รายงานโครงการวิจัย

วิจัยการบริหารจัดการศัตรูอ้อย

Sugarcane Pest Management

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นางสาวสุนี ศรีสิงห์

Miss Sunee Srisink

ปี พ.ศ. 2558

สารบัญ **หน้า**

กิตติกรรมประกาศ 3

ผู้วิจัย 4

บทนำ 5

บทคัดย่อ 8

กิจกรรมที่ 1 การเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการวัชพืชในอ้อยเพื่อลดต้นทุนการผลิต 10

1.1 ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก (pre-emergence) ในอ้อยปลูกใหม่ 13

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก (post-emergence) ในอ้อยปลูกใหม่และอ้อยตอ 13

1.3 ศึกษาการจัดการวัชพืชประเภทเถาเลื้อยในอ้อย 13

1.4 การจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไร่อ้อยเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 14

1.5 สถานการณ์การระบาดและการจัดการปัญหาวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชในอ้อย 14

กิจกรรมที่ 2 วิจัยและพัฒนาวิธีการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูอ้อย 41

2.1 การสำรวจแมลงศัตรูอ้อยในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 42

2.2 การศึกษาความเสียหายของผลผลิตอ้อยเนื่องจากแมลงนูนหลวงในไร่อ้อยในพื้นที่ภาคตะวันตก 43

กิจกรรมที่ 3 การจัดการโรคใบขาวแบบผสมผสาน 54

3.1 การวิจัยด้านการชีววิทยาของเชื้อสาเหตุและการตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคใบขาวอ้อย 64

3.2 การป้องกันกำจัดโรคใบขาวอ้อย 65

3.3 การผลิตท่อนพันธุ์อ้อยจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยปลอดโรค 70

3.4 การศึกษาการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของแมลงพาหะโรคใบขาวของอ้อย 71

บทสรุปและข้อเสนอแนะ 115

เอกสารอ้างอิง 116

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยการบริหารจัดการศัตรูอ้อยได้รับความร่วมมือ การสนับสนุน และอำนวยความสะดวก ในการปฏิบัติงานจากนักวิชาการ เจ้าพนักงาน ตลอดจนผู้อำนวยการ สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น และสถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน ตลอดจนเกษตรกร ในพื้นที่จังหวัด สุพรรณบุรี ราชบุรี และกาญจนบุรี เป็นอย่างดี

ผู้วิจัย

สุนี ศรีสิงห์	สิริชัย สาธุวิจารณ์	ยุรวรรณ อนันตนมณี
Sunee Srisink	Sirichai Sathuwijarn	Yurawan Anantanamanee
จรรยา มณีโชติ	วันทนา เลิศศิริวรกุล	อิสระ พุทธสิมมา
Chanya Maneechote	Wantana Lertsirivorakul	Issara Buddhasimma
ดารารัตน์ มณีจันทร์	อมรา ไตรศิริ	ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล
Dararat Maneechan	Amara Traisiri	Suchirat Sakuanrungsirikul
กาญจนา กิระศักดิ์	นิลุบล ทวีกุล	ภาคภูมิ ถิ่นคำ
Kanjana Kirasak	Nilubon Taweekul	Parkpoom Thinkum
อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว	อรทัย วรสุทธิ์พิศาล	ทักษิณา ศันสยะวิชัย
Amonrat Kitjaideaw	Orrata i Varasutpaisan	Taksina Sansayawichai

คำสำคัญ (Key words)

อ้อย วัชพืช วัชพืชต้านทาน แมลงศัตรูอ้อย แมลงนูนหลวงอ้อย โรคใบขาวอ้อย

บทนำ

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีการส่งออกน้ำตาลเป็นอันดับสองของโลก รองจากประเทศบราซิล ปี 2555/56 มีปริมาณอ้อยที่เข้าหีบถึง 99.16 ล้านตัน (รายงานการผลิตอ้อย และน้ำตาลทรายของโรงงานน้ำตาลทั่วประเทศ ณ วันที่ 18 เมษายน 2556 จาก www.oscb.go.th) ความหวานเฉลี่ย 11.64 CCS และการผลิตน้ำตาลเฉลี่ย 100.37 กิโลกรัมต่อตันอ้อย ตั้งแต่ปีการผลิต 2551/52 จนถึงปีการผลิต 2554/55 พื้นที่ปลูกอ้อย เพิ่มขึ้นจาก 6.59 เป็น 8.05 ล้านไร่ และผลผลิตเข้าสู่โรงงานเพิ่มจาก 73.502 ล้านตันในปี 2551

แม้ผลผลิตเฉลี่ยของไทยจะได้ถึง 12.2 ตันต่อไร่ตามยุทธศาสตร์อ้อยปี 2552 เมื่อเปรียบเทียบศักยภาพการผลิตอ้อยของประเทศอื่นๆ เช่นบราซิล ออสเตรเลีย และฟิลิปปินส์ ซึ่งผลผลิตเฉลี่ยอยู่ที่ 12.67 12.43 และ 14.99 ตันต่อไร่ ตามลำดับ ประเทศเหล่านี้มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่าประเทศไทย เนื่องจากสามารถไว้ตอได้มากกว่า 5 ปี ในขณะที่การปลูกอ้อยของไทยเฉลี่ยไว้ตอได้เพียง 1 ตอ หรือต้องปลูกใหม่ทุก2 ปี เนื่องจากมีศัตรูพืชหลายชนิดที่ทำให้ต้องรื้อตอปลูกใหม่จึงจะให้ผลผลิตที่คุ้มค่า

ศัตรูอ้อยครอบคลุมถึงโรคอ้อย แมลงศัตรูอ้อย และวัชพืช ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญต่อต้นทุนการผลิต ความเสียหายเนื่องจากวัชพืชมักจะเห็นได้อย่างชัดเจน โดยจะเสียผลผลิตอ้อยประมาณ 25-80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งขึ้นอยู่กับความหนาแน่นและช่วงเวลาการเบียดเบียนของวัชพืชในไร่อ้อย (เกลียวพันธ์, 2546) นอกจากนี้วัชพืชยังเป็นแหล่งอาศัยของแมลงศัตรู และเป็นพาหะของโรคที่สำคัญเช่นโรคใบขาวได้ ความเสียหายที่เกิดเนื่องจากหนอนเจาะลำต้น ด้วงหนวดยาว และแมลงนูนหลวงอาจถึง 50% หรือไม่ได้ผลผลิตเลยโดยเฉพาะในอ้อยตอ ศัตรูอ้อยปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น จากการสำรวจ พื้นที่ปลูกอ้อยบางแห่งของจังหวัดนครสวรรค์ สุพรรณบุรี และกาญจนบุรี พบว่า มีการระบาดของมันเถา ซึ่งเป็นวัชพืชเถาเลื้อย มีหัวอยู่ใต้ดิน เถาแข็ง และใบมีไขปกคลุมหนา ทำให้ประสิทธิภาพของการใช้สารกำจัดวัชพืชลดลง ส่งผลให้อ้อยถูกปกคลุม ผลผลิตลดลง และยากต่อการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ยังพบแมลงศัตรูอ้อยที่พบใหม่ในช่วงปี 2546-2550 ได้แก่ หนอนกอลายแถบแดง พบระบาดในจังหวัดนครสวรรค์ เป็นหนอนกอชนิดใหม่มีชื่อว่า *Chio sacchariphagus stramineelus* (Caradja) และเพลี้ยจักจั่นงวง *Pyrilla perpusilla* เข้าทำลายอ้อยที่จังหวัดสุโขทัยและสระแก้ว(กรมวิชาการเกษตร, 2552)

ในปี 2552/53 พบการระบาดของแมลงนูนหลวงอ้อย (*Lepidiota stigma* Fabricius) เข้าทำลายอ้อยในพื้นที่ อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี และอำเภอด่านมะขามเตี้ย จังหวัดกาญจนบุรี มากกว่า 35,000 ไร่ เป็นพื้นที่ระบาดสะสมอย่างต่อเนื่องและรุนแรงเพิ่มขึ้นเป็นเวลานาน เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม คือ สภาพดินทรายถึงร่วนปนทราย ปัญหาภัยแล้ง ฝนทิ้งช่วงเป็นเวลานาน รวมถึงการจัดการของเกษตรกรในการป้องกันกำจัดแมลงนูนหลวงยังไม่ถูกวิธี แมลงนูนหลวง เป็นศัตรูที่สำคัญของอ้อยและมันสำปะหลัง พบระบาดมากในสภาพดินทรายถึงดินร่วนปนทราย และมีอินทรียวัตถุต่ำ (0.56-0.84 เปอร์เซ็นต์) การเข้าทำลายอ้อยของหนอนแมลงนูนหลวงพบเป็นหย่อมไม่แพร่กระจายไปทั้งไร่ กออ้อยที่ถูกหนอนของแมลงนูนหลวงเข้าทำลายเพียงหนึ่งตัวต่อกอจะทำให้อ้อยตายทั้งกอได้ ทำให้ผลผลิตของอ้อยลดลงจนเก็บผลผลิตไม่ได้ จากการศึกษาเกี่ยวกับแมลงนูนหลวงในประเทศไทยพบว่ามีวงจรชีวิต 1 ปี และมี 1 รุ่นต่อปี (ณัฐกฤต, 2544)

ส่วนโรคอ้อยที่ทำให้ เกิดความเสียหายรุนแรงอย่างเห็นได้ชัดคือ โรคเน่าแดง หรือ เหี่ยวเน่าแดง แต่ก็มีวิธีการที่สามารถควบคุมได้อย่างได้ผล คือ การใช้พันธุ์ต้านทาน ซึ่งพันธุ์ส่วนใหญ่ของกรมวิชาการเกษตรมักจะเป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรค ในขณะที่โรคใบขาวยังเป็นโรคที่สำคัญที่สุดของอ้อย ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีพันธุ์ต้านทาน ทำความเสียหายได้มาก เมื่อใช้ท่อนพันธุ์ที่เป็นโรคไปปลูกต่อ ในปี 2554 โรคใบขาวระบาดทั่วประเทศ แม้แต่ในพื้นที่ภาคตะวันตกซึ่งพบโรคค่อนข้างอยู่ในวงจำกัด พื้นที่ระบาดที่เพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากในปี 2553 เกษตรกรปลูกอ้อยในช่วงฤดูฝนมาก และปี2554 มีฝนตกชุกในช่วงฤดูเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะในแปลงที่ตัดอ้อยล่า จะพบโรคใบขาวทั่วไป เกษตรกรรายเล็กไม่สามารถหาพันธุ์อ้อยที่สะอาดได้จึงใช้พันธุ์ในพื้นที่ ซึ่งจะทำให้โรคระบาดรุนแรงต่อไป เกษตรกรมักเข้าใจผิดว่า โรคนี้สามารถหายได้เอง ทำให้ละเลยจนบางครั้งต้องทิ้งแปลง หรือไม่สามารถไว้ตอได้ ซึ่งเท่ากับเสียโอกาสลดต้นทุนการผลิต

แม้ว่า ในช่วงที่ผ่านมาจะมีงานวิจัยเรื่องโรคใบขาวมาก แต่ยังไม่สามารถควบคุมการระบาดของโรคได้ เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่ยังไม่ตระหนักถึงความเสียหายเนื่องจากโรคนี้ เพราะในบางปีที่มีฝนชุก โรคนี้จะพบน้อยเนื่องจากอ้อยเจริญเติบโตได้ดีทำให้ไม่เห็นอาการใบขาว และอ้อยสามารถให้ผลผลิตได้ เกษตรกรเข้าใจว่าโรคนี้หายได้เอง ในขณะที่บางปีแปลงที่เป็นโรคไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เลย แต่เกษตรกรไม่รื้อแปลงทิ้ง เนื่องจากเป็นการเพิ่มต้นทุน เท่ากับเป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรคต่อไปดังนั้นโรคใบขาวจึงเป็นปัญหาที่เรื้อรัง

ผลผลิตของงานวิจัยที่ผ่านมาคือ การผลิตท่อนพันธุ์อ้อยปลอดโรคได้ และการตรวจสอบการติดเชื้อในท่อนพันธุ์ แต่ยังคงเป็นวิธีมีราคาแพง และเนื่องจากเราไม่สามารถกำจัดเชื้อใบขาวให้หมดไปได้ จึงมีการทดสอบเพิ่มธาตุอาหารให้กับอ้อยที่ติดเชื้อ มีแนวโน้มที่จะได้ผลผลิตอ้อยตามเดิม (กอบเกียรติ์, 2552) ซึ่งจะต้องศึกษาต่อในรอบวิจัยนี้ต่อไป เช่นเดียวกับ การถ่ายทอดโรคโดยแมลงพาหะ ที่มีความสำคัญเท่ากับการแพร่ระบาดของโรคโดยทางท่อนพันธุ์ ที่ยังต้องศึกษาถึงวงจรชีวิตบนอ้อยพันธุ์ดี ที่อาจมีแนวโน้มต้านทานโรคได้ต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อทราบสถานการณ์การแพร่ระบาดของชนิดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืชในไร่อ้อย หาวิธีการจัดการวัชพืชในไร่อ้อย และระบบการจัดการวัชพืชในไร่อ้อยที่มีประสิทธิภาพ
2. เพื่อหาวิธีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอ้อยแบบบูรณาการในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และลดการสูญเสียผลผลิตอ้อยจากการทำลายของแมลงนูนหลวงและด้วงหนวดยาวในพื้นที่ปลูกอ้อยภาคตะวันตก
3. เพื่อหาวิธีการจัดการโรคใบขาวอ้อยแบบผสมผสาน

การวิจัย ประกอบด้วย 3 กิจกรรมตามจำพวกของศัตรูอ้อยคือ

กิจกรรมที่ 1 การเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการวัชพืชในอ้อยเพื่อลดต้นทุนการผลิต

กิจกรรมที่ 2 วิจัยและพัฒนาวิธีการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูอ้อย

กิจกรรมที่ 3 การจัดการโรคใบขาวแบบผสมผสาน

ในกิจกรรมที่ 1 เป็นการค้นหาสารเคมีกำจัดวัชพืชชนิดใหม่เพื่อให้เกษตรกรเป็นทางเลือกในการป้องกันกำจัดวัชพืชทั้งก่อนงอกและหลังงอก เพื่อให้ได้ใช้สารเคมีอย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งหาวิธีการลดการใช้สารเคมี ระบบการจัดการวัชพืชในดินร่วนและร่วนทราย ท้ายที่สุดมีการศึกษาสถานการณ์การแพร่ระบาดของชนิดวัชพืช และการใช้สารกำจัดวัชพืชในไร่อ้อย

ในกรรมที่ 2 การวิจัยประกอบด้วยการกำหนดพื้นที่และกลุ่มเป้าหมายหลักด้วยระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ จากนั้นทำการสำรวจและรวบรวมข้อมูลการระบาดและความเสียหายของอ้อยจากการเข้าทำลายของแมลงศัตรู มีการจัดทำแผนที่การระบาดและศึกษาสภาพพื้นที่และพฤติกรรมการป้องกันกำจัดแมลงของเกษตรกร รวมทั้งสภาวะเศรษฐกิจและสังคมเพื่อเป็นข้อมูลในการวางแผนการทดลองวิธีการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูอ้อยที่สำคัญแบบบูรณาการ ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วนในพื้นที่ภาคตะวันตกเป็นการแก้ปัญหาการระบาดของแมลงนูนหลวงและด้วงหนวดยาวและการสูญเสียผลผลิตอ้อยจากการทำลายของแมลงศัตรูดังกล่าว ด้วยวิธีการที่มีอยู่ในปัจจุบันและการศึกษาการป้องกันกำจัดให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

ในกิจกรรมที่ 3 การจัดการโรคใบขาวแบบผสมผสาน เป็นการวิจัยตั้งแต่การทดสอบพันธุ์อ้อยเพื่อค้นหาพันธุ์ที่อาจมีแนวโน้มในการต้านทานแมลงพาหะนำโรคใบขาวเพื่อทดแทนพันธุ์อ้อยที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน และพัฒนาวิธีการคัดเลือกพันธุ์ให้มีความต้านทานต่อโรคหรือศึกษาพืชอาศัยอื่นๆ นอกจากอ้อยด้วยวิธีการอื่นนอกจากการใช้แมลงพาหะที่ต้องใช้เวลาและความยุ่งยากในการเพิ่มปริมาณแมลง ในขณะเดียวกันก็จะหาวิธีที่จะลดความเสียหายจากโรค โดยการผลิตอ้อยให้ปลอดจากโรคและวิจัยหาวิธีการตรวจสอบพันธุ์อ้อยให้สะอาดปราศจากโรค และพัฒนาการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารให้พืชที่อาจติดโรค สามารถให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น และสามารถคงอยู่ได้ถึงตอ 2 ได้ ซึ่งจะเป็นการลดต้นทุนการผลิตอ้อยและทำให้อุตสาหกรรมอ้อยยั่งยืน

บทคัดย่อ

โครงการเริ่มดำเนินงานตั้งแต่ปี 2554- 2558 ประกอบด้วย 3 กิจกรรมหลักตามประเภทของศัตรูอ้อยที่สำคัญ คือ กิจกรรมด้านการจัดการวัชพืช การจัดการด้านแมลงศัตรูอ้อยแบบผสมผสาน และการจัดการโรคใบขาว ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญของอ้อย

ทำการทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชทั้งก่อนงอก หลังงอก และประเภทเถาเลื้อย ในพื้นที่ปลูกอ้อย 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ระยอง และนครสวรรค์ พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่นำมาทดสอบส่วนใหญ่สามารถควบคุมวัชพืชในไร่อ้อยค่อนข้างดี แม้มีปัญหาเป็นพิษในช่วงแรกแต่สามารถใช้ได้ และจากการสำรวจวัชพืชทั้งในภาคกลาง 44 แปลงและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 55 แปลง จากตัวอย่างจำนวน 158 ประชากรยังไม่พบว่ามีวัชพืชต้านทานสารเคมีแต่อย่างใด การป้องกันกำจัดวัชพืชแบบผสมผสานในพื้นปลูกอ้อยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในดินร่วนทรายการปลูกพืชคลุมดินจะทำให้มีปริมาณวัชพืชลดลง แต่ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงเมื่อใช้ถั่วขอปลูกเป็นพืชคลุมดินและกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามทำให้ได้ผลผลิตอ้อยสูงสุด และให้กำไรสูงกว่าการไม่ปลูกพืชคลุมดิน ส่วนในดินร่วนการไม่ปลูกพืชแซมจะทำให้ผลผลิตอ้อยปลูกและอ้อยตอรวมกันเพิ่มขึ้น และให้ผลกำไรสูงสุด

ในกิจกรรมวิจัยและพัฒนาวิธีการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูอ้อยที่สำคัญ ทำการสำรวจแมลงในพื้นที่ปลูกอ้อยภาคตะวันออกเฉียงเหนือตั้งแต่ปี 2554-2556 พบว่าแมลงอ้อยที่สำคัญคือหนอนกอลายจุดเล็ก และหนอนกอลายใหญ่ การแพร่ระบาดของแมลงความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญ โดยความชื้นที่ระดับ 70% ขึ้นไปหนอนกอลายจุดใหญ่จะมีการทำลายมากที่สุด ส่วนในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตกแมลงนูนหลวงเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญ เมื่อทำการศึกษาการเข้าทำลายในช่วงปี 2555-2558 ทั้งในไร่เกษตรกรและในเรือนทดลองพบว่าการทดลองปล่อยหนอนวัย3 ตั้งแต่ 1 ตัวทำให้ผลผลิตอ้อยลดลง เนื่องจากน้ำหนักต่อลำลดลง ในขณะที่ไม่ทำให้ความหวานของอ้อยลดลง ส่วนการสำรวจในไร่เกษตรกร พบว่า หนอนแมลงนูนหลวงมีผลให้อ้อยเกิดความสูญเสียต่อผลผลิตน้ำหนักต่อไร่และจำนวนลำของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่อายุ 12 เดือนลดลง โดยการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงที่ระดับ 32.22% ส่งผลให้ผลผลิตอ้อยลดลง 55.81% สำหรับความสูญเสียความหวานนั้น พบว่าอ้อยมีค่าความหวานสูงขึ้นเนื่องจากการสูญเสียน้ำ ระยะเวลาของการทำลายของแมลงนูนหลวงมีผลต่อความเสียหาย เนื่องจากอ้อยจะแสดงอาการขาดน้ำเร็ว และหากไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้ในช่วงแรกจะทำให้สูญเสียผลผลิตทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบว่ามีพื้นที่การระบาดเพิ่มขึ้นเช่นในเขตอำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ การให้น้ำมีผลทำให้วงจรชีวิตของด้วงหนวดยาวเปลี่ยนไป แมลงเป็นตัวเต็มวัยเร็วขึ้นและมีหนอนหลายขนาดอยู่ในพื้นที่เดียวกัน

กิจกรรมการจัดการโรคใบขาวแบบผสมผสาน ใช้เทคนิคทางด้านชีวเคมีเช่น High Resolution Melting (HRM) , Real time PCR เพื่อศึกษาความแตกต่างของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย และความเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในอ้อยที่เป็นโรค เพื่อหาทางตรวจเชื้อที่แม่นยำยิ่งขึ้น เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคใบขาว นอกจากนี้ได้หาทางลดปัญหาความรุนแรงของโรคใบขาวได้แก่ การศึกษาผลของระยะเวลาปลูกต่อการเกิดโรค การใช้ธาตุอาหารที่เหมาะสมในการผลิตท่อนพันธุ์อ้อยปลอดโรค และการใช้น้ำร้อนและสารปฏิชีวนะในการลดปริมาณเชื้อในท่อนพันธุ์และในเนื้อเยื่ออ้อยปลอดโรคตามลำดับ

Abstract

The project has been done during 2011 -2015. It consisted of 3 activities as major pests of sugarcane, weed, insect pests and white leaf disease. The activities on weed were testing efficacy of herbicides, pre-emergence, post-emergence and herbicides for vine weeds. All tested chemicals were less toxic to sugarcane and could control most weeds for 60 days. From the survey of 44 sugarcane fields in the central part and 55 fields in the northeast part of Thailand, 158 weed population samples were tested for the herbicide resistance. The results showed that there was none. Integrated weed management were conducted in sandy-loam and loam soil of sugarcane in northeast during 2011-2013. The results showed that the most profit from sandy-loam soil field was, to plant velvet bean (*Stizolobium deeringiamum*) cover the soil and controlled weed by hand weeding and small tractor; whereas in the loam soil, planting green manual increased the cost of production.

In the activities on insect pests of sugarcane, from field survey during 2011-2013 in the northeast fields, the most important insect pests were *Chilo infuscatellus* and *C. tumidicostalis* the infestion depended on humidity rather than rain fall and soil moisture. In central part, the most important pest was cane grub (*Lepidiota stigma*). Number of the worms infestation per tool was studied. The results showed that 1 worm could cause the yield reduction due to weight of cane were reducing. By crop cutting in the farmers' field showed that sugarcane Khonkhen3 with 32.22% infested with the cane grub caused 55.81% cane yield reduction.

The activities on control of white leaf disease, the biotechnology techniques such as High Resolution Melting (HRM), Real time PCR, were used to differentiate the phytoplasma the caused white leaf and grassy shoot like symptoms, to quantified the phytoplama and to detect contamination of tissue culture and cane setts. There were biochemical changes in infected sugarcane at different stages. Effect of planting dates on white leaf was found. Production of sugarcane disease free seed setts and use minor element to reduce yield loss also discussed.

กิจกรรมที่ 1 การเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการวัชพืชในอ้อยเพื่อลดต้นทุนการผลิต

ผู้วิจัย

สิริชัย สาธุวิจารณ์ ยุรวรรณ อนันตนมณี ปรัชญา เอกฐิน

จรรยา มณีโชติ สุพัตรา ชาวกงจักร นิมิตร วงศ์สุวรรณ

วาสนา วันดี สุนี ศรีสิงห์ วันทนา เลิศศิริวรกุล

ทักษิณา ศัลสยะวิชัย ภาคภูมิ ถิ่นคำ

Sirichai Sathuwijarn Yurawan Anantanamanee Ptuchya ekkathin

Chanya Maneechote Supatra chawkongjuck Nimit wongsuwan

Wasna Wandee Sunee Srisink Wantana Lertsirivorakul

Taksina Sansayawicha i Parkpoom Thinkum

คำสำคัญ (Key words)

อ้อย วัชพืช สารกำจัดวัชพืช วัชพืชต้านทาน พืชปุ๋ยสด

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของกิจกรรมนี้เพื่อทราบสถานการณ์การแพร่ระบาดของชนิดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืชในไร่อ้อยทั้งประเภทก่อน และหลังวัชพืชงอก และสารที่ได้ผลดีกับวัชพืชประเภทเถาเลื้อย รวมทั้งศึกษาระบบการจัดการวัชพืชในไร่อ้อยที่มีประสิทธิภาพ ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2553 - กันยายน 2558 โดยการทดลองสารกำจัดวัชพืช ดำเนินการทดลองในพื้นที่ปลูกอ้อย จังหวัดสุพรรณบุรี ขอนแก่น กาฬสินธุ์ ระยอง และนครสวรรค์ พบว่า ในสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพมีส่วนใหญ่ สามารถควบคุมวัชพืชหลัง 60 วันได้ในระดับดี ยกเว้น สารกำจัดวัชพืช atrazine สามารถควบคุมวัชพืชได้น้อย ในแปลงทดลองที่จังหวัดขอนแก่น เช่นเดียวกับสารกำจัดวัชพืชหลังงอก ในทุกแปลงทดลองพบว่า paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชหลักได้ดี วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย หญ้าดอกขาว หญ้าตีนติด ผักเบี้ยหิน สาบม่วง และผักโขม สำหรับการป้องกันกำจัดวัชพืชประเภทเถาเลื้อยพบว่า สารกำจัดวัชพืช 2,4-D, paraquat, triclopyr, glyphosate, fluroxypyr, glyphosate+2,4-D และ glufosinate ammonium มีประสิทธิภาพดี ที่ระยะ15 และ 30 วัน แต่สำหรับวัชพืชที่ขึ้นในกออ้อย อาจใช้แรงงานคนหรือเลือกสารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่ออ้อย เช่น 2,4-D ฉีดพ่นเป็นจุดอีกครั้งหนึ่ง ในการสำรวจวัชพืชในไร่อ้อยอายุ 2-4 เดือนในระหว่างเดือนตุลาคม 2556- กันยายน 2558 ในเขตภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งหมด 278 แปลง และเก็บตัวอย่างจำนวน 158 ประชากรยังไม่มาปลูกทดสอบความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช atrazine diuron และ paraquat ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ยังไม่พบว่ามีวัชพืชต้านทานสารเคมีแต่อย่างใด

การป้องกันกำจัดวัชพืชแบบผสมผสานในพื้นปลูกอ้อยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างปี 2554-2556 พบว่า ในพื้นที่ดินร่วนทรายวิธีการกำจัดวัชพืชที่สามารถทำให้ปริมาณวัชพืชลดลงได้ดีคือการใช้แรงงานและเครื่องมือติดท้ายรถไถเดินตาม ร่วมกับพาราควอต ส่วนวิธีการที่ให้ผลผลิตอ้อยสูงสุดคือการใช้แรงงานและเครื่องมือติดท้ายรถไถเดินตาม โดยให้ผลผลิตอ้อยปลูกรวมกับอ้อยตอสูงสุด 16.02 ตัน/ไร่ แต่มีต้นทุนสูง เมื่อมีการปลูกพืชคลุมดินก่อนปลูกอ้อย การปลูกถั่วขอก่อนให้ผลผลิตดีกว่าการปลูกถั่วมะแฮะก่อน และเมื่อมีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน จะทำให้ได้ผลผลิตสูงสุด และให้กำไรสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ส่วนในพื้นที่ดินทรายดำเนินการที่จังหวัดชัยภูมิ พบว่าวิธีการกำจัดวัชพืชที่สามารถทำให้ปริมาณวัชพืชลดลงได้ดี คือการใช้แรงงานและเครื่องมือติดท้ายรถไถเดินตาม โดยมีค่าประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช และให้ผลผลิตอ้อยปลูกและอ้อยตอสูงสุด 12.30 ตัน/ไร่ และ 22.30 ตัน/ไร่ตามลำดับรองลงมาเป็นการใช้อิมาซาพิคเฉพาะในแถวอ้อย ส่วนการปลูกพืชแซม จะทำให้ผลผลิตอ้อยลดลงกว่าการไม่ปลูกพืชแซม

Keywords : sugarcane herbicides resistance integrated

Abstract

The objectives of this activity were to find most effective method to control major weeds in sugarcane fields and to see if herbicide resistance existed. The experiments on herbicides used were done during October 2010 and September 2015 in Suphanburi Khonkhen Kalsin Rayong and Nakornsawan Provinces. All tested pre-emergence herbicides effectively controled major weeds in sugarcane field for 60 days, except atrazine was not as effective in Khonkhen's field. In post emergence herbicides experiment, paraquat+diuron showed good results to control major weed such as *Digitaria sanguinalis* (L.). Scop, *Dactyloctenium aegyptium* L, *Leptochloa filiformis* (Lam) Beauv., *Brachiaria reptans* Gard. Et Hubb., *Trianthema portulacastrum* L., *Praxelis clematidea* R.M. King and*Amaranthus viridis* L. For vine weed control, 2,4-D, paraquat, triclopyr, glyphosate, fluroxypyr, glyphosate+2,4-D and glufosinate ammonium could control the weed for 30 days but for weeds within the sugarcane clump, hand weeding was recommended. The survey in 278 sugarcane fields at 2-4 months old between 2013 to 2015 and 158 seed population were collected. There is no result on resistance of atrazine diuron and paraquat.

The experiments on integrated weed control in sandy and sandy-loam clay were done in the north east of sugarcane fields during 2011-2013. In the sandy loam field, the most effective control was hand weeding and small tractor integrated with paraquat, but was the

most benefit method was, planting velvet bean (*Stizolobium deeringiamum*) as cover crop before planting sugarcane and control weed by hand and small tractor. In the sandy soil field in Chaiyapoom hand weeding with small tractor was most effective and gave highest yield at 12.30 and 22.30 ton/rai in plat cane and ratoon cane respectively; the second best was to used imazapic in the cane line. Planting inter cropping gave smaller yield than plant only sugarcane.

บทนำ

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีการส่งออกน้ำตาลเป็นอันดับสองของโลก รองจากประเทศบราซิล ปี 2555/56 มีปริมาณอ้อยที่เข้าหีบถึง 99.16 ล้านตัน (รายงานการผลิตอ้อย และน้ำตาลทรายของโรงงานน้ำตาลทั่วประเทศ ณ วันที่ 18 เมษายน 2556 จาก www.oscb.go.th) ความหวานเฉลี่ย 11.64 CCS และการผลิตน้ำตาลเฉลี่ย 100.37 กิโลกรัมต่อตันอ้อย ตั้งแต่ปีการผลิต 2551/52 จนถึงปีการผลิต 2554/55 พื้นที่ปลูกอ้อย เพิ่มขึ้นจาก 6.59 เป็น 8.05 ล้านไร่ และผลผลิตเข้าสู่โรงงานเพิ่มจาก 73.502 ล้านตันในปี 2551

แม้ผลผลิตเฉลี่ยของไทยจะได้ถึง 12.2 ตันต่อไร่ตามยุทธศาสตร์อ้อยปี 2552 เมื่อเปรียบเทียบศักยภาพการผลิตอ้อยของประเทศอื่นๆ เช่นบราซิล ออสเตรเลีย และฟิลิปปินส์ ซึ่งผลผลิตเฉลี่ยอยู่ที่ 12.67 12.43 และ 14.99 ตันต่อไร่ ตามลำดับ ประเทศเหล่านี้มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่าประเทศไทย เนื่องจากสามารถไว้ตอได้มากกว่า 5 ปี ในขณะที่การปลูกอ้อยของไทยเฉลี่ยไว้ตอได้เพียง 1 ตอ หรือต้องปลูกใหม่ทุก2 ปี เนื่องจากมีศัตรูพืชหลายชนิดที่ทำให้ต้องรื้อตอปลูกใหม่จึงจะให้ผลผลิตที่คุ้มค่า

วัชพืชเป็นศัตรูอ้อยที่สำคัญชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิตต่ำ การกำจัดวัชพืชไม่ทันกับการแพร่ระบาดในช่วงวิกฤติ นำมาซึ่งความสูญเสียผลผลิตอ้อยประมาณ 25-80 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นและช่วงเวลาการเบียดเบียนของวัชพืชในไร่อ้อย (เกลียวพันธ์, 2546) นอกจากนี้วัชพืชยังเป็นแหล่งอาศัยของแมลงศัตรู

ในระยะ 10 ปีที่ผ่านมา แรงงานในภาคเกษตรเริ่มหายากและมีราคาแพงขึ้นเรื่อยๆ ทำให้เกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารกำจัดวัชพืชเพื่อทดแทนแรงงานเพิ่มมากขึ้นทุกปี โดยสถิติการนำเข้าสารกำจัดวัชพืชในปี พ.ศ. 2557 เป็นปริมาณสารออกฤทธิ์มากกว่า 85,821 ตัน คิดเป็นมูลค่า 9,338 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2553) โดยมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี โดยสถิติการนำเข้าสารกำจัดวัชพืชในปี พ.ศ. 2557 เป็นปริมาณ 117,645 ตัน คิดเป็น 78.88 เปอร์เซ็นต์ของสารกำจัดศัตรูพืชทั้งหมดที่นำเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทย (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2558) ซึ่งในเรื่องนี้ รัฐบาลมีนโยบายให้เกษตรกรลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชลง แต่การใช้สารกำจัดวัชพืชซึ่งเป็นต้นทุนที่จำเป็นต้องใช้ในการผลิตพืชพลังงานทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็นอ้อย ข้าวโพดหรือมันสำปะหลังนั้น ตกเป็นเป้าหมายสำคัญที่จะลดปริมาณการใช้สาร

ระเบียบวิธีการวิจัย (อุปกรณ์และวิธีการทดลอง)

กิจกรรมที่ 1 การเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการวัชพืชในอ้อยเพื่อลดต้นทุนการผลิต

1.1 ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก (pre-emergence) ในอ้อยปลูกใหม่ (ดำเนินการทดลองระหว่างปี 2554-58)

ทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกสำหรับควบคุมวัชพืชในแปลงปลูกอ้อย ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2553 - กันยายน 2558 ณ จังหวัดสุพรรณบุรี ขอนแก่น กาฬสินธุ์ ระยอง และนครสวรรค์ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 12 กรรมวิธี ได้แก่ สารกำจัดวัชพืช mesotrione/atrazine, atrazine, diuron, flumioxazin, pendimethalin+imazapic, hexazinone/diuron, tebuthiuron+pendimethalin, tebuthiuron+oxyfluorfen, isoxaflutole และ metribuzin อัตรา 150, 600, 480, 20, 132+12, 240, 150+132, 150+35.3, 20 และ 140 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีหลังปลูกอ้อยในขณะที่ดินมีความชื้น ใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง ประกอบหัวพ่นแบบพัด ปริมาณน้ำ 60-80 ลิตร/ไร่ กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ปฏิบัติและดูแลรักษาอ้อยที่ปลูกตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชประเภทหลังงอก (post-emergence) ในอ้อยปลูกใหม่และอ้อยตอ

ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2553 - กันยายน 2558 ณ จังหวัดสุพรรณบุรี ขอนแก่น กาฬสินธุ์ ระยอง และนครสวรรค์ ทำการทดลองในแปลงอ้อยปลูกใหม่ และแปลงอ้อยตอ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryne, 2,4-D, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron-sodium/ametryne, trifloxysulfuron/ametryne+paraquat, ametryne+2,4-D และ paraquat+diuron อัตรา 480, 200, 200, 200, 300, 240+55.2, 400+200 และ 180+320 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช

1.3 ศึกษาการจัดการวัชพืชประเภทเถาเลื้อยในอ้อย

ดำเนินการทดลองระหว่างปี 2553-2558 ในพื้นที่ 5 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี ขอนแก่น กาฬสินธุ์ ระยอง และนครสวรรค์ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบด้วยการพ่นสารกำจัดวัชพืชเดี่ยวและสารผสม ได้แก่ การพ่นสารกำจัดวัชพืช 2,4-D, paraquat, triclopyr, glyphosate, fluroxypyr, glyphosate+2,4-D และ glufosinate ammonium อัตรา 200, 200, 150, 220, 32, 220+240 และ 150 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช

1.4 การจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไร่อ้อยเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ศึกษาการจัดการวัชพืชในไร่อ้อยแบบผสมผสานในเขตดินร่วนทราย โดยคัดเลือกพื้นที่ปลูกอ้อยในไร่เกษตรกรเขตดินร่วนทรายบ้านสว่าง ตำบลดอนหัน อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น วางแผนการทดลองแบบ split plot 4 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบด้วย 2 ปัจจัย ปัจจัยหลักคือการปลูกพืชคลุมดิน ได้แก่ 1) ปลูกถั่วมะแฮะคลุมดิน 2) ปลูกถั่วขอคลุมดิน โดยใช้อัตราหว่าน 10 กิโลกรัมต่อไร่ ไถกลบเมื่ออายุ 3 เดือน และ 3) การไม่ปลูกพืชคลุมดิน ปัจจัยรองคือ วิธีการกำจัดวัชพืช 6 วิธีการ ได้แก่ 1) ใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค (imazapic) 2) ใช้อิมาซาพิค (imazapic) ตามด้วยการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม 3) ใช้อิมาซาพิค (imazapic) เฉพาะในร่องอ้อย ตามด้วยการกำจัดวัชพืชระหว่างร่องด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม 4) ใช้อิมาซาพิค (imazapic) เฉพาะในร่องอ้อย ตามด้วยการกำจัดวัชพืชระหว่างร่องด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามตามด้วยการใช้สารเคมีหลังงอกพาราควอต (paraquat) 5) กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม ตามด้วยการใช้สารเคมีหลังงอก พาราควอต (paraquat) และ 6) กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม

ในเขตดินร่วน ดำเนินงานโดยคัดเลือกพื้นที่ปลูกอ้อยในไร่เกษตรกรเขตดินร่วนบ้านประชาสามัคคี หมู่ 8 ตำบลหนองตูม อำเภอภูเขียว จังหวัดชัยภูมิ วางแผนการทดลองแบบ split plot 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ปัจจัยหลักคือการปลูกพืชแซมระหว่างแถวอ้อย ได้แก่ 1) ถั่วพุ่ม อัตรา 8 กิโลกรัมต่อไร่ 2) ถั่วพร้า อัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่ ไถกลบพืชแซมเมื่ออายุ 3 เดือน และ 3) การไม่ปลูกพืชแซม ปัจจัยรองคือ วิธีการกำจัดวัชพืช 5 วิธีการ ได้แก่ การพ่นสารเคมีเฉพาะในแถวอ้อยหลังปลูกด้วย 1) อาทราซีน 480 g ai/ไร่ 2) อามีทรีน 400 g ai/ไร่ 3) อิมาซาพิค 24 g ai/ไร่ 4) อิมาซาพิค+เพดิเมทาลิน 24+130 g ai/ไร่ และ 5) กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม

1.5 สถานการณ์การระบาดและการจัดการปัญหาวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชในอ้อย

ดำเนินการสำรวจการระบาดของวัชพืชใบแคบและใบกว้างในแปลงปลูกอ้อยอายุ 2-4 เดือนในระหว่างเดือนตุลาคม 2556- กันยายน 2558 ในเขตภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งหมด 278 แปลง แบ่งเป็นเขตภาคกลาง (สุพรรณบุรี กาญจนบุรี สระบุรี และ ลพบุรี) จำนวน 43 แปลง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ขอนแก่น อุดรธานี กาฬสินธุ์ มหาสารคาม ร้อยเอ็ด ชัยภูมิ หนองบัวลำภู มุกดาหาร) จำนวน 235 แปลง บันทึกความหนาแน่นของวัชพืชแต่ละชนิด สุ่มเก็บเมล็ดวัชพืชในแปลงเพื่อประเมินความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช atrazine, diuron, imazapic และ pendimethalin อัตรา 400, 480, 330 และ 24 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ทดสอบครั้งละ 50 ประชากรในกรณีที่พบว่ามีประชากรวัชพืชที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช ให้ทดสอบเพิ่มเติมกับสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มที่มีกลไกการเข้าทำลายแตกต่างกันออกไป

ผลการวิจัย

1.1 ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก (pre-emergence) ในอ้อยปลูกใหม่

แปลงทดลองที่ 1 จังหวัดสุพรรณบุรี

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 69 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าดอกขาว หญ้ากอ หญ้าตีนนก และหญ้าตีนติด จำนวน 13, 20, 8, 2 และ 1 ต้น คิดเป็น 18.8, 29.0, 11.6, 2.9 และ 1.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยหิน ผักโขม กะเม็ง โสนอัฟริกัน และจิงจ้อดอกขาว จำนวน 2, 4, 4, 5 และ 1 ต้น คิดเป็น 2.9, 5.8, 5.8, 7.2 และ 1.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ แห้วหมู จำนวน 9 ต้น คิดเป็น 13.0 เปอร์เซ็นต์

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า กรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกชนิดอ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า กรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรรมวิธี สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชเริ่มลดลง โดยสารกำจัดวัชพืช mesotrione/atrazine, atrazine, hexazinone/diuron, tebuthiuron+pendimethalin, tebuthiuron+oxyfluorfen และ isoxaflutole สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี สารกำจัดวัชพืช diuron, flumioxazin, pendimethalin+imazapic และ metribuzin สามารถควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าดอกขาว (*Leptochloa filiformis* (Lam) Beauv.) หญ้านกสี-ชมพู (*Echinochloa colonum* Link.) หญ้ากอ (*Eriochloa procera* Steud.) ผักโขม (*Amaranthus viridis* L.) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) และ กะเม็ง (*Eclipta prostrata* L.)

แปลงทดลองที่ 2 จังหวัดขอนแก่น

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 116 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนกา และหญ้าปากควาย จำนวน 22, 6 และ 65 คิดเป็น 18.97, 5.17 และ 56.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง ผักเบี้ยหิน และผักโขม จำนวน 2, 4 และ 5 ต้น คิดเป็น 10.34, 1.72 และ 3.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ กกทราย จำนวน 5 ต้น คิดเป็น 4.31 เปอร์เซ็นต์

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืช flumioxazin และ tebuthiuron+oxyfluorfen อ้อยแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย ส่วนการพ่นสารกำจัดวัชพืช isoxaflutole อ้อยแสดงอาการเป็นพิษปานกลาง (ใบเป็นสีขาว) ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสาร อาการเป็นพิษของสารกำจัด

วัชพืช flumioxazin และ tebuthiuron+oxyfluorfen ต่ออ้อยหมดไป ส่วนสารกำจัดวัชพืช isoxaflutole อ้อยแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยและกลับสู่สภาพปกติในเวลาต่อมา

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า กรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรรมวิธี สามารถควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ ยกเว้นการพ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine สามารควบคุมวัชพืชได้ระดับดี (8 คะแนน) ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชเริ่มลดลง แต่ยังคงอยู่ในระดับดี คะแนนอยู่ในช่วง 8.5-9.9 คะแนน แต่สารกำจัดวัชพืช atrazine สามารถควบคุมวัชพืชได้น้อย มีระดับคะแนนการควบคุมอยู่ที่ 2.5 คะแนน วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) ผักโขม (*Amaranthus viridis* L.) และ กกทราย (*Cyperus iria* L.)

แปลงทดลองที่ 3 จังหวัดกาฬสินธุ์

การสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 92 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย และหญ้าขนเล็ก จำนวน 3, 4 และ 8 ต้น คิดเป็น 3.26, 4.35 และ 8.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง และผักเสี้ยนดอกม่วง จำนวน 65 และ 12 ต้น คิดเป็น 70.65 และ 13.04 เปอร์เซ็นต์

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธี อ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า กรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรรมวิธี สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี มีคะแนนอยู่ระหว่าง 8.0-8.9 คะแนน ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง โดยสารกำจัดวัชพืช mesotrione/atrazine, atrazine, pendimethalin+imazapic, hexazinone/diuron, tebuthiuron+ pendimethalin, tebuthiuron+oxyfluorfen และ isoxafultole สามารถควบคุมวัชพืชในระดับดี คะแนนอยู่ระหว่าง 7.2-7.8 คะแนน วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) หญ้าขนเล็ก (*Brachiaria distachya* (L.) Stapf.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และผักเสี้ยนดอกม่วง (*Cleome rutidosperma* DC.)

แปลงทดลองที่ 4 จังหวัดระยอง

การสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 124 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก และหญ้าปากควาย จำนวน 15 และ 28 ต้น คิดเป็น 12.10 และ 22.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง และผักเบี้ยหิน จำนวน 63 และ 18 ต้น คิดเป็น 50.81 และ 14.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธี อ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า กรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรรมวิธี สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี มีคะแนนอยู่ระหว่าง 8.0-9.9 คะแนน ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง แต่ยังสามารถควบคุมวัชพืชได้ในระดับดี คะแนนอยู่ระหว่าง 7.0-9.4 คะแนน วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* (Griseb.) R.M. King & H. Rob.) และผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.)

แปลงทดลองที่ 5 จังหวัดนครสวรรค์

การสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 86 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย หญ้าดอกขาว และ หญ้าตีนติด จำนวน 15, 10 25 และ 8 ต้น คิดเป็น 17.44, 11.63, 29.07 และ 9.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง ผักโขม และผักเบี้ยหิน จำนวน 20, 2 และ 6 ต้น คิดเป็น 23.26, 2.33 และ 6.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธี อ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า กรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกกรรรมวิธี สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีถึงควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์ มีคะแนนอยู่ระหว่าง 8.5-10.0 คะแนน ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง แต่ยังสามารถควบคุมวัชพืชได้ในระดับดี คะแนนอยู่ระหว่าง 7.2-9.5 คะแนน วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) หญ้าดอกขาว ((*Leptochloa filiformis* (Lam) Beauv.) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* Gard. Et Hubb.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* (Griseb.) R.M.King & H.Rob.) ผักโขม (*Amaranthus viridis* L.) และผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.)

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชประเภทหลังงอก (post-emergence) ในอ้อยปลูกใหม่และอ้อยตอ

แปลงทดลองที่ 1 จังหวัดสุพรรณบุรี

<u>การทดลองแปลงอ้อยปลูกใหม่</u>

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 78 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าขนเล็ก หญ้าดอกขาว หญ้าตีนติด

และหญ้ากอ จำนวน 16, 8, 5 และ 6 ต้น คิดเป็น 20.5, 10.3, 6.4 และ 7.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักยาง ปอเทือง และ ผักเบี้ยหิน จำนวน 10, 7 และ 5 ต้น คิดเป็น 12.8, 9 และ 6.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ แห้วหมู จำนวน 21 ต้น คิดเป็น 26.9 เปอร์เซ็นต์

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยปานกลาง และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวลดลงอยู่ในระดับเล็กน้อย

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazineone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+ paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชเริ่มลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ ametryn+paraquat และ ametryn+2,4-D สามารถควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าขนเล็ก (*Brachiaria distachya* Stapf.) หญ้าดอกขาว (*Leptochloa filiformis* (Lam) Beauv.) ผักยาง (*Euphorbia heterophylla* L.) และ แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.)

<u>การทดลองแปลงอ้อยตอ</u>

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 37 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าดอกขาว หญ้าขนเล็ก และหญ้าปากควาย จำนวน 8, 8 และ 6 ต้น คิดเป็น 21.6, 21.6 และ 16.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ตีนตุ๊กแก สาบเสือ สะอึก และกระทกรก จำนวน 5, 1, 2 และ 1 ต้น คิดเป็น 13.5, 2.7, 5.4 และ 2.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ แห้วหมู จำนวน 6 ต้น คิดเป็น 16.2 เปอร์เซ็นต์

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยเล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช อ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+ paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazinone/ diuron, trifloxysulfuron/ametryn paraquat และ ametryn+2,4-D สามารถควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง

วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าดอกขาว (*Leptochloa filiformis* (Lam) Beauv.) หญ้าขนเล็ก (*Brachiaria distachya* Stapf.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* L.) และ แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.)

แปลงทดลองที่ 2 จังหวัดขอนแก่น

<u>การทดลองแปลงอ้อยปลูกใหม่</u>

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 76 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา และหญ้าปากควาย จำนวน 16, 3 และ 45 ต้น คิดเป็น 21.05, 3.95 และ 59.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง ผักเบี้ยหิน และผักโขม จำนวน 8, 2 และ 1 ต้น คิดเป็น 10.53, 2.63 และ 1.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ กกทราย จำนวน 1 ต้น คิดเป็น 1.32 เปอร์เซ็นต์

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยปานกลาง และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวลดลงอยู่ในระดับเล็กน้อย

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazineone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn +paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชเริ่มลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+ paraquat และ ametryn+2,4-D สามารถควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และหญ้าตีนกา (*Eleusine indica* Gaertn.)

<u>การทดลองแปลงอ้อยตอ</u>

จากการสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 60 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก และหญ้าปากควาย จำนวน 24 และ / ต้น คิดเป็น 40.00 และ 20.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง ผักยาง และสาบเสือ จำนวน 16, 7 และ 1 ต้น คิดเป็น 26.67, 11.67 และ 1.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat,

trifloxysulfuron/ametryn+paraquat และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยเล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช อ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+ paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และ ผักยาง (*Euphorbia heterophylla* L.)

