รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท : การทดลองในระดับกระถางปลูก

โดย ดร. นารีลักษณ์ นาแก้ว และคณะ

กรกฎาคม 2555

สัญญาเลขที่ RDG5350024

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท : การทดลองในระดับกระถางปลูก

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. ดร. นารีลักษณ์ นาแก้ว	คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
2. นายสิทธัตถ์ สร้อยเพชรเกษม	คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
3. นางสาวจารุนันท์ บัวพันธ์	คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทสรุปย่อรายงานสำหรับผู้บริหาร

ชื่อโครงการ การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท : การพัฒนารูปแบบของหัวเชื้อสดเพื่อให้เหมาะสมกับการนำไปใช้

ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานสังกัด และที่อยู่

ชื่อ-สกุล ดร.นารีลักษณ์ นาแก้ว

หน่วยงาน ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ที่อยู่ ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

โทรศัพท์/โทรสาร (055) 964622/ 964770 **E-mail**: nnakaew@hotmail.com

ผู้ร่วมโครงการ

1. นายสิทธัตถ์ สร้อยเพชรเกษม มหาวิทยาลัยนเรศวร
2. นางสาวจารุนันท์ บัวพันธ์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ระยะเวลาดำเนินการ 9 เดือน ตั้งแต่วันที่ 15 สิงหาคม 2553 – 14 พฤษภาคม 2554

ปัญหาที่ทำวิจัยและความสำคัญ

เนื่องด้วยโครงการวิจัยเรื่อง การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม ในปีงบประมาณ 2552 สัญญาเลขที่ RDG5250036 ไปแล้วนั้น ผลของทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรครากขาว ในการควบคุมโรคในกระถางปลูก โดยการใช้เชื้อที่อยู่ในรูปอาหารเหลว พบว่ามีแนวโน้มในการควบคุมโรคได้ แต่ไม่ดีนัก ซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณของเชื้อตั้งต้นน้อยและรูปแบบของเชื้อที่เติมลงไปในดินไม่หมาะสมที่จะนำพาเชื้อแอคติโนมัยสิทไปยังบริเวณที่เกิดโรค

ดังนั้นเพื่อให้การควบคุมโรครากขาว โดยชีววิธีด้วยแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิทมีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อมีการนำไปใช้จริง งานวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาหารูปแบบ และความเข้มข้นของหัวเชื้อสด ที่เหมาะสม ที่สามารถเตรียมได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และ สามารถนำพาเชื้อที่ใช้ไปสู่บริเวณที่เชื้อราโรคพืชปรากฏอยู่ รวมถึงวิธีการนำไปใช้ที่เหมาะสมโดยทำการทดสอบในกระถางปลูก เพื่อพัฒนาและนำไปใช้ในแปลงปลูกจริง

วัตถุประสงค์

เพื่อหารูปแบบและวิธีการนำเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้ ไปใช้ในการควบคุมโรครากขาวในกระถางปลูกให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

ผลการดำเนินงาน

ผลของการศึกษาหารูปแบบของหัวเชื้อด้วยวัสดุเพาะเลี้ยง 8 รูปแบบ มีการเติมเชื้อตั้งต้นที่เลี้ยงไว้ในอาหารเหลวด้วยอัตราส่วนที่เท่ากันคือเชื้อตั้งต้นต่อวัสดุเพาะเลี้ยง 1:3 โดยปริมาตร พบว่าวัสดุเพาะเลี้ยงรูปแบบที่ 4 คือ เมล็ดข้าวฟ่างผสมกับดินในอัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร ให้การเจริญของเชื้อได้สูงสุด แต่ต้องใช้ระยะเวลาบ่มนานถึง 40 วัน เชื้อจึงจะเจริญเต็มพื้นที่ของวัสดุเพาะเลี้ยง และเมื่อนำหัวเชื้อดังกล่าวไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรครากขาวในระดับกระถางปลูกของต้นกล้ายางพารา เปรียบเทียบกับชุดควบคุมเป็นเวลา 14 สัปดาห์ พบว่า หัวเชื้อรูปในแบบที่ 4 นี้ ช่วยให้ต้นยางมีการเจริญดี มีรากเดินดี และไม่พบต้นยางตาย เมื่อเทียบกับต้นยางที่เติมเชื้อราแต่ไม่เติมหัวเชื้อพบว่ามีความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ยน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด เมื่อตรวจสอบดูปริมาณเชื้อในดินภายหลังการทดลองรวมระยะเวลา 14 สัปดาห์ พบว่าดินมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิทเพิ่มขึ้น ในขณะที่หัวเชื้อในรูปแบบอื่นๆ มีปริมาณเชื้อเปลี่ยนแปลงจากปริมาณเชื้อตั้งต้นที่ใช้ไม่มากนัก จากการทดสอบหาปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการควบคุมโรคในระดับกระถางปลูกโดยปรับใช้หัวเชื้อสด 10 ถึง 50% โดยปริมาตรของดินที่ใช้ปลูก และทำการทดลองใช้เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าการใช้ปริมาณเชื้อ 10-40% โดยปริมาตร ทำให้ต้นยางมีการเจริญได้ดีไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ส่วนการเติมหัวเชื้อลงไป 50% โดยปริมาตร ทำให้ต้นยางชำถุงมีความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่ำกว่าชุดอื่นๆ เล็กน้อย ผลของการเติมหัวเชื้อในระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทลงไปพร้อมเชื้อราตอนเริ่มปลูกต้นยางและเติมเชื้อลงไปอีกทุกๆ เดือน ทำให้ต้นยางมีการเจริญดีที่สุด

สรุปผลการวิจัย

การเตรียมหัวเชื้อสดของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้ในรูปแบบต่างๆ สามารถควบคุมโรครากขาวได้ดี โดยจะพบว่าต้นยางที่มีการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทไม่ว่าจะรูปแบบใดก็ตามมีผลทำให้ต้นยางมีสุขภาพดีและความสูงเพิ่มขึ้นมากกว่าการไม่เติม แม้ว่าในบางชุดการทดลองจะมีต้นยางตายแต่สาเหตุของการตายน่าจะมาจากสาเหตุอื่นที่ไม่ใช่โรครากขาว เนื่องจากถ้าเป็นสาเหตุมาจากเชื้อรา *Rigidoporus* ต้องใช้เวลาในการทำให้เกิดโรคมากกว่า 10-15 สัปดาห์ขึ้นไป และพบว่าชุดการทดลองที่มีการตายของต้นยางเป็นชุดการทดลองที่มีการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสิทไม่ดี ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุให้ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิทไม่มากพอที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ อย่างไรก็ตามในงานวิจัยครั้งต่อไปต้องมีการปรับสูตรหัวเชื้อสดต่อไปเพื่อให้เชื้อแอคติโนมัยสิทใช้เวลาในการเจริญเต็มพื้นที่วัสดุได้เร็วขึ้น และหาวิธีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้นหรือการต่อเชื้อด้วยวิธีง่ายๆที่เกษตรสามารถนำไปใช้ได้จริง

ข้อเสนอแนะที่คาดว่าควรวิจัยเพิ่มเติมและวิธีการที่ควรพัฒนาต่อยอดสู่ภาคปฏิบัติจริง

1. ควรมีการปรับสูตรหัวเชื้อสดเพื่อให้เชื้อแอคติโนมัยสิทใช้เวลาในการเจริญเต็มพื้นที่วัสดุได้เร็วขึ้น
2. ควรหาวิธีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้นหรือการต่อเชื้อด้วยวิธีง่ายๆที่เกษตรสามารถนำไปใช้ได้จริง
3. มีการทดสอบในพื้นที่ปลูกยางจริง และมีการระบาดของโรคจริง

ผลงานวิชาการที่คาดว่าจะเกิดขึ้น

คาดว่านำเสนอผลงานวิจัยบางส่วนในรูปของบทความทางวิชาการในวารสารระดับนานาชาติ

รหัสโครงการ: RDG5350024
ชื่อโครงการ: การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท
: การทดลองในระดับกระถางปลูก
ชื่อนักวิจัย: ดร. นารีลักษณ์ นาแก้ว
สังกัด: ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ ม. นเรศวร
โทรศัพท์:055 964622
E-mail: nnakaew@hotmail.com
ระยะเวลาดำเนินโครงการ: 15 สิงหาคม 2553 – 14 พฤษภาคม 2554

บทคัดย่อ

เนื่องด้วยโครงการวิจัยเรื่อง การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม ในปีงบประมาณ 2552 สัญญาเลขที่ RDG5250036 ไปแล้วนั้น ผลของทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรครากขาว ในการควบคุมโรคในกระถางปลูก โดยการใช้เชื้อที่อยู่ในรูปอาหารเหลว พบว่ามีแนวโน้มในการควบคุมโรคได้ แต่ไม่ดีนัก ซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณของเชื้อตั้งต้นน้อยและรูปแบบของเชื้อที่เติมลงไปในดินไม่หมาะสมที่จะนำพาเชื้อแอคติโนมัยสิทไปยังบริเวณที่เกิดโรค ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาหารูปแบบ และความเข้มข้นของหัวเชื้อสด ที่เหมาะสมที่สามารถเตรียมได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และ สามารถนำพาเชื้อที่ใช้ไปสู่บริเวณที่เชื้อราโรคพืชปรากฏอยู่ รวมถึงวิธีการนำไปใช้ที่เหมาะสมโดยทำการทดสอบในกระถางปลูก เพื่อพัฒนาและนำไปใช้ในแปลงปลูกจริง

ผลของการศึกษาหารูปแบบของหัวเชื้อด้วยวัสดุเพาะเลี้ยง 8 รูปแบบ มีการเติมเชื้อตั้งต้นที่เลี้ยงไว้ในอาหารเหลวด้วยอัตราส่วนที่เท่ากันคือเชื้อตั้งต้นต่อวัสดุเพาะเลี้ยง 1:3 โดยปริมาตร พบว่าวัสดุเพาะเลี้ยงรูปแบบที่ 4 คือ เมล็ดข้าวฟ่างผสมกับดินในอัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร ให้การเจริญของเชื้อได้สูงสุด แต่ต้องใช้ระยะเวลาบ่มนานถึง 40 วัน เชื้อจึงจะเจริญเต็มพื้นที่ของวัสดุเพาะเลี้ยง และเมื่อนำหัวเชื้อดังกล่าวไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรครากขาวในระดับกระถางปลูกของต้นกล้ายางพารา เปรียบเทียบกับชุดควบคุมเป็นเวลา 14 สัปดาห์ พบว่า หัวเชื้อรูปในแบบที่ 4 นี้ ช่วยให้ต้นยางมีการเจริญดี มีรากเดินดี และไม่พบต้นยางตาย เมื่อเทียบกับต้นยางที่เติมเชื้อราแต่ไม่เติมหัวเชื้อพบว่ามีความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ยน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด เมื่อตรวจสอบดูปริมาณเชื้อในดินภายหลังการทดลองรวมระยะเวลา 14 สัปดาห์ พบว่าดินมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิทเพิ่มขึ้น ในขณะที่หัวเชื้อในรูปแบบอื่นๆ มีปริมาณเชื้อเปลี่ยนแปลงจากปริมาณเชื้อตั้งต้นที่ใช้ไม่มากนัก จากการทดสอบหาปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการควบคุมโรคในระดับกระถางปลูกโดยปรับใช้หัวเชื้อสด 10 ถึง 50% โดยปริมาตรของดินที่ใช้ปลูก และทำการทดลองใช้เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าการใช้ปริมาณเชื้อ 10-40% โดยปริมาตร ทำให้ต้นยางมีการเจริญได้ดีไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ส่วนการเติมหัวเชื้อลงไป 50% โดยปริมาตร ทำให้ต้นยางชำถุงมีความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่ำกว่าชุดอื่นๆ เล็กน้อย ผลของการเติมหัวเชื้อในระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทลงไปพร้อมเชื้อราตอนเริ่มปลูกต้นยางและเติมเชื้อลงไปอีกทุกๆ เดือน ทำให้ต้นยางมีการเจริญดีที่สุด

จากผลการวิจัยดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าการเตรียมหัวเชื้อสดของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้ในรูปแบบต่างๆ สามารถควบคุมโรครากขาวได้ดี โดยจะพบว่าต้นยางที่มีการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทไม่ว่าจะรูปแบบใดก็ตามมีผลทำให้ต้นยางมีสุขภาพดีและความสูงเพิ่มขึ้นมากกว่าการไม่เติม แม้ว่าในบางชุดการทดลองจะมีต้นยางตายแต่สาเหตุของการตายน่าจะมาจากสาเหตุอื่นที่ไม่ใช่โรครากขาว เนื่องจากถ้าเป็นสาเหตุมากจากเชื้อรา *Rigidoporus* ต้องใช้เวลาในการทำให้เกิดโรคมากกว่า 10-15 สัปดาห์ขึ้นไป และพบว่าชุดการทดลองที่มีการตายของต้นยางเป็นชุดการทดลองที่มีการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสิทไม่ดี ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุให้ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิทไม่มากพอที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ อย่างไรก็ตามในงานวิจัยครั้งต่อไปต้องมีการปรับสูตรหัวเชื้อสดต่อไปเพื่อให้เชื้อแอคติโนมัยสิทใช้เวลาในการเจริญเต็มพื้นที่วัสดุได้เร็วขึ้น และควรหาวิธีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้นหรือการต่อเชื้อด้วยวิธีง่ายๆที่เกษตรสามารถนำไปใช้ได้จริง

Project code: RDG5350024

Project title: Biological control of white root disease of Para-rubber tree with Actinomycetes : Pot Culture Experiment for The Industrail Farm Scale

Investigator: Dr. Nareeluk Nakaew

E-mail Address: nnakaew@hotmail.com

Project Period: 15 August 2553 – 14 May 2554

Abstract

According to research project number RDG5250036 in title Biological control of white root disease of Para-rubber tree with Actinomycetes was supported by The Thailand Research Fund in 2009. From this project it was found that using biocontrol starter in liquid could reduce the severity of disease in field but not well. It might due to the amount of starter inoculums that was not enough to inhibit fungal growth. Another factor was the pattern of starter inoculums not suitable for introduced biocontrol agent to its target. Thus, in this research aims to optimize biocontrol starters produced by actinomycete, the starter formula, persistency of the starter in soil, sufficient concentration and inoculation scenarios of the starter for suppression of white root disease caused by *Rigidoporus* sp. in nursery stage of rubber tree farming were evaluated.

Among 8 formulas, sterile mixture of sorghum grain and soil in ratio 3:1 was the best starter formula, which promoted the growth of rubber trees invaded by the pathogenic fungus, without any dead tree was observed and increased the most accumulated-height of the trees. At the end of experiments (14 weeks), the concentration of actinomycete persisted in soil was increased compared to the initial cell concentration added, which showed better than those other controls and experimental sets that revealed no different concentration from the initial number. Ten to fifty percents of starter volume per total volume of soil used for growing rubber trees was evaluated, which exhibited no different in disease suppression of all trees tested, however, use of 50% starter reduced the accumulated-height of the trees. According to the inoculation scenarios, the condition which was inoculated with the starter at the beginning of planting the trees together with repeating inoculation once per month until the end of the experiment promoted healthy and growth of the trees better than the other scenarios tested.

From those results it can be conclude that using biocontrol starter could reduce the severity of disease in field. Even though found any dead tree in some case. But it not causes by white root disease due to it dead within 7 weeks. However this starter formula should be develop for faster growth and method for adding starter easier than liquid form should be investigated.

1. ความสำคัญและความเป็นมาของการวิจัย

เนื่องด้วยโครงการวิจัยเรื่อง การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม ในปีงบประมาณ 2552 สัญญาเลขที่ RDG5250036 ไปแล้วนั้น ขณะนี้งานวิจัยได้ดำเนินการแล้วเสร็จไปแล้ว โดยได้คัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในห้องปฏิบัติการได้ดี และทำการจัดจำแนกชนิดของเชื้อพบว่าเป็นเชื้อ *Streptomyces sioyaensis* ซึ่งไม่พบรายงานการทำให้เกิดโรคทั้งในคน สัตว์ และพืช เมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อราในกระถางปลูกเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าเชื้อมีแนวโน้มว่าจะสามารถลดความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นได้ในกระถางปลูกได้แต่ไม่ดีนักอาจเนื่องมาจากเหตุผลสำคัญสองประการคือ ปริมาณเชื้อตั้งต้นที่ใช้ไม่เพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และรูปแบบของหัวเชื้ออาจจะไม่เหมาะสมไม่สามารถนำพาเชื้อแอคติโนมันสิทไปยังบริเวณที่เกิดโรคได้ อย่างไรก็ตามขณะนี้ผลการทดลองยังให้ผลไม่ชัดเจนเนื่องจากเชื้อราใช้เวลาในเข้าทำลาย Phloem 10 สัปดาห์ และ xylem 15 สัปดาห์ (Nicole and Benhamou, 1993)

การควบคุมเชื้อราโรคพืชด้วยชีววิธี แม้ว่าจะสามารถคัดเลือกได้เชื้อที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในห้องปฏิบัติการได้ดีแล้ว แต่เมื่อนำไปใช้ในแปลงปลูกจริงอาจจะไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากมีปัจจัยอีกหลายอย่างที่มีผลต่อการทำงานของเชื้อ โดยเฉพาะปัจจัยที่สำคัญที่ควรคำนึงถึงก็คือ รูปแบบและความเข้มข้นของหัวเชื้อสดที่นำไปใช้ ต้องเหมาะสม เตรียมง่าย สะดวก และสามารถนำพาเชื้อไปสู่บริเวณที่เกิดโรคได้

ดังนั้นเพื่อให้การควบคุมโรครากขาว โดยชีววิธีด้วยแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิทมีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อมีการนำไปใช้จริง งานวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาหารูปแบบ และความเข้มข้นของหัวเชื้อสด ที่เหมาะสม ที่สามารถเตรียมได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และ สามารถนำพาเชื้อที่ใช้ไปสู่บริเวณที่เชื้อราโรคพืชปรากฏอยู่ รวมถึงวิธีการนำไปใช้ที่เหมาะสมโดยทำการทดสอบในกระถางปลูก เพื่อพัฒนาและนำไปใช้ในแปลงปลูกจริง

2. วัตถุประสงค์

เพื่อหารูปแบบและวิธีการนำเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้ ไปใช้ในการควบคุมโรครากขาวในกระถางปลูกให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

3. ทฤษฎี แนวคิดในการวิจัย และผลงานที่เกี่ยวข้อง

เนื่องด้วยโครงการวิจัยเรื่อง การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม ในปีงบประมาณ 2552 สัญญาเลขที่ RDG5250036 ไปแล้วนั้น ขณะนี้ ได้คัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสิทที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในห้องปฏิบัติการได้ดี แต่เมื่อนำเชื้อไปทดสอบการยับยั้งเชื้อราในกระถางปลูกเป็นเวลา 3 เดือนแล้ว พบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราในกระถางปลูกของเชื้อที่คัดเลือกได้ยังให้ผลไม่ดีนัก แต่มีแนวโน้มว่าสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ การแสดงผลการยับยั้งที่เกิดขึ้นไม่ชัดเจนอาจเนื่องมาจากการเข้าทำลายรากของเชื้อราก่อโรครากขาวต้องใช้เวลา

มากกว่า 15 สัปดาห์ ในการ infect เข้า xylem ของรากยาง (Nicole and Benhamou, 1993) และเนื่องจากปริมาณเชื้อตั้งต้นของจุลินทรีย์ที่ใช้เป็น biocontrol มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค (Ryan and Kinkel, 1997) ดังนั้นสาเหตุที่ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราในกระถางปลูกยังไม่ดีเท่าที่ควรอาจจะเป็นเพราะ ปริมาณเชื้อตั้งต้นของแอคติโนมัยสิทที่เติมลงไปมีปริมาณน้อยเกินไป และมีการเติมลงไปตั้งแต่ตอนเริ่มปลูกเพียงครั้งเดียว ซึ่งไม่เพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคได้ อีกประการหนึ่งรูปแบบของหัวเชื้อที่ใช้อาจจะไม่เหมาะสม ไม่สามารถนำพาเชื้อไปยังบริเวณที่เกิดโรคได้ดี

การควบคุมเชื้อราโรคพืชด้วยชีววิธี แม้ว่าจะสามารถคัดเลือกได้เชื้อที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในห้องปฏิบัติการได้ดีแล้ว แต่เมื่อนำไปใช้ในแปลงปลูกจริงอาจจะไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากมีปัจจัยอีกหลายประการที่มีผลต่อการทำงานของเชื้อ โดยเฉพาะปัจจัยที่สำคัญที่ควรคำนึงถึงก็คือ รูปแบบและความเข้มข้นของของหัวเชื้อสดที่นำไปใช้ ต้องสามารถนำพาเชื้อไปสู่บริเวณที่เกิดโรคได้ (Ryan and Kinkel, 1997; Sabaratnam and Traquair, 2002; Jayasuriya and Thennakoon, 2007)

ดังนั้นเพื่อให้การควบคุมโรครากขาว โดยชีววิธีด้วยแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิทมีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อมีการนำไปใช้จริง งานวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาหาหารูปแบบ และความเข้มข้นของหัวเชื้อสด ที่เหมาะสม ที่สามารถเตรียมได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และ สามารถนำพาเชื้อที่ใช้ไปสู่บริเวณที่เชื้อราโรคพืชปรากฏอยู่ รวมถึงวิธีการนำไปใช้ที่เหมาะสม โดยทำการทดสอบในกระถางปลูก เพื่อพัฒนาและนำไปใช้ในแปลงปลูกจริง

4. วิธีการ

1. การทดสอบหารูปแบบวิธีการเตรียมเชื้อในรูปเชื้อสดที่เหมาะสม ในการนำไปใช้ในกระถางปลูก

1.1 เตรียมเชื้อสดในรูปแบบต่างๆ

เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้ในอาหาร ISP2 broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อขวด บนเครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 อาทิตย์ เพื่อผสมกับวัสดุต่างๆ ดังนี้ อัตราส่วน 1:3 โดยปริมาตร

