

รายงานการวิจัยและนวัตกรรมฉบับสมบูรณ์

การเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต: การศึกษาระดับไร่นา
Enhancement of drought tolerant in sugarcane by growth promoting bacteria: A field study

ภายใต้แผนวิจัย

ระบบการจัดการทรัพยากรน้ำและประมาณการผลผลิตแบบแม่นยำสำหรับการปลูกอ้อย
Precision system of water resource management and yield estimation for sugarcane cultivation

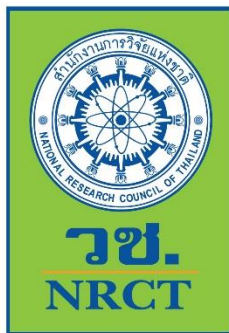
โดย

เอกวิทย์ ลือพร้อมชัย และคณะ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2563

พ.ศ. 2565



รายงานการวิจัยและนวัตกรรมฉบับสมบูรณ์

การเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต: การศึกษาระดับไร่นา
Enhancement of drought tolerant in sugarcane by growth promoting bacteria: A field study

ภายใต้แผนวิจัย

ระบบการจัดการทรัพยากรน้ำและประมาณการผลผลิตแบบแม่นยำสำหรับการปลูกอ้อย
Precision system of water resource management and yield estimation for sugarcane cultivation

โดย

เอกวิทย์ ลือพร้อมชัย และคณะ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2563

พ.ศ. 2565

กิตติกรรมประกาศ

โครงการการเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต: การศึกษาระดับไร่นา ภายใต้ แผนวิจัยระบบการจัดการทรัพยากรน้ำ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2563

งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดีต้องขอขอบพระคุณ คุณศิริพร รัตนศักดิ์ภักดี และเกษตรกร จากกองวิชาการดงบ้านโพธิ์ บริษัทเกษตรไทย อินเตอร์เนชั่นแนล ชูการ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (มหาชน) ที่มีความกรุณาเตรียมท่อนพันธุ์อ้อยและบ่อปูนซีเมนต์ รวมถึงช่วยเหลือและวัดการวัดวิเคราะห์คุณภาพอ้อยสำหรับการทดลองในบ่อปลูก และการทดลองในไร่ ขอขอบคุณบริษัท ไบโอฟิล เทคโนโลยี จำกัด ที่ช่วยให้การบริการการขยายขนาดการผลิตสารชีวภัณฑ์ ขอขอบคุณอาจารย์ ดร. นิชากร คอนดี คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ช่วยติดต่อประสานงาน การใช้ถังหมักเพื่อการพัฒนาสารชีวภัณฑ์ และขอขอบคุณนางสาวปรีสรินทร์ นววิมาน ผู้ช่วยวิจัยในช่วงแรกของการทำโครงการ สุดท้ายนี้ขอขอบคุณนางสาวต้องตา สายทอง สาขาวิชาจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งเป็นผู้ช่วยวิจัยหลักของโครงการนี้ ที่ตั้งใจทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ และเสนอแนวคิดในการทำการทดลองต่าง ๆ

คณะนักวิจัย

บทสรุปผู้บริหาร

ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

อ้อย เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการอุตสาหกรรมได้ ซึ่งการปลูกอ้อยจำเป็นจะต้องได้รับปริมาณน้ำและธาตุอาหารอย่างเพียงพอตลอดการเพาะปลูก หากเกิดภาวะขาดน้ำจะทำให้ผลผลิตอ้อยลดน้อยลงและไม่เพียงพอต่อความต้องการของโรงงานอุตสาหกรรม แต่การปลูกอ้อยในประเทศไทยส่วนใหญ่อาศัยปริมาณน้ำฝนเป็นหลักเนื่องจากพื้นที่เพาะปลูกส่วนใหญ่อยู่นอกเขตชลประทาน อีกทั้งประเทศไทยจัดอยู่ในภูมิอากาศชื้นและแล้ง ความแห้งแล้งจึงเป็นปัจจัยเครียดทางกายภาพหลักที่ทำให้อ้อยมีการเจริญลดลง ถึงแม้ว่าพืชจะมีการปรับตัวเมื่อเข้าสู่ภาวะแล้งเองแล้ว ยังจำเป็นต้องอาศัยกิจกรรมจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (Plant growth promoting rhizobacteria: PGPR) ซึ่งทำหน้าที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญและความทนต่อความแห้งแล้งในพืชผ่านกระบวนการต่าง ๆ โดยงานวิจัยก่อนหน้านี้ของคณะผู้วิจัย พบว่าการเติมโดยสารชีวภัณฑ์และวัสดุตรึงลงในดิน ช่วยให้ต้นกล้าอ้อยสามารถทนทานต่อสภาวะแล้งได้ดี โดยมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดในการทดลองระดับกระถางที่สภาวะการปลูกแบบห้องปฏิบัติการ สารชีวภัณฑ์มีองค์ประกอบหลัก คือ แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 อย่างไรก็ตามสภาพแวดล้อมระดับไร่นามีความแตกต่างจากห้องปฏิบัติการและมีความแปรปรวนสูง นอกจากนี้การติดตามการเจริญของอ้อยตลอดช่วงระยะการเจริญภายหลังจากการเติมหัวเชื้อแบคทีเรียยังไม่มีการศึกษามาก่อน งานวิจัยนี้จึงได้ติดตามการเจริญ การทนแล้ง และผลผลิตของต้นอ้อยที่ปลูกในระดับไร่นา เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้น และเพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปปรับปรุงประสิทธิภาพและการอยู่รอดของหัวเชื้อแบคทีเรียในระหว่างการทำไร่อ้อยต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ 2 ข้อ คือ 1) เพื่อพัฒนาวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ระดับไร่นาให้มีประสิทธิภาพ สามารถเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยได้ และ 2) เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ โดยประกอบด้วยขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียและสารชีวภัณฑ์ที่ไม่ซับซ้อน และใช้สารเคมีเกรดอุตสาหกรรม

ระเบียบวิธีวิจัย

1) การเตรียมสารชีวภัณฑ์และการทดสอบการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช โดยนำแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 ที่เก็บรักษาในคลังจุลินทรีย์ของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มาเพาะเลี้ยงแบบแยกกัน เมื่อจะใช้เป็นสารชีวภัณฑ์จึงผสมหัวเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดในอัตราส่วน 1:1:1:1

2) การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสถานะแล้ง ในระดับบ่อปลูกบริเวณกองวิชาการดงบ้านโพธิ์ บริษัทเกษตรไทย อินเตอร์เนชั่นแนล ชูการ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (มหาชน) ต.หัวดง อ.แก้งเตี้ย จ.นครสวรรค์ บ่อปลูกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร (มีพื้นที่ปลูก 0.50 ตารางเมตร) แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดที่ไม่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ ชุดที่มีการเติมวัสดุตรึงเท่านั้น ชุดที่มีการเติมวัสดุตรึงและสารชีวภัณฑ์ผสม และชุดที่มีการเติมวัสดุตรึงและกลุ่มแบคทีเรียอื่น ๆ โดยแช่ต้นกล้าอ้อยสายพันธุ์ขอนแก่น 3 ในสารชีวภัณฑ์ก่อนปลูกเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง เพื่อให้แบคทีเรียเกาะที่ผิวราก นอกจากนี้ทำการตรึงสารชีวภัณฑ์ในบ่อปลูกอ้อยเป็นระยะ ตรวจสอบติดตามการเจริญของอ้อยที่ภาวะที่ให้น้ำปกติและในสถานะแล้ง

3) การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสถานะแล้ง ในระดับไร่นา โดยใช้แปลงทดลองของกองวิชาการดงบ้านโพธิ์ บริษัทเกษตรไทย อินเตอร์เนชั่นแนล ชูการ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (มหาชน) ต.หัวดง อ.แก้งเตี้ย จ.นครสวรรค์ แต่ละแปลงจะมีร่องปลูกอ้อย 5 ร่อง (ความยาว 8 เมตร กว้าง 1.5 เมตร) และแต่ละร่องวางท่อนอ้อย 2 แถว แถวละ 16 ท่อน ท่อนละ 2-3 ตา ซึ่งสอดคล้องกับวิธีปลูกอ้อยของเกษตรกร แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดที่ไม่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ (T1), ชุดที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสมอย่างเดียว (T2), และชุดที่มีการเติมวัสดุตรึงร่วมกับสารชีวภัณฑ์ผสม (T3) วัสดุตรึงประกอบด้วย กากเนื้อในเมล็ดปาล์ม ถ่านชีวภาพ และเถ้าลอยผสมกัน ในอัตราส่วน 1:1:1 แปรละ 9 กิโลกรัม ก่อนวางท่อนพันธุ์ เพื่อให้แบคทีเรียตรึงบนผิววัสดุ การเตรียมท่อนพันธุ์ทำโดยแช่ท่อนพันธุ์อ้อยสายพันธุ์ขอนแก่น 3 ในสารชีวภัณฑ์ก่อนปลูกเป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง เพื่อให้แบคทีเรียเกาะที่ผิวท่อนอ้อย นอกจากนี้รดสารชีวภัณฑ์ในแปลงปลูกอ้อยแปลงละ 65 ลิตร ช่วงเย็น เดือนละครั้ง ติดต่อกัน 3 เดือน เพื่อส่งเสริมการเจริญของท่อนอ้อย ทั้งนี้ใช้วิธีการปลูกและการดูแลอ้อยแบบเดียวกับเกษตรกรทั่วไป

4) การพัฒนาวิธีผลิตชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ โดยคัดเลือกแหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูกเพื่อใช้ลดต้นทุนการผลิตสารชีวภัณฑ์ผสม ติดตามจำนวนแบคทีเรียหลังจากการเพาะเลี้ยงและการเก็บรักษา แล้วคำนวณต้นทุนของการผลิตและใช้สารชีวภัณฑ์ผสม

ผลการวิจัย

จากการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ในการส่งเสริมการเจริญของพืชด้านต่าง ๆ พบว่าแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความสามารถในการผลิตฮอร์โมนพืช, ผลิตไบโอฟิล์ม, ผลิตซิเดอรอฟอร์, สร้างแคแทเลส, ละลายฟอสเฟส และตรึงไนโตรเจน ในปริมาณที่แตกต่างกันออกไป และเมื่อรวมกลุ่มแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด เข้าเป็นสารชีวภัณฑ์ผสม ทำให้ความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของพืชเพิ่มมากขึ้นด้วย

การทดสอบประสิทธิภาพการใช้กลุ่มแบคทีเรียผสมร่วมกับการใช้วัสดุตรึงต่อการเจริญของอ้อยในระดับบ่อปลูก พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ มีปริมาณแบคทีเรียรอบรากพืชสูงกว่าในชุดควบคุม และเมื่อเวลาผ่านไปจำนวนแบคทีเรียมีลดลงเพียงเล็กน้อย ดังนั้นปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่เติมลงไป 2-3 ลิตรต่อตารางเมตร เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่ทำให้จุลินทรีย์อยู่รอดในดินได้ และผลจากการจำลองภาวะแล้งและวัดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในระยะสร้างน้ำตาลของอ้อย ได้แก่ ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ภายในใบ ค่าดัชนีพื้นที่ใบ ค่าการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ และค่า Crop water stress index พบว่าอ้อยสามารถรักษาปริมาณน้ำที่เก็บสะสมภายในใบในช่วงภาวะแล้งได้ และยังสามารถรักษาการสังเคราะห์แสงได้ นอกจากนี้สามารถฟื้นตัวได้หลังภาวะแล้งได้อีกด้วย จากนั้นภายหลังการเก็บเกี่ยวพบว่าอ้อยที่เติมสารชีวภัณฑ์ผสมมีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบสูงถึง 19.04 ตันต่อไร่ ซึ่งมากกว่าชุดที่ไม่ได้เติมแบคทีเรียถึง 3.98 ตันต่อไร่ และมีค่าความหวานอยู่ในปริมาณที่รัฐบาลกำหนด ดังนั้นสารชีวภัณฑ์ผสมทำให้อ้อยมีการเจริญเติบโตมากขึ้น และผลการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยายังแสดงให้เห็นอีกว่าสามารถช่วยให้อ้อยทนต่อภาวะแล้งได้อีกด้วย

การทดสอบสารชีวภัณฑ์ต่อการเจริญของอ้อยในระดับไร่ นา พบว่าในระยะตั้งตัวชุดการทดลองชุดที่มีการเติมวัสดุตรึงร่วมกับสารชีวภัณฑ์ผสม (T3) มีจำนวนหน่อเจริญสูงถึง 8,702.72 หน่อต่อไร่ ซึ่งเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมแบคทีเรีย มีจำนวนหน่อเฉลี่ยเพียง 6,982.18 หน่อต่อไร่ ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่าสารชีวภัณฑ์ผสมมีส่วนช่วยให้อ้อยมีการเจริญเติบโต และมีการแตกหน่อที่ดีขึ้น เมื่อถึงระยะเวลาการเก็บเกี่ยวพบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ อ้อยมีการเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ มากที่สุด โดยชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์เท่านั้น (T2) และชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์และวัสดุพา (T3) มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ย 22.88 และ 21.05 ตันต่อไร่ ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์ที่มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ย 17.83 ตันต่อไร่ โดยน้ำตาลอ้อยของทุกชุดการทดลองมีคุณภาพดีและมีค่าความหวานอยู่ในปริมาณที่รัฐบาลกำหนด

สารชีวภัณฑ์ที่เกษตรกรนำไปใช้ได้นั้น จำเป็นจะต้องรักษาจำนวน และกิจกรรมของแบคทีเรียได้ ต้องสามารถนำไปใช้งานได้ง่าย และมีราคาถูก เพื่อเพิ่มกำไรให้กับเกษตรกร ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้เลือกผลิตสารชีวภัณฑ์ผสมสูตรน้ำ ที่ใช้งานง่าย สามารถพ่นลงตามแนวการปลูกอ้อยได้ และเลือกใช้โมลาส ซึ่งเป็นผลผลิตพลอยได้จากการผลิตน้ำตาลมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ จากการทดสอบพบว่าอาหารโมลาสสามารถเพาะเลี้ยงแบคทีเรียให้มีจำนวนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่หัวเชื้อแบคทีเรียทั่วไปควรมี โดยสามารถนำโมลาสผสมกับ PEG6000 ไปใช้เตรียมหัวเชื้อชีวภาพที่มีการเก็บ

รักษายาวนานเพื่อการจำหน่าย ซึ่งจะมีต้นทุน 5.21 บาทต่อลิตร และใช้โมลาสอย่างเดียวเพื่อการขยายหัวเชื้อในปริมาณมากเมื่อต้องการใช้ระหว่างการปลูกอ้อย ซึ่งจะมีต้นทุนเพียง 0.28 บาทต่อลิตร จากเดิมที่ใช้อาหารสำเร็จรูปมีราคาสูงถึงลิตรละ 45 บาท

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้พบว่าสารชีวภัณฑ์มีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตอ้อย และสามารถใช้เป็นต้นแบบเพื่อส่งเสริมให้ผู้ประกอบการ/ชุมชนมีรายได้จากการจำหน่ายผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ผสม นอกจากนี้หากมีการใช้สารชีวภัณฑ์ผสมอย่างแพร่หลาย ยังส่งผลทำให้ปริมาณน้ำหนกอ้อยเข้าหีบเพียงพอต่อความต้องการของโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับประเทศได้อีกด้วย

อย่างไรก็ดีเกษตรกรจำเป็นต้องเติมสารชีวภัณฑ์ปริมาณค่อนข้างมาก ทำให้มีค่าใช้จ่ายต่อไร่สูง จึงควรหาอัตราการใช้สารชีวภัณฑ์ที่น้อยที่สุดระหว่างการปลูกอ้อย และศึกษาปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่อาจจะมีผลต่อประสิทธิภาพของแบคทีเรีย นอกจากนี้อาจจะเพิ่มชนิดแบคทีเรียและราที่มีประโยชน์ในสารชีวภัณฑ์ เพื่อส่งเสริมการทำงานให้ดียิ่งขึ้น

สำหรับการนำสารชีวภัณฑ์มาใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ และการส่งเสริมธุรกิจที่ใช้ทรัพยากรจุลินทรีย์ในประเทศ จำเป็นต้องทำการศึกษาวิจัยเพิ่ม เพื่อหาตลาดในการจำหน่ายสารชีวภัณฑ์อื่น ๆ และเพิ่มมูลค่าของสารชีวภัณฑ์ ทั้งนี้คาดว่าสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นจะสามารถใช้กับพืชที่มีราคาจำหน่ายสูงแต่ไม่ทนต่อความแห้งแล้ง เช่น ผักสลัด ถั่วฝักยาว ไม้ประดับ และผลไม้เมืองหนาว ได้

ในด้านวิชาการควรมีการวิจัยเรื่องการผลิตสารทุติยภูมิอื่น ๆ ของหัวเชื้อแบคทีเรียที่ใช้เมื่ออาศัยบริเวณรากพืช เพื่อยืนยันถึงประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ผสม และควรศึกษาการเปลี่ยนแปลงของความหนาแน่นและชนิดของจุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืช เพื่อนำมาอธิบายบทบาทของสารชีวภัณฑ์ผสมที่มีผลต่อการเจริญของอ้อย รวมถึงความสัมพันธ์กับกลุ่มแบคทีเรียรอบรากพืชประจำถิ่นได้

บทคัดย่อ

ผลผลิตอ้อยในประเทศไทยมีแนวโน้มลดลงเนื่องจากการเกิดปัญหาภัยแล้งอย่างรุนแรง การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (PGPR) เป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยให้อ้อยสามารถเจริญเติบโตขึ้นได้โดยผ่านกระบวนการต่าง ๆ ของแบคทีเรีย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้คัดเลือกแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 มาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ผสมโดยแบคทีเรียแต่ละชนิดมีสมบัติที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญของพืชแตกต่างกัน และเมื่อรวมแบคทีเรียเข้าด้วยกันจะมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น โดยสารชีวภัณฑ์ผสมมีความสามารถในการผลิตแคแทเลส การตรึงไนโตรเจน การสร้างไบโอฟิล์ม การละลายฟอสเฟต การสร้าง Indole-3-acetic acid และการสร้างซิเตอร์โรฟอร์ เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในสภาพแวดล้อมในระดับไร่ นา ผู้วิจัยเริ่มจากการทดสอบสารชีวภัณฑ์ผสมในการปลูกอ้อยในบ่อปลูกซีเมนต์ที่จังหวัดนครสวรรค์ เทียบกับชุดการทดลองต่าง ๆ ที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์และเติมกลุ่มแบคทีเรียชนิดอื่น พบว่าลักษณะทางสรีรวิทยาของอ้อยในแต่ละชุดการทดลองมีความใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาปลูก นอกจากนี้ต้นอ้อยสามารถรักษาการทำงานของเซลล์ได้แม้เข้าสู่ภาวะแล้ง และอ้อยยังสามารถฟื้นตัวได้ดีหลังจากให้น้ำ เมื่อถึงช่วงเวลาเก็บเกี่ยวพบว่าชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์ผสมมีน้ำหนักอ้อยเฉลี่ย 19.04 ตันต่อไร่ ในขณะที่ชุดควบคุมที่ไม่เติมแบคทีเรียมีน้ำหนักเฉลี่ย 15.06 ตันต่อไร่ ต่อมาผู้วิจัยจึงขยายการทดสอบสารชีวภัณฑ์ในระดับไร่