รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตอ้อย
2. **โครงการวิจัย** : โครงการวิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดโรคใบขาวอ้อย
3. **กิจกรรม** : กิจกรรมที่ 5 การกำจัดเชื้อสาเหตุโรคใบขาวในเนื้อเยื่ออ้อย

   กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -

4. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** :

   การทดลองที่ 5.2 การศึกษาผลของการติดเชื้อโรคอื่นซ้ำซ้อนต่อเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวของอ้อยในสภาพไร่

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) :

   Effect of sugarcane white leaf phytoplama concentration and environmental factors on white leaf symptom expression in infected-sugarcane

5. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล สังกัด ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

ผู้ร่วมงาน : นายวีรกรณ์ แสงไสย์ สังกัด ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

: นางสาวอมราวรรณ ทิพยวัฒน์ สังกัด ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

6. **บทคัดย่อ**

การสำรวจเชื้อสาเหตุโรคในอ้อยในสภาพไร่เพื่อการทดสอบผลของการติดเชื้อโรคอื่นซ้ำซ้อนต่อเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวของอ้อยมีการทำการสำรวจทั้งสิ้นจำนวน 9 ครั้ง โดยเชื้อที่สำรวจได้ทั้งหมด 4 ชนิด เป็นเชื้อราบนใบ ซึ่งอาจไม่มีผลต่อเชื้อไฟโตพลาสมาซึ่งอยู่ในท่ออาหารของพืช การทดลองปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเส้นกลางใบแดงบนใบของต้นอ้อยที่มีเชื้อไฟโตพลาสมา แม้เชื้อสามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อได้ แต่ไม่มีการขยายขนาด การเก็บตัวอย่างอ้อยที่มีลักษณะอาการที่พบได้แก่ ก้านใบแดง,ใบขีดแดง,ใบแถบเหลืองและกลางใบเหลือง จากการนำแบคทีเรียที่เพาะแยกเชื้อได้ มาทดสอบจำนวน 20 ไอโซเลต พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ จำนวน 18 ไอโซเลต และแบคทีเรียแกรมบวก 2 ไอโซเลต ผลการทดลองปลูกเชื้อที่สำรวจได้จำนวน 20 ชนิดในต้นอ้อยที่มีเชื้อใบขาวซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าต้นอ้อยยังไม่แสดงอาการของโรคที่เด่นชัดรุนแรง ทดสอบการปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคอ้อย 5 ไอโซเลตโดยใช้ต้นอ้อยจำนวน 72 ต้น พันธุ์ : TPJO4-768 อายุ 2 เดือน ทำการปลูกเชื้อโดยการฉีดใส่ลำต้นอ้อยบันทึกผลทุก 1 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 1 เดือน

กรมวิชาการเกษตร

จากนั้นนำการปลูกเชื้อซ้ำอีกสองรอบ พบว่าเชื้อทั้ง 5 isolates สามารถเพิ่มระดับความรุนแรงได้ถึงระดับ 2 และเริ่มแสดงอาการตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 หลังการปลูกเชื้อ การปลูกเชื้อในกลุ่มต้นที่มีอาการใบขาว พบว่า isolate 4 และ 5 ซึ่งเป็นกลุ่ม Xanthomonas มีต้นที่แสดงอาการใบขาวลดลง ส่วนการทดลองในกลุ่มที่ไม่แสดงอาการใบขาว หลังการปลูกเชื้อสัปดาห์ที่ 7 ไม่มีต้นแสดงอาการใบขาว การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อโรคใบขาวก่อนการปลูกเชื้อพบเชื้อใบขาวตั้งแต่ 0.5 ถึง 100,000 copy/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม สำรวจตัวอย่างเชื้อใบลวกจากอ้อยที่ติดเชื้อในเขตจังหวัดนครสวรรค์เพาะแยกเชื้อแบคทีเรียจากเนื้อเยื่ออ้อยได้จำนวน 4 isolates การวิเคราะห์การติดเชื้อซ้ำซ้อนกับโรคใบขาว การสำรวจอ้อย 20 ตัวอย่างในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ตรวจเป็นโรคแส้ดำ ผลการตรวจวิเคราะห์พบติดเชื้อโรคใบขาวในระดับสีเหลือง (10 เซลล์/ ไมโครลิตร) จำนวน 15 ตัวอย่าง แสดงว่าเชื้อนี้ไม่มีผลต่อการติดโรคใบขาว การปลูกเชื้อ Xanthomonas sp สาเหตุโรคใบลวก 5 ไอโซเลต ในต้นกล้าพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่มีการติดโรคใบขาวจำนวน 60 ต้น มีปริมาณเชื้อใบขาวก่อนปลูกเชื้อพบปริมาณเชื้อตั้งแต่ <0.5- 10 copy/ul in 25 ng plant DNA ด้วยวิธีตัดใบ พบว่าเชื้อ Xanthomonas มีการเข้าทำลายมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า isolate A และ B มีความรุนแรงกว่าอีก 3 isolates โดยสามารถทำลายเนื้อเยื่อใบอ้อยได้ถึงระดับที่ 7 ส่วน isolate C, D และ E ทำลายได้ถึงระดับ 5 ผลการตรวจเชื้อโรคใบขาวในต้นที่ทดสอบพบว่าในกลุ่มควบคุม มีเชื้ออยู่ในระดับน้อยกว่า 10 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ที่ 4 สัปดาห์หลังการปลูก ส่วนกลุ่มทดสอบที่พบว่ามีปริมาณเชื้อใบขาวเพิ่มขึ้น ได้แก่ กลุ่ม A, C และ E แต่กลุ่มที่ทดสอบกับ isolate B และ D มีแนวโน้มของเชื้อลดลงหรือคงตัว ทั้งนี้อาจเกิดจากผลของเชื้อใบลวกที่มีต่อการเพิ่มปริมาณของเชื้อใบขาว หรือการเกิดเชื้อซ้ำซ้อนของทั้งสองเชื้อทำให้พืชแสดงอาการใบขาวได้มากขึ้น การปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas sp. สาเหตุโรคใบลวก 6 ไอโซเลต บนต้นอ้อยที่มีเชื้อโรคใบขาวซ้ำ โดยคัดเลือกต้นอ้อยที่ปลูกแล้วเวลา 2 เดือน จำนวน 70 ต้น พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 isolate B, C, และ F บางต้นแสดงความรุนแรงของเชื้ออยู่ในระดับ 5 จากผลการทดลองนี้พบว่าเชื้อกลุ่ม Xanthomonas sp. Vk0มีผลต่อการลดลงของเชื้อโรคใบขาวอ้อย

คำสำคัญ : อ้อย โรคใบขาวของอ้อย โรคอ้อย โรคใบลวก โรคเหี่ยว โรคใบจุด โรคราสนิม การติดโรคซ้ำซ้อน

กรมวิชาการเกษตร

7. คำนำ

ผลจากการดำเนินงานของศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรีและสถาบันวิจัยพืชไร่ โดยสำรวจเชื้อและตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในตัวอย่างที่เก็บจากแปลงด้วยเทคนิค Nested-PCR พบว่าตัวอย่างที่เก็บสำรวจในสภาพไร่หลายตัวอย่าง จะพบแถบดีเอ็นเอที่มีหลายแถบร่วมด้วยกับแถบที่แสดงถึงการติดเชื้อไฟโตพลาสมา ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการมีเชื้ออื่นปะปนร่วมกับเชื้อไฟโตพลาสมาด้วย และจากการตรวจอาการของต้นมักพบอาการที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรคอื่นด้วย เช่น โรคใบลวก โรคเหี่ยว โรคใบจุด โรคราสนิม เป็นต้นตัวอย่างเหล่านี้มักพบในกลุ่มที่มีการปลูกในแปลงเดิมเป็นเวลานาน การตรวจยืนยันผลด้วย secA gene ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อโรคใบขาวของอ้อยแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่ติดเชื้ออื่นบางชนิด เช่น โรคใบลวก มักตรวจไม่พบแถบดีเอ็นเอที่บ่งชี้ถึงการติดเชื้อไฟโพลาสมาโรคใบขาวของอ้อย

หรือพบในปริมาณน้อย ในขณะที่ตัวอย่างในแปลงเดียวที่ไม่พบเชื้ออื่น สามารถตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาได้ จึงอาจมีความเป็นไปได้ที่เชื้อสาเหตุโรคอื่นบางชนิดที่ อาจมีฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไฟโตพลาสมาได้

จากการสำรวจพบว่าตัวอย่างอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบลวก (Leaf Scald) มักตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โรคใบลวกเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย Xanthomanas albilineans เชื้อนี้มีการสร้างสารพิษ albicidin ที่ทำลายระบบท่อน้ำท่ออาหารของพืช สารพิษดังกล่าวนี้อาจมีผลต่อการดำรงชีวิตของไฟโตพลาสมาด้วย นอกจากนี้จากการสำรวจในกลุ่มตัวอย่างที่ตรวจพบว่ามีเชื้ออื่นร่วมด้วยที่สังเกตจากผลการตรวจด้วยเทคนิคพีซีอาร์นั้น มักไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวในปริมาณที่สูง แตกต่างจากต้นที่ตรวจไม่พบเชื้ออื่น จะเห็นการติดเชื้อเดี่ยวที่มีปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาใบขาวมากหรือน้อยที่ชัดเจน ดังนั้นจึงอาจมีความเป็นไปได้ว่าเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยบางชนิดอาจเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวของอ้อย ซึ่งอาจเป็นแนวทางในการพัฒนายาปฏิชีวนะหรือสารในการกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาได้

การติดเชื้อซ้ำซ้อนในพืชสามารถพบได้บ่อยครั้งในธรรมชาติ อาจจะเป็นการติดเชื้อชนิดเดียวกัน เช่น ไวรัสและไวรัส หรือ การติดเชื้อข้ามชนิด เช่น แบคทีเรียกับไวรัส ซึ่งแต่ละชนิดอาจจะมีปฏิกิริยาชนิดส่งเสริมกัน หรือต่อต้านกันได้ จากรายงานของ Shapiro et al. (2013) พบว่ามะระป่า (Cucurbita pepo ssp. Texana) ที่ติดเชื้อไวรัส Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) สามารถลดความรุนแรงและพัฒนาการในการแสดงอาการเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ bacterial wilt (Erwinia tracheiphila) ได้ โดยพบว่าต้นที่ติดเชื้อไวรัส ZYMV นั้น มีการสร้าง Salicylic acid (SA) ซึ่งเป็นไฟโตฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นในการต่อต้านการเกิดเชื้อ ส่วนต้นที่ติดเชื้อแบคทีเรียโรคเหี่ยวไม่พบสารชนิดนี้ ซึ่งแสดงว่าแบคทีเรียกดการทำงานของพืชและยับยั้งการสร้างสารดังกล่าว Thongwai and Kunopakarn (2007) ได้รายงานถึงการจำแนกเชื้อที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในปทุมมาที่เกิดจากเชื้อ Ralstonia solanacearum ซึ่งสามารถคัดเลือกได้ 5 ชนิด เป็นแบคทีเรียกลุ่ม bacillus และ enterobacteria โดยมีจุดประสงค์ในการนำเชื้อผสมเหล่านี้ไปใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวในปทุมมา

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของการติดเชื้อสาเหตุโรคอื่นต่ออุบัติการณ์การตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวในอ้อยของตัวอย่างที่สำรวจจากไร่เกษตรกร และผลของการติดโรคอื่นต่อปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาวจากการปลูกเชื้อในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้ข้อมูลปฏิกิริยาของเชื้อสาเหตุโรคอื่นต่อเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวของอ้อยที่สามารถนำไปพัฒนาต่อเป็นสารหรือยาในการควบคุมหรือกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวที่ได้

8. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ : อุปกรณ์ดูดจ่ายสารละลาย เครื่องปั่นเหวี่ยง หลอดแอพเพนดอร์ฟ กระถางพลาสติก ดินสำหรับเพาะกล้า เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม เครื่องอ่านผลดีเอ็นเอ เครื่องตรวจปริมาณดีเอ็นเอ

วิธีการ :

ศรีวิชัยการเกษตร

แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่1 สำรวจและแยกและเพาะเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยสำหรับการทดสอบ

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง: ตัวอย่างอ้อยที่แสดงอาการโรคอื่น เช่น โรคใบลวก โรคเหี่ยว โรคใบจุด โรคราสนิมจากการสำรวจจากแปลงปลูกของเกษตรกรในแหล่งปลูกต่างๆ

แบบและวิธีการทดลอง: สำรวจและรวบรวมตัวอย่างอ้อยเป็นโรคจากไร่เกษตรกรและแปลงทดลอง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างอ้อยที่แสดงอาการโรคอื่น เช่น โรคใบลวก โรคเหี่ยว โรคใบจุด โรคราสนิม จากแปลงปลูกของเกษตรกรในแหล่งปลูกต่างๆ
2. เพาะแยกเชื้อ และจำแนกชนิดของเชื้อในห้องปฏิบัติการตามวิธีการจำแนกเชื้อแต่ละชนิดและเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อการศึกษาในขั้นต่อไป
3. ตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวและการติดเชื้ออื่นด้วยเทคนิค Nested-PCR ตามวิธีการ Sakuanrungsirikulet al. (2013) และ realtime PCR ตามรายงานของ ศุจิรัตน์ และคณะ (2557ข)
4. ตรวจยืนยันการติดเชื้อโรคใบขาวและปริมาณเชื้อด้วย SecA gene ตามวิธีการ Sakuanrungsirikulet al., (2013)
5. จำแนกชนิดของเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยการตรวจและวิเคราะห์ลำดับเบสเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลลำดับเบสสากล
6. บันทึกผลการตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาร่วมกับการพบเชื้ออื่นในตัวอย่างเดียวกัน

ขั้นตอนที่ 2ศึกษาผลของการติดโรคอื่นต่อปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยการปลูกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง: ต้นอ้อยอายุประมาณ 2 เดือน ที่ได้จากการเพาะอ้อยที่มีอาการยอดขาวหรือหน่อขาวและจากลำที่ไม่มีอาการใบขาว

แบบและวิธีการทดลอง: -

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เตรียมตัวอย่างโดยนำอ้อยลำที่มีอาการยอดขาว หรือหน่อขาวและลำที่มาจากกอที่ไม่มีอาการใบขาว ตัดข้อ ระบุตำแหน่งข้อ ระบุพันธุ์ที่ใช้ แช่ข้อในน้ำร้อน 52 องศาเซลเซียส 30 นาที นำมาเพาะในกระถาง บันทึก ตำแหน่งข้อที่ปลูก
2. ดูแล รักษา และเพาะเลี้ยงจนได้ต้นอายุประมาณ 2 เดือน บันทึกข้อมูลอาการใบขาว
3. ตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาด้วย nested-PCR, secAตามวิธีการของ Sakuanrungsirikulet al. (2013) และ realtime PCR ตามรายงานของ ศุจิรัตน์ และคณะ (2557ข) ในต้นที่คัดเลือกก่อนการปลูกเชื้อ

กรมวิชาการเกษตร

4. นำไปปลูกเชื้อสาเหตุโรคอื่น เช่นโรคใบลวก โรคเหี่ยว โรคใบจุด โรคราสนิม (ที่สำรวจได้จากผลการทดลองในข้อ 1) ในห้องปฏิบัติการตามวิธีการมาตรฐาน (ดำเนินการที่ สถาบันวิจัยพืชไร่) จำนวน 50 ซ้ำ/เชื้อ 1 ชนิด

