำสำหรับพืชและเสี่ยงต่อการชะล้างพังทลาย) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มีค่า 5.85 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับต่ำ ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์มีค่า 9.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จัดอยู่ในระดับต่ำมาก (กรมพัฒนาที่ดิน, 2548) ซึ่งดินในการทดลองนี้เป็นดินจักราช เนื่องจากมีการใช้ประโยชน์การใช้ที่ดินเป็นเวลานาน จึงทำให้ธาตุอาหารมีปริมาณลดลง ซึ่งมีความเหมาะสมปานกลางสำหรับปลูกอ้อยและมีการปรับปรุงดินเพื่อความอุดมสมบูรณ์ของดินโดยการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ปุ๋ยเคมีที่ใส่ควรมีธาตุอาหารครบทั้ง 3 อย่าง คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม แบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ ใส่ปุ๋ยรองพื้น ใส่ก่อนปลูกหรือพร้อมปลูก ในอัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ปุ๋ยแต่งหน้า อ้อยอายุ 3 เดือน ควรใส่ปุ๋ย ไนโตรเจนอย่างเดียว 50 กิโลกรัมต่อไร่ (การปลูกอ้อย, 2555)

9.4.2 สมบัติของดินหลังการทดลอง

เก็บตัวอย่างดินในกระถางปลูกอ้อยหลังการทดลองในแต่ละตำรับการทดลองเพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน พบว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดินมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 7.75 - 8.03 (ตารางที่ 16) ซึ่งอยู่ในช่วงเป็นด่างเล็กน้อยถึงด่างปานกลาง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2547) ตำรับการทดลองที่อยู่ในค่าด่างปานกลาง คือ ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 และตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 + KP11 + KB17 + KB12/2 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8.03 และตำรับการทดลองที่อยู่ในค่าเป็นด่างเล็กน้อย คือ ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 CB3 KB17 และตำรับการทดลอง

ที่ไม่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7.82 7.75 7.75 และ 7.75 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดินเหมาะสมในการเจริญเติบโตของแอคติโนมัยซีส

ปริมาณอินทรียวัตถุ พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.69 - 1.29 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16) ซึ่งอยู่ในระดับความสมบูรณ์ค่อนข้างต่ำ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2547) ซึ่งตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 มีปริมาณอินทรียวัตถุสูงที่สุด เท่ากับ 1.29 เปอร์เซ็นต์ ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 มีปริมาณอินทรียวัตถุต่ำที่สุด เท่ากับ 0.69 เปอร์เซ็นต์ และอยู่ในระดับที่ค่อนข้างต่ำ อาจเนื่องมาจากมีการฉีดพ่นสารเคมีในการกำจัดเพลี้ยไฟและไรแดงในช่วงที่มีการระบาด อย่างไรก็ตามปริมาณอินทรียวัตถุหลังการทดลองส่วนใหญ่มีปริมาณเพิ่มขึ้น

ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 69.00 - 199.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 16) ซึ่งตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 199.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีปริมาณสูงมาก (กรมพัฒนาที่ดิน, 2547) ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 69 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดินหลังการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงกว่าดินก่อนการทดลองมาก เนื่องจากการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน ทำให้ดินมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูง

ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยค่าอยู่ในช่วง 52.0 - 108.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 16) การเปลี่ยนแปลงปริมาณโพแทสเซียมของดินหลังการทดลองมีปริมาณสูงกว่าก่อนการทดลองทุกตำรับการทดลอง อาจเนื่องจากใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 + KP11 + KB17 + KB12/2 มีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 108.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อย่างไรก็ตามปริมาณโพแทสเซียมของดินหลังการทดลองอยู่ในระดับปานกลางถึงสูง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2547)

ตารางที่ 16 สมบัติทางเคมีของดินก่อนและหลังการทดลองในสภาพโรงเรือนกระจก

ตำรับทดลอง	ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดิน	อินทรียวัตถุ (เปอร์เซ็นต์)	ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	โพแทสเซียม (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)
ดินก่อนการทดลอง	5.45	0.365	5.85	9.80
1. ควบคุม (ไม่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย)	7.75 b	1.21 a	145.00 b	52.00 d
2. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	7.75 b	1.29 a	199.75 a	75.75 b
3. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	7.82 b	1.27 a	193.00 a	66.75 c
4. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	7.75 b	0.69 b	69.00 d	64.75 c
5. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2	8.03 a	0.82 b	81.00 d	52.25 d
6. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 + KP11 + KB17 + KB12/2	8.03 a	1.18 a	105.75 c	108.00 a
F-test	**	**	**	**
CV(%)	1.32	8.76	8.06	8.26