รูปแบบที่ 1 : เมล็ดข้าวฟ่างนึ่ง ผสมรำละเอียด อัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร
รูปแบบที่ 2 : เมล็ดข้าวเปลือกนึ่ง ผสมรำละเอียดอัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร
รูปแบบที่ 3 : peat moss ผสมรำละเอียดอัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร
รูปแบบที่ 4 : เมล็ดข้าวฟ่างนึ่ง ผสมดินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว อัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร
รูปแบบที่ 5 : เมล็ดข้าวเปลือกนึ่ง ผสมดินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว อัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร
รูปแบบที่ 6 : ข้าวฟ่าง
รูปแบบที่ 7 : peat moss ผสมดินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว อัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร
รูปแบบที่ 8 : ดินนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

บ่มหัวเชื้อทั้ง 8 แบบ เป็นเวลา 40 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่อยู่ในรูปเชื้อสดแบบต่างๆ โดยมีแบ่งเป็น 5 ชุดทดลองดังต่อไปนี้ ชุดละ 5 ซ้ำ

ชุดที่ 1 ต้นยางชำถุง (เพื่อเป็นชุดเปรียบเทียบ)

ชุดที่ 2 ต้นยางชำถุง + เชื้อราก่อโรค
(เพื่อดูลักษณะการเกิดโรค และเป็นชุดเปรียบเทียบ)

ชุดที่ 3 ต้นยางชำถุง + เชื้อราก่อโรค + สารเคมีกำจัดเชื้อรา
(เพื่อเป็นชุดเปรียบเทียบการกำจัดเชื้อราโดยใช้สารเคมี)
(สารเคมีที่ใช้คือ ไซโปรโคนาโซล (cyproconazole) ที่พบและมีจำหน่ายในชื่อการค้า เช่น อัลโด 10% SL โดยใช้ในอัตรา 10-20 ซีซี ต่อน้ำ 1-2 ลิตรต่อต้น)

ชุดที่ 4 ต้นยางชำถุง + เชื้อแอคติโนมัยสิท (ในรูปเชื้อสดทั้ง 8 แบบ) + เชื้อราก่อโรค
(เพื่อดูการยับยั้งหรือการลดความรุนแรงของการเกิดโรค)

ชุดที่ 5 ต้นยางชำถุง + เชื้อแอคติโนมัยสิท (ในรูปเชื้อสดทั้ง 8 แบบ)
(เพื่อดูผลของเชื้อแอคติโนมัยสิทต่อต้นยางชำถุง และดูความอยู่รอดของเชื้อแอคติโนมัยสิทในดิน)

ทุกชุดการทดลองจะนำไปเพาะเลี้ยงในโรงเรือนที่มีการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ จากสิ่งแวดล้อม จากนั้นสังเกตและบันทึกการเกิดโรคในต้นยางชำถุงของแต่ละชุดการทดลอง เป็นเวลาอย่างน้อยสี่เดือน นอกจากนี้ในต้นยางที่เกิดโรคก็จะมีการยืนยันการพบเชื้อราก่อโรคในราก โดยการนำชิ้นส่วนรากมาเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสังเคราะห์ เพื่อกระตุ้นให้เชื้อราเจริญ จากนั้นบันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์เปรียบเทียบกับเชื้อราก่อโรคมาตรฐาน

1.3 ทดสอบการมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อที่คัดเลือกได้ในดิน

หลังจากเสร็จสิ้นการทดลอง นำดินในชุดการทดลองที่ 4 และ 5 มานับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่โดยวิธี Total plate count เพื่อทดสอบการมีชีวิตอยู่ในดินของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้

2. การทดสอบหาผลของปริมาณหัวเชื้อแอคติโนมัยสิทต่อประสิทธิภาพการยับยั้ง

เติมหัวเชื้อในรูปแบบที่ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกระถางปลูกที่ดีที่สุดในปริมาณ 10, 20, 30, 40, และ 50% โดยปริมาตร ในต้นยางชำถุง เพาะเลี้ยงเป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือน โดยมีชุดควบคุมเป็น ต้นยางชำถุง ที่ไม่ใส่เชื้ออะไรเลย, ต้นยางที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยสิทอย่างเดียว และ ต้นยางที่ใส่เชื้อราอย่างเดียว

3. ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิท

เติมหัวเชื้อในรูปแบบที่ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกระถางปลูกที่ดีที่สุดในระยะต่างๆ กันดังนี้

ชุดการทดลอง	C1	ต้นยางชำถุง ที่ไม่ใส่เชื้ออะไรเลย
ชุดการทดลอง	C2	ต้นยางชำถุง ใส่เชื้อรา
ชุดการทดลอง	C3	ต้นยางชำถุงที่ใส่เชื้อราและสารเคมีกำจัดเชื้อรา
ชุดการทดลอง	ex1	เติมเชื้อแอคติโนมัยสิทพร้อมเชื้อราตอนเริ่มปลูกต้นยาง
ชุดการทดลอง	ex2	เติมเชื้อแอคติโนมัยสิทหลังจากปลูก 1เดือน

ชุดการทดลอง ex3 เติมเชื้อแอคติโนมัยสิทหลังจากปลูก 2เดือน
ชุดการทดลอง ex4 เติมเชื้อแอคติโนมัยสิทหลังจากปลูก 3เดือน
ชุดการทดลอง ex5 เติมเชื้อแอคติโนมัยสิทพร้อมเชื้อราตอนเริ่มปลูกต้นกล้า และเติมใหม่ทุกเดือน

5. ผลการวิจัย

5.1 การทดสอบหารูปแบบวิธีการเตรียมเชื้อในรูปเชื้อสดที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในกระถางปลูก

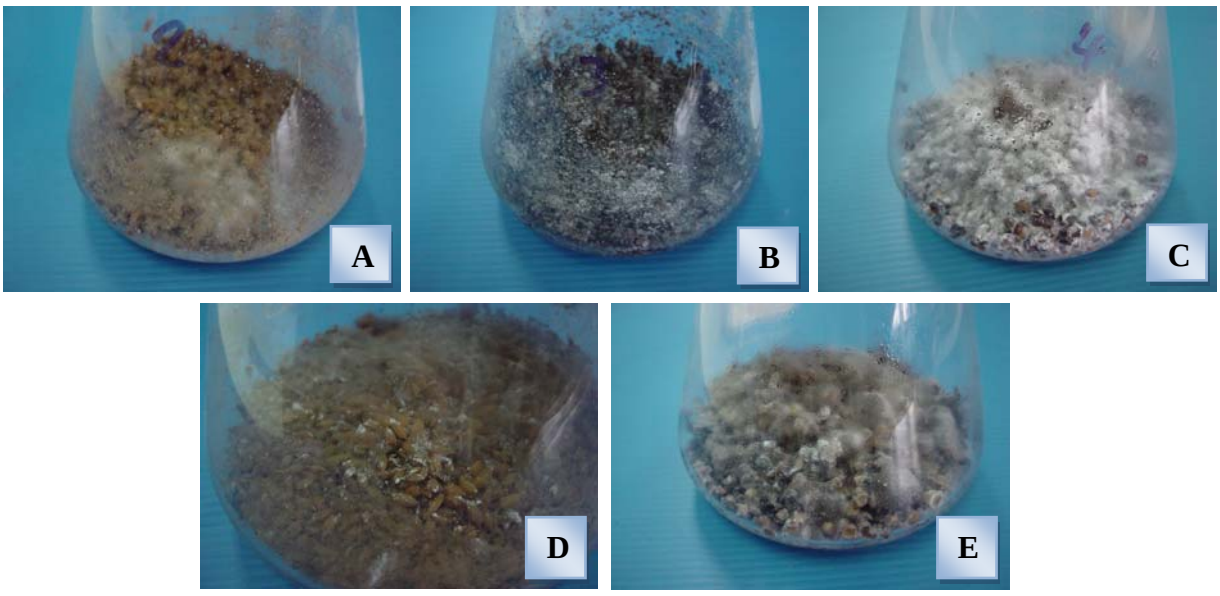
5.1.1 ผลของเตรียมเชื้อสดในรูปแบบต่างๆ

ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้ลงในวัสดุที่ใช้ในการเตรียมหัวเชื้อสดในรูปแบบต่าง ๆ 8 รูปแบบ ผลการทดลองพบว่า รูปแบบที่ 4 (เมล็ดข้าวฟ่างนึ่ง ผสมดินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว อัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร) มีการเจริญของเชื้อสูงสุด รองลงมาคือ รูปแบบที่ 6 (เมล็ดข้าวฟ่างนึ่ง) ดังตาราง 1 รูป 1

ตารางที่ 1 การเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้ในวัสดุเตรียมหัวเชื้อสดทั้ง 8 รูปแบบ

รูปแบบหัวเชื้อสด	การเจริญของเชื้อ แอคติโนมัยสิทในวัสดุเตรียมหัวเชื้อสด
1	*0-19%*
2	*20-39%*
3	*20-39%*
4	*80-100%*
5	*20-39%*
6	*60-79%*
7	*0-19%*
8	*0-19%*

ภาพที่ 1 การเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสิทในวัสดุเตรียมหัวเชื้อสด (A: รูปแบบที่ 2, B: รูปแบบที่ 3, C: รูปแบบที่ 4, D: รูปแบบที่ 5, E: รูปแบบที่ 6)



5.1.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่อยู่ในรูปเชื้อสดแบบต่างๆ

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคในต้นยางชำถุงในกระถางปลูกโดยการเติมหัวเชื้อสดของแอคติโนมัยสิทที่อยู่ในรูปแบบต่างๆ แล้วสังเกตลักษณะของต้นยางเป็นเวลา 14 สัปดาห์ เทียบกับชุดควบคุมพบว่าได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 บันทึกผลสุขภาพโดยรวมของต้นยางในแต่ละชุดการทดลองเป็นเวลา 14 สัปดาห์ (ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ)

สัปดาห์ที่	ชุดการทดลอง																																				
	C1			C2			C3			T1			T2			T3			T4			T5			T6			T7										
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1
1	N	N	N	Y	Y	N	Y	N	N	Y	Y	Y	N	N	N	N	Y	Y	N	N	N	Y	N	N	Y	N	N	Y	N	N	N							
2	N	N	N	F	F	N	Y	N	N	Y	F	F	N	N	N	N	N	F	N	N	N	F	N	N	D	N	N	D	N	N	N							
3	N	N	N	F	F	N	Y	N	N	Y	F	D	N	N	N	N	N	F	N	N	N	D	N	N	D	N	N	D	N	N	N							
4	N	N	N	F	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	D	N	N	D	N	N	N							
5	N	N	N	F	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N	Y	N	N	N	N	D	N	N	D	N	N	D	N	N	N							
6	N	N	N	F	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	D	N	N	D	N	N	N							
7	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	D	Y	N	D	F	N	N							
8	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	D	Y	N	D	D	N	N							
9	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	D	Y	N	D	D	N	N							
10	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	D	Y	N	D	D	N	N							
11	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	D	N	N	D	D	N	N							
12	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	D	N	N	D	D	N	N							
13	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	D	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	D	N	N	D	D	N	N							
14	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	D	D	N	N	N	N	D	N	N	N	N	D	N	N	D	N	N	D	D	N	N							