แปลงทดลองที่ 3 จังหวัดกาฬสินธุ์

<u>การทดลองแปลงอ้อยปลูกใหม่</u>

การสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 127 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าขจรจบดอกเล็ก และหญ้าปากควาย จำนวน 2, 5 และ 9 ต้น คิดเป็น 1.57, 3.94 และ 7.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ต้นลิ้นงู หญ้าท่าพระ และสาบม่วง จำนวน 67, 3 และ 41 ต้น คิดเป็น 52.76, 2.36 และ 32.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยเล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวลดลง

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช hexazineone/diuron, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชเริ่มลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าขจรจบดอกเล็ก (Pennisetum polystachyon (L.) Schult.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) ต้นลิ้นงู (*Hedyotis corymbosa* L.) หญ้าท่าพระ (*Richardia brasiliensis* Gomez) และสาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King)

การทดลองแปลงอ้อยตอ

การสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 97 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย และหญ้าแพรก จำนวน 5, 8 และ 3 ต้น คิดเป็น 5.15, 8.25 และ 3.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง จำนวน 81 คิดเป็น 83.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยเล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช อ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชโดยรวมของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn +paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี) วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon* (L.) Pres.) และสาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King)

แปลงทดลองที่ 4 จังหวัดระยอง

การทดลองแปลงอ้อยปลูกใหม่

การสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 75 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าปากควาย และหญ้าตีนนก จำนวน 14 และ 8 ต้น คิดเป็น 18.67 และ 10.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง และผักเบี้ยหิน จำนวน 40 และ 11 ต้น คิดเป็น 53.33 และ 14.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และวัชพืชประเภทกก ได้แก่ กกทราย จำนวน 2 ต้น คิดเป็น 2.67 เปอร์เซ็นต์

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยเล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวลดลง

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazineone/diuron, paraquat , trifloxysulfuron/ametryne+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชเริ่มลดลง การ

พ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* (Griseb.) R.M.King&H.Rob.) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) และกกทราย (*Cyperus iria* L.)

<u>การทดลองแปลงอ้อยตอ</u>

การสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 68 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าปากควาย และหญ้าตีนนก จำนวน 20 และ 15 ต้น คิดเป็น 29.41 และ 22.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ สาบม่วง และผักเบี้ยหิน จำนวน 25 และ 8 ต้น คิดเป็น 36.76 และ 11.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยเล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช อ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชโดยรวมของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryne, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* (Griseb.) R.M.King&H.Rob.) และผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.)

แปลงทดลองที่ 5 จังหวัดนครสวรรค์

<u>การทดลองแปลงอ้อยปลูกใหม่</u>

การสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 94 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย หญ้าดอกขาว และหญ้าตีนติด จำนวน 12, 15 22 และ 10 ต้น คิดเป็น 12.77, 15.96, 23.40 และ 10.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยหิน สาบม่วง และ ผักโขม จำนวน 5, 25 และ 5 ต้น คิดเป็น 5.32, 26.60 และ 5.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, paraquat,

trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยเล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวลดลง

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazineone/diuron, paraquat , trifloxysulfuron-sodium/ametryn, trifloxysulfuron/ametryne+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชเริ่มลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช trifloxysulfuron-sodium/ametryn+paraquat และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) หญ้าดอกขาว (*Leptochloa filiformis* (Lam) Beauv.) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* Gard. Et Hubb.) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) สาบม่วง (*Praxelis clematidea* R.M. King) และผักโขม (*Amaranthus viridis* L.)

<u>การทดลองแปลงอ้อยตอ</u>

การสุ่มตัวอย่างวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช พบวัชพืชจำนวน 50 ต้น/ตารางเมตร ประกอบด้วยวัชพืชประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก และหญ้าปากควาย จำนวน 10 และ 15 ต้น คิดเป็น 20.00 และ 30.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ วัชพืชประเภทใบกว้าง ได้แก่ ผักเบี้ยหิน และสาบม่วง จำนวน 5 และ 20 ต้น คิดเป็น 10.00 และ 40.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย ที่ระยะ 15 และ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่ระยะ 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron เป็นพิษต่ออ้อยเล็กน้อย และที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช อ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชโดยรวมของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า การพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryne, hexazinone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี วัชพืชหลักที่สามารถควบคุมได้ คือ หญ้าตีนนก (*Digitaria sanguinalis* (L.). Scop.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) และสาบม่วง (Praxelis clematidea R.M. King)

1.3 ศึกษาการจัดการวัชพืชประเภทเถาเลื้อยในอ้อย

วัชพืชที่พบในกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช แปลงทดลองจังหวัดกาญจนบุรี พบวัชพืชเถาเลื้อยทั้งหมด 13 ต้นต่อตารางเมตร ประกอบด้วย สะอึก (*Ipomoea gracilis* R.

Br.) กระทกรก (*Passiflora foetida* L.) จิงจ้อดอกขาว (*Operculina turpethum* (L.) Sativa Manso.) และตดหมูตดหมา (*Paedaria foetida* L.) จำนวน 3, 2, 5 และ 3 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ แปลงทดลองจังหวัดขอนแก่น พบวัชพืชเถาเลื้อยทั้งหมด 11 ต้นต่อตารางเมตร ประกอบด้วย สะอึก (*Ipomoea gracilis* R. Br.) กระทกรก (*Passiflora foetida* L.) ตดหมูตดหมา (*Paedaria foetida* L.) และถั่วลาย (*Centrosema pubescens* Benth.) จำนวน 2, 1, 5 และ 3 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ แปลงทดลองจังหวัดกาฬสินธุ์ พบวัชพืชเถาเลื้อยทั้งหมด 19 ต้นต่อตารางเมตร ประกอบด้วย สะอึก (*Ipomoea gracilis* R. Br.) กระทกรก (*Passiflora foetida* L.) ตดหมูตดหมา (*Paedaria foetida* L.) และถั่วลาย (*Centrosema pubescens* Benth.) จำนวน 4, 2, 3 และ 10 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ แปลงทดลองจังหวัดระยอง พบวัชพืชเถาเลื้อยทั้งหมด 9 ต้นต่อตารางเมตร ประกอบด้วย สะอึก (*Ipomoea gracilis* R. Br.) กระทกรก (*Passiflora foetida* L.) และตดหมูตดหมา (*Paedaria foetida* L.) จำนวน 4, 2 และ 3 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ และแปลงทดลองจังหวัดนครสวรรค์ พบวัชพืชเถาเลื้อยทั้งหมด 17 ต้นต่อตารางเมตร ประกอบด้วย สะอึก (*Ipomoea gracilis* R. Br.) และตดหมูตดหมา (*Paedaria foetida* L.) จำนวน 5 และ 12 ต้นต่อตารางเมตร ตามลำดับ

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย พบว่า ที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ในแปลงทดลองทั้งสี่สถานที่ อ้อยไม่แสดงอาการเป็นพิษ เพราะมีการใส่หัวครอบเวลาพ่นสารกำจัดวัชพืช ยกเว้นกรรมวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat 27.6% SL อัตรา 200 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ อ้อยแสดงอาการใบไหม้เป็นจุดเล็กน้อยบริเวณใบล่างที่ถูกละอองสารกำจัดวัชพืช

ประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช โดยรวมของสารกำจัดวัชพืช ที่ระยะ 15 หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่า ที่แปลงทดลองจังหวัดกาญจนบุรี ขอนแก่น กาฬสินธุ์ ระยอง และนครสวรรค์ สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชประเภทเถาเลื้อยระดับดี มีคะแนนระหว่าง 6.5-9.5, 7.0-9.8, 8.0-9.0, 7.5-9.5 และ 7.0-9.9 คะแนน ตามลำดับ ส่วนที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชประเภทเถาเลื้อยระดับดีถึงควบคุมได้สมบูรณ์ มีคะแนนระหว่าง 8.0-10.0, 8.0-10.0, 8.5-10.0, 9.5-10.0 และ 8.0-10.0 คะแนน ตามลำดับ เนื่องจากการพ่นสารกำจัดวัชพืชระหว่างแถวปลูกอ้อย เพื่อลดผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชต่ออ้อย จึงทำให้ไม่สามารถควบคุมวัชพืชที่ขึ้นในกออ้อยได้ ดังนั้น หากมีความจำเป็นต้องกำจัดวัชพืชเถาเลื้อยที่ขึ้นในกออ้อย อาจใช้แรงงานคนหรือเลือกสารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่ออ้อย เช่น 2,4-D ฉีดพ่นเป็นจุดอีกครั้งหนึ่ง

น้ำหนักแห้งรวมของวัชพืช แปลงทดลองจังหวัดกาญจนบุรี พบว่า น้ำหนักแห้งรวมของวัชพืชมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr, glyphosate และ glyphosate+2,4-D มีน้ำหนักแห้งรวมของวัชพืชไม่แตกต่างกัน โดยน้ำหนักแห้งวัชพืช เท่ากับ 0.00 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมา คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช 2,4-D และ glufosinate ammonium มีน้ำหนักแห้งรวมของวัชพืช เท่ากับ 48.75 และ 57.50 กรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน โดยมีน้ำหนักแห้งวัชพืช เท่ากับ 31.25 กรัมต่อตารางเมตร แปลงทดลองจังหวัดขอนแก่น พบว่า น้ำหนักแห้งรวมของวัชพืชมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

โดยกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr, glyphosate, glyphosate+2,4-D และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน มีน้ำหนักแห้งรวมของวัชพืชไม่แตกต่างกัน เท่ากับ 0.00 กรัมต่อตารางเมตร และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, 2,4-D และ glufosinate ammonium โดยมีน้ำหนักแห้งวัชพืช เท่ากับ 13.75, 15.75 และ 17.25 กรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ แปลงทดลองจังหวัดกาฬสินธุ์ พบว่า น้ำหนักแห้งรวมของวัชพืชมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช 2,4-D, triclopyr, glyphosate และ glyphosate+2,4-D มีน้ำหนักแห้งรวมของวัชพืชไม่แตกต่างกัน เท่ากับ 0.00 กรัมต่อตารางเมตร และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการกำจัดวัชพืชพืชด้วยแรงงาน และการพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammonium โดยมีน้ำหนักแห้งวัชพืช เท่ากับ 17.75 และ 18.25 กรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ แปลงทดลองจังหวัดระยอง พบว่า น้ำหนักแห้งรวมของวัชพืชมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช glyphosate+2,4-D มีน้ำหนักแห้งรวมของวัชพืชน้อยที่สุด เท่ากับ 0.00 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมา คือ การพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate ammonium โดยมีน้ำหนักแห้งวัชพืช เท่ากับ 8.5 กรัมต่อตารางเมตร และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารกำจัดวัชพืช 2,4-D, paraquat, triclopyr, glyphosate, fluroxypyr และการกำจัดวัชพืชพืชด้วยแรงงาน โดยมีน้ำหนักแห้งวัชพืช เท่ากับ 11.50, 15.25, 11.50, 10.50, 19.50 และ 16.25 กรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ และแปลงทดลองจังหวัดนครสวรรค์ พบว่า น้ำหนักแห้งรวมของวัชพืชมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยกรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืช triclopyr และ glyphosate+2,4-D, มีน้ำหนักแห้งรวมของวัชพืชไม่แตกต่างกัน เท่ากับ 0.00 กรัมต่อตารางเมตร และไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารกำจัดวัชพืชพืช glyphosate, 2,4-D และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน โดยมีน้ำหนักแห้งวัชพืช เท่ากับ 5.35, 6.05 และ 13.87 กรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ

1.4 การจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในไร่อ้อยเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

<u>ในเขตดินร่วนทราย</u>

วัชพืชหลักที่พบในพื้นที่ปลูกอ้อยที่เป็นดินทรายมีทั้งวัชพืชใบแคบ ใบกว้าง วัชพืชเถาเลื้อย และกก ได้แก่ ครามขน หญ้าท่าพระ สตาร์กล๊าส สาบม่วง หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย หญ้าขน ถั่วลิสงนา บานไม่รู้โรยป่า แห้วหมู กกทราย ผักเสี้ยนผี น้ำนมราชสีห์ พันงูเขียว ถั่วผี พืชตระกูลแตง ลูกใต้ใบ ตำลึง สะอึก ผักบุ้ง ขยุ้มตีนหมา

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

เมื่อกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีไปแล้ว 30 วัน บันทึกประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชโดยการให้คะแนน พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในวิธีการกำจัดวัชพืช โดยวิธีการกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพได้แก่ การใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม รองลงมาเป็นวิธีการกำจัดวัชพืชครั้งที่ 1 ด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม และครั้งที่ 2 ฉีดพ่นด้วยสารเคมีหลังงอกพาราควอต และ การใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคตามด้วยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม โดยมีค่าประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช 7.58 6.33 5.25 ซึ่งมีค่ามากกว่า 5.0 คือสามารถควบคุมปริมาณวัชพืชได้มากกว่าร้อยละ 50 ส่วนวิธีการที่มี

ประสิทธิภาพต่ำ ได้แก่ การใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคเฉพาะในร่องอ้อยตามด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามแล้วฉีดพ่นด้วยสารเคมีหลังงอกพาราควอต การใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคเฉพาะในร่องอ้อยตามด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม และ วิธีการใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค ให้ค่าประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช 4.16 3.00 และ 2.75 ซึ่งค่าต่ำกว่า 5.0 คือสามารถควบคุมปริมาณวัชพืชได้น้อยกว่าร้อยละ 50 (ตารางที่ 1)

ผลผลิตอ้อย

<u>อ้อยปลูก</u>

ผลผลิตอ้อยปลูกและองค์ประกอบผลผลิตได้แก่ ความยาวลำ น้ำหนักลำ และ จำนวนลำเก็บเกี่ยว มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในวิธีการกำจัดวัชพืช แต่ไม่มีแตกต่างกันในการปลูกพืชคลุม เส้นผ่าศูนย์กลางลำ และ CCS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ทั้งปัจจัยการปลูกพืชคลุมดินและวิธีการกำจัดวัชพืช โดยมีค่า CCS อยู่ระหว่าง 12.64 – 16.51 อย่างไรก็ตามการปลูกพืชคลุมดินมีผลในการปรับปรุงบำรุงดิน โดยการปลูกถั่วมะแฮะและถั่วขอคลุมดินให้ผลผลิตมากกว่าการไม่ปลูกพืชคลุมดินร้อยละ 8.4 และ 11.2 ตามลำดับ ผลของวิธีการกำจัดวัชพืชแบบผสมผสานมีผลต่อจำนวนลำเก็บเกี่ยวโดยวิธีการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามซึ่งเป็นวิธีควบคุม ให้จำนวนลำเก็บเกี่ยวสูงสุด 8,083 ลำ/ไร่ เป็นสาเหตุให้วิธีการนี้ได้ผลผลิตต่อไร่สูงสุด 11.29 ตัน/ไร่ รองลงมาเป็นวิธีการใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคตามด้วยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม ให้จำนวนลำเก็บเกี่ยว 7,608 ลำ/ไร่ และได้ผลผลิตต่อไร่ 10.93 ตัน/ไร่ แม้ว่าวิธีการใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคตามด้วยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามจะให้ความยาวลำสูงสุด 237.5 ซม. มากกว่าวิธีการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามซึ่งให้ความยาว 233.2 ซม. การใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคเพียงอย่างเดียวให้ผลผลิตต่อไร่ต่ำที่สุด 6.47 ตัน/ไร่ (ตารางที่ 2) เนื่องจากวิธีการนี้ให้ค่าประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชต่ำ 2.75 ทำให้มีวัชพืชขึ้นรบกวนอ้อยมากกว่าวิธีการอื่น โดยมีปริมาณวัชพืชเมื่อเก็บเกี่ยวสูงถึง 120.6 กรัมต่อตารางเมตร เป็นอันดับสองจากวิธีการใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคเฉพาะในร่องอ้อยแล้วตามด้วยการใช้วิธีการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม แม้ว่าจะมีการกำจัดวัชพืชครั้งที่ 2 ด้วยแรงงานก็ตาม ก็ยังมีปริมาณวัชพืชมากถึง 126.5 กรัมต่อตารางเมตร และมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชในระดับต่ำ 3.00 (ตารางที่ 1)

<u>อ้อยตอ</u>

ผลผลิตอ้อยตอและองค์ประกอบผลผลิตได้แก่ ความยาวลำ น้ำหนักลำ จำนวนลำเก็บเกี่ยว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพิจารณาปัจจัยการปลูกพืชคลุมดิน การปลูกถั่วมะแฮะคลุมดินให้ผลผลิตอ้อยตอสูงที่สุด 7.26 ตัน/ไร่ และให้ความยาวลำ ขนาดลำ และความหวาน สูงที่สุดเช่นกัน ผลของวิธีการกำจัดวัชพืชแบบผสมผสานมีผลต่อจำนวนลำเก็บเกี่ยว โดยการใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคตามด้วยพาราควอทให้จำนวนลำเก็บเกี่ยวสูงที่สุด 5,206 ลำ/ไร่ แต่วิธีการนี้ให้ขนาดลำเล็ก 2.39 ซม. จึงได้ผลผลิต 5.9 ตัน/ไร่ ต่ำกว่าวิธีการใช้อิมาซาพิคตามด้วยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามและพาราควอตที่ให้ผลผลิตอ้อยตอสูงที่สุด 6.07 ตัน/ไร่ (ตารางที่ 3)

ต้นทุนการผลิต

รวบรวมข้อมูลต้นทุนการผลิตอ้อยปลูก รายได้และผลตอบแทน โดยรายได้คำณวนมาจากผลผลิตต่อไร่ ในแต่ละกรรมวิธีของการปลูกหรือไม่ปลูกพืชคลุมดินกับวิธีการกำจัดวัชพืช คูณด้วย ราคาอ้อยที่ตันละ 1,000 บาท จากตารางที่ 4 พบว่าเมื่อไม่มีการปลูกพืชคลุมดินในการกำจัดวัชพืชจะมีต้นทุนสูงที่สุดที่การใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม 10,107 บาท/ไร่ ต้นทุนต่ำสุดอยู่ที่การใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค 6,845 บาท/ไร่ เมื่อดูเฉพาะต้นทุนการกำจัดวัชพืช โดยรวมค่าแรงงานกับค่าสารเคมี พบว่าจำนวนครั้งที่กำจัดวัชพืชมากขึ้นทำให้ต้นทุนในส่วนนี้เพิ่มขึ้น โดยการใช้อิมาซาพิคตามด้วยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามและพาราควอต มีต้นทุนการกำจัดวัชพืชสูงที่สุด 2,480 บาท/ไร่ แต่อย่างไรก็ตามการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามเป็นวิธีการที่ให้ผลผลิตอ้อยสูงที่สุด วิธีการนี้จึงให้กำไรสูงที่สุด 1,083 บาท/ไร่ ในขณะที่วิธีการอื่นให้กำไรต่ำและขาดทุน

เมื่อมีการปลูกพืชคลุมดินต้นทุนการผลิตจะเพิ่มขึ้นมาในส่วนของค่าเมล็ดพันธุ์ ซึ่งคิดที่ราคากิโลกรัมละ 25 บาท 1 ไร่ใช้เมล็ดพันธุ์ 10 กิโลกรัม จึงมีต้นทุนค่าเมล็ดพันธุ์พืชคลุมดิน 250 บาท/ไร่ และมีค่าไถกลบพืชคลุมดินอีกไร่ละ 300 บาท รวมเป็นต้นทุนที่เพิ่มขึ้นจากการปลูกพืชคลุมดินเป็น 550 บาท/ไร่ การปลูกถั่วมะแฮะคลุมดินหากใช้วิธีกำจัดวัชพืชโดยการใช้อิมาซาพิคตามด้วยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามและพาราควอต มีต้นทุนการผลิตสูงที่สุด 10,849 บาท/ไร่ แต่วิธีการที่ให้กำไรสูงสุดคือการใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคตามด้วยด้วยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม ให้กำไร 1,103 บาท/ไร่ การปลูกถั่วขอคลุมดินการใช้อิมาซาพิคตามด้วยพาราควอต มีต้นทุนการผลิตสูงที่สุด 11,057 บาท/ไร่ แต่วิธีการที่ให้กำไรสูงสุดคือการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม ให้กำไร 1,450 บาท/ไร่ เป็นที่น่าสังเกตว่าการใช้ระบบการปลูกพืชคลุมดินทั้ง 3 วิธีการ การได้กำไรสูงสุดจะอยู่ที่วิธีการที่ให้ผลผลิตต่อไร่สูงที่สุดทั้ง 3 วิธีการ (ตารางที่ 4)

เมื่อนำต้นทุนการผลิตและผลตอบแทนเข้าไปพิจารณาร่วมกับผลผลิต สามารถสรุปได้ ดังนี้

1. เมื่อไม่มีการใช้พืชคลุมดิน ควรใช้วิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม เนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ผลผลิตสูง 11.2 ตัน/ไร่ และสามารถให้กำไร 1,083 บาท/ไร่
2. การปลูกถั่วมะแฮะเป็นพืชคลุมดิน ควรใช้อิมาซาพิคพ่นคลุมวัชพืชหลังปลูกอ้อยตามด้วยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม เนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ผลผลิตสูง 11.7 ตัน/ไร่ และให้กำไร 1,103 บาท/ไร่
3. การปลูกถั่วขอเป็นพืชคลุมดิน ควรใช้วิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม เนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ผลผลิตสูง 12.5 ตัน/ไร่ และได้กำไร 1,450 บาท/ไร่

ตารางที่ 1 น้ำหนักแห้งของวัชพืช ถั่วมะแฮะ ถั่วขอ ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของพืชคลุมดินและวิธีการกำจัดวัชพืชแบบผสมผสาน

พืชคลุมดิน/วิธีกำจัดวัชพืช	วัชพืช (กรัม/ตรม.)			ถั่วมะแฮะ (กรัม/ตรม.)	ถั่วขอ (กรัม/ตรม.)	ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช
	ก่อนปลูกพืชคลุมดิน	ก่อนไถกลบพืชคลุมดิน	หลังเก็บเกี่ยวอ้อย			
ถั่วมะแฮะ	226.9	385.3	70.4	73.9	0.0	4.91
ถั่วขอ	104.3	347.9	74.9	0.0	89.3	4.87
ไม่ปลูกพืชคลุมดิน	202.3	406.0	69.7	0.0	0.0	4.75
Imazapic	165.8	342.6	120.6 ab	30.0	25.7	2.75 d
Imazapic + Hand	197.9	343.5	52.2 ab	23.2	49.9	5.25 abc
Imazapic in Row + Hand	172.6	391.5	126.5 a	21.9	26.4	3.00 cd
Imazapic in Row + Hand + Paraquat	165.8	346.4	60.4 ab	22.6	30.7	4.16 bcd
Hand + Paraquat	187.7	399.0	34.1 b	28.7	23.4	6.33 ab
Hand	177.2	455.5	36.4 b	21.2	22.3	7.58 a
เฉลี่ย	**177.8**	**379.7**	**71.7**	**24.6**	**29.7**	**4.84**
CV a%	119.5	38.7	94.7	257.9	243.1	70.5
CV b%	53.3	32.8	85.6	137.9	128.3	42.1

หมายเหตุ : Imazapic = ใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค

Imazapic in Row = ใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคเฉพาะในร่องอ้อย

Paraquat = ใช้สารเคมีหลังงอกพาราควอต

Hand = กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม

คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช มีค่าตั้งแต่ 0-10 โดย 0 คือ ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้ หรือมีวัชพืชขึ้นมาก 10 คือ ควบคุมวัชพืชได้ดีมากหรือไม่มีวัชพืช

ค่าเฉลี่ยภายในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 2 จำนวนลำ น้ำหนักลำ ความยาวลำ เส้นผ่าศูนย์กลางลำ และ CCS ของ**อ้อยปลูก**พันธุ์ขอนแก่น 3 เมื่อมีการปลูกพืชคลุมดินและใช้วิธีการกำจัดวัชพืชแบบผสมผสาน

พืชคลุมดิน/วิธีกำจัดวัชพืช	จำนวนลำเก็บเกี่ยว (ลำ/ไร่)	น้ำหนักลำเก็บเกี่ยว (ตัน/ไร่)	ความยาวลำ (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางลำ (ซม.)	CCS
ถั่วมะแฮะ	6,441	9.26	225.4	2.87	14.93
ถั่วขอ	6,893	9.50	222.9	2.89	14.50
ไม่ปลูกพืชคลุมดิน	6,197	8.54	222.9	2.90	14.43
Imazapic	5,140 c	6.47 c	208.0 b	2.90	14.44
Imazapic + Hand	7,608 a	10.93 a	237.5 a	2.96	14.72
Imazapic in Row + Hand	5,215 c	6.98 bc	216.3 ab	2.91	14.95
Imazapic in Row + Hand + Paraquat	6,049 bc	8.96 ab	220.0 ab	2.91	14.68
Hand + Paraquat	6,965 ab	9.98 a	227.4 ab	2.82	14.39
Hand	8,083 a	11.29 a	233.2 a	2.82	14.53
เฉลี่ย	**6,510**	**9.10**	**223.7**	**2.89**	**14.62**
CV a%	26.03	39.08	16.2	3.29	4.16
CV b%	17.02	22.45	8.0	6.09	4.14

หมายเหตุ : Imazapic = ใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค

Imazapic in Row = ใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคเฉพาะในร่องอ้อย

Paraquat = ใช้สารเคมีหลังงอกพาราควอต

Hand = กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม

ค่าเฉลี่ยภายในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 3 จำนวนลำ น้ำหนักลำ ความยาวลำ เส้นผ่าศูนย์กลางลำ และ CCS ของ**อ้อยตอ**พันธุ์ขอนแก่น 3 เมื่อมีการปลูกพืชคลุมดินและใช้วิธีการกำจัดวัชพืชแบบผสมผสาน

พืชคลุมดิน/วิธีกำจัดวัชพืช	จำนวนลำเก็บเกี่ยว (ลำ/ไร่)	น้ำหนักลำเก็บเกี่ยว (ตัน/ไร่)	ความยาวลำ (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางลำ (ซม.)	CCS
ถั่วมะแฮะ	5,158	7.26	123	2.53	7.81
ถั่วขอ	4,522	4.57	107	2.40	6.77
ไม่ปลูกพืชคลุมดิน	2,789	3.14	104	2.49	7.21
Imazapic	2,723	3.28	101	2.47	6.75
Imazapic + Hand	4,486	5.05	109	2.43	7.52
Imazapic in Row + Hand	4,306	5.70	125	2.56	7.73
Imazapic in Row + Hand + Paraquat	4,402	6.07	116	2.53	7.66
Hand + Paraquat	5,206	5.90	114	2.39	6.74
Hand	3,814	3.93	103	2.49	7.19
เฉลี่ย	**4,157**	**4.99**	**111**	**2.47**	**7.27**
CV a%	42.54	76.92	32.73	4.23	28.99
CV b%	40.77	63.13	24.9	7.29	25.74

หมายเหตุ : Imazapic = ใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค

Imazapic in Row = ใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคเฉพาะในร่องอ้อย

Paraquat = ใช้สารเคมีหลังงอกพาราควอต

Hand = กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม

ตารางที่ 4 ต้นทุนการผลิต รายได้ กำไร(บาท/ไร่) ของอ้อยปลูกในระบบการปลูกพืชคลุมดินและวิธีการป้องกันกำจัดวัชพืชแบบผสมผสาน

พืชคลุมดิน	วิธีป้องกันกำจัดวัชพืช	ค่าเตรียมดิน+ปลูกอ้อย (บาท/ไร่)	ปลูกพืชคลุม		กำจัดวัชพืช		ใส่ปุ๋ย		เก็บเกี่ยว		รวมต้นทุน (บาท/ไร่)	รายได้ (บาท/ไร่)	กำไร (บาท/ไร่)
			ค่าไถกลบ (บาท/ไร่)	ค่าเมล็ดพันธุ์ (บาท/ไร่)	ค่าแรง (บาท/ไร่)	ค่าสารเคมี (บาท/ไร่)	ค่าแรง (บาท/ไร่)	ค่าปุ๋ย (บาท/ไร่)	ผลผลิต (ตัน/ไร่)	ค่าแรง (บาท/ไร่)			
ไม่ปลูกพืชคลุม	Imazapic	2,350			140	140	600	1,800	6.1	1,815	**6,845**	6,050	**- 795**
	Imazapic + Hand	2,350			1,640	140	600	1,800	10.2	3,048	**9,578**	10,160	**582**
	Imazapic in Row + Hand	2,350			2,070	70	600	1,800	7.8	2,346	**9,236**	7,820	**- 1,416**
	Imazapic in Row + Hand + Paraquat	2,350			2,210	270	600	1,800	6.5	1,935	**9,165**	6,450	**- 2,715**
	Hand + Paraquat	2,350			2,140	200	600	1,800	9.6	2,865	**9,955**	9,550	**- 405**
	Hand	2,350			2,000	0	600	1,800	11.2	3,357	**10,107**	11,190	**1,083**
ปลูกถั่วมะแฮะ	Imazapic	2,350	300	250	140	140	600	1,800	7.5	2,250	**7,830**	7,500	**- 330**
	Imazapic + Hand	2,350	300	250	1,640	140	600	1,800	11.7	3,507	**10,587**	11,690	**1,103**
	Imazapic in Row + Hand	2,350	300	250	2,070	70	600	1,800	7.0	2,091	**9,531**	6,970	**- 2,561**
	Imazapic in Row + Hand + Paraquat	2,350	300	250	2,210	270	600	1,800	10.2	3,069	**10,849**	10,230	**- 619**
	Hand + Paraquat	2,350	300	250	2,140	200	600	1,800	9.0	2,703	**10,343**	9,010	**- 1,333**
	Hand	2,350	300	250	2,000	0	600	1,800	10.2	3,051	**10,351**	10,170	**- 181**
ปลูกถั่วขอ	Imazapic	2,350	300	250	140	140	600	1,800	5.9	1,758	**7,338**	5,860	**- 1,478**
	Imazapic + Hand	2,350	300	250	1,640	140	600	1,,800	10.9	3,276	**10,356**	10,920	**564**
	Imazapic in Row + Hand	2,350	300	250	2,070	70	600	1,800	6.1	1,842	**9,282**	6,140	**- 3,142**
	Imazapic in Row + Hand + Paraquat	2,350	300	250	2,210	270	600	1,800	10.2	3,057	**10,837**	10,190	**- 647**
	Hand + Paraquat	2,350	300	250	2,140	200	600	1,800	11.4	3,417	**11,057**	11,390	**333**
	Hand	2,350	300	250	2,000	0	600	1,800	12.5	3,750	**11,050**	12,500	**1,450**

หมายเหตุ : Imazapic = ใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค

Imazapic in Row = ใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิคเฉพาะในร่องอ้อย

Paraquat = ใช้สารเคมีหลังงอกพาราควอต

Hand = กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม

รายได้ = ผลผลิต (ตันต่อไร่) คูณ ราคาอ้อยตันละ 1,000 บาท

ในเขตดินร่วน

วัชพืชหลักที่พบในพื้นที่ปลูกอ้อยที่เป็นดินร่วนมีทั้งวัชพืชใบแคบ ใบกว้าง วัชพืชเถาเลื้อย และ กก ได้แก่ มะระขี้นก โสน สาบม่วง หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย หญ้าตีนติด แห้วหมู ผักเสี้ยนผี ถั่วเหลืองป่า สะอึก ครอบจักรวาล และ ปอวัชพืช

เมื่อกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีไปแล้ว 30 วัน บันทึกประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชโดยการให้คะแนน พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในวิธีการกำจัดวัชพืช โดยวิธีการกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพได้แก่ การใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม รองลงมาเป็นวิธีการใช้สารเคมีอาทราซีนฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย โดยมีค่าประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช 7.5 และ 5.5 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่า 5.0 คือสามารถควบคุมวัชพืชได้มากกว่าร้อยละ 50 ส่วนวิธีการที่มีประสิทธิภาพต่ำได้แก่ การใช้สารเคมีอามีทรีน อิมาซาพิค และอิมาซาพิคผสมเพนดิเมทาลิน ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย โดยให้ค่าประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช 2.25 3.58 และ 3.17 ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่า 5.0 คือสามารถควบคุมวัชพืชได้น้อยกว่าร้อยละ 50 (ตารางที่ 1)

ผลผลิต

อ้อยปลูก

ผลผลิตอ้อยปลูกและองค์ประกอบผลผลิตได้แก่ จำนวนลำ น้ำหนักลำ ความยาวลำ เส้นผ่าศูนย์กลางลำ และ CCS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ทั้งปัจจัยการปลูกพืชแซมและวิธีการกำจัดวัชพืช แม้ว่าถั่วพร้าจะสามารถเจริญเติบโตและให้น้ำหนักแห้งมากกว่าถั่วพุ่มแต่กลับให้ผลผลิตอ้อยต่ำกว่า โดยการปลูกถั่วพุ่ม ถั่วพร้า และการไม่ปลูกพืชแซมให้ผลผลิตอ้อย 11.69 10.86 และ 11.46 ตามลำดับ การปลูกถั่วพุ่มเป็นพืชแซมให้ผลผลิตอ้อยมากกว่าการไม่ปลูกพืชแซมร้อยละ 1.97 ส่วนการปลูกถั่วพร้าเป็นพืชแซมกลับทำให้ผลผลิตอ้อยลดลงร้อยละ 5.2 เนื่องจากถั่วพุ่มให้จำนวนลำเก็บเกี่ยวต่อไร่สูงที่สุด 8,508 ลำต่อไร่ เมื่อพิจารณาผลของวิธีการกำจัดวัชพืช พบว่า การใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามให้ผลผลิตต่อไร่เฉลี่ยสูงที่สุด 12.3 ตันต่อไร่ แม้ว่าการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม จะมีลำเก็บเกี่ยวค่อนข้างต่ำ 8,020 ลำต่อไร่เมื่อเทียบกับการใช้อาทราซีนซึ่งให้ลำเก็บดกี่ยว 8,359 ลำต่อไร่ แต่เนื่องจากการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม ให้ความยาวลำค่อนข้างมากคือ 239.6 ซม. และมีขนาดลำค่อนข้างใหญ่ 2.76 ซม. หากต้องการใช้สารเคมีผลการทดลองพบว่า การใช้ Imazapic ให้ผลผลิตอ้อย 12.12 ตันต่อไร่รองจากการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม โดยมีขนาดลำยาวและมีเส้นผ่าศูนย์กลางลำมากที่สุด 242.8 และ 2.78 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

อ้อยตอ

ผลผลิตอ้อยตอและองค์ประกอบผลผลิตได้แก่ ความยาวลำ น้ำหนักลำ จำนวนลำเก็บเกี่ยว และผลผลิตอ้อยตอ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพิจารณาปัจจัยการปลูกพืชแซม การปลูกถั่วพร้าเป็นพืชแซมให้ผลผลิตอ้อยตอ สูงที่สุด 21.6 ตัน/ไร่ มีจำนวนลำเก็บเกี่ยว และความยาวลำ มากที่สุด ส่วนการปลูกถั่วพุ่มเป็นพืชแซมให้ความหวานสูง 16.0 CCS ผลของวิธีการกำจัดวัชพืชแบบผสมผสานในเขตดินร่วน มีผลต่อจำนวนลำเก็บเกี่ยว โดยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามให้จำนวนลำเก็บเกี่ยวสูงที่สุด 14,632

ลำ/ไร่ การใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามแต่ให้ผลผลิตสูงสุด 22.3 ตัน/ไร่ รองลงมา เป็นวิธีการใช้อิมาซาพิคพ่นคุมก่อนวัชพืชงอกให้ผลผลิตอ้อยตอ 21.62 ตัน/ไร่ การใช้อิมาซาพิคยังให้อ้อยลำยาวที่สุด 247.9 ซม. แต่ขนาดลำในทุกกรรมวิธีไม่ต่างกันมากนักโดยอยู่ในช่วง 3.02 – 3.06 (ตารางที่ 3)

ต้นทุนการผลิต

จากข้อมูลต้นทุนการผลิตอ้อยปลูก รายได้และผลตอบแทน (ตารางที่ 4) โดยรายได้คำนวณมาจากผลผลิตต่อไร่ในแต่ละกรรมวิธีของการปลูกหรือไม่ปลูกพืชแซมกับวิธีการกำจัดวัชพืช คูณด้วย ราคาอ้อยที่ตันละ 1,000 บาท พบว่าเมื่อไม่มีการปลูกพืชคลุมดินในการกำจัดวัชพืชจะมีต้นทุนสูงที่สุดที่การใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม 11,325 บาท/ไร่ ต้นทุนต่ำสุดอยู่ที่การใช้สารเคมีอามีทรีน 8,030 บาท/ไร่ เมื่อดูเฉพาะต้นทุนการกำจัดวัชพืช โดยรวมค่าแรงงานกับค่าสารเคมี พบว่าการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามมีต้นทุนกำจัดวัชพืชมากที่สุด 2,000 บาท/ไร่ ในส่วนของการใช้สารเคมี การใช้สารเคมีอิมาซาพิค+เพดิเมทาลิน ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อยต้นทุนกำจัดวัชพืชมากที่สุด 410 บาท/ไร่ แต่การใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตามเป็นวิธีการที่ให้ผลผลิตอ้อยสูงที่สุด 15.25 ตัน/ไร่ วิธีการนี้จึงให้กำไรสูงที่สุด 3,925 บาท/ไร่

เมื่อมีการปลูกพืชแซมต้นทุนการผลิตจะเพิ่มขึ้นมาในส่วนของค่าเมล็ดพันธุ์ ซึ่งคิดที่ราคากิโลกรัมละ 25 บาท ถั่วพุ่มใช้เมล็ดพันธุ์ 2.5 กิโลกรัม/ไร่ เนื่องจากเป็นการปลูกระหว่างแถวอ้อยจึงใช้อัตราเมล็ดพันธุ์ลดลงครึ่งหนึ่ง ดังนั้นถั่วพุ่มจึงมีต้นทุนค่าเมล็ดพันธุ์ 63 บาท/ไร่ และมีค่าไถกลบพืชคลุมดินอีกไร่ละ 300 บาท รวมเป็นต้นทุนที่เพิ่มขึ้นจากการปลูกถั่วพุ่ม 363 บาท/ไร่ ส่วนถั่วพร้าใช้เมล็ดพันธุ์ 4 กิโลกรัม/ไร่ ใช้อัตราเมล็ดพันธุ์ลดลงครึ่งหนึ่งเช่นเดียวกับถั่วพุ่ม ถั่วพร้ามีต้นทุนค่าเมล็ดพันธุ์ 100 บาท/ไร่ และมีค่าไถกลบพืชคลุมดินอีกไร่ละ 300 บาท รวมเป็นต้นทุนที่เพิ่มขึ้นจากการปลูกถั่วพุ่ม 400 บาท/ไร่ การปลูกถั่วพุ่มกำจัดวัชพืชโดยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม มีต้นทุนการผลิตสูงที่สุด 10,647 บาท/ไร่ แต่วิธีการที่ให้กำไรสูงสุดคือการใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค+เพดิเมทาลิน ให้กำไร 3,697 บาท/ไร่ การปลูกถั่วพร้าแซมอ้อยการใช้แรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม มีต้นทุนการผลิตสูงที่สุด 10,108 บาท/ไร่ แต่วิธีการที่ให้กำไรสูงสุดคือสารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค ให้กำไร 3,075 บาท/ไร่ และวิธีการที่ได้กำไรสูงสุดจะเป็นวิธีการที่ให้ผลผลิตต่อไร่สูงที่สุด

เมื่อพิจารณาผลผลิตร่วมกับต้นทุนการผลิตและผลตอบแทน สรุปได้ ดังนี้

1. เมื่อไม่มีการปลูกพืชแซมอ้อย ควรใช้วิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม เนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ผลผลิตสูง 15.25 ตัน/ไร่ และสามารถให้กำไร 3,925 บาท/ไร่
2. การปลูกถั่วพุ่มแซมอ้อย ควรใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค+เพดิเมทาลิน เนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ผลผลิตสูง 13.17 ตัน/ไร่ และให้กำไร 3,697 บาท/ไร่
3. การปลูกถั่วพร้าแซมอ้อย ควรใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค เนื่องจากเป็นวิธีที่ให้ผลผลิตสูง 12.15 ตัน/ไร่ และให้กำไร 3,075 บาท/ไร่

ตารางที่ 1 น้ำหนักแห้งของวัชพืช ถั่วพุ่ม ถั่วพร้า และประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของพืชแซมและวิธีการกำจัดวัชพืชแบบผสมผสาน

พืชแซม/วิธีกำจัดวัชพืช	วัชพืช (กรัม/ตารางเมตร)		ถั่วพุ่ม (กรัม/ตารางเมตร)	ถั่วพร้า (กรัม/ตารางเมตร)	ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช
	ก่อนไถกลบพืชแซม	หลังเก็บเกี่ยวอ้อย			
ถั่วพุ่ม	46.9 b	30.7	50.2	0.0	4.55
ถั่วพร้า	35.4 b	19.8	0.0	389.1	4.35
ไม่ปลูกพืชแซม	100.4 a	21.3	0.0	0.0	4.30
Atrazine	67.6	24.9	15.7	95.0	5.50 ab
Ametryn	87.1	21.9	16.8	108.1	2.25 c
Imazapic	52.9	24.0	12.4	146.2	3.58 bc
Imazapic+Pendimethalin	56.7	20.5	14.8	158.3	3.17 c
Hand	40.3	28.3	24.2	173.3	7.50 a
เฉลี่ย	**60.9**	**23.9**	**16.7**	**133.7**	**4.40**
CV a%	103.5	88.8	227.5	139.9	82.76
CV b%	95.6	141.0	87.1	85.6	60.67

หมายเหตุ : Atrazine = ใช้สารเคมีอาทราซีน 480 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Ametryn = ใช้สารเคมีอามีทรีน 400 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Imazapic = ใช้สารเคมีอิมาซาพิค 24 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Imazapic+Pendimethalin = ใช้สารเคมีอิมาซาพิค+เพดิเมทาลิน 24+130 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Hand = กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม

คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช มีค่าตั้งแต่ 0-10 โดย 0 คือ ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้หรือมีวัชพืชขึ้นมาก และ 10 คือ ควบคุมวัชพืชได้ดีมากหรือไม่มีวัชพืช

ค่าเฉลี่ยภายในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 2 จำนวนลำ น้ำหนักลำ ความยาวลำ เส้นผ่านศูนย์กลางลำ และ CCS ของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 เมื่อมีการปลูกพืชแซมและใช้วิธีการกำจัดวัชพืชแบบผสมผสาน

พืชแซม/วิธีกำจัดวัชพืช	จำนวนลำเก็บเกี่ยว (ลำ/ไร่)	น้ำหนักลำเก็บเกี่ยว (ตัน/ไร่)	ความยาวลำ (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางลำ (ซม.)	CCS
ถั่วพุ่ม	8,508	11.69	235.1	2.72	14.73
ถั่วพร้า	7,288	10.86	232.2	2.79	14.59
ไม่ปลูกพืชแซม	8,125	11.46	232.1	2.65	14.79
Atrazine	8,359	10.92	225.8	2.65	14.75
Ametryn	7,353	9.79	225.4	2.76	14.82
Imazapic	8,103	12.12	242.8	2.78	14.49
Imazapic+Pendimethalin	8,033	11.56	231.8	2.64	14.92
Hand	8,020	12.30	239.6	2.76	14.53
เฉลี่ย	**7,974**	**11.34**	**233.1**	**2.72**	**14.70**
CV a%	20.9	34.8	13.1	7.6	6.96
CV b%	14.2	24.5	10.7	7.7	6.77

หมายเหตุ : Atrazine = ใช้สารเคมีอาทราซีน 480 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย
Ametryn = ใช้สารเคมีอามีทรีน 400 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย
Imazapic = ใช้สารเคมีอิมาซาพิค 24 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย
Imazapic+Pendimethalin = ใช้สารเคมีอิมาซาพิคผสมกับเพนดิเมทาลิน 24+130 g ai/ไร่ โดยฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย
Hand = กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม

ตารางที่ 3 จำนวนลำ น้ำหนักลำ ความยาวลำ เส้นผ่านศูนย์กลางลำ และ CCS ของอ้อยตอพันธุ์ขอนแก่น 3 เมื่อมีการปลูกพืชแซมและใช้วิธีการกำจัดวัชพืชแบบผสมผสาน

พืชแซม/วิธีกำจัดวัชพืช	จำนวนลำเก็บเกี่ยว (ลำ/ไร่)	น้ำหนักลำเก็บเกี่ยว (ตัน/ไร่)	ความยาวลำ (ซม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางลำ (ซม.)	CCS
ถั่วพุ่ม	14,471	20.22	234.5	3.05	16.00
ถั่วพร้า	14,246	21.60	246.2	3.03	15.33
ไม่ปลูกพืชแซม	12,900	18.02	232.8	3.05	15.47
Atrazine	14,132	18.73	235.3	3.02	15.56
Ametryn	12,917	18.43	228.9	3.05	15.75
Imazapic	14,375	21.62	247.9	3.04	15.62
Imazapic+Pendimethalin	13,306	18.65	233.0	3.05	16.22
Hand	14,632	22.30	244.0	3.06	14.85
เฉลี่ย	13,872	19.95	237.8	3.04	15.60
CV a%	20.32	28.90	15.90	7.01	7.36
CV b%	12.18	19.88	9.04	5.19	8.57

หมายเหตุ : Atrazine = ใช้สารเคมีอาทราซีน 480 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Ametryn = ใช้สารเคมีอามีทรีน 400 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Imazapic = ใช้สารเคมีอิมาซาพิค 24 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Imazapic+Pendimethalin = ใช้สารเคมีอิมาซาพิคผสมกับเพนดิเมทาลิน 24+130 g ai/ไร่ โดยฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Hand = กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม

ตารางที่ 4 ต้นทุนการผลิต รายได้ กำไร(บาท/ไร่) ของอ้อยปลูกในระบบการปลูกพืชแซมและวิธีการป้องกันกำจัดวัชพืชแบบผสมผสาน

พืชแซม	วิธีป้องกันกำจัดวัชพืช	ค่าเตรียมดิน+ปลูกอ้อย (บาท/ไร่)	ปลูกพืชคลุม		กำจัดวัชพืช		ใส่ปุ๋ย		เก็บเกี่ยว		รวมต้นทุน (บาท/ไร่)	รายได้ (บาท/ไร่)	กำไร (บาท/ไร่)
			ค่าไถกลบ (บาท/ไร่)	ค่าเมล็ดพันธุ์ (บาท/ไร่)	ค่าแรง (บาท/ไร่)	ค่าสารเคมี (บาท/ไร่)	ค่าแรง (บาท/ไร่)	ค่าปุ๋ย (บาท/ไร่)	ผลผลิต (ตัน/ไร่)	ค่าแรง (บาท/ไร่)			
ไม่ปลูกพืชแซม	Atrazine	2,350	-	-	140	80	600	1800	11.01	3,303	**8,273**	11,010	**2,737**
	Ametryn	2,350	-	-	140	110	600	1,800	10.1	3,030	**8,030**	10,100	**2,070**
	Imazapic	2,350	-	-	140	140	600	1800	11.25	3,375	**8,405**	11,250	**2,845**
	Imazapic+Pendimethalin	2,350	-	-	140	270	600	1800	9.69	2,907	**8,067**	9,690	**1,623**
	Hand	2,350	-	-	2,000	0	600	1800	15.25	4,575	**11,325**	**15,250**	**3,925**
ปลูกถั่วพุ่ม	Atrazine	2,350	300	63	140	80	600	1800	10.18	3,054	**8,387**	10,180	**1,794**
	Ametryn	2,350	300	63	140	110	600	1,800	10.36	3,108	**8,471**	10,360	**1,890**
	Imazapic	2,350	300	63	140	140	600	1800	12.94	3,882	**9,275**	12,940	**3,666**
	Imazapic+Pendimethalin	2,350	300	63	140	270	600	1800	13.17	3,951	**9,474**	**13,170**	**3,697**
	Hand	2,350	300	63	2,000	0	600	1800	11.78	3,534	**10,647**	11,780	**1,134**
ปลูกถั่วพร้า	Atrazine	2,350	300	100	140	80	600	1800	11.56	3,468	**8,838**	11,560	**2,722**
	Ametryn	2,350	300	100	140	110	600	1,800	8.9	2,670	**8,070**	8,900	**830**
	Imazapic	2,350	300	100	140	140	600	1800	12.15	3,645	**9,075**	**12,150**	**3,075**
	Imazapic+Pendimethalin	2,350	300	100	140	270	600	1800	11.82	3,546	**9,106**	11,820	**2,714**
	Hand	2,350	300	100	2,000	0	600	1800	9.86	2,958	**10,108**	9,860	**- 248**

หมายเหตุ : Atrazine = ใช้สารเคมีอาทราซีน 480 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Ametryn = ใช้สารเคมีอามีทรีน 400 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Imazapic = ใช้สารเคมีอิมาซาพิค 24 g ai/ไร่ ฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Imazapic+Pendimethalin = ใช้สารเคมีอิมาซาพิคผสมกับเพนดิเมทาลิน 24+130 g ai/ไร่ โดยฉีดพ่นหลังปลูกเฉพาะในแถวอ้อย