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

9.4.3 ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดิน

จากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยจากตัวอย่างดินที่เก็บตัวอย่างทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส รวมเชื้อ และ KB21/2 มีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสสูงในอ้อยอายุ 3 - 6 เดือน แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในอ้อย อายุ 4 เดือน และ อ้อย อายุ 2 เดือน ตามลำดับ จำนวน อย่างไรก็ตามอ้อย อายุ 6 เดือน จะเห็นได้ว่าตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 รวมทุกเชื้อ และ KB17 ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยมีปริมาณสูงสุด 5.23 5.19 และ 4.72 CFUต่อกรัม หรือมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซิสอยู่ในช่วง 10^3 - 10^5 CFU ต่อกรัม (ตารางที่ 23)

ตารางที่ 17 ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสในดินอ้อย

ตำรับการทดลอง	ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซิส (CFUต่อกรัม)				
	2 เดือน	**3 เดือน**	**4 เดือน**	**5 เดือน**	**6 เดือน**
1. ควบคุม (ไม่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย)	0 c	0 d	0 d	0 c	0 c
2. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	3.08 b	3.45 c	3.88 c	4.16 b	4.64 b
3. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	3.19 ab	3.77 b	4.02 bc	4.25 b	4.68 b
4. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	3.27 ab	3.78 b	3.99 bc	4.33 b	4.72 a
5. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2	3.32 ab	3.99 a	4.19 a	4.67 a	5.23 a
6. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 + KP11 + KB17 + KB12/2	3.44 a	3.99 a	4.07 ab	4.68 a	5.19 a
F-test	**	**	**	**	**
CV(%)	6.34	4.36	3.02	3.57	6.06

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

9.4.4 การเจริญเติบโตของอ้อย

1) ความสูงของอ้อย

จากการเก็บข้อมูลความสูงของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 6 เดือน พบว่า ความสูงของอ้อยที่มีอายุ 2 และ 5 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ความสูงของอ้อยในอายุ 6 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยความสูงของอ้อยที่อายุ 2 เดือน 5 เดือน และ 6 เดือน ตำรับการทดลองรหัส KB21/2 ให้ความสูงของอ้อยมากที่สุด โดยมีความสูง 165.5 210.3 และ 240.8 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับการตำรับการทดลองรหัส KB17 และตำรับที่ 6 ที่เชื้อใช้เชื้อรวม อย่างไรก็ตามตำรับควบคุมที่ไม่มีการใส่เชื้อมีแนวโน้มความสูงต่ำที่สุด (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 ความสูงของต้นอ้อยที่อายุต่างกัน

ตำรับการทดลอง	ความสูง (เซนติเมตร)					
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
1. ควบคุม (ไม่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย)	119.00	145.0 b	156.5	167.5	182.0 c	199.8 b
2. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	125.8	146.0 b	156.3	166.0	189.3 bc	207.0 b
3. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	127.5	151.5 b	159.5	171.5	204.3 ab	232.5 a
4. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	128.0	155.3 ab	164.5	179.3	213.3 a	241.5 a
5. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2	135.3	165.5 a	172.3	182.0	210.3 a	240.8 a
6. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 + KP11 + KB17 + KB12/2	113.8	155.6 ab	164.8	171.4	207.8 a	236.0 a
F-test	ns	*	ns	ns	*	**
CV (%)	12.55	5.75	6.13	7.17	6.44	5.86

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

2) ความเขียวของใบอ้อย

จากการเก็บข้อมูลความเขียวของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 6 เดือน พบว่า ความเขียวของใบอ้อยที่มีอายุ 5 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยความเขียวของอ้อยที่อายุ 5 เดือน ตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KB17 มีความเขียวมากที่สุด โดยมีความเขียว 33.3 SPAD (reading) โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อรวม อย่างไรก็ตามตำรับควบคุมที่ไม่มีการใส่เชื้อมีแนวโน้มความเขียวต่ำที่สุด (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ความเขียวของใบอ้อยที่อายุแตกต่างกัน