สัญลักษณ์

Y หมายถึงต้นยางมีอาการใบเหลือง

F หมายถึงต้นยางใบร่วง

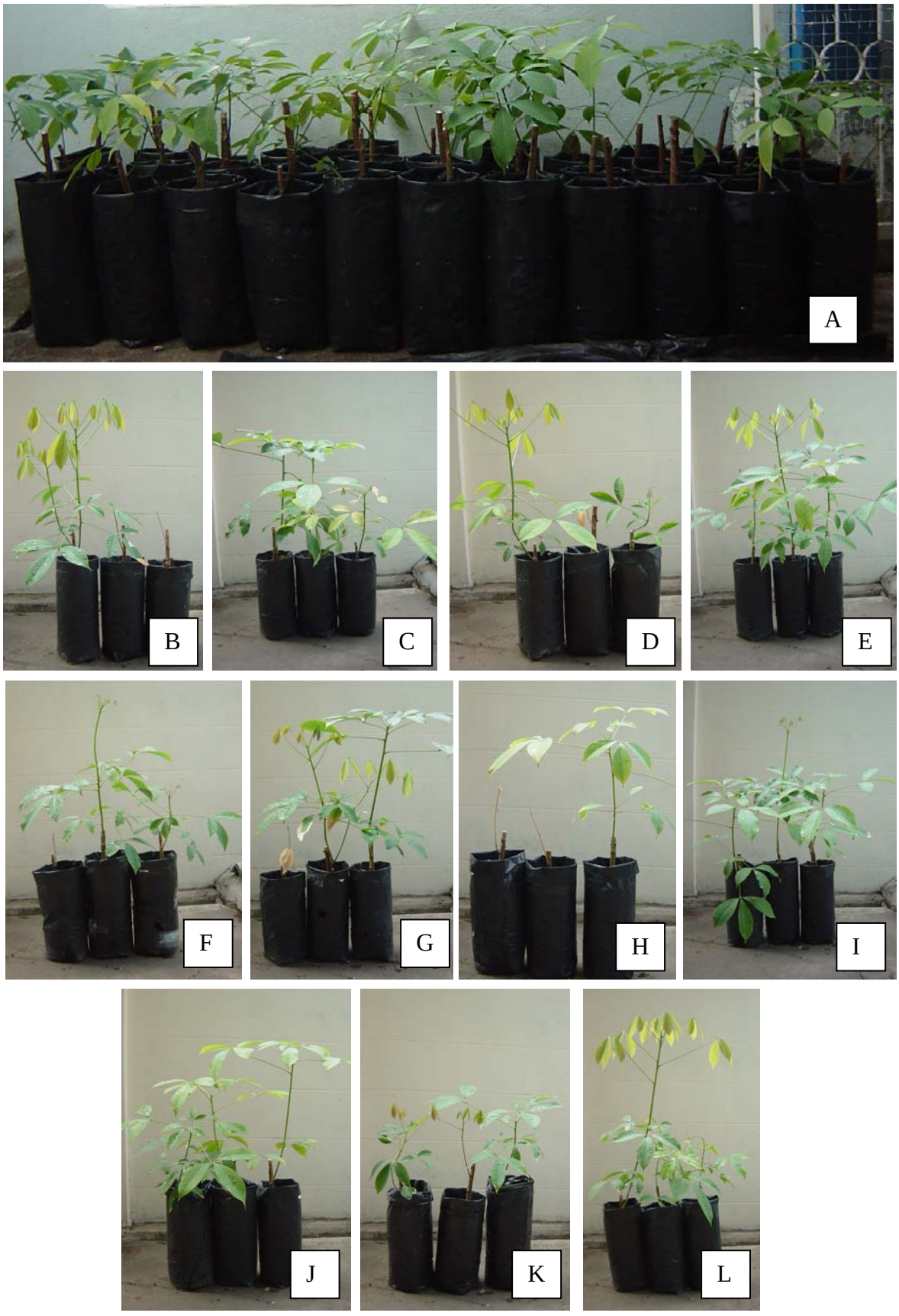
D หมายถึงต้นยางตาย

N หมายถึง ต้นยางมีการเจริญปกติ

ชุดการทดลอง C1 คือ ต้นยางชำถุงที่ไม่ได้เติมอะไรเลย
ชุดการทดลอง C2 คือ ต้นยางชำถุงที่เติมเชื้อราก่อโรค
ชุดการทดลอง C3 คือ ต้นยางชำถุงที่เติมเชื้อราก่อโรคและสารเคมีกำจัดเชื้อรา
ชุดการทดลอง T1 คือ ต้นยางชำถุงที่เติมเชื้อราก่อโรคและหัวเชื้อสดแบบที่ 1
ชุดการทดลอง T2 คือ ต้นยางชำถุงที่เติมเชื้อราก่อโรคและหัวเชื้อสดแบบที่ 2
ชุดการทดลอง T3 คือ ต้นยางชำถุงที่เติมเชื้อราก่อโรคและหัวเชื้อสดแบบที่ 3
ชุดการทดลอง T4 คือ ต้นยางชำถุงที่เติมเชื้อราก่อโรคและหัวเชื้อสดแบบที่ 4
ชุดการทดลอง T5 คือ ต้นยางชำถุงที่เติมเชื้อราก่อโรคและหัวเชื้อสดแบบที่ 5
ชุดการทดลอง T6 คือ ต้นยางชำถุงที่เติมเชื้อราก่อโรคและหัวเชื้อสดแบบที่ 6
ชุดการทดลอง T7 คือ ต้นยางชำถุงที่เติมเชื้อราก่อโรคและหัวเชื้อสดแบบที่ 7
ชุดการทดลอง T8 คือ ต้นยางชำถุงที่เติมเชื้อราก่อโรคและหัวเชื้อสดแบบที่ 8

จากตารางที่ 2 สรุปได้ว่าหัวเชื้อรูปแบบที่ 4 ต้นยางมีการเจริญดีที่สุด มีรากเดินดีไม่พบต้นยางตาย รองลงมาคือ 8 และ 2 ตามลำดับ หัวเชื้อรูปแบบที่ 3, 5และ 6 พบต้นยางตาย 1 ต้นที่ อาทิตย์ที่ 6 , 3 และ 2 ตามลำดับ หัวเชื้อรูปแบบที่ 1 และ 7 พบต้นยางตาย 2 ต้น ชุดการทดลอง C1 (ต้นยางที่ไม่เติมอะไรเลย) และ C3 (ต้นยาง + รา + สารเคมีกำจัดเชื้อรา) ไม่พบต้นยางตาย ต้นยางมีการเจริญดี ชุดการทดลองC2 (ต้นยางที่เติมเชื้อราก่อโรค) ไม่พบต้นยางตายแต่ต้นยางมีการเจริญไม่ดี (ภาพ 2)

ภาพที่ 2 ต้นยางชำถุงในชุดการทดลองต่างๆ (A: ต้นยางชำถุงในชุดการทดลองต่างๆ เมื่อเริ่มทำลอง, B-I: ต้นยางชำถุงในชุดการทดลองที่ 4 (หัวเชื้อรูปแบบที่ 1-8 + เชื้อรา) ตามลำดับ และ J-L: ชุดการทดลอง C1-C3 (ชุดควบคุม: ต้นยาง, ต้นยาง+เชื้อรา, ต้นยาง+เชื้อรา+สารเคมี ตามลำดับ) เมื่อทำการทดลองได้ 14 สัปดาห์



พิสูจน์โรค

ต้นยางชุดทดลองC 2 (ต้นยาง+เชื้อราก่อโรค)

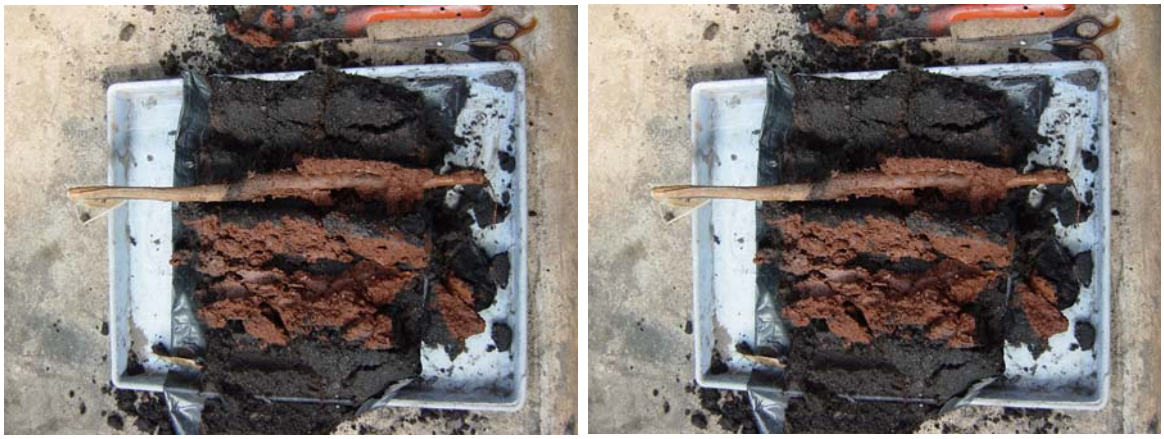
เมื่อทำการแกะถุงเพาะชำเพื่อดูรากของต้นยางชุดทดลอง C2 ทั้ง 3 ต้น พบว่า ทั้งสามต้นไม่พบรากของต้นยาง และพบมีเส้นใยของเชื้อราเจริญอยู่ (ภาพ 3)

ภาพที่ 3 สภาพต้นยางชุดทดลอง C2 หลังจากเติมเชื้อราลงไปในดินที่ใช้ปลูกเป็นเวลา 14 สัปดาห์

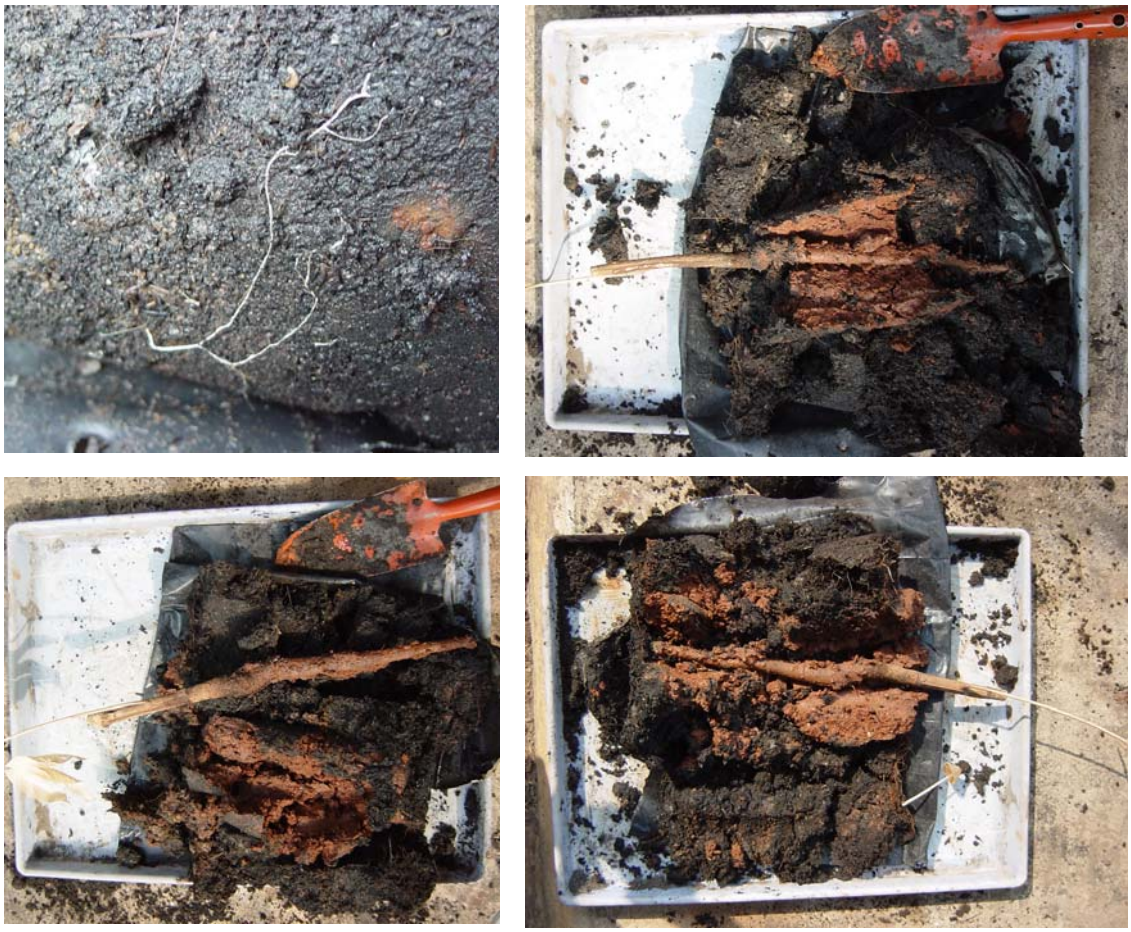
ต้นยางชุดทดลอง T1, T3, T5, T6 และ T7 (ชุดการทดลองที่พบว่ามีการตายของต้นยาง)