5. บันทึกพัฒนาการของอาการของเชื้อชนิดต่างๆ ที่เกิดขึ้นบนใบ

6. ตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาตามวิธีในข้อ 3) เมื่อเริ่มตรวจพบการแสดงอาการจากการปลูกเชื้อต่างๆ และเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจเชื้อเพิ่มอีกทุก 14 วัน หลังการแสดงอาการ จนถึง 3 เดือนหลังการปลูกเชื้อ

7. บันทึก วิเคราะห์ และสรุปผล

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น : ตุลาคม 2558 สิ้นสุด กันยายน 2563

สถานที่ทำการทดลอง : ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น

9. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อย

ทำการสำรวจโรคอ้อยครั้งที่ 1 ระหว่างเดือนธันวาคม 2558 ถึงมกราคม 2559 ในแปลงทดลองภายในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่นและเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) และตรวจเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้ตัวอย่างใบอ้อยที่มีลักษณะอาการโรค 4 ชนิด ได้แก่โรคใบจุดวงแหวนโรคลำต้นเน่าแดงและใบขีดแดง โรคใบขีดสีน้ำตาล และโรคใบจุดแผลใหญ่ ผลการเพาะเชื้อ พบว่าเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อราบนใบทั้งสิ้น (ภาพที่ 1) ไม่พบตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียในลำอ้อย เนื่องจากเป็นช่วงแล้ง และอากาศร้อน แห้ง

การสำรวจโรคครั้งที่ 2 ดำเนินการในช่วงเดือน มีนาคม 2559 ที่อำเภอกุมภวาปี และบริเวณใกล้เคียง ไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้ เนื่องจากไม่มีต้น และเป็นช่วงอากาศแห้ง

การสำรวจโรคครั้งที่ 3 ดำเนินการในช่วงเดือน มิถุนายน 2559 บริเวณ จ.อุตรดิตถ์ ไม่สามารถเก็บตัวอย่างได้ เนื่องจากต้นอ้อยยังมีขนาดเล็ก การทดลองเพาะเชื้อเส้นกลางใบแดงบนใบอ้อยที่ของต้นอ้อยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และตรวจพบว่ามีปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาระดับสูง เริ่มแสดงอาการส้นกลางใบแดงหลังการปลูกเชื้อประมาณ 2 สัปดาห์ (ภาพที่2) แต่อาการของโรคไม่มีการขยายขนาด ต้นอ้อยที่ทดสอบเกิดอาการใบแห้งเนื่องจากอากาศร้อนและแล้ง แม้จะทำการฉีดพ่นน้ำให้ใบอย่างสม่ำเสมอทำให้การทดสอบไม่ประสบผลสำเร็จ

การสำรวจครั้งที่ 4 ดำเนินการในช่วงเดือนตุลาคม 2559 (ช่วงฝน) สุ่มเก็บตัวอย่างที่มีอาการผิดปกติของใบอ้อยที่เกิดจากโรคพืช จากแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่นมีการเก็บตัวอย่าง ได้ทั้งหมด 20 ตัวอย่าง โดยลักษณะอาการเด่น คือ ก้านใบแดง และ ใบขีดแดง (ภาพที่ 3)

การสำรวจครั้งที่ 5 ดำเนินการในช่วงเดือนตุลาคม 2559 (ช่วงฝน) สุ่มเก็บตัวอย่างที่มีอาการผิดปกติของใบอ้อยที่เกิดจากโรคพืช จากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ปลูกอ้อยจังหวัดหนองคาย อุดรธานี และ ชัยภูมิ ได้

ศรีษะเกษตร

ทั้งหมด 35 ตัวอย่าง โดยพื้นที่จังหวัดหนองคายที่มีการปลูกได้แก่ อ.ท่าบ่อ อ.เมือง และ อ.โพนพิสัย พบอาการก้านใบแดง, ใบขีดแดง และราสนิมพื้นที่จังหวัดอุดรธานี อ.บ้านดุง อ.หนองหาน และ อ.ภุมภวาปี พบอาการ ใบขีดแดง แถบใบเหลือง และใบด่างเหลือง และ พื้นที่จังหวัดชัยภูมิ อ.บ้านแท่นและ อ.ภูเขียว พบอาการใบขีดแดง (ภาพที่ 4)

การสำรวจครั้งที่ 6 ดำเนินการในช่วงเดือนตุลาคม 2559 (ช่วงฝน) ดำเนินการสำรวจตัวอย่างในพื้นที่ปลูกจังหวัดมหาสารคาม, ร้อยเอ็ด และ กาฬสินธุ์ ได้ทั้งหมด 25 ตัวอย่าง โดยพื้นที่จังหวัดมหาสารคามที่มีการปลูกได้แก่ อ.เมือง อ.เชียงยืน พบอาการแถบใบเหลืองพื้นที่จังหวัดร้อยเอ็ดได้ไปสุ่มเก็บตัวอย่างที่ อ.เมือง และ อ.จังหาร พบว่าไม่มีการปลูกอ้อย พื้นที่ส่วนมากปลูกข้าวเพราะเป็นที่ลุ่ม ในส่วนจังหวัดกาฬสินธุ์สุ่มเก็บที่ อ.เมือง, อ.กมลาไสย และ อ.โพนทอง พบว่าไม่มีการปลูกอ้อยเช่นกัน พื้นที่ส่วนมากปลูกข้าว และปลูกมันสำปะหลัง (ภาพที่ 5)

การสำรวจครั้งที่ 7 ดำเนินการในช่วงเดือนตุลาคม 2559เก็บตัวอย่างจากแปลงเกษตร อ.เขาสวนกวาง จ. ขอนแก่นได้จำนวน 40 ตัวอย่าง โดยลักษณะอาการเด่นๆ พบอาการก้านใบแดง, ใบขีดแดง, และกลางใบเหลือง

จากการทดสอบกับแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างทั้งหมด 120 ตัวอย่าง สามารถแยกและเพาะเลี้ยงแบคทีเรียได้ โดยมีลักษณะโคโลนีบางส่วนดังภาพที่ 7 เมื่อนำแบคทีเรียมาทดสอบจำนวน 20 ไอโซเลต โดยการย้อมสีแกรมและ KOH test (ภาพที่8) พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ จำนวน 18 ไอโซเลต และแบคทีเรียแกรมบวก 2 ไอโซเลต ซึ่งแบคทีเรียทุกไอโซเลตจะนำไปทดสอบปลูกเชื้อกับกล้าอ้อย ผลการทดลองปลูกเชื้อที่สำรวจได้จำนวน 20 ชนิดในต้นอ้อยที่มีเชื้อใบขาวในช่วงระหว่างเดือน ม.ค. 2560 พบว่าต้นอ้อยยังไม่แสดงอาการของโรคที่เด่นชัดรุนแรง (ตารางที่ 8) ผลการปลูกเชื้อซ้ำ ไม่ประสบความสำเร็จ พบว่าต้นแห้งตายทั้งหมด

การสำรวจครั้งที่ 8 ดำเนินการในช่วง 3-5 พ.ค. 2560เก็บตัวอย่างจากแปลงเกษตรในเขตจังหวัดอุทัยธานี สามารถเก็บตัวอย่างได้จำนวน ได้จำนวน 20ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 9 ทำการเพาะแยกเชื้อจากการสำรวจครั้งนี้และทดสอบปลูกเชื้อในต้นใบขาวในระหว่างเดือนกันยายน 2560 วิเคราะห์ผลปริมาณเชื้อ เริ่มต้นและอาการและตรวจปริมาณเชื้อใบขาวการสำรวจครั้งที่ 9 ดำเนินการในช่วงกันยายน 2560 เก็บตัวอย่างจากแปลงทดลองในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สามารถเก็บตัวอย่างได้จำนวน 12ตัวอย่าง เพื่อการแยกเชื้อสำหรับเพื่อทดสอบเพิ่ม

สรุปผลการสำรวจเชื้อสาเหตุโรคในอ้อยในสภาพไร่เพื่อการทดสอบผลของการติดเชื้อโรคอื่นซ้ำซ้อนต่อเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวของอ้อยมีการทำการสำรวจทั้งสิ้นจำนวน 9 ครั้ง ในระยะแรก จำนวน 3 ครั้ง ยังไม่ประสบผลสำเร็จ โดยเชื้อที่สำรวจได้ทั้งหมด 4 ชนิด เป็นเชื้อราบนใบ ซึ่งอาจไม่มีผลต่อเชื้อไฟโตพลาสมาซึ่งอยู่ในท่ออาหารของพืช เนื่องจากช่วงที่สำรวจเป็นช่วงหน้าแล้ง ซึ่งไม่มีอ้อย และใบแห้งทำให้สำรวจเชื้อได้ยาก การทดลองปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเส้นกลางใบแดงบนใบของต้นอ้อยที่มีเชื้อไฟโตพลาสมายังไม่ประสบความสำเร็จ แม้เชื้อสามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อได้ แต่ไม่มีการขยายขนาด รวมทั้งใบแห้งเนื่องจากช่วงที่ทดสอบเป็นช่วงหน้าแล้งและอากาศร้อนการสำรวจเชื้อเพิ่มอีก 3 ครั้งในช่วงหลังฤดูฝน เก็บ

กรมวิชาการเกษตร

ตัวอย่างใบอ้อยที่สงสัยอาการของโรคพืช จากแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น, พื้นที่ปลูกอ้อยในจังหวัดหนองคาย, อุดรธานี, ชัยภูมิ, มหาสารคาม,ร้อยเอ็ด, กาฬสินธุ์ และขอนแก่นได้ทั้งหมด 120 ตัวอย่าง โดยลักษณะอาการที่พบได้แก่ ก้านใบแดง,ใบขีดแดง,ใบแถบเหลืองและกลางใบเหลือง จากการนำแบคทีเรียที่เพาะแยกเชื้อได้ มาทดสอบจำนวน 20 ไอโซเลต พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ จำนวน 18 ไอโซเลต และแบคทีเรียแกรมบวก 2 ไอโซเลต ผลการทดลองปลูกเชื้อที่สำรวจได้จำนวน 20 ชนิดในต้นอ้อยที่มีเชื้อใบขาวซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าต้นอ้อยยังไม่แสดงอาการของโรคที่เด่นชัดรุนแรง แต่หลังจากนั้นต้นอ้อยแห้งตายทั้งหมดจากสภาพอากาศร้อนและแล้ง นอกจากนี้เชื้อที่สำรวจและแยกไว้ตายทั้งหมด การสำรวจครั้งที่ 8 ดำเนินการในแปลงเกษตรกรเขตจังหวัดอุทัยธานี สามารถรวบรวมอ้อยที่มีอาการติดโรคอื่นได้ 20 ตัวอย่าง ได้ทำการเพาะแยกเชื้อแล้ว และขณะนี้ได้ทดสอบปลูกเชื้อในต้นอ่อนอ้อยที่ได้จากลำที่มีอาการที่มีอาการใบขาว และอยู่ระหว่างการบันทึกผลและวิเคราะห์ปริมาณเชื้อก่อนการปลูกเชื้อ มีการสำรวจเชื้อสาเหตุโรคอื่นอีกครั้งที่ 9 ภายในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่นในช่วงกันยายน 2560 สามารถรวบรวมได้ 12 ตัวอย่าง

2. การทดสอบการปลูกเชื้อ

การทดสอบการปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคอ้อย 5 ไอโซเลตโดยใช้ต้นอ้อยจำนวน 72 ต้น (ใช้ดินผสม) พันธุ์ : TPJO4-768 ทำการเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 isolates โดยแยกเชื้อสาเหตุโรคพืชจากการนำตัวอย่างใบอ้อยที่มีอาการเป็นโรค (ตารางที่ 5.2.11) มาบดละเอียดในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นใช้ลูปเตะน้ำคั้นมาแยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) บ่มนาน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียลจากนั้นนำเซลล์แบคทีเรียมาเตรียมสารแขวนลอยในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ที่ค่า Optical density เท่ากับ 0.1 วัดที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร (OD_{590}) มีเชื้อเท่ากับ 10^8 CFU/ml นำต้นอ้อยที่ทำการปลูกมาแล้ว 2 เดือน ทำการปลูกเชื้อโดยการฉีดใส่ลำต้นอ้อยปริมาณต้นละ 2 ml บันทึกผลทุก 1 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 1 เดือนจากนั้นนำการปลูกเชื้อซ้ำอีกสองรอบ และตรวจเชื้อหลังจากปลูกเชื้อ 1 เดือน นับจำนวนต้นที่เป็นโรค และวัดอัตราการเกิดโรคบนใบอ้อย ตามวิธี Mcmaugh (2008) การประเมินระดับความรุนแรงของโรค

ระดับ 0 ไม่ปรากฏอาการของโรค

ระดับ 1 ปรากฏอาหารของโรค จำนวน 1-25 % ของพื้นที่ใบพืช

ระดับ 2 ปรากฏอาหารของโรค จำนวน 26-50 % ของพื้นที่ใบพืช

ระดับ 3 ปรากฏอาหารของโรค จำนวน มากกว่า 50% ของพื้นที่ใบพืช

เก็บตัวอย่างพืชก่อนการปลูกเชื้อ และเก็บตัวอย่างพืชหลังการปลูกเชื้อเสร็จ จากนั้นนำไปสกัด DNA เพื่อตรวจสอบริมาณเชื้อใบขาวด้วยเทคนิค PCR มีผลการประเมินระดับความรุนแรงของโรคดังแสดงในตารางที่ 5.2.12 ผลการปลูกเชื้อพบว่าเชื้อทั้ง 5 isolates สามารถเพิ่มระดับความรุนแรงได้ถึงระดับ 2 และเริ่มแสดงอาการตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 หลังการปลูกเชื้อ การปลูกเชื้อในกลุ่มต้นที่มีอาการใบขาว พบว่า isolate 4และ 5ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *Xanthomonas sp*. มีต้นที่แสดงอาการใบขาวลดลง ส่วนการทดลองในกลุ่มที่ไม่แสดงอาการใบขาว หลังการปลูกเชื้อสัปดาห์ที่ 7 ไม่มีต้นแสดงอาการใบขาว (ตารางที่ 5.2.12) การตรวจปริมาณเชื้อโรคใบขาวก่อนการปลูกเชื้อ และในสัปดาห์ที่ 7 หลังการปลูกเชื้อ ผลการ

ศรีวิชัยการเกษตร

วิเคราะห์ปริมาณเชื้อใบขาวในตัวอย่างอ้อยก่อนการปลูกเชื้อตามตารางที่ 5.2.12 พบว่ามีเชื้อใบขาวเริ่มต้นระหว่าง 0.5 – 100.000 copy/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม (ภาพที่ 5.2.9)

การสำรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคอื่นในอ้อยครั้งที่ 10 ดำเนินการในระหว่าง ไตรมาส 2-2651 และทำการแยกเชื้อในไตรมาส 3 โดยเก็บตัวอย่างเชื้อจากเนื้อเยื่ออ้อยที่เพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถเพาะแยกเชื้อได้ 4 isolates ทำการเพาะขยายเชื้อในอาหาร และจำแนกเชื้อเบื้องต้นตามลักษณะของโคโลนี (ตารางที่ 5.2.13) และทำการตรวจจำแนกเชื้อเบื้องต้นด้วยวิธีทางชีวเคมี (ตารางที่ 5.2.14) เพาะแยกได้ 5 isolates (ภาพที่ 5.2.9) ใช้ต้นอายุ 2 เดือน จำนวน 30 ต้น ให้รหัส W1-W5 ,A1-A5,B1-B5,C1-C5,D1-D5 และ E1-E5 เก็บตัวอย่างใบทุกต้น เพื่อนำไปตรวจโรคใบขาว โดยวิธี PCR ทำการปลูกเชื้อโดยการตัดใบอ้อยทั้งหมด 30 ต้น การตรวจโรคแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค นำตัวอย่างใบอ้อยที่มีอาการโรคมาบดละเอียดในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นใช้ลูปเตะน้ำคั้นมาแยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) บ่มนาน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสมีการบันทึกผลทุก 1 สัปดาห์ นาน 3 สัปดาห์มีการประเมินโรค 5 ระดับ ตามวิธีของ Andres Felipe Gutierrez Viveros