ตำรับการทดลอง	ความเขียว (SPAD reading)					
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
1. ควบคุม (ไม่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย)	32.4	33.0	34.2	31.5	29.5 b	27.8
2. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	33.0	32.3	31.5	30.5	29.3 b	29.1
3. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	32.6	32.4	34.6	32.5	30.9 ab	29.7
4. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	33.0	32.7	35.9	34.4	33.3 a	31.6
5. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2	33.0	32.9	34.3	33.2	31.1 ab	28.9
6. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 + KP11 + KB17 + KB12/2	32.7	32.5	36.1	34.5	33.1 a	31.7
F-test	ns	ns	ns	ns	*	ns
CV (%)	1.43	2.28	6.30	6.81	6.64	7.49

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

3) เส้นรอบวงต้นอ้อย

จากการเก็บข้อมูลเส้นรอบวงของอ้อยในช่วงอายุ 1 - 6 เดือน พบว่า เส้นรอบวงของอ้อยที่มีอายุ 3 และ 4 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยเส้นรอบวงของอ้อยในเดือนที่ 3 และ 4 เดือน ตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อ KP11 มีเส้นรอบวงกว้างที่สุด โดยมีเส้นรอบวงขนาด 1.7 และ 1.8 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ CB3 ในอ้อยอายุ 3 เดือน ตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 และตำรับควบคุม ในอ้อยอายุ 4 เดือน อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าเส้นรอบวงของอ้อยมีแนวโน้มต่ำสุดในตำรับการทดลองที่ใช้รหัสเชื้อรวม (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 ขนาดของเส้นรอบวงของอ้อยที่อายุต่างกัน

ตำรับการทดลอง	เส้นรอบวง (เซนติเมตร)					
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน
1. ควบคุม (ไม่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย)	1.1	1.3	1.5 b	1.7 ab	1.8	1.9
2. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	1.1	1.3	1.6 ab	1.7 ab	1.9	2.0
3. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	1.1	1.3	1.7 a	1.8 a	1.8	1.9
4. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	1.1	1.4	1.5 b	1.7 bc	1.8	1.9
5. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2	1.1	1.4	1.5 b	1.7 abc	1.8	2
6. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 + KP11 + KB17 + KB12/2	1.1	1.3	1.5 b	1.6 c	1.7	1.8
F-test	ns	ns	*	*	ns	ns
CV (%)	10.84	7.78	5.29	4.02	3.43	3.50

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

4) น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของอ้อย

จากการเก็บข้อมูลน้ำหนักสดของอ้อยในช่วงอายุ 6 เดือน พบว่า น้ำหนักสดของใบอ้อยที่มีอายุ 6 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยน้ำหนักสดของใบอ้อยที่ 6 เดือน ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 มีน้ำหนักสดมากที่สุด โดยมีน้ำหนักใบสด 140.15 กรัมซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 รวมทุกเชื้อ และ KP11 135.56 133.59 และ129.91 กรัม ตามลำดับ และน้ำหนักแห้งในส่วนใบ มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีน้ำหนักแห้งมากที่สุดในตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 76.37 กรัม โดยมีน้ำหนักต้นสด 156.31 กรัม โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับที่ใช้รหัสเชื้อ CB3 KP11 และรหัสเชื้อรวม และจากการเก็บข้อมูลน้ำหนักแห้งของอ้อยในช่วงอายุ 6 เดือน พบว่า น้ำหนักแห้งของใบอ้อยที่มีอายุ 6 เดือน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยน้ำหนักแห้งของใบอ้อยที่ 6 เดือน ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส ใช้รหัสเชื้อ KB21/2 มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด โดยมีน้ำหนักแห้ง 76.37 กรัม รองลงมาคือตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 KP11 และรหัสเชื้อรวม อย่างไรก็ตามน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งในส่วนลำต้นมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนใบมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และในส่วนของรากน้ำหนักสดมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญในน้ำหนักแห้งส่วนของรากอ้อย (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของอ้อย