Hand = กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม

รายได้ = ผลผลิต (ตันต่อไร่) คูณ ราคาอ้อยตันละ 1,000 บาท

1.5 สถานการณ์การระบาดและการจัดการปัญหาวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชในอ้อย

<u>พื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ</u>

เริ่มการสำรวจในแปลงอ้อยปลูกใหม่อายุ ประมาณ 2-4 เดือน ในพื้นที่ปลูกอ้อย 11 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาฬสินธุ์ ขอนแก่น อุดรธานี มหาสารคาม ชัยภูมิ หนองคาย เลย หนองบัวลำภู ร้อยเอ็ด นครพนม และมุกดาหาร รวมเป็น 235 แปลง วัชพืชที่พบเหลือในแปลงอ้อยมากที่สุดในการสำรวจคือ สาบม่วง และ หญ้าตีนนก (*Digitaria adcendens*) เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมปลูกอ้อยรอฝน โดยไม่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชพ่นคลุมดินก่อนวัชพืชงอก และเมื่ออ้อยอายุ 1-2 เดือนมีวัชพืชเริ่มงอกแล้วจะพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat เพื่อกำจัดวัชพืชในระหว่างแถว มีบางรายที่จะพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอก ได้แก่ diuron หรือ atrazine เพื่อกำจัดวัชพืช และเมื่ออ้อยอายุ 2-3 เดือน มีการใช้รถไถพรวนกำจัดวัชพืชที่หลงเหลือในระหว่างแถว

<u>พื้นที่ภาคกลาง</u>

สำรวจแปลงอ้อยปลูกใหม่ในจังหวัดสุพรรณบุรี ลพบุรี สระบุรี และ กาญจนบุรี รวมทั้งหมด 43 แปลง จากการสำรวจพบว่า สารกำจัดวัชพืชที่เกษตรกรปลูกอ้อยนิยมใช้ เป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก ได้แก่ atrazine และสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก ได้แก่ paraquat และในช่วงที่อ้อยมีอายุ 1-2 เดือน พบวัชพืชใบแคบที่รอดตายจากการใช้atrazine 2 ชนิด คือ หญ้าปากควาย *Doctyloctenium aegypium* (L.) Beauv. และ หญ้าตีนกา *Eleusine indica* (L.) Gaertn. แต่ไม่สามารถเก็บเมล็ดวัชพืชดังกล่าวได้ เนื่องจากเกษตรกรในพื้นที่ภาคกลางจะมีการจัดการวัชพืชโดยการไถกำจัดวัชพืชระหว่างร่องอ้อยในระยะ 1-2 เดือนหลังจากการใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine และหลังจากอ้อยอายุ 3-4 เดือน จะใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย paraquat พ่นระหว่างแถว ทำให้มีปัญหาวัชพืชรบกวนในแปลงอ้อยลดลง

<u>การทดสอบความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช</u>

นำเมล็ดวัชพืชที่รวบรวมจากการสำรวจทั้งหมด 158 ประชากร มาเพาะในกระบะพลาสติก ฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธี ผลการทดลองสามารถยืนยันได้ว่าวัชพืชทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ สาบม่วง หญ้าตีนนก หญ้าปากควาย และหญ้าตีนกา ในแหล่งปลูกอ้อยเขตภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ยังไม่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช atrazine, diuron และparaquat

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกมีความแตกต่างกันในแต่ละสถานที่ดำเนินการ แต่ส่วนใหญ่ สารกำจัดวัชพืชที่นำมาทดลองทุกกรรมวิธี สามารถควบคุมวัชพืชหลัง 60 วันได้ในระดับดี มีคะแนนมากกว่า 7.0 ยกเว้น สารกำจัดวัชพืช atrazine สามารถควบคุมวัชพืชได้น้อย มีระดับคะแนนการควบคุมอยู่ที่ 2.5 คะแนน ในแปลงทดลองที่จังหวัดขอนแก่น

สำหรับประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังงอก พบว่าที่ระยะ 30 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ametryn, hexazineone/diuron, paraquat, trifloxysulfuron/ametryn+paraquat, ametryn+2,4-D และ paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ที่ระยะ 60 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชเริ่มลดลง การพ่นสารกำจัดวัชพืช paraquat, และ trifloxysulfuron/ametryn+paraquat สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีในหลายพื้นที่ แต่ ในทุกแปลงทดลองพบว่า paraquat+diuron สามารถควบคุมวัชพืชหลักได้ดี

วัชพืชเถาเลื้อยที่พบในแปลงอ้อยได้แก่ สะอึก กระทกรก จิงจ้อดอกขาว ตดหมูตดหมา และ ถั่วลาย ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อไม่พบเนื่องมีการใส่หัวครอบในเวลาพ่น ยกเว้นการพ่น paraquat 27.6% SL อัตรา 200 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ หากมีความจำเป็นต้องกำจัดวัชพืชเถาเลื้อยที่ขึ้นในกออ้อย อาจใช้แรงงานคนหรือเลือกสารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่ออ้อย เช่น 2,4-D ฉีดพ่นเป็นจุดอีกครั้งหนึ่ง

สำหรับการจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การปลูกถั่วขอ เป็นพืชคลุมดินก่อนการปลูกอ้อยมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดวัชพืชในเขตดินร่วนทราย โดยช่วยลดปริมาณวัชพืชในแปลงอ้อยลงได้ร้อยละ 14.3 และทำให้ผลผลิตอ้อยปลูกรวมกับอ้อยตอเพิ่มขึ้นร้อยละ 42.3 เมื่อพิจารณาต้นทุนการผลิตและผลตอบแทน พบว่าเมื่อไม่ปลูกพืชคลุมดิน กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม เป็นวิธีที่ให้ผลผลิตสูง และสามารถให้กำไร 1,083 บาท/ไร่ แต่เมื่อใช้ถั่วขอเป็นพืชคลุมดิน กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม ให้ผลผลิตและกำไรสูงกว่าคือ 1,450 บาท/ไร่

วิธีการกำจัดวัชพืชที่สามารถทำให้ปริมาณวัชพืชลดลงได้ดี และให้ผลผลิตอ้อยสูงสุดในพื้นที่เขตดินร่วนคือการใช้แรงงานและเครื่องมือติดท้ายรถไถเดินตาม โดยมีค่าประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช 7.5 โดยให้ผลผลิตอ้อยปลูกและอ้อยตอสูงสุด 12.30 ตัน/ไร่ และ 22.30 ตัน.ไร่ ตามลำดับ รองลงมาเป็นการใช้อิมาซาพิคเฉพาะในแถวอ้อย แม้ว่าจะมีค่าประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช 3.58 แต่ให้ผลผลิตอ้อยปลูกและอ้อยตอสูง 12.11 ตัน/ไร่ และ 21.62 ตัน.ไร่ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลผลิตร่วมกับต้นทุนการผลิตพบว่า เมื่อไม่มีการปลูกพืชแซมอ้อย กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม เป็นวิธีที่ให้ผลตอบแทนสูงสุด 3,925 บาท/ไร่ แต่เมื่อปลูกถั่วพุ่มแซมอ้อย และใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค+เพดิเมทาลิน จะให้ผลกำไรรองลงมาคือได้กำไร 3,697 บาท/ไร่

จากการสำรวจวัชพืชในไร่อ้อยในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่ายังไม่มีปัญหาการระบาดของวัชพืชต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช atrazine, diuron และ paraquat แต่การพบวัชพืชหลายชนิดเช่น สาบม่วง หญ้าปากควาย หญ้าตีนกา และหญ้าตีนนก หลงเหลือในแปลงหลังการใช้สารกำจัดวัชพืชนั้น อาจเนื่องมาจากอัตราและระยะเวลาการใช้สารดังกล่าว อาจไม่ถูกต้อง จึงไม่สามารถกำจัดวัชพืชเหล่านั้นได้ แต่ในเขตภาคกลางที่เกษตรกรนิยมใช้รถไถพรวนระหว่างร่องอ้อยนั้น สามารถช่วยแก้ปัญหาวัชพืชเหล่านี้ได้อย่างดี

เอกสารอ้างอิง

เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2546. วัชพืชในไร่อ้อยและการป้องกันกำจัด. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ, 33 น.

จรรยา มณีโชติ ปราโมทย์ เกิดศิริ อัศวิน โนทะยะ และ ประทีป กระแสสินธุ์. 2543ก. หญ้าข้าวนกต้านทานสารกำจัดวัชพืชโพรพานิลและบิวตาคลอร์. เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการประจำปี 2543 กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร 15-17 มีนาคม 2543 ณ คลองทรายรีสอร์ท อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา.

จรรยา มณีโชติ อัศวิน โนทะยะ และ ประทีป กระแสสินธุ์. 2543ข. วัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทในสวนปาล์มน้ำมัน. วิทยาสารสมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย ฉบับที่ 1 หน้า 23-29.

กิจกรรมที่ 2 วิจัยและพัฒนาวิธีการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูอ้อย

ผู้วิจัย

อิสระ พุทธสิมมา ทักษิณา ศันสยะวิชัย ดารารัตน์ มณีจันทร์
อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว ประพันธ์ ประเสริฐศักดิ์ ดุจลดา พิมรัตน์
อรทัย วรสุทธิ์พิศาล

Issara Buddhasimma Taksina Sansayawichai Dararat Maneechan
Amonrat Kitjaideaw Praphan Prasertsak Duchrada Pimrat
Orratai Varasutpaisan

คำสำคัญ : อ้อย บูรณาการ หนอนกออ้อย แมลงนูนหลวง ความเสียหายผลผลิต

บทคัดย่อ

ทำการสำรวจแมลงในพื้นที่ปลูกอ้อยภาคตะวันออกเฉียงเหนือตั้งแต่ปี 2554-2556 พบว่าแมลงอ้อยที่สำคัญคือหนอนกอลายจุดเล็ก และหนอนกอลายใหญ่ แต่ยังไม่มีส่งผลให้เกิดความเสียหายในระดับเศรษฐกิจ การแพร่ระบาดของแมลงความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญ โดยความชื้นที่ระดับ 70% ขึ้นไปหนอนกอลายจุดใหญ่จะมีการทำลายมากที่สุด ส่วนในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตกแมลงนูนหลวงเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญ เมื่อทำการศึกษาการเข้าทำลายในช่วงปี 2555-2558 ทั้งในไร่เกษตรกรและในเรือนทดลองพบว่าการทดลองปล่อยหนอนวัย3 ตั้งแต่ 1 ตัวทำให้ผลผลิตอ้อยลดลง เนื่องจากน้ำหนักต่อลำลดลง ในขณะที่ไม่ทำให้ความหวานของอ้อยลดลง ส่วนการสำรวจในไร่เกษตรกร พบว่า หนอนแมลงนูนหลวงมีผลให้อ้อยเกิดความสูญเสียต่อผลผลิตน้ำหนักต่อไร่และจำนวนลำของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่อายุ 12 เดือนลดลง โดยการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงที่ระดับ 32.22% ส่งผลให้ผลผลิตอ้อยลดลง 55.81% สำหรับความสูญเสียความหวานนั้น พบว่าอ้อยมีค่าความหวานสูงขึ้นเนื่องจากการสูญเสียน้ำ ระยะเวลาของการทำลายของแมลงนูนหลวงมีผลต่อความเสียหาย เนื่องจากอ้อยจะแสดงอาการขาดน้ำเร็ว และหากไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้ในช่วงแรกจะทำให้สูญเสียผลผลิตทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบว่ามีพื้นที่การระบาดเพิ่มขึ้นเช่นในเขตอำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธุ์ การให้น้ำมีผลทำให้วงจรชีวิตของด้วงหนวดยาวเปลี่ยนไป แมลงเป็นตัวเต็มวัยเร็วขึ้นและมีหนอนหลายขนาดอยู่ในพื้นที่เดียวกัน

Key words : sugarcane integrated stem borer white grub *Lepidiota stigma*

Abstract

In the activities on insect pests of sugarcane, from field survey during 2011-2013 in the northeast fields, the most important insect pests were *Chilo infuscatellus* and C. *tumidicostalis* the infestation depended on relative humidity rather than rain fall and soil moisture. In central part of sugarcane planting area, the most important pest was cane grub

(Lepidiota stigma). Number of the worms infestation per tool was studied. The results showed that 1 worm could cause the yield reduction due to weight of cane was reducing. By crop cutting yield analysis in the farmers' field showed that sugarcane Khonkhen3 with 32.22% infested with the cane grub caused 55.81% cane yield reduction. However CCS of the cane increased, may be because of loss of water content in the affected stalks. There was new affected area reported. Prachuap Khiri Khan province. In the same field, different sizes of the white grub worms, different instars, were found. This may be conclude that the life cycle of the grub was disturbed by irrigation.

2.1 การสำรวจแมลงศัตรูอ้อยในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

1. สำรวจและสุ่มนับจำนวนหรือรอยทำลายของแมลงศัตรูที่สำคัญ ในพื้นที่ปลูกจังหวัดขอนแก่น อำนาจเจริญ นครราชสีมา ระหว่างปี 2554-55 ตามวิธีการที่เหมาะสมของแมลงแต่ละชนิด เช่น การสุ่มนับแบบ systematic เป็นต้น ทุกเดือน (อ้อยอายุ 1-4 เดือน เน้นหนอนกอลายจุดเล็ก หนอนกอสีชมพู หนอนกอสีขาว : อ้อยอายุ 5-8 เดือน เน้น หนอนกอลายจุดใหญ่ : หลังการเก็บเกี่ยวอ้อย เน้นปลวก ด้วงหนวดยาว)

2. วิเคราะห์ชนิด รูปแบบการแพร่ระบาด แหล่งผลิตอ้อยที่มีการแพร่ระบาดหรือมีแนวโน้มว่าจะแพร่ระบาด

3. พัฒนาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอ้อยแบบบูรณาการ

ศึกษาและรวบรวมต้นแบบการจัดการแมลงศัตรูอ้อยแบบบูรณาการที่เหมาะสมในแต่ละพื้นที่ที่มีแนวโน้มหรือเสี่ยงต่อการระบาดของแมลงศัตรูอ้อย และสำรวจความพร้อมของเกษตรกรที่ร่วมงานวิจัย ในแต่ละแหล่งผลิตที่สำคัญ

- คัดเลือกเกษตรกร วิเคราะห์ชนิดแมลงศัตรูที่สำคัญ และแนวโน้มการระบาดในแหล่งผลิตที่สำคัญ โดยใช้ข้อมูลจากโปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการทดลองแผนที่สารสนเทศชนิดและการแพร่ระบาดของแมลงศัตรูอ้อยที่สำคัญ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่ดำเนินการในปี 2554-55
- คัดเลือกพื้นที่และระบบการจัดการแมลงศัตรูอ้อยแบบบูรณาการ เพื่อเป็นต้นแบบการจัดการแบบบูรณาการที่เหมาะสม ในแหล่งปลูกที่สำคัญ
- วางแผนการทดลองโดยเปรียบเทียบวิธีการจัดการแบบบูรณาการ แบบเกษตรกร และการการใช้สารกำจัดแมลงอย่างเดียว ใช้หลักสถิติในการทดลองเปรียบเทียบ เช่น RCB และดำเนินการวิจัยและพัฒนารูปแบบการจัดการแมลงศัตรูอ้อยที่สำคัญแบบบูรณาการ ในแหล่งปลูกอ้อยตามภูมินิเวศน์ที่สำคัญ โดยดำเนินการแปลงเกษตรกร ในช่วงปี2556-57
- วิเคราะห์สรุปผล

2.2 การศึกษาความเสียหายของผลผลิตอ้อยเนื่องจากแมลงนูนหลวงในไร่อ้อยในพื้นที่ภาคตะวันตก

2.2.1 การศึกษาในสภาพเรือนเพาะชำ ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนมกราคม 2555-2558 โดยใช้อ้อยพันธุ์ขอนแก่น3 ปลูกในบ่อซีเมนต์แล้วนำตัวอ่อนของแมลงนูนหลวงอ้อย (วัย 3) นำมาทดลองปล่อยในบ่อซีเมนต์ที่ปลูกอ้อยเอาไว้ ตามกรรมวิธีที่กำหนดโดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำคือ ปล่อยตัวอ่อนจำนวน 0 1 3 5 และ 7 ตัว ตามลำดับ

เก็บข้อมูลน้ำหนักต่อลำ ความยาวลำและความหวานนำข้อมูล ที่ได้มาคำนวณหาค่าความสูญเสีย

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความสูญเสีย} = \frac{\text{ผลผลิตที่สูญเสีย}}{\text{ผลผลิตที่ปราศจากการทำลาย}} \times 100$$

2.2.2 การสำรวจความสูญเสียจากการทำลายของแมลงนูนในไร่เกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี และราชบุรี สำรวจแปลงอ้อยที่เคยพบประวัติการเข้าทำลายของแมลงนูนหลวง และทำการเก็บเก็บเกี่ยวอ้อยช่วงการเก็บเกี่ยวเข้าโรงงาน โดยสุ่มเก็บอ้อย (ปลูกและตอ) ที่มีการทำลายของหนอนแมลงนูนหลวง โดยสุ่มแถวอ้อย 3 แถว ยาว 8 เมตร (ระยะปลูกอ้อย 1.50 เมตร) สำรวจต้นอ้อยทุกต้นเพื่อดูการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงแล้วคัดเลือกแปลงที่มีการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงที่ระดับต่างๆ แล้วเก็บข้อมูลผลผลิตต่อไร่ น้ำหนักต่อลำ ความยาวลำและความหวานนำข้อมูล ที่ได้มาคำนวณหาค่าความสูญเสีย

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความสูญเสีย} = \frac{\text{ผลผลิตที่สูญเสีย}}{\text{ผลผลิตที่ปราศจากการทำลาย}} \times 100$$

ผลการวิจัย

2.1 การสำรวจแมลงศัตรูอ้อยในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

จังหวัดขอนแก่น

จัดทำแปลงทดลองในอ้อยตอพันธุ์ขอนแก่น 2 ของแปลงเกษตรกร บ้านห้วยแล้ง ตำบลคำแคน อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น ตรวจนับแมลง 4 ครั้ง พบทุกกรรมวิธีมีการระบาดของหนอนกออ้อยต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ(มีทำลายลำมากว่าร้อยละ 10)(ตารางที่ 1) โดยการควบคุมแบบบูรณาการซึ่งมีการคลุมใบอ้อยในแปลงอ้อยตอมีการระบาดของหนอนกอทั้ง 4 ชนิดรวมกันน้อยที่สุดไม่เกิน ร้อยละ 2.24 ส่วนผลผลิตการควบคุมแบบบูรณาการ(คลุมด้วยใบอ้อย) ให้ผลผลิตสูงสุด 10.24 ตันต่อไร่ รองรงมาคือการควบคุมแบบใช้สารเคมีและกรรมวิธีแบบเกษตรกรให้ผลผลิต 9.72 และ 9.38 ตันต่อไร่ ตามลำดับ

จังหวัดอำนาจเจริญ

ปี 2556 ทำการสำรวจการเข้าทำลายของหนอนกออ้อยและสัมภาษณ์เกษตรกร ที่อำเภอปทุมราชวงศา และอำเภอชานุมาน จังหวัดอำนาจเจริญ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่นิยมปลูกอ้อยในจังหวัดอำนาจเจริญ พบว่า เกษตรกร

นิยมปลูกอ้อยพันธุ์อู่ทอง 5 และขอนแก่น 3 พบปัญหาหนอนกออ้อยเข้าทำลายในอ้อยอายุ 1-4 เดือน แต่ไม่มีการป้องกันกำจัด และไม่ค่อยมีความรู้การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอ้อย เน้นการจัดการดิน เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดี เนื่องจากดินที่ปลูกเป็นดินร่วนทราย และดินร่วนเหนียว (ตารางที่ 2) และผลผลิตที่ได้ค่อนข้างสูง 15 และ 18 ตันต่อไร่ (ตารางที่ 3) จากการสำรวจการเข้าทำลายของหนอนกออ้อยที่อำเภอชานุมาน 2 ครั้ง พบว่า แปลงอ้อยที่ปลูกแบบบูรณาการ (คลุมด้วยใบอ้อย) จะพบการเข้าทำลายกอของหนอนกอจุดเล็ก 2.3% และ 0.1% ในการสำรวจครั้งที่ 1 และการสำรวจครั้งที่ 2 ตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายกอต่ำกว่าแปลงอ้อยที่ปลูกแบบการจัดการของเกษตรกร ซึ่งมีการเข้าทำลายกอของหนอนกอลายจุดเล็ก 3.0% และ1.4% ในการสำรวจครั้งที่ 1 และการสำรวจครั้งที่ 2 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) จากการสำรวจการเข้าทำลายของหนอนกออ้อยในอำเภอปทุมราชวงศา 2 ครั้ง พบว่า แปลงอ้อยที่ปลูกแบบบูรณาการ (คลุมด้วยใบอ้อย) จะพบการเข้าทำลายกอของหนอนกอจุดเล็ก 1.5% และ1.0%ในการสำรวจครั้งที่ 1 และการสำรวจครั้งที่ 2 ตามลำดับ และพบการเข้าทำลายกอของหนอนกอลายจุดเล็กในแปลงอ้อยที่ปลูกแบบการจัดการของเกษตรกร 3.2% และ 0% ในการสำรวจครั้งที่ 1 และการสำรวจครั้งที่ 2 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบการเข้าทำลายกอของหนอกอสีชมพู 1% ในการสำรวจครั้งที่ 2 (ตารางที่ 4) จากการสำรวจการเข้าทำลายของหนอนกออ้อยทั้ง 2 อำเภอ จะเห็นได้ว่า ระดับการทำลายยังไม่ถึงระดับเศรษฐกิจ โดยระดับเศรษฐกิจของหนอนกออ้อย คือ การเข้าทำลายกอ 10% ในฤดูแล้ง และ 15% ในฤดูฝน

ปี 2557 ทำการสำรวจการเข้าทำลายของหนอนกออ้อยแปลงเดิมจากปีที่แล้ว แต่เกษตรกรที่อำเภอชานุมาน และอำเภอปทุมราชวงศา ทำการเก็บเกี่ยวอ้อยตอ 1 และไถแปลง จึงสำรวจการเข้าทำลายของหนอนกออ้อยในแปลงใหม่ ได้แปลงอ้อยใหม่ที่อำเภอปทุมราชวงศา เป็นแปลงอ้อยตอ 2 พันธุ์อู่ทอง 5 ทำการแบ่งแปลงอ้อยเป็น 3 แปลงย่อย และทำการสำรวจการเข้าทำลายของหนอนกออ้อย พบว่า แปลงอ้อยแปลงที่ 1 มีการเข้าทำลายกอและลำของหนอนกอสีชมพู 6.5% และ3.5% ตามลำดับ แปลงอ้อยแปลงที่ 2 มีการเข้าทำลายกอและลำของหนอนกอสีชมพู 8.5% และ4.3% ตามลำดับ แปลงอ้อยแปลงที่ 3 มีการเข้าทำลายกอและลำของหนอนกอสีชมพู 9.8% และ6.5% ตามลำดับ และพบการเข้าทำลายกอและลำของหนอนกอลายจุดเล็ก 2.0% และ 0.8% ตามลำดับ (ตารางที่ 5) จากการเข้าทำลายของหนอนกออ้อยสีชมพูและหนอนกอลายจุดเล็กทั้ง 3 แปลง มีระดับความเสียหายที่ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ จึงไม่ได้ศึกษาการป้องกันกำจัด

สรุปผลการทดลอง

การเข้าทำลายของหนอนกออ้อยในแปลงอ้อยตอ อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น และอำนาจเจริญ อำเภอชานุมาน และอำเภอปทุมราชวงศา จังหวัดอำนาจเจริญ ในปี 2556 มีการเข้าทำลายกออ้อยที่ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ ไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิต แต่การสำรวจการเข้าทำลายของหนอนกอสีชมพูในแปลงอ้อยตอที่อำเภอปทุมราชวงศา จังหวัดอำนาจเจริญ ในปี 2557 มีแนวโน้มการทำลายกอและลำที่อาจถึงระดับเศรษฐกิจ จึงควรเฝ้าระวังและติดตามการเข้าทำลายของหนอนกออ้อยในปีถัดไป

ตารางที่ 1 ร้อยละการทำลายกอของหนอนกออ้อย เมื่ออายุอ้อย 1-4 เดือน ในแปลงทดลอง บ้านห้วยแล้ง ตำบลคำแคน อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น ปี 2557

กรรมวิธี	อายุอ้อย 1 เดือน					อายุอ้อย 2 เดือน					อายุอ้อย 3 เดือน					อายุอ้อย 4 เดือน				
	หนอนกอลายจุดเล็ก	หนอนกอสีขาว	หนอนกอสีชมพู	หนอนกอลายจุดใหญ่	รวม	หนอนกอลายลายจุดเล็ก	หนอนกอลายสีขาว	หนอนกอลายสีชมพู	หนอนกอลายจุดใหญ่	รวม	หนอนกอลายลายจุดเล็ก	หนอนกอลายสีขาว	หนอนกอลายสีชมพู	หนอนกอลายจุดใหญ่	รวม	หนอนกอลายลายจุดเล็ก	หนอนกอลายสีขาว	หนอนกอลายสีชมพู	หนอนกอลายจุดใหญ่	รวม
แบบเกษตรกร	5	1	0	0	6	14	4	0	0	18	19	3	0	0	22	19.5	1.5	0	0	21.0
ใช้สารเคมี	5.5	0.2	0	0	5.7	9.5	1.2	0	0	10.7	19	2.2	0	0	21.2	16.5	0.2	0	0	16.7
แบบบูรณาการ	4	0.5	0	0	□.5	8	2	0	□	10	11	8	0	0	19	10	0	0	0	10

ตารางที่ 2 ร้อยละการทำลายลำของหนอนกออ้อย เมื่ออายุอ้อย 1-4 เดือน ในแปลงทดลอง บ้านห้วยแล้ง ตำบลคำแคน อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น ปี 2557

	อายุอ้อย 1 เดือน					อายุอ้อย 2 เดือน					อายุอ้อย 3 เดือน					อายุอ้อย 4 เดือน				
	หนอนกอลายจุดเล็ก	หนอนกอสีขาว	หนอนกอสีชมพู	หนอนกอลายจุดใหญ่	รวม	หนอนกอลายลายจุดเล็ก	หนอนกอลายสีขาว	หนอนกอลายสีชมพู	หนอนกอลายจุดใหญ่	รวม	หนอนกอลายลายจุดเล็ก	หนอนกอลายสีขาว	หนอนกอลายสีชมพู	หนอนกอลายจุดใหญ่	รวม	หนอนกอลายลายจุดเล็ก	หนอนกอลายสีขาว	หนอนกอลายสีชมพู	หนอนกอลายจุดใหญ่	รวม
แบบเกษตรกร	1.59	0.29	0	0	1.88	3.17	0.69	0	0	3.86	5.14	0.39	0	0	5.53	4.50	0.33	0	0	4.83
ใช้สารเคมี	1.41	0.13	0	0	1.54	1.82	0.58	0	0	2.4	3.72	0.68	0	0	4.40	2.88	0.06	0	0	2.94
แบบบูรณาการ	0.99	0.12	0	0	1.11	1.88	0.66	0	0	2.55	1.40	1.28	0	0	2.68	2.25	0	0	0	2.25

ตารางที่ 2 การผลิตอ้อยของเกษตรกรอำเภอชานุมาน และอำเภอปทุมราชวงศาจังหวัดอำนาจเจริญ ปี 2556

ข้อมูล	อ.ชานุมาน		อ.ปทุมราชวงศา	
	แปลงที่1คลุมด้วยใบอ้อย	**แปลงที่ 2 ไม่คลุมด้วยใบอ้อย**	**แปลงที่1คลุมด้วยใบอ้อย**	**แปลงที่ 2 ไม่คลุมด้วยใบอ้อย**
เจ้าของแปลง	นางจำปี ดอกคำ	นางรจนา เหล่าลาพร	นางมัจฉา บุญมาก	นายโสภา ถีกระโทก
พื้นที่ปลูก	30 ไร่	34 ไร่	150 ไร่	40 ไร่
พันธุ์ที่ปลูก	อู่ทอง 5	อู่ทอง 5 ขอนแก่น 3	อู่ทอง 5 ขอนแก่น 3	อู่ทอง 5
ชุดดิน	ร่วนเหนียว	ร่วนทราย	ร่วนทราย	ร่วนทราย
วิธีปลูก	แถวคู่ ระยะ 1x1.5 เมตร	แถวคู่ ระยะ 1x1.2 เมตร	แถวคู่ ระยะ 1x1.2 เมตร	แถวคู่ ระยะ 1x0.5 เมตร
ระบบการปลูก	พืชเดี่ยว	พืชเดี่ยว	พืชเดี่ยว	พืชเดี่ยว
การเตรียมดิน	ไถ 3 ครั้ง	ไถ 3 ครั้ง	ไถ 3 ครั้ง	ไถ 3 ครั้ง
การใส่ปุ๋ย	-16-16-16 30กก.ไร่ รองก้นหลุม -16-16-16 50 กก ไร่ เมื่ออ้อยอายุ 5 เดือน	-มูลไก่+ยูเรีย 50 กก.ไร่ รองพื้น -16-8-8 50 กก.ไร่ เมื่ออ้อยอายุ 5 เดือน -16-8-8 50 กก.ไร่ เมื่ออ้อยอายุ 9 เดือน	-20-3-4 กก.ไร่ รองก้นหลุม -16-3-10 25 กก.ไร่ เมื่ออ้อยอายุ 6 เดือน -16-3-10 25 กก.ไร่ เมื่ออ้อยอายุ 9 เดือน	-15-15-15 50 กก.ไร่ -15-15-15 50 กก.ไร่
โรคที่พบและการจัดการ	ใบขาว ไม่ทำการป้องกันกำจัด	ใบขาว ไม่ทำการป้องกันกำจัด	-	-
แมลงศัตรูและการจัดการ	หนอนกอในอ้อย ระยะ 1-4 เดือน ไม่มีการป้องกันกำจัด	-	-	หนอนกอในอ้อย ระยะ 1-4 เดือน ไม่มีการป้องกันกำจัด
วัชพืชและการจัดการ	หญ้าตีนกา สาบสาบม่วง ใช้บากาโซนฉีดพ่น	ตีนตุ๊กแก ดาวกระจาย พ่นไกลโฟเสท	หญ้าปากควาย หญ้าขจรจบ ฉีดพ่นด้วยเลนเจอร์	หญ้าปากควายฉีดพ่นด้วยกรัมม็อกโซน
ค่าท่อนพันธุ์	1,300 บาท/ตัน	1,200 บาท/ตัน	1,300 บาท/ตัน	1,300 บาท/ตัน
ค่าแรงงาน	8,000 บาท	2,000 บาท	2,200 บาท	4,700 บาท
ค่าการจัดการดินและปุ๋ย	2,100 บาท	30,000 บาท	3,150 บาท	3,300 บาท
ค่าจัดการอื่นๆ	2,000 บาท	2,400 บาท	2,100 บาท	1,320 บาท
ค่าต้นทุนทั้งหมด	13,400 บาท	35,600 บาท	8,750 บาท/ไร่	10,620บาท/ไร่
ผลผลิต	15 ตัน/ไร่	15 ตัน/ไร่	18 ตัน/ไร่	15 ตัน/ไร่
ราคาผลผลิต	1,300 บาท/ตัน	1,200 บาท/ตัน	1,300 บาท/ตัน	1,300 บาท/ตัน

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของหนอนกออ้อยที่พบในแปลงเกษตรที่อำเภอชานุมาน จังหวัดอำนาจเจริญ ปี 2556

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายกอ			
	หนอนกอลายจุดเล็ก		หนอนกอสีชมพู	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
แปลงปลูกแบบบูรณาการ (คลุมด้วยใบอ้อย)	2.3	0.1	-	-
แปลงวิธีการจัดการแบบเกษตรกร	3.0	1.4	-	-

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของหนอนกออ้อยที่พบในแปลงเกษตรที่อำเภอปทุมราชวงศา จังหวัดอำนาจเจริญ ปี 2556

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายกอ			
	หนอนกอลายจุดเล็ก		หนอนกอสีชมพู	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
แปลงปลูกแบบบูรณาการ (คลุมด้วยใบอ้อย)	1.5	1.0	-	-
แปลงวิธีการจัดการแบบเกษตรกร	3.2	-	-	1.0

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของหนอนกออ้อยสีชมพูในอ้อยตอพันธุ์อู่ทอง 6 ที่ปลูกปลูกโดยคลุมด้วยใบอ้อยในแปลงเกษตรที่อำเภอปทุมราชวงศา จังหวัดอำนาจเจริญ ปี 2557

แปลงที่	การเข้าทำลายของหนอนกอ			
	หนอนกอสีชมพู		หนอนกอลายจุดเล็ก	
	% ทำลายกอ	%ทำลายลำ	% ทำลายกอ	%ทำลายลำ
1	6.5	3.5	-	-
2	8.5	4.3	-	-
3	9.8	6.5	2	0.8

2.2 การศึกษาความเสียหายของผลผลิตอ้อยเนื่องจากแมลงนูนหลวงในไร่อ้อยในพื้นที่ภาคตะวันตก

2.2.1 การศึกษาในสภาพเรือนเพาะชำ

การปล่อยตัวอ่อนวัยที่3 ใน เดือนพฤศจิกายน 2555 ซึ่งอ้อยมีอายุประมาณ 10 เดือน หลังจากเก็บเกี่ยว พบว่าผลผลิตน้ำหนักต่อลำ ความยาวลำและค่าความหวานไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) แต่เมื่อนำมาคำนวณค่าความเสียหายมีแนวโน้มว่าจำนวนหนอนที่มากขึ้นจะส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตน้ำหนักต่อลำและความยาวลำของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ลดลง (ตารางที่ 2) ทั้งนี้ พบว่าหนอนแมลงนูนหลวงเพียง 1 ตัว ส่งผลให้น้ำหนักอ้อยลดลง 7.9% ในขณะที่หนอนแมลงนูนหลวง 7 ตัว ส่งผลให้น้ำหนักอ้อยลดลงถึง 26.7% ในปี 2556-57 ทำการทดลองซ้ำ โดยใช้หนอนวัย 1 แทน พบว่า หนอนมีสภาพอ่อนแอ ทำให้การทดลองไม่ประสบความสำเร็จ จึงทำการทดสอบอีกครั้งในปีถัดมาโดยกลับไปใช้หนอนวัย 3 เช่นเดียวกับปีแรก ผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกัน คือ การปล่อยหนอนแมลงนูนหลวงจำนวนต่างๆนั้นให้ผลผลิตน้ำหนักต่อลำความยาวลำและค่าความหวานไม่แตกต่างกันทางสถิติ การปล่อยหนอนจำนวนมากมีแนวโน้มส่งผลต่อความเสียหายของน้ำหนักลำลดลง ณัฐกฤตและอนุวัฒน์ (2544) อย่างไรก็ตามการนำหนอนมาปล่อยในวงบ่อมีข้อจำกัดในเรื่องของสภาพแวดล้อม เมื่อนำมาใส่ในบ่อซีเมนต์จะเกิดความร้อนส่งผลให้หนอนแมลงนูนหลวงไม่สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ ซึ่งหนอนแมลงนูนหลวงอาจปรับตัวกินอาหารลดลง อีกทั้งยังพบว่าหนอนแมลงนูนหลวงจากวัย 3 ส่วนใหญ่จะตายก่อนระยะเข้าดักแด้ ระยะเวลาการเข้าทำลายก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลการทดลองไม่ชัดเจน

ตารางที่ 1 ผลของการปล่อยหนอนแมลงนูนหลวงต่อผลผลิตน้ำหนักต่อลำ ความยาวลำ และค่าความหวานของอ้อยพันธุ์ขอนแก่3 ที่อายุ 12 เดือน (เก็บเกี่ยวเดือนมกราคม 2556)

จำนวนหนอน (ตัว)	น้ำหนักต่อลำ (กก.)	ความยาวลำ (ซม)	ค่าความหวาน (CCS) (%)
0	1.00	155.32	10.20
1	0.92	145.16	10.18
3	0.84	140.51	12.55
5	0.83	133.06	11.81
7	0.73	119.72	11.26
	ns	ns	ns
CV %	17.90	14.70	17.80

ตัวเลขในคอลัมน์ และแถวเดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 ผลของการปล่อยหนอนแมลงนูนหลวงต่อความสูญเสียน้ำหนัก ความยาวลำ และความหวานของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่อายุ 12 เดือน (เก็บเกี่ยวเดือนมกราคม 2556)

จำนวนหนอน (ตัว)	ความสูญเสียน้ำหนัก (%)	ความสูญเสียความยาวลำ (%)	ความสูญเสียความหวาน (CCS) (%)
0	0.00	0.00	0.00
1	7.91	6.54	0.22
3	15.91	9.53	-23.07
5	16.79	14.33	-15.76
7	26.76	22.92	-10.37

สรุปผลการทดลอง

การเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงมีแนวโน้มสร้างความเสียหายต่อผลผลิตอ้อย โดยปริมาณหนอนที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ความเสียหายมากขึ้นด้วย ซึ่งหนอนแมลงนูนหลวงเพียง 1 ตัว ส่งผลให้น้ำหนักอ้อยลดลง 7.9-16.67% ในขณะที่หนอนแมลงนูนหลวง 7 ตัว ส่งผลให้น้ำหนักอ้อยลดลง 26.7-28.57%

2.2.2 การสำรวจความสูญเสียจากการทำลายของแมลงนูนในไร่เกษตรกร

จากการสำรวจแปลงอ้อยปลูกใน ปี พ.ศ. 2555 พบอ้อยเริ่มแสดงอาการจากการทำลายของหนอนแมลงนูนหลวง กระจายเป็นหย่อม 0-25 % ของพื้นที่ ในช่วงเดือน กันยายน-ตุลาคม (อ้อยอายุ 5-6 เดือน) โดยอ้อยแสดงอาการมีลักษณะใบเหลืองให้เห็นและเมื่อขุดจะพบหนอนแมลงนูนหลวงวัย 2-3 บริเวณกออ้อยประมาณ 1-7 ตัวต่อกอ ทั้งนี้จากการเก็บเกี่ยวผลผลิตช่วงเดือนมกราคม ปี พ.ศ. 2556 ซึ่งเป็นช่วงการเก็บเกี่ยวอ้อยเข้าโรงงานน้ำตาล ซึ่งจากการสำรวจแปลงอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่แสดงอาการถูกทำลายจากหนอนแมลงนูนหลวงที่ระดับ 0, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์นั้น พบว่าอ้อยที่ถูกทำลายจากหนอนแมลงนูนหลวงมีผลผลิตอ้อยลดลงเมื่อเทียบกับแปลงที่ไม่มีการเข้าทำลาย (ตารางที่ 1)อย่างไรก็ตามพบการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงไม่มีผลต่อค่าความหวาน (CCS) ของอ้อยที่เก็บเกี่ยวได้ ทั้งนี้เมื่อนำข้อมูลผลผลิตมาวิเคราะห์ผลของความสูญเสียพบว่า การเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้สูญเสียผลผลิต 30.96 เปอร์เซ็นต์ ความสูญเสียจำนวนลำที่เก็บเกี่ยวได้ 14.35 เปอร์เซ็นต์ และความสูญเสียความยาวลำ 34.74 เปอร์เซ็นต์โดยผลผลิตลงลงมากขึ้นเมื่อพบการเข้าทำลายมากขึ้นโดยที่ระดับการเข้าทำลาย 100 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้สูญเสียผลผลิต 93.67 เปอร์เซ็นต์ ความสูญเสียจำนวนลำที่เก็บเกี่ยวได้ 61.72 เปอร์เซ็นต์และความสูญเสียความยาวลำ 72.58 เปอร์เซ็นต์

ในการสำรวจ ปี 2556 ทำการสำรวจแปลงอ้อยที่พบการเข้าทำลายในระดับต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 0-32.2 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่า หนอนแมลงนูนหลวงมีผลให้อ้อยเกิดความสูญเสียต่อผลผลิตน้ำหนักต่อไร่และจำนวนลำของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ที่อายุ 12 เดือนลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับอ้อยที่ไม่ได้รับความเสียหาย (ตารางที่ 2) ซึ่งการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงที่ระดับ 8.62 เปอร์เซ็นต์นั้นจะไม่กระทบต่อผลผลิตแต่อย่างใด ในขณะที่การเข้าทำลายที่ระดับ 32.22 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ผลผลิตอ้อยลดลงถึง 55.81 เปอร์เซ็นต์

ในการสำรวจปี 2557 พบพื้นที่พบมีการระบาดในพื้นที่ใหม่ เช่น เขตอำเภอบ่อพลอย จังหวัดกาญจนบุรี เขตอำเภอปรานบุรี จังหวัดประจวบ คีรีขันธ์ (เดิมไม่มีประวัติการเข้าทำลายในพื้นที่) แมลงนูนหลวงมีการออกเป็นตัวหนอนเร็วกว่าเดิม ในช่วงระยะเวลาในการสำรวจเดือนมิถุนายนพบแปลงที่มีการให้น้ำเสริมหนอนมีการเจริญเติบโตอยู่ในวัย 3 ในขณะที่แปลงที่ไม่มีการให้น้ำเสริมหนอนยังมีขนาดเล็กอยู่ในวัย 1-2 โดยการเข้าทำลาย อ้อยในแปลงจะยังไม่แสดงออกให้เห็นเนื่องจากหนอนยังอยู่ในวัย1-2 ยังกัดกินทำลายรากอ้อยน้อย อ้อยจึงยังไม่แสดงอาการ และเมื่อเข้าไปทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตอ้อยในแปลงอ้อยตอ เมื่อมกราคม 2558 พบว่าการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้สูญเสียผลผลิตถึง 23.87 เปอร์เซ็นต์และความสูญเสียจำนวนลำที่เก็บเกี่ยวได้ 10.14 เปอร์เซ็นต์ โดยผลผลิตและจำนวนลำที่เก็บเกี่ยวได้ลงลงมากขึ้นเมื่อพบการเข้าทำลายมากขึ้น ทั้งนี้ที่ระดับการเข้าทำลาย 100 เปอร์เซ็นต์พบความสูญเสียที่แตกต่างกันเนื่องจากระยะเวลาการเข้าทำลายซึ่งพบว่าหากปล่อยอ้อยที่โดยทำลายไว้นานโดยยังไม่ถึงอายุเก็บเกี่ยวส่งผลให้อ้อยแห้งไม่สามารถเก็บผลผลิตได้เลย

ตารางที่ 1 ข้อมูลผลผลิต (น้ำหนัก จำนวนลำ ค่าความหวาน C.C.S และเปอร์เซ็นต์ความสูญเสียของอ้อยจากการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงในสภาพไร่ ปี 2555 (เก็บเกี่ยวปี 2556)

% เข้าทำลาย	ผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้/ไร่ (ตัน)	ความสูญเสียผลผลิต/ไร่ (%)	จำนวนลำที่เก็บเกี่ยวได้/ไร่ (ลำ)	ความสูญเสียจำนวนลำ/ไร่(%)	ความยาวลำ (ซม.)	ความสูญเสียความยาวลำ (%)	ค่าความหวาน (CCS)	ความสูญเสียค่าความหวาน (CCS) (%)
0	16.84	0.00	9,289	0.00	272	0.00	14.21	0.00
25	11.63	30.96	7,956	14.35	175	35.74	15.60	-9.78
50	7.70	54.26	7,422	20.09	140	48.71	15.70	-10.53
75	5.15	69.40	5,200	44.02	124	54.47	15.11	-6.38
100	1.07	93.67	3,555	61.72	75	72.58	14.78	-4.01

ตารางที่ 2 ข้อมูลผลผลิต (น้ำหนัก จำนวนลำ ค่าความหวาน C.C.S และเปอร์เซ็นต์ความสูญเสียของอ้อยจากการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงในสภาพไร่ ปี 2556 (เก็บเกี่ยวปี 2557)

%เข้าทำลาย	ผลผลิต (ตัน/ไร่)	%สูญเสียผลผลิต	จำนวนลำเก็บเกี่ยว (ลำ/ไร่)	%สูญเสียจำนวนลำ	CCS	%สูญเสีย CCS
0	14.71	0	12,918	0	11.83	0
8.62	14.40	2.09	10,193	21.10	11.77	0
20.69	12.80	12.92	9,778	24.31	11.87	-0.39
32.22	6.50	55.81	9,304	27.98	12.57	-6.31
100	2.59	82.40	8,533	33.94	13.26	-12.15

ตารางที่ 3 ข้อมูลผลผลิต (น้ำหนัก จำนวนลำ ค่าความหวาน C.C.S และเปอร์เซ็นต์ความสูญเสียของอ้อยจากการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงในสภาพไร่ ปี 2557 (เก็บเกี่ยวปี 2558)

%เข้าทำลาย	ผลผลิต (ตัน/ไร่)	%สูญเสียผลผลิต	จำนวนลำเก็บเกี่ยว (ลำ/ไร่)	%สูญเสียจำนวนลำ	CCS	%สูญเสีย CCS	จำนวนหนอนที่พบขณะเก็บเกี่ยว	ผลวิเคราะห์ดิน	
								pH	อินทรีย์วัตถุ
0	13.38	-	12,859	-	12.14	-	0	5.9	1.81
10.00	10.19	23.87	11,556	10.14	11.16	8.07	2	6.4	1.68
15.79	9.93	25.78	12,185	2.24	13.24	-9.06	4	6.5	1.19
20.00	9.45	29.41	11,037	14.17	13.18	-8.54	2	6.2	1.85
25.00	8.97	32.95	10,452	18.72	14.02	-15.49	0	5.4	1.41
46.67	7.69	42.56	10,015	22.12	13.41	-10.46	2	6.0	1.45
75.00	4.78	64.30	7,111	44.70	13.96	14.99	2	6.1	1.65
100.00	4.06	69.66	6,281	51.15	15.16	24.88	0	5.2	1.25
100.00	0.00	100.00	0	100.00	0	100	0	5.8	1.56

สรุปผลการทดลอง

ผลประเมินความสูญเสียจากการทำลายของแมลงนูนหลวงในไร่อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ในอ้อยปลูก พบว่าระดับการเข้าทำลายที่สูงขึ้นมีผลให้ผลผลิตลงลดมากขึ้น ซึ่งหากพบการทำลายที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์จะส่งผลให้ความสูญเสียน้ำหนักสูงถึง 93.7 % และในอ้อยตอ หากพบการเข้าทำลายระดับ 100 % จะพบความสูญเสียสูงจนไม่สามารถเก็บผลผลิตเข้าโรงงานได้ ทั้งนี้ที่ระดับการเข้าทำลายที่เท่ากันนั้นจะมีความสูญเสียผลผลิตที่แตกต่างกันเนื่องจากระยะเวลาการเข้าทำลาย โดยการปล่อยอ้อยที่โดนทำลายไว้นานเนื่องจากยังไม่ถึงอายุเก็บเกี่ยวจะส่งผลให้อ้อยแห้งไม่สามารถเก็บผลผลิตได้เลย แต่หากหนอนแมลงนูนหลวงเข้าทำลายในระยะที่ใกล้เก็บเกี่ยวจะยังสามารถเก็บเกี่ยวอ้อยส่งเข้าโรงงานได้บ้างแต่น้อยมาก ซึ่งจากการ

ศึกษาวิจัยครั้งนี้ควรแนะนำให้เกษตรหากพบการเข้าทำลายของหนอนแมลงนูนหลวงแล้วไม่สามารถป้องกันกำจัดได้ทัน เมื่อถึงช่วงการเก็บเกี่ยวเข้าโรงงานให้เกษตรกรรีบดำเนินการเก็บเกี่ยวเพื่อให้ได้ผลผลิต และหากแปลงใดที่พบการเข้าทำลายสูงกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ในอ้อยปลูกและ 20 เปอร์เซ็นต์ในอ้อยตอ ให้ทำการเก็บเกี่ยวอ้อยก่อนแมลงนูนหลวงเข้าสู่วัยดักแด้ประมาณเดือนมีนาคม แล้วไถรื้อแปลงเพื่อป้องกันและกำจัดแมลงนูนหลวงเป็นการตัดวงจรการเข้าทำลายในฤดูการปลูกถัดไป ร่วมกับการป้องกันกำจัดโดยวิธีผสมผสาน

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

วัตถุประสงค์ของกิจกรรม การวิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอ้อย เพื่อหาวิธีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอ้อยแบบบูรณาการในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และลดการสูญเสียผลผลิตอ้อยจากการทำลายของแมลงนูนหลวงและด้วงหนวดยาวในพื้นที่ปลูกอ้อยภาคตะวันตก จากการสำรวจข้อมูลการผลิตอ้อยและสำรวจการระบาดของหนอนกออ้อย มีการเข้าทำลายกออ้อยที่ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ ไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิต แต่การสำรวจการเข้าทำลายของหนอนกอสีชมพูในแปลงอ้อยตอที่อำเภอปทุมราชวงศา จังหวัดอำนาจเจริญ ในปี 2557 มีแนวโน้มการทำลายกอและลำที่อาจถึงระดับเศรษฐกิจ

ในส่วนของงานวิจัยการป้องกันกำจัดแมลงนูนหลวง พบว่าเมื่อปล่อยแมลงนูนหลวง ตั้งแต่ 1 ตัวจะส่งผลให้น้ำหนักอ้อยลดลง 7.9-16.67% แม้จะไม่ทำให้ค่าความหวานลดลง และจากการสำรวจในไร่เกษตรกรพบว่าในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 อ้อยปลูก เมื่อมีแมลงนูนหลวงเข้าทำลายมาก ก็จะทำให้ผลผลิตลดลงมากขึ้น ซึ่งหากพบการทำลายที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์จะส่งผลให้ความสูญเสียน้ำหนักสูงถึง 93.7 เปอร์เซ็นต์ และในอ้อยตอผลผลิตจะเสียหายมากจน ไม่สามารถเก็บผลผลิตเข้าโรงงานได้

บรรณานุกรม

กรมวิชาการเกษตร. 2547. เอกสารวิชาการการปลูกพืชไร่. สถาบันวิจัยพืชไร่, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 332 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2551. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2551 . กลุ่มกีฏวิทยา, สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 295 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร . 2552. การป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูอ้อย. สถาบันวิจัยพืชไร่, กรมวิชาการเกษตร. เอกสารประกอบการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ 28-30 เมษายน 2552 . ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น. จังหวัดขอนแก่น.