เมื่อทำการแกะถุงเพาะชำเพื่อดูรากของต้นยางชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อราและหัวเชื้อสด (T1, T3, T5, T6 และ T7) พบว่า ทั้ง T1 และ T3 ไม่พบรากของต้นยาง และไม่พบมีเส้นใยของเชื้อราเจริญอยู่ (ภาพ 4) แต่ในชุดการทดลอง T5, T6 และ T7 ไม่พบรากของต้นยาง และพบมีเส้นใยของเชื้อราเจริญอยู่การทดลอง T7 (ภาพ 5)

ภาพที่ 4 สภาพต้นยางชุดทดลอง T1และ T3 หลังจากเติมเชื้อราและหัวเชื้อสดลงไปในดินที่ใช้ปลูกเป็นเวลา 14 สัปดาห์



ภาพที่ 5 สภาพต้นยางชุดทดลอง T5, T6 และ T7 หลังจากเติมเชื้อราและหัวเชื้อสดลงไปในดินที่ใช้ปลูกเป็นเวลา 14 สัปดาห์

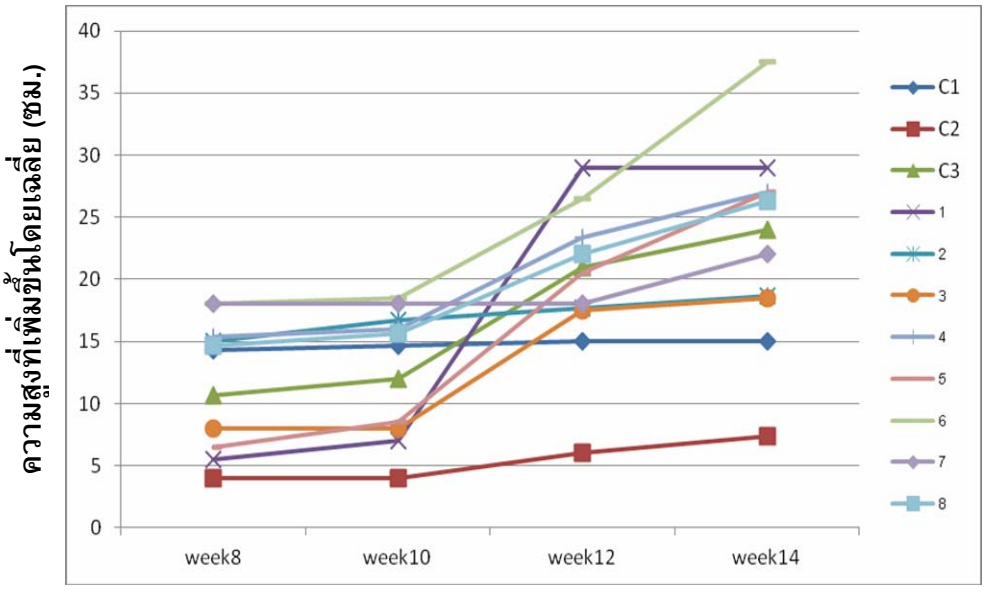


จากการวัดความสูงที่เพิ่มขึ้นของต้นยางในแต่ละชุดการทดลองทุกสัปดาห์ได้ผลดังตาราง 3 ภาพที่ 6 พบว่าต้นยางในชุดการทดลองที่ C2 ซึ่งเติมเชื้อราแต่ไม่เติมหัวเชื้อสด มีความสูงที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด ต้นยางที่เติมหัวเชื้อสดรูปแบบเชื้อที่ 6 (T6) และ 1(T1) แม้ว่าจะมีค่าความสูงที่เพิ่มขึ้นสูงสุด และรองลงมา ตามลำดับ แต่อาจเนื่องมาจาก มีการตายของต้นยางในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 หนึ่งต้นทำให้จำนวนซ้ำในการทดลองเหลือ 2 ต้น จึงได้ค่าสูงที่สูงดังกล่าว ต้นยางในชุดการทดลองที่ 4 รูปแบบหัวเชื้อสดที่ 4 (T4) ไม่พบการตาย และมีการเจริญดีเป็นลำดับที่สาม จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 3 ผลความสูงของต้นยางที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยของต้นยางในสัปดาห์ที่ 8, 10, 12 และ 14 เมื่อทำการลองเติมหัวเชื้อในรูปแบบต่างๆ

ชุดการทดลองที่	ความสูงที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย (ซม.)			
	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 10	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 14
C1	14	15	15	15
C2	4	4	6	7.3
C3	11	12	21	24
T1	5.5	7	29	29
T2	15	17	18	19
T3	8	8	18	19
T4	18	16	23	27
T5	6.5	8.5	21	27
T6	18	19	27	38
T7	18	18	18	22
T8	15	16	22	26

ภาพที่ 6 กราฟแสดงความสูงของต้นยางที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยของต้นยางในสัปดาห์ที่ 8, 10, 12 และ 14 เมื่อทำการลองเติมหัวเชื้อในรูปแบบต่างๆ



C1: *ต้นยางชำถุง (เพื่อเป็นชุดเปรียบเทียบ)*

C2: *ต้นยางชำถุง + เชื้อราก่อโรค (เพื่อเป็นชุดเปรียบเทียบ)*

C3: *ต้นยางชำถุง + เชื้อราก่อโรค + สารเคมีกำจัดเชื้อรา (เพื่อเป็นชุดเปรียบเทียบ)*

1-8: *รูปแบบของหัวเชื้อสดทั้ง 8 แบบ*

5.1.3 ผลการทดสอบการมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อที่คัดเลือกได้ในดิน

หัวเชื้อสดรูปแบบที่ 4 และ 8 พบว่ามีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิทเพิ่มขึ้นภายหลังเสร็จสิ้นการทดลอง นั่นคือระยะเวลา 14 สัปดาห์ หลังการเติมเชื้อลงในดินทั้งในสภาพที่มีเชื้อราและไม่มีเชื้อรา หัวเชื้อสดในรูปแบบอื่นๆ มีปริมาณเชื้อเปลี่ยนแปลงจากตอนเติมเชื้อเริ่มต้นไม่มากนัก ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นและหลังสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 14 สัปดาห์

ชุดการทดลองที่	รูปแบบของหัวเชื้อ	ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิท (cfu/g)	
		เริ่มต้น	หลังสิ้นสุดการทดลอง (14 สัปดาห์)
4	1	6.38×10^{2}	5.21×10^{2}
	2	5.50×10^{3}	4.65×10^{3}
	3	4.56×10^{5}	1.22×10^{5}
	4	6.48×10^{5}	5.25×10^{6}
	5	4.82×10^{3}	5.29×10^{3}
	6	4.98×10^{3}	3.72×10^{3}
	7	6.52×10^{2}	1.41×10^{2}
	8	5.64×10^{2}	1.48×10^{3}
5	1	6.41×10^{2}	1.74×10^{2}
	2	5.32×10^{3}	6.63×10^{3}
	3	4.89×10^{5}	4.89×10^{5}
	4	5.03×10^{5}	7.36×10^{7}
	5	5.89×10^{3}	6.22×10^{3}
	6	6.76×10^{3}	6.57×10^{3}
	7	4.36×10^{2}	5.16×10^{2}
	8	6.01×10^{2}	5.41×10^{3}

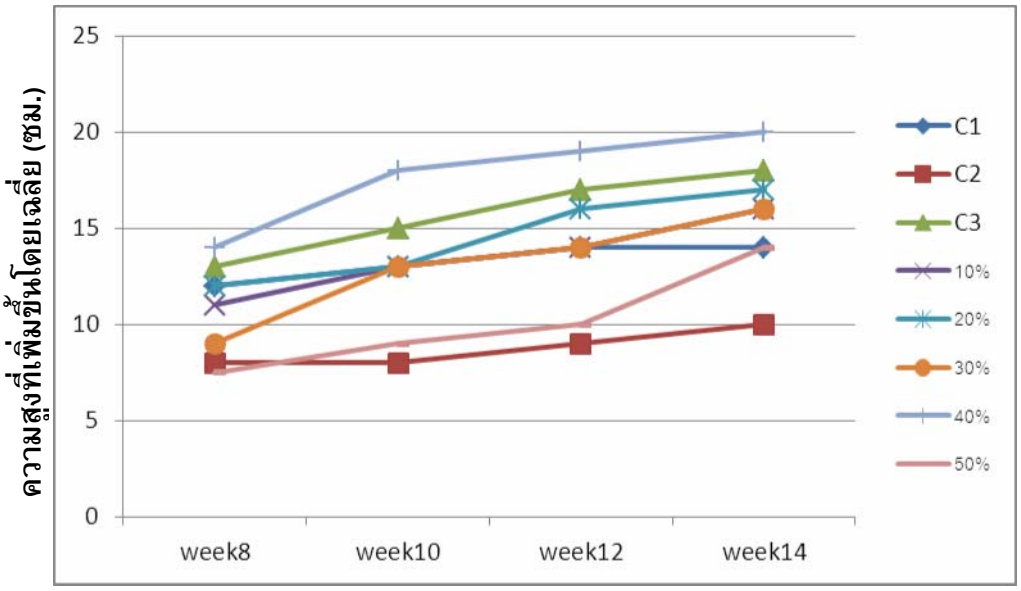
5.2 ผลทดสอบหาผลของปริมาณหัวเชื้อแอคติโนมัยสิทต่อประสิทธิภาพการยับยั้ง