ตำรับการทดลอง	น้ำหนักสด (กรัม)			น้ำหนักแห้ง (กรัม)		
	ต้น	ใบ	ราก	ต้น	ใบ	ราก
1. ควบคุม (ไม่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย)	122.24 cd	118.17 c	159.80 b	37.63 bc	58.59 b	41.13 bc
2. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	111.99 d	135.56 ab	140.83 cd	34.00 c	65.74 b	47.03 a
3. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	136.28 bc	128.91 abc	139.63 cd	40.07 bc	63.97 b	44.77 ab
4. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	156.50 a	123.66 bc	126.85 d	44.06 ab	61.62 b	36.80 c
5. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2	149.65 ab	140.15 a	181.28 a	47.34 a	76.37 a	45.28 ab
6. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 + KP11 + KB17 + KB12/2	138.36 abc	133.59 ab	147.12 bc	39.87 bc	64.66 b	42.12 abc
F-test	**	*	**	**	*	*
CV (%)	9.45	7.19	6.50	10.93	9.59	8.80

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

* = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

5) จำนวนและความยาวปล้อง

จากการเก็บข้อมูลจำนวนและความยาวข้อปล้อง พบว่า จำนวนข้อปล้องและความยาวข้อปล้องของอ้อย อายุ 6 เดือน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จำนวนข้อปล้องของตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 มีจำนวนข้อปล้องเฉลี่ย 14.25 ข้อ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17 และ KB21/2 จำนวนเฉลี่ย 14.00 และ 13.75 ข้อ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามจำนวนข้อปล้องในตำรับการทดลองที่ไม่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อยมีจำนวนข้อปล้องเฉลี่ยต่ำสุด และจากการเก็บข้อมูลความยาวข้อปล้องในอ้อย อายุ 6 เดือน พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยความยาวข้อปล้องอ้อยตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2 และรวมทุกเชื้อ มีความยาวมากที่สุด 5.37 และ 4.87 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส รวมทุกเชื้อ KP11 และ CB3 ขนาดความยาวข้อปล้อง 3.37 3.25และ 3.12 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22 แสดงจำนวน และความยาวข้อปล้องในอ้อย

ตำรับการทดลอง	จำนวนข้อปล้อง	ความยาวข้อปล้อง (เซนติเมตร)
1. ควบคุม (ไม่ใส่เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย)	11.75 d	2.75 b
2. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3	12.50 c	3.12 b
3. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11	14.25 a	3.25 b
4. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB17	14.00 ab	4.87 a
5. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KB21/2	13.75 ab	5.37 a
6. เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส CB3 + KP11 + KB17 + KB12/2	13.50 b	3.37 b
F-test	**	**
CV (%)	3.66	11.21

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นใน 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี DMRT

** = แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

10. สรุปผลการทดลอง

10.1 การแยกแอคติโนมัยซีสจากดินบริเวณรอบรากอ้อย และจากส่วนของราก ลำต้น และใบของอ้อยจากพื้นที่ปลูกอ้อย ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากดินได้ 99 ไอโซเลต และจากรากอ้อยได้ 6 ไอโซเลต

10.2 การคัดเลือกแอคติโนมัยซีสปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง และโรคเหี่ยวของอ้อย จากเชื้อราสาเหตุโรคพืช *C. falcatum* และ *F. moniliforme* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง และเชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. subglutinans* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของอ้อย ในห้องปฏิบัติการ โดยนำเชื้อแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคในอ้อยจากดิน และราก 4 ไอโซเลต ได้แก่ รหัสเชื้อ CB3 KP11 KB17 และ KB21/2 ในพื้นที่ปลูกอ้อย อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี(รหัสเชื้อ CB3 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช 47.37 38.77 และ 48.27 ตามลำดับ) ในพื้นที่ปลูกอ้อย อำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร (รหัสเชื้อ KP11 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช 82.46 77.55 และ 72.41 ตามลำดับ) ในพื้นที่ปลูกอ้อย อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี (รหัสเชื้อ KB17 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช 73.68 32.65 และ 58.62 ตามลำดับ) ในพื้นที่ปลูกอ้อย อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี (รหัสเชื้อ KB21/2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช 42.1 44.9 และ 34.48 ตามลำดับ) ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคสูงสุด

10.3 การศึกษาประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวเน่าแดงและโรคเหี่ยวของอ้อยในสภาพโรงเรือน ได้แก่ เชื้อราสาเหตุโรคพืช *C. falcatum* และ *F. moniliforme* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดง เชื้อราสาเหตุโรคพืช *F. subglutinans* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวอ้อย เชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 KB 17และ KB21/2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช *C. falcatum* และ *F. moniliforme* โดยเชื้อแอคติโนมัยซีสควบคุมโรคอ้อย รหัส KP11 และ KB21/2 สามารถยับยั้งการเกิดโรคเหี่ยวอ้อยจากเชื้อ *F. subglutinans*