1 = ไม่ปรากฏอาการ

3 = ปรากฏอาการ 1-2 ขีดเหลือง

5 = ปรากฏอาการ 2 ขีดเหลือง

7 = ปรากฏอาการเนื้อเยื่อตาย

9 = ต้นตาย

ทำการบันทึกผลเมื่อ 27 สค 2561, 3 กันยายน 2561, 10 กันยายน 2561 พบว่าหลังการปลูกเชื้อทุกต้นแสดงอาการของโรค และพบว่า isolate B และ C ให้ค่อนข้างผลรุนแรงกว่าอีก 3 isolates ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 5.2.14 จากการทดลองนี้ พบว่าต้นตายอย่างรวดเร็ว สาเหตุอาจเกิดจากต้นอ่อนเกินไป การเพาะขยายต้นเพื่อทดสอบต้นที่อายุ 4 เดือน ไม่สามารถนำมาใช้การได้ เนื่องจากต้นไม่พอ

สรุปผลการทดสอบการปลูกเชื้อ ทดสอบการปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคอ้อย 5 ไอโซเลตโดยใช้ต้นอ้อยจำนวน 72 ต้น (ใช้ดินผสม) พันธุ์ : TPJO4-768 อายุ 2 เดือน ทำการปลูกเชื้อโดยการฉีดใส่ลำต้นอ้อย บันทึกผลทุก 1 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 1 เดือนจากนั้นนำการปลูกเชื้อซ้ำอีกสองรอบ ประเมินระดับความรุนแรงของโรคเป็น 0 คือไม่ปรากฏอาการของโรค ถึง 3 คือปรากฏอาหารของโรคจำนวนมากกว่า 50% ของพื้นที่ใบพืช พบว่าเชื้อทั้ง 5 isolates สามารถเพิ่มระดับความรุนแรงได้ถึงระดับ 2 และเริ่มแสดงอาการตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 หลังการปลูกเชื้อ การปลูกเชื้อในกลุ่มต้นที่มีอาการใบขาว พบว่า isolate 4 และ 5 ซึ่งเป็นกลุ่ม Xanthomonas มีต้นที่แสดงอาการใบขาวลดลง ส่วนการทดลองในกลุ่มที่ไม่แสดงอาการใบขาว หลังการปลูกเชื้อสัปดาห์ที่ 7 ไม่มีต้นแสดงอาการใบขาว การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อโรคใบขาวก่อนการปลูกเชื้อพบเชื้อใบขาวตั้งแต่ 0.5 ถึง 100,000 copy/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม การสำรวจตัวอย่างเชื้อใบลวกจากอ้อยที่ติดเชื้อในเขตจังหวัดนครสวรรค์ สามารถเพาะแยกเชื้อ Xanthomonas ได้ 5 isolates ทดสอบในต้นอายุ 2 เดือน จำนวน 30 ต้น ผลการปลูกเชื้อพบว่าทุกต้นแสดงอาการของโรค และพบว่า isolate B และ C ให้ค่อนข้างผลรุนแรงกว่าอีก 3 isolates

กรมวิชาการเกษตร

การปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas sp. สาเหตุโรคใบลวก 5 ไอโซเลต บนต้นอ้อยที่มีเชื้อโรคใบขาว(Inoculation of bacteria Xanthomonas sp. Cause leaf scald 5 isolatesin the sugarcane white leaf disease)

1.1.การปลูกเชื้อ(Inoculation of bacteria)ใช้ต้นอ้อยพันธุ์ KK3 อายุ 2 เดือน จำนวน60 ต้นปลูกในดินผสม

1.2. การเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 isolate : แยกเชื้อสาเหตุโรคพืชจากการนำตัวอย่างใบอ้อยที่มีอาการเป็นโรคมาบดละเอียดในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นใช้ลูปเตะน้ำคั้นมาแยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (na) บ่มนาน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสนำไปเลี้ยงในอาหาร XAS จนได้ single colony (ภาพที่ 5.2.10) จากนั้นนำเซลล์แบคทีเรียมาเตรียมสารแขวนลอยในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อมาวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ให้ได้ค่า Optical density (od) เท่ากับ 0.1 วัดที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร คัดเลือกต้นอ้อยที่ปลูกแล้วเวลา 2 เดือน จำนวน 60 ต้น เก็บตัวอย่างใบทุกต้นจากนั้นนำไปตรวจวิเคราะห์โรคใบขาวก่อนการเพาะเชื้อ โดยวิธี PCR และปลูกเชื้อด้วยวิธีการตัดใบมีผลการตรวจปริมาณเชื้อดังแสดงในตารางที่ 5.2.15พบปริมาณเชื้อตั้งแต่ <0.5- 10 copy/ul in 25 ng plant DNA และตรวจพบการปนเปื้อนเชื้ออื่นในหลายตัวอย่างที่ตรวจ (ภาพที่ 5.2.11) โดยทำการปลูกเชื้อ (inoculation) ดังนี้

ทำการปลูกเชื้อโดยการตัดใบอ้อยทั้งหมด 60 ต้น โดยให้รหัส

W1 – W10 : CONTROL

A1 – A10 : ปลูกเชื้อ ISOLATE A

B1 – B10 : ปลูกเชื้อ ISOLATE B

A1 – A10 : ปลูกเชื้อ ISOLATE C

A1 – A10 : ปลูกเชื้อ ISOLATE D

A1 – A10 : ปลูกเชื้อ ISOLATE E

การบันทึกผลการทดสอบทุก 1 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 2 เดือน

โดยการประเมินโรค 5 ระดับ ตามวิธีของ Andres Felipe Gutierrez Viveros

1 = ไม่ปรากฏอาการ

3 = ปรากฏอาการ 1-2 ขีดเหลือง

5 = ปรากฏอาการ 2 ขีดเหลือง

7 = ปรากฏอาการเนื้อเยื่อตาย

9 = ต้นตาย

ศรีวิชารกษตร

ภาพต้นอ้อยหลังการปลูกเชื้อ

เก็บตัวอย่างใบทุกต้น เพื่อนำไปตรวจโรคใบขาว โดยวิธี PCR รอบหลังปลูกเชื้อ แยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค นำตัวอย่างใบอ้อยที่มีอาการโรคมาบดละเอียดในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นใช้ลูปเตะน้ำคั้นมาแยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) บ่มนาน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

ตรวจปริมาณเชื้อโรคใบขาวในต้นที่ทดสอบหลังการปลูกเชื้อ มีผลการตรวจปริมาณเชื้อ ดังแสดงในตาราง 5.2.17 ผลการทดลองพบว่า isolate A และ B มีความรุนแรงกว่าอีก 3 isolates โดยพบว่าสามารถทำลายเนื้อเยื่อใบอ้อยได้ถึงระดับที่ 7 ส่วน isolate C, D และ E ทำลายได้ถึงระดับ 5 เท่านั้นเมื่อทำการตรวจสอบหลังการปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ ผลการตรวจเชื้อโรคใบขาวในต้นที่ทดสอบพบว่าในกลุ่มควบคุม ไม่มีการปลูกเชื้อ มีเชื้ออยู่ในระดับน้อยกว่า 10 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ที่ 4

สัปดาห์หลังการปลูก ส่วนในกลุ่มที่ทดสอบพบว่ามีปริมาณเชื้อใบขาวเพิ่มขึ้น ได้แก่ กลุ่ม A, C และ E แต่พบว่ากลุ่มที่ทดสอบกับ isolate B และ D มีแนวโน้มของเชื้อลดลงหรือคงตัว (ตารางที่ 5.2.16) ซึ่งอาจเกิดจากผลของเชื้อใบลวกที่มีต่อการเพิ่มปริมาณของเชื้อใบขาว หรือการเกิดเชื้อซ้ำซ้อนของทั้งสองเชื้อทำให้พืชแสดงอาการใบขาวได้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากกลุ่มควบคุมที่ใช้เกือบทุกต้นมีปริมาณเชื้อใบขาวต่ำจึงทำให้ยังไม่มีการเพิ่มปริมาณเชื้อที่ชัดเจนในระยะเวลา 4 สัปดาห์ อีกทั้งจำนวนต้นที่ทดสอบน้อย ดังนั้นต้องทำการทดสอบซ้ำ โดยให้มีจำนวนต้นที่มากขึ้น ทำการปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas sp. สาเหตุโรคใบลวก 6 ไอโซเลต แต่เป็น isolate ใหม่ บนต้นอ้อยที่มีเชื้อโรคใบขาวซ้ำ โดยคัดเลือกต้นอ้อยที่ปลูกแล้วเวลา 2 เดือน จำนวน 70 ต้น เก็บตัวอย่างใบทุกต้นเพื่อวิเคราะห์โรคใบขาว โดยวิธี PCR และปลูกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการตัดใบ บันทึกผลทุก 1 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 2 เดือน ประเมินโรค พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 isolate B, C, และ F บางต้นแสดงความรุนแรงของเชื้ออยู่ในระดับ 5 (**ตารางที่ 5.2.1 และ ภาพที่ 5.2.13**)

สรุปผลการปลุกเชื้อจากการทดสอบซ้ำ โดยเพาะต้นกล้าพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่มีการติดโรคใบขาวจำนวน 60 ต้น เก็บใบตรวจปริมาณเชื้อใบขาวก่อนปลูกเชื้อพบปริมาณเชื้อตั้งแต่ <0.5- 10 copy/ul in 25 ng plant DNA และตรวจพบการปนเปื้อนเชื้ออื่นในหลายตัวอย่างที่ตรวจ เพาะเชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas sp. สาเหตุโรคใบลวก 5 ไอโซเลต และปลูกเชื้อบนต้นอ้อยที่มีเชื้อโรคใบขาวด้วยวิธีตัดใบ บันทึกผลทุก 1 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 2 เดือน โดยการประเมินโรค 5 ระดับ ตั้งแต่ไม่ปรากฏอาการ – ต้นตาย (1-3-5-7-9) ตามวิธีของ Andres Felipe Gutierrez Viveros พบว่าเชื้อมีการเข้าทำลายมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 อยู่ระหว่างการตรวจการเข้าทำลายในเดือนที่ 2 และเก็บใบเพื่อตรวจปริมาณเชื้อโรคใบขาวทำการตรวจปริมาณเชื้อในต้นที่ทดสอบการปลูกเชื้อโรคใบลวกที่อายุ 4 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ พบว่า isolate A และ B มีความรุนแรงกว่าอีก 3 isolates โดยสามารถทำลายเนื้อเยื่อใบอ้อยได้ถึงระดับที่ 7 ส่วน isolate C, D และ E ทำลายได้ถึงระดับ 5 ผลการตรวจเชื้อโรคใบขาวในต้นที่ทดสอบพบว่าในกลุ่มควบคุม มีเชื้ออยู่ในระดับน้อยกว่า 10 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ที่ 4 สัปดาห์หลังการปลูก ส่วนกลุ่มทดสอบที่พบว่ามีปริมาณเชื้อใบขาวเพิ่มขึ้น ได้แก่ กลุ่ม A, C และ E แต่กลุ่มที่ทดสอบกับ isolate B และ D มีแนวโน้มของเชื้อลดลงหรือคงตัว ทั้งนี้อาจเกิดจากผลของเชื้อใบลวกที่มีต่อการเพิ่มปริมาณของเชื้อใบขาว หรือการเกิดเชื้อซ้ำซ้อนของทั้งสองเชื้อทำให้พืชแสดงอาการใบขาวได้มากขึ้น แต่เนื่องจากเป็นการตรวจเชื้อที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ ต้องรอตรวจผลที่ 8 สัปดาห์ และจำนวนต้นที่ทดสอบน้อย

การทดลองปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas sp. สาเหตุโรคใบลวก 6 ไอโซเลต บนต้นอ้อยที่มีเชื้อโรคใบขาวซ้ำ โดยคัดเลือกต้นอ้อยที่ปลูกแล้วเวลา 2 เดือน จำนวน 70 ต้น เก็บตัวอย่างใบทุกต้นเพื่อวิเคราะห์โรคใบขาว โดยวิธี PCR และปลูกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการตัดใบ บันทึกผลทุก 1 สัปดาห์หลังการ

กรมวิชาการเกษตร

ปลูกเชื้อ เป็นเวลา 2 เดือน ประเมินโรคเช่นเดียวกันกับวิธีการในไตรมาส 2-3 พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 isolate B, C, และ F บางต้นแสดงความรุนแรงของเชื้ออยู่ในระดับ 5

10. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

การสำรวจเชื้อสาเหตุโรคในอ้อยในสภาพไร่เพื่อการทดสอบผลของการติดเชื้อโรคอื่นซ้ำซ้อนต่อเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวของอ้อยมีการทำการสำรวจทั้งสิ้นจำนวน 9 ครั้ง โดยเชื้อที่สำรวจได้ทั้งหมด 4 ชนิด เป็นเชื้อราบนใบ ซึ่งอาจไม่มีผลต่อเชื้อไฟโตพลาสมาซึ่งอยู่ในท่ออาหารของพืช การทดลองปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเส้นกลางใบแดงบนใบของต้นอ้อยที่มีเชื้อไฟโตพลาสมา แม้เชื้อสามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อได้ แต่ไม่มีการขยายขนาด การเก็บตัวอย่างอ้อยที่มีลักษณะอาการที่พบได้แก่ ก้านใบแดง,ใบขีดแดง,ใบแถบเหลืองและกลางใบเหลือง จากการนำแบคทีเรียที่เพาะแยกเชื้อได้ มาทดสอบจำนวน 20 ไอโซเลต พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ จำนวน 18 ไอโซเลต และแบคทีเรียแกรมบวก 2 ไอโซเลต ผลการทดลองปลูกเชื้อที่สำรวจได้จำนวน 20 ชนิดในต้นอ้อยที่มีเชื้อใบขาวซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าต้นอ้อยยังไม่แสดงอาการของโรคที่เด่นชัดรุนแรง ทดสอบการปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคอ้อย 5 ไอโซเลตโดยใช้ต้นอ้อยจำนวน 72 ต้น พันธุ์ : TPJO4-768 อายุ 2 เดือน ทำการปลูกเชื้อโดยการฉีดใส่ลำต้นอ้อยบันทึกผลทุก 1 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อเป็นระยะเวลา 1 เดือนจากนั้นนำการปลูกเชื้อซ้ำอีกสองรอบ พบว่าเชื้อทั้ง 5 isolates สามารถเพิ่มระดับความรุนแรงได้ถึงระดับ 2 และเริ่มแสดงอาการตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 หลังการปลูกเชื้อ การปลูกเชื้อในกลุ่มต้นที่มีอาการใบขาว พบว่า isolate 4 และ 5 ซึ่งเป็นกลุ่ม Xanthomonas มีต้นที่แสดงอาการใบขาวลดลง ส่วนการทดลองในกลุ่มที่ไม่แสดงอาการใบขาว หลังการปลูกเชื้อสัปดาห์ที่ 7 ไม่มีต้นแสดงอาการใบขาว การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อโรคใบขาวก่อนการปลูกเชื้อพบเชื้อใบขาวตั้งแต่ 0.5 ถึง 100,000 copy/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม สำรวจตัวอย่างเชื้อใบลวกจากอ้อยที่ติดเชื้อในเขตจังหวัดนครสวรรค์เพาะแยกเชื้อแบคทีเรียจากเนื้อเยื่ออ้อยได้จำนวน 4 isolates การวิเคราะห์การติดเชื้อซ้ำซ้อนกับโรคใบขาว การสำรวจอ้อย 20 ตัวอย่างในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ตรวจเป็นโรคแส้ดำ ผลการตรวจวิเคราะห์พบติดเชื้อโรคใบขาวในระดับสีเหลือง (10 เซลล์/ ไมโครลิตร) จำนวน 15 ตัวอย่าง แสดงว่าเชื้อนี้ไม่มีผลต่อการติดโรคใบขาว การปลูกเชื้อ Xanthomonas sp สาเหตุโรคใบลวก 5 ไอโซเลต ในต้นกล้าพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่มีการติดโรคใบขาวจำนวน 60 ต้น มีปริมาณเชื้อใบขาวก่อนปลูกเชื้อพบปริมาณเชื้อตั้งแต่ <0.5- 10 copy/ul in 25 ng plant DNA ด้วยวิธีตัดใบ พบว่าเชื้อ Xanthomonas มีการเข้าทำลายมากขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า isolate A และ B มีความรุนแรงกว่าอีก 3 isolates โดยสามารถทำลายเนื้อเยื่อใบอ้อยได้ถึงระดับที่ 7 ส่วน isolate C, D และ