ผลจากการเติมหัวเชื้อในรูปแบบที่ 4 ลงในดิน ในปริมาณ 10, 20, 30, 40, และ 50% โดยปริมาตร ในดินที่ใช้ปลูกต้นยางชำถุง เพาะเลี้ยงเป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือน โดยมีชุดควบคุมเป็น ต้นยางชำถุง ที่ไม่ใส่เชื้ออะไรเลย, ต้นยางที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยสิทอย่างเดียว และ ต้นยางที่ใส่เชื้อราอย่างเดียว พบว่าปริมาณเชื้อที่เติมลงไป 10-40% ทำให้ต้นยางชำถุงมีการเจริญได้ดีไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ 1 และ 3 ส่วนการเติมหัวเชื้อสดลงไป 50% ทำให้ต้นยางชำถุงมีความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่ำกว่า ชุดอื่นๆเล็กน้อย ชุดควบคุม 2 ที่มีการเติมเชื้อราลงไปอย่างเดียว ที่มีการเจริญน้อยที่สุด (ตารางที่ 5 และ ภาพที่ 7)

ตารางที่ 5 ผลความสูงของต้นยางที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยของต้นยางในสัปดาห์ที่ 8, 10, 12 และ 14 เมื่อทำการทดลองเติมปริมาณหัวเชื้อต่างๆกัน

ชุดการทดลอง	ความสูงที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย (ซม.)			
	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 10	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 14
C1	12	13	14	14
C2	8	8	9	10
C3	13	15	17	18
10%	11	13	14	16
20%	12	13	16	17
30%	9	13	14	16
40%	14	18	19	20
50%	7.5	9	10	14

ภาพที่ 7 กราฟแสดงความสูงของต้นยางที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยของต้นยางในสัปดาห์ที่ 8, 10, 12 และ 14 เมื่อทำทดลองเติมหัวเชื้อในปริมาณต่างๆ



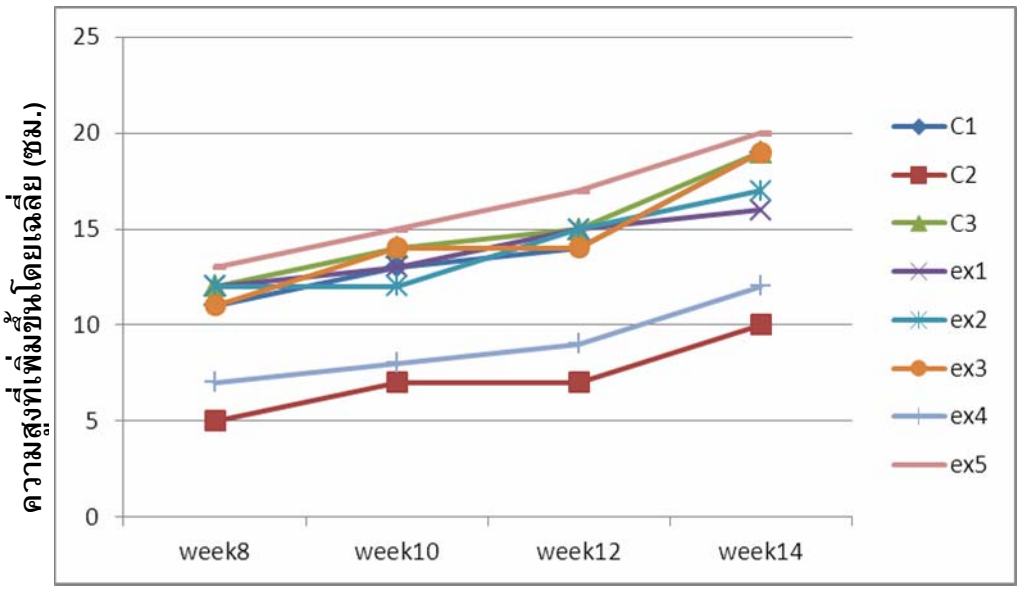
5.3 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิท

ผลของการเติมหัวเชื้อในรูปแบบที่ 4 ที่ระยะเวลาต่างๆกัน พบว่าชุดการทดลองที่ 5 ซึ่งมีการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทลงไปพร้อมเชื้อราตอนเริ่มปลูกต้นยางและเติมเชื้อลงไปอีกทุกๆ เดือน มีการเจริญของต้นยางดีสุด นอกนั้นมีการเจริญของต้นยางไม่แตกต่างกันในชุดการทดลองอื่นๆ ยกเว้นชุดควบคุม 2 และที่มีการเติมเชื้อราลงไปอย่างเดียว และชุดการทดลองที่ 4 ที่มีการเติมหัวเชื้อสดลงไปหลังจากเติมเชื้อรา 3 เดือน มีการเจริญน้อยกว่าชุดอื่นๆ (ตาราง ที่ 6 และ ภาพที่ 8)

ตารางที่ 6 ผลความสูงของต้นยางที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยของต้นยางในสัปดาห์ที่ 8, 10, 12 และ 14 เมื่อทำการทดลองเติมเชื้อต้นต้นที่ระยะเวลาต่างๆกัน

ชุดการทดลอง	ความสูงที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย (ซม.)			
	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 10	สัปดาห์ที่ 12	สัปดาห์ที่ 14
C1	11	13	14	19
C2	5	7	7	10
C3	12	14	15	19
Ex1	12	13	15	16
Ex2	10	12	15	17
Ex3	11	14	14	19
Ex4	7	8	9	12
Ex5	13	15	17	20

ภาพที่ 8 กราฟแสดงผลความสูงของต้นยางที่เพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยของต้นยางในสัปดาห์ที่ 8, 10, 12 และ 14 เมื่อทำการทดลองเติมเชื้อต้นต้นที่ระยะเวลาต่างๆกัน



C1 *ต้นยางชำถุง ที่ไม่ใส่เชื้ออะไรเลย*
C2 *ต้นยางชำถุง ใส่เชื้อรา*
C3 *ต้นยางชำถุงที่ใส่เชื้อราและสารเคมีกำจัดเชื้อรา*
ex1 *เติมเชื้อแอคติโนมัยสิทพร้อมเชื้อราตอนเริ่มปลูกต้นยาง*
ex2 *เติมเชื้อแอคติโนมัยสิทหลังจากปลูก 1เดือน*
ex3 *เติมเชื้อแอคติโนมัยสิทหลังจากปลูก 2เดือน*
ex4 *เติมเชื้อแอคติโนมัยสิทหลังจากปลูก 3เดือน*
ex5 *เติมเชื้อแอคติโนมัยสิทพร้อมเชื้อราตอนเริ่มปลูกต้นกล้า และเติมใหม่ทุกเดือน*

วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้ลงในวัสดุที่ใช้ในการเตรียมหัวเชื้อสดในรูปแบบต่าง ๆ 8 รูปแบบ มีการเติมเชื้อตั้งต้นในรูปแบบที่เลี้ยงในอาหารเหลวอัตราส่วน 1:3 โดยปริมาตร ผลการทดลองพบว่า รูปแบบที่ 4 (เมล็ดข้าวฟ่างนึ่ง ผสมดินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว อัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร) มีการเจริญของเชื้อสูงสุด แต่ต้องใช้ระยะเวลานาน (40 วัน) เพื่อให้เชื้อเจริญเต็มพื้นที่ของวัสดุ การที่ข้าวฟ่างผสมดินมีการเจริญของเชื้อดีสุด อาจเนื่องมากจากข้าวฟ่างเป็นเมล็ดที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ทำให้เกิดช่องว่างซึ่งทำให้มีการถ่ายเทอากาศซึ่งทำให้เชื้อแอคติโนมัยสิทซึ่งเป็นเชื้อที่ต้องการอากาศในการเจริญเจริญได้ เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ 6 ซึ่งมีข้าวฟ่างอย่างเดียว เชื้อเจริญได้ 60-79 %ของพื้นที่วัสดุ อาจจะเนื่องมากจากแหล่งของสารอาหารที่ได้จากข้าวฟ่างอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อการเจริญของเชื้อเมื่อเติมดินลงไปสารอาหารในดินจะทำให้เชื้อมีการเจริญได้ดีมากขึ้น แต่เมื่อใช้ดินอย่างเดียวเชื้อกลับเจริญได้น้อยมาก (0-19%) นั่นคือโครงสร้างของดินเมื่อเติมเชื้อในรูปแบบอาหารเหลวลงไปในอัตราส่วน 1:3 ความชื้นที่เกิดขึ้นมากเกินไปทำให้ดินไม่มีช่องว่างให้อากาศถ่ายเท นั่นคือ ความชื้น การหมุนเวียนอากาศ สารอาหาร คุณสมบัติในการดูดซับน้ำ ของวัสดุ มีความสำคัญต่อการเจริญของเชื้อ

ในสูตรที่ 4 แม้ว่าจะมีการเจริญดีสุด แต่มีการเจริญช้ามากคือใช้เวลา 40 วัน ในการเจริญได้เต็มพื้นที่ของวัสดุ ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากความชื้นที่สูงเกินไปทำให้การหมุนเวียนอากาศไม่ดีทำให้เชื้อเจริญได้ช้า ถ้ามีการปรับสูตรคือ ปรับความชื้นให้น้อยลงโดยการเติมเชื้อตั้งต้นในปริมาณที่ลงกว่าเดิมอาจจะช่วยให้เชื้อเจริญได้เร็วขึ้น

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคในต้นยางชำถุงในกระถางปลูกของแอคติโนมัยสิทที่อยู่ในรูปแบบหัวเชื้อสดในแบบต่างๆ เป็นเวลา 14 สัปดาห์ เทียบกับชุดควบคุมพบว่า หัวเชื้อรูปแบบที่ 4 และ 8 ต้นยางมีการเจริญดี มีรากเดินดี ไม่พบต้นยางตาย โดยแบบที่ 4 ดีที่สุดรองลงมาคือ 8 การที่หัวเชื้อสดรูปแบบที่ 4 มีการเจริญของต้นยางดีสุดอาจจะเนื่องมากจากปริมาณเชื้อที่เติมลงไปมากกว่าหัวเชื้อสดรูปแบบอื่น หัวเชื้อสดในรูปแบบที่ 8 แม้ว่าในขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อจะพบว่าเชื้อเจริญได้น้อยมาก (0-19%) แต่จริงๆแล้วเชื้ออาจจะแทรกอยู่ระหว่างช่องว่างของดินซึ่งไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และเชื้อที่อยู่ในดินเมื่อนำไปเติมลงในดินที่ใช้ปลูกต้นยางจะสามารถเจริญในดินได้ดีเพราะไม่ต้องปรับตัวสามารถที่จะเข้าไปเกาะกับอนุภาคของดินอย่างแน่นหนาทำให้ไม่ถูกชะออกไปด้วยน้ำ

หัวเชื้อรูปแบบที่ 3, 5 และ 6 พบการตายของต้นยาง 1 ใน 3 ต้น หัวเชื้อรูปแบบที่ 1 และ 7 ต้นยางมีการตาย 2 ใน 3 ต้น การตายของต้นยางไม่น่าเกิดจากเชื้อรา *Rigidoporus* เนื่องจากเชื้อราใช้เวลาในเข้าทำลาย Phloem 10 สัปดาห์ และ xylem 15 สัปดาห์ (Nicole and Benhamou, 1993) การตายของต้นยางอาจจะเกิดจากวัสดุที่ใช้ในการเตรียมเมื่อใส่ลงไปในดินอาจจะทำให้ดินมีการดูดซับความชื้นได้มากขึ้น ทำให้การหมุนเวียนอากาศในดินที่ใช้ปลูกไม่ดี ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุให้ต้นยางตาย และสาเหตุที่ชุดการทดลองเดียวกันมีการตายของต้นยางเพียงบางต้นไม่ตายทั้งหมดอาจจะเนื่องมาจากต้นยางที่นำมาใช้ในการทดลองถึงแม้ว่าจะมีขนาดของความสูงของต้นไกล้เคียงกันแต่เมื่อดูที่รากพบว่ามีมีปริมาณรากแตกต่างกัน ซึ่งบางต้นพบว่ามีรากน้อยมาก ซึ่งปริมาณของรากน่าจะมีผลต่อการดูดซึมน้ำในดิน แม้ว่าจะใช้น้ำในการรดต้นยางในปริมาณเท่ากันแต่ปริมาณการดูดน้ำของแต่ละต้นไม่เท่ากัน ต้นที่มีรากน้อยจะมีการดูดน้ำได้น้อยอาจจะเป็นสาเหตุของการมีความชื้นที่มากเกินไปของดินและทำให้ต้นยางตาย

เชื้อในรูปแบบที่ 6 แม้ว่าขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อสดจะพบว่าเชื้อเจริญได้ดีและมีปริมาณมากแต่พบว่ามีต้นยางตาย 1 ใน 3 ต้น อาจเนื่องมาจากรูปแบบของวัสดุไม่เหมาะสม เชื้อแอคติโนมัยสิทไม่สามารถยึดเกาะกับวัสดุได้และทำให้เชื้อถูกชะออกไป

ต้นยางที่เติมหัวเชื้อสดรูปแบบเชื้อที่ 6 และ 1 แม้ว่าจะมีค่าความสูงที่เพิ่มขึ้นสูงสุด และรองลงมาตามลำดับ แต่อาจเนื่องมาจาก มีการตายของต้นยางในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 หนึ่งต้นทำให้จำนวนซ้ำในการทดลองเหลือ 2 ต้น จึงได้ค่าสูงดังกล่าว ต้นยางที่เติมหัวเชื้อสดแบบที่ 4 ไม่พบการตาย และมีการเจริญดีเป็นลำดับที่สาม จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

หัวเชื้อสดรูปแบบที่ 4 และ 8 พบว่ามีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิทเพิ่มขึ้นภายหลังเสร็จสิ้นการทดลอง นั่นคือระยะเวลา 14 สัปดาห์ หลังการเติมเชื้อลงในดินทั้งในสภาพที่มีเชื้อราและไม่มีเชื้อรา หัวเชื้อสดในรูปแบบอื่นๆ มีปริมาณเชื้อเปลี่ยนแปลงจากตอนเติมเชื้อเริ่มต้นไม่มากนัก

ผลจากการเติมหัวเชื้อในรูปแบบที่ 4 ปริมาณ 10, 20, 30, 40, และ 50% โดยปริมาตร ในดินที่ใช้ปลูกต้นยางชำถุง เพาะเลี้ยงเป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือน โดยมีชุดควบคุมเป็น ต้นยางชำถุง ที่ไม่ใส่เชื้ออะไรเลย, ต้นยางที่ใส่เชื้อแอคติโนมัยสิทอย่างเดียว และ ต้นยางที่ใส่เชื้อราอย่างเดียว พบว่าปริมาณเชื้อที่เติมลงไป 10-40% ทำให้ต้นยางชำถุงมีการเจริญได้ดีไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ 1 และ 3 ส่วนการเติมหัวเชื้อสดลงไป 50% ทำให้ต้นยางชำถุงมีความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่ำกว่าชุดอื่นๆ ชุดควบคุม 2 ที่มีการเติมเชื้อราลงไปอย่างเดียว ที่มีการเจริญน้อยที่สุด

ผลของการเติมหัวเชื้อในรูปแบบที่ 4 ที่ระยะเวลาต่างๆกัน พบว่าชุดการทดลองที่ 5 ซึ่งมีการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทลงไปพร้อมเชื้อราตอนเริ่มปลูกต้นยางและเติมเชื้อลงไปอีกทุกๆ เดือน มีการเจริญของต้นยางดีสุด นอกนั้นมีการเจริญของต้นยางไม่แตกต่างกันในชุดการทดลองอื่นๆ ยกเว้นชุดควบคุม 2 และที่มีการเติมเชื้อราลงไปอย่างเดียว และชุดการทดลองที่ 4 ที่มีการเติมหัวเชื้อสดลงไปหลังจากเติมเชื้อรา 3 เดือน มีการเจริญน้อยกว่าชุดอื่นๆ

สรุปผลการวิจัย

ผลของการศึกษาหารูปแบบของหัวเชื้อด้วยวัสดุเพาะเลี้ยง 8 รูปแบบ มีการเติมเชื้อตั้งต้นที่เลี้ยงไว้ในอาหารเหลวด้วยอัตราส่วนที่เท่ากันคือเชื้อตั้งต้นต่อวัสดุเพาะเลี้ยง 1:3 โดยปริมาตร พบว่าวัสดุเพาะเลี้ยงรูปแบบที่ 4 คือ เมล็ดข้าวฟ่างผสมกับดินในอัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร ให้การเจริญของเชื้อได้สูงสุด แต่ต้องใช้ระยะเวลาบ่มนานถึง 40 วัน เชื้อจึงจะเจริญเต็มพื้นที่ของวัสดุเพาะเลี้ยง และเมื่อนำหัวเชื้อดังกล่าวไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรครากขาวในระดับกระถางปลูกของต้นกล้ายางพารา เปรียบเทียบกับชุดควบคุมเป็นเวลา 14 สัปดาห์ พบว่า หัวเชื้อรูปในแบบที่ 4 นี้ ช่วยให้ต้นยางมีการเจริญดี มีรากเดินดี และไม่พบต้นยางตาย เมื่อเทียบกับต้นยางที่เติมเชื้อราแต่ไม่เติมหัวเชื้อพบว่ามีความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ยน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด เมื่อตรวจสอบดูปริมาณเชื้อในดินภายหลังการทดลองรวมระยะเวลา 14 สัปดาห์ พบว่าดินมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิทเพิ่มขึ้น ในขณะที่หัวเชื้อในรูปแบบอื่นๆ มีปริมาณเชื้อเปลี่ยนแปลงจากปริมาณเชื้อตั้งต้นที่ใช้ไม่มากนัก จากการทดสอบหาปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการควบคุมโรคในระดับกระถางปลูกโดยปรับใช้หัวเชื้อสด 10 ถึง 50% โดยปริมาตรของดินที่ใช้ปลูก และทำการทดลองใช้เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าการใช้ปริมาณเชื้อ 10-40% โดย

ปริมาตร ทำให้ต้นยางมีการเจริญได้ดีไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ส่วนการเติมหัวเชื้อลงไป 50% โดยปริมาตร ทำให้ต้นยางชำถุงมีความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่ำกว่าชุดอื่นๆ เล็กน้อย ผลของการเติมหัวเชื้อในระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทลงไปพร้อมเชื้อราตอนเริ่มปลูกต้นยางและเติมเชื้อลงไปอีกทุกๆ เดือน ทำให้ต้นยางมีการเจริญดีที่สุด

จากผลการวิจัยดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าการเตรียมหัวเชื้อสดของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้ในรูปแบบต่างๆ สามารถควบคุมโรครากขาวได้ดีพอสมควร โดยจะพบว่าต้นยางที่มีการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทไม่ว่าจะรูปแบบใดก็ตามมีผลทำให้ต้นยางมีสุขภาพดีและความสูงเพิ่มขึ้นมากกว่าการไม่เติม แม้ว่าในบางชุดการทดลองจะมีต้นยางตายแต่สาเหตุของการตายน่าจะมาจากสาเหตุอื่นที่ไม่ใช่โรครากขาว เนื่องจากถ้าเป็นสาเหตุมากจากเชื้อรา *Rigidoporus* ต้องใช้เวลาในการทำให้เกิดโรคมากกว่า 10-15 สัปดาห์ขึ้นไป และพบว่าชุดการทดลองที่มีการตายของต้นยางเป็นชุดการทดลองที่มีการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสิทไม่ดี ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุให้ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิทไม่มากพอที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ อย่างไรก็ตามในงานวิจัยครั้งต่อไปต้องมีการปรับสูตรหัวเชื้อสดต่อไปเพื่อให้เชื้อแอคติโนมัยสิทใช้เวลาในการเจริญเต็มพื้นที่วัสดุได้เร็วขึ้น และควรหาวิธีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้นหรือการต่อเชื้อด้วยวิธีง่ายๆที่เกษตรสามารถนำไปใช้ได้จริง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการปรับสูตรหัวเชื้อสดเพื่อให้เชื้อแอคติโนมัยสิทใช้เวลาในการเจริญเต็มพื้นที่วัสดุได้เร็วขึ้น
2. ควรหาวิธีการเติมหัวเชื้อเริ่มต้นหรือการต่อเชื้อด้วยวิธีง่ายๆที่เกษตรสามารถนำไปใช้ได้จริง
3. มีการทดสอบในพื้นที่ปลูกยางจริง และมีการระบาดของโรคจริง

เอกสารอ้างอิง

Jayasuriya, K.E. and Thennakoon, B.I. 2007. Biological control of *Rigidoporus microsporus*, the cause of white root disease in rubber. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)*. 36(1): 9-16.

Nicole, M.R. and Benhamou, N. 1993. Pectin degradation during root decay of rubber trees by *Rigidoporus lignosus*. *Canadian Journal of Botany.* 71(3): 370–378

Ryan, A.D. and Kimkel, L.L. 1997. Inoculum density and population dynamics of suppressive and pathogenic *Streptomyces* strains and their relationship to biological control of potato scab. *Biological Control*. 10: 180-186.

Sabaratnam, S. and Traquair, J.A. 2002. Formulation of a *Streptomyces* Biocontrol Agent for the Suppression of Rhizoctonia Damping-off in Tomato Transplants. *Biological control*. 23: 245-253.

ภาคผนวก

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้
และกิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับ
เพื่อหารูปแบบและวิธีการนำเชื้อแอคติโนมัยสิทที่คัดเลือกได้ ไปใช้ในการควบคุมโรครากขาวในกระถางปลูกให้มีประสิทธิภาพสูงสุด	1. เตรียมเชื้อตั้งต้นในรูปแบบต่างๆ	1. เตรียมเชื้อตั้งต้นในรูปแบบต่างๆ	-ได้เชื้อตั้งต้นในรูปแบบต่างๆ เพื่อนำไปใช้สำหรับทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus* sp. ในกระถางปลูก
	2.เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกระถางปลูกจากการเตรียมหัวเชื้อในรูปแบบต่างๆ และเทียบกับการยับยั้งโดยการใช้สารเคมี	2. เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกระถางปลูกจากการเตรียมหัวเชื้อในรูปแบบต่างๆ และเทียบกับการยับยั้งโดยการใช้สารเคมี	- ทราบผลประสิทธิภาพของหัวเชื้อรูปแบบต่างๆในการยับยั้งเชื้อราในกระถางปลูกเทียบกับการใช้สารเคมี -ได้รูปแบบของเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมเพื่อนำไปเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา เมื่อเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทในปริมาณและ ระยะเวลาที่ต่างกัน
	3. เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา เมื่อเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทในระยะเวลาที่ต่างกัน	3. เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา เมื่อเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทในระยะเวลาที่ต่างกัน	-ทราบผลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกระถางปลูก
	4. เปรียบเทียบปริมาณเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกระถางปลูก	4. เปรียบเทียบปริมาณเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกระถางปลูก	- ทราบผลของการเติมหัวเชื้อเริ่มต้นในระยะเวลาที่ต่างกันต่อประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกระถางปลูก

สรุปข้อคิดเห็นของผู้ทรงคุณวุฒิต่อโครงการ
การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท
: การทดลองในระดับกระถางปลูก สัญญาเลขที่ RDG5350024

ข้อคิดเห็น/ข้อเสนอแนะของผู้ทรงคุณวุฒิ	ชี้แจงโดยนักวิจัย
ความเห็นด้านการพิมพ์ (editor) 1. นักวิจัยควรปรับปรุงการนำเสนอผลการทดลองในรูปตารางใหม่ เพื่อให้เข้าใจง่ายขึ้น	1. ได้มีการปรับตาราง เพิ่มเติมคำบรรยายใต้ตาราง และคำบรรยายผลการทดลองเพื่อให้เข้าใจง่ายขึ้น
ความเห็นด้านวิชาการ (Technical) 1. งานวิจัยขาดการนำเสนอผลการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าการตายของต้นยางเกิดจากโรครากขาว (ซึ่งอาจแสดงด้วยภาพ) 2. อายุการทดลองอาจสั้นเกินไป ซึ่งควรจะพิสูจน์ผลต่อเนื่องได้ว่าหัวเชื้อสามารถยับยั้งเชื้อราโรครากขาวได้จริง	1. ผู้วิจัยได้เพิ่มข้อมูลและภาพที่แสดงให้เห็นว่าการตายของต้นยางเกิดจากโรครากขาวไว้ในรายงานในหน้า 12 2. เนื่องจากระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัยค่อนข้างจำกัดจึงไม่สามารถทดลองได้นานกว่านี้ สำหรับการจะพิสูจน์ผลต่อเนื่องว่าสามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรครากขาวได้จริงอาจจะต้องดำเนินการในโครงการวิจัยครั้งต่อไป

การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท : การทดลองในระดับกระถางปลูก

Biological control of white root disease of Para-rubber tree with Actinomycetes : Pot Culture Experiment for The Industrail Farm Scale

ดร. นาริลักษณ์ นาแก้ว

(ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.))

เรื่องย่อ

- วัสดุเพาะเลี้ยงรูปแบบที่ 4 คือ เมล็ดข้าวฟ่างผสมกับดินในอัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร ให้การเจริญของเชื้อได้สูงสุด แต่ต้องใช้ระยะเวลาบ่มนานถึง 40 วัน เชื้อจึงจะเจริญเต็มพื้นที่ของวัสดุเพาะเลี้ยง
- นำหัวเชื้อดังกล่าวไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรครากขาวในระดับกระถางปลูกของต้นกล้ายางพารา ช่วยให้ต้นยางมีการเจริญดี มีรากเดินดี และไม่พบต้นยางตาย
- เมื่อตรวจสอบดูปริมาณเชื้อในดินภายหลังการทดลองรวมระยะเวลา 14 สัปดาห์ พบว่าดินมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิทเพิ่มขึ้น ในขณะที่หัวเชื้อในรูปแบบอื่นๆ มีปริมาณเชื้อเปลี่ยนแปลงจากปริมาณเชื้อดั้งต้นที่ใช้ไม่มากนัก
- พบว่าการใช้ปริมาณหัวเชื้อสด 10-40% โดยปริมาตร ทำให้ต้นยางมีการเจริญได้ดีไม่แตกต่างกัน
- ผลของการเติมหัวเชื้อในระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทลงไปพร้อมเชื้อราตอนเริ่มปลูกต้นยางและเติมเชื้อลงไปอีกทุกๆ เดือน ทำให้ต้นยางมีการเจริญดีที่สุด

คำนำ

เนื่องด้วยโครงการวิจัยเรื่อง การควบคุมโรครากขาวในยางพาราโดยชีววิธี ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิท ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม ในปีงบประมาณ 2552 สัญญาเลขที่ RDG5250036 ไปแล้วนั้น ผลของทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรากอ่อโรครากขาว ในการควบคุมโรคในกระถางปลูก โดยการใช้เชื้อที่อยู่ในรูปอาหารเหลว พบว่ามีแนวโน้มในการควบคุมโรคได้ แต่ไม่ดีนัก ซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณของเชื้อดั้งต้นน้อยและรูปแบบของเชื้อที่เติมลงไปในดินไม่เหมาะสมที่จะนำพาเชื้อแอคติโนมัยสิทไปยังบริเวณที่เกิดโรค

ดังนั้นเพื่อให้การควบคุมโรครากขาว โดยชีววิธีด้วยแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสิทมีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อมีการนำไปใช้จริง งานวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาหารูปแบบ และความเข้มข้นของหัวเชื้อสด ที่เหมาะสม ที่สามารถเตรียมได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และ สามารถนำพาเชื้อที่ใช้ไปสู่บริเวณที่เชื้อราโรคพืชปรากฏอยู่ รวมถึงวิธีการนำไปใช้ที่เหมาะสมโดยทำการทดสอบในกระถางปลูก เพื่อพัฒนาและนำไปใช้ในแปลงปลูกจริง

ผลการทดลอง

ผลของรูปแบบของวัสดุเตรียมหัวเชื้อสดต่อการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสิท

วัสดุเพาะเลี้ยงรูปแบบที่ 4 คือ เมล็ดข้าวฟ่างผสมกับดินในอัตราส่วน 3:1 โดยปริมาตร ให้การเจริญของเชื้อได้สูงสุด แต่ต้องใช้ระยะเวลาบ่มนานถึง 40 วัน เชื้อจึงจะเจริญเต็มพื้นที่ของวัสดุเพาะเลี้ยง

ภาพการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสิทในวัสดุเตรียมหัวเชื้อสด (A: รูปแบบที่ 2, B: รูปแบบที่ 3, C: รูปแบบที่ 4, D: รูปแบบที่ 5, E: รูปแบบที่ 6)

ประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรค ของหัวเชื้อสดแต่ละชนิดในกระถางปลูก

นำหัวเชื้อแบบที่ 4 ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรครากขาวในระดับกระถางปลูกของต้นกล้ายางพารา ช่วยให้ต้นยางมีการเจริญดี มีรากเดินดี และไม่พบต้นยางตาย

ภาพต้นยางชำถุงในชุดการทดลองต่างๆ (A: ต้นยางชำถุงในชุดการทดลองต่างๆ เมื่อเริ่มทำลอง, B-I: ต้นยางชำถุงในชุดการทดลองที่ 4 (หัวเชื้อรูปแบบที่ 1-8 + เชื้อรา) ตามลำดับ และ J-L: ชุดการทดลองที่ 1-3 (ชุดควบคุม: ต้นยาง, ต้นยาง+เชื้อรา, ต้นยาง+เชื้อรา+สารเคมี ตามลำดับ) เมื่อทำการทดลองได้ 14 สัปดาห์

การมีชีวิตรอดของเชื้อแอคติโนมัยสิทในดิน

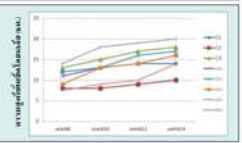
เมื่อตรวจสอบดูปริมาณเชื้อในดินภายหลังการทดลองรวมระยะเวลา 14 สัปดาห์ พบว่าการเติมเชื้อแอคติโนมัยสิทในรูปแบบหัวเชื้อสดแบบที่ 4 จะมีปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิทเพิ่มขึ้นในดิน ในขณะที่หัวเชื่อในรูปแบบอื่นๆ มีปริมาณเชื้อเปลี่ยนแปลงจากปริมาณเชื้อดั้งต้นที่ใช้ไม่มากนัก

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นและหลังสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 14 สัปดาห์

รูปแบบของหัวเชื้อ	ปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสิท (cfu/g)	
	เริ่มต้น	หลังสิ้นสุดการทดลอง (14 สัปดาห์)
1	6.41×10^2	1.74×10^2
2	5.32×10^3	6.63×10^3
3	4.89×10^6	4.89×10^6
4	5.03×10^6	7.36×10^7
5	5.89×10^3	6.22×10^3
6	6.76×10^2	6.57×10^3
7	4.36×10^2	5.16×10^2
8	6.01×10^2	5.41×10^3

การทดสอบหาผลของปริมาณหัวเชื้อสด ต่อประสิทธิภาพในการควบคุมโรค

พบว่าการใช้ปริมาณหัวเชื้อสด 10-40% โดยปริมาตร ทำให้ต้นยางมีการเจริญได้ดีไม่แตกต่างกัน



ระยะเวลาที่เหมาะสมในการหัวเชื้อสด

ผลของการเติมหัวเชื้อในระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าการเติมหัวเชื้อลงไปพร้อมกับการเติมเชื้อราในระหว่างการปลูกต้นยาง ร่วมกับการเติมหัวเชื้อซ้ำลงไปอีกทุกๆ เดือน ทำให้ต้นยางมีการเจริญดีที่สุด

เอกสารอ้างอิง

-Ryan, A.D. and Kimkel, L.L. 1997. Inoculum density and population dynamics of suppressive and pathogenic *Streptomyces* strains and their relationship to biological control of potato scab. Biol. Control. 10: 180-186.

-Sabaratnam, S. and Traquair, J.A. 2002. Formulation of a *Streptomyces* Biocontrol Agent for the Suppression of Rhizoctonia Damping-off in Tomato Transplants. Biol. control. 23: 245-253.

-Jayasuriya, K.E. and Thennakoon, B.I. (2007) Biological control of Rigidoporus microporus, the cause of white root disease in rubber. Cey. J. Sci. (Bio. Sci.) 36(1): 9-16.

วิจารณ์ผลการทดลอง

- หัวเชื้อสดรูปแบบที่ 4 อาจเนื่องมากจากข้าวฟ่างเป็นเมล็ดที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ทำให้เกิดช่องว่างซึ่งทำให้มีการถ่ายเทอากาศซึ่งทำให้เชื้อแอคติโนมัยสิทซึ่งเป็นเชื้อที่ต้องการอากาศในการเจริญ เจริญได้
- ในสูตรที่ 4 แม้ว่าจะมีการเจริญดีสุด แต่มีการเจริญช้ามากคือใช้เวลา 40 วัน ในการเจริญได้เต็มพื้นที่ของวัสดุ ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากความชื้นที่สูงเกินไปทำให้การหมุนเวียนอากาศไม่ดีทำให้เชื้อเจริญได้ช้า
- จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคในต้นยางชำถุงของหัวเชื้อสดเป็นเวลา 14 สัปดาห์ หัวเชื้อรูปแบบที่ 4 และ 8 ต้นยางมีการเจริญดี มีรากเดินดี ไม่พบต้นยางตาย โดยแบบที่ 4 ดีที่สุดการที่หัวเชื้อสดรูปแบบที่ 4 มีการเจริญของต้นยางดีสุดอาจจะเนื่องมากจากปริมาณเชื้อที่เติมลงไปมากกว่าหัวเชื้อสดรูปแบบอื่น

ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยาคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000 โทร: 055964622 E-mail: nnakaew@hotmail.com