10.4 การศึกษาประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสต่อการเจริญเติบโตของอ้อยในสภาพโรงเรือน ซึ่งเมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยซีสที่มีรหัสเชื้อ KB17 และ KB21/2 ส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยในด้านความสูง น้ำหนักสดของอ้อย และทำให้ความเขียวของใบเพิ่มขึ้น

11. ประโยชน์ที่ได้รับ

11.1 ได้แอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคอ้อย เพื่อนำมาเป็นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์สำหรับควบคุมโรคอ้อย

11.2 ลดการใช้สารเคมีในการควบคุมโรคอ้อย

12. ข้อเสนอแนะ

12.1 การนำผลการวิจัยไปต่อยอดในแปลงทดลองจะต้องคำนึงถึงสภาพแวดล้อมที่ทำให้เชื้อเจริญซึ่งจะมีผลต่อประสิทธิภาพในการควบคุมโรค

12.2 ควรทดสอบกับสารเคมีและสารชีวภัณฑ์ที่ใช้ในการป้องกันและกำจัดโรคเหี่ยวเน่าแดงในอ้อยในอัตราแนะนำ เพื่อเปรียบเทียบดัชนีการเกิดโรคในอ้อย

ขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

ลงชื่อ.....

(นางสาวกนกวรรณ เชื้อพันธุ์)

ผู้เสนอผลงาน

3 / กุมภาพันธ์ / 2564

ขอรับรองว่าสัดส่วนหรือลักษณะงานในการดำเนินการของผู้เสนอข้างต้นถูกต้องตรงกับความจริงทุกประการ

ลงชื่อ.....
(นางนวลจันทร์ ชะบา)
ผู้ร่วมดำเนินการ
3 / กุมภาพันธ์ / 2564

ลงชื่อ.....
(นางจันจิรา แสงสีเหลือง)
ผู้ร่วมดำเนินการ
3 / กุมภาพันธ์ / 2564

ได้ตรวจสอบแล้วขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ

ลงชื่อ.....
(นางจันจิรา แสงสีเหลือง)
ผอ.กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการจัดการมลพิษทางดินและน้ำ
วันที่ 3 / กุมภาพันธ์ / 2564
(ผู้บังคับบัญชาที่ควบคุมดูแลการดำเนินการ)

ลงชื่อ.....
(นายอาทิตย์ สุขเกษม)
ผู้อำนวยการกองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
วันที่ 3 / กุมภาพันธ์ / 2564

ข้อเสนอแนวความคิด/ วิธีการเพื่อพัฒนางานหรือปรับปรุงงานให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

ของ นางสาวกนกวรรณ เชื้อพันธุ์

เพื่อประกอบการแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ ตำแหน่งเลขที่ ๑๔๐
กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน

เรื่อง การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการจัดการสารเคมีที่ตกค้างในนาข้าว