กรมวิชาการเกษตร

E ทำลายได้ถึงระดับ 5 ผลการตรวจเชื้อโรคใบขาวในต้นที่ทดสอบพบว่าในกลุ่มควบคุม มีเชื้ออยู่ในระดับน้อยกว่า 10 copies/ul ในดีเอ็นเอพืช 25 นาโนกรัม ที่ 4 สัปดาห์หลังการปลูก ส่วนกลุ่มทดสอบที่พบว่ามีปริมาณเชื้อใบขาวเพิ่มขึ้น ได้แก่ กลุ่ม A, C และ E แต่กลุ่มที่ทดสอบกับ isolate B และ D มีแนวโน้มของเชื้อลดลงหรือคงตัว ทั้งนี้อาจเกิดจากผลของเชื้อใบลวกที่มีต่อการเพิ่มปริมาณของเชื้อใบขาว หรือการเกิดเชื้อซ้ำซ้อนของทั้งสองเชื้อทำให้พืชแสดงอาการใบขาวได้มากขึ้น การปลูกเชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas sp. สาเหตุโรคใบลวก 6 ไอโซเลต บนต้นอ้อยที่มีเชื้อโรคใบขาวซ้ำ โดยคัดเลือกต้นอ้อยที่ปลูกแล้วเวลา 2 เดือน จำนวน 70 ต้น พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 isolate B, C, และ F บางต้นแสดงความรุนแรงของเชื้ออยู่ในระดับ 5 จากผลการทดลองนี้พบว่าเชื้อกลุ่ม Xanthomonas sp. Vk0มีผลต่อการลดลงของเชื้อโรคใบขาวอ้อย

อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่ใช้ในการปลูกเชื้อมีจำนวนจำกัดเนื่องจากต้องใช้ท่อนพันธุ์ที่มีโรคใบขาว นอกจากนี้ในการเก็บรักษาเชื้อในกลุ่ม Xanthomonas มักพบว่าเพาะแยกได้ยาก การเพาะด้วยอาหาร PDA ทำให้เชื้อไม่เติบโต แต่มีเชื้อในกลุ่ม *Panthoea* spp. เกิดขึ้นแทนที่ ทำให้การทดลองมีความผิดพลาด การทดสอบโดยการใช้การปลูกเชื้อในห้องปฏิบัติการ การใช้เทคนิค detach leaf, leaf disc รวมถึงการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะทำให้ได้ผลที่แม่นยำมากยิ่งขึ้น

11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ : ให้ระบุผลงานที่สิ้นสุด ได้นำไปใช้ประโยชน์อย่างไร พัฒนาต่อหรือถ่ายทอด หรือเผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์กับกลุ่มเป้าหมาย (ระบุเป็นข้อๆ)

11.1 อยู่ระหว่างการจัดเตรียมข้อมูลเพื่อการเผยแพร่

11.2 ต่อยอดวิธีการและผลการทดลองในโครงการปรับปรุงพันธุ์อ้อยปี 2565-2567 ของสถาบันวิจัยพืชไร่ฯ

12. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัยที่ช่วยปฏิบัติการทดลอง ทดสอบอ้อยตามแผนงานทดลอง ขอขอบคุณคุณปิยะรัตน์ จังพล คุณรวีวรรณ เชื้อกิตติศักดิ์ คุณภาคภูมิ ถิ่นคำ ที่เอื้อเฟื้อต้นอ้อยเพื่อการทดสอบ ขอขอบคุณ อ. ทักษิณา ศันสยะวิชัย ผชช.วีระพล พลรักดี ที่ให้คำปรึกษาด้านพันธุ์ และให้ตัวอย่างในการทดสอบ

13. เอกสารอ้างอิง :

Shapiro, L.R., L. Salvaudon, K. E. Mauck, H. Pulido, C.M. De Moraes, A. G. Stephenson, M. C. Mescher. 2013. Disease interactions in a shared host

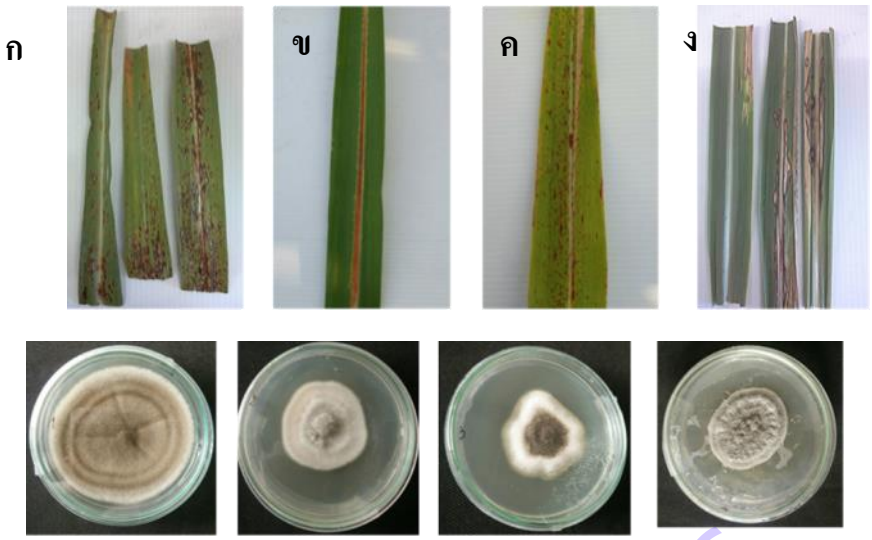
กรมวิชาการเกษตร

plant: effects of pre-existing viral infection on cucurbit plant defense responses and resistance to bacterial wilt disease. PLoS ONE 8(10): e77393. doi:10.1371/journal.pone. 0077393

Thongwai N. and J. Kunopakarn. 2007. Growth inhibition of Ralstonia solanacearum PT1J by antagonistic bacteria isolated from soils in the northern part of Thailand. Chiang Mai J. Sci. 2007; 34(3) : 345-354

กรมวิชาการเกษตร

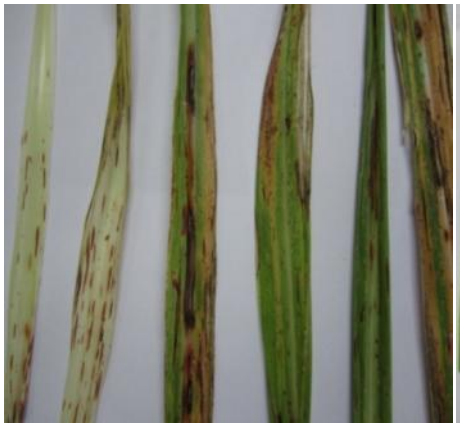
14. ภาคผนวก :



ภาพที่ 5.2.1 โรคเชื้อราบนใบอ้อยและลักษณะเชื้อราที่เพาะได้จากอาการบนใบอ้อย ก. โรคใบจุดวงแหวน เชื้อสาเหตุ คือ *Leptosphaeriasacchari* B.de Haan, *Phyllostictasaccharicola*Henn. ข.โรคใบขีดแดงและลำต้นเน่าแดง เชื้อสาเหตุคือ *Colletotrichum falcatum* ค. โรคใบขีดสีน้ำตาล เชื้อสาเหตุ คือ *Cochliobolus stenospilus* และ *Helminthosporium stenospilum* และ ง. โรคใบจุดแผลใหญ่ เชื้อสาเหตุ คือ *Helminthosporium* sp.

ภาพที่ 5.2.2 การปลูกเชื้อส้นกลางใบแดงบนใบต้นอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ตรวจพบว่ามีเชื้อไฟโตพลาสมาในปริมาณสูง

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 5.2.3 ลักษณะเด่นของโรคอ้อยที่สำรวจได้ในแปลงทดลองศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น จากการสำรวจครั้งที่ 4 ดำเนินการในช่วงเดือนตุลาคม 2559 (ช่วงฝน) คือ ก้านใบแดง และ ใบขีดแดง

อาการก้านใบแดงและราสนิม

อาการก้านใบขีดแดงและราสนิม

ศูนย์วิจัยการเกษตร

อาการแถบใบเหลือง และใบด่างเหลือง

ภาพที่ 5.2.4 ลักษณะเด่นของโรคอ้อยที่สำรวจได้จากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ปลูก จังหวัดหนองคาย อุดรธานี และชัยภูมิ

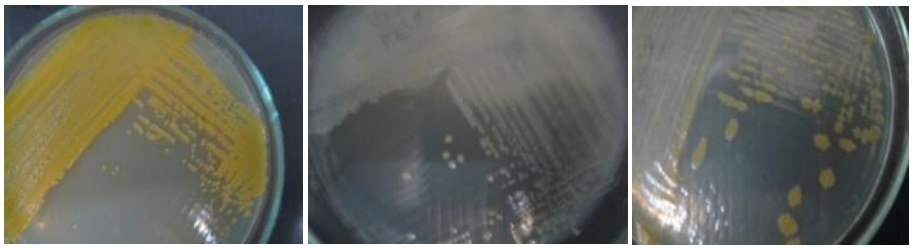
อาการใบแถบเหลือง

ภาพที่ 5.2.5 ลักษณะเด่นของโรคอ้อยที่สำรวจได้จากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ปลูก จังหวัดมหาสารคาม, ร้อยเอ็ด และ กาฬสินธุ์

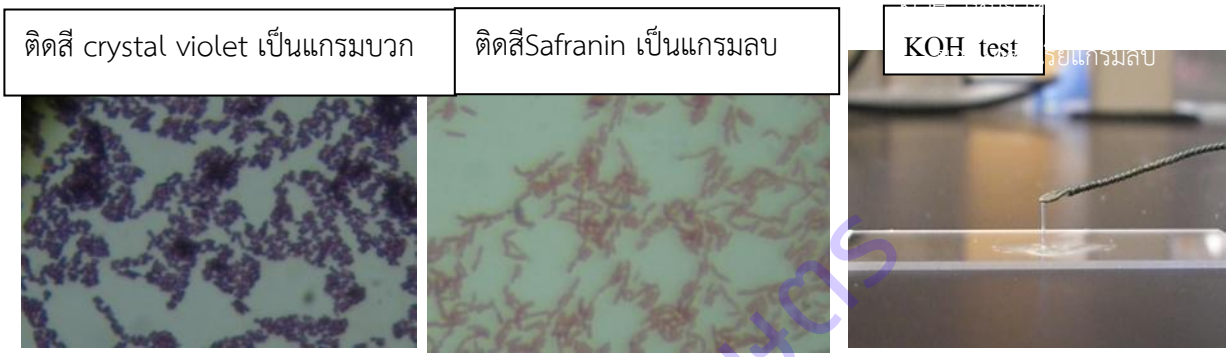
กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 5.2.6 ลักษณะเด่นของโรคอ้อยที่สำรวจได้จากแปลงเกษตรกรในพื้นที่ปลูก จากแปลงเกษตร อ. เขาสวนกวาง จ. ขอนแก่น

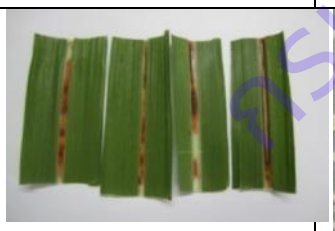
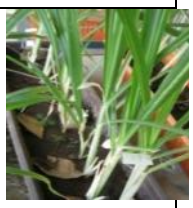
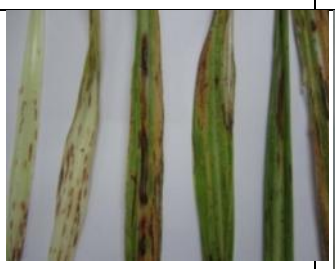
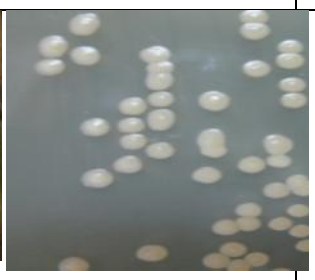


ภาพที่ 5.2.7 ลักษณะโคโลนีแบคทีเรียบางส่วนที่ได้จากการแยกเชื้อที่ตัวอย่างอ้อยที่แสดงอาการโรคจากการสำรวจในไร่เกษตรกร

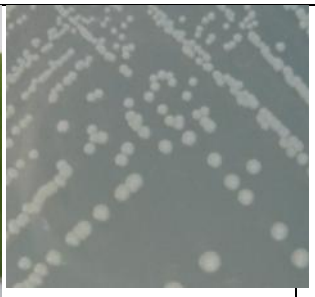
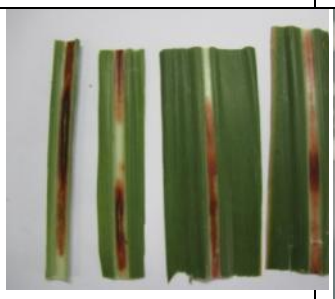
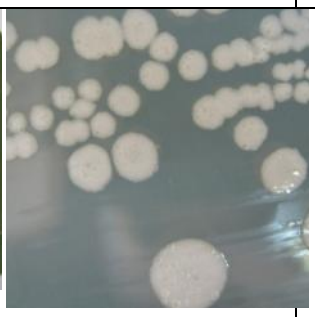
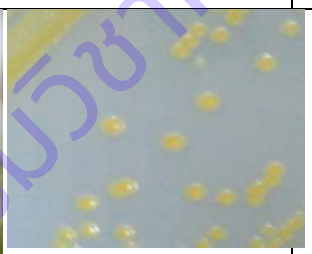


ภาพที่ 5.2.8 การทดสอบแยกชนิดของแบคทีเรียด้วยการย้อมสีและการทดสอบ KOH

ตารางที่ 5.2.8 ชนิดของเชื้อและโรคอ้อยและผลการปลูกเชื้อในต้นอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาว

อาการ	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	แกรม	หมายเหตุ	อาการหลังปลูกเชื้อ 7 วัน
		ลบ	กลุ่มจีนัส*Psuedomonas*	
		ลบ	กลุ่มจีนัส*Psuedomonas*	

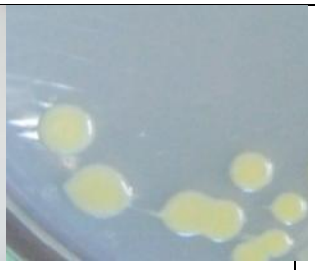
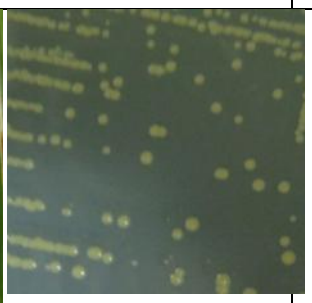
ศูนย์วิทยทรัพยากร