ณัฐกฤต พิทักษ์. 2552. การจัดการหนอนกออ้อย. เอกสารประกอบการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูอ้อย. 28-30 เมษายน 2552. ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น อ.เมือง จ. ขอนแก่น.50 หน้า.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตลทราย. 2557. รายงานพื้นที่การผลิตอ้อย ปี 2556/57. (สืบค้น 8 มกราคม 2558) Available from URL : http:// *www.ocsb.go.th/upload/journal/fileupload/923-9193.pdf.*

กิจกรรมที่ 3 การจัดการโรคใบขาวแบบผสมผสาน

ผู้วิจัย

นางสาวสุนี ศรีสิงห์ อมรา ไตรศิริ กาญจนา กิระศักดิ์
ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล นิลุบล ทวีกุล ภาคภูมิ ถิ่นคำ
อมรรัชฎ์ คิดใจเดียว ดารารัตน์ มณีจันทร์ อรทัย วรสุทธิ์พิศาล
ทักษิณา ศันสยะวิชัย วันทนา เลิศศิริวรกุล
Sunee Srisink Amara Traisiri Kanjana Kirasak
Suchirat Sakuanrungsirikul Nilubon Taweekul Parkpoom Thinkum
Amonrat Kitjaideaw Dararat Maneechan Orratai Varasutpaisan
Taksina Sansayawichai Wantana Lertsirivorakul

คำสำคัญ (Key words) อ้อย ใบขาว การตรวจเชื้อ secA อ้อยปลอดเชื้อ ชีวเคมี High Resolution Melting (HRM) technique PCR สมดุลธาตุอาหาร แช่น้ำร้อน แช่แข็ง สารปฏิชีวนะ เพลี้ยจักจั่นอ้อย *Yamatottettrix. flavovittatus*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของกิจกรรมเพื่อหาวิธีป้องกันกำจัดโรคใบขาว แบบผสมผสานให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

จากการสำรวจและศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุของโรคใบขาวในอ้อยในประเทศไทย พบอาการหลักของโรคใบขาว 3 อาการ คือ อาการใบขาวแต่ไม่แตกกอฝอย อาการใบขาวร่วมกับการแตกกอฝอย และอาการแตกกอฝอยแต่ไม่แสดงอาการใบขาว ผลจากการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S-23S rDNA และบางส่วนของยีน secA พบว่า แบ่งเชื้อทั้ง 3 ชนิดนี้ได้เป็น 3 ชนิดตามลักษณะอาการดังกล่าวตามลำดับ ได้แก่ (1) sugarcane white leaf (SCWL) (2) sugarcane grassy shoot (SCGS) และ (3) sugarcane green grassy shoot (SCGGS) ทั้งนี้พบว่า SCWL และ SCGS มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมาก ส่วน SCGGS แยกกลุ่มออกอย่างชัดเจน ซึ่งอาจจัดเป็น subgroup ใหม่ของกลุ่ม 16SrXI group ได้ หรือเป็นกลุ่มใหม่ได้ ส่วนเชื้อกลุ่มไฟโตพลาสมาที่ก่อให้เกิดอาการใบขาวในหญ้านั้น แยกลุ่มจากเชื้อไฟโตพลาสมาที่ก่อโรคในอ้อยทั้ง 3 ชนิดนี้ การพัฒนาเทคนิคการตรวจและประเมินปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในใบอ้อยพบว่าสามารถตรวจได้ด้วยเทคนิค nested-PCR ซึ่งมีเป้าหมายคือส่วนของยีน 16S-23S rDNA และการตรวจด้วย direct PCR และ Realtime PCR ที่บางส่วนของยีน secA ของเชื้อไฟโตพลาสมา การจำแนกชนิดของเชื้อไฟโตพลาสมาทั้ง 3 ชนิด สามารถแยกได้ด้วยเทคนิค High Resolution Melting (HRM) โดยใช้ไพร์เมอร์ที่พัฒนาให้จำเพาะต่อตำแหน่ง Single nucleotide polymorphisms (SNPs) ของเชื้อแต่ละชนิดดังกล่าว

การศึกษาด้านชีวเคมีของอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาวพบว่าเกิดความเครียดออกซิเดชั่นขึ้น โดยตรวจพบสารที่มีค่าแปรผันตามระดับอาการใบขาวและปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในใบแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มหลัก คือ (1) สารที่ปริมาณมากขึ้นเมื่อเชื้อมากขึ้นและอาการใบขาวมากขึ้น ได้แก่ Malondialdehyde (MDA) (2) สารที่ปริมาณน้อยลงเมื่อเชื้อมีมากขึ้นและอาการใบขาวมากขึ้น ได้แก่ โปรตีนรวม น้ำตาลรวม และคลอโรฟิลล์ (3)สารที่ปริมาณน้อยลงเมื่อมีอาการใบขาว แต่มีปริมาณมากเมื่อยังไม่มีอาการ หรือมีอาการบางส่วน และมีเชื้อมาก ได้แก่ กิจกรรมเอ็นไซม์ Ascorbate peroxidase (APX), Hydrogen peroxide (H_2O_2) และสารประกอบฟีนอลิก ส่วนปริมาณแป้งรวม โพรลีน สามารถพบได้ทั้งในกลุ่มที่มีปริมาณเชื้อสูง กลุ่มที่อยู่ในสภาวะขาดน้ำ หรือกลุ่มที่มีขบวนการสังเคราะห์แสงผิดปรกติ และพบว่ายีนที่ มีการแสดงออกมากขึ้นในต้นที่มีอาการใบขาว ได้แก่ ยีน Sucrose synthase (SuSy), Alcohol dehydrogenase I (AdhI) และ Callose synthase (CaSy) นอกจากนี้ยังพบว่า ยีน secA ของเชื้อไฟโตพลาสมามีการแสดงออกมากน้อยต่างกันในใบที่มีความรุนแรงของอาการใบขาวต่างกัน

การกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวในเนื้อเยื่ออ้อยที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยสารต้านจุลินทรีย์บางชนิด ทั้งยาปฏิชีวนะในกลุ่มยับยั้งการสร้างโปรตีนของเชื้อ กลุ่มยับยั้งการสร้างเซลล์เมมเบรนและผนังเซลล์ กลุ่มยับยั้งการสร้างโฟเลทของเชื้อที่ส่งผลต่อการสร้างกรดอะมิโนของเชื้อ และกลุ่มยับยั้งการสร้าง DNA ของเชื้อ และสารสกัดธรรมชาติ รวมทั้งสิ้น 17 ชนิด ผลการตรวจปริมาณเชื้อที่ยีน 16S-23S rDNA และ secA ในตัวอย่างที่ทดสอบสารแล้ว 12 วัน พบว่าสารบางชนิดสามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ และบางชนิดมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ส่วนการทดสอบวิธีกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาในเนื้อเยื่ออ้อยด้วยการแช่แข็ง พบว่าการแช่แข็งแคลลัสอ้อยด้วยขบวนการ Encapsulation-dehydration มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตประมาณ 80% แต่แคลลัสที่ผ่านการแช่แข็งแล้ว พบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้

ผลของฤดูปลูกต่อการแสดงอาการใบขาวของอ้อยในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น พื้นที่ดินร่วนทราย ระหว่างปี 2555 ถึง 2558 พบว่าการปลูกในฤดูฝนพบการเป็นโรคใบขาวมากกว่าการปลูกในฤดูแล้ง และการแช่ท่อนพันธุ์ในน้ำร้อนถึงแม้จะเป็นโรคน้อยในช่วงแรกแต่ในที่สุดแล้วก็เป็นโรคไม่แตกต่างกับที่ไม่แช่น้ำร้อน ซึ่งอาจเป็นเพราะมีการติดเชื้อใหม่เนื่องจากมีปริมาณแมลงพาหะมากในฤดูฝน การที่อ้อยปลูกในฤดูแล้งถึงแม้จะผ่านช่วงฤดูฝนที่มีปริมาณแมลงพาหะมากแต่พบการเกิดโรคในอ้อยตอไม่มากนัก การปลูกในช่วงต้นฝน และในฤดูฝนพบโรคมากขึ้นตามลำดับ การใช้อ้อยที่ไม่พบอาการโรคจากแปลงที่มีการระบาดของโรคไปปลูกจะพบอาการโรคเพิ่มขึ้นตามอายุอ้อย นอกจากนี้ได้ทดลองจัดการธาตุอาหารเพื่อฟื้นฟูอ้อยที่เป็นโรคใบขาวในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและ สภาพไร่ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมาในอาหารสังเคราะห์ที่ดัดแปลงธาตุอาหารต่างๆ พบว่าอ้อยที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลง ที่เติมสารอาหารครบถ้วนจะทำให้มีหน่ออ้อยมาก และสามารถรอดชีวิตอยู่ได้นานที่สุด และเมื่อนำต้นกล้าที่ได้จาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปปลูกในกระถาง อ้อยจะไม่แสดงอาการใบขาว และขั้นตอนสุดท้ายทำการทดลองในไร่เกษตรกรโดยมีการดัดแปลงปริมาณธาตุอาหารตามค่าวิเคราะห์ดิน และเพิ่มปริมาณธาตุอาหารบนอ้อยพันธุ์ K95-84 ไม่พบการแสดงอาการใบขาวในอ้อยปลูกทุกกรรมวิธี

การกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาในท่อนพันธุ์อ้อย ด้วยวิธีการแช่ท่อนน้ำร้อน ในอ้อยที่เก็บมาจากแปลงที่เป็นโรคพบว่าการแช่น้ำร้อนจะทำให้เปอร์เซ็นต์งอกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในแปลงที่มีการเจริญเติบโตแบบปกติ การแช่ และไม่แช่น้ำน้ำร้อน เปอร์เซ็นต์งอก การเจริญเติบโต และผลผลิตไม่แตกต่างกัน แต่การแช่น้ำร้อนสามารถชะลอการแสดงอาการใบขาวได้

การศึกษาเรื่องการขยายพันธุ์อ้อยปลอดโรค โดยการนำต้นกล้าอ้อยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและมีปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในระดับต่างๆ กันในแปลงขยายพันธุ์ โดยมีการให้น้ำ และ ให้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน พบว่า ต้นกล้าที่มีเชื้อระดับต่ำมีเปอร์เซ็นต์รอดในแปลงปลูกสูงที่สุด 92.83 เปอร์เซ็นต์ ท่อนพันธุ์จากต้นกล้าที่มีเชื้อระดับต่ำมีจำนวนลำเก็บเกี่ยวมากที่สุด 9,374 ลำต่อไร่ ปริมาณเชื้อในต้นกล้าไม่มีปฏิสัมพันธ์กับการให้น้ำ และวิธีการใส่ปุ๋ย แต่การให้น้ำเสริมทำให้ได้ผลผลิตท่อนพันธุ์สูงกว่าไม่ให้น้ำเสริม และจะตรวจพบเชื้อในท่อนพันธุ์ที่ได้ต่ำเช่นเดียวกับอ้อยตอ นอกจากนี้พบว่า การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + โดโลไมด์ มีผลผลิตเฉลี่ยในอ้อยปลูกมากที่สุด 11.3 ตันต่อไร่ ความงอกท่อนพันธุ์มีความงอกเฉลี่ย 76.7-82.1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในอ้อยตอผลผลิตค่อนข้างต่ำมาก

การศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวน 63 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* พาหะนำโรคใบขาว ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ระหว่างปี 2554-2558 พบว่าเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* สามารถเจริญเติบโตจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย บนอ้อยทั้ง 63 พันธุ์โดย มีการลอกคราบ 5 ครั้งจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย โดยใช้เวลาทั้งหมดจากวัยที่ 1 จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 13.25-15.00 วัน ซึ่งจำนวนวันของแต่ละวัย จนกระทั่งเป็น ตัวเต็มวัยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์อ้อยทั้ง 63 พันธุ์ ปริมาณรวมไข่และตัวอ่อนที่เกิดจากเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* ในแต่ละพันธุ์ มีค่าเฉลี่ย 38.60 ฟอง/ตัว ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในระหว่าง 63 พันธุ์ อย่างไรก็ตาม การขยายพันธุ์ในระยะเวลา 21 วัน ในปี 2557 พบว่าปริมาณการขยายพันธุ์ของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* อยู่ในระยะไข่โดยเฉลี่ย 84.72% และระยะตัวอ่อน 14.14%

Key words: sugarcane, white leaf, secA, High Resolution Melting (HRM) technique, PCR, cryopreservation, antibiotics , hotwater treatment, nutrient equivalent, planting date, white leaf free materials, *Yamatottettrix. Flavovittatus*

Abstract

The surveying and studying of sugarcane white leaf phytoplasma diversity revealed 3 major 3 symptoms including (1) white leaf with no grassy shoot (SCWL: Sugarcane white leaf), (2) white leaf with white grassy shoot (SCGS: Sugarcane grassy shoot) and (3) grassy green leaves with no white leaf (SCGGS: Sugarcane green grassy shoot). Identification of genetic variations of phytoplasma by nucleotide sequencing of 16S-23S rDNA and partial secA gene showed close relationship between SCWL and SCGS while SCGGS separated into

different grouping which can be further identified as new subgroup in 16SrXI phytoplasma or as a new grouping. Phytoplasma causing white leaf symptom in grasses were in placed separately into different grouping from sugarcane phytoplasmas. The estimation of phytoplasma concentrations in leaves were developed by two PCR approaches. The nested-PCR targeting 16S-23S rDNA, direct PCR and quantitation realtime PCR targeting partial secA genes were developed. The 3 phytoplasmas were identified by new primers targeted single nucleotide polymorphisms (SNPs) in each phytoplasma. The differentiation profiles were thus sorted out by realtime PCR using High Resolution Melting (HRM) technique.

It was found that white leaf disease infected sugarcanes showed signs of oxidative stress in leaves. The biochemical parameters that were changed in accordance to white leaf symptom severity and phytoplasma concentrations in leaf tissues can be divided in to three groupings. (1)The parameter that increased with the increasing of phytoplasma content and white leaf symptom severity was Malondialdehyde (MDA) content. (2) The parameters that reduced with the increasing of phytoplasma content and white leaf symptom severity were included total protein, total sugar and chlorophyll. (3) The parameters that reduced when phytoplasma content increased and higher white leaf symptom severity, were included Ascorbate peroxidase (APX) activity, Hydrogen peroxide (H_2O_2) and phenolic compound contents. The other parameters, i.e., total starch and proline accumulations could be detected in plant samples harvested high phytoplasma content, in drought stress, or inappropriate phytosynthesis conditions. The investigation of some selected gene expressions revealed that *Sucrose synthase* (*SuSy*), *Alcohol dehydrogenase* I (*AdhI*) and *Callose synthase (CaSy)* were up-regulated in the infected sugarcane with white leaf symptom. Furthermore, the expression of phytoplasmas' *secA* genes revealed different expression levels in leaves with different white symptom severity.

Experiment on the elimination of phytoplasma in sugarcane tissue using antibiotics processing different modes of actions, including protein synthesis inhibition, cell wall and cell membrane synthesis inhibition, folate synthesis inhibition that affect amino acid synthesis, DNA synthesis inhibition, bactericidal compounds and plant natural extracts, altogether 17 types were investigated. The detection of phytoplasma concentration in leaf tissues after 12 days exposures, targeting 16S-23S rDNA and secA genes in phytoplasma revealed that some chemicals reduced phytoplasma concentrations in leaves while some showed no affectivity on phytoplasma concentration. Furthermore, some chemicals affected plant growth. The investigation of cryotherapy on the elimination of phytoplasma in

plant tissue showed that cryo-treatment by encapsulation-dehydration gave rise 80% callus viability. However, cryo-treated calli were not germinate-able into plantlet. White leaf phytoplasma were detected in calli cultured from shoot tip of sugarcane with white leaf symptom. The sequencing of the PCR product obtained from this detection revealed highly similarity to sugarcane white leaf phytoplasma (SCWL) in the database. Investigation of phytoplasma in cryo-treated calli by PCR methods indicated possibility of this technique in the reduction of phytoplasma in plant tissues.

The experiment on planting dates in KhonKhen in sandy loam soil was done in 2012-16. The results showed that the sugarcane planted in rainy season showed more white leaf symptoms than those planted in dry season. The materials treated with hot water could not prevent white leaf disease at the end, these may cause by re-infected by the vectors which were abundant in rainy season. The experiment on nutrient management was done by planting tissue culture obtained from modified substrate MS in netted cages, plantlets from MS with all necessaries substances showed no white leaf symptoms. Planting sugarcane K95-84 in affected field in 2015. The cane was fertilized accordingly to soil analysis showed no white leaf symptoms in plant cane.

To eliminate phytoplasma in sugarcane materials from infected fields using hot water treatment, the results showed that the treatment may affected on cane germination significantly. The treated cane growth was as same as un-treated including the cane yield. The treatment could delay the symptom till the cane was cut. The ratoon may showed some symptoms.

The effect of different levels of phytoplasma contaminating in the plantlets from tissue culture was tested against water supplement and fertilizer. The results showed that, the plantlets with lowest phytoplasma gave highest number of sugarcane materials at 9,374 stalks/rai at 92.83% survival. Fertilization accordingly with soil analysis plus dolomite gave highest yield in plant cane at 11.3 ton/rai. Germination percentage was at 76.7-82.1%. However, the yield in ratoon cane was very low.

The developmental period and survival of leafhopper *Yamatotettix flavovittatus*, sugarcane white leaf disease vector, on 63 Sugarcane Varieties were determined in the laboratory condition at Nakhon Sawan Field crops Research Center during 2010-2014. The results showed that *Y. flavovittatus* became adult on 63 sugarcane varieties with developmental period between for 13.25 to 15.00 days. There was 5 instars nymph until became adult. Significantly different on developmental period was not found among 63

sugarcane varieties. Average eggs and nymphs among 63 sugarcane varieties were not found significantly different. During 21 days, 65.76 % were found in egg stage and 34.24 % were found in nymph stage In 2014.

บทนำ

โรคอ้อยที่ทำให้ เกิดความเสียหายรุนแรงอย่างเห็นได้ชัดคือ โรคเน่าแดง หรือ เหี่ยวเน่าแดง แต่ก็มีวิธีการที่สามารถควบคุมได้อย่างได้ผล คือ การใช้พันธุ์ต้านทาน ซึ่งพันธุ์ส่วนใหญ่ของกรมวิชาการเกษตรมักจะเป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรค ในขณะที่โรคใบขาวยังเป็นโรคที่สำคัญที่สุดของอ้อย ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีพันธุ์ต้านทาน ทำความเสียหายได้มาก เมื่อใช้ท่อนพันธุ์ที่เป็นโรคไปปลูกต่อ ในปี 2554 โรคใบขาวระบาดทั่วประเทศแม้แต่ในพื้นที่ภาคตะวันตกซึ่งพบโรคค่อนข้างอยู่ในวงจำกัด พื้นที่ระบาดที่เพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากในปี 2553 เกษตรกรปลูกอ้อยในช่วงฤดูฝนมาก และปี2554 มีฝนตกชุกในช่วงฤดูเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะในแปลงที่ตัดอ้อยล่า จะพบโรคใบขาวทั่วไป เกษตรกรรายเล็กไม่สามารถหาพันธุ์อ้อยที่สะอาดได้จึงใช้พันธุ์ในพื้นที่ ซึ่งจะทำให้โรคระบาดรุนแรงต่อไป เกษตรกรมักเข้าใจผิดว่า โรคนี้สามารถหายได้เอง ทำให้ละเลยจนบางครั้งต้องทิ้งแปลง หรือไม่สามารถไว้ตอได้ ซึ่งเท่ากับเสียโอกาสลดต้นทุนการผลิต

แม้ว่าในช่วงที่ผ่านมาจะมีงานวิจัยเรื่องโรคใบขาวมาก แต่ยังไม่สามารถควบคุมการระบาดของโรคได้ เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่ยังไม่ตระหนักถึงความเสียหายเนื่องจากโรคนี้ เพราะในบางปีที่มีฝนชุก โรคนี้จะพบน้อยเนื่องจากอ้อยเจริญเติบโตได้ดีทำให้ไม่เห็นอาการใบขาว และอ้อยสามารถให้ผลผลิตได้ เกษตรกรเข้าใจว่าโรคนี้หายได้เอง ในขณะที่บางปีแปลงที่เป็นโรคไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เลย แต่เกษตรกรไม่รื้อแปลงทิ้งเนื่องจากเป็นการเพิ่มต้นทุน เท่ากับเป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรคต่อไปดังนั้นโรคใบขาวจึงเป็นปัญหาที่เรื้อรัง

ผลผลิตของงานวิจัยที่ผ่านมาคือ การผลิตท่อนพันธุ์อ้อยปลอดโรคได้ และการตรวจสอบการติดเชื้อในท่อนพันธุ์ แต่ยังคงเป็นวิธีมีราคาแพง และเนื่องจากเราไม่สามารถกำจัดเชื้อใบขาวให้หมดไปได้ จึงมีการทดสอบเพิ่มธาตุอาหารให้กับอ้อยที่ติดเชื้อ มีแนวโน้มที่จะได้ผลผลิตอ้อยตามเดิม (กอบเกียรติ์, 2552) ซึ่งจะต้องศึกษาต่อในรอบวิจัยนี้ต่อไป เช่นเดียวกับ การถ่ายทอดโรคโดยแมลงพาหะ ที่มีความสำคัญเท่ากับการแพร่ระบาดของโรคโดยทางท่อนพันธุ์ ที่ยังต้องศึกษาถึงวงจรชีวิตบนอ้อยพันธุ์ดี ที่อาจมีแนวโน้มต้านทานโรคได้ต่อไป

จากการสำรวจการระบาดโรคใบขาวของอ้อยป่าและอ้อยลูกผสม รวมทั้งวัชพืช และแมลงปากดูดหลายชนิด ด้วยวิธีการ nested PCR สรุปได้ว่า 1) อ้อยป่าและอ้อยลูกผสมไม่แสดงอาการใบขาวและยังสามารถเจริญเติบโตได้ แสดงวามีปฏิกิริยาทนทานต่อการเกิดโรคได้ 2) อ้อยที่ติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการ มีปริมาณของสารชีวเคมีเปลี่ยนแปลงไป เช่น มีสารจำพวกน้ำตาล แป้ง กรดอะมิโน และแซคคาไรด์ และสารฟีนอลลิกเพิ่มขึ้น จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้สารเหล่านี้เป็นเครื่องหมายในการคัดเลือกความต้านทานต่อโรคได้ 3) สามารถตรวจพบเชื้อได้ในอ้อยป่า วัชพืชหลายชนิด และในเพลี้ยอ่อน แต่ไม่มีข้อมูลสนับสนุนว่าเชื้อเหล่านี้สามารถ ทำให้อ้อยเกิดโรคได้ (cross infection) อาจต้องมีการใช้แมลงในการตรวจสอบการเกิดโรคในอ้อยต่อไป 4) เชื้อมีการกระจายในต้นอ้อยแบบไม่มีรูปแบบ (pattern) ทำให้มีปัญหาในการสุ่มตัวอย่าง เนื่องจาก

วิธีการตรวจเป็นการตรวจตัวเชื้อโดยตรง จึงควรมีการพัฒนาวิธีการใหม่ให้สามารถตรวจการตอบสนองต่อการติดเชื้อของพืช เพื่อทำให้การสุ่มตัวอย่างง่ายขึ้น และการแปรผลไม่ผิดพลาด 5) ต้นที่ตรวจพบเชื้อบางครั้งพืชสามารถเจริญต่อไปได้อีก ดังนั้นจึงควรหาวิธีตรวจปริมาณเชื้อที่บ่งชี้ได้ว่าจะสามารถใช้ต้นอ้อยนั้นทำพันธุ์ต่อได้หรือไม่ และ 6) ต้นที่ติดเชื้อในแหล่งปลูกต่างๆ มีอาการรุนแรงต่างกันแสดงว่าเชื้อจากแหล่งต่างกันน่าจะมีความแตกต่าง แต่วิธีการที่ใช้ในปัจจุบันบางครั้งตรวจไม่พบ จึงต้องมีการพัฒนาวิธีการที่สามารถจำแนกความแตกต่าง หรือ สามารถตรวจสอบเชื้อได้ในทุก isolate หรือ strain เพื่อให้การแปรผลสำหรับการตรวจสภาพปลอดเชื้อไม่ผิดพลาด นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้ชุดตรวจสอบของเอกชนที่พัฒนาจาก monoclonal antibody ตรวจอ้อยที่เป็นโรคในแต่ละพื้นที่ให้ผลไม่เหมือนกัน จึงเป็นข้อยืนยันว่าน่าจะมีความแตกต่างกันระหว่าง isolate ของเชื้อสาเหตุโรค

ในเรื่องการจัดการโรคใบขาวซึ่งมีงานทดสอบในพื้นที่ พบว่าการใช้ท่อนพันธุ์ที่สะอาดในแปลงเกษตรกรที่เคยเกิดโรค สามารถลดปริมาณโรคได้ทั้งในอ้อยปลูกและอ้อยตอ ส่วนการติดตามการเกิดโรคใหม่เมื่อนำอ้อยปลอดโรคไปปลูกขยายพันธุ์เปรียบเทียบกับการใช้อ้อยสะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อในท่อนพันธุ์โดยการแช่ในน้ำที่ 52 °C นาน 30 นาที ที่ในแปลงเกษตรกรที่จังหวัดราชบุรี ขณะนี้เป็นอ้อยตอ1 และนำไปปลูกต่อในแปลงใหม่ ยังไม่แสดงอาการในทุกกรรมวิธีแต่ตรวจพบว่ามีการติดเชื้อแล้ว ส่วนในพื้นที่ที่มีโรครุนแรงกว่าในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบว่ายังไม่พบอาการใบขาวในอ้อยปลูก

โดยสรุปเทคโนโลยีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการจัดการโรคใบขาวในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันตก ในขณะนี้คือ การปลูกอ้อยและตัดอ้อยในช่วงต้นฤดูคือช่วงเดือนธันวาคม ถึงมีนาคม ซึ่งสามารถลดการเกิดโรคในอ้อยตอ1 ได้มากกว่า 50% เมื่อเปรียบเทียบกับอ้อยที่ปลูกในช่วงเดือนมิถุนายน ถึงสิงหาคม จากผลงานที่ผ่านมาแม้ว่าจะทราบแนวทางการจัดการโรคใบขาวได้แล้ว แต่ก็พบว่า เราไม่มีทางที่จะทำให้อุตสาหกรรมอ้อยปลอดจากโรคใบขาวได้ แต่ก็พบว่า อ้อยที่มีการติดเชื้อ บางครั้งไม่แสดงอาการและสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ ในขณะที่อ้อยที่แสดงอาการไม่รุนแรง แต่เมื่อเพิ่มปุ๋ยสามารถให้ผลผลิตได้ส่วนหนึ่ง ในขณะที่ยังไม่มีพันธุ์ใดต้านทานต่อโรคได้ แนวทางในการดำเนินงานในรอบใหม่คือ การเพิ่มปริมาณอ้อยปลอดโรค การกำจัดเชื้อสาเหตุที่ติดมากับท่อนพันธุ์ การหาวิธีการผลิตอ้อยให้ปลอดโรคมากที่สุด และการจัดการธาตุอาหารที่เหมาะสม ที่จะทำให้อ้อยได้ผลผลิตเพิ่มและสามารถไว้ตอได้ดี ในขณะที่ยังต้องศึกษาในเชิงลึกเรื่องการตอบสนองของอ้อยเมื่อได้รับเชื้อ และหาวิธีการพัฒนาการตรวจสอบ และรับรองพันธุ์สะอาดปลอดจากโรคใบขาวให้เกษตรกรได้ใช้ต่อไป

การทบทวนวรรณกรรม

โรคที่สำคัญที่สุดของอ้อยในทุกพื้นที่ปลูกคือโรคใบขาว พบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2497 บนอ้อยพันธุ์ CO. 421 ที่อำเภอเกาะคา จังหวัดลำปาง หลังจากนั้นพบโรคในพื้นที่ปลูกอ้อยทั่วประเทศโดยเฉพาะในเขตปลูกที่อาศัยน้ำฝน ความรุนแรงของโรคในแต่ละปีพบไม่เท่ากัน ซึ่งยังไม่สามารถระบุสาเหตุที่แน่นอนได้ มีรายงานความเสียหายเนื่องจากโรคนี้อยู่เป็นเนืองๆ ตัวอย่างเช่น การระบาดรุนแรงครั้งแรกในปี 2534 ที่มีการระบาดทั่วประเทศ คิดเป็นมูลค่าถึง 774 ล้านบาท และในปีการผลิต 2544/45 มีการประมาณการพื้นที่การ

ระบาดในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือประมาณอีก 230,000 ไร่ ผลกระทบโดยตรงของโรคนี้คือ ทำให้ผลผลิตในอ้อยปลูกลดลงถึง 30-40% และไม่สามารถไว้ตอได้ ต้องปลูกใหม่ ในบางพื้นที่ความเสียหายอาจรุนแรงถึง 100% ซึ่งจะมีผลที่ต่อเนื่อง คือปัญหาการขาดแคลนท่อนพันธุ์ ในแปลงที่เป็นโรคไม่รุนแรงเมื่อเกษตรกรใส่ปุ๋ยและให้น้ำกับอ้อยจะทำให้อาการของโรคเห็นไม่ชัดเจน เกษตรกรยังคงเก็บเกี่ยวผลผลิตได้และใช้ขยายพันธุ์ต่อไป ทำให้ปัญหาโรคใบขาวยังคงอยู่ แม้จะไม่มีรายงานความเสียหายทุกปี เนื่องจากในบางปีเกษตรกรจะไม่เห็นอาการของโรค หรือในปีที่แล้งจัด อ้อยทั้งแปลงจะแสดงอาการซีดเหลือง ซึ่งบดบังอาการขาว และความเสียหายผลผลิตที่เกษตรกรเห็นชัดจะเป็นเรื่องของหนอนกออ้อยมากกว่า

เชื้อสาเหตุของโรคใบขาว คือ เชื้อไฟโตพลาสมา เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว ขนาด 80-100 นาโนเมตร ไม่มีผนังเซลล์ รูปร่างไม่แน่นอน แต่ส่วนใหญ่กลม เชื้ออยู่ภายในเซลล์ในส่วนของ sieve cell และ phloem parenchyma cell ของเนื้อเยื่อท่อลำเลียงน้ำของพืช มีชีวิตอยู่ได้เฉพาะในเซลล์พืชหรือแมลงที่มีชีวิตเท่านั้น เชื้อจะตายเมื่อพืชหรือแมลงพาหะตาย เชื้อไม่สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดและ ไม่ถ่ายทอดโดยวิธีกล เช่นจากการเสียดสีของใบอ้อยหรือมีดตัดอ้อย การศึกษาในไต้หวันพบว่าเชื้อสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะได้แต่ช้ามาก การแพร่ระบาดของโรคที่สำคัญมี 2 วิธี คือการติดไปกับท่อนพันธุ์ ซึ่งวิธีนี้เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้โรคใบขาวแพร่ระบาดไปได้อย่างกว้างขวางและรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อนำท่อนพันธุ์จากแหล่งที่เป็นโรคไปขยาย และปลูกข้ามเขต ในระบบปลูกของเกษตรกรชาวไร่อ้อยในปัจจุบัน โดยเฉพาะในรายเล็กจะไม่มีการคัดเลือกท่อนพันธุ์ และการเตรียมพันธุ์ที่ดี เกษตรกรมักจะซื้อพันธุ์จากแปลงใกล้เคียง หรือใช้อ้อยที่ค้างไว้ในแปลงซึ่งมักเป็นอ้อยตอ หรืออ้อยที่ไม่แข็งแรง อมโรค โดยเฉพาะในช่วงเวลาที่เร่งปลูก และท่อนพันธุ์ขาดแคลน ดังนั้นในแหล่งที่มีการระบาดของโรคเป็นประจำ เช่นในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จึงมักเห็นอ้อยปลูกใหม่ที่แสดงอาการใบขาวเป็นประจำ และเมื่อเกษตรกรให้ปุ๋ย และมีฝนตก อ้อยจะโตเร็วมากทำให้บดบังอาการใบขาวและสามารถให้ผลผลิตได้ ชาวไร่อ้อยจึงไม่เห็นความสำคัญของการใช้ท่อนพันธุ์ที่ดี ความเสียหายของโรคจะไปปรากฏรุนแรงในอ้อยตอที่จะไม่ให้ผลผลิตเลย และมักจะเป็นแปลงที่ถูกละเลยปล่อยค้างไว้ในไร่กลายเป็นวงจรของการแพร่ระบาดด้วยวิธีที่สองต่อไปแมลงพาหะของโรคใบขาวที่สำคัญในขณะนี้คือเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาล (Matsumuratettix hiroglyphicus) ปริมาณที่พบแมลงสูงสุดอยู่ในช่วงฤดูฝน ในพื้นที่ทางภาคตะวันตกเขตจังหวัดกาญจนบุรี เป็นไปในทำนองเดียวกันคือปริมาณแมลงจะเริ่มเพิ่มปริมาณในช่วงเดือนกันยายน ซึ่งเป็นกลางฤดูฝน และเริ่มลดลงอย่างรวดเร็วในเดือนธันวาคม ซึ่งเป็นช่วงที่อุณหภูมิลดลง (วันทนีย์ และคณะ 2532) โดย Suthiphong (1992) สรุปว่าปริมาณของน้ำฝน และอุณหภูมิ มีอิทธิพลต่อปริมาณของแมลง M hiroglyphuscus เป็นอย่างยิ่ง สำหรับพื้นที่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบแมลงได้ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึงตุลาคม โดยพบมากที่สุดระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึง สิงหาคม และลดน้อยลง ไม่พบเลยในตั้งแต่เดือนตุลาคม ถึง เมษายนของทุกปี (พรทิพย์ 2542) แมลงชนิดนี้จะวางไข่ในพื้นที่ที่เป็นดินทราย และมีวงจรชีวิต ประมาณ 1 – 2 เดือน และยังมีรายงานว่า ความสามารถในการถ่ายทอดโรคเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาลสามารถถ่ายทอดเชื้อผ่านไข่ได้ นอกจากเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาล M hiroglyphuscus แล้ว ยุพา และคณะ (2005) รายงานว่าเพลี้ยจักจั่น Yamatotettix flavovittatus สามารถถ่ายทอดโรคใบขาวได้ แต่ต้องใช้เวลาในการรับเชื้อไฟโตพลาสมาอย่างน้อย 24 ชม. ซึ่งนานกว่าเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาลและถ่ายทอดโรคได้ 5-45 %

การถ่ายโรคจากเชื้อไฟโตพลาสมานอกจากมีแมลงเป็นพาหะแล้ว อาจใช้กาฝากถ่ายทอดโรคจากต้นปกติได้ แต่ค่อนข้างยุ่งยาก จากการศึกษาของ Ruiz-Sifre และคณะ (1997) พบว่าเชื้อไฟโตพลาสมาสามารถถ่ายจาก poinsentia ต้นที่มีลักษณะแตกพุ่มซึ่งเป็นอาการที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาเข้าทำลาย ไปสู่ต้นที่ไม่มีอาการนี้โดยการต่อกิ่งและทำให้ต้นที่เชื้อเข้าไปใหม่นั้นเกิดอาการแตกพุ่มเช่นเดียวกัน โดยพบว่าเกิดขึ้นในระยะที่ parenchyma cell ของทั้งสองต้นที่นำมาเชื่อมกัน มีการแบ่งตัวเป็นปุ่ม หรือเป็นระยะที่สร้างแคลลัสแต่ยังไม่มีการเชื่อมของ vascular แสดงให้เห็นว่าการสัมผัสกันของแคลลัสสามารถส่งถ่ายเชื้อไฟโตพลาสมาได้โดยไม่ต้องใช้ท่อ vascular เช่นเดียวกันกับรายงานการศึกษาของ Naor และคณะ (2010) ที่ทำการศึกษาในองุ่น และพบว่าสามารถส่งถ่ายไฟโตลาสมาเข้าสู่เนื้อเยื่อแคลลัสได้ในระยะ callus induction

ปัจจุบันได้มีรายงานการนำเทคนิคการบำบัดด้วยความเย็นต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง (Cryotherapy) มาใช้ในการรักษาโรคเนื่องจากอุณหภูมิที่เย็นจัดทำให้เกิดการตกผลึกของน้ำภายในเซลล์ ในทางการแพทย์ได้มีการนำมาใช้ทำลายเนื้อเยื่อที่ผิดปรกติ เช่น หูด ไฝ และโรคผิวหนังบางชนิด เช่นโรคสะเก็ดเงิน (http://www.radiologyinfo.org/en/info.cfm?pg=cryo 19 มิ.ย. 54) มีการนำเทคนิค Cryotherapy มาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคในพืชด้วยเช่นกัน โดยพบว่าสามารถกำจัดเชื้อไวรัส ไฟโตพลาสมา และแบคทีเรียจากพืชได้ โดยใช้ตัวอย่าง shoot tips ในการทำ ซึ่งทำให้สามารถทำได้หลายตัวอย่างพร้อมๆกัน ทำให้การขยายพันธุ์ต้นปลอดเชื้อมีประสิทธิภาพมาก (Wang and Valkonen, 2009) ในปี 1997 Briston และคณะใช้เทคนิค cryotherapy ในการกำจัดเชื้อไวรัส (Plum pox virus) จากต้นตอของพืชสกุล Prunus ได้สำเร็จโดยการใช้วิธี vitrification กับชิ้นส่วนปลายยอด (shoot tips) นอกจากนี้ยังมีการใช้วิธี encapsulation vitrification ในการกำจัดเชื้อ Grapevine virus A จาก grapevine ได้สำเร็จเช่นกัน ซึ่งพบว่ามีเปอร์เซ็นต์ต้นปลอดเชื้อถึง 97% เทียบกับวิธีการขยายพันธุ์ด้วยปลายยอดโดยไม่ผ่าน cryotherapy ที่ได้ต้นปลอดเชื้อเพียง 12% เท่านั้น (Engelmann, 2004) Wang และ Valkonen (2009)ได้รายงานการใช้วิธีการนี้กำจัดไวรัสในเนื้อเยื่อพืชอีกหลายชนิด รวมถึงการกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาจากเนื้อเยื่อของพืชด้วย โดย ใช้เทคนิค cryotherapy กำจัดเชื้อ sweet potato little leaf phytoplasma (SPLL) และ Candidatus Phytoplasma aurantifolia ในเนื้อเยื่อปลายยอด (shoot tips) ของมันเทศได้ถึง 100% เมื่อเทียบกับวิธีเดิมที่ไม่ผ่าน cryotherapy และใช้การขยายพันธุ์ด้วยเนื้อเยื่อ meristem พบว่ามีเพียง 10% เท่านั้นที่ไม่มีเชื้อ (Wang and Valkonen, 2008)

สำหรับรายงานการทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยสารต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial) และยาปฏิชีวนะ (antibiotic) บางชนิดนั้น Aldaghi และคณะ (2008) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์บางชนิด ได้แก่ nisin, esculentin, pyrithione และ chloramphenicol รวมทั้ง essential oil บางชนิด ได้แก่ carvacrol, eugenol, terpineol, alpha-pinener ซึ่งมีฤทธิต้านเชื้อราและแบคทีเรีย เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ 2 ชนิด ได้แก่ tetracycline และ enrofloxacin และวัดหาปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาด้วย real time PCR หลังจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสังเคราะห์ที่มีสารดังกล่าวเป็นเวลา 1 ถึง 2 เดือน พบว่า ในเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารที่มี pyrithion ระดับ 10 และ 100 ppm ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมา รวมทั้งยังพบว่าสารบางชนิดยังทำให้ปริมาณเชื้อต่ำลงได้อีกด้วย ส่วน Askari และคณะ

(2011) รายงานว่าสารผสมระหว่าง surfactin และ tetracycline อัตราส่วน 1: 1 สามารถยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเชื้อไฟโตพลาสมา Candidatus P. aurantifolia ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สุนี และคณะ (2552) ทำการทดสอบการปลูกและตัดอ้อยเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดโรคในภาคตะวันตก พบว่าอ้อยที่ปลูกและตัดระหว่างเดือนมกราคม ถึงมีนาคม อ้อยจะแสดงอาการใบขาวน้อยที่สุดสามารถลดความเสียหายจากโรคใบขาวได้มากกว่า 50 % ซึ่งสอดคล้องกับ วันทนีย์ และคณะ (2532) เนื่องจากอ้อยที่กำลังเจริญเติบโตอยู่ในช่วงที่มีแมลงพาหะน้อย

Nichio et al. (1985) ศึกษาถึงโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับคลอโรฟิล และการส่งถ่ายอิเล็คตรอน ซึ่งมีการวัดในช่วงการทดลองให้แร่ธาตุเหล็ก เพื่อการพัฒนาคลอโรพลาสต์กับ ซูก้าบีท ผลการทดลองพบว่า โปรตีนที่เกี่ยวข้องนี้มีผลต่อขบวนการสังเคราะห์แสง แร่ธาตุเหล็กที่ให้ สามารถช่วยในการสังเคราะห์ไขมันของเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ และสร้างโปรตีนของไทลาคอยด์ รวมถึงช่วยในการเก็บแสงไว้ที่คลอโรฟิล ซึ่งมีผลกระตุ้นให้มีคลอโรฟิลรวมสูงขึ้นมาก และในอีกผลการทดลอง พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงจำนวนของไทลาคอยด์กาแลคโตลิปิดหลังจากมีการให้แร่เหล็กอีกครั้ง และช่วงเวลาที่ให้แร่เหล็กมีการพัฒนาคลอโรพลาสต์เกิดขึ้น จำนวนกาแลคโตลิปิดต่อพื้นที่ใบเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ให้แร่เหล็ก ซึ่งถือว่าเป็นตัวชี้บอกถึงปริมาณไทลาคอยด์ที่เพิ่มขึ้นด้วย และสร้างเยื่อหุ้มไทลาคอยด์ในช่วงที่ใบเปลี่ยนกลับมาเป็นสีเขียว สำหรับในกลุ่มพืช C4 บางชนิด ผลการศึกษาพบว่า การขาดแร่ธาตุโซเดียมภายในต้น มีผลให้ภายในคลอโรพลาสต์ สูญเสียส่วนของกรานาไป ทำให้คลอโรพลาสต์เสื่อมสภาพ การสร้างสีเขียวจึงเกิดความผิดปกติขึ้น (Grof et al., 1989) นอกจากนี้มีรายงานของ Makio and Oamond (1991) ว่าแร่ธาตุไนโตเจนมีความสำคัญกับคลอโรพลาสต์และไมโตคอนเดรีย โดยเฉพาะจากการศึกษาในถั่วลันเตาและข้าวสาลี พบว่าไนโตรเจนมีผลต่อคุณภาพของคลอโรพลาสต์และส่งผลถึงประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงด้วย และจากการศึกษาอื่น ๆ พบว่าแร่ธาตุอาหารรองหลายชนิดเกี่ยวข้องกับการสารสีเขียวในพืชได้เช่นกัน ดังงานวิจัยของ Shenker et al. (2004) รายงานว่าแร่ธาตุแมงกานีส เหล็ก และ Cu Zn-superoxide dismutase มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ การเคลื่อนย้ายโลหะ ความเข้มข้นคลอโรฟิล และการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะแมงกานีสมีผลต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ และมีผลต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลด้วย

กอบเกียรติ์ และคณะ(2552) พบว่าอ้อยที่มีเชื้อไฟโตพลาสมาจะแสดงอาการใบขาวหรือไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในพืชที่มีมากเกินไป เนื่องจากเกษตรกรมีการจัดการดินและปุ๋ยไม่เหมาะสม เกิดการสะสมฟอสฟอรัสในดินมากเกินปกติจะขัดขวางการดูดใช้ธาตุอาหารพืชอื่นๆ เช่น แมกนีเซียม สังกะสี โพแทสเซียม แคลเซียม และไนโตรเจน นอกจากนี้ยังมีธาตุสังกะสีและแมกนีเซียมน้อยกว่าอ้อยปกติ (ซึ่งในดินดั้งเดิมก็มีน้อยอยู่แล้ว) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณความเข้มข้นและสัดส่วนของธาตุอาหารต่างๆ ในพืชมีแนวโน้มสัมพันธ์กับในดินแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติและ จากการทดลอง พบว่า การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับการใส่โดโลไมท์และซิลิคอน มีแนวโน้มทำให้เปอร์เซ็นต์ของใบขาวของอ้อยตอ 1 ลดลงมากกว่าใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำเดิม

สำหรับการป้องกันกำจัดที่ดีที่สุดคือการใช้พันธุ์ที่สะอาดปราศจากโรค ในปัจจุบันยังไม่มีการตรวจรับรองแหล่งผลิตพันธุ์อ้อยที่สะอาดได้ เนื่องจากขาดอุปกรณ์และวิธีการที่แม่นยำ วิธีการที่ใช้ในปัจจุบันคือการ

สังเกตจากอาการของต้นอ้อยซึ่งในบางครั้งอ้อยไม่แสดงอาการใบขาวให้เห็นชัดเจน เช่นในช่วงฤดูแล้งซึ่งอ้อยมักจะแสดงอาการเหลือง หรือในช่วงฤดูฝน อ้อยจะโตเร็วบดบังอาการใบขาว แม้จะมีชุด test-kit ที่ผลิตจำหน่ายโดยเอกชน แต่เมื่อทดลองใช้ในหลายพื้นที่พบว่าผลยังไม่น่าเชื่อถือ จากรายงานพบว่าพืชที่มีการติดเชื้อจะมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีระภายใน ซึ่งอาจส่งผลให้การทำงานของเอ็นไซม์บางชนิดเปลี่ยนแปลงไป เป็นปฏิกิริยาต่อต้านของพืชนั้นๆ หรือเชื้ออาจจะปล่อยสารเคมี โปรตีน หรือ เอ็นไซม์บางชนิดออกมาทำลายพืช เช่น white rot fungus (Pleurotus ostreatus) จะปล่อยเอ็นไซม์ Laccase 4 ชนิด ออกมาทำลายลิกนิน หรืออ้อยที่อ่อนแอต่อโรคราสนิม (rust) จะมีรูปแบบของเอ็นไซม์ peroxidase เปลี่ยนแปลงเมื่อเริ่มเป็นโรค (Ramos Real, M., et al., 1989) และในแอปเปิลที่ติดเชื้อไฟโตพลาสมา พบว่า กิจกรรมของเอ็นไซม์ ribulose 1,5-biphosphate carboxylase และ nitrate reductase ลดลง แต่มีปริมาณของ น้ำตาล แป้ง กรดอะมิโน และแซคคาไรด์ เพิ่มขึ้น (Bermatinit, M., et al., 2002) การเปลี่ยนแปลงนี้น่าจะเป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการตรวจสอบท่อนพันธุ์อ้อยได้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ (apical meristem culture) ที่มีการตรวจเชื้อสาเหตุโรคใบขาว (ไฟโต-พลาสมา) โดยใช้เทคนิควิธีทางชีวโมเลกุล (nested PCR) เป็นวิธีการสำคัญในการผลิตท่อนพันธุ์อ้อยปลอดโรคใบขาว แต่จากการศึกษาในช่วงปี 2549-2553 พบว่าหน่ออ้อยที่ผลิตยังมีการปนเปื้อนเชื้อสาเหตุโรคในระหว่างการเพาะเลี้ยง ถึงแม้จะผ่านการตรวจเชื้อสาเหตุในเบื้องต้นแล้วก็ตาม ซึ่งอ้อยชุดที่ตรวจพบเชื้อในภายหลังอาจนำไปผลิตเป็นท่อนพันธุ์สะอาดใช้ปลูกได้อีกหลายรุ่น (นิลุบลและคณะ, 2553) โดยเฉพาะเมื่อมีการจัดการที่เหมาะสม (กอบเกียรติและคณะ, 2553) ปัจจุบันการตรวจเชื้อโดยวิธีการนี้สามารถแยกได้คร่าว ๆ ว่าพบเชื้อในปริมาณมาก น้อย หรือไม่มีเชื้อ นอกจากนั้นยังมีเครื่อง Real-time PCR ที่สามารถวัดปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาได้ ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลการแสดงอาการโรคใบขาวจากกล้าอ้อย ที่มีปริมาณเชื้อแตกต่างกัน เมื่อนำไปผลิตท่อนพันธุ์ในสภาพแปลงปลูก ก็จะเป็นประโยชน์ในการผลิตท่อนพันธุ์อ้อยสะอาดลดเชื้อโรคใบขาว ต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