หลักการและเหตุผล

ในประเทศไทยภาคการเกษตรมีสัดส่วนโดยประมาณร้อยละ ๑๐ ของผลิตภัณฑ์มวลรวมของประเทศ และปัญหาเกี่ยวกับสภาวะมลพิษในสิ่งแวดล้อม อันเนื่องมาจากการปนเปื้อนและการสะสมของสารเคมี ของเสียที่เป็นอันตรายสารเคมี รัฐบาลไทยมุ่งเน้นการส่งเสริมการทำเกษตรอินทรีย์ ลดการใช้สารเคมี หรือใช้ในระดับที่ปลอดภัย และเนื่องจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช วัชพืชบางชนิดยังไม่มีสารชีวภาพชนิดใดมาทดแทนได้ รูปแบบของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในทางการเกษตรจึงเปลี่ยนแปลงไป โดยเน้นการใช้สารที่มีฤทธิ์ตกค้างสั้น ย่อยสลายได้ง่ายในธรรมชาติ เกษตรกรส่วนใหญ่ยังมีการใช้สารเคมีทำการเกษตรค่อนข้างมากโดยเฉพาะในการทำนาปลูกข้าว การทำนาในประเทศไทยมี ๒ ประเภท ได้แก่ การทำนาปี เป็นการปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนตามธรรมชาติ และการทำนาปรังเป็นการปลูกข้าวที่อาศัยการชลประทานเป็นหลัก ในพื้นที่อาศัยน้ำฝนธรรมชาติในการทำนาข้าวนั้น ส่งผลให้ผลผลิตต่อไร่น้อยและมีคุณภาพไม่ดีนัก เกิดปัญหาศัตรูข้าวระบาด ต้นทุนในการผลิตสูง มีการใช้ปุ๋ยเคมี และยาฆ่าแมลงมากขึ้น (Thai rice, ๒๐๑๖) ปัจจุบันเกษตรกรมีการใช้สารเคมีในการทำนาข้าวเพิ่มมากขึ้น เพื่อเร่งการเจริญเติบโตของต้นข้าว มีการใช้สารช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชที่มาปกคลุมต้นข้าวจนเกิดความเสียหาย และมีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่าง ๆ ที่ใช้ง่ายและรวดเร็ว ด้วยเหตุปัจจัยเหล่านี้จึงทำให้มีสารเคมีตกค้างอยู่ในผลผลิตและผลิตภัณฑ์จากข้าว ซึ่งส่งผลกระทบในด้านสุขภาพทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค ด้านสิ่งแวดล้อม รวมทั้งด้านเศรษฐกิจ สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากวิธีการใช้สารเคมีของเกษตรกรที่ไม่ถูกต้อง และสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นสารเคมีที่ห้ามจำหน่ายและห้ามใช้แล้ว (MRC, ๒๐๐๓) การใช้ปุ๋ยเคมีในปริมาณที่เกินความจำเป็นมีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำและสร้างความเสียหายให้กับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะบริเวณสามเหลี่ยมปากแม่น้ำโขง ซึ่งตรวจพบปริมาณธาตุอาหารในน้ำมีปริมาณที่เพิ่มขึ้น (MRC, ๒๐๐๒) สารเคมีกำจัดศัตรูพืชยังมีปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมโดยเกิดผลตกค้างในดิน ตลอดจนมีความเป็นพิษต่อมนุษย์ และทำให้เกิดพัฒนาการต้านทานฤทธิ์สารเคมีของแมลงได้จากการใช้สารในปริมาณที่สูงและถี่เกินไป ซึ่งปัญหาดังกล่าวส่งผลให้เกิดการระบาดของแมลงประจำถิ่น ได้แก่ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (MRC, ๑๙๙๘) สำหรับการจัดการสารเคมีทางการเกษตรที่ปนเปื้อนในดินมีหลายวิธี แต่ปัจจุบันการใช้ชีววิธีในการเกษตรได้รับความนิยม เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สิ่งมีชีวิตอื่น และสภาพแวดล้อม ดังนั้น กรมพัฒนาที่ดินซึ่งเป็นหน่วยงานที่ไม่เพียงแต่ให้ความสำคัญในการปรับปรุงบำรุงดิน ยังตระหนักถึงผลกระทบทางด้านสิ่งแวดล้อมจากการใช้ปัจจัยการผลิตต่าง ๆ เป็นแนวทางที่น่าสนใจของกรมพัฒนาที่ดินที่จะศึกษา วิจัย และพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพในการจัดการมลพิษในดินเพื่อ ความปลอดภัยต่อผู้ผลิต ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