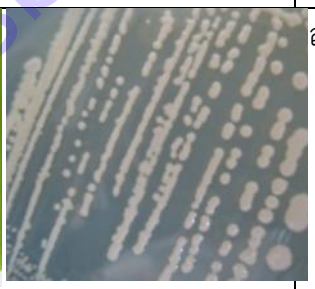
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Psuedomonas*	
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Psuedomonas*	
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Xanthomanas*	
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Xanthomanas*	

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5.2.8 ชนิดของเชื้อและโรคอ้อยและผลการปลูกเชื้อในต้นอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาว(ต่อ)

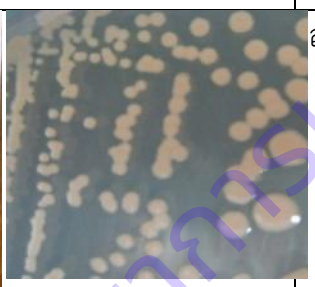
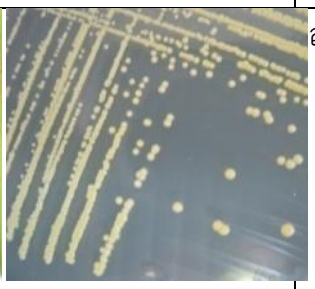
อาการ	ลักษณะโคโลนี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ	แกรม	หมายเหตุ	อาการหลังปลูก เชื้อ 7 วัน

		ลบ	กลุ่มจีนัส *Xanthomanas*	
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Xanthomanas*	

		ลบ	กลุ่มจีนัส *Psuedomonas*	
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Psuedomonas*	

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5.2.8 ชนิดของเชื้อและโรคอ้อยและผลการปลูกเชื้อในต้นอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาว(ต่อ)

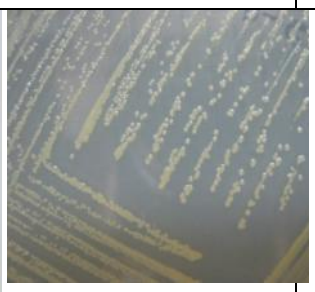
อาการ	ลักษณะโคโลนี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ	แกรม	หมายเหตุ	อาการหลังปลูกเชื้อ 7 วัน
		บวก		
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Xanthomanas*	
		ลบ	กลุ่มจีนัส Psuedomonas	
		ลบ	กลุ่มจีนัส Xanthomanas	

กรมวิชาการเกษตร

		บวก		

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5.2.8 ชนิดของเชื้อและโรคอ้อยและผลการปลูกเชื้อในต้นอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาว(ต่อ)

อาการ	ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	แกรม	หมายเหตุ	อาการหลังปลูกเชื้อ
		ลบ	กลุ่มจีนัส Xanthomanas	
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Psuedomonas*	
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Psuedomonas*	
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Psuedomonas*	

กรมวิชาการเกษตร

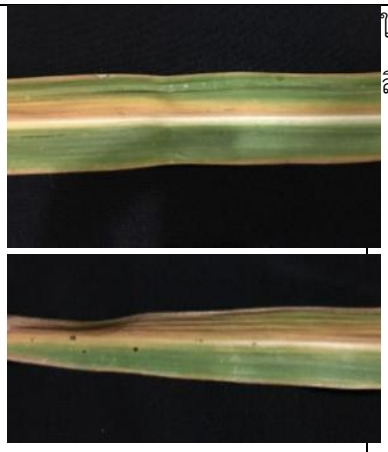
		ลบ	กลุ่มจีนัส *Psuedomonas*	

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5.2.9 ตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยที่ดำเนินการสำรวจครั้งที่ 8 ในแปลงเกษตรกรในเขตจังหวัดอุทัยธานีระหว่างวันที่ 3-5 พ.ค. 2560

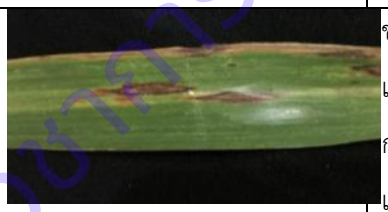
ตัวอย่างที่	พื้นที่สำรวจ	ภาพประกอบ	อาการโรค	คาดว่าน่าจะเป็น
1.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ใบจุดสีเหลือง จนถึงน้ำตาล รูปร่างไม่แน่นอนกระจายทั่วทั้งใบ อาจจะรวมกันเป็นจุดแผลใหญ่	โรคใบจุดสีเหลืองจากเชื้อ *Cercospora* sp.
2.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		เส้นกลางใบมีลักษณะคล้ายโดน้ำร้อนลวก เกิดแผลขนาดใหญ่ ฉ่ำน้ำ	โรคจากแบคทีเรีย *Xanthomonas* sp.
3.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ใบมีจุดเล็กๆ สีเหลืองจางๆ แผลลุกลามต่อกันจนมีสีน้ำตาลทั่วใบ	โรคใบจุดจากเชื้อรา *Mycovelosiella*sp.
4.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี	 	ขอบใบมีการถูกทำลายจากเชื้อ ลุกลามตามแนวยาวของใบ ขอบแผลมีอาการฉ่ำน้ำ	เชื้อแบคทีเรีย -

กรมวิชาการเกษตร

5.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ใบอ้อยจะมีลักษณะเป็นทางสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาล	ขาดธาตุแคลเซียม

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5.2.9 ตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยที่ดำเนินการสำรวจครั้งที่ 8 ในแปลงเกษตรกรในเขตจังหวัดอุทัยธานีระหว่างวันที่ 3-5 พ.ค. 2560 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	พื้นที่สำรวจ	ภาพประกอบ	อาการโรค	คาดว่าน่าจะเป็น
6.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		เส้นใบถูกทำลาย ขอบใบเกิดแผลเนื้อเยื่อตาย แผลมีขนาดใหญ่ ลุกลามทั่วแผ่นใบ	เชื้อแบคทีเรีย -
7.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ใบมีจุดช้ำๆ เล็กๆ แผลมีขนาดไม่แน่นอน สีเหลืองจนน้ำตาล	โรคแฉกสีน้ำตาลจากเชื้อรา *Cochobolus* sp.
8.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ขอบใบถูกทำลาย จนใบเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาล เส้นกลางใบมีการถูกทำลาย เนื้อเยื่อตาย	โรคใบจุดสีน้ำตาลที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora* sp. และอาจจะมีการเข้าทำลายจากเชื้อแบคทีเรียอยู่ด้วย
9.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ใบมีลักษณะด่าง สีเขียวสลับสีเหลือง และขอบใบถูกทำลาย	โรคใบด่างที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Sugarcane mosaic virus* และอาจจะมีโรคที่เกิดจากแบคทีเรียเข้าทำลายพร้อมกัน

กรมวิชาการเกษตร

10.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ปลายใบอ้อยถูกทำลาย โดยเชื้อ ทำลายบริเวณขอบใบก่อน ลุกลามมาถึงเส้นกลางใบ มีแผลค่อนข้างฉ่ำน้ำ	เชื้อแบคทีเรีย -
11.	แปลงที่ 1 ตำบลหูช้าง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ใบอ้อยเกิดจุด แผลมีขนาดไม่แน่นอน จุดแผลมี (Halo)ล้อมรอบ กลางแผลมีสีขาวลุกลามขยายทั่วใบ	โรคใบจุดวงแหวน จากเชื้อรา *Leptosphaeria* sp.

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5.2. 9 ตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยที่ดำเนินการสำรวจครั้งที่ 8 ในแปลงเกษตรกรในเขตจังหวัดอุทัยธานีระหว่างวันที่ 3-5 พ.ค. 2560 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	พื้นที่สำรวจ	ภาพประกอบ	อาการโรค	คาดว่าน่าจะเป็น
12.	แปลงที่ 1 ตำบลเมืองกาญ รุ้ง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ใบมีเส้นสีแดงเป็นขีดยาวตามความยาวของรอยขีดติดต่อกันเป็นปื้น	โรคใบขีดแดงและยอดเน่าเกิดจาก เชื้อแบคทีเรีย *Pseudo monas* sp.
13.	แปลงที่ 1 ตำบลเมืองกาญ รุ้ง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ใบอ้อยเกิดแผลขนาดใหญ่สีน้ำตาลกลางใบมีแผลฉ่ำน้ำ	เชื้อแบคทีเรีย-
14.	แปลงที่ 1 ตำบลเมืองกาญ รุ้ง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		อาการเน่า ลำอ้อยจะเน่าโคนลำ มีวงสีแดง	โรคเน่าคออ้อย จากเชื้อ แบคทีเรีย *Erwinias* p.
15.	แปลงที่ 1 ตำบลเมืองกาญ รุ้ง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		เนื้อเยื่อพืชถูกทำลาย แผลลุกลามขนาดใหญ่ เกิดการสร้างสปอร์สีดำจำนวนมาก	โรคแส้ดำ จากเชื้อรา *Ustilago scitamin ea*
16.	แปลงที่ 1 ตำบลเมืองกาญ รุ้ง อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		เส้นใบอ้อยมีลักษณะสีแดงตามเส้นใบ	โรคลำต้นเน่าแดง จากเชื้อรา *Colletotrichum* sp.

กรมวิชาการเกษตร

17.	แปลงที่ 1 ตำบลเมืองกาญ อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		เส้นกลางใบเน่าเยื่อถูกทำลาย มีลักษณะฉ่ำน้ำ	เชื้อแบคทีเรีย -
18.	แปลงที่ 1 ตำบลเมืองกาญ อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ใบจุด แผลใหญ่ รูปร่างไม่แน่นอน เกิดทั้งบนเส้นใบและกลางใบ	โรคใบจุดจากเชื้อ *Helmintosporium* sp.

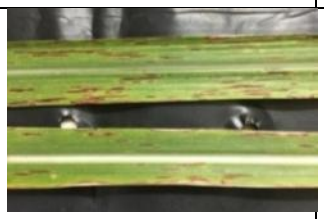
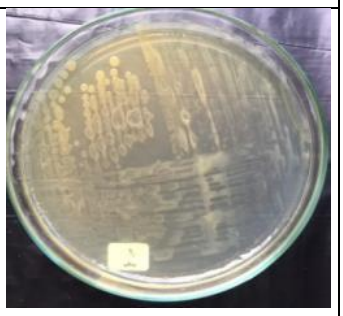
กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5.2. 9 ตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยที่ดำเนินการสำรวจครั้งที่ 8 ในแปลงเกษตรกรในเขตจังหวัดอุทัยธานีระหว่างวันที่ 3-5 พ.ค. 2560 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	พื้นที่สำรวจ	ภาพประกอบ	อาการโรค	คาดว่าน่าจะเป็น
19.	แปลงที่ 1 ตำบลเมืองกาญ อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		เส้นหลางใบอ้อยเกิดแผลลุกลามทั่วใบ ขอบใบเกิดอากาไหม้	เชื้อแบคทีเรีย-
20.	แปลงที่ 1 ตำบลเมืองกาญ อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี		ใบอ้อยมีจุดขนาดไม่เท่ากัน จุดมี(Halo)ล้อมรอบ ใบอ้อยมีอาการสีไม่สม่ำเสมอกัน คล้ายอาการขาดธาตุ	เชื้อรา- และมีอาการขาดธาตุ

กรมวิชาการเกษตร

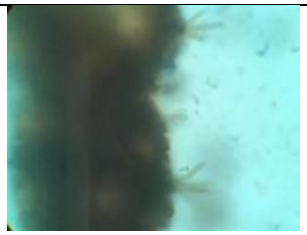
ตารางที่ 5.2.10 ตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยที่ดำเนินการสำรวจครั้งที่ 9 ในแปลงทดลองในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ระหว่างเดือนกันยายน 2560

ตัวอย่าง	**ภาพประกอบ**	**อาการโรค**	ชนิดเชื้อ	ลักษณะเชื้อ
1.		ใบอ้อยเกิดรอยขีดเล็กๆ ฉ่ำน้ำ ต่อมาแผลขยายเป็นรอยขีดยาวๆ	เชื้อแบคทีเรีย *Psedomonas* sp.	
2.		ใบอ้อยพบแผลจุด มีขนาดไม่แน่นอน แผลมีสีเหลือง ไปจนถึงสีน้ำตาล ขนาดแผลไม่แน่นอน	เชื้อแบคทีเรีย -	
3.		พบว่าลำต้นอ้อยเกิดการหักล้มของต้นอ้อย หนอนเข้าทำลายทั้งหน่อ และส่วนยอด ทำให้เกิดอาการยอดเน่าตาย ทำให้อ้อยเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ	หนอนกอลายจุดเล็ก ชื่อสามัญ : Early borer ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Chiloinfuscatellus* Snellen	

ลิขสิทธิ์การเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5.2.10 ตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยที่ดำเนินการสำรวจครั้งที่ 9 ในแปลงทดลองในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ระหว่างเดือนกันยายน 2560 (ต่อ)

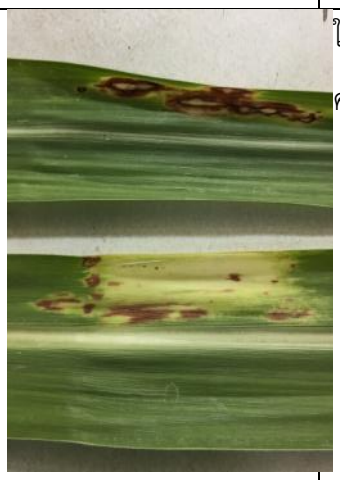
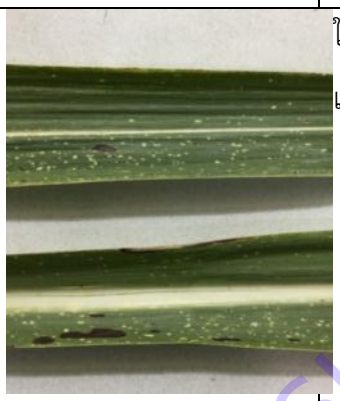
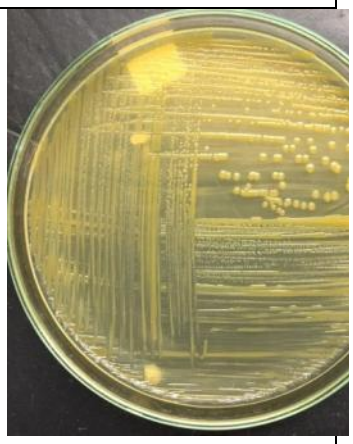
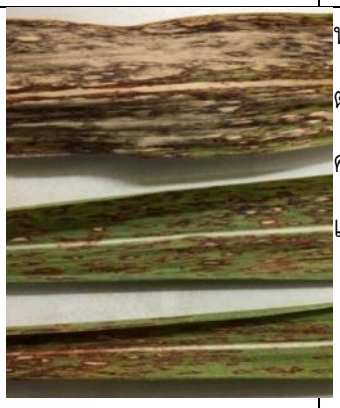
ตัวอย่าง	**ภาพประกอบ**	**อาการโรค**	ชนิดเชื้อ	ลักษณะเชื้อ
4.		บริเวณใบของอ้อย เชื้อราจะเข้าทำลายบริเวณใบที่อยู่ล่างๆ อาการระยะแรกเป็นจุดแผลขนาดเล็ก มีสีเหลืองทั้งบนใบและใต้ใบ ต่อมาแผลขยายในแนวยาวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมส้มหรือน้ำตาลแดง ขอบแผลมีสีเหลืองล้อมรอบใบ	โรคราสนิม (Rust) จากเชื้อรา *Pucciniamelanocephala*	
5.		ใบอ้อยปลายใบเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง กลางเส้นใบมีแผล แผลมีขนาดไม่แน่นอน	โรคใบขีดสีน้ำตาลจากเชื้อรา *Cercosporalongipes*Butl	