3.1 การวิจัยด้านการชีววิทยาของเชื้อสาเหตุและการตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคใบขาวอ้อย

3.1.1 การตรวจความแตกต่างของเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยที่เป็นโรคใบขาวด้วยเทคนิค High Resolution Melting (HRM)

1.1 เก็บตัวอย่างอ้อยสำหรับใช้เป็นตัวอย่างมาตรฐาน ได้แก่อ้อยที่แสดงอาการใบขาว, ใบขาวกอฝอย และกอตะไคร้ จากพื้นที่ปลูกอ้อยจำนวนอาการละ 10 ตัวอย่าง จากภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย

1.2 วิธีการสกัดดีเอ็นเอของ Li and Midmore (1999) จากนั้นตรวจสอบปริมาณและคุณภาพดีเอ็นเอด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง nanodrop spectrophotometer (Maestrogen, Taiwan)

1.3 ออกแบบไพรเมอร์สำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 16S-23S rDNA

1.4 ทำการจัดลำดับนิวคลีโอไทด์ให้ถูกต้องด้วยโปรแกรม BioEdit และ Clustal W จากนั้นทำการสร้าง phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม MEGA ver. 5.05 ด้วยวิธี Neighbor-Joining โดยใช้โมเดล Kimura 2-parameter ด้วยการสุ่มข้อมูล (bootstrap) จำนวน 1,000 ครั้ง

1.5 วิเคราะห์ SNP ด้วยวิธี High- resolution melting (HRM)

3.1.2 การศึกษาการปริมาณของสารชีวเคมีในอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาว

ทำการศึกษาโดยตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับความเครียดจากพืชในกลุ่ม Oxidative stress ปริมาณโปรตีนและองค์ประกอบและผลผลิตจากการสังเคราะห์แสง ร่วมกับการตรวจปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาและการแสดงออกของยีนบางชนิดที่เกี่ยวข้องกับความเครียดและการแสดงอาการของโรคในพืช ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และพันธุ์อื่นบางพันธุ์

3.1.3 การตรวจวินิจฉัยเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย

ทำการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวในอ้อย 2 วิธี ได้แก่ (1) real time PCR quantification ที่ตำแหน่งยีน secretory membrane protein A (*secA*) และ 16S rDNA และ (2) Reverse transcriptase real time PCR เพื่อใช้ได้วิธีการตรวจเชื้อใบขาวที่แม่นยำขึ้น การพัฒนาวิธีการตรวจปริมาณเชื้อชนิด Absolute quantification ใช้ดีเอ็นเอต้นแบบ (*secA)* เทียบกับกราฟมาตรฐานและ Relative quantificationใช้ยีนของพืช (18S rRNA) เป็นตำแหน่งอ้างอิง และใช้ยีน *secA* เป็นยีนเป้าหมาย (target gene)

3.2 การป้องกันกำจัดโรคใบขาวอ้อย

3.2.1 ผลของฤดูปลูกต่อการแสดงอาการใบขาวของอ้อยในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลของวันปลูกต่อการเกิดโรคใบขาวอ้อย

ศึกษาการเกิดโรคใบขาวอ้อยที่ปลูกในวันปลูกที่แตกต่างกัน ประกอบด้วย วันปลูกในช่วงฤดูแล้ง (ตุลาคม-มกราคม) ต้นฤดูฝน (กุมภาพีนธ์-มีนาคม) และ ฤดูฝน (เมษายน-มิถุนายน) รวม 6 วันปลูก ในแต่ละวันปลูกวางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ กรรมวิธีคือพันธุ์อ้อย 3 พันธุ์ ได้แก่ ขอนแก่น3 แอลเค 92-11 และTPJ04-768 ที่มีการแช่น้ำร้อน 50 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง และไม่แช่ รวมเป็น 6 กรรมวิธี ดำเนินการทดลองที่ตำบลท่าพระ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ดินร่วนทราย วันปลูก 1)ปลูกเมื่อ 4 พฤศจิกายน 2554 2)ปลูกเมื่อ 12 มกราคม 2555 3)ปลูกเมื่อ 14 มีนาคม 2555 วันปลูก 4)ปลูก 16 พฤษภาคม 2555 5) ปลูก 12 มิถุนายน 2556 และ 6) ปลูก 8 พฤศจิกายน 2556 โดยใช้ระยะห่างระหว่างแถว 1.3 เมตร ด้วยท่อนพันธุ์ 3 ตา วางท่อนคู่ ใส่ปุ๋ย 15-15-15 อัตรา 100 กิโลกรัมต่อไร่ แบ่งใส่ 2 ครั้ง รองก้นหลุม และ เมื่ออ้อยอายุ 5 เดือน บันทึกข้อมูล จำนวนกอรวม และจำนวนกอที่เป็นโรคใบขาว เดือนละครั้ง

การถ่ายทอดโรคทางท่อนพันธุ์

ใช้ท่อนพันธุ์อ้อยจากแปลงอ้อยที่ปลูก 13 มิถุนายน 2556 ตัดอ้อยปลูก 26 มิถุนายน 2557 โดยเลือกลำอ้อยจากกอที่สมบูรณ์ไม่พบอาการใบขาวของทั้ง 3 พันธุ์ กลุ่มละ 100 ตา 4 ซ้ำ ไปเพาะในถุงเพาะชำ นับจำนวนต้นงอก ต้นแสดงอาการใบขาว แล้วนำต้นที่ไม่แสดงอาการใบขาวไปปลูกในแปลงเพาะ 26 มิถุนายน 2557 นับต้นงอก 16 และ 26 กรกฎาคม และ 18 สิงหาคม 2557 และนำไปปลูกในแปลง วันที่ 18 สิงหาคม 2558 ตรวจนับกอที่เป็นโรคใบขาวทุกเดือน

ปริมาณแมลงพาหะโรค

ทำการดักแมลงด้วยกับดักแสงไฟ กระโจมสามเหลี่ยมสูง 1 เมตร ฐานสามด้านห่าง กัน 50 เซนติเมตร ในช่วงเวลา 18.00-20.00 น. เดือนละครั้ง จากเดือนเมษายน 2555 ถึง กันยายน 2558

3.2.2 การจัดการธาตุอาหารเพื่อฟื้นฟูอ้อยที่เป็นโรคใบขาวในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและ สภาพไร่

การทดลองประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ 1) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมาในอาหารสังเคราะห์ที่ดัดแปลงธาตุอาหารต่าง ๆ 2) การทดลองในเรือนเพาะชำป้องกันแมลง 3) ปลูกอ้อยในแปลงเกษตรกรร่วมกับการจัดการธาตุอาหาร

ขั้นตอนที่ 1 เปรียบเทียบการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อ และการแสดงอาการใบขาว ของอ้อย ระหว่าง อาหารเหลวสังเคราะห์ ดัดแปลงสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2 พีพีเอม กรดซิตริก 150 พีพีเอม และน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.6-5.8 และเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยไว้ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 $\pm$ 3 องศาเซลเซียส ให้ความเข้มแสง 1000-3000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ไม่ให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน เปลี่ยนอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณต้นกล้าทุก 1-2 เดือน ขยายเพิ่มปริมาณไว้ใช้กับทุกการทดลอง หลังจากนั้นย้ายหน่ออ้อยที่มีอายุ 1 เดือน จากนั้นเปลี่ยนอาหาร 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงนาน 1 เดือน เก็บบันทึกผลการทดลอง เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต สีใบ (ให้เป็นค่าคะแนน 1-5 โดยเปรียบเทียบกับแถบสีมาตรฐานที่กำหนดจากสีขาวจนกระทั่งเป็นสีเขียว) ทุก 3-5 วัน และนับจำนวนต้นเมื่ออายุ 1 เดือน ก่อนเปลี่ยนอาหารแต่ละครั้ง ดำเนินการทดลอง 4 ครั้ง ที่มีกรรมวิธีแตกต่างกันดังนี้

กรรมวิธีที่นำมาศึกษาคือ ครั้งที่1 ธาตุอาหารที่พืชต้องการมากและน้อย

MMS (MS ดัดแปลง)

MMS – $ZnSO_4$

MMS + 2 NH_4NO_3

MMS +2 $MnSO_4$ - ½ $ZnSO_4$

MMS + 2 KNO_3 +2 $CaCl_2$ + 2 KH_2PO_4 - ½ $ZnSO_4$

MMS - $MnSO_4$ - $ZnSO_4$

ครั้งที่ 2 ธาตุอาหารที่พืชต้องการน้อย

MMS

MMS - $MnSO_4$

MMS – 1/2 $MnSO_4$

MMS +2 $MnSO_4$

ครั้งที่ 3 ธาตุอาหารที่พืชต้องการน้อย

MMS

MMS + $MnSO_4$

MMS - $MnSO_4$

MMS + KH_2PO_4

MMS - KH_2PO_4

ครั้งที่ 4 เพิ่มสารประกอบกลุ่มธาตุเหล็ก

MMS

MMS + Fe_2SO_4 + EDTA

MMS - Fe_2SO_4 - EDTA

MMS + ½ Fe_2SO_4 + ½ EDTA

ขั้นตอนที่ 2 นำวางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCB 5x4 ปัจจัย 4 ซ้ำ

ปัจจัย A ประกอบด้วยกล้าอ้อยที่มาจาก สูตรอาหาร 5 สูตร

1) MS

2) MS เพิ่ม 1x $MgSO_4$

3) MS เพิ่ม 1x KH_2PO_4

4) MS เพิ่ม 1x $FeSO_4$ +EDTA

5) MS เพิ่ม 1 x $FeSO_4$ +½EDTA

ปัจจัย B ประกอบด้วย การใส่ปุ๋ย 4 แบบ

1) ใส่ปุ๋ยตามอัตราสมดุลธาตุอาหาร N P K

2) ใส่ปุ๋ยเกินอัตราสมดุลธาตุอาหาร N 1 เท่า

3) ใส่ปุ๋ยตามอัตราสมดุลธาตุอาหาร N P K และเพิ่มซิลิกอน

4) ใส่ปุ๋ยตามอัตราสมดุลธาตุอาหาร N P K และเพิ่ม$MgSO_4$ $FeSO_4$ $ZnSO_4$ และโบรอน (บอร์แรกซ์)

วิธีการ ทำการย้ายต้นกล้าอายุ 1 เดือน ลงปลูกในกระถางที่บรรจุทราย แบ่งใส่ปุ๋ยตามแผนการทดลอง 2 ครั้ง ครั้งแรกใส่พร้อมปลูก ครั้งที่ 2 เมื่ออ้อยอายุ 3 เดือน วาง

กระถางไว้ในโรงมุ้งที่ป้องกันแมลง รดน้ำทุก ๆ วันละ 1 ครั้ง บันทึกการเจริญเติบโตด้านความสูงและจำนวนหน่อ 1 3 และ 6 เดือน และการแสดงอาการใบขาว

ขั้นตอนที่ 3 ทำการทดลอง ในแปลงเกษตรกรที่ อำเภอพิมาย จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งเป็นเขตใบขาวระบาดรุนแรง ปลูกอ้อยวันที่ 23 พฤศจิกายน 2557 พันธุ์ 95-84 เป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูก ใส่ปุ๋ยสูตร 16-8-8 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่รองพื้นครั้งแรก ปฏิบัติดูแลตามปกติก่อนใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 ตามแผนการทดลอง คือ ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ และเพิ่มธาตุซิลิกอน ตามกรรมวิธี นับจำนวนต้นที่แสดงอาการใบขาว และการเจริญเติบโตเมื่ออ้อยอายุ 4 เดือน

3.2.3 การกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาในท่อนพันธุ์อ้อย ด้วยวิธีการแช่ท่อนน้ำร้อน

1) การศึกษาผลของการแช่น้ำร้อนด้วยวิธี Dual hot water treatment กับอ้อยพันธุ์ขอนแก่น3 และขอนแก่น80 โดยเลือกลำอ้อยจากกอที่เป็นโรคมาทำการแช่ในน้ำร้อน 2 ครั้ง คือ ที่ 52°C นาน 50 นาที ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วนำมาแช่น้ำร้อนที่ 50°C นาน 2, 2.30 และ 3 ชั่วโมง นำมาปลูกในถุงดำขนาด 5x10 นิ้ว โดยวางเรียงท่อนจากโคน-ปลาย 1 ซ้ำ ใช้ 10 ท่อน วางแผนการทดลองแบบ Split plot 6 ซ้ำโดยมีพันธุ์อ้อยเป็น main plot และระยะเวลาการแช่น้ำร้อนครั้งที่ 2 เป็น sub plot เริ่มการทดลอง ตั้งแต่ ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2555

2) การกำจัดเชื้อโรคใบขาวในอ้อยที่มีระดับการติดเชื้อแตกต่างกัน ด้วยการแช่น้ำร้อน โดยการนำท่อนพันธุ์อ้อยพันธุ์ขอนแก่น3 จากแปลงที่เป็นโรค เลือกท่อนพันธุ์จากกอที่เป็นโรคแตกต่างกัน 5 ระดับ มาทำการแช่น้ำร้อน 5 กรรมวิธี วางแผนการทดลองแบบ factorial in RCB 2 ปัจจัย 4 ซ้ำๆ ดูผลของการแช่น้ำร้อนทั้งในเรือนเพาะชำและในแปลงปลูก ดำเนินการทดลองระหว่างปี ตุลาคม 2554 - กันยายน 2557

3.2.4 การกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาในในเนื้อเยื่ออ้อยด้วย Cryotherapy และสารต้านจุลินทรีย์บางชนิด

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยบนอาหารสูตร Murashige and Skoog's (MS) ที่เติมฮอร์โมน2,4-D ความเข้มข้น 2 mg/l และ kinetin ความเข้มข้น 0.5 mg/l เพื่อชักนำให้เจริญไปเป็นแคลลัสโดยเพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจนเกิดเป็นแคลลัส แล้วทำการกำจัด เชื้อไฟโตพลาสมาด้วยวิธี

1) cryotherapy โดยใช้เทคนิค 2 แบบเปรียบเทียบกันคือ เทคนิค encapsulation-vitrificationและ encapsulation-dehydration

เทคนิค encapsulation-vitrification เริ่มจากการนำเนื้อเยื่ออ้อยแต่ละชนิดมาเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่มี sucrose ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม เป็นเวลา 1-2 วัน สร้างเมล็ดเทียมด้วย 2% sodium-alginate ในอาหารเหลว MS ที่มี sucrose 0.4 M และทำให้ปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิเหมาะสมคือ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ซึ่งอุณหภูมิดังกล่าวมีผลต่อการฟอร์มตัวของเมล็ดเทียมและประสิทธิภาพในการปกป้องเนื้อเยื่อจากการถูก

ทำลายด้วยผลึกน้ำแข็ง (ภาพที่ 1)และหยดลงใน calcium chloride 0.1 M แช่ไว้ประมาณ 30 นาที และย้ายลงบนเพลท (plate) ทิ้งไว้ใน laminar flow เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วจึงย้ายลงใน LS (2 M glycerol และ 0.4 M sucrose)เป็นเวลา 20นาที จากนั้นย้ายลงหลอด vial cryoที่มี PVS1, PVS2 และ PVS3 แล้วแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง 1) นำเมล็ดเทียมดังกล่าวแช่ในสารละลาย PVS ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที ก่อนนำไปแช่ในถังไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 12 นาที2) นำเมล็ดเทียมแช่ในสารละลาย PVS ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 50 นาที แล้วนำไปแช่ในถังไนโตรเจนเหลวเป็นเวลา 12 นาที จากนั้นละลายผลึกน้ำแข็งที่อุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส แล้วย้ายลงในสารละลาย LS1 (2 M glycerol และ 1.2 M sucrose) เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นย้ายเนื้อเยื่อที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวลงในอาหารเหลวสูตร MS หรืออาหารสูตร MS ที่มีการเติมฮอร์โมนเพื่อชักนำให้เจริญเป็นแคลลัสเขย่าข้ามคืน แล้วผ่าเมล็ดเทียมที่หุ้มแคลลัสออกก่อนนำไปเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2 mg/l 2,4-D และ 0.5 mg/l kinetin ประมาณ 1 เดือนเพื่อพักฟื้น (ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตในวันที่ 2 หลังจากการแช่แข็ง โดยสังเกตจากสีของแคลลัสเปรียบเทียบกับแคลลัสชุดควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการแช่แข็ง) ก่อนย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 0.5 mg/l 2,4-D และ 0.5 mg/l kinetin เพื่อชักนำให้เกิดต้นต่อไป

เทคนิค encapsulation-dehydration คือ การสร้างเมล็ดเทียมเพื่อห่อหุ้มเนื้อเยื่อจากการถูกทำลายด้วยผลึกน้ำแข็งร่วมกับดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อด้วยการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารMS ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงเพื่อให้เหลือน้ำประมาณ 20% ของน้ำหนักสด ก่อนนำเนื้อเยื่อไปแช่เย็นในไนโตรเจนเหลว โดยสร้างเมล็ดเทียมหุ้มเนื้อเยื่ออ้อยแต่ละชนิดด้วย 3% sodium-alginate ในอาหารเหลว MS ที่มี sucrose ความเข้มข้น 0.4 M จากนั้นหยดลงใน calcium chloride ความเข้มข้น 0.1 M แช่ไว้ประมาณ 30 นาที แล้วย้ายลงในอาหารเหลว MS ที่มี sucrose ความเข้มข้น 0.75 Mเป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน หลังจากนั้นย้ายลงบนเพลท (plate) ทิ้งไว้ใน laminar flow เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนย้ายลงหลอด vial cryoแล้วนำไปแช่ในถังไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 12นาที จากนั้นละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที ผ่าเมล็ดเทียมที่หุ้มแคลลัสออก แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่มี 2 mg/l 2,4-D และ 0.5 mg/l kinetin ประมาณ 1 เดือนเพื่อพักฟื้น (ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตในวันที่ 2 หลังจากการแช่แข็ง โดยสังเกตจากสีของแคลลัสเปรียบเทียบกับแคลลัสชุดควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการแช่แข็ง) ก่อนย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 0.5 mg/l 2,4-D และ 0.5 mg/l kinetin เพื่อชักนำให้เกิดต้นต่อไป

2) การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาในเนื้อเยื่ออ้อยด้วยยาปฏิชีวนะบางชนิดได้แก่ สาร Myco-1&2

สาร Cotrimoxazole

สารในกลุ่ม biocide

สาร Preservative for Plant Tissue Culture Media

สาร active natural extracts

นำต้นอ้อยจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมามาตัดเป็นท่อนขนาด 1 เซนติเมตร นำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมที่เติมสารต่างๆ ข้างต้น ความเข้มข้นและเวลาในกำใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของสาร จากนั้น ย้ายลงบนอาหารแข็งสูตร MS เพื่อให้อ้อยเจริญเป็นต้นและนำไปตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค nested-PCR

การตรวจเชื้อไฟโตพลาสมาที่ยีน secA ด้วย direct PCR : ทำปฏิกิริยา PCR 15 ไมโครลิตร มีส่วนประกอบดังนี้ template DNA 100 ng 3 ไมโครลิตร,10x *Tag* reaction buffer 1.5 ไมโครลิตร, $MgCl_2$1.5 ไมโครลิตร, 2.5 µM dNTP 1.2 ไมโครลิตร, 10 µM F/R primer SecA 0.75 ไมโครลิตร ddH_2O นึ่งฆ่าเชื้อ 5.35 ไมโครลิตร นำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง PCR thermal cycle ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 2 นาที ตั้งโปรแกรมจำนวน 35 รอบ ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 1 วินาที, 57 องศาเซลเซียส 30 วินาที , 72 องศาเซลเซียส 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 7 นาที

3.3 การผลิตท่อนพันธุ์อ้อยจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยปลอดโรค

3.3.1 ศึกษาปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาของอ้อยจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการแสดงออกของโรคใบขาวในสภาพแปลงปลูก

คัดเลือกต้นกล้าที่ตรวจปริมาณเชื้อโรคใบขาวแตกต่างกัน 3 ระดับ คือไม่พบเชื้อ พบเชื้อระดับต่ำ และ พบเชื้อระดับสูง โดยใช้วิธี nested PCR และตรวจหาปริมาณเชื้อในกล้าอ้อยทั้ง 3 กลุ่มอีกครั้งโดย Real-time PCR นำกล้าอ้อยที่มีระดับเชื้อต่างกันไปปลูกในแปลงผลิตท่อนพันธุ์ การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินใช้อัตรา 18 N - 6 P_2O_5 - 12 K_20 กิโลกรัมต่อไร่ การใส่โดโลไมท์ใช้อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ และกรรมวิธีที่ใส่ธาตุอาหารเสริม(ZnSO4) จะนำกล้าอ้อยไปจุ่มในสารละลาย $ZnSO_4$ 5 % ก่อนปลูก และใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีทดลอง และเมื่ออ้อยอายุ 4 เดือนหลังปลูก กำจัดวัชพืชตามและให้น้ำความจำเป็น ตรวจสอบอัตรารอด การเจริญเติบโต ปริมาณเชื้อโรคใบขาว การเกิดโรคใบขาว ผลผลิตและคุณภาพท่อนพันธุ์ โดยศึกษาทั้งในอ้อยปลูกและอ้อยตอ และในแปลงท่อนพันธุ์ ทำการใส่ปุ๋ยโดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง หลังปลูก 1 สัปดาห์ ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ตั้งแต่ปี2556-2558

3.3.2 ศึกษาผลของการให้น้ำ และปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในกล้าอ้อยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการแสดงออกของโรคใบขาวในสภาพแปลงผลิตท่อนพันธุ์

นำกล้าอ้อยที่มีระดับเชื้อต่างกันไปปลูกในแปลงผลิตท่อนพันธุ์ ให้น้ำด้วยระบบน้ำหยดโดยให้น้ำในทุกกรรมวิธีทดลอง 5 ม.ม. เมื่อปลูก หลังจากนั้นจึงให้น้ำเฉพาะในกรรมวิธีที่ให้น้ำ โดยปริมาณน้ำที่ให้ต้องรวมกับปริมาณน้ำฝนในช่วงนั้นด้วย ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง หลังปลูก 1 สัปดาห์ และ 3 เดือน กำจัดวัชพืชตามความจำเป็น ตรวจสอบอัตรารอด การเจริญเติบโต ปริมาณเชื้อโรคใบขาว การเกิดโรคใบขาว ผลผลิตและคุณภาพท่อนพันธุ์ โดยศึกษาทั้งในอ้อยปลูกและอ้อยตอ ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ตั้งแต่ปี2556-2558

3.4 การศึกษาการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของแมลงพาหะโรคใบขาวของอ้อย

การศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวน 63 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตของเพลี้ยจักจั่น *Yamatotettix flavovittatus* พาหะนำโรคใบขาว ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ ระหว่างปี 2554-2558 ทำการทดลองโดยใช้ตัวอ่อนที่เพิ่งฟักออกจากไข่ของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* จากการขยายปริมาณในกรงตาข่ายในสภาพธรรมชาติ นำมาเลี้ยงบนใบอ้อยของแต่ละพันธุ์ในสภาพห้องปฏิบัติการ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4-10 ซ้ำ

ผลการวิจัย

3.1 การวิจัยด้านการชีววิทยาของเชื้อสาเหตุและการตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคใบขาวอ้อย

3.1.1) การตรวจความแตกต่างของเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยที่เป็นโรคใบขาวด้วยเทคนิค High Resolution Melting (HRM)

1. การจัดกลุ่มเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคในอ้อย

จากการทำปฏิกิริยา PCR และการหาลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่ามีขนาดความยาวของเชื้อไฟโตพลาสมาจากตัวอย่างโรคใบขาว, กอฝอย และกอตะไคร้ เท่ากับ 1770, 1771 และ 1772 bp ตามลำดับ เมื่อนำมาสร้าง Phylogenetic tree (Ficture 1) พบว่าสามารถจัดกลุ่มตัวอย่างได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาว และกอฝอย กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มของเชื้อไฟโตพลาสมาโรคกอตะไคร้ เมื่อพิจารณาค่าความเหมือน (% similarity) พบว่าเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวและโรคกอฝอย มีระดับความเหมือนกัน 99% ในขณะที่เชื้อไฟโตพลาสมาโรคกอตะไคร้ มีความเหมือนกันกับเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวและกอฝอย ที่ระดับ 85-86% ตามลำดับ จึงมีความเป็นไปได้ว่าเชื้อไฟโตพลาสมาโรคกอตะไคร้อาจเป็น subgroup ใหม่ของกลุ่ม 16SrXI group (Candidatus Phytoplasma oryzae; Rice yellow dwarf group) หรืออาจเป็นกลุ่มใหม่ของ 16Sr group ซึ่งต้องทำการพิสูจน์ต่อไป

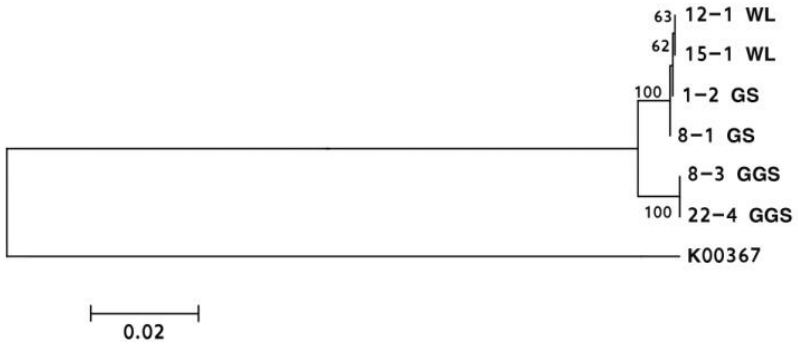


Figure 1 Phylogenetic tree constructed by the Neighbor-Joining method of 16S-23S rDNA sequences from phytoplasma in sugarcane leaf samples showing symptoms of white leaf (WL), grassy shoot (GS) and green grassy shoot (GGS). *Bacillus sp*. (K00367) used as the outgroup. Numbers on the branches are confidence values obtained for 1,000 replication. The bar represents a phylogenetic distance of 1%.

2. การจำแนกเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยวิธี HRM

จากการตรวจสอบความแปรปรวนของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S-23S rDNA ของเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวและกอฝอย พบตำแหน่ง SNP คือ A254G ซึ่งมีผลทำให้การแปลรหัสพันธุกรรมเป็นกรดอะมิโนเปลี่ยนจากไลซีนเป็นอาร์จีนีน ในขณะที่เชื้อไฟโตพลาสมาโรคกอตะไคร้มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ต่างจากเชื้อใบขาวกับกอฝอย ที่ตำแหน่ง T245C ซึ่งมีผลทำให้กรดอะมิโนตำแหน่งนี้เปลี่ยนจากแวลีนเป็น อะลานีน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้เป็นผลมาจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เปลี่ยนไป ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นมีผลทำให้ลำดับและชนิดของกรดอะมิโนเปลี่ยนไป ส่งผลต่อสมบัติของโปรตีนที่สังเคราะห์ขึ้นแตกต่างไปจากเดิม

ผลการทำปฏิกิริยา PCR ด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบมาให้คร่อมกับตำแหน่ง SNP จากตัวอย่างจำนวน 38 ตัวอย่าง มีทั้งแสดงและไม่แสดงอาการจากการติดเชื้อ นำผลผลิต PCR มาวิเคราะห์ค่าการคลายเกลียวของสายดีเอ็นเอ (melting temperature; Tm) ด้วยโปรแกรม Tm calling (Figure 2 a)ได้ค่าเฉลี่ย Tm ของกลุ่มเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาว, กอฝอย และกอตะไคร้ เป็น 80.30, 80.75 และ 79.92°C ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกันมากจนแยกไม่ออก

การจำแนกความแตกต่างของจีโนไทป์ จากการสร้างกราฟ Normalized melting curve ด้วยโปรแกรม Gene Scanning (รูปที่ 2 b) พบว่าสามารถแยกตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่ม อย่างชัดเจนดังนี้ 1) กลุ่มเชื้อไฟโตพลาสมาโรค กอฝอย 2) กลุ่มเชื้อไฟโตพลาสมาโรคกอตะไคร้ และ 3) กลุ่มเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวและตัวอย่างที่ไม่แสดงอาการ แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างที่ไม่แสดงอาการนั้นติดเชื้อไฟโต

พลาสมาโรคใบขาวแล้ว และจากการทดลองจะเห็นได้ว่าการแสดงลักษณะอาการของโรคอ้อยที่แตกต่างกันนั้นเกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมาที่แตกต่างกัน

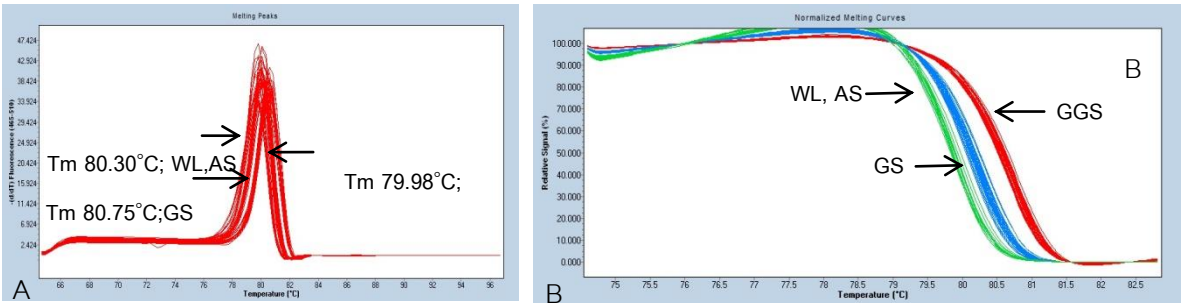


Figure 2 (A) Melting curve analysis of real-time PCR amplification products. The sugarcane white leaf (WL), sugarcane grassy shoot (GS) and sugarcane green grassy shoot (GGS) peaks showed 80.30°C, 80.75°C and 79.98°C, respectively. (B) Normalized Melting curve analysis of PCR amplicon of the 16S-23S rRNA from different symptomatic and asymptomatic samples. The melting curve in red and blue line are sugarcane green grassy shoot (GGS) and sugarcane grassy shoot (GS), respectively. The sugarcane white leaf (WL) and asymptomatic (AS) are shown by green line.

การใช้วิธี HRM สามารถตรวจและจำแนกเชื้อที่เป็นสาเหตุของลักษณะอาการ ทำให้แก้ปัญหาเรื่องการจำแนกอาการโรคอ้อยโดยเฉพาะโรคใบขาวและกอฝอย ซึ่งมีลักษณะที่คล้ายกันมากออกจากกันได้ มีรายงานการวิจัยใช้เทคนิค PCR และวิเคราะห์ผลผลิตด้วย HRM ทำให้สามารถแยกจีโนไทป์ของเชื้อ *Mycoplasma gallisepticum* 30 ไอโซเลทได้อย่างรวดเร็ว (Seyed *et al*., 2010) การศึกษาจีโนไทป์ของยีน *SNRPN* จากตัวอย่างเลือด ด้วยเทคนิค real-time PCR ร่วมกับการวิเคราะห์ผลด้วยวิธี melting curve พบว่าเทคนิคนี้เป็นทางเลือกที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ทั้งคุณภาพและปริมาณ (Chia-Cheng et al., 2011) การคัดเลือกลำดับนิวคลีโอไทด์ที่กลายพันธุ์ระดับยีน (point mutation) ด้วยวิธี qPCR-HRM สามารถนำมาประยุกต์ใช้สร้างวิธีการตรวจสอบการกลายพันธุ์ระดับยีนสาเหตุของมะเร็งได้อย่างแม่นยำ (Etienne et al, 2009) การวิเคราะห์ผลผลิตจาก PCR ด้วยวิธี HRM ไม่จำเป็นรู้ลำดับนิวคลีโอไทด์ และเป็นวิธีที่ให้ผลการทดลองเร็ว สามารถทำได้ง่าย มีความไวของปฏิกิริยาสูง เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมากในแต่ละครั้ง (Chia-Cheng et al., 2011; Etienne et al, 2009) มี

ค่าใช้จ่ายที่ประหยัดกว่าการจำแนกเชื้อไฟโพลาสมาด้วยหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละตัวอย่าง และนำมาสร้าง phylogenetic tree

การใช้วิธี HRM มีประโยชน์ในการตรวจสอบและจำแนกเชื้อในตัวอย่างที่ไม่แสดงอาการของโรคอ้อย และงานวิจัยด้านการติดเชื้อข้ามชนิด การศึกษาแมลงนำโรค เพื่อหาแนวทางลดการระบาดของโรคอ้อยที่มีสาเหตุจากเชื้อไฟโตพลาสมา

3.1.2) การศึกษาการปริมาณของสารชีวเคมีในอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาว

การศึกษาเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในต้นอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาวทำการศึกษาโดยการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับความเครียดจากพืชในกลุ่ม oxidative stress ได้แก่ กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ได้แก่ Ascorbate peroxidase (APX) และ Guaicol peroxidase (GPX) เพื่อศึกษาถึงการสลายสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นออกซิเจนและน้ำ และระดับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่เกิดจากการกำจัดอนุมูลอิสระ (O_2^-) ที่พืชสร้างขึ้นจากการที่พืชได้รับความเครียดจากสภาพแวดล้อมทั้งมีชีวิต (biotic stress) และไม่มีชีวิต (abiotic stress) วัดปริมาณสาร Malondialdehyde (MDA) เพื่อวิเคราะห์การทำลายของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการ lipid peroxidation วัดปริมาณโปรตีนรวมเพื่อตรวจสอบการทำงานของระบบต่างๆ ภายในเซลล์ ในช่วงเครียด ศึกษาปริมาณแป้ง น้ำตาล และคลอโรฟิลล์ เพื่อตรวจสอบขบวนการสังเคราะห์แสง ศึกษาปริมาณสารโพรลีนเพื่อตรวจระดับ osmotic stress ในกลุ่ม abiotic stress ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกซึ่งพืชจะสร้างขึ้นเมื่อถูกโรคและแมลงเข้าทำลาย ศึกษาปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิคพีซีอาร์ และศึกษาการแสดงออกของยีนบางชนิดที่เกี่ยวข้องกับความเครียดและการแสดงอาการของโรคในพืช ทำการศึกษาในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และพันธุ์อื่นบางพันธุ์ ในอ้อยอายุ 4-9 เดือนใช้ตัวอย่างจากแปลงทดลองในศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น ส่วนในกลุ่มอายุ 1-2 เดือนใช้การเพาะกล้าอ้อยในกระบะทรายและให้น้ำ

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในอ้อยที่ติดโรคใบขาวที่เกิดจาก Oxidative stress พบว่า กิจกรรมเอ็นไซม์ APX มีการเปลี่ยนแปลงที่ค่อนข้างสัมพันธ์กับการแสดงอาการของโรคใบขาวเด่นชัดกว่า GPX โดยในกลุ่มที่มีอาการใบขาว มีค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ APX สูงกว่ากลุ่มใบเขียว ในตัวอย่างใบขาวที่มีอาการรุนแรงแล้ว จะมีค่านี้ต่ำ ผลการตรวจวิเคราะห์ค่า APX ในกลุ่มตัวอย่างอายุ 1 เดือน ที่ไม่มีอาการใบขาว พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0.57-1.63 unit การตรวจวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในกลุ่มตัวอย่างเหล่านี้ พบว่ามีปริมาณ 30-41 mg/l ในขณะที่ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างใบขาวอายุ 1 เดือน จำนวนอีก 21 ตัวอย่าง พบมีค่าอยู่ระหว่าง 24.67-66.00 mg/l สูงกว่าช่วงค่าปกติในกลุ่มต้นที่ไม่มีอาการที่อายุเดียวกันซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 15.33-37.66 mg/l แสดงถึงสภาวะเครียดที่พืชไม่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้

ค่า APX ที่สูงขึ้นนี้พบในตัวอย่างทั้งช่วงอายุ 1 เดือน 4-5 เดือน และ 9 เดือน รวมทั้งกลุ่มตัวอย่างเส้นกลางใบเหลืองซึ่งเป็นอาการหนึ่งที่มักพบในกอที่แสดงอาการใบขาวด้วย ในใบที่มีอาการรุนแรงแล้ว จะมีค่ากิจกรรมเอ็นไซม์นี้ต่ำ สาเหตุจากต้นเข้าสู่ภาวะการตาย ในใบเขียวที่อยู่ในกอขาว ที่มีค่ากิจกรรมเอ็นไซม์นี้สูงเช่นกัน แสดงถึงภาวะเครียดของอ้อยในกอที่มีอาการใบขาวที่มีการสร้างและสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระ และในสภาวะนี้อาจแสดงอาการใบขาวได้หากถูกกระตุ้นด้วยสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม

ในอ้อยที่มีภาวะเครียดจากสภาพแล้ง พบว่ามีค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ APX สูงขึ้นได้เช่นกัน การทดสอบอ้อยที่ไม่มีอาการใบขาวในสภาวะแล้งจัด ในตู้ควบคุมการเจริญเติบโต (39°C; 20,000 LUX; 60% RH; 72Hrs) พบว่าใบแสดงอาการม้วนเป็นแส้ และมีค่า APX สูงขึ้นกว่าต้นควบคุมที่ไม่ผ่านสภาวะแล้ง โดยมีค่าในช่วง 2.23-2.47 unit และพบว่าปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในกลุ่มตัวอย่างเหล่านี้ ค่อนข้างสูง (25.66-31.00 mg/l) เมื่อเทียบกับช่วงค่าปกติ (15.33-51.33 mg/l) ดังนั้นในสภาพนี้หากพืชมีภาวะติดเชื้อใบขาวร่วมด้วย อาจทำให้เกิดการแสดงอาการใบขาวได้ในระยะต่อมา

อย่างไรก็ตามพบว่าการเพิ่มขึ้นของค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ APX นี้ขึ้นอยู่กับลักษณะประจำพันธุ์ได้ด้วยเช่นกัน จากการทดสอบอ้อย 3 พันธุ์อายุประมาณ 1-2 เดือน ที่ไม่มีอาการใบขาว มีปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในระดับต่ำกว่า 100 copies / μl (ในดีเอ็นเอพืช 25 ng) มีลักษณะการทนแล้งในระดับต่างกัน ได้แก่ พันธุ์ขอนแก่น3 และ K88-92 ซึ่งมีรายงานว่าทนแล้ง และพันธุ์ KPK 98-40 ซึ่งไวต่อสภาพแล้ง เมื่อนำมาทดสอบสภาวะแล้งในตู้ควบคุมการเจริญเติบโต (39°C; 20,000 LUX; 55% RH; 14:10 Light/dark) เวลานาน 4 วัน และตรวจวัดผลหลังการทดสอบทันที พบว่าค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ APX ของพันธุ์ขอนแก่น3 มีระดับสูงกว่าค่าปกติ 2.05 เท่า ส่วนพันธุ์ K88-92 และ KPK98-40 มีค่า APX สูงกว่าค่าปกติ 1.29 และ 1.91 เท่าตามลำดับ เช่นเดียวกับค่าโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีค่าสูงขึ้น 2.06, 1.78 และ 1.61 เท่าจากค่าปกติตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเอ็นไซม์ APX นี้สามารถถูกสร้างขึ้นได้ทั้งจากภาวะเครียดจาการติดเชื้อไฟโตพลาสมา และจากสภาพแล้ง

สำหรับกิจกรรมเอ็นไซม์ Guaiacol peroxidase (GPX) ของต้นใบขาวมีค่าระหว่าง 101.11-228.38 unit ซึ่งอยู่ในกลุ่มค่าสูงของกลุ่มต้นที่ไม่แสดงอาการ โดยค่าปกติอยู่ในช่วง 53.11-212.44 unit จึงทำให้ความแตกต่างของ GPX ชนิดระหว่างกลุ่มที่มีและไม่มีอาการใบขาวไม่ชัดเจนเท่ากับ APX แต่จากการทดสอบในอ้อย 3 พันธุ์ที่มีเชื้อต่ำ และมีลักษณะการทนแล้งในระดับต่างกัน ดังกล่าวข้างต้น พบว่าการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมเอ็นไซม์ GPX จากสภาพแล้งขึ้นกับพันธุ์ด้วย โดยพบว่า พันธุ์ขอนแก่น3 มีค่า GPX สูงกว่าค่าปกติถึง 2.05 เท่า ส่วนพันธุ์ K88-92 และ KPK 98-40 มีค่าที่ 1.17 และ 1.08 เท่าของค่าปกติตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเอ็นไซม์ GPX อาจเป็นเอ็นไซม์ที่ไม่ตอบสนองต่อการติดเชื้อไฟโตพลาสมา แต่อาจจะแสดงถึงความแตกต่างในการตอบสนองต่อสภาวะแล้งของแต่ละพันธุ์

ส่วนสาร Malondialdehyde (MDA) ของต้นใบขาวอายุ 1 เดือนพบว่ามีค่าระหว่าง 0.015-0.053 mg/g FW ซึ่งอยู่ภายในช่วงของกลุ่มที่ไม่แสดงอาการที่ค่าปกติอยู่ในช่วง 0.019-0.041 mg/g FW

ทั้งนี้พบว่าค่า MDA ที่สูงส่วนใหญ่พบในกลุ่มที่มีอาการใบขาวแล้ว เช่นเดียวกันกับการอ้อยที่อยู่ในสภาวะแล้ง โดยผลการทดสอบอ้อย 3 พันธุ์ที่มีเชื้อต่ำในสภาพแล้ง ดังกล่าวข้างต้น พบว่ามีค่า MDA สูงขึ้นกว่าค่าปกติ 4.00, 2.46 และ 2.85 เท่าในพันธุ์ขอนแก่น 3 พันธุ์ KPK 98-40 และ K88-92 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า MDA บ่งชี้ถึงสภาวะที่เซลล์บางส่วนถูกทำลายไปทั้งจากการติดเชื้อ และสภาพแล้ง

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโปรตีนในอ้อยที่ติดโรคใบขาว พบว่าต้นที่แสดงอาการใบขาว (อายุ 1 เดือน) มีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูงแต่ไม่แตกต่างจากช่วงของกลุ่มต้นที่มีอาการขาวเขียว โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 4.30 -7.22 mg/g FW ส่วนค่าปกติของกลุ่มต้นที่ไม่มีอาการอยู่ในช่วง 2.65-6.18 mg/g FW ทั้งนี้กลุ่มต้นที่มีอาการใบขาวอย่างรุนแรงและเริ่มเข้าสู่ภาวะตายแล้วจะมีปริมาณโปรตีนต่ำลงกว่าช่วงปกติ เช่นเดียวกันกับการทดสอบในอ้อยที่มีเชื้อต่ำในสภาวะแล้งดังกล่าวข้างต้น ที่มีปริมาณโปรตีนรวมลดลง 1.27, 1.27 และ 3.11 เท่าในพันธุ์ขอนแก่น 3 พันธุ์ KPK 98-40 และ K88-92 ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในต้นใบขาวอายุ 1 เดือน พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0.31-3.39 mg/g FW ส่วนในต้นที่ไม่แสดงอาการใบขาวมีค่าระหว่าง 1.31-2.98 mg/g FW จะเห็นว่าในกลุ่มต้นใบขาวนั้นมีปริมาณสารนี้คลอบคลุมช่วงค่าปกติ และพบว่าในกลุ่มต้นที่มีอาการใบขาวรุนแรงจะสารชนิดนี้ค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับกลุ่มต้นที่ไม่แสดงอาการใบขาวแต่มีการติดเชื้อในระดับสูง ซึ่งได้แก่ กลุ่มต้นที่มีอาการเส้นกลางใบเหลือง และกลุ่มใบเขียว ใบขาวเขียว ที่อยู่ในกอใบขาว แสดงให้เห็นว่ามีการสร้างสารเพื่อต่อต้านการทำลายจากโรค ในกลุ่มต้นอ้อยที่มีเชื้อต่ำ แต่อยู่ในสภาวะแล้ง สามารถตรวจพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงได้เช่นกัน โดยพบค่าสูงขึ้น 1.6, 2.14 และ 2.5 เท่าจากค่าปกติในพันธุ์ขอนแก่น 3 พันธุ์ KPK 98-40 และ K88-92 ตามลำดับ

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโพรลีนในอ้อยที่ติดโรคใบขาว ในกลุ่มตัวอย่างอายุ 1 เดือน ที่มีอาการใบขาว พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 0.91-3.74 μmol/g FW ซึ่งอยู่ในช่วงค่าสูงเมื่อเทียบกับค่าปกติของกลุ่มตัวอย่างอายุเดียวกันที่ไม่มีอาการใบขาวซึ่งมีค่านี้ในช่วง 0.55-2.42 μmol/g FW และพบว่าค่าโพรลีนนี้จะมีค่าสูงในกลุ่มที่มีอาการใบขาว และกลุ่มเส้นกลางใบเหลือง ในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่มีอาการใบขาวที่ทดสอบภาวะแล้งจัดในตู้ควบคุมสภาวะแวดล้อม พบว่ามีค่าโพรลีนสูงอย่างเด่นชัดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยมีค่านี้อยู่ในช่วง 5.34-6.17 μmol/g FW แสดงให้เห็นถึงบทบาทที่ชัดเจนของโพรลีนในการรักษาสภาวะออสโมติกในเซลล์พืช จากการทดลองเบื้องต้นพบว่าอ้อยที่ฟื้นจากการผ่านสภาวะแล้งในตู้ควบคุม บางต้นจะแสดงอาการใบขาวทันทีเมื่อมีการสร้างใบใหม่

ผลการทดสอบอ้อย 3 พันธุ์ที่มีปริมาณเชื้อต่ำในสภาพแล้งดังกล่าวข้างต้น พบว่า ตรวจพบปริมาณ โพรลีนสูงกว่าค่าปกติอย่างเด่นชัดเช่นเดียวกัน โดยพบมีค่าสูงถึง 5.9, 5.3 และ 5.4 เท่าในพันธุ์ขอนแก่น 3 พันธุ์ KPK 98-40 และ K88-92 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าพืชแสดงภาวะเครียดออสโมติกได้จากทั้งสภาวะแล้งและการติดเชื้อไฟโตพลาสมา ดังนั้นสภาวะแล้งจึงอาจมีผลต่อการแสดงอาการโรคใบ

ขาวได้ หากต้นมีเชื้อในปริมาณสูงประกอบด้วย และจากการทดสอบเพิ่มเติมพบว่า ในใบที่แสดงอาการขาวเพียงบางส่วนนั้น สามารถกลับเขียวคืนได้เอง เมื่อได้รับน้ำและไม่อยู่ในสภาวะเครียด

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่สัมพันธ์กับการสังเคราะห์แสงในอ้อยที่ติดโรคใบขาว การเปลี่ยนแปลงที่พบได้อย่างเด่นชัด คือ ปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยในอ้อยใบขาวอายุ 1 เดือนมีปริมาณคลอโรฟิลล์ในช่วง 0.11-0.22 mg/g FW ส่วนค่าปกติของกลุ่มต้นที่ไม่มีอาการมีค่าอยู่ในช่วง 0.47-1.09 mg/g FW ในกลุ่มตัวอย่างใบเขียวที่อยู่ในกอขาว รวมทั้งกลุ่มที่มีอาการเส้นกลางใบเหลือง พบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำกว่ากลุ่มกอที่ไม่มีอาการใบขาว

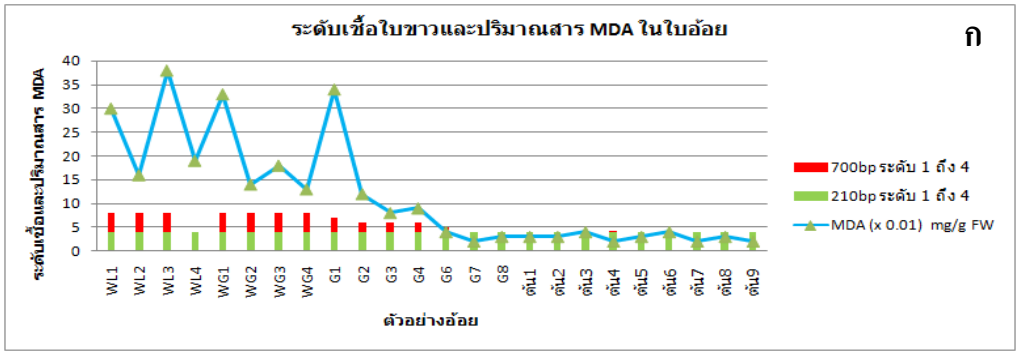
ในอ้อยที่เป็นโรคใบขาวจะมีปริมาณแป้งและน้ำตาลแตกต่างจากกลุ่มที่ไม่มีอาการ โดยในกลุ่มที่มีอาการใบขาวจะมีการสะสมแป้งในปริมาณที่สูง แต่มีปริมาณน้ำตาลรวมในปริมาณต่ำเมื่อเทียบกับกลุ่มไม่มีอาการ โดยค่าปกติของแป้งในต้นอายุ 1 เดือนอยู่ในช่วง 2.56-10.98 mg/g FW ส่วนในใบขาวรุนแรงที่อายุเดียวกัน จะมีค่านี้ต่ำอยู่ในช่วงคล้ายต้นปกติ (1.96-4.72 mg/g FW) ในขณะที่ต้นใบเขียว ขาวเขียว และขาวที่อยู่ในกอขาว จะมีค่าแป้งอยู่ในช่วงค่อนข้างสูงกว่าช่วงปกติ (3.70-34.36 mg/g FW) ส่วนในอ้อยที่อยู่ในสภาวะแล้ง ในขณะที่ใบยังม้วนเป็นลักษณะคล้ายแส้นั้น พบว่ามีการสะสมแป้งสูงกว่าช่วงค่าปกติได้เช่นกันโดยมีค่าในช่วง 11.17-15.65 mg/g FW ผลการทดสอบอ้อย 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขอนแก่น 3 พันธุ์ KPK 98-40 และ K88-92 ที่มีปริมาณเชื้อต่ำในสภาพแล้งดังกล่าวข้างต้น สามารถตรวจพบปริมาณแป้งในใบสูงกว่าค่าปกติ 2.14, 1.63 และ 2.04 เท่าตามลำดับ