บทวิเคราะห์/ แนวความคิด/ข้อเสนอ

จากการเก็บตัวอย่างดินในแปลงนาของกลุ่มตัวอย่าง เพื่อตรวจหาปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้าง พบสารเคมีคลอไพริฟอสในปริมาณ ๕.๒๑ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เนื่องจากเกษตรกรต้องใช้กำจัดแมลงศัตรูข้าว ระยะต้นอ่อนอายุ ๑๕ - ๓๐ วัน เช่น หนอนกอ เพลี้ยจักจั่น และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่มากินน้ำเลี้ยงในต้นข้าว และปล่อยเชื้อไวรัสเข้าไปสู่ต้นข้าว ทำให้เกิดโรคของข้าว เช่น โรคใบจุดสีน้ำตาล (Brown Spot Disease) โรคหูด (Gall Dwarf Disease) โรคใบหงิกหรือโรคจู๋ และโรคใบสีส้ม (Yellow Orange Leaf Disease) พบสารเคมีไกลโฟเสตในปริมาณ ๙.๙๙ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และพบสารเคมีพาราควอตในปริมาณ ๗๒.๑๕ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นัฐวุฒิ และคณะ (๒๕๕๗). เนื่องจากเกษตรกรต้องกำจัดวัชพืชของข้าว โดยเฉพาะหญ้าซึ่งเป็นวัชพืชอันดับหนึ่งของข้าวทุกแปลง เกษตรกรจึงใช้สารเคมีไกลโฟเสตซึ่งเป็นสารเคมีประเภทซึมเข้าไปในเมล็ด ราก และกอหญ้าได้ เพื่อควบคุมไม่ให้หญ้าเกิดแซมต้นข้าว ในส่วนของสารเคมีพาราควอต เกษตรกรใช้กำจัดหญ้าที่เกิดขึ้นแล้ว บริเวณคันนาและบริเวณใกล้แปลงนา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาวิจัยของ ธีรพัฒน์ (๒๕๕๐) พบว่ามีปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในดิน ประเภทของสารเคมี คือ สารเคมีในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟส และใช้พาราควอตในการฆ่าหญ้า และสอดคล้องกับรายงานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ระบุว่าประเทศไทยนำเข้าสารเคมีเป็นอันดับ ๑ เฉพาะปี ๒๕๕๓ นำเข้า ๑๑๗ ล้านกิโลกรัม มูลค่ากว่า ๑.๘ หมื่นล้านบาท สารเคมีทางการเกษตรที่เกษตรกรไทยนำมาใช้ ได้แก่ สารเคมีกำจัดแมลง และสารเคมีกำจัดวัชพืช ซึ่งประเทศไทยใช้เป็นอันดับ ๔ ของโลก (ชื่นฤทัย, ๒๕๕๕) และสอดคล้องกับการศึกษาของอารยา (๒๕๕๓) ที่พบว่า เกษตรกรมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชและสัตว์ มีอยู่ ๔ กลุ่ม คือ กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต กลุ่มคาร์บาเมต กลุ่มไพรีทรัม และสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ และสอดคล้องกับรายงานของกรมวิชาการเกษตร (๒๕๔๗) พบว่า ในสารฆ่าแมลง ๑๐๐ กิโลกรัม ที่ฉีดพ่นออกไปจะมีเพียง ๑ กิโลกรัม เท่านั้น ที่ฉีดโดนแมลงและทำให้แมลงตาย แต่ส่วนที่เหลืออีก ๙๙ กิโลกรัม จะตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั้งหมดโดยปลิวไปในอากาศมากถึง ๓๐ กิโลกรัม ระเหยไป ๑๐ กิโลกรัม พลาดพืชเป้าหมายไปอีก ๑๕ กิโลกรัม ไม่โดนแมลงและตกค้างบนพืชอีก ๔๑ กิโลกรัม นอกนั้นจะโดนแมลงในจุดที่ไม่สำคัญอีก ๓ กิโลกรัม ซึ่งสารเคมีเกษตรเหล่านี้ จะตกค้างสะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมและห่วงโซ่อาหาร และสอดคล้องกับรายงานของสถาบันวิจัยประชากรและสังคม (๒๕๕๕) ที่พบว่า เกษตรกรมีการใช้ยาฆ่าหญ้า ยากำจัดหนู ปูนา หอยเชอรี่ ยาป้องกันและกำจัดโรคพืช จนทำให้ท้องไร่ท้องนาของไทยกลายเป็นไร่นาเกษตรเคมี และสอดคล้องกับผลการเก็บตัวอย่างพืชผักในแปลงนาของกลุ่มตัวอย่าง เพื่อตรวจหาระดับการปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช พบว่า พืชผักในแปลงนากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีระดับสารเคมีตกค้างในพืชผัก อยู่ในระดับ ๕๐-๗๐ เปอร์เซ็นต์ (ระดับไม่ปลอดภัย) จำนวน ๑๔ ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ ๒๘ และระดับมากกว่า ๗๐ เปอร์เซ็นต์ (ระดับเป็นพิษ) จำนวน ๒ ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ ๔ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเกษตรกรมีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชจึงทำให้มี สารเคมีตกค้างพืชผักในแปลงนา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของกรมวิชาการเกษตร (๒๕๔๗) สารเคมีด้านการเกษตรจะตกค้างสะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมและห่วงโซ่อาหารได้เป็นเวลานานหลายปีส่งผลกระทบสืบเนื่อง ไปถึงสุขภาพของเกษตรกร ผู้บริโภค และเป็นปัญหาทางด้านการค้าและการส่งออกเพราะมีสารเคมีตกค้าง ในอาหาร สอดคล้องกับการรายงานของวินัย (๒๕๕๕) ที่พบว่าการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในสิ่งแวดล้อม ทำให้สิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศตายไปจำนวนมากขาดความสมดุลตามธรรมชาติ

การบำบัดสารมลพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม แบ่งออกได้ ๓ ประเภท คือ การบำบัดทางกายภาพ การบำบัดทางเคมี และการบำบัดทางชีวภาพ ซึ่งในที่นี้จะกล่าวถึงการบำบัดทางชีวภาพ เป็นกระบวนการบำบัดสารมลพิษโดยอาศัยความสามารถของจุลินทรีย์ หรือพืชในการย่อยสลาย หรือเปลี่ยนรูปสารมลพิษให้มีความเป็นพิษลดลงหรือหมดไป ถือว่าเป็นกระบวนการที่มีความเสี่ยงต่ำหรือมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าวิธีอื่น จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพมีหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถเจริญและดำรงชีวิตอยู่ได้ในสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนของสารมลพิษ ในน้ำ ในดิน สำหรับจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารมลพิษและที่สามารถถูกคัดแยกได้ในสภาวะควบคุม ดังนั้นเราจึงควรมีการวิจัยและพัฒนาการจัดการสารเคมีที่ตกค้างในดินและน้ำในพื้นที่นาข้าว โดยวิธีทางชีวภาพ ศึกษากลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายสารเคมี กำจัดศัตรูพืชและโลหะหนัก ในดิน เช่น จุลินทรีย์ย่อยสลายสารหนู สารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต พร้อมทั้งศึกษารูปแบบและผลิตผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ย่อยสลายสารเคมีในดินและน้ำ

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารเคมีที่ตกค้าง ซึ่งสามารถนำไปใช้ในพื้นที่นาข้าวหรือพื้นที่ทำการเกษตรอื่น ๆ ที่มีการใช้สารเคมี เพื่อลดการตกค้างหรือปนเปื้อนของสารเคมีในดิน ผลผลิตทางการเกษตร สภาพแวดล้อม รวมทั้งสุขภาพของสิ่งมีชีวิต โดยเป็นการพัฒนาในมิติต่าง ๆ ที่สัมพันธ์กันอย่างสมดุล ทั้งด้านเศรษฐกิจ สังคม ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เพื่อนำไปสู่การพัฒนาเกษตรกรรมที่ยั่งยืนต่อไป

ตัวชี้วัดความสำเร็จ

๑. ด้านเศรษฐกิจเกษตรกรทำนา ลดค่าใช้จ่ายด้านปุ๋ย สารเคมี ผลผลิตเพิ่มขึ้นเป็นที่ต้องการของตลาด เกษตรกรมีรายได้เพิ่ม มีสุขภาพ และคุณภาพชีวิตที่ดี

๒. ได้องค์ความรู้ในด้านจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารเคมี ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในพื้นที่ทำนาข้าวที่ใช้สารเคมีในพื้นที่ เพื่อลดการตกค้างในพื้นที่นาข้าว ส่งผลให้สิ่งแวดล้อมพื้นที่ทำการเกษตรมีสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายทางชีวภาพมากขึ้น และดินมีความอุดมสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น อีกทั้งสามารถนำไปพัฒนาเป็นนวัตกรรมและวิจัยต่อยอดต่อไป

ลงชื่อ.....

(นางสาวกนกวรรณ เชื้อพันธุ์)

ผู้เสนอผลงาน

๓ / กุมภาพันธ์ / ๒๕๖๔

ความเห็นของผู้บังคับบัญชาระดับกองหรือสำนัก

(ระบุความคิดเห็น) น.ส.กนกวรรณ เชื้อพันธ์ มีความเหมาะสมที่จะประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง นักวิชาการเกษตรชำนาญพิเศษ

ลงชื่อผู้ประเมิน .....

(นายอาทิตย์ ศุขเกษม)

ผู้อำนวยการกองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

(วันที่) ๓ / กุมภาพันธ์ / ๒๕๖๔