กรมวิชาการเกษตร

6.		ใบอ้อยพบแผลขนาดไม่แน่นอน แผลมีสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาล มี Halo สีเหลืองล้อมรอบแผล แผลลุกลามตามเส้นใบด้วย	โรคใบจุดสีน้ำตาล เชื้อรา *Helminthosporiumstenospilum*	

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5.2.10 ตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยที่ดำเนินการสำรวจครั้งที่ 9 ในแปลงทดลองในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ระหว่างเดือนกันยายน 2560(ต่อ)

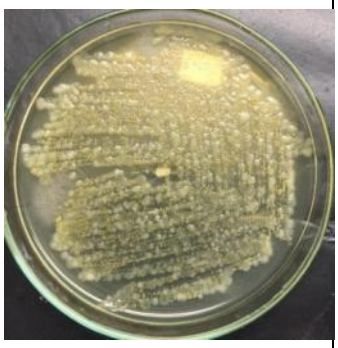
ตัวอย่าง	**ภาพประกอบ**	**อาการโรค**	ชนิดเชื้อ	ลักษณะเชื้อ
7.		ใบเกิดอาการเหลือง แผลคล้ายน้ำร้อนลวก	เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas*sp.	
8.		ใบจุดประ แผลเป็นจุดเล็กๆ กลางแผลขาวเทา	เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas*sp.	
9.		พบแผลขอบสีน้ำตาลตรงกลางมีสีขาว ลักษณะคล้ายรูปไข่ มี halo สีเหลืองล้อมรอบ	โรคใบจุดวงแหวน (Ring Spot disease) จากเชื้อรา *Leptosphaeriasacchari*	

กรมวิชาการเกษตร

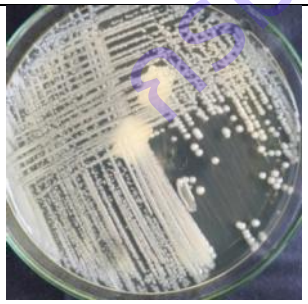
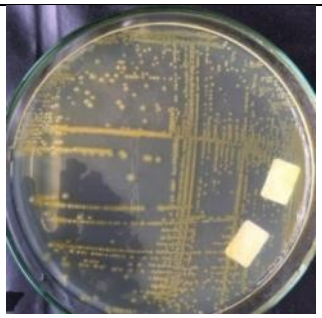
10.		ใบและหลังใบ เป็นจุดเล็กๆ รูปไข่ สีแดง ต่อมาแผลขยายเป็นขีดสีน้ำตาลแดงและรอบแผลมีวงสีเหลือง(Halo) เกิดติดกันเป็นปื้น ขนาดของแผลมีทั้งเล็กและใหญ่	โรคใบจุดเหลือง (Yellow spot) เชื้อรา *Mycovelosiellakoepkei*	ภาพจาก http://prgdb.crg.eu/wiki/Species:Mycovellosiella

กรมวิชาการเกษตร

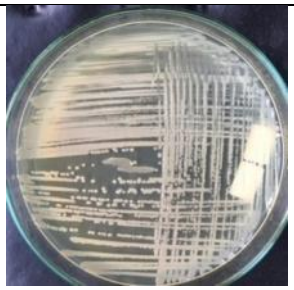
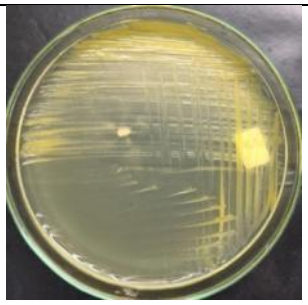
ตารางที่ 5.2.10 ตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยที่ดำเนินการสำรวจครั้งที่ 9 ในแปลงทดลองในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ระหว่างเดือนกันยายน 2560(ต่อ)

ตัวอย่าง	**ภาพประกอบ**	**อาการโรค**	ชนิดเชื้อ	ลักษณะเชื้อ
12.		อาการเน่าปลายยอดและบริเวนข้อปล้อง ยอดแห้ง	เชื้อแบคทีเรีย Erwiniacarotovora	รอดำเนินการแยกเชื้อ 

ตารางที่ 5.2. 11 ตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยที่ใช้ในการปลูกเชื้อในต้นอ้อยที่เป็นโรคใบขาว

ตัวอย่าง	**ลักษณะโคโลนี**	**ชนิดเชื้อ**	**พืชทดสอบหลังปลูกเชื้อ**
1.UT1		**เชื้อแบคทีเรีย** unknown	
2.UT3		เชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas sp.	

ภาควิชากีฏวิทยาเกษตร

3.KKFC1		เชื้อแบคทีเรีย unknown	
4.XAN1		เชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas sp.	
5.XAN2		เชื้อแบคทีเรีย Xanthomonas sp.	

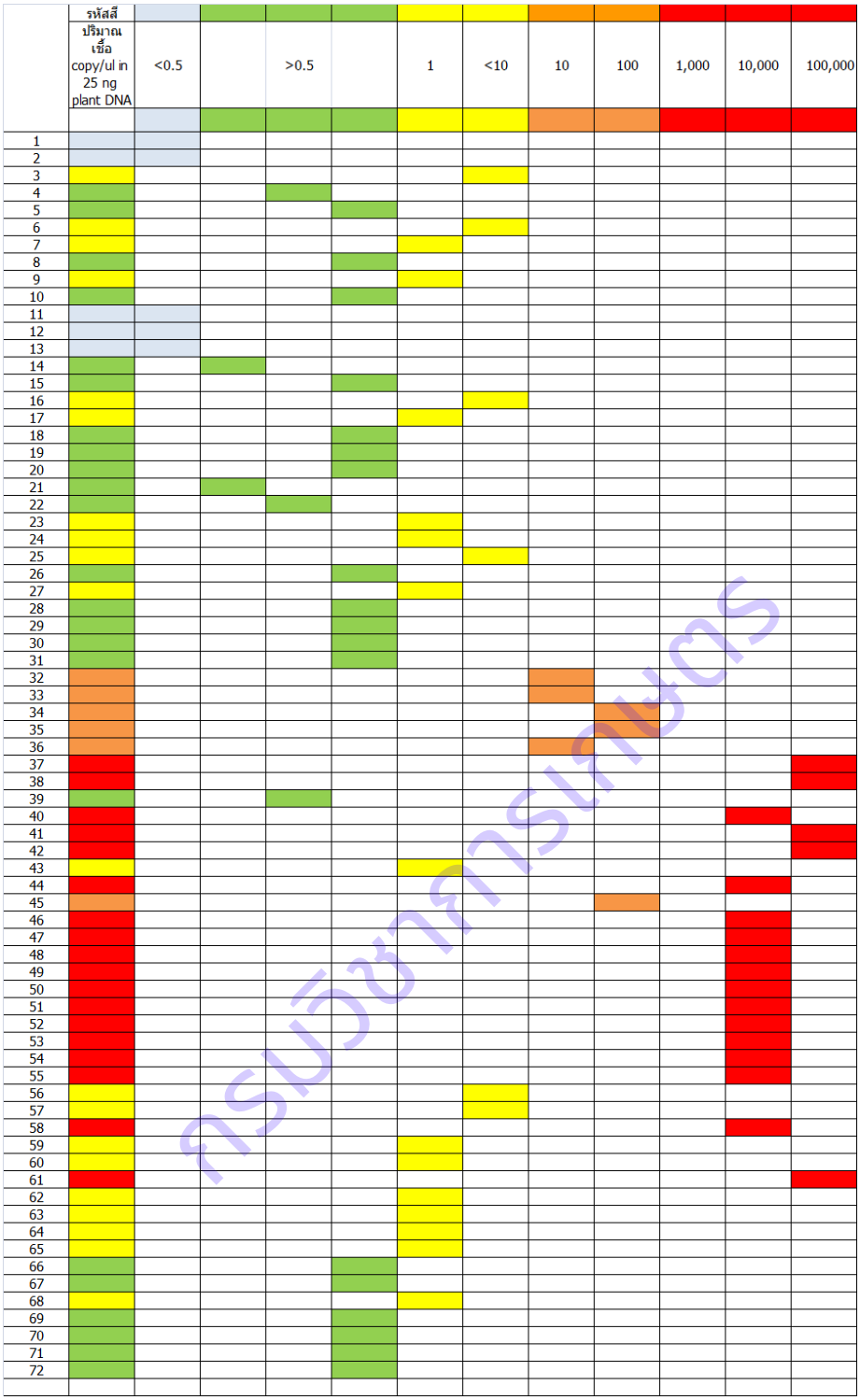
ตารางที่ 5.2.12 ผลการประเมินความรุนแรงของเชื้อในต้นกล้าอ้อยมีอาการใบขาว (white leaf) และต้นที่ไม่มีอาการใบขาว (Green leaf) จำนวน 6 ซ้ำ ดำเนินการปลูกเชื้อครั้งที่ 1 เมื่อ 3 ต.ค. 2560 ตรวจติดตามการแสดงอาการของต้นในสัปดาห์ที่ 1 (10 ต.ค. 2560), 2 (17 ต.ค. 2560) , 3 และ 4 (24 ต.ค. 2560) ปลูกเชื้อครั้งที่ 2 (27 พ.ย. 2560) โดยใช้เชื้อ 5 isolates คือ A, B, C, D และ E control คือ ไม่ปลูกเชื้อ * แสดงอาการโรคอื่นร่วมด้วย

isolate	1Wk1	1Wk2	1Wk3	1Wk4	2wk4	2wk5	2wk6	2wk7	Plant symptom
White leaf									At 1wk1 / 2wk7
control	0	0	0	0	0	0	0	0	6White* / 6 white
1	0	0	0	0-2	0-2	0-2	0-2	0	5 white* /6 white
2	0	1	1	1-2	1-2	1-2	1-2	1-2	0 white* /3 white

กรมวิชาการเกษตร

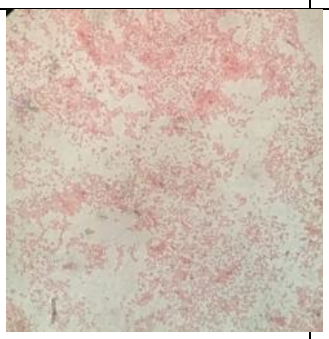
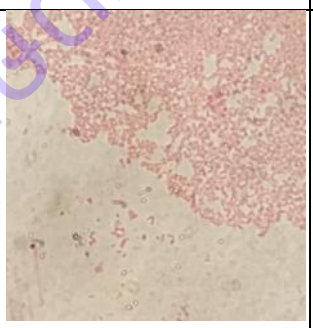
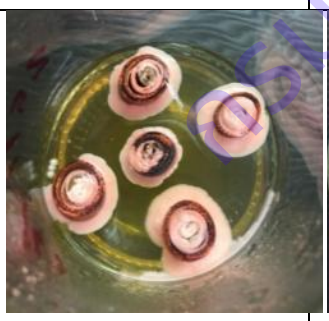
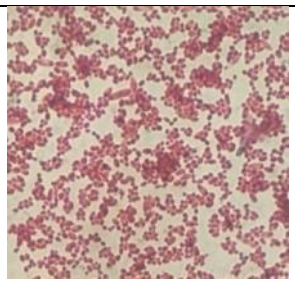
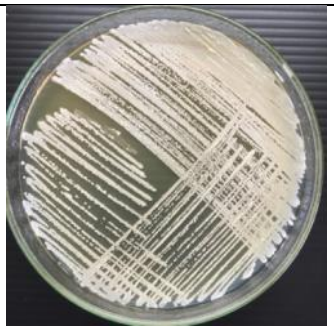
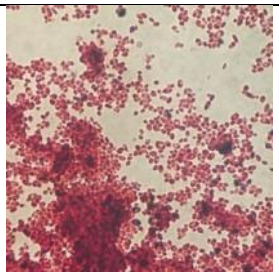
3	0	0	0	0-2	0-2	0-2	0-2	0	0 white*/4 white
4	0-1	0-1	0-1	0-2	0-2	0-2	0-2	0-1	4 white* /2 white
5	0	0	0	0	0	0	0	1	1 white* /0 white
Green leaf									
control	0	0	0	0	0	0	0	0	0 white /0 white
1	0	0	1	1-2	1-2	1-2	1-2	1-2	0 white /0 white
2	0	0	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1	0	1 white*/0 white
3	0	0	0	0	0	0	0	0-2	0 white*/0 white
4	0	0	0	0	0	0	0	2	0 white*/0 white
5	0-1	0-1	0-1	0-2	0-2	0-2	0-2	0-1	0 white /0 white

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 5.2.9 ปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวอ้อยตรวจด้วย 16S-23S ITS และ secA gene ในใบของอ้อยก่อนทดสอบการปลูกเชื้อแบทีเรียสาเหตุโรคอื่นในอ้อย

ตารางที่ 5.2.13 ลักษณะของตัวอย่างเชื้อสาเหตุโรคอื่นในอ้อยที่เพาะได้จากเนื้อเยื่อที่เก็บจากแปลงทดลองในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่นจำแนกเบื้องต้นจากลักษณะโคโลนี

NO	characteristics	Colony	Gram Stain	Shape
1			 Gram negative	rod-shaped
2			 Gram negative	rod-shaped
3			 Gram-positive	rod-shaped
4			 Gram-positive	rod-shaped

ตัวอย่างการสแกน

Cultural Characteristics								
No.	**Colony Pigment**	**Colony Size**	**Colony form**	**Colony margin**	**Surface Texture**	**Elevation**	**Consistency**	**Optical Feathures**
1	white	3-9mm	Circular	Undulate	Smooth	Raised	Butyrous	Opaque
2	yellow	2-5 mm	Irregular	Erose	Smooth	Raised	Rubbery	Opaque
3	grey-white	2-5 mm	Irregular	Erose	Smooth or rough	Raised	Rubbery	Opaque
4	grey-white	3-6 mm	Irregular	Erose	Smooth or rough	Raised	Rubbery	Opaque
5	white	3-5 mm	Circular	Entire	Smooth	Raised	Rubbery	Opaque

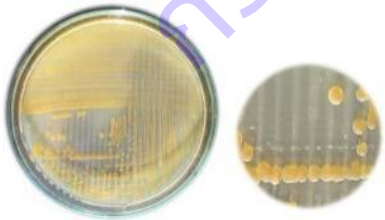
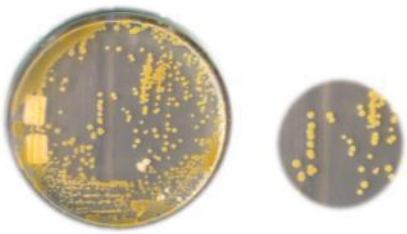
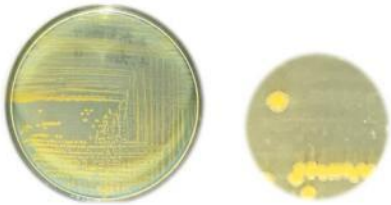
ตารางที่ 5.2.14 การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียในเนื้อเยื่ออ้อยเบื้องต้นด้วยวิธีทางชีวเคมี

วิธีการทดสอบ	isolates			
	1	2	3	4
1.The morphology **1.1 Gram Stain** **1.2 Colony Pigment**	Gram negative white	Gram negative yellow	Gram Positive grey-white	Gram Positive grey-white
2.การทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส(Catalase)	เกิดฟองอากาศ	เกิดฟองอากาศ	เกิดฟองอากาศ	เกิดฟองอากาศ
3.การทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส(Oxidase)	-	-	-	-
4.การทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ยูรีเอส(Urease)	Urease Tests Negative	Urease Tests Negative	Urease Tests Positive	Urease Tests Positive

กรมวิชาการเกษตร

5.การทดสอบการย่อยแป้ง	ไม่สามารถย่อยแป้งได้	ไม่สามารถย่อยแป้งได้	ย่อยแป้งได้	ย่อยแป้งได้
6.การทดสอบการย่อยเจลาติน	-	-	-	-
7.การทดสอบ Oxidation-fermentation (O-F Test)	Y | G	Y | G	Y | G	Y | G
8.การทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ Nutrient Broth	ขุ่น	ไม่ขุ่น	ขุ่น	ขุ่น
9.การทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรท	-	-	-	-

กรมวิชาการเกษตร

isolate	Colony form	isolate	Colony form
A		B	
C		D	

E		

ภาพที่ 5.2.9 Xanthomonas isolates ที่ใช้ในการปลูกเชื้อในตัวอย่างอ้อยชุดที่ 2-2561 ที่อายุ 2 เดือน

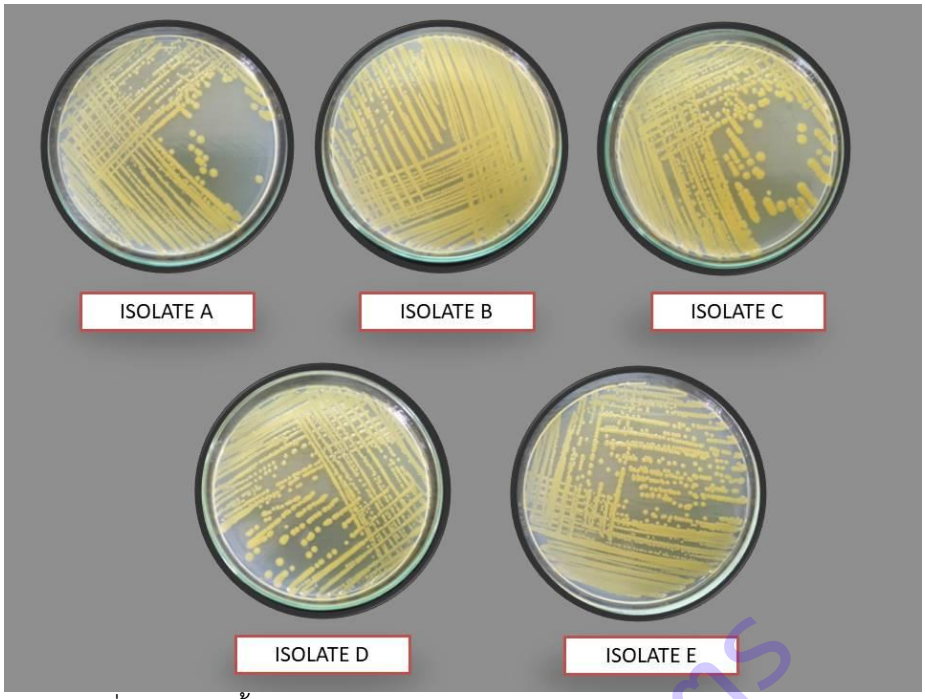
ตารางที่ 5.2.14ผลการปลูกเชื้อ Xanthomonas spp. 5 isolates (A, B, C, D, E) ในอ้อยอายุ 2 เดือน ทดสอบ isolate ละ 5 ต้น บันทึกอาการทุก 1 สัปดาห์ นาน 3 สัปดาห์ W เป็นการทดสอบด้วยน้ำ

No.	week 1					week 2					week3					
	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9	
A1	✓					✓					✓					พบรา
A2			✓							✓					✓	พบเพลี้ยราสีดำต้นตาย
A3	✓					✓					✓					พบรา
A4	✓					✓					✓					พบรา
A5	✓					✓					✓					พบรา
B1	✓								✓					✓		
B2					✓					✓					✓	ต้นตาย
B3	✓					✓					✓					พบรา
B4	✓					✓					✓					พบรา
B5	✓							✓							✓	พบราต้นตาย
C1				✓					✓						✓	ต้นตาย
C2		✓					✓								✓	ต้นตาย
C3		✓					✓							✓		

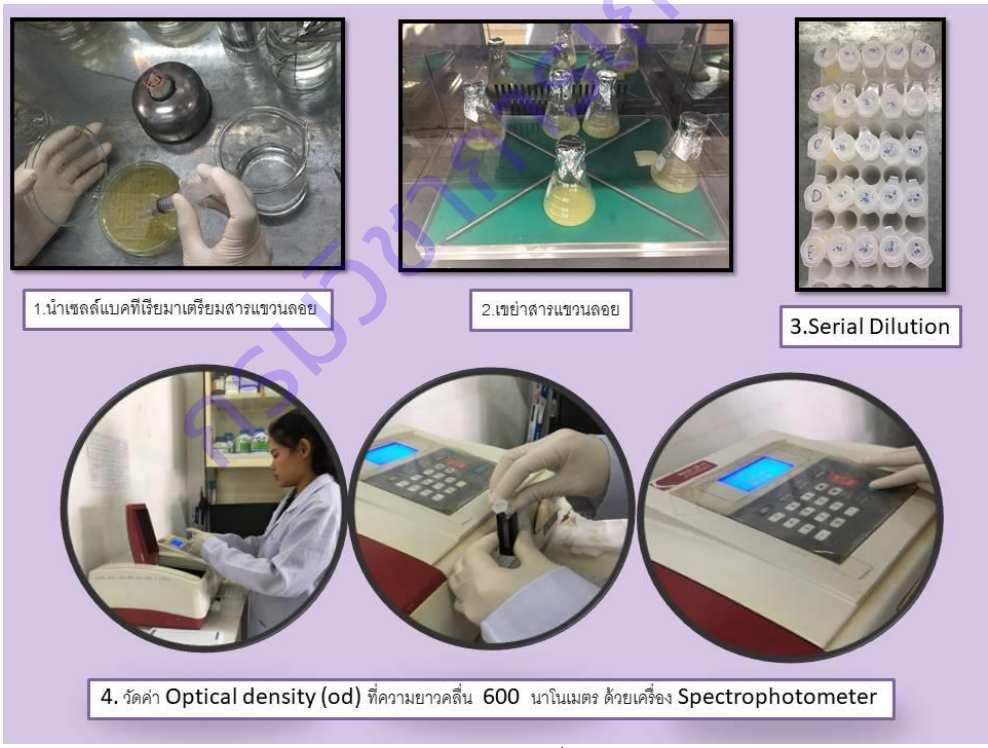
กรมวิชาการเกษตร

C4	✓					✓					✓					
C5	✓					✓					✓					
D1	✓						✓					✓				
D2				✓					✓					✓		ต้นตาย
D3			✓					✓					✓			ยอดตายต้นตาย
D4	✓					✓					✓					พบรา
D5	✓					✓					✓					พบรา
E1			✓					✓							✓	ต้นตาย
E2	✓						✓					✓				
E3	✓					✓					✓					
E4	✓					✓					✓					
E5	✓								✓					✓		
W1	✓					✓					✓					Control น้ำ
W2	✓					✓					✓					Control น้ำ
W3	✓					✓					✓					Control น้ำ
W4	✓					✓					✓					Control น้ำ
W5	✓					✓					✓					Control น้ำ

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 5.2.10 เชื้อแบคทีเรีย*Xanthomonas*sp ใน Nutrient Agar (na)



ภาพแสดงการหาค่า Optical density (od) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer

ตารางที่ 5.2.15 ปริมาณเชื้อโรคใบขาวในใบอ้อยที่ทดสอบการปลูกเชื้อตรวจด้วย nested-PCR และ secA

จำนวนตัวอย่าง	ตัวอย่าง	PCR Product	ปริมาณเชื้อก่อนการปลูกเชื้อ

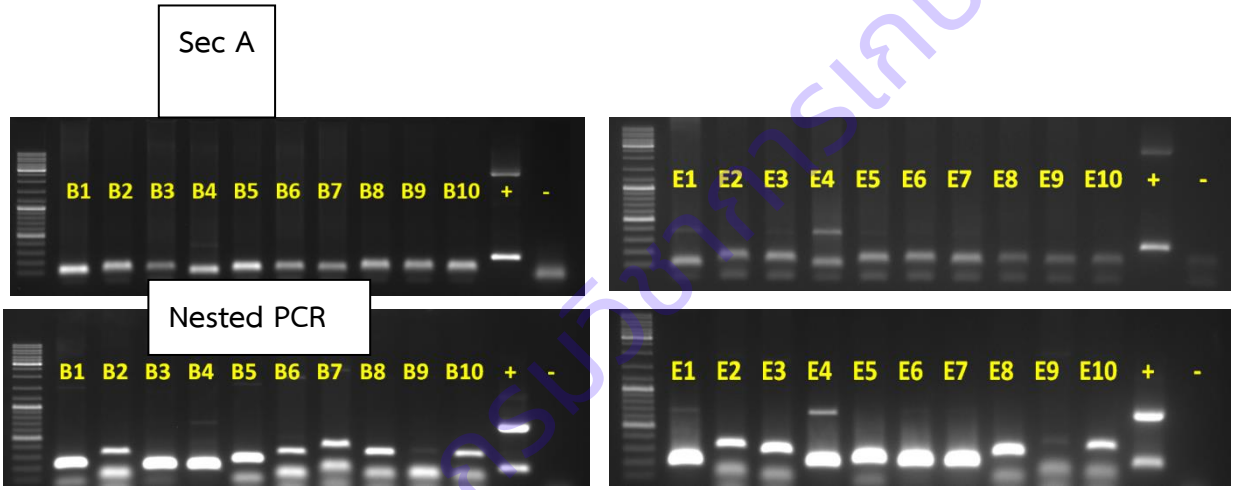
		700 bp	210 bp	SecA	copy/ul in 25 ng plant DNA
60	ใบ				
	A1	-	4+	+/-	<10
	A2	0.5+	4+	?	10
	A3	-	4+?	+/-	>0.5
	A4	-	?	+/-	>0.5
	A5	-	4+	+/-	<10
	A6	-	1+	+/-	>0.5
	A7	-	2+?	0.5+	>0.5
	A8	-	4+	+/-	<10
	A9	-	0.5+?	+/-	>0.5
	A10	-	1+?	+/-	>0.5
	B1	-	4+	+/-	<10
	B2	-	2+?	+/-	>0.5
	B3	-	4+	+/-	<10
	B4	0.5+	4+	?	10
	B5	-	4+?	+/-	>0.5
	B6	-	2+?	+/-	>0.5
	B7	-	3+?	+/-	>0.5
	B8	-	3+?	+/-	>0.5
	B9	-	0.5+?	+/-	>0.5
	B10	-	2+?	+/-	>0.5
	C1	-	4+?	+/-	>0.5
	C2	0.5+	4+	?	10
	C3	-	4+	+/-	<10
	C4	-	2+?	+/-	>0.5
	C5	-	4+?	+/-	>0.5

กรมวิชาการเกษตร

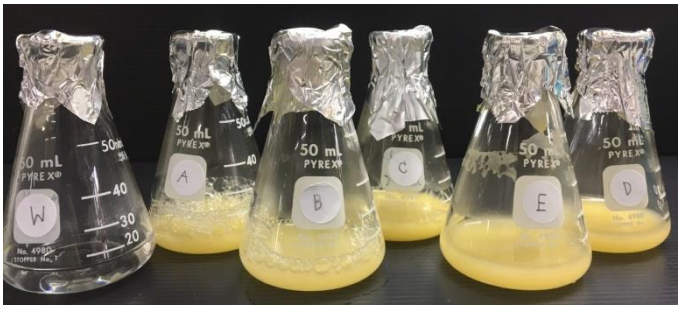
	C6	-	4+	+/-	<10
	C7	-	1+?	+/-	>0.5
	C8	0.5+	4+	?	10
	C9	<0.5+	4+	+/-	10
	C10	-	4+	+/-	<10
	D1	-	1+?	+/-	>0.5
	D2	-	4+?	+/-	>0.5
	D3	-	+/-	+/-	<0.5
	D4	-	3+?	+/-	>0.5
	D5	-	3+?	+/-	>0.5
	D6	-	4+?	+/-	>0.5
	D7	-	2+?	+/-	>0.5
	D8	<0.5+	4+	+/-	10
	D9	-	1+?	+/-	>0.5
	D10	-	4+?	+/-	>0.5
	E1	1+	4+	0.5+?	10
	E2	-	3+?	<0.5+?	>0.5
	E3	-	4+?	0.5+?	>0.5
	E4	2+	4+	1+?	100
	E5	-	4+	<0.5+?	<10
	E6	-	4+	<0.5+?	<10
	E7	-	4+	<0.5+?	<10
	E8	-	4+?	+/-	>0.5
	E9	-	0.5+?	+/-	>0.5
	E10	-	3+?	+/-	>0.5
	W1	<0.5+	4+	+/-	10
	W2	-	4+?	+/-	>0.5

กรมวิชาการเกษตร

	W3	-	<0.5+?	+/-	>0.5
	W4	-	4+?	+/-	>0.5
	W5	-	4+?	+/-	>0.5
	W6	-	4+?	+/-	>0.5
	W7	-	3+?	+/-	>0.5
	W8	-	<0.5+?	+/-	>0.5
	W9	-	4+?	+/-	>0.5
	W10	-	4+?	+/-	>0.5
positive	ใบขาว	++++	+	+	



ภาพที่ 5.2.11 แถบดีเอ็นเอแสดงการปนเปื้อนเชื้ออื่นในผลการตรวจโรคใบขาวอ้อยด้วย secA gene และ nested-PCR ยีนเป้าหมาย 16s-23s rDNA ในตัวอย่างชุด B และ E



ภาพเชื้อแบคทีเรีย

Xanthomonas sp. ในรูปสารแขวนลอย

ภาพการปลูกเชื้อเข้าต้นอ้อย ด้วยวิธีการตัดใบ

4.การบันทึกผลการทดสอบ

บันทึกผลทุก 1 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 2 เดือน

โดยการประเมินโรค 5 ระดับ ตามวิธีของ Andres Felipe Gutierrez Viveros

1	=	ไม่ปรากฏอาการ
3	=	ปรากฏอาการ 1-2 ขีดเหลือง
5	=	ปรากฏอาการ 2 ขีดเหลือง
7	=	ปรากฏอาการเนื้อเยื่อตาย
9	=	ต้นตาย

กรมวิชาการเกษตร

ภาพต้นอ้อยหลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ 5.2.16 บันทึกระดับความรุนแรงของโรคใบลวกที่ใบของต้นอ่อนอ้อยที่เป็นโรคใบขาว**หลังการปลูกเชื้อ** ***Xanthomonas sp.***ระหว่างสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4

	Wk1					Wk2					Wk3					Wk4				
ระดับความรุนแรงของโรค	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9
isolate A																				

1	✓					✓					✓					✓			
2	✓					✓					✓					✓			
3	✓					✓						✓					✓		
4	✓					✓					✓					✓			
5	✓					✓						✓					✓		
6	✓					✓					✓					✓			
7	✓						✓						✓					✓	
8	✓					✓						✓					✓		
9	✓					✓					✓					✓			
10	✓					✓					✓					✓			
isolate B																			
1	✓						✓					✓					✓		
2	✓					✓					✓					✓			
3	✓						✓					✓					✓		
4	✓						✓					✓					✓		
5	✓						✓					✓					✓		
6	✓						✓						✓					✓	
7	✓					✓					✓					✓			
8	✓						✓						✓					✓	
9	✓					✓					✓					✓			
10	✓						✓					✓					✓		
Isolate C																			
1	✓						✓						✓					✓	
2	✓					✓					✓					✓			
3	✓						✓						✓					✓	
4	✓					✓					✓					✓			
5	✓					✓					✓					✓			

กรมวิชาการเกษตร

6	✓					✓					✓					✓				
7	✓					✓					✓					✓				
8	✓						✓					✓					✓			
9	✓						✓						✓					✓		
10	✓					✓					✓					✓				
Isolate D																				
1	✓						✓						✓					✓		
2	✓					✓					✓					✓				
3	✓						✓						✓					✓		
4	✓					✓					✓					✓				
5	✓					✓					✓					✓				
6	✓					✓					✓					✓				
7	✓					✓					✓					✓				
8	✓						✓					✓					✓			
9	✓						✓						✓					✓		
10	✓					✓					✓					✓				
Isolate E																				
1	✓						✓					✓					✓			
2	✓						✓					✓					✓			
3	✓					✓					✓					✓				
4	✓					✓					✓					✓				
5	✓					✓					✓					✓				
6	✓						✓						✓					✓		
7	✓					✓					✓					✓				
8	✓						✓					✓					✓			
9	✓					✓					✓					✓				
10	✓						✓					✓					✓			

กรมวิชาการเกษตร

W control																				
1	✓					✓					✓					✓				
2	✓					✓					✓					✓				
3	✓					✓					✓					✓				
4	✓					✓					✓					✓				
5	✓					✓					✓					✓				
6	✓					✓					✓					✓				
7	✓					✓					✓					✓				
8	✓					✓					✓					✓				
9	✓					✓					✓					✓				
10	✓					✓					✓					✓				

มีลักษณะอาการของการเข้าทำลายดังแสดงในภาพที่ 5.2.12

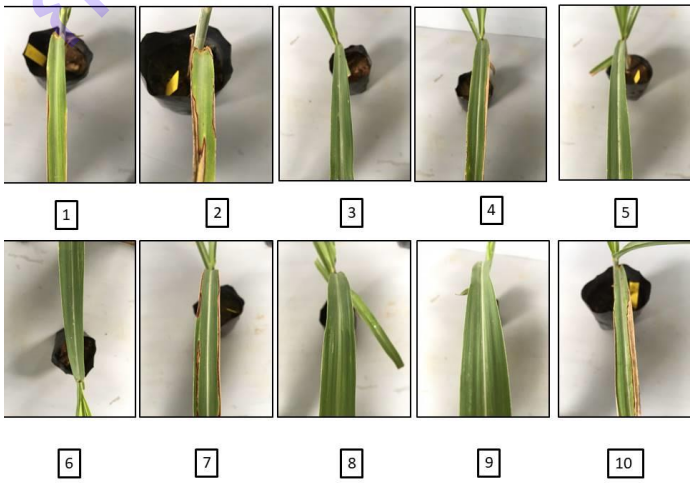
ISOLATE A

ISOLATE B

ศูนย์วิทยทรัพยากร

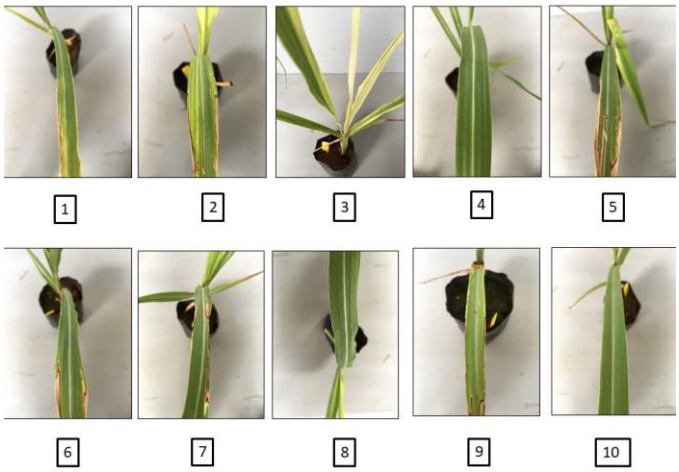
ISOLATE C

ISOLATE D



ISOLATE E

กรมวิชาการเกษตร



W (CONTROL)

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 5.2.12 การทำลายของเชื้อใบลวกที่ใบอ้อยในต้นที่ทดสอบการปลูกเชื้อใบลวก isolate A, B, C, D และ E

ตารางที่ 5.2.17ปริมาณเชื้อโรคใบขาวในใบอ้อยหลังการปลูกเชื้อโรคใบลวก ตรวจด้วย nested-PCR และ secA

isolate	Isolate /ต้นที่	PCR Product			ปริมาณเชื้อ copy/ul in 25 ng plant DNA		ระดับความรุนแรงของโรคที่สัปดาห์ 4**				
		Nested-PCR		SecA	ก่อนการปลูกเชื้อ*	หลังการปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์	1	3	5	7	9
		700 bp	210 bp	275 bp							
A	A1		+/-	+/-	<10	<0.5					
	A2	-	+/-	+/-	10	<0.5					

	A3	-	+/-	+/-	>0.5	<0.5					
	A4	-	1+	+/-	>0.5	>0.5					
	A5	1+	4+	3+	<10	10					
	A6	-	4+	+/-	>0.5	<10					
	A7	-	4+	+/-	>0.5	<10					
	A8	-	2+	+/-	<10	>0.5					
	A9	0.5+	4+	1+	>0.5	10					
	A10	-	+/-	+/-	>0.5	<0.5					
B	B1	-	+/-	+/-	<10	<0.5					
	B2	-	+/-	2+	>0.5	>0.5					
	B3	-	2+	4+	<10	<10					
	B4	-	4+	4+	10	<10					
	B5	-	4+	<0.5+	>0.5	<10					
	B6	-	4+	<0.5+	>0.5	<10					
	B7	-	4+	+/-	>0.5	<10					
	B8	-	4+	+/-	>0.5	<10					
	B9	-	0.5+	+/-	>0.5	>0.5					
	B10	-	+/-	+/-	>0.5	<0.5					
C	C1	-	+/-	+/-	>0.5	<0.5					
	C2	-	2+	4+	10	>0.5					
	C3	-	+/-	2+	<10	>0.5					
	C4	-	+/-	1+	>0.5	>0.5					
	C5	0.5+	4+	4+	>0.5	10					
	C6	2+	4+	4+	<10	100					
	C7	-	4+	+/-	>0.5	<10					
	C8	-	+/-	+/-	10	<0.5					

กรมวิชาการเกษตร

	C9	2+	3+	2+	10	100					
	C10	2+	3+	2+	<10	100					
D	D1	-	+/-	0.5+	>0.5	<0.5					
	D2	-	+/-	1+	>0.5	<0.5					
	D3	-	+/-	1+	<0.5	<0.5					
	D4	-	4+	4+	>0.5	<10					
	D5	-	+/-	?	>0.5	<0.5					
	D6	-	4+	<0.5+	>0.5	<10					
	D7	-	4+	<0.5+	>0.5	<10					
	D8	-	1+	<0.5+	10	>0.5					
	D9	-	4+	<0.5+	>0.5	<10					
	D10	-	4+	+/-	>0.5	<10					
E	E1	-	2+	1+?	10	>0.5					
	E2	-	+/-	0.5+	>0.5	>0.5					
	E3	-	2+	4+	>0.5	>0.5					
	E4	-	4+	2+	100	<10					
	E5	2+	4+	4+	<10	100					
	E6	-	1+?	?	<10	>0.5					
	E7	1+	4+	4+	<10	10					
	E8	-	+/-	+/-	>0.5	<0.5					
	E9	-	4+	+/-	>0.5	<10					
	E10	2+	2+	2+	>0.5	100					
control	W1	?	2+	4+	10	100?					
	W2	-	+/-	+/-	>0.5	<0.5					
	W3	-	+/-	+/-	>0.5	<0.5					
	W4	-	4+	1+	>0.5	<10					

ศูนย์วิทยทรัพยากร

	W5	-	4+	2+	>0.5	<10					
	W6	-	3+	+/-	>0.5	1					
	W7	-	4+	+/-	>0.5	<10					
	W8	-	4+	+/-	>0.5	<10					
	W9	-	4+	0.5+	>0.5	<10					
	W10	-	<0.5+	+/-	>0.5	<0.5					
positive	ใบขาว	++++	+	+							

*** ข้อมูลจาก**ตารางที่ 5.2.15 ****ข้อมูลจากตารางที่ 5.2.16**

ตารางที่ 5.2.18 บันทึกระดับความรุนแรงของโรคใบลวกที่ใบของต้นอ่อนอ้อยที่เป็นโรคใบขาว**หลังการปลูกเชื้อ *Xanthomonas sp.*** ระหว่างสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4

	Wk1					Wk2					Wk3					Wk4				
ระดับความรุนแรงของโรค	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9
isolate A																				
1		✓																		
2		✓																		
3		✓																		
4	✓																			
5		✓																		
6	✓																			
7		✓																		
isolate B																				
1		✓																		

กรมวิชาการเกษตร

2		✓																		
3																				
4		✓																		
5	✓		✓*																	
6	✓		✓*																	
7		✓																		
	*มด																			

Isolate C

1		✓																		
2		✓																		
3			✓																	
4		✓*																		
5	✓																			
6	✓																			
7		✓																		
	*ใบขาว																			

Isolate D

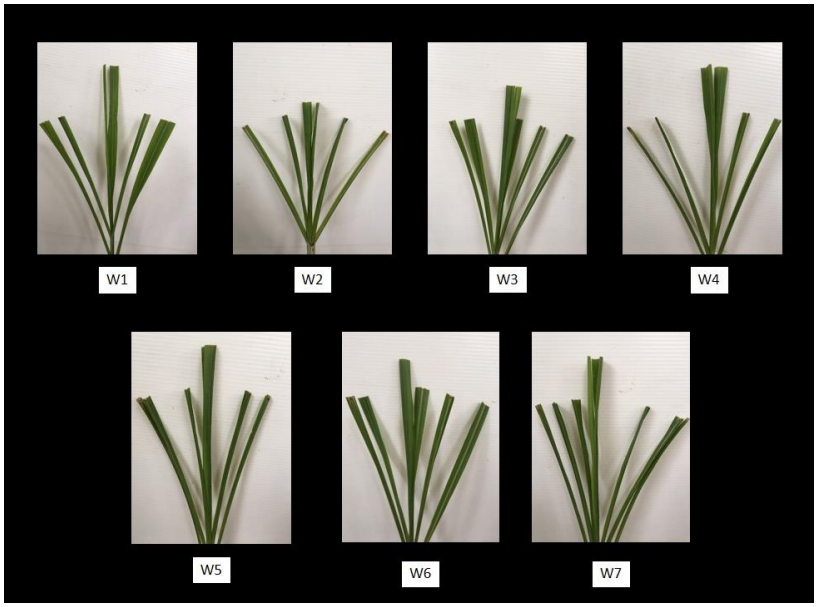
1	✓																			
2		✓																		
3	✓																			
4	✓																			
5		✓*																		
6	✓																			
7	✓																			
	*เชื้อรา																			

Isolate E

ศูนย์วิทยทรัพยากร

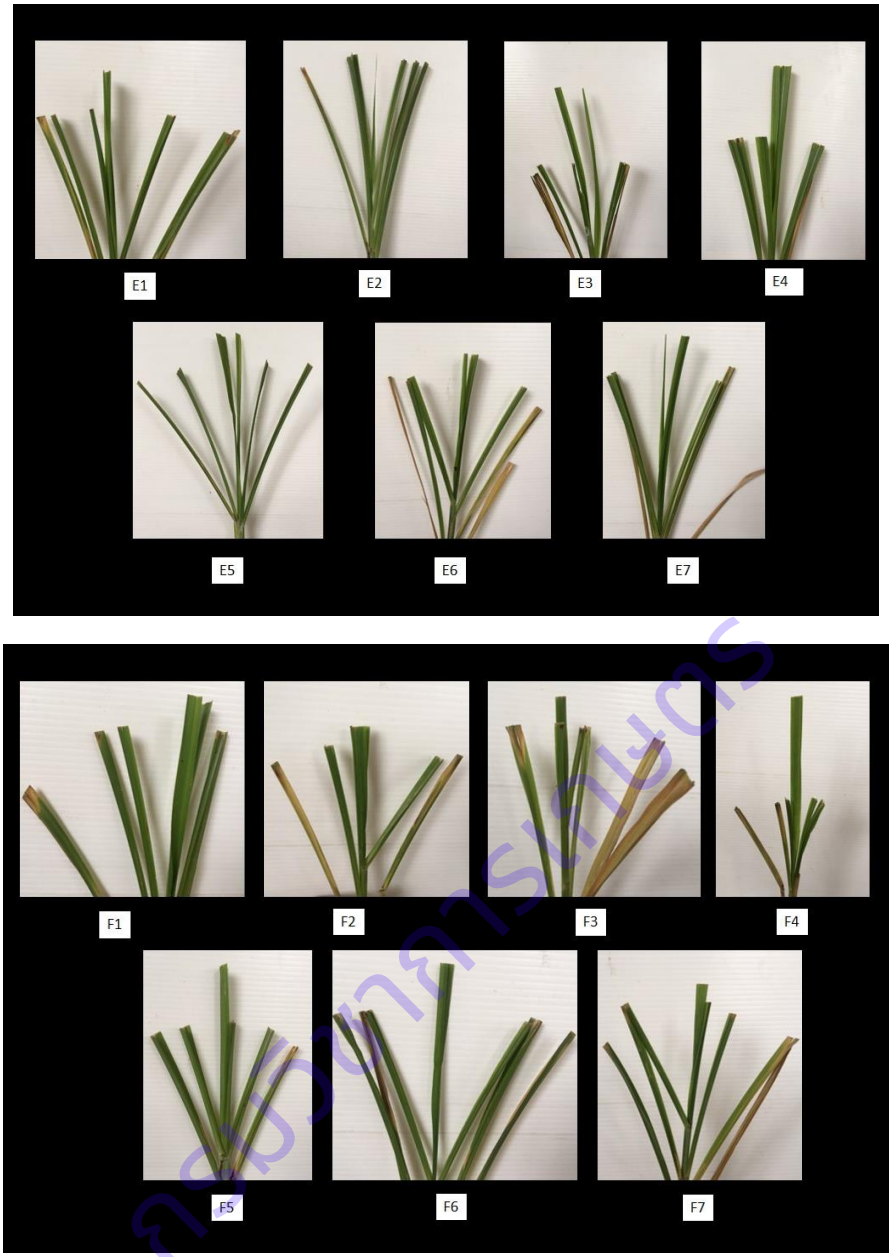
1		✓																		
2		✓																		
3		✓																		
4		✓																		
5	✓																			
6		✓																		
7		✓																		
Isolate F																				
1		✓*																		
2			✓*																	
3			✓*																	
4		✓																		
5		✓																		
6		✓																		
7			✓*																	
*มด																				
W control																				
1	✓																			
2	✓																			
3	✓																			
4	✓																			
5	✓																			
6	✓																			
7	✓																			

กรมวิทยาศาสตร



กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 5.2.13 การทำลายของเชื้อใบลวกที่ใบอ้อยในต้นที่ทดสอบการปลูกเชื้อใบลวก isolate A, B, C, D, E , F และ W (control) 7 ซ้ำต่อ isolate

หมายเหตุ

รูปแบบ :

- หัวเรื่องข้อ 1-13 : ตัวอักษร TH SarabunPSK ขนาด 16 Point ตัวหนา
- เนื้อหา : ตัวอักษร TH SarabunPSK ขนาด 16 Point ตัวธรรมดา
- Page Setup : ด้านบน 2.5 ซม. ด้านซ้าย 2.5 ซม. ด้านขวา 2 ซม. ด้านล่าง 2.5 ซม.
- ขนาด A4 โดยใช้ Program Microsoft Word

* ให้แนบไฟล์รูปภาพประกอบด้วย เพื่อนำไปจัดทำรูปเล่มต่อไป

กรมวิชาการเกษตร