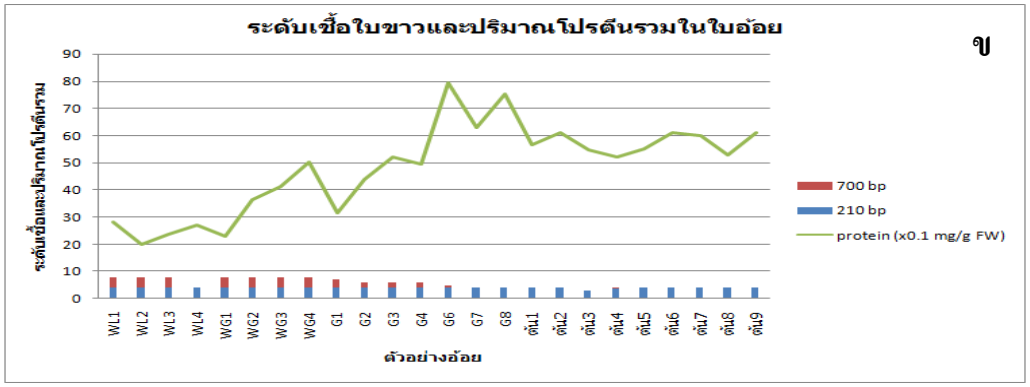
แต่ทั้งนี้ในกลุ่มที่เป็นใบขาวจะมีค่าน้ำตาลรวมต่ำลง โดยในต้นใบขาวอายุ 1 เดือนมีค่าอยู่ในช่วง 1.14-2.37 mg/g FW ในขณะที่ช่วงค่าปกติของกลุ่มอายุเดียวกันอยู่ระหว่าง 1.34-4.19 mg/g FW เช่นเดียวกับตัวอย่างอ้อยอายุ 3 เดือนในแปลง ในทางตรงกันข้าม ในต้นไม่มีอาการใบขาวที่อยู่ในสภาพแล้งกลับพบว่าปริมาณน้ำตาลรวมค่อนข้างสูง โดยอยู่ระหว่าง 2.59-3.76 mg/g FW ซึ่งเป็นสัดส่วนที่แตกต่างจากต้นที่เป็นใบขาว และผลการทดสอบอ้อย 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขอนแก่น 3 พันธุ์ KPK 98-40 และ K88-92 ที่มีปริมาณเชื้อต่ำในสภาพแล้งดังกล่าวข้างต้น พบปริมาณน้ำตาลสะสมในใบสูงกว่าค่าปกติเช่นกัน โดยพบมีค่าสูงขึ้น 2.24, 2.23 และ 1.17 เท่าตามลำดับ แสดงให้เห็นถึงความผิดปกติของการสะสมน้ำตาลในอ้อยที่ติดเชื้อใบขาว กับอ้อยที่มีเชื้อต่ำ และอยู่ในสภาวะแล้ง

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในอ้อยที่ติดโรคใบขาว ร่วมกับการตรวจปริมาณเชื้อ ไฟโตพลาสมาในใบ

การทดสอบในกลุ่มตัวอย่างอ้อยตออายุประมาณ 2 เดือน ในแปลงทดลองที่ประกอบด้วยตัวอย่าง ใบขาวและใบเขียวที่ได้จากกอเดียวกัน ตัวอย่างใบเขียวจากกอที่ไม่มีอาการใบขาว และต้นที่ขยายจากอ้อยสะอาดและไม่มีอาการใบขาว จากการตรวจระดับปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาว พบว่า ตัวอย่างจากสองกลุ่มแรกมีเชื้อในปริมาณสูงมาก ส่วนกลุ่มหลังตรวจพบเชื้อในปริมาณต่ำ จากผลการทดลองวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีร่วมกับการตรวจปริมาณเชื้อในใบ พบว่ามีบางชนิดเท่านั้นที่มีค่าแปรผันตามอาการและปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในใบ โดยประกอบด้วย 3 กลุ่มหลัก ได้แก่

(1) กลุ่มที่แสดงถึงการสลายของเซลล์ที่เกิดจากการทำลายของเชื้อหรือการเสื่อมสภาพของเซลล์ จะมีปริมาณมากขึ้นเมื่อเชื้อมีจำนวนเพิ่มขึ้น และอาการใบขาวมากขึ้น ได้แก่ MDA (ภาพที่ 1ก) (2) กลุ่มที่แสดงถึงระบบการทำงานของเซลล์ถูกขัดขวาง เมตาบอลิสมผิดปกติ สร้างสารต่างๆ ได้ลดลง ทำให้ระบบต่างๆ ทำงานได้น้อย ได้แก่ โปรตีนรวม ที่มีปริมาณน้อยลงเมื่อเชื้อมีจำนวนเพิ่มขึ้นและอาการใบขาวมากขึ้น (ภาพที่ 1ข) (3) กลุ่มที่แสดงถึงการต่อต้านของพืชต่อการเข้าทำลายของเชื้อ จะมีปริมาณน้อยเมื่ออ้อยแสดงอาการใบขาวแล้ว แต่จะมีปริมาณมากเมื่อยังไม่แสดงอาการหรือมีอาการบางส่วน แต่มีเชื้อในปริมาณมาก ได้แก่ กิจกรรมเอ็นไซม์ APX ปริมาณไฮโดรเจน-เปอร์ออกไซด์ ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก (ภาพที่ 2 ก-ค) ส่วนกลุ่มชนิดอื่นที่เหลือจะประกอบด้วย กลุ่มที่แสดงถึงเมตาบอลิสมที่ผิดปรกติ ที่เกิดจากผลของสภาพแวดล้อมอื่น ได้แก่ ปริมาณแป้ง น้ำตาล และ โพรลีน ซึ่งโพรลีนนี้ แม้พบว่ามีปริมาณสูงในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นใบเขียวทั้งในกลุ่มที่มีเชื้อมากและเชื้อน้อยคล้ายกับกลุ่มที่ 3 แต่พบปริมาณสูงเมื่อเซลล์อยู่ในภาวะขาดน้ำ เช่น แล้ง แสดงให้เห็นว่าโพรลีนอาจเป็นตัวบ่งชี้ถึงตัวแปรร่วมที่เสริมภาวะเครียดที่ทำให้พืชอ่อนแอมากขึ้น (ภาพ 1ค)





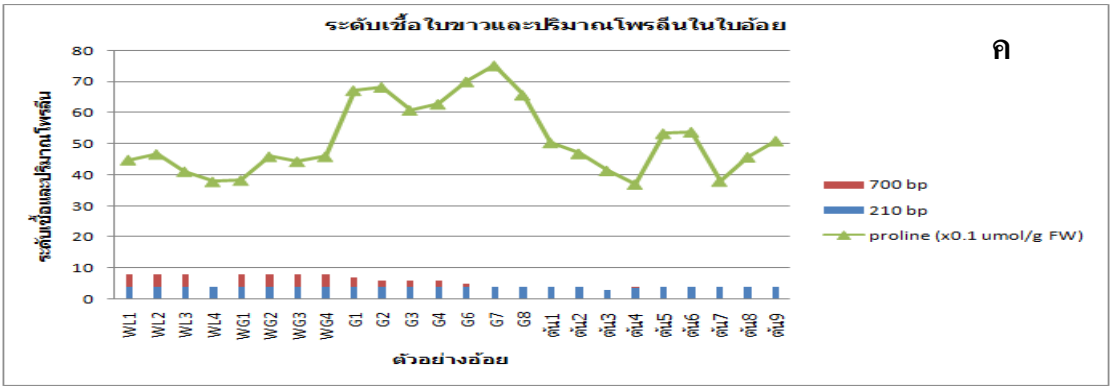
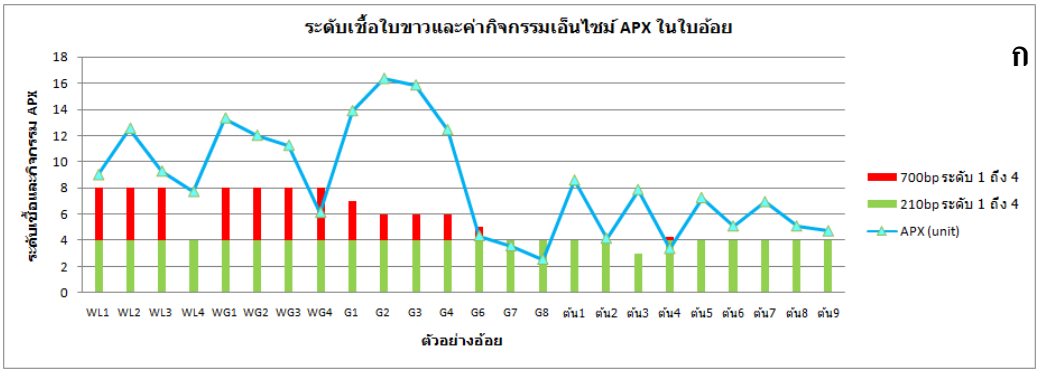
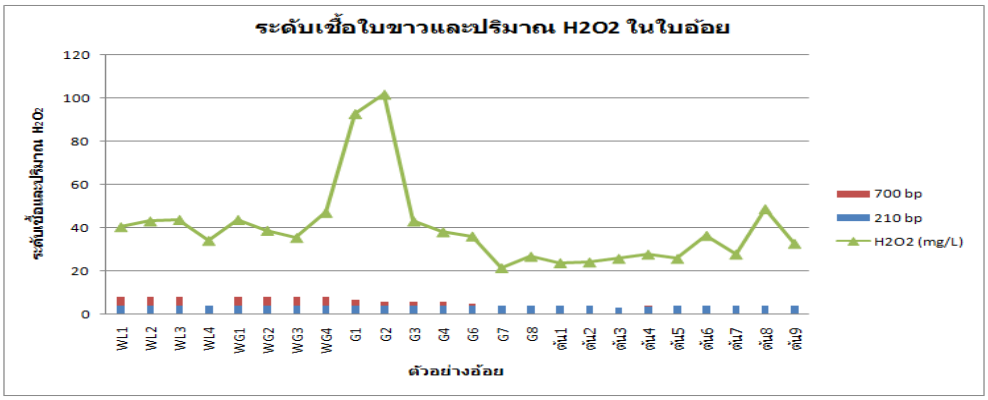


Figure 1. Sugarcane white leaf phytoplasma dosages estimated by PCR and biochemical changes in leaves of 24 samples of the 2 months old ratoon canes. WL : leaf sample with full white symptom from white leaf hill. WG : leaf sample with partial white symptom from white leaf hill. G: symptomatic leaf sample from non symptom hill. 1-9: non symptomatic leaf samples from clean seedcane planted originated by tissue culture propagation. 700 bp: high dosage phytoplasma concentration (1+ to 4+). 210 bp: low phytoplasma concentration (1+ to 4+). A. Sugarcane white leaf phytoplasma dosages and MDA concentration. B: Sugarcane white leaf phytoplasma dosages and total protein. C. Sugarcane white leaf phytoplasma dosages and proline.



ก



ข

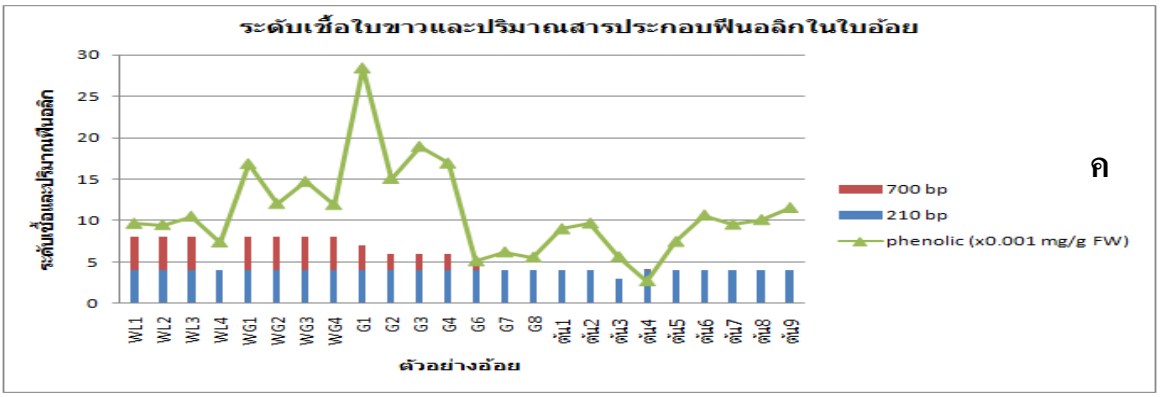


Figure 2. Sugarcane white leaf phytoplasma dosages estimated by PCR and biochemical changes in leaves of 24 samples of the 2 months old ratoon canes. WL : leaf sample with full white symptom from white leaf hill. WG : leaf sample with partial white symptom from white leaf hill. G: symptomatic leaf sample from non symptom hill. 1-9: non symptomatic leaf samples from clean seedcane planted originated by tissue culture propagation. 700 bp: high dosage phytoplasma concentration (1+ to 4+). 210 bp: low phytoplasma concentration (1+ to 4+). A. Sugarcane white leaf phytoplasma dosages and APX activities. B: Sugarcane white leaf phytoplasma dosages and hydrogen peroxide. C. Sugarcane white leaf phytoplasma dosage and phenolic compounds.

สำหรับกิจกรรมเอ็นไซม์ GPX ยังคงพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่ทดสอบ เช่นเดียวกับผลที่เคยทำการทดสอบแล้ว ซึ่งแสดงว่าอาจจะไม่มีบทบาทในการตอบสนองต่อการติดเชื้อโรคใบขาวในอ้อย (ภาพที่ 3)

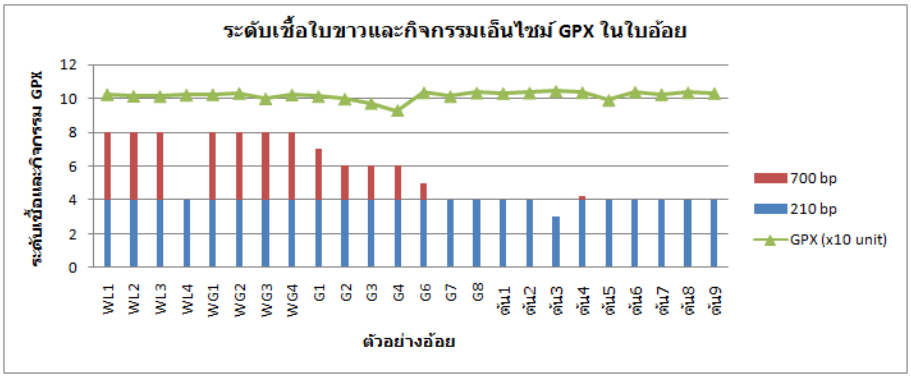


Figure 3. Sugarcane white leaf phytoplasma dosages estimated by PCR and GPX activities in leaves of 24 samples of the 2 months old ratoon canes. WL : leaf sample with full white symptom from white leaf hill. WG : leaf sample with partial white symptom from white leaf hill. G:

symptomatic leaf sample from non symptom hill. 1-9: non symptomatic leaf samples from clean seedcane planted originated by tissue culture propagation. 700 bp: high dosage phytoplasma concentration (1+ to 4+). 210 bp: low phytoplasma concentration (1+ to 4+).

ผลการศึกษาการแสดงออกของยีนในอ้อยที่ติดโรคใบขาว มีการศึกษาในอ้อยอายุ 1 เดือนที่เพาะในกระบะทราย และใช้อ้อยจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นตัวควบคุม การตรวจเชื้อด้วยตำแหน่ง 700 bp ที่ใช้ระบุการติดเชื้อปริมาณมากนั้น พบว่าต้นใบขาวมีปริมาณเชื้อมากที่สุด ส่วนใบขาวเขียว และใบเขียวมีปริมาณเชื้อลดลงตามลำดับ ส่วนต้นควบคุมสามารถตรวจพบเชื้อได้เฉพาะตำแหน่ง 210 bp เท่านั้นแสดงถึงมีปริมาณเชื้อน้อย

การศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารต้านการถูกทำลายโดยเชื้อ ได้แก่ *Lipoxygenases (LOXs)* ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเมตาบอลิสมของคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ *Sucrose synthase* (*SuSy*) และ Invertase (*Inv*) ยีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia) ได้แก่ *Alcohol dehydrogenase* I (*AdhI*) ยีนที่เกี่ยวข้องกับสร้างสารทุติยภูมิในการจำกัดการเคลื่อนที่ของเชื้อไฟโตพลาสมา ได้แก่ *Callose synthase (CaSy)* ใช้การแสดงออกของยีน *Triosephosphate isomerase* (*TPI*) เป็นยีนควบคุม ผลการทดลองพบว่ายีนดังกล่าวบางชนิดมีการแสดงออกมากขึ้นในต้นที่มีอาการใบขาว ภายใต้การแสดงออกของยีนควบคุมที่เท่ากัน ได้แก่ *AdhI*, *SuSy* และ *CaSy*

การแสดงออกของยีน *Inv* พบว่าจะมีการแสดงออกขึ้นอยู่กับการสุกแก่ และการสะสมน้ำตาลของอ้อย จึงไม่ดำเนินการทดสอบต่อ ส่วนยีน *Lox* สามารถตรวจพบการแสดงออกได้โดยมีขนาดประมาณ 700 bp

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอ้อยที่เป็นโรคใบขาวมีความผิดปกติของขบวนการเมตาบอลิสมของคาร์โบไฮเดรตและพืชอยู่ในภาวะขาดออกซิเจน จากการตรวจพบการแสดงออกของยีน *AdhI* และ *SuSy* ที่พบอย่างชัดเจนในตัวอย่างใบขาวและใบเขียวที่มีเชื้อในปริมาณสูง การตรวจพบการแสดงออกของ *AdhI* ในกลุ่มต้น healthy ได้นั้นอาจเกิดจากภาวะภาวะขาดออกซิเจนชั่วคราวที่สามารถเกิดขึ้นได้ในขบวนการสังเคราะห์แสงของพืชโดยทั่วไป อย่างไรก็ตามในกรณีของต้นที่มีเชื้อในปริมาณสูง แต่ยังไม่แสดงอาการใบขาวนั้น พบว่า *SuSy* และ *AdhI* มีการแสดงออกน้อยมาก แสดงให้เห็นถึงภาวะ oxidation inactivation ในกลุ่มใบเขียว ทำให้พืชยังไม่เข้าสู่ภาวะขาดออกซิเจน

การตรวจพบการแสดงออกของยีน *CaSy* ในกลุ่มตัวอย่างใบขาวและใบเขียวที่มีปริมาณเชื้อมาก แสดงถึงปฏิกิริยาต่อต้านของอ้อยในการยับยั้งการเคลื่อนที่ของเชื้อไฟโตพลาสมาโดยการสร้างแคลโลสเพื่อล้อมกรอบเชื้อไว้สำหรับการทำลายในขั้นต่อไป อย่างไรก็ตามการศึกษาการแสดงออกของยีนชนิดนี้ยังคงต้องศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้น การศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับความผิดปรกติของฮอร์โมนไซโตไคนิน ได้แก่ *Cytokinin oxidase* (*Cko*) สามารถตรวจพบได้ โดยมีขนาดประมาณ 600 bp ส่วนยีน

ที่สร้างสาร flavonoid ซึ่งพืชใช้ในการกำจัดเชื้อโรคที่เข้าทำลาย ได้แก่ *Flavanone -3-hydroxylase (F3h)* นั้น ไม่สามารถตรวจสอบได้ในอ้อย

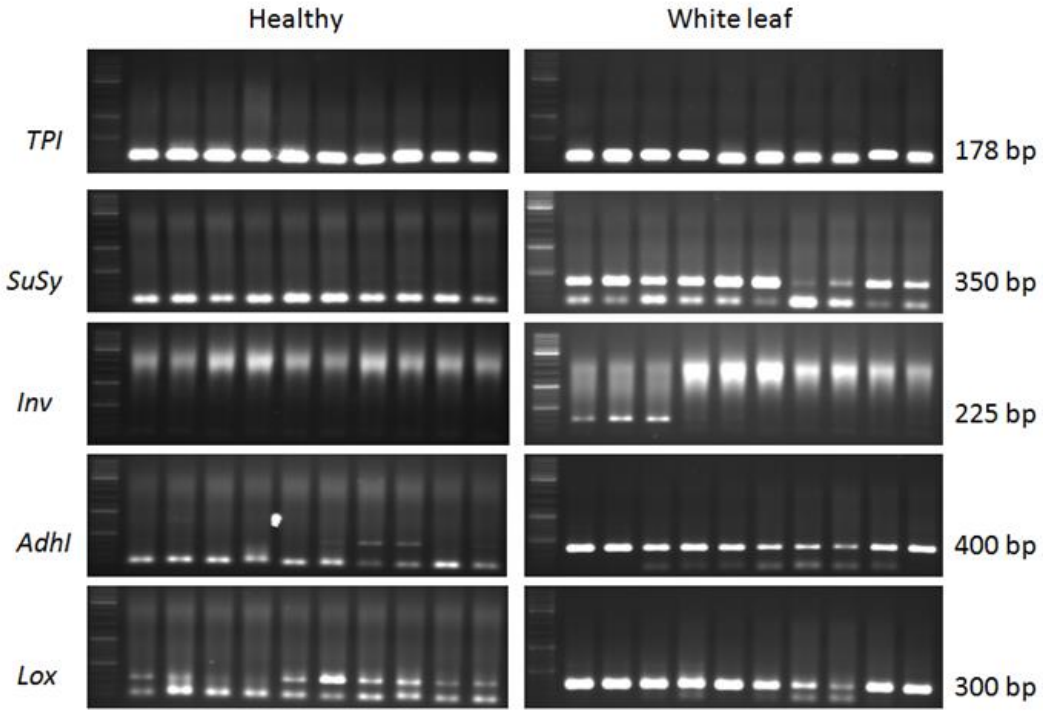


Figure 4. Expression of genes *Sucrose synthase (SuSy)*, Inveratse (Inv), *Alcohol dehydrogenase I (AdhI)* and *Lipid peroxidase (Lox)* in healthy and white leaf sugarcane samples.

3.1.3) การตรวจวินิจฉัยเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อย

1) การสร้างโคลนดีเอ็นเอมาตรฐาน

มีการสร้างโคลนดีเอ็นเอมาตรฐานดำเนินการโดยใช้ Cloning Vector (pUC1318) เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอบริเวณที่ต้องการ ได้แก่ 1) ตำแหน่ง 16S-23S rDNA ซึ่งเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของไฟโตพลาสมาด้วยชุดไพร์เมอร์ MLO-X และ MLO-Y ได้ชิ้นดีเอ็นเอ ขนาด 700 bp 2)) ตำแหน่ง secA gene ซึ่งเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของไฟโตพลาสมาด้วยชุดไพร์เมอร์ในการเพิ่มปริมาณ secA gene ได้ชิ้นดีเอ็นเอขนาด 275 bp

ส่วนดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 210 bp ซึ่งเป็นตำแหน่ง 16S-tRNA gene นั้น ไม่ได้ดำเนินการเนื่องจากการตรวจดีเอ็นเอตำแหน่งนี้เกิดจากการทำ nested-PCR ในตำแหน่ง 700 bp ซึ่งเป็นการทำปฏิกิริยา PCR เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ชุดแรก ทำให้ผลที่ได้ไม่สัมพันธ์กับดีเอ็นเอตั้งต้น

2) การพัฒนาวิธีการตรวจเชื้อโรคใบขาวด้วย Realtime PCR

การเจือจางดีเอ็นแอมาตรฐานทั้งสองชนิด ในระดับ 10^{10} -1 copy/µl แล้วนำมาทดสอบสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค semi-quantitative PCR และตรวจผล

โดย Agarose gel electrophoresis เพื่อใช้เปรียบเทียบกับผลของ Realtime PCR พบว่า ดีเอ็นเอมาตรฐาน 16S-23S rDNA ขนาด 700 bp นั้นสามารถมองเห็นแถบได้ตั้งแต่ 10^{10}-10^{2} copy/µl โดยมีช่วงที่แยกความแตกต่างของความเข้มแสงได้ คือ 10^{6}-10^{2} copy/µl แต่พบ primer dimers ตั้งแต่ 10^{6} copy/µl ลงมา ซึ่งจะส่งผลต่อการตรวจปริมาณด้วย Realtime PCR ส่วนการทดสอบดีเอ็นเอมาตรฐาน secA นั้น สามารถมองเห็นแถบได้ตั้งแต่ 10^{10}-10^{3} copy/µl โดยมีช่วงที่แยกความแตกต่างของความเข้มแสงได้ คือ 10^{4}-10^{3} copy/µl และไม่พบ primer dimer (ภาพที่ 1)

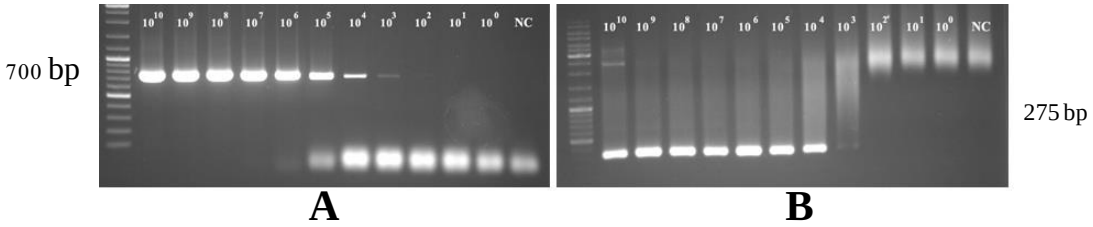


Figure 1. Amplification product of serial dilution of sugarcane white leaf phytoplasma DNA of 10^{10}-1 copy/µl with semi-quantitative PCR using (A) 700 bp fragment of 16S-23S rDNA and (B) 275 bp fragment of secA gene as templates.

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค absolute quantitative PCR โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอขนาด 700 bp ด้วยไพรเมอร์ MLO-X/Y และ ขนาด 210 bp ด้วยไพร์เมอร์ P1/P2 พบว่า การตรวจ 700 bp มักพบ primer dimers แสดงถึงความไม่จำเพาะของไพร์เมอร์ ส่วนการตรวจ 210 bp ต้องใช้ผลของ PCR ชุดแรกจาก 700 bp จึงไม่เหมาะกับการตรวจด้วย Realtime PCR และหากทำการตรวจโดยตรงพบว่าตำแหน่งจะตรวจพบได้ในกลุ่มอ้อยที่มีอาการใบขาวแล้วเท่านั้น จึงไม่เป็นประโยชน์ในการใช้ตรวจวิเคราะห์ (ภาพที่ 2) ดังนั้นจึงใช้เฉพาะ 700 bp และ 275 bp ของ secA ในการทดลองต่อ

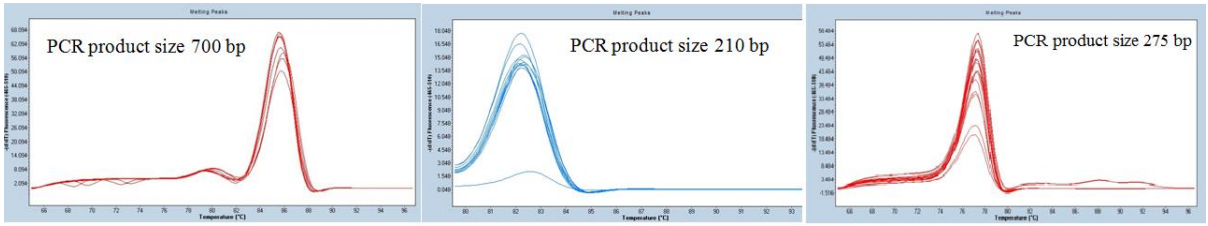


Figure 2. Melting peak profile of 700 bp product amplified by primer set : MLO-X/Y, 210 bp product amplified by P1/P2 primer set and 275 bp product amplified by secA primer using Realtime PCR (LightCycler480).

ผลการวิเคราะห์ช่วงความเข้มข้นที่เชื่อถือได้ (PCR Efficiency) หลังการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วย Realtime PCR แล้ว พบว่า ดีเอ็นเอขนาด 700 bp มีช่วงความเข้มข้นที่เชื่อถือได้ระหว่าง 10^7- 10^4 copy/µl และ ดีเอ็นเอขนาด 275 bp ของ secA มีช่วงความเข้มข้นที่เชื่อถือได้ระหว่าง 10^{10}- 10^2 copy/µl ซึ่งดีกว่าขนาด 700 bp และดีกว่าการใช้ semi-quantitative PCR

การพัฒนาวิธีการตรวจปริมาณเชื้อชนิด Absolute quantification และ Relative quantification

การประเมินปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยวิธี Absolute quantification เป็นการประเมินเชื้อโดยการนำเอาค่า Ct ของแต่ละตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐาน ในขณะที่ Relative quantification เป็นการหาสัดส่วนของปริมาณเชื้อ (ยีนเป้าหมาย) เทียบกับยีนอ้างอิง ในการตรวจแบบ Absolute quantification นั้นใช้ดีเอ็นเอที่สกัดจากใบอ้อยได้มาเป็นต้นแบบในการเพิ่มปริมาณชิ้นเอ็นเอบริเวณยีน *secA* โดยวิธีการดังกล่าวข้างต้น แล้วจึงทำการวิเคราะห์และคำนวณปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้สร้างไว้จากการใช้ดีเอ็นเอที่มาจากการโคลนชิ้นส่วน secA ในพลาสมิด ทำให้สามารถคำนวณหาปริมาณ copy number ของยีนนี้ของเชื้อไฟโตพลาสมาได้ ทั้งนี้ยีนนี้มีเพียงหนึ่งซ้ำเท่านั้นในดีเอ็นเอ

ส่วนการตรวจแบบ Relative quantification นั้น เป็นการตรวจโดยใช้ยีนของพืชเป็นตำแหน่งอ้างอิง ซึ่งใช้บริเวณตำแหน่ง 18s rRNA ของอ้อยเป็นยีนอ้างอิง (reference gene) โดยทำการออกแบบไพรเมอร์จากลำดับนิวคลีโอไทด์ 18s rRNA ของ *Saccharum officinarum* (AY116284), *S.* hybrid cultivar (AB24987 0) และ *S. officinarum* (AJ876760) และใช้ยีน *secA* เป็นยีนเป้าหมาย (target gene) แล้วจึงการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเช่นเดียวกับวิธี absolute quantification

ผลการทดสอบปริมาณเชื้อในตัวอย่างอ้อยที่แสดงลักษณะความรุนแรงของโรคใบขาวอ้อยต่างกัน 3 ระดับคือใบขาว ใบเขียวปนขาว และใบเขียวปกติ (ไม่แสดงอาการ) ด้วยเทคนิค Absolute quantification และ Relative quantification พบว่าทั้งสองวิธีให้ค่าปริมาณเชื้อที่ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 1) ทั้งนี้ในงานวิจัยที่มีการสร้างกราฟมาตรฐานแล้วโดยใช้พลาสมิด pUC-1318-secA การใช้วิธี Absolute quantification ซึ่งเป็นการประเมินปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่มีอยู่จริงจึงง่ายกว่าในการปฏิบัติมากกว่า

Table 1. Sugarcane white leaf phytoplasma estimation by absolute quantification and relative quantification using *secA* as target gene and plant 18s rDNA as reference gene.

Leaf symptom	Detection method	
	Absolute quantification (copies/25 ng plant DNA)	Relative quantification (copies/25 ng plant DNA)
10^2 copies/25 ng plant DNA	-	100
Fully white*	$1.54x10^5$- $7.91 x10^5$	$1.83x10^5$- $8.75 x10^6$
Partial white*	$1.2x10^3$ - $1.74x10^4$	$1.77x10^3$ - $1.74x10^4$
Green*	No detected	20-30

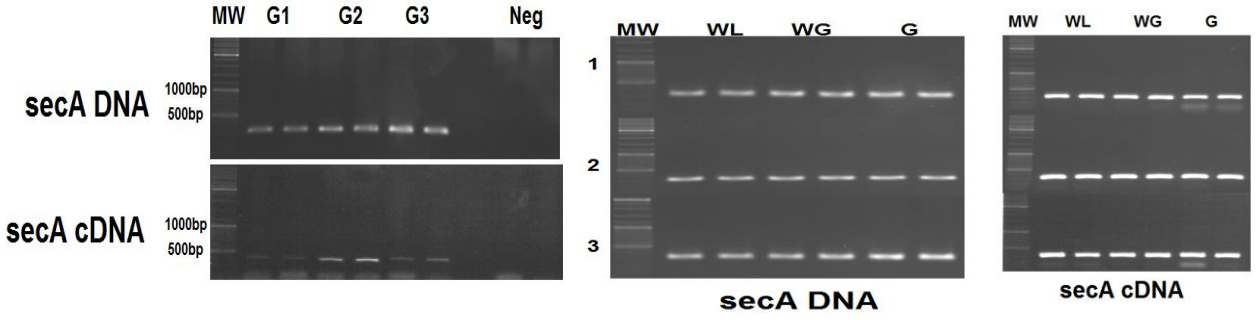
*3 leaves samples collected from different hill and planting locations.

3) การพัฒนาตรวจโรคด้วยการตรวจการแสดงออกของยีน

แบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ การแสดงออกของยีนของอ้อยที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อไฟโตพลาสมา และการแสดงออกของยีนของไฟโตพลาสมาในอ้อยที่เป็นโรคใบขาว

a. การแสดงออกของยีน secA ของเชื้อไฟโตพลาสมาภายในอ้อยที่เป็นโรคใบขาว

จากการทดลองปรับสภาวะในการเพิ่มปริมาณเป็น 35 รอบ และใช้ตัวอย่างลำที่มีอาการใบขาวที่ยอดจำนวน 3 ต้นและลำที่ไม่มีอาการใบขาวมาทดสอบ โดยแยกเก็บตามอาการของใบและลำดับของใบ คือ ใบขาว ใบขาวเขียว และใบเขียว และใบที่ 1, 2 และ 3 จากยอด พบว่าสามารถตรวจพบดีเอ็นเอและการแสดงออกของ secA ได้อย่างชัดเจนในตัวอย่างใบจากทั้ง 3 ลำที่มียอดขาว ทั้งใบขาว ใบขาวเขียวและใบเขียว (ภาพที่ 3ข และค) ส่วนตัวอย่างใบจากลำที่ไม่มีอาการใบขาว สามารถตรวจพบดีเอ็นเอของ secA ได้อย่างชัดเจนเช่นกัน และสามารถตรวจพบการแสดงออกของ secA ได้เช่นเดียวกัน แต่ในปริมาณที่ต่ำกว่ากลุ่มตัวอย่างใบขาว ทั้งยังพบว่ากลุ่มใบเขียวนี้มีระดับการแสดงออกของ secA แตกต่างกันตามลำดับใบด้วย (ภาพที่ 3ก) ทั้งนี้ต้องทำการทดสอบเพิ่มเติมในตัวอย่างที่ไม่มีอาการใบขาว



A **B** **C**

Figure 3. *secA* genes and theirs expression detected as cDNA in asymptomatic sugarcane (A), leaf 1, 2, 3 from top (G1-3) and 3 sugarcane stalks with white leaf symptom (1-3) expressed full white leaf (WL), partial white (WG) and green (G) in order from shoot. Neg : negative control with water to replace DNA; MW: molecular marker

b. การแสดงออกของยีนของอ้อยที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อไฟโตพลาสมา

ผลการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารต้านการถูกทำลายโดยเชื้อ ได้แก่ *Lipoxygenases (LOXs)* ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเมตาบอลิสมของคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ Sucrose synthase (*SuSy*) และ Invertase (*Inv*) ยีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia) ได้แก่ Alcohol dehydrogenase I (*AdhI*) พบว่ายีนดังกล่าวมีการแสดงออกมากขึ้นในต้นที่มีอาการใบขาว ภายใต้การแสดงออกของยีนควบคุม (*TPI*) ที่เท่ากัน (ภาพที่ 4) อย่างไรก็ตามยีนดังกล่าวนี้บางยีน สามารถถูกกระตุ้นให้แสดงออกมากขึ้นได้เมื่ออยู่ในภาวะเครียดอื่น เช่น แล้ง น้ำท่วม หรือ ภาวะขาดออกซิเจนชั่วคราวจากการสังเคราะห์แสง

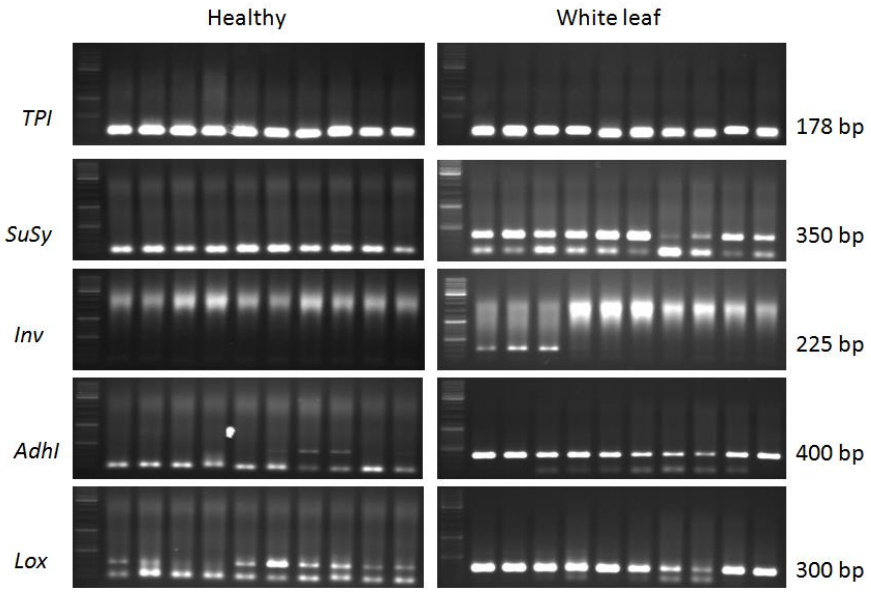


Figure 4. Gene expression in leaves of sugarcane var. KK3 of 1 month old. *TPI: Topoisomerase* (control gene), *SuSy : Sucrose synthase*, *Inv : Invertase*, AdhI : *Alcohol dehydrogenase* I, *Lox : Lipoxygenase*, Healthy : sugarcane propagated by tissue culture. White leaf : sugarcane with white leaf symptom.

การวิเคราะห์ยีนอื่นที่เกี่ยวข้องกับการทำลายของเชื้อไฟโตพลาสมาเพิ่มเติมได้แก่ *Cytokinin oxidase* (*Cko*) ที่สลายไซโตไคนินเพื่อรักษาระดับฮอร์โมนนี้ในพืช ซึ่งคาดว่าไฟโตพลาสมาอาจจะยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์นี้เพื่อให้พืชไม่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตได้ จากการพัฒนาวิธีการสามารถตรวจพบการแสดงออกได้ในอ้อย โดยมีขนาดประมาณ 600 bp การทดสอบในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 อายุ 1-2 เดือนที่ไม่มีอาการใบขาวและมีเชื้อต่ำ พบว่าสามารถตรวจพบการแสดงออกของยีนนี้ได้ในบางตัวอย่าง และอยู่ระหว่างการตรวจการแสดงออกในตัวอย่างใบขาว ส่วนการศึกษายีนที่สร้างสาร flavonoid ซึ่งพืชใช้ในการกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมา ได้แก่ *Flavanone -3-hydroxylase (F3h)* นั้น ไม่สามารถตรวจพบได้ในอ้อย สำหรับยีนที่เกี่ยวข้องกับสร้างสารทุติยภูมิในการจำกัดการเคลื่อนที่ของเชื้อไฟโตพลาสมา ได้แก่ *Callose synthase (CaSy)* นั้น สามารถตรวจพบได้ในอ้อยที่มีอาการใบขาวที่ยอด โดยจากการทดสอบใบจากลำที่มียอดขาว โดยมีอาการใบขาวระดับต่างกันจากใบยอดที่มีอาการขาวซีดทั้งใบ จนถึงใบลำดับที่ 5-6 ที่ใบยังเขียวอยู่นั้น สามารถตรวจพบการแสดงออกของยีน *CaSy* ได้ทั้งหมด แต่ในระดับที่แตกต่างกันหรือไม่ ยังคงต้องทำการศึกษาต่อ ในการทดลองนี้สามารถตรวจพบการแสดงออกของยีน *SuSy, AdhI* และ *TPI* ได้อย่างชัดเจน ในขณะที่ไม่สามารถตรวจพบการแสดงออกของยีน *Lox* และ *Inv* ได้ (ภาพที่ 5) ซึ่งการแสดงออกของยีนเหล่านี้ยังต้องทำการศึกษาเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่มีอาการ และมีอาการระดับต่างกัน รวมถึงอายุของต้นด้วยอีกในขั้นต่อไป โดยจะทำการพัฒนาการตรวจเพิ่มด้วย Realtime PCR

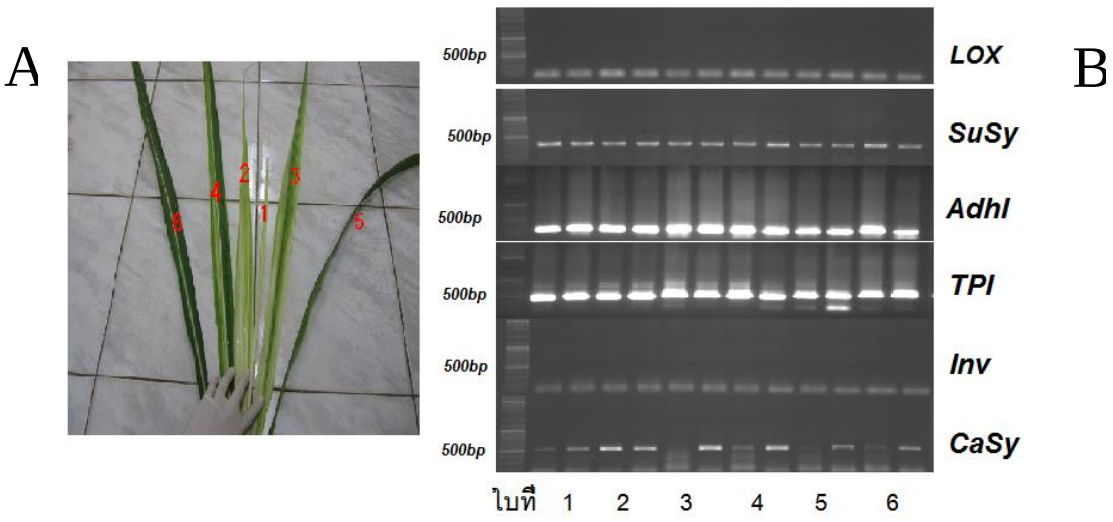


Figure 5. Expression of genes in 5 months old sugarcane with top white leaf. Different level of white leaf symptom severity express from top (1-fully white) to bottom (6-green) leaves (A). Expression of genes *Lox : Lipoxygenase*, *SuSy : Sucrose synthase*, *AdhI : Alcohol*

dehydrogenase I, TPI: Topoisomerase (control)*, Inv : Invertase*, and *CaSy: Callose Synthase* were detected in leaves order 1-6 (B)

จากตรวจการแสดงออกของยีน 5 ชนิด ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 อายุ 1-2 เดือน ที่ไม่มีอาการใบขาว และมีปริมาณเชื้อต่ำด้วยสภาวะแล้งในตู้ควบคุมการเจริญเติบโต (39°C; 20,000 LUX; 55% RH; 14:10 Light/dark) เวลานาน 4 วัน และตรวจวัดผลหลังการทดสอบทันที พบการแสดงออกของยีน *Callose synthase (CaSy), AdhI* และยีนควบคุม *TPI* ไม่แตกต่างกันระหว่างชุดทดลองควบคุมและชุดทดสอบ (ภาพที่ 6) แต่มีการแสดงออกของยีน *Lox* สูงขึ้นชัดเจน ซึ่งตรวจพบได้ในการทดสอบ 2 วัน ด้วยเช่นกัน ส่วน *SuSy* ผลการทดลองไม่ชัดเจน

ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในตัวอย่างอ้อยที่มีการติดเชื้อไฟโตพลาสมาและอ้อยที่ไม่มีอาการและมีปริมาณเชื้อต่ำ แต่อยู่ในสภาวะเครียดจากแล้ง พบว่ายีน *SuSy, CaSy* และ *AdhI* มีการแสดงออกของยีนที่เพิ่มขึ้น เมื่ออ้อยมีอาการใบขาว เปรียบเทียบกับอ้อยที่อยู่ในสภาวะเครียดจากสภาพแล้ง ส่วนการแสดงออกของยีน *Lox* นั้นสามารถเพิ่มขึ้นได้ทั้งสองสภาวะ

การศึกษาระดับการแสดงออกของยีนด้วย quantitative Realtime PCR ของยีน *Adh* I, และ *CaSy* โดยใช้ยีนอ้างอิง *Actin* พบว่ายีน *Adh* I มีการแสดงออกในตัวอย่างอาการใบขาว ใบขาวเขียว และ ใบเขียว ในระดับประมาณ 7.5, 5.4 และ 1.5 เท่าของยีนอ้างอิงตามลำดับ ส่วนยีน *CaSy* มีการแสดงออกที่แตกต่างกันเล็กน้อยระหว่างตัวอย่างอาการใบขาว ใบขาวเขียว และ ใบเขียว ในระดับประมาณ 0.56, 0.47 และ 0.43 เท่าของยีนอ้างอิงตามลำดับ ดังนั้นอาจใช้การตรวจวัดการแสดงออกของยีน *Adh* I ร่วมกับการแสดงออกของยีน *secA* ในการวินิจฉัยการติดเชื้อนี้ได้

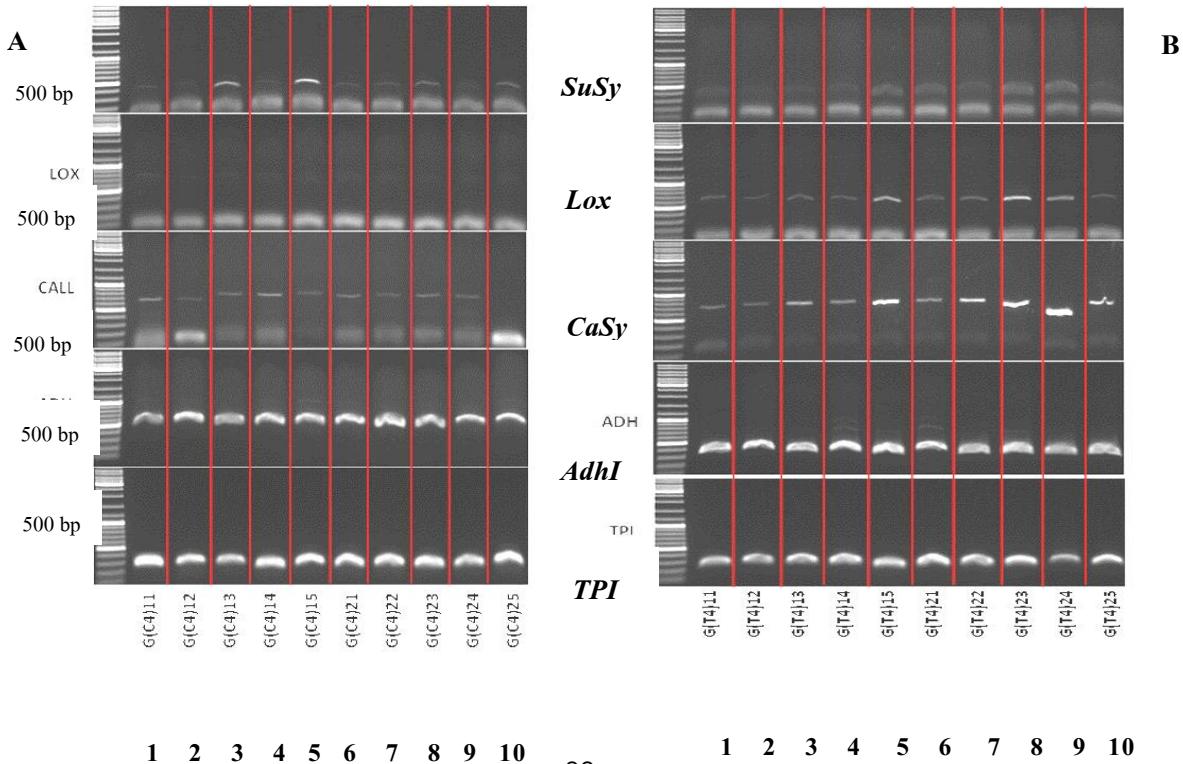


Figure 6. Gene expressions in leaves of 10 (1-10) asymptomatic 1-2 month old sugarcane var. KK3. Cultivated in sand experimenting in two conditions. (A) Non treatment set (Control): Irrigation according to soil moisture. (B) Drought tests in growth chamber programmed with growing condition (39°C; 20,000 LUX; 55% RH; 14:10 Light/dark, non irrigation) for 4 days. *SuSy : Sucrose synthase*, *Lox : Lipoxygenase*, *CaSy: Callose Synthase, AdhI : Alcohol dehydrogenase I, TPI: Topoisomerase* ใช้เป็นยีนควบคุม

โดยสรุปผลการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวในอ้อยด้วย real time PCR quantification ที่ตำแหน่งยีน *secA* พบว่าวิธีตรวจแบบ Absolute quantification ใช้ดีเอ็นเอต้นแบบ (*secA)* เทียบกับกราฟมาตรฐานและแบบ Relative quantificationใช้ยีนของพืช (18S rRNA) เป็นตำแหน่งอ้างอิง และใช้ยีน *secA* เป็นยีนเป้าหมาย (target gene) พบว่าทั้งสองวิธีให้ค่าปริมาณเชื้อที่ใกล้เคียงกัน ในทางปฏิบัติสามารถใช้วิธีแรกในการตรวจเพื่อความสะดวกและรวดเร็ว โดยช่วงที่ได้จากการตรวจ 16S rDNA ที่ได้ผลผลิตดีเอ็นเอขนาด 700 bp มีช่วงความเข้มข้นที่เชื่อถือได้ระหว่าง 10^{7}- 10^{4} copy/µl และ ดีเอ็นเอขนาด 275 bp ของ secA มีช่วงความเข้มข้นที่เชื่อถือได้ระหว่าง 10^{10}- 10^{2} copy/µl ทั้งนี้ยังต้องทำการพัฒนาให้ได้วิธีการที่สามารถตรวจวัดปริมาณเชื้อที่ต่ำกว่านี้ เพื่อเพิ่มความไวของวิธีการ

3.2 การป้องกันกำจัดโรคใบขาวอ้อย

3.2.1) ผลของฤดูปลูกต่อการแสดงอาการใบขาวของอ้อยในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลของวันปลูกต่อการเกิดโรคใบขาวอ้อย

การปลูกอ้อยในฤดูแล้ง 2 ครั้งในวันที่ 4 พฤศจิกายน 2554 และ 12 มกราคม 2555 ไม่พบอาการใบขาวในอ้อยปลูกทั้งสองครั้ง หลังจากเก็บเกี่ยวเมื่ออ้อยอายุประมาณ 12 เดือน ในที่ปลูกในเดือนมกราคม อ้อยตอมีจำนวนน้อยมากจึงไม่ศึกษาต่อ ส่วนในอ้อยตอที่ปลูกในเดือนพฤศจิกายน อ้อยตอเจริญเติบโตไม่ดี เริ่มพบอ้อยใบขาวในช่วงเดือนมิถุนายน และในเดือนตุลาคมต้นอ้อยเหลือรอดไม่มากพบกอโรคใบขาวในทุกพันธุ์ในปริมาณ 0-6.6% การแช่และไม่แช่น้ำร้อนให้ผลไม่แตกต่างกัน

การปลูกอ้อยในฤดูฝน ปลูก 3 ครั้งคือในเดือน มีนาคม 2555 เดือนพฤษภาคม 2555 และนำอ้อยที่ตัดจากเดือน พฤษภาคม 2555 ไปปลูกต่อในเดือนมิถุนายน 2556 อีกครั้งหนึ่ง ในการปลูกเดือนมีนาคมไม่พบต้นที่แสดงอาการ ใบขาวในอ้อยปลูก ส่วนอ้อยที่ปลูกในเดือนพฤษภาคม พบอาการใบขาวเมื่ออ้อยอายุประมาณ 8 พบต้นใบขาวพบใบขาวมากสุดในพันธุ์ LK92-11 18.6 และ 17.8 % ในขณะที่พันธุ์ขอนแก่น 3 พบต้นใบขาว 9.12 และ 3.58 % พันธุ์ TPJ04-768 พบกอใบขาว 4.7 และ 6.3 % เก็บเกี่ยวอ้อยเมื่ออายุประมาณ 12 เดือน อ้อยที่ปลูกในเดือนมิถุนายนมีเปอร์เซ็นต์ใบขาวมากที่สุด สำหรับในอ้อยตอ1 ที่ปลูกในเดือนมีนาคม จะมีปริมาณน้อยกว่าที่ปลูกในเดือน พฤษภาคม และมิถุนายน พบอาการ

ใบขาวตั้งแต่อ้อยอายุ อาการใบขาวในทุกพันธุ์ อ้อยตอจากแปลงที่ปลูกในเดือนพฤษภาคม และเดือนมิถุนายน ในพันธุ์ LK92-11 พบโรคถึง 20% และไม่แตกต่างกันทั้งอ้อยที่ปลูกจากท่อนพันธุ์ที่แช่ และไม่แช่น้ำร้อน

อ้อยที่ปลูกในเดือน มิถุนายน 2556 ในอ้อยปลูกเริ่มพบอาการใบขาวตั้งแต่อ้อยมีอายุ ประมาณ 2 เดือน อาจเนื่องมาโดยใช้ท่อนพันธุ์จากแปลงที่เป็นโรค แม้ว่าท่อนพันธุ์ที่ผ่านการแช่น้ำร้อนจะเป็นโรคน้อยกว่า แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ก่อนเก็บเกี่ยวในเดือนมิถุนายนอ้อยในทุกกรรมวิธีเป็นโรคมากกว่า 20 % ยกเว้น พันธุ์ TPJ04-768 ที่พบโรค 13% เหตุที่การเป็นโรคลดลงเพราะกอที่เป็นโรคตายไปจึงไม่ถูกนับ จะเห็นได้ว่าการปลูกในฤดูฝน การแช่ท่อนพันธุ์ในน้ำร้อน 2 รอบ (52 องศาเซลเซียส 30 นาที แล 50 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมงในวันถัดมา) แม้จะทำให้พบอาการโรคน้อยลงในช่วงแรก แต่ต่อมาการเกิดโรคไม่แตกต่างจากที่ไม่แช่น้ำร้อน แสดงว่าการแช่น้ำร้อนไม่สามารถขจัดโรคได้ หรืออาจมีการติดโรคใหม่จากแมลงพาหะและการเจริญเติบโตของอ้อยต่ำมากไม่เป็นลำและไม่ให้ผลผลิตในทุกกรรมวิธี

วันปลูกฤดูแล้ง 8 พฤศจิกายน 2556 จากการตรวจนับอาการโรคจนถึงเดือนกันยายน 2557 พบกอขาว 1 กอ ในพันธุ์ขอนแก่น 3 ไม่แช่น้ำร้อน คิดเป็น 0.66% นอกนั้นยังไม่พบอาการโรค เป็นที่น่าสังเกตว่า การปลูกในปลายฤดูฝนถึงแม้ว่าต้นอ้อยจะผ่านฤดูฝนที่มีปริมาณแมลงพาหะเพิ่มขึ้น แต่พบอาการของโรคน้อยถึงแม้ว่าแปลงปลูกอยู่ติดกันกับแปลงปลูกฤดูฝนที่เป็นโรครุนแรง แต่ในอ้อยตอพบการเป็นโรคมากขึ้นเมื่อเข้าฤดูฝน

การถ่ายทอดโรคทางท่อนพันธุ์

ต้นกล้าที่เพาะจากข้อตาอ้อยที่ได้จากกอที่สมบูรณ์ไม่พบอาการใบขาวจากแปลงอ้อยในวันปลูกฤดูฝนที่พบโรค 13-25 % หลัง เพาะ 20, 30 และ 39 วัน มีการงอก 74 – 89 % และพบต้นแสดงอาการใบขาว 3-9 % พันธุ์ขอนแก่น 3 พบโรคมากกว่าพันธุ์อื่น และเมื่อนำต้นกล้าที่ไม่แสดงอาการใบขาวไปปลูกในแปลง พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเพิ่มขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าไม่ควรนำอ้อยจากแปลงที่พบโรคใบขาวสูงเกิน 10 % ไปปลูกถึงแม้ต้นนั้นจะไม่แสดงอาการเพราะมีเชื้อแฝงอยู่ และอาการของโรคจะพบได้เพิ่มขึ้นและเห็นได้ชัดเจนเมื่อเข้าสู่ฤดูฝน

ปริมาณแมลงพาหะโรค

ได้ทำการดักจับแมลงพาหะนำโรคด้วยกับดักแสงไฟ กระโจมสามเหลี่ยมสูง 1 เมตร ฐานสามด้านห่าง กัน 50 เซนติเมตร ในช่วงเวลา 18.00-20.00 น. เดือนละครั้ง พบ *Mutsumuratettix hyrogliphicus* ในช่วงเริ่มฤดูฝนและมีปริมาณมากในช่วงฤดูฝน พฤษภาคม ถึง กันยายน ปริมาณลดลงเมื่อหมดฝน ส่วน *Yamatotettix flavovittatus* พบในปริมาณที่น้อยกว่า *Mutsumuratettix hyrogliphicus* พบเมื่อเข้าสู่ฤดูฝนแล้ว และไม่พบในช่วงแล้งจาก ในแต่ละปีมีแบบแผนของการเพิ่มปริมาณคล้ายกัน แต่มีปริมาณที่ต่างกัน

จะเห็นได้ว่าการปลูกในฤดูฝนพบการเป็นโรคใบขาวมากกว่าการปลูกในฤดูแล้ง และการแช่ท่อนพันธุ์ในน้ำร้อนถึงแม้จะเป็นโรคน้อยในช่วงแรกแต่ในที่สุดแล้วก็เป็นโรคไม่แตกต่างกับที่ไม่แช่น้ำร้อน ซึ่ง

อาจเป็นเพราะมีการติดเชื้อใหม่เนื่องจากมีปริมาณแมลงพาหะมากในฤดูฝน การที่อ้อยปลูกในฤดูแล้ง ถึงแม้จะผ่านช่วงฤดูฝนที่มีปริมาณแมลงพาหะมากแต่พบการเกิดโรคในอ้อยตอไม่มากนัก การปลูกในช่วงต้นฝน และในฤดูฝนพบโรคมากขึ้นตามลำดับ

3.2.2) การจัดการธาตุอาหารเพื่อฟื้นฟูอ้อยที่เป็นโรคใบขาวในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและสภาพไร่

ขั้นตอนที่ 1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมาในอาหารสังเคราะห์ที่ดัดแปลงธาตุอาหารต่าง ๆ

หลังเพาะเลี้ยงหน่ออ้อยในสภาพปลอดเชื้อบนทุกสูตรอาหารสังเคราะห์ที่มีการดัดแปลงสูตร (MMS) เปรียบเทียบกับอาหารสังเคราะห์ ที่มีการเพิ่ม หรือลด ปริมาณธาตุอาหารที่พืชต้องการมาก และน้อย พบว่า หลังจาก 1 เดือน หน่ออ้อยบนสูตรอาหาร ที่ไม่มี $MnSO_4$ และ $ZnSO_4$ มีเปอร์เซ็นต์รอดต่ำสุด การเปลี่ยนอาหารครั้งแรกเหลือเพียง 25.5% และ ตายหมดหลังเปลี่ยนอาหารครั้งแรก รวมมีชีวิตรอดเพียง 2 เดือน ในสูตรอาหารที่เพิ่ม แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) สองเท่าตายหมดหลังจากเริ่มต้นอาหารครั้งที่3 เนื่องมาจากมีแอมโมเนียมอาจเกิดผลเสียได้ โดยไนโตรเจนไปชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานทางสรีรวิทยา และชักนำให้เกิดผลกระทบเสียหายต่อพันธุกรรมเนื้อเยื่อพืช (Kintzios *et al*., 2004) และหลังจากการเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์รวม 4 เดือน อ้อยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหาร MMS ในการทดลอง 4 ครั้ง ให้เปอร์เซ็นต์รอดชีวิตสูงสุดตั้งแต่ 42.6 - 88.3% ส่วนที่ในสูตรที่มีการ เพิ่ม $MnSO_4$ 2 เท่า และ ลด$ZnSO_4$ ครึ่งหนึ่ง มีเปอร์เซ็นต์รอดรองลงมา เหลือ 44.2% ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อดูการเปลี่ยนแปลงสีใบของเนื้อเยื่อ ในช่วงแรกใบมีสีเขียวอ่อน (คะแนน 3) ไม่แตกต่างกันในทุกสูตรอาหาร ใน 22 วันแรก แต่เมื่อเพาะเลี้ยงถึง 30 วันสีใบจะซีดลงมีคะแนนต่ำกว่า 3 แต่ไม่แสดงอาการใบขาว เมื่อทำการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 2 การเปลี่ยนแปลงสีใบให้ค่าคะแนนที่ไม่ความแตกต่างกันทางสถิติในทุกสูตรอาหาร ยกเว้นในสูตรอาหารที่ 2 (ไม่มี$ZnSO_4$) การเปลี่ยนแปลงสีใบชัดเจน มีค่าคะแนนลดลงตามอายุการเพาะเลี้ยงและ เปลี่ยนเป็น สีน้ำตาลหน่ออ้อยตายลงหลังเพาะเลี้ยง 30 วัน หลังจากเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 3 ในสูตรที่เพิ่ม $MnSO_4$ 2 เท่าและลด$ZnSO_4$ ครึ่งหนึ่งจะมีสีซีดกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ระดับคะแนนประมาณ 2.5 ต่างจากสูตรปกติที่มีสีเขียวเข้มกว่าที่ระดับคะแนน 2.73

เมื่อเห็นความสำคัญของ $MnSO_4$ จึงนำมาทดลองต่อ พบว่าในสูตรอาหารสังเคราะห์ปกติ มีเปอร์เซ็นต์ การอยู่รอดของเนื้อเยื่ออ้อยที่ 4 เดือนมากที่สุด 75.3% แต่ไม่แตกต่าง กับสูตรดัดแปลงที่มีการเพิ่ม และลด หรือไม่มี $MnSO_4$ และการรักษาสภาพสีของใบให้เขียวอยู่ได้ตลอด ไม่แตกต่างกัน แต่ในสูตรที่มีแมงกานิสน้อยกว่าในสูตรปกติ สีของใบจะต่ำกว่า ในสูตรอื่นๆ และเมื่อนำ $MnSO_4$ มาทดสอบซ้ำร่วมกับ KH_2PO_4 พบว่าสารทั้งสองชนิดมีความสำคัญในการมีชีวิตรอด เมื่อขาดสารทั้งสองชนิด จะทำให้เนื้อเยื่ออ้อยตายหมดตั้งแต่เดือนแรกของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่เมื่อเพิ่ม อีก1 เท่า แม้ว่าจะทำให้เนื้อเยื่ออ้อยมีอัตรารอดสูงในเดือนที่4 แต่เปอร์เซ็นต์รอดยังต่ำกว่า สูตร MS ที่มีการดัดแปลงตั้งแต่ต้น

ในการเติมสารประกอบกลุ่มธาตุเหล็กในอาหารสังเคราะห์ พบว่า การเพิ่ม เฟอรัสซัลเฟตและโซเดียมอีดีทีเอหนึ่งเท่า ทำให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอด และจำนวนหน่อสูงกว่า บนอาหารสังเคราะห์สูตร

ปกติมาก แต่ไม่แตกต่างกัน หลังจากการเปลี่ยนอาหารต่อไปเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดและจำนวนหน่อบนอาหารสูตรปกติสูงกว่า แสดงว่า การเพิ่มธาตุเหล็กบนอาหารสังเคราะห์ไม่ช่วยให้เนื้อเยื่ออ้อยที่ติดเชื้อใบขาว

โดยสรุป การเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์สูตรดัดแปลง MS (Murashige and Skoog, 1962) มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาว และปริมาณธาตุอาหารที่ขาดไม่ได้ คือ $MnSO_4$ $ZnSO_4$ และธาตุหลัก KH_2PO_4 ส่วนธาตุอาหารที่เป็นพิษคือ NH_4NO_3 ที่มีปริมาณมากเกินไป การใช้สูตรอาหารที่สมบูรณ์นอกจากทำให้สามารถรักษาชีวิตของเนื้อเยื่ออ้อยแล้ว ยังไม่ทำให้อ้อยแสดงอาการใบขาว ด้วย ส่วนการเพิ่มธาตุเหล็กในอาหารไม่ทำให้ปริมาณรอดชีวิตของเนื้อเยื่อเพิ่มมากกว่าสูตรดัดแปลงที่ใช้เพาะเลี้ยงครั้งแรก

ขั้นตอนที่ 2 การทดลองในเรือนเพาะชำป้องกันแมลง

ผลการทดลอง การปลูกอ้อยในกระถาง พบว่าอ้อยเจริญเติบโตอายุ 1 เดือนหลังย้ายปลูก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในด้านความสูงและจำนวนหน่อ เมื่ออ้อยอายุ 3 เดือน ด้านความสูงมีความแตกต่างกันทางสถิติของอ้อยที่มาจากการเพาะเลี้ยงเริ่มต้นต่างสูตรอาหารสังเคราะห์ โดยต้นอ้อยที่มาจากสูตรอาหารสังเคราะห์ MS และสูตร MS+ FeSO4 และ EDTA 1 เท่า ให้การเจริญเติบโตด้านความสูงเฉลี่ยดีที่สุด 44.5 และ 41.6 เซนติเมตร (ตารางที่ 11) สำหรับจำนวนหน่อของอ้อยที่มาจากสูตรอาหารสังเคราะห์เริ่มต้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแตกต่างกันทางสถิติใส่ปุ๋ยแตกต่างกัน โดยการใส่ปุ๋ยตามอัตราสมดุลธาตุอาหาร N P K และเพิ่มซิลิกอนให้จำนวนหน่อเฉลี่ยสูงสุด 6.05 หน่อ และเฉลี่ยน้อยที่สุดเมื่อใส่ปุ๋ยตามอัตราสมดุลธาตุอาหาร N P K และเพิ่มแมกนีเซียมซัลเฟต เฟอรัสซัลเฟต ซิงค์ซัลเฟต และโบรอน (บอร์แรกซ์) 4.35 หน่อ (ตารางที่ 12) และไม่พบอาการใบขาว และเก็บผลผลิตอ้อยอายุ 6 เดือน เนื่องจากการปลูกอ้อยในกระถางไม่สามารถให้ลำได้ เพราะพื้นที่กระถางมีจำกัด เป็นเพียงการศึกษาด้านการเจริญเติบโตเบื้องต้นและการแสดงอาการใบขาวของอ้อยหลังย้ายปลูกจากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเท่านั้น ซึ่งความสูงของอ้อยที่ที่มาจากอาหารสังเคราะห์สูตร MS ให้ค่าเฉลี่ยสูงสุด132.9 เซนติเมตร และความสูงน้อยที่สุดได้จากสูตรอาหาร MS เพิ่มเฟอรัสซัลเฟตครึ่งเท่า 107.8 เซนติเมตร และจำนวนหน่ออ้อยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 13 และ 14) และไม่พบอาการใบขาว

ตารางที่ 11 ความสูงต้นอ้อยที่อายุ 3 เดือน ของต้นอ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมาที่มาจากอาหารสังเคราะห์แตกต่างกัน 5 สูตร และเจริญเติบโตในสภาพดินปลูกที่ให้ธาตุอาหารแตกต่างกัน 4 แบบ

ความสูงอ้อยอายุ 3 เดือน (เซนติเมตร)					
สูตรอาหารสังเคราะห์ (ปัจจัย A)	กรรมวิธี (ปัจจัย B)				ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	
1) MS	44.68	43.7	45.98	43.45	44.5a
2) MS เพิ่ม 1x MgSO4	32.45	40.25	37.38	36.88	36.7b
3) MS เพิ่ม 1x KH2PO4	32.25	31.38	35.1	31.68	32.6c

4) MS เพิ่ม 1x FeSO4	44.98	44.6	39.68	37.1	41.6a
5) MS เพิ่ม 1/2x FeSO4	30.72	39.07	35.75	34.3	35.0bc
ค่าเฉลี่ย	37.01	39.8	38.78	36.68	38.07
CV (%)	13				

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 12 จำนวนหน่ออ้อยที่อายุ 3 เดือน ของต้นอ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมาที่มาจากอาหารสังเคราะห์แตกต่างกัน 5 สูตร และเจริญเติบโตในสภาพดินปลูกที่ให้ธาตุอาหารแตกต่างกัน 4 แบบ

จำนวนหน่ออ้อยอายุ 3 เดือน					
สูตรอาหารสังเคราะห์ (ปัจจัย A)	กรรมวิธี (ปัจจัย B)				ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	
1) MS	9.00a	4.75bcd	5.5bcd	2.25d	5.38
2) MS เพิ่ม 1x MgSO4	7.00ab	6.25ab	7.25ab	2.5cd	5.75
3) MS เพิ่ม 1x KH2PO4	4.00bcd	6.00ab	6.00ab	7.25ab	5.81
4) MS เพิ่ม 1x FeSO4	4.00bcd	4.50bcd	5.75abc	4.5bcd	4.69
5) MS เพิ่ม 1/2x FeSO4	4.00bcd	4.75bcd	5.75abc	5.25bcd	4.94
ค่าเฉลี่ย	5.60ab	5.25ab	6.05a	4.35b	5.31
CV (%)	44.8				

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 13 ความสูงต้นอ้อยที่อายุ 6 เดือน ของต้นอ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมาที่มาจากอาหารสังเคราะห์แตกต่างกัน 5 สูตร และเจริญเติบโตในสภาพดินปลูกที่ให้ธาตุอาหารแตกต่างกัน 4 แบบ

ความสูงอ้อยอายุ 6 เดือน					
สูตรอาหารสังเคราะห์ (ปัจจัย A)	กรรมวิธี (ปัจจัย B)				ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	
1) MS	123.7	137.2	133.6	137.0	132.9a
2) MS เพิ่ม 1x MgSO4	106.2	127.0	135.7	118.2	121.8ab
3) MS เพิ่ม 1x KH2PO4	110.3	109.0	110.2	104.8	108.6b
4) MS เพิ่ม 1x FeSO4	126.2	133.2	120.0	105.5	121.3ab
5) MS เพิ่ม 1/2x FeSO4	86.0	120.7	113.5	111.0	107.8b
ค่าเฉลี่ย	110.5	125.4	122.6	115.3	118.4
CV (%)	12.2				

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 14 จำนวนหน่ออ้อยที่อายุ 6 เดือน ของต้นอ้อยติดเชื้อไฟโตพลาสมาที่มาจากอาหารสังเคราะห์แตกต่างกัน 5 สูตร และเจริญเติบโตในสภาพดินปลูกที่ให้ธาตุอาหารแตกต่างกัน 4 แบบ

จำนวนหน่ออ้อยอายุ 6 เดือน					
สูตรอาหารสังเคราะห์ (ปัจจัย A)	กรรมวิธี (ปัจจัย B)				ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	
1) MS	7.25	3.75	5.00	2.75	4.69
2) MS เพิ่ม 1x MgSO4	5.25	4.50	4.00	3.75	4.38
3) MS เพิ่ม 1x KH2PO4	4.75	5.50	4.75	6.00	5.25
4) MS เพิ่ม 1x FeSO4	4.75	4.00	4.75	3.75	4.31
5) MS เพิ่ม 1/2x FeSO4	4.00	4.00	4.25	6.00	4.56
ค่าเฉลี่ย	5.20	4.35	4.55	4.45	4.64
CV (%)	44.2				

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ขั้นตอนที่ 3 ทดสอบในไร่เกษตรกร

จากผลการวิเคราะห์ดิน จากค่า OM P_2O_5 และ K_2O จึงตัดสินใจใส่ปุ๋ยในอัตรา 18-6-6 กิโลกรัมต่อไร่ (กอบเกียรติ และคณะ 2555) ส่วนพันธุ์อ้อยที่ใช้เป็นอ้อยในแปลงเกษตรกร และเมื่อส่งตรวจเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาว ด้วยวิธี nested PCR และ SecA พบว่ามีปริมาณเชื้อค่อนข้างน้อย พบเฉพาะที่ 210 bp

หลังปลูกอ้อยพบว่าการงอกของอ้อยทุกกรรมวิธีมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบต้นที่แสดงอาการใบขาว สำหรับผลการเจริญเติบโตอ้อยอายุ 4 เดือน พบว่า ความสูงและจำนวนหน่อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี ดังตารางแสดงผลการเจริญเติบโต (ตารางที่ 16) ผลการทดลองพบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีอ้อยแสดงอาการใบขาว

ตารางที่ 16 การเจริญเติบโตของอ้อยพันธุ์ 95-84 อายุ 4 เดือน

กรรมวิธี	การเจริญเติบโตอ้อยอายุ 4 เดือน	
	ความสูง (เซนติเมตร)	จำนวนหน่อ
ใส่ปุ๋ยตามเกษตรกร	64.0	2.63
ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์	66.1	2.85
ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์เฉพาะ N P K และเพิ่มธาตุซิลิกอน	62.4	2.40
ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์เฉพาะ N เพิ่มอัตราขึ้นเป็น 2 เท่า	61.1	2.68
CV (%)	9.05	18.6

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 17 ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตอ้อยปลูกพันธุ์ 95-84 ตามกรรมวิธีทดลอง

กรรมวิธี	ผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่)	จำนวนลำ (ต่อไร่)	ความยาวลำ (เซนติเมตร)	จำนวนข้อ (ต่อลำ)	เส้นผ่าศูนย์กลางลำ (มิลลิเมตร)	น้ำหนักลำ (ต่อลำ)	ความหวาน (CCS)
ใส่ปุ๋ยตามเกษตรกร	10793.5	7225.0	2.1	28.7	33.0	1.6	15.1
ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์	10635.9	7012.5	2.1	29.4	33.9	1.7	15.0
ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์เฉพาะ N P K และเพิ่มธาตุซิลิกอน	9842.3	6475.0	2.0	28.7	33.1	1.6	15.0
ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์เฉพาะ N เพิ่มอัตราขึ้นเป็น 2 เท่า	9394.0	6587.5	2.0	28.0	34.1	1.8	15.1
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	19.6	14.3	7.97	6.31	4.07	10.6	2.15

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

เก็บเกี่ยวผลผลิตอ้อยเมื่ออายุ 12 เดือน พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติของผลผลิตองค์ประกอบผลผลิตและความหวาน (ตารางที่ 17) และไม่พบอ้อยที่แสดงอาการใบขาว

3.2.3) การกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาในท่อนพันธุ์อ้อย ด้วยวิธีการแช่ท่อนน้ำร้อน

1) การศึกษาผลของการแช่น้ำร้อนด้วยวิธี Dual hot water treatment กับอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และขอนแก่น80

จากการทดลองนำท่อนอ้อยจากกอที่มีหน่อใหม่แสดงอาการใบขาว หรือจากลำอ้อยที่ใบแสดงอาการเส้นกลางใบเหลือง มาผ่านวิธีการใช้ DHWT 4 วิธีการกับอ้อย 2 พันธุ์ คือ ขอนแก่น 3 และขอนแก่น 80 พบว่า การแช่ DHWT ทั้ง 3 วิธี มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูง 88.33-91.67% ซึ่งสูงกว่าวิธีการไม่แช่น้ำร้อน (86.67%)

สำหรับการแสดงอาการโรคใบขาว พบว่าการแช่น้ำร้อนทั้ง 4วิธี ทำให้อาการใบขาวในอ้อยน้อยกว่าในกรรมวิธีที่ไม่มีการแช่น้ำร้อน เมื่อตัดหน่อหลัก 3 เดือนพบว่าการแช่น้ำร้อนยังคงลดปริมาณ

การเกิดโรคใบขาวได้ โดยการแช่น้ำร้อน ครั้งที่สองที่ 50^{O}C นาน 3 ชั่วโมง มีแนวโน้มทำให้เปอร์เซ็นต์การแสดงอาการโรคใบขาวต่ำที่สุด ในด้านผลผลิตการแช่น้ำร้อนและไม่แช่ ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน และเมื่อตรวจเชื้อไฟโตพลาสมาด้วย nested PCR พบเชื้อไฟโตพลาสมาในอ้อยขอนแก่น 3 น้อยกว่าอ้อยขอนแก่น80 คือพบเฉพาะในระดับที่210bp

2) การกำจัดเชื้อโรคใบขาวในอ้อยที่มีระดับการติดเชื้อแตกต่างกัน

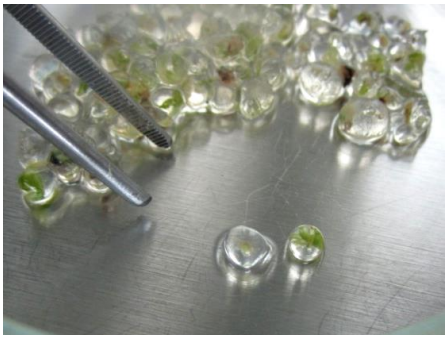
หลังจากนำมาแช่น้ำร้อนตามกรรมวิธีพบว่าการแช่น้ำร้อนมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอก โดยเฉพาะในกรรมวิธีที่ใช้เวลานาน และในอ้อยที่เป็นโรคอย่างรุนแรงแสดงอาการใบขาวทั้งลำมีความงอกต่ำสุด และอ้อยที่ผ่านการแช่น้ำร้อนในทุกกรรมวิธีจะไม่แสดงอาการใบขาว หลังจากที่นำอ้อยที่การเจริญเติบโตดีจากกระถางไปปลูกต่อในแปลง จนเก็บเกี่ยวผลผลิตที่อายุ ๑๒ เดือนพบว่าในกรรมวิธีที่มีการแช่น้ำร้อน อ้อยให้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน ยกเว้นในกรรมวิธีที่ได้ท่อนพันธุ์จากลำที่แสดงอาการใบขาวจะทำให้เกิดใบขาว และเมื่อรอดได้จะสามารถให้ผลผลิตได้ จะน้อยกว่าอ้อยปกติ

จากการทดลองที่ 2 ซึ่งตัวอย่างจากแปลงที่เกิดโรคอย่างมาก(เกิน50%) แม้การแช่น้าร้อนจะสามารถลดแสดงอาการใบขาว แต่เมื่อสุ่มตัวอย่างตรวจเช็คเชื้อแล้วจะพบว่า การแช่น้ำร้อนทุกกรรมวิธีไม่มีผลแตกต่าง แต่ในตัวอย่างที่ได้จากอ้อยที่ขยายพันธุ์ตามปกติซึ่งผ่านการแช่น้ำร้อน 52 องศา นาน 30 นาทีมาแล้ว จะสามารถควบคุมเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวได้ ส่วนในอ้อยที่ไม่แสดงอาการใบขาวเลย แต่อยู่ในแปลงที่เป็นโรคเกิน 50% การแช่น้าร้อนจะลดเชื้อในท่อนพันธุ์ได้บ้างและลดเชื้อโรคอื่นๆ ที่ติดมากับท่อนพันธุ์ได้ด้วย การแช่ท่อนพันธุ์ในน้ำร้อนเพียงครั้งเดียวที่ 52 องศา นาน 30 นาที สามารถนำไปขยายพันธุ์ต่อได้ และช่วยลดความเสียหายจากการแช่น้ำร้อนได้

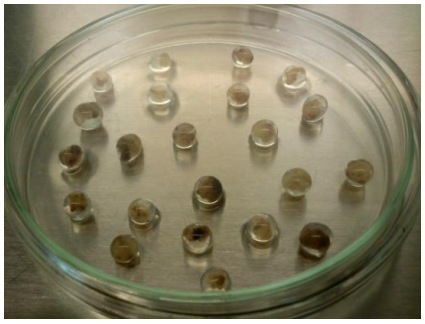
3.2.3) การกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาในในเนื้อเยื่ออ้อยด้วย Cryotherapy และสารต้านจุลินทรีย์บางชนิด

1. <u>ผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาในเนื้อเยื่ออ้อยด้วย Cryotherapy</u>

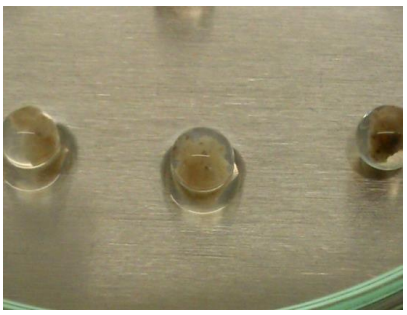
ทดสอบเทคนิคการแช่แข็งโดยใช้แคลลัสอ้อย ทำการพัฒนาวิธีการแช่แข็งด้วยขบวนการ Encapsulation-vitrification และ encapsulation - dehydration พบว่า ในการสร้างเมล็ดเทียม (encapsulation) อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อ (autoclave) sodium-alginate ที่เหมาะสมคือ 110 องศาเซลเซียส 15 นาที ทำให้ได้เมล็ดเทียมที่มีรูปทรงกลมและสามารถห่อหุ้มเนื้อเยื่อได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 20 นาที



(A)



(B)



(C)

Figure 2. Sugarcane calli in artificial seeds made from 2% sodium-alginate with different sterilizing temperatures. (A) 121°C 20 min. (B) and (C) 110°C 15 min.

หลังจากนั้นนำมาทำ cryotherapy ด้วยวิธี encapsulation-vitrification พบว่า 1 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์รอด ประมาณ 18-26 % และสาร PVS1 และ PVS3 ให้ผลการรอดชีวิตของแคลลัสได้ดีกว่าเมื่อใช้สาร PVS2

การทำ cryotherapyด้วยวิธี encapsulation-dehydration มีเปอร์เซ็นต์รอดชีวิต ประมาณ 72 % ดีกว่าวิธีการแรก และได้มีการพัฒนาวิธีการโดยเพิ่มความเข้มข้น sodium-alginate ขึ้นจากเดิม 2 % เป็น 3 % และเพิ่มระยะเวลาการเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 0.75 M sucrose เพื่อดึงน้ำออกจากเซลล์ของแคลลัสจากเดิม 1 วัน เป็น 2 และ 3 วัน ก่อนนำไปแช่แข็งในไนโตรเจนเหลวผลที่ได้พบว่าแคลลัสมีอัตราการรอดชีวิต ประมาณ 100% ดังนั้นสำหรับการศึกษาต่อไปจึงเลือกใช้การแช่แข็งโดยวิธี encapsulation-dehydration โดยใช้sodium-alginate ความเข้มข้น3 %และเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี 0.75 sucrose เป็นเวลา 2 วัน

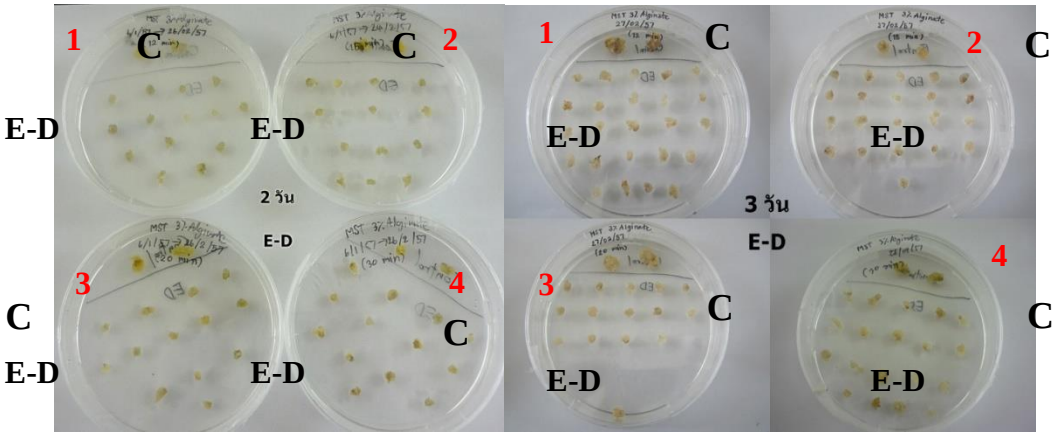


Figure 5. Cryo-treated calli via encapsulation-dehydration using 3% sodium-alginate after 1 week cultured in cullus induction medium. Calli were pre- cultured in 0.75 M sucrose supplemented MS medium for 2-3 days before cryo-treatment. C: control calli. E-D: cryo-treated calli. 1-4: repeating plates.

การตรวจเชื้อไฟโตพลาสมาจากเนื้อเยื่อแคลลัสที่ผ่านการแช่แข็งด้วยวิธี encapsulation-vitrification และ encapsulation-dehydration

จากการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อไฟโตรพลาสมาจากเนื้อเยื่อแคลลัสที่ผ่านการแช่แข็งด้วยวิธี encapsulation-vitrificationและ encapsulation-dehydration แล้วนำมาตรวจสอบปริมาณเชื้อด้วยเทคนิค nested-PCR พบว่าทั้งสองวิธีมีแนวโน้มที่สามารถจำกัดเชื้อได้ (ภาพที่ 10 ซ้ำที่ 1) โดยสามารถตรวจพบเชื้อที่ขนาด 210 bpในแคลลัสอ้อยพันธุ์ KK3 (KK3 control) แต่ไม่พบเชื้อในตัวอย่างอ้อยพันธุ์ KK3 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ผ่านการตรวจสอบว่าปลอดเชื้อและแคลลัสที่ผ่านการแช่แข็งด้วยวิธี encapsulation-vitrificationและ encapsulation-dehydration เลย คาดว่าวิธีการแช่แข็งทั้ง 2 วิธีมีแนวโน้มที่สามารถลดปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาได้

อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อทำการตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยเทคนิค nested-PCR อีก 3 ซ้ำ พบว่าการปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 210 bpไม่คงที่ (ภาพที่ 9 ซ้ำที่ 2-4) ซึ่งอาจเกิดจากปริมาณเชื้อไฟโตรพลาสมาที่มีในตัวอย่างน้อยมาก จึงทำให้ผลการตรวจสอบไม่คงที่ ดังนั้นหากเพิ่มระยะเวลาในการแช่แข็งในไนโตรเจนจาก 12 นาที เป็น 15, 20 และ 30 นาที คาดว่าน่าจะสามารถกำจัดเชื้อไฟโตรพลาสมาได้ดีขึ้นแต่อย่างไรก็ตามพบว่าแคลลัสที่ผ่านการแช่แข็งด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ เมื่อเทียบกับแคลลัสที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง

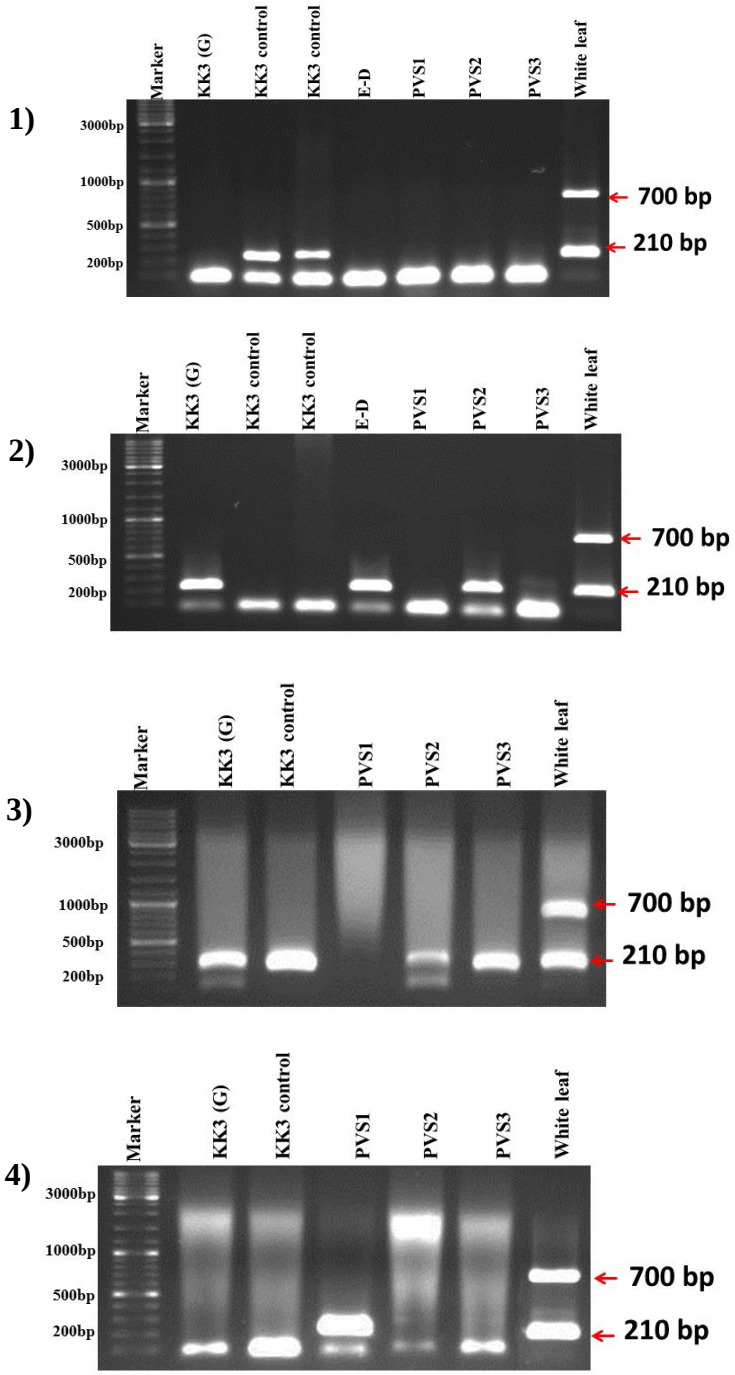


Figure 10. Sugarcane white leaf phytoplasma detection in KK3 calli using nested- PCR. KK3 (G) : leaf of no phytoplasma detectable KK3 plantlet propagated by tissue culture. KK3 control : KK3 calli. E-D : KK3 calli derived fromcryo-treated via encapsulation-dehydration. PVS1, PVS2, PVS3 : KK3 calli derived from encapsulation-vitrification. positive control : white leaf.

ทำการทดสอบชักนำให้แคลลัส เกิดเป็นต้นอ่อนหลังจากขบวนการแช่แข็ง โดยการคัดเลือกแคลลัสที่มีลักษณะไม่ฉ่ำน้ำ และมีแบ่งเซลล์ออกมาประมาณ 2-3 อาทิตย์ นำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่

มี Mannitol ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เขย่าที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบกำหนด นำแคลลัสมา ผึ่งทิ้งไว้นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำนำไปแช่ในไนโตรเจนเหลว เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 นาที แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ประมาณ 1 เดือน เพื่อพักฟื้น ก่อนย้ายไปเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดต้น พบว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ทั้งหมด แต่ตัวอย่างที่ผ่านการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ (ภาพที่ 11)

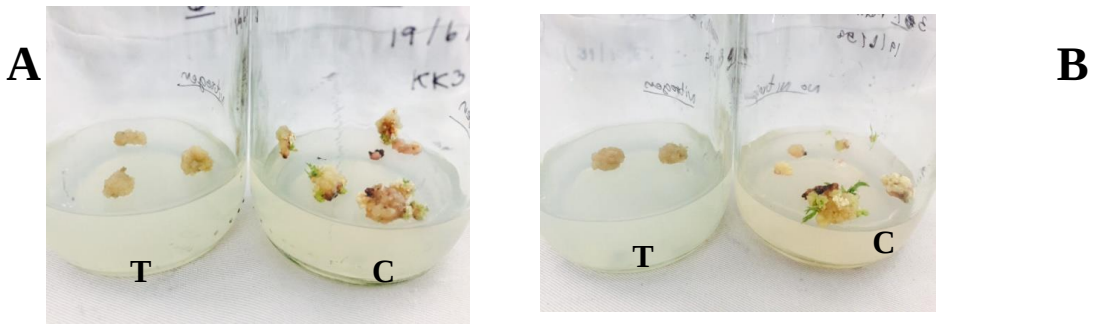


Figure 11. Cryo-treated callus pre-treatment with various manitol concentration. Calli were pretreated with (A) 0% manitol and (B) 3% manitol before 1 hour cryo-treatment, then subjected in shoot induction medium. T : cryo-treated calli. C: control with no cryo-treatment.

2. <u>การกำจัดเชื้อไฟโพลาสมาด้วยยาปฏิชีวนะบางชนิด</u> การทดลองการกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาด้วยยาปฏิชีวนะ myco-1 and 2 ซึ่งเป็นยาปฏิชีววนะในกลุ่มTiamulin และ Minocycline โดยใช้ 2-step treatment และมีการทดสอบจำนวน 3 รอบ โดยใช้ทดสอบในเนื้อเยื่ออ้อยที่มีปริมาณเชื้อมาก (700 bp) เมื่อทำการตรวจปริมาณเชื้อด้วย nested-PCR พบว่าสามารถตรวจพบดีเอ็นเอตำแหน่ง 700 bp ในกลุ่มต้นควบคุมที่ไม่ได้รับยา และไม่พบดีเอ็นเอตำแหน่งนี้ในต้นที่มีการใช้ยา แต่ยังพบดีเอ็นเอขนาด 210 bp ในทุกตัวอย่าง เมื่อตรวจพิสูจน์ด้วย secA สามารถตรวจพบแถบดีเอ็นเอได้เช่นกัน แสดงว่าการใช้ยานี้สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อให้หมดไปได้ ทั้งนี้ยังไม่มีการตรวจปริมาณเชื้อด้วย RT-PCR เพื่อดูความมีชีวิตของเชื้อ

การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาในเนื้อเยื่ออ้อยด้วยยาปฏิชีวนะ Cotrimoxazole หรือ Sulfamethoxazole ร่วมกับ Trimethoprim (40 : 8 mg/ml)โดยแปรผันความเข้มข้นที่ 25, 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรของอาหาร พบว่า ที่ความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรของอาหาร มีผลต่อการเจริญเติบโตของอ้อย ส่วนการใช้ความเข้มข้น 25 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรของอาหารเป็นเวลาที่ 5, 7 และ 14 วัน จากนั้นย้ายลงอาหารเหลว MS เปลี่ยนอาหารใหม่ทุกสัปดาห์ จนครบ 1 เดือน รวมทั้งการทดลองโดยใช้สาร Preservative for Plant Tissue Culture Media (PPM)ซึ่งเป็นสารกลุ่ม biocide มีส่วนประกอบหลัก คือ 5-Chloro-2-methyl-3(2H)-isothiazoloneและ 2-Methyl-3(2H)-

isothiazoloneเป็นเวลาที่ 5, 7 และ 14 วันจากนั้นย้ายลงอาหารเหลว MS ที่เติม PPM 0.5µl/ml และเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกสัปดาห์ จนครบ 1 เดือน ให้ผลในการลดเชื้อลงได้เช่นเดียวกัน แต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อได้

ผลการตรวจพิสูจน์เชื้อด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอขนาด 210bp ที่ตรวจพบในตัวอย่างที่ผ่านการกำจัดเชื้อด้วยสารต้านจุลชีพชนิดต่าง พบว่ายืนยันว่าเป็นเชื้อไฟโตพลาสมาโรคใบขาวของอ้อย (SCWL)

การทดลองกำจัดเชื้อด้วยActive natural extract (DENTISTE')ที่ความเข้นข้น 10, 25 และ 50% เป็นเวลา 2 และ 4 วัน รวมทั้งการใช้ที่ความเข้มข้น 10% กำจัดเชื้อในระยะเวลา 3 และ 6 ชม.พบว่าต้นอ้อยมีลักษณะซีดและตายในที่สุด

การทดสอบประสิทธิภาพของสารปฏิชีวนะในการกำจัดเชื้อโรคใบขาวในต้นอ้อยที่เพาะเลี้ยงในสภาพเนื้อเยื่อจำนวน 14 ชนิด ได้แก่ Sulfamethoxazole +Trimethoprim, Oxytetracycline, Plasmocin, Ciprofloxacin, Levofloxacin, Cephalexin, Amoxicillin+Clavulanic acid, Amoxilcillin , Penicillin , Clarithomycin, Erythomycin, Azithomycin ,Ofloxacin และTetracycline ที่มีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันต่อเชื้อแบคทีเรีย ดังแสดงในตารางที่ 1 ที่ปริมาณต่อตัวอย่างพืช 250 และ 500 มิลลิกรัม พบว่า แต่ละชนิดสารมีผลต่อการลดปริมาณของเชื้อไฟโตพลาสมาในเนื้อเยื่ออ้อยในระดับที่แตกต่างกันไป เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ที่ไม่ได้รับสารปฏิชีวนะ สารบางตัวที่มีผลกระทบต่อพืช ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตช้า เช่น Sulfamethoxazole+Trimethoprim บางชนิดทำให้พืชมีอาการเนื้อเยื่อตายและซีดหลังจากได้รับสารปฏิชีวนะ 3 วัน เช่น Clarithomycin, Tetracycline, Penicillin, Oxytetracycline, Cephalexin และ Ciprofloxacin

ผลการตรวจปริมาณเชื้อในตัวอย่างเนื้อเยื่ออ้อยที่ทดสอบด้วยสารปฏิชีวนะชนิดต่างๆ โดยการเติมสารปฏิชีวนะลงในอาหารให้มีปริมาณ 250 และ 500 มิลลิกรัม ทำการทดสอบทั้งหมด 12 วัน โดยเปลี่ยนอาหารพร้อมสารปฏิชีวนะใหม่ทุก 3 วัน พบว่า สารปฏิชีวนะและปริมาณที่ใช้ยังไม่สามารถกำจัดเชื้อไฟโตพลาสมาได้ แต่สามารถลดปริมาณได้ในระดับหนึ่งเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้รับสารปฏิชีวนะ จากการตรวจปริมาณเชื้อที่ตำแหน่ง 16S-23S rDNA ด้วยเทคนิค Nested PCR และตรวจ secA ด้วย Direct PCR โดยพบว่า Amoxicilin และ Tetracyclin ในปริมาณ 250 มิลลิกรัม ไม่สามารถลดปริมาณเชื้อได้ แต่ลดได้ที่ 500 มิลลิกรัม ส่วน Clarithomycin, Azithomycin และ Ofloxacin ไม่สามารถลดปริมาณเชื้อได้ (ภาพที่ 1)

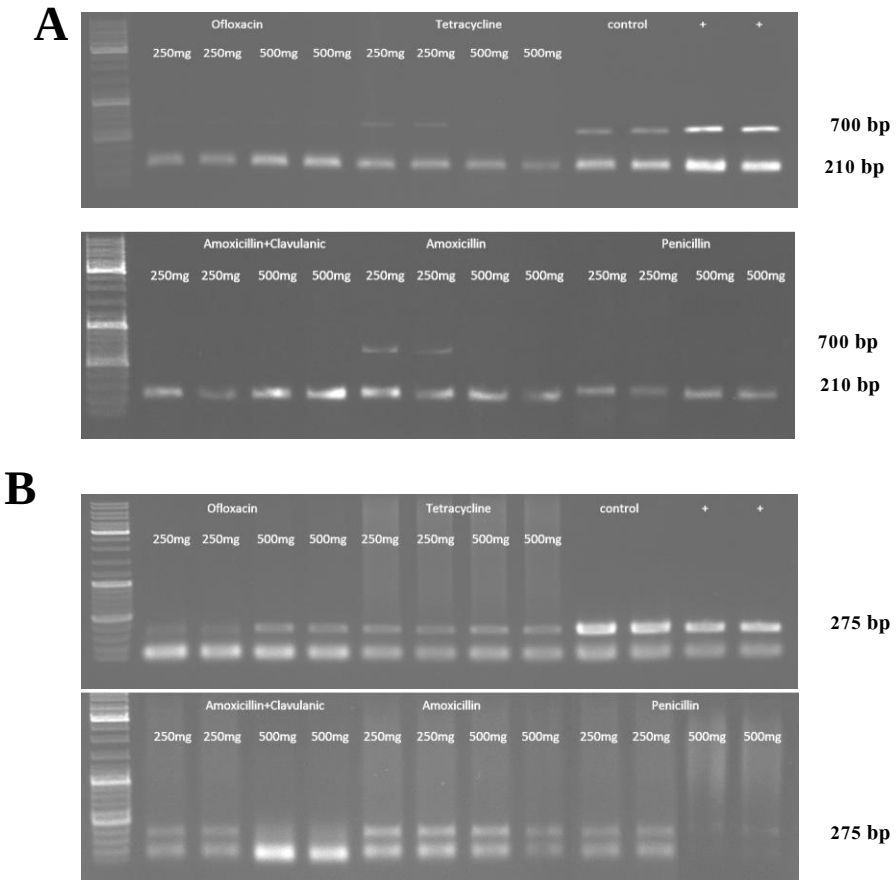


Figure 1. Sugarcane white leaf phytoplasma concentration in leaf of sugarcane platelets cultivated in 250 and 500 milligram of various antibiotics supplemented in MS medium for 12 days exposure. Phytoplasma was estimated by (A) Nested-PCR targeted 16S-23S rDNA gene. Detectable DNA fragment at 700 bp indicates high phytoplasma concentration (10^3 copies/ μl 25 ng plant DNA and over). (B) Direct PCR targeted partial secA gene. Observable DNA banding at 275 bp indicates phytoplasma concentration at 10^2 copies/ μl 25 ng plant DNA and over. Tested antibiotics were Ofloxacin, Tetracycline, Amoxicillin+Clavulanic acid, Amoxicilin and Pennicilin. Control: No antibiotic supplement. + : white leaf

3.3) การผลิตท่อนพันธุ์อ้อยจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยปลอดโรค

3.3.1) ศึกษาปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาของอ้อยจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการแสดงออกของโรคใบขาว ในสภาพแปลงปลูก ผลการทดลองพบว่า ต้นกล้าทุกระดับเชื้อมีอัตรารอดหลังย้ายปลูกในแปลงใกล้เคียงกัน ไม่พบอาการอ้อยที่แสดงอาการใบขาวในทุกกรรมวิธีการทดลองในอ้อยปลูก ปริมาณเชื้อในต้นกล้าและกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยไม่มีปฏิสัมพันธ์กันทางสถิติ อ้อยที่ปลูกมาจากต้นกล้าที่มีระดับเชื้อต่ำ มีผลผลิตเฉลี่ย 11.1 ตันต่อไร่ กรรมวิธีใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + โดโลไมด์ มีผลผลิตเฉลี่ยมากที่สุด 11.3 ตันต่อไร่ ความงอกท่อนพันธุ์มีความงอกเฉลี่ย 76.7-82.1 เปอร์เซ็นต์ การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน +

โดโลไมด์ + ธาตุอาหารเสริม ($ZnSO_4$) ในอ้อยปลูกที่มีปริมาณเชื้อแตกต่างกัน ให้ผลตรวจเชื้อไฟโตพลาสมาในระดับเริ่มตรวจพบเชื้อในระดับต่ำ

ทางด้านอ้อยตอจากอ้อยปลูกที่ต้นกล้ามีเชื้อระดับต่ำ มีผลผลิตเฉลี่ยสูงที่สุด 4.0 ตันต่อไร่ และกรรมวิธีใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + โดโลไมด์ + ธาตุอาหารเสริม ($ZnSO_4$) มีผลผลิตเฉลี่ยมากที่สุด 3.3 ตันต่อไร่ อ้อยตอมีการแสดงอาการใบขาวเฉลี่ย 1.93-3.99 เปอร์เซ็นต์ อ้อยตอที่มาจากอ้อยปลูกจากต้นกล้าที่มีเชื้อระดับต่ำ มีจำนวนกอแสดงที่แสดงใบขาวต่ำที่สุด 1.93 เปอร์เซ็นต์ อ้อยตอที่มาจากอ้อยปลูกจากต้นกล้าที่ไม่มีเชื้อร่วมกับกรรมวิธีใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน + โดโลไมด์ ตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาในระดับเชื้อน้อยมาก

3.3.2) ศึกษาผลของการให้น้ำ และปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาในกล้าอ้อยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการแสดงออกของโรคใบขาวในสภาพแปลงผลิตท่อนพันธุ์

ผลการทดลองพบว่า อ้อยปลูกต้นกล้ามีเปอร์เซ็นต์รอด 77.09-92.83 เปอร์เซ็นต์ ต้นกล้าที่มีเชื้อระดับต่ำมีเปอร์เซ็นต์รอดในแปลงปลูกสูงที่สุด 92.83 เปอร์เซ็นต์ ท่อนพันธุ์จากต้นกล้าที่มีเชื้อระดับต่ำมีจำนวนลำเก็บเกี่ยวมากที่สุด 9,374 ลำต่อไร่ ปริมาณเชื้อในต้นกล้าไม่มีปฏิสัมพันธ์กับการให้น้ำ ผลผลิตท่อนพันธุ์ที่มาจากต้นกล้าที่มีเชื้อระดับต่ำมีผลผลิต 19.6 ตันต่อไร่ ทางด้านกรรมวิธีให้น้ำเสริมมีผลผลิตท่อนพันธุ์ 18.1 ตันต่อไร่ สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ให้น้ำเสริมมีผลผลิต 15.6 ตันต่อไร่ ความงอกท่อนพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ อ้อยที่มีเชื้อระดับสูงและมีการให้น้ำเสริมตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาในระดับเชื้อน้อยมาก

ทางด้านอ้อยตอ พบว่า อ้อยตอที่มาจากต้นกล้าที่มีเชื้อระดับต่ำมีจำนวนลำเก็บเกี่ยวมากที่สุด 6,458 ลำต่อไร่ ผลผลิตอ้อยตอที่มาจากต้นกล้าที่มีเชื้อระดับสูงมีผลผลิต 6.9 ตันต่อไร่ ทางด้านกรรมวิธีให้น้ำเสริมอ้อยตอมีผลผลิต 7.8 ตันต่อไร่ สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ให้น้ำเสริมมีผลผลิต 5.5 ตันต่อไร่ อ้อยตอที่มาจากต้นกล้าที่ไม่พบเชื้อ และการให้น้ำเสริมหรือไม่ให้น้ำเสริม อ้อยตอไม่แสดงอาการใบขาว อ้อยที่มีเชื้อระดับสูงและมีการให้น้ำเสริมตรวจพบเชื้อไฟโตพลาสมาในระดับเชื้อน้อยมาก

3.4) การศึกษาการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของแมลงพาหะโรคใบขาวของอ้อย

จากการศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวนปีละ 12-20 พันธุ์ รวม 63 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของเพลี้ยจักจั่น *Yamatotettix flavovitatus* (ปี 2554-2558) และพาหะนำโรคใบขาว โดยใช้ตัวอ่อนที่เพิ่งฟักออกจากไข่ของเพลี้ยจักจั่น จากการขยายปริมาณในกรงตาข่าย นำมาเลี้ยงบนใบอ้อยของแต่ละพันธุ์ในสภาพห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 27 +1 $^{\circ}$C ความชื้นสัมพัทธ์ 70-75 % วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 6-10 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำใช้เพลี้ยจักจั่น 1 ตัว และการศึกษาการศึกษาการเพิ่มปริมาณของเพลี้ยจักจั่น *Y. flavovitatus* ในสภาพเรือนทดลอง โดยใช้เพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* ตัวเต็มวัย เพศผู้และเพศเมีย จำนวน 5 คู่ อายุ 1-2 วัน อาศัยบนต้นอ่อนอ้อยเป็นเวลา 21 วัน เนื่องจากเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* จะวางไข่ใต้ผิวใบ และใช้เวลาประมาณ 8-10 วัน (สุพัตรา และคณะ 2552) ดังนั้นปริมาณการขยายพันธุ์ของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* ในการทดลองนี้ จึงนับรวมปริมาณไข่ใต้ผิวใบ และตัวอ่อน

ผลการทดลองปี 2554

การศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวน 18 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของเพลี้ยจักจั่นของเพลี้ยจักจั่น *Y. flavovitatus* พาหะนำโรคใบขาว วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 10 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่า เพลี้ยจักจั่นสามารถเจริญเติบโตจนกระทั่งเป็น ตัวเต็มวัย บนอ้อยทั้ง 18 พันธุ์โดย มีการลอกคราบตั้งแต่ 4-5 ครั้งจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ใช้เวลาเฉลี่ย 14.78 วัน ซึ่งพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์อ้อยทั้ง 18 พันธุ์ เช่นเดียวกับระยะเวลาการเจริญเติบโตวัยที่ 1, 3 และ 4 ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 3.5, 3.6 และ 3.9 วัน อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตวัยที่ 2 มีค่าเฉลี่ย 3.5 วันแต่ไม่มีความแตกต่างในแต่ละพันธุ์ พบเพลี้ยจักจั่น 5.5% มีการลอกคราบ 5 ครั้ง (ตารางที่ 1)

ผลการทดลองปี 2555

การศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวน 18 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* พาหะนำโรคใบขาว ในสภาพเรือนทดลอง (เดือนสิงหาคม – กันยายน 2555) พบว่าปริมาณรวมไข่และตัวอ่อนที่เกิดจากเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* 1 ตัว ในแต่ละพันธุ์ มีค่าเฉลี่ย 22.41 ตัว/ฟอง โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 9.20 ตัว/ฟอง (UT3) – 47.84 ตัว/ฟอง (3-395) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในระหว่าง 18 พันธุ์ ดังนั้นในการขยายพันธุ์ในระยะเวลา 21 วันพบว่าปริมาณการขยายพันธุ์ของ เพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* อยู่ในระยะไข่โดยเฉลี่ย 3.54% และระยะตัวอ่อน 96.46% (ตารางที่ 3)

ผลการทดลองปี 2556

การศึกษาการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของพันธุ์อ้อยต่อเพลี้ยจักจั่นอ้อย *Yamatotettix flavovitatus* บนอ้อยพันธุ์ต่างๆ

การศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวน 12 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพลี้ยจักจั่น *Y. flavovitatus* พาหะนำโรคใบขาว วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 6 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่าเพลี้ยจักจั่นสามารถเจริญเติบโตจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย บนอ้อยทั้ง 12 พันธุ์โดย มีการลอกคราบ 5 ครั้งจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ใช้เวลาเฉลี่ย 13.65 วัน ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์อ้อยทั้ง 12 พันธุ์ เช่นเดียวกับระยะเวลาการเจริญเติบโตวัยที่ 1 -5 ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 2,4, 2.1, 2.5, 2.9 และ 3.7 วัน (ตารางที่ 4)

การศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวน 12 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* พาหะนำโรคใบขาว ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าปริมาณรวมไข่และตัวอ่อนที่เกิดจากเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* 1 ตัว ในแต่ละพันธุ์ มีค่าเฉลี่ย 37.11 ตัว/ฟอง โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 26.30 ตัว/ฟอง (LK92-11) – 53.43 ตัว/ฟอง (UT07-46) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่าง 13 พันธุ์ (ตารางที่ 5)

ผลการทดลองปี 2557

การศึกษาการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของพันธุ์อ้อยต่อเพลี้ยจักจั่นอ้อย *Yamatotettix flavovitatus* บนอ้อยพันธุ์ต่างๆ

การศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวน 20 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของเพลี้ยจักจั่นของเพลี้ยจักจั่น *Y. flavovitatus* พาหะนำโรคใบ วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 6 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่าเพลี้ยจักจั่นสามารถเจริญเติบโตจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย บนอ้อยทั้ง 20 พันธุ์โดย มีการลอกคราบ 5 ครั้งจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ใช้เวลาเฉลี่ย 13.47 วัน ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์อ้อยทั้ง 20 พันธุ์ เช่นเดียวกับระยะเวลาการเจริญเติบโตวัยที่ 1 -5 ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 2.46, 2.12, 2.46, 2.65 และ 3.02 วัน (ตารางที่ 6)

การศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวน 20 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* พาหะนำโรคใบขาว ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าปริมาณรวมไข่และตัวอ่อนที่เกิดจากเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* 1 ตัว ในแต่ละพันธุ์ มีค่าเฉลี่ย 56.29 ตัว/ฟอง โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 31.01 ตัว/ฟอง (10-175) – 77.40 ตัว/ฟอง (10-410) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่าง 20 พันธุ์ (ตารางที่ 7)

ผลการทดลองปี 2558

การศึกษาการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของพันธุ์อ้อยต่อเพลี้ยจักจั่นอ้อย *Yamatotettix flavovitatus* บนอ้อยพันธุ์ต่างๆ

การศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวน 19 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของเพลี้ยจักจั่นของเพลี้ยจักจั่น *Y. flavovitatus* พาหะนำโรคใบ วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 4 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่าเพลี้ยจักจั่นสามารถเจริญเติบโตจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย บนอ้อยทั้ง 19 พันธุ์โดย มีการลอกคราบ 5 ครั้งจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ใช้เวลาเฉลี่ย 13.25 วัน ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์อ้อยทั้ง 19 พันธุ์ เช่นเดียวกับระยะเวลาการเจริญเติบโตวัยที่ 1 -4 ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 2.39, 2.67, 2.51 และ 2.53 วัน แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของจำนวนวันของการเจริญเติบโต ในระยะวัยที่ 5ระหว่างพันธุ์อ้อยทั้ง 19 พันธุ์ โดยพันธุ์ UT11-234 และ UT11-118 มีจำนวนวันของการเจริญเติบโต ในระยะวัยที่ 5 น้อยที่สุดมีค่าเฉลี่ย 2.25 วัน ซึ่งแตกต่างจากพันธุ์ UT11-309, UT11-484, UT11-448 ที่มีจำนวนวันของการเจริญเติบโต ในระยะวัยที่ 5 อยู่ในช่วง 3.75-4.50 วัน ส่วนค่าเฉลี่ยของจำนวนวันของการเจริญเติบโต ในระยะวัยที่ 5 เท่ากับ 3.14 วัน (ตารางที่ 8)

เนื่องจากการดำเนินการทดลองในปี 2558 ได้รับพันธุ์/สายพันธุ์อ้อย ที่จะนำมาใช้ในการทดลองค่อนข้างช้า และต้องนำมาปลูกขยายในวงบ่อซีเมนต์ และในกระถาง ให้มีการย่างปล้องก่อน (เนื่องจากต้นยังเล็ก) ก่อนจะนำท่อนพันธุ์มาปลูกขยายลงในกระถางเพื่อเตรียมไว้ใช้ในการทดลอง จึงทำให้ดำเนินการทดลองได้ล่าช้าจากแผนที่วางไว้ และยังอยู่ระหว่างการดำเนินการศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ ต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* ในสภาพเรือนทดลอง จึงไม่สามารถนำรวบรวมผลการทดลองมาเสนอในการรายงานครั้งนี้ได้

สรุปจากการศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์อ้อยที่มีศักยภาพ จำนวน 63 พันธุ์ ต่อการเจริญเติบโตของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* พาหะนำโรคใบขาว พบว่าเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* สามารถเจริญเติบโตจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย บนอ้อยทั้ง 63 พันธุ์โดย มีการลอกคราบ 5 ครั้งจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย โดยวัยที่ 1 ใช้เวลาเฉลี่ย 2.62 วัน วัยที่ 2 ใช้เวลาเฉลี่ย 2.61 วัน วัยที่ 3 ใช้เวลาเฉลี่ย 2.74 วัน วัยที่ 4 ใช้เวลาเฉลี่ย 3.00 วัน วัยที่ 4 ใช้เวลาเฉลี่ย 3.33 วัน และ เวลาที่ใช้ทั้งหมดจากวัยที่ 1 จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 13.90 วัน ซึ่งจำนวนวันของแต่ละวัย จนกระทั่งเป็น ตัวเต็มวัยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์อ้อยในปี 2554 และ 2555 แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าดังกล่าวในปี 2556 และ 2558 อย่างไรก็ตามพบว่า ตัวเต็มวัยทั้งหมดที่ได้จากการทดลองคิดเป็นสัดส่วนของเพศเมีย : เพศผู้ เป็น 4.2:5.8 จากการศึกษา การขยายพันธุ์ของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าปริมาณรวมไข่และตัวอ่อนที่เกิดจากเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus* 1 ตัว ในแต่ละพันธุ์ มีค่าเฉลี่ย 38.60 ตัว/ฟอง โดยมีปริมาณเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 22.17 ตัว/ฟอง– 59.56 ตัว/ฟอง ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่างพันธุ์ ในปี 2556 และ 2557 แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าดังกล่าวในปี 2555 จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า พันธุ์อ้อยที่ใช้ในการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในด้านการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ ของเพลี้ยจักจั่น *y. flavovittatus*

ตารางที่ 1 จำนวนวันของการเจริญเติบโตแต่ละวัย จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ในสภาพห้องปฏิบัติการ ปี 2554

พันธุ์อ้อย	ระยะวัยที่ 1	ระยะวัยที่ 2	ระยะวัยที่ 3	ระยะวัยที่ 4	ตัวเต็มวัย
1. ขอนแก่น 3	4.40	4.20	3.60	4.80	17.00
2. สุพรรณบุรี 50	4.20	3.60	4.40	5.40	19.00
3. สุพรรณบุรี 80	3.20	3.20	3.00	3.00	12.00
4. LK11	4.20	3.40	3.60	3.80	16.00
5. K 84-200	4.00	4.00	2.60	3.60	15.00
6. UT3	4.00	3.80	4.80	4.80	17.00
7. UT8	3.40	3.60	2.80	3.40	12.00
8. UT10	2.60	3.00	2.80	3.40	12.00
9. UT11	3.60	3.20	3.20	3.80	14.00
10. 01-178	4.20	3.80	4.40	5.00	17.00
11. 02-477	3.00	2.60	3.20	3.80	13.00
12. 02-483	3.40	3.40	3.60	3.80	14.00
13. 03-058	3.20	3.00	3.80	2.80	13.00
14. 03-287	3.60	3.60	4.60	4.20	16.00
15. 03-395	2.60	3.40	2.80	2.60	11.00
16. 91-2-527	3.80	4.20	4.40	4.20	18.00
17. 94-2-254	2.60	3.40	3.00	3.60	13.00
18. 95-2-213	3.40	3.20	4.60	4.00	17.00
Mean	3.50	3.50	3.60	3.90	15.00
F-test	*	ns	*	*	*
cv.(%)	25.61	28.99	24.96	32.43	13.1

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 2 จำนวนวันของการเจริญเติบโตแต่ละวัย จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ในสภาพห้องปฏิบัติการ ปี 2555

พันธุ์อ้อย	ระยะวัยที่ 1	ระยะวัยที่ 2	ระยะวัยที่ 3	ระยะวัยที่ 4	ระยะวัยที่ 5	ตัวเต็มวัย[1/]
1. ขอนแก่น 3	2.40	2.80	2.60	2.80	3.60	14.20 ab
2. สุพรรณบุรี 50	2.40	2.60	2.40	2.80	4.40	14.60 ab
3. สุพรรณบุรี 80	2.20	2.80	2.40	3.80	3.40	14.60 ab
4. LK11	2.60	2.80	2.60	3.40	4.60	16.00 a
5. K 84-200	2.20	2.60	2.40	2.60	3.40	13.20 b
6. UT3	2.80	2.80	2.80	3.20	3.00	14.60 ab
7. UT8	2.60	2.40	2.80	3.00	3.80	14.60 ab
8. UT10	2.00	2.80	2.80	3.00	3.20	13.80 ab
9. UT11	2.40	2.40	2.40	3.00	3.00	13.20 b
10. 01-178	2.20	3.20	2.80	2.80	2.80	13.80 ab
11. 02-477	2.20	2.60	2.20	3.20	4.20	14.40 ab
12. 02-483	1.80	2.40	2.80	3.20	3.20	13.40 ab
13. 03-058	2.80	2.60	2.60	2.60	4.00	14.60 ab
14. 03-287	2.20	2.60	3.00	3.00	3.20	14.00 ab
15. 03-395	2.80	2.60	2.80	3.00	2.40	13.60 ab
16. 91-2-527	2.60	2.40	2.40	3.20	3.20	13.80 ab
17. 94-2-254	2.20	2.80	2.60	2.80	3.60	14.00 ab
18. 95-2-213	2.20	2.60	2.40	2.80	3.60	13.60 ab
Mean	2.37	2.66	2.60	3.01	3.48	14.11
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	*
cv.(%)	23.81	19.18	22.10	21.01	12.42	12.42

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

*แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 3 ปริมาณตัวอ่อน/ไข่ ของเพลี้ยจักจั่น *Y. flavovittatus* / ตัว จำนวน 5 คู่เมื่อปล่อยให้อาศัยอยู่บนต้นอ่อนอ้อยแต่ละพันธุ์ ในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน ปี 2555

พันธุ์อ้อย	ปริมาณรวมตัวอ่อนและไข่[1/]
1. ขอนแก่น 3	39.88 bc
2. สุพรรณบุรี 50	14.80 a
3. สุพรรณบุรี 80	20.40 ab
4. LK11	29.16 abc
5. K 84-200	22.12 ab
6. UT3	9.32 a
7. UT8	25.20 ab
8. UT10	20.80 ab
9. UT11	25.76 ab
10. 01-178	19.44 ab
11. 02-477	14.44 a
12. 02-483	12.00 a
13. 03-058	22.00 ab
14. 03-287	12.08 a
15. 03-395	47.84 c
16. 91-2-527	19.16 ab
17. 94-2-254	23.60 ab
18. 95-2-213	25.32 ab
Mean	22.41
F-test	*
cv.(%)	68.65

หมายเหตุ *แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4 จำนวนวันของการเจริญเติบโตแต่ละวัย จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ในสภาพห้องปฏิบัติการ ปี 2556

พันธุ์อ้อย	ระยะวัยที่ 1	ระยะวัยที่ 2	ระยะวัยที่ 3	ระยะวัยที่ 4	ระยะวัยที่ 5	ตัวเต็มวัย
1. UT07-46	2.17	2.67	2.50	3.33	4.00	14.67
2. UT07-181	2.50	1.83	2.67	2.83	3.67	13.50
3. UT07-188	2.50	1.83	2.50	2.67	4.33	13.83
4. UT07-290	2.33	2.17	2.50	2.83	3.83	13.67
5. UT07-316	2.83	2.00	2.83	2.83	3.33	13.83
6. UT07-317	2.50	2.50	2.50	3.33	3.33	14.17
7. UT07-338	2.50	2.00	2.33	2.00	4.00	12.83
8. UT07-343	2.33	2.00	2.33	2.67	3.67	13.00
9. UT07-381	2.17	2.17	2.67	2.83	4.00	13.83
10. UT07-811	2.33	2.33	2.00	2.67	3.00	12.33
11. LK92-11	2.67	2.17	3.33	3.50	3.33	15.00
12. KK3	2.00	1.83	2.33	3.17	3.83	13.17
Mean	2.40	2.12	2.54	2.89	3.69	13.65
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV.(%)	24.20	23.78	23.75	26.49	28.48	11.02

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 5 ปริมาณตัวอ่อน/ไข่ ของเพลี้ยจักจั่น *Y. flavovittatus* / ตัว จำนวน 5 คู่เมื่อปล่อยให้อาศัยอยู่บนต้นอ่อนอ้อยแต่ละพันธุ์ ในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน ปี 2556

พันธุ์อ้อย	ปริมาณรวมตัวอ่อนและไข่
1. UT07-46	53.43
2. UT07-181	42.93
3. UT07-188	31.20
4. UT07-290	42.70
5. UT07-316	25.83
6. UT07-317	36.53
7. UT07-338	45.10
8. UT07-343	39.20
9. UT07-381	45.73
10. UT07-811	28.47

11. LK92-11	26.30
12. KK3	27.90
Mean	37.11
F-test	ns
CV.(%)	43.66

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 6 จำนวนวันของการเจริญเติบโตแต่ละวัย จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ในสภาพห้องปฏิบัติการ ปี 2557

พันธุ์อ้อย	ระยะวัยที่ 1	ระยะวัยที่ 2	ระยะวัยที่ 3	ระยะวัยที่ 4	ระยะวัยที่ 5	ตัวเต็มวัย
1. 10-063	2.67	2.17	2.33	2.83	2.83	13.67
2. 10-157	2.67	2.00	2.17	2.33	2.50	12.50
3. 10-175	2.50	2.00	2.83	2.33	3.33	13.00
4. 10-227	2.50	2.17	2.50	2.50	3.17	14.33
5. 10-285	2.50	2.00	2.50	2.67	2.83	13.50
6. 10-292	2.17	2.00	2.17	2.67	3.33	13.17
7. 10-367	2.67	2.00	2.50	2.33	3.33	14.00
8. 10-371	2.17	2.33	2.17	2.33	3.67	13.83
9. 10-385	2.67	2.17	2.33	2.67	3.50	13.67
10. 10-386	2.50	2.00	2.17	3.17	2.00	12.33
11. 10-392	2.33	2.17	2.33	2.33	2.33	12.33
12. 10-410	2.50	2.33	2.83	2.67	2.50	13.17
13. 10-414	2.67	2.00	2.67	2.67	3.67	14.17
14. 10-541	2.33	2.17	2.50	2.50	3.67	14.00
15. 10-586	2.17	2.17	2.50	2.83	3.17	13.83
16. 10-615	2.50	2.00	2.50	2.67	2.67	13.17
17. 10-623	2.50	2.50	2.33	2.83	2.33	13.33
18. UT8	2.67	2.00	2.33	2.83	3.00	13.50
19. UT12	2.33	2.00	2.50	3.17	3.50	13.50
20. LK92-11	2.17	2.33	3.00	2.67	3.00	14.33
Mean	2.46	2.12	2.46	2.65	3.02	13.47
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV.(%)	22.20	18.40	27.16	27.59	40.44	12.13

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 7 ปริมาณตัวอ่อน/ไข่ ของเพลี้ยจักจั่น *Y. flavovittatus* / ตัว จำนวน 5 คู่เมื่อปล่อยให้อาศัยอยู่บนต้นอ่อนอ้อยแต่ละพันธุ์ ในสภาพอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน ปี 2557

พันธุ์อ้อย	ปริมาณรวมตัวอ่อนและไข่
1. 10-063	43.00
2. 10-157	73.75
3. 10-175	31.10
4. 10-227	74.25
5. 10-285	52.55
6. 10-292	63.05
7. 10-367	54.05
8. 10-371	47.80
9. 10-385	59.50
10. 10-386	57.50
11. 10-392	46.90
12. 10-410	77.40
13. 10-414	64.60
14. 10-541	45.95
15. 10-586	44.70
16. 10-615	57.60
17. 10-623	50.10
18. UT8	72.35
19. UT12	56.20
20. LK92-11	53.40
Mean	56.29
F-test	ns
CV.(%)	42.61

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 8 จำนวนวันของการเจริญเติบโตแต่ละวัย จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย ในสภาพห้องปฏิบัติการ ปี 2558

พันธุ์อ้อย	ระยะวัยที่ 1	ระยะวัยที่ 2	ระยะวัยที่ 3	ระยะวัยที่ 4	ระยะวัยที่ 5[1/]	ตัวเต็มวัย
1. UT11-012	2.00	2.50	2.75	2.50	2.50 bc	12.25
2. UT11-024	3.00	3.00	2.00	2.25	3.00 abc	13.25
3. UT11-063	2.75	3.25	2.50	2.50	2.75 bc	13.75
4. UT11-071	2.75	3.00	2.75	2.50	3.00 abc	14.00
5. UT11-072	2.25	2.50	2.50	2.50	3.00 abc	12.75
6. UT11-097	2.75	2.75	3.00	2.25	3.00 abc	13.75
7. UT11-118	2.25	2.50	2.25	2.25	2.25 c	11.50
8. UT11-234	2.25	2.75	2.50	2.50	2.25 c	12.25
9. UT11-309	2.25	2.50	3.00	3.00	4.50 a	15.25
10. UT11-317	2.25	2.25	2.00	2.00	3.00 abc	11.50
11. UT11-341	2.25	2.75	2.75	2.75	3.50 abc	14.00
12. UT11-342	2.25	2.50	2.50	2.50	3.50 abc	13.25
13. UT11-349	2.25	2.25	2.50	2.75	3.00 abc	12.75
14. UT11-419	2.25	2.50	2.50	2.00	3.50 abc	12.75
15. UT11-448	2.50	2.50	2.50	2.25	3.75 ab	13.50
16. UT11-484	2.75	3.50	2.50	3.00	4.25 a	16.00
17. UT11-526	2.25	2.50	2.50	3.25	3.00 bc	13.50
18. LK92-11	2.25	2.50	2.50	2.50	3.00 bc	12.75
19. ขอนแก่น 3	2.25	2.75	2.25	2.75	3.00 bc	13.00
Mean	2.39	2.67	2.51	2.53	3.14	13.25
F-test	ns	ns	ns	ns	**	ns
CV.(%)	26.13	21.07	26.66	23.93	23.73	13.98

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

**แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

กิจกรรมการป้องกันกำจัดโรคใบขาวอ้อยแบบผสาผสาน ประกอบด้วย การศึกษาถึงเชื้อสาเหตุของโรคใบขาวด้วยวิธีHRM และจากลำดับเบสพบว่าสามารถแบ่งได้ 3 ชนิดซึ่งเห็นได้ชัดตามลักษณะอาการ โดยอาการใบขาว และอาการกอฝอยมีความใกล้เคียงกันมาก ในขณะที่สาเหตุอาการกอตะไคร้จะใกล้เคียงน้อยกว่า

90% การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในต้นอ้อยที่ติดเชื้อโรคใบขาวทำการศึกษา วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับความเครียดจากพืชในกลุ่ม Oxidative stress สามารถนำความรู้นี้มาใช้ได้ และมีเป็นการยืนยันเรื่องการแสดงอาการใบขาวน่าจะเกี่ยวกับความเครียดของพืชด้วย การตรวจวิเคราะห์เชื้อสาเหตุมีความแม่นยำขึ้น สามารถตรวจได้ด้วยวิธี real time PCR quantification ที่ตำแหน่งยีน *secA* พบว่าวิธีตรวจแบบ Absolute quantification สะดวก และรวดเร็ว โดยช่วงที่ได้จากการตรวจ 16S rDNA ที่ได้ผลผลิตดีเอ็นเอขนาด 700 bp มีช่วงความเข้มข้นที่เชื่อถือได้ระหว่าง 10^{7}- 10^{4} copy/µl และ ดีเอ็นเอขนาด 275 bp ของ secA มีช่วงความเข้มข้นที่เชื่อถือได้ระหว่าง 10^{10}- 10^{2} copy/µl การกำจัดเชื้อสาเหตุออกจากเนื้อเยื่ออ้อยเพื่อการผลิตท่อนพันธุ์ปลอดโรค และ ท่อนพันธุ์อ้อย สามารถทำได้ แต่ในทางปฏิบัติยังไม่สามารถนำมาใช้ได้ การลดความเสียหายเนื่องจากโรคใบขาวด้วยการปลูกอ้อยในฤดูแล้ง และ ลดความเครียดด้วยการให้ธาตุอาหารที่เหมาะสม ให้น้ำตามเวลา สามารถได้อ้อยที่ไม่แสดงอาการใบขาว หรือแสดงอาการใบขาวน้อยกว่า และพบว่าท่อนพันธุ์ที่ได้จากต้นกล้าที่มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาน้อย จะให้ปริมาณท่อนพันธุ์ต่อไร่สูงสุด และ การใช้ท่อนพันธุ์ที่สะอาดยังคงเป็นคำแนะนำที่ดีที่สุด

การศึกษาการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของแมลงพาหะโรคใบขาวของอ้อย ศึกษาได้เฉพาะเพลี้ยจักจั่นอ้อย *Yamatotettrix flavovittatus* เท่านั้น เนื่องจากในบริเวณที่ทำการศึกษาพบเฉพาะแมลงชนิดนี้ และการขนย้ายแมลงจากแหล่งหนึ่งไปอีกแหล่งหนึ่งทำได้ยาก พบว่าแมลงลอกคราบ 5 ครั้ง เวลาที่ใช้ทั้งหมดจากวัยที่ 1 จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 13.90 วัน ซึ่งจำนวนวันของแต่ละวัย จนกระทั่งเป็น ตัวเต็มวัย พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์อ้อย ตัวเต็มวัยทั้งหมดที่ได้จากการทดลองคิดเป็นสัดส่วนของเพศเมีย : เพศผู้ เป็น 4.2:5.8 แต่ไม่มีโอกาสได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของการถ่ายทอดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาว

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยการบริหารจัดการศัตรูอ้อย ได้ทำการวิจัยประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทต่างๆ พบว่าประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชมีความแตกต่างกันในแต่ละสถานที่ดำเนินการ แต่ส่วนใหญ่ สารกำจัดวัชพืชที่นำมาทดลองทุกกรรมวิธี สามารถควบคุมวัชพืชหลัง 60 วันได้ในระดับดี ความเป็นพิษอยู่ในระดับต่ำ นอกจากนี้ยังไม่พบว่าวัชพืชในไร่อ้อยมีความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ในปัจจุบัน การจัดการวัชพืชแบบผสมผสานในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การปลูกพืชตระกูลถั่วเช่นถั่วขอเป็นพืชคลุมดินก่อนการปลูกอ้อย จะมีประสิทธิภาพ ในการป้องกันกำจัดวัชพืชในเขตดินร่วนทรายได้ และยังสามารถให้ผลผลิตและกำไรสูงกว่าการใช้ แรงงานและรถไถเดินตาม ส่วนการจัดการวัชพืชในพื้นที่ดินร่วน การไม่ปลูกพืชแซมอ้อย ใช้วิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องมือติดรถไถเดินตาม เป็นวิธีที่ให้ผลตอบแทนสูงสุด รองลงมาคือใช้สารเคมีก่อนงอกอิมาซาพิค+เพดิเมทาลิน เฉพาะในแถวอ้อย

ในกิจกรรมการวิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอ้อย เพื่อหาวิธีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอ้อยแบบบูรณาการในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และลดการสูญเสียผลผลิตอ้อยจากการทำลายของแมลงนูนหลวงและด้วงหนวดยาวในพื้นที่ปลูกอ้อยภาคตะวันตก จากการสำรวจข้อมูลการผลิตอ้อยและสำรวจการระบาดของหนอนกออ้อย มีการเข้าทำลายกออ้อยที่ต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ ในส่วนของงานวิจัยการป้องกันกำจัดแมลงนูนหลวง พบว่าเมื่อปล่อยแมลงนูนหลวง ตั้งแต่ 1 ควรเริ่มป้องกันกำจัดทันทีและการเก็บเกี่ยวผลผลิตในแปลงที่มีการเข้าทำลายโดยเร็วจะช่วยลดความเสียหายได้

กิจกรรมการป้องกันกำจัดโรคใบขาวอ้อยแบบผสมผสาน พบว่าเชื้อไฟโตพลาสมารสาเหตุโรคใบขาวอ้อยสามารถแบ่งได้ 3 ชนิดตามลักษณะอาการ โดยเชื้อที่มีอาการกอตะไคร้ จะมีความใกล้กับกลุ่มอื่นน้อยที่สุด

สารการแสดงอาการใบขาวข้องอ้อยน่าจะเกี่ยวกับความเครียดของพืช จากการวิเคราะห์สารประกอบทางชีวเคมีพบว่าเกี่ยวข้องกับความเครียดของพืชในกลุ่ม Oxidative stress การตรวจวิเคราะห์เชื้อสาเหตุมีความแม่นยำขึ้น สามารถตรวจได้ด้วยวิธี real time PCR quantification ที่ตำแหน่งยีน *secA* การกำจัดเชื้อสาเหตุออกจากเนื้อเยื่ออ้อยเพื่อการผลิตท่อนพันธุ์ปลอดโรค และ ท่อนพันธุ์อ้อย สามารถทำได้ แต่ในทางปฏิบัติยังไม่สามารถนำมาใช้ได้ การลดความเสียหายเนื่องจากโรคใบขาวด้วยการปลูกอ้อยในฤดูแล้ง และ ลดความเครียดด้วยการให้ธาตุอาหารที่เหมาะสม ให้น้ำตามเวลา สามารถได้อ้อยที่ไม่แสดงอาการใบขาว หรือแสดงอาการใบขาวน้อยกว่า และพบว่าท่อนพันธุ์ที่ได้จากต้นกล้าที่มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาน้อย จะให้ปริมาณท่อนพันธุ์ต่อไร่สูงสุด และ การใช้ท่อนพันธุ์ที่สะอาดยังคงเป็นคำแนะนำที่ดีที่สุด การเจริญเติบโตและการอยู่รอดของแมลงพาหะโรคใบขาวของอ้อย ศึกษาได้เฉพาะเพลี้ยจักจั่นอ้อย *Yamatotettrix flavovittatus* บนอ้อยแต่ละพันธุ์ยังไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

กรมวิชาการเกษตร. 2547. เอกสารวิชาการการปลูกพืชไร่. สถาบันวิจัยพืชไร่, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด. กรุงเทพฯ. 332 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร . 2552. การป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูอ้อย. สถาบันวิจัยพืชไร่, กรมวิชาการเกษตร. เอกสารประกอบการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ 28-30 เมษายน 2552 . ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น. จังหวัดขอนแก่น.

กรมวิชาการเกษตร. 2551. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2551 . กลุ่มกีฏวิทยา, สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 295 หน้า.

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช ปี 2547. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 133น.

เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2546. วัชพืชในไร่อ้อยและการป้องกันกำจัด. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ, 33 น.

กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ ธงชัย ตั้งเปรมศรี ศุภกาญจน์ ล้วนมณี ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล วันทนา ตั้งเปรมศรีนิลุบล ทวีกุล ทักษิณา ศันสยะวิชัย และเกษม ชูสอน 2552. การจัดการสมดุลธาตุอาหารพืชเพื่อเพิ่มความทนทานของอ้อยที่มีต่อโรคใบขาวใน ก. เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2552 ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร

จรรยา มณีโชติ ปราโมทย์ เกิดศิริ อัศวิน โนทะยะ และ ประทีป กระแสสินธุ์. 2543ก. หญ้าข้าวนกต้านทานสารกำจัดวัชพืชโพรพานิลและบิวตาคลอร์. การประชุมวิชาการกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช เรื่องความกว้าวหน้างานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพ สมุนไพร และวัชพืช. 14-16 มรนาคม 2543. จังหวัดนครราชสีมา. หน้า 190-197.

จรรยา มณีโชติ และ ประทีป กระแสสินธุ์. 2543ข. วัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชในสวนปาล์มน้ำมัน.วิทยาสารสมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย 18: 8-23.

พรทิพย์ วงศ์แก้ว 2542. รายงานโครงการการจัดการโรคใบขาวของอ้อย เสนอต่อสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย 219 หน้า.

ยุพา หาญบุญทรง วรรณา ฤทธิสนธิ์ และชุตินันท์ ชูสาย 2005. การตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยในเพลี้ยจักจั่นและถ่ายทอดโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล. KKU Res. J. 10 (1) : Jan – June 2005. p 13-21.

วันทนีย์ อู่วาณิชย์ อนุสรณ์ กุศลวงศ์ วารี หงษ์พฤกษ์ สุรศักดิ์ เสระพันธ์ และสมเกียรติ ฐิตะฐาน. 2532. ความสัมพันธ์ของเดือนปลูก ประชากรเพลี้ยจักจั่น *Matsumaratettix hiroglyphicus* (Mat.) และการเกิดโรคใบขาวในไร่อ้อยเขต จ.ชลบุรี และ จ.ระยอง. รายงานประจำปี 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ธวัช ตินนังวัฒนะ. 2543. การทำไร่อ้อยยุคใหม่. ศูนย์เกษตรอ้อยภาคตะวันออกเฉียง-เหนือ สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย สำนักงานปลัดกระทรวงอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

สถาบันการแพทย์แผนไทย. 2542. ผักพื้นบ้านภาคเหนือ. สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพฯ. 280 หน้า.

สุรเทพ ภู่ทอง และ ปธานพร ประกอบวณิชกุล. 2543. LightCycler System-The Smartest Innovation in PCR. หน้า 1-6 ใน: การบรรยายเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การตรวจวิเคราะห์พืชตัดแต่งสารพันธุกรรม (GMOs Testing). วันอังคารที่ 6 มิถุนายน 2543. ณ ห้องประชุมกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. ข้อมูลการผลิตสินค้าการเกษตร. แหล่งที่มา: http://www.oae.go.th/main.php?filename=agri_production, วันที่ 26 สิงหาคม 2552.

Abou-Jawdah, Y., Dakhil, H., El-Mehtar, S. and Lee, I.M. 2003. Almond withes'- broom phytoplasma: a potential threat to almond, peach, and nectarine. Can. J. Plant Pathol. 25: 28-32.

Aldaghi M, Massart S, Druart P, Bertaccini A, Jijakli MH, Lepoivre P. 2008. Preliminary evaluation of antimicrobial activity of some chemicals on in vitro apple shoots infected by 'Candidatus Phytoplasma mali'. Commun Agric Appl Biol Sci. 73(2):335-41.

Askari N, Salehi Jouzani G, Mousivand M, Foroutan A, Hagh Nazari A, Abbasalizadeh S, Soheilivand S, Mardi M. 2011. Evaluation of anti-phytoplasma properties of surfactin and tetracycline towards lime witches' broom disease using real-time PCR. J Microbiol Biotechnol. 21(1):81-8.

Berdal, K.G. and Holst-Jensen, A. 2001. Roundup ready soybean Event-specific real-time Quantification limit in GMO Analysis. European Food Research and Technology 213: 432-438.

Bermatini, M., K. Muthuchelian, M.S. Grando and N. Nedunchezhian. 2002. Effect of phytoplasma infection on growth and photosynthesis in leaves of field grown apple (Malus pumila Mill. Cv. Golden delicious). Photosynthetica 40 (1) : 157-160.

Brison M, de Boucaud M. T., Pieronnet A. 1997. Effect of cryopreservation on the sanitary state of a cv. *Prunus* rootstock experimentally contaminated with Plum pox potyvirus. Plant Sci. 123, 189–196.

Chakor, I. S., S. Manuja and Vivek. 1996. Intercropping of pulses in first sugarcane ratoon. Cooperative-Sugar. 221.p.

Chen C.T. 1983. Host range of sugarcane white leaf disease. Proceedings International Society of Sugar Cane Technologist Congress. 18: 473-485.

Engelmann, F. 2004. Plant cryopreservation: progress and prospects. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 40, 27–433.

Heap, I.M. 2007. International Survey of Herbicide Resistant Weeds. On line. Internet. 10 May 2007. http//www. Weedscience.org.

Galletto, L., Marzachi, C. and Bosco, D. 2005. Universal and group specific real-time PCR diagnosis of Flavescence dorée (16Sr-V), Bois noir (16Sr-X) phytoplasma from field-collected plant hosts and insect vector. Ann. Appl. Biol. 147: 191-201.

Garcia-Chapa, M., Medina, V., Viruel, A., Laviña, A. and Batlle, A. 2003. Season detection of pear decline phytoplasma by nested-PCR in different pear cultivars. Plant Pathology 52: 513-520.

Grof P. L., Mark Johnston and Peter F. Brownell. 1991. Effect of Sodium Nutrition on the Ultrastructure of Chloroplasts of C_4 Plants **Plant Physiol**. 96(2): 355–362.

Gundersen, D.E., Lee, I.M., 1996. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pair. Phytopathol. Mediterr. 35, 144-151.

Hutsukai, N., Kuroyanaki, M., Yamada,. Mechi, T., Tsuda, S., Kondo, M., Nichimura, M. and I. Hara-Nichimura. 2004. A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. Science. 855-858.

Khan, J.A., Srivastava, P. and Singh, S.K. 2004. Efficacy of nested-PCR for the detection of phytoplasma causing spike desease of sandal. Current Science: 86(11): 1530-1533.

Kwok, S. and Higuchi, R. 1989. Avoiding false positives with PCR. Nature 139: 237-238.

Lee, M.E., Grau, C.R., Lukaesko, L.A., Lee, I.M. 2002. Identification of aster yellows phytoplasmas in soybean in Winconsin based on RFLP analysis of PCR-amplified products (16S rDNAs) Can. J. Plant Pathol. 24: 125-130.

Llop, P. Bonaterra, A., Peñalver, J., López, M.M., 2000. Development of a highly sensitive nested-PCR procedure using a single closed tube for detection of *Erwinia amylovora* in asymptomatic plant material App Environ Microbiol 66: 2071-2078.

Maneechote, C. 2001. Herbicide Resistance in Thailand. Japan-Australian Seminar: Genetically Modified crops and Herbicide Resistance Weed; Evaluating Benefits/Risks of New Technologies in Producing Food for the World. 5-7 November, 2001, Utsunimiya University, Japan.

Moenandir, J. 1985. Weed-Crop Competition in the Sugarcane-Peanut Intercropping System. University of Brawijina Malang. Indonesia. 236 p.

Nichio, J.N., Javier Abadía and Norman Terry.1985 Chlorophyll-Proteins and Electron Transport during Iron Nutrition-Mediated Chloroplast Development **Plant Physiol**. 78(2): 296–299

Nichio ,J.N., Scott E. Taylor, and Norman Terry. 1985. Changes in Thylakoid Galactolipids and Proteins during Iron Nutrition-Mediated Chloroplast Development **Plant Physiol**. 77(3): 705–711

Naor, V., Zahavi, T., Ziv, M., Munir, M. And Bordolay, R. 2010. Nurse culture approach as tool to study biotic and abiotic factors to control phytoplasmas. WG3 meeting, Acona, Italy, 23rd-24th September.

RAMOS LEAL, M., A. RUIZ, I. SANDOVAL, R. H. MARIBONA. 1989. Biochemical Evaluation of Fungal Disease Resistance in Sugarcane**.** Plant Breeding 102 (1), 45–50.

Ruiz-Sifre* G., Dole, J. M., Kahn, B. A., Richardrson, P. E. and Ledford, J. 1997. Correlation of poinsettia graft union development with transmission of the free-branching characteristic. Scientia Horticulturae. 69 (3-4), pp. 135-143.

Ryan, G.F. 1970. Resistant of common groundsel to simazine and atrazine. Weed Sci. 18: 641-616.

Shenker M, OE Plessner and E Tel-Or. (2004) Manganese nutrition effects on tomato growth, chlorophyll concentration, and superoxide di. **J Plant Physiol** 161: 197-202.

Suthiphong, V. 1992. Studies on the population fuluctuation of sugarcane leafhopper, Matsumuratettix hiroglyphicus Matsumura, and its Transmission of white leaf disease of sugarcane in Thailand. Master of Science (Agriculture), 72p.

Suwanaeak, K. 1996. Evaluation of Weed Interference and Weed Control Techniques Toward an Improved Weed Management Program for Sugarcane in Thailand. Thesis for Dr. Agriculture Science Degree. Kyoto University. 77 p.

Tasaka, T., Said, J.W., Morosetti, R. Park, D. Verbeek, W. Nagai, M., Takaharaet, J. and Koeffler, P. 1997. Is Kaposi's Sarcoma-associated herpesvirus ubiquitous in urogenital and Prostate Tissues. Blood. 89(6): 1686-1689.

Wally, O., Hadrami, A. El., Khadhair, A.H., Adam, L.R., Shinners-Carnelley, T., Elliott, B. and Daayf, F. 2008. DNA sequencing reveals false positive during the detection of aaster yellows phytoplasmas in leafhoppers. Scientia Horticulturae 116: 130-137.

Wang, Q.C. and Valkonen, J.P.T. 2008. radication of two synegistically interacting viruses from sweetpotato using shoot tip culture and cryotherapy of shoot tips. J. Virol. Methods 154, 135–145

Wang, Qiaochun andValkonen , Jari P.T. 2009. Cryotherapy of shoot tips: novel pathogen eradication method. Trends in Plant Science, 14 (3), pp : 119-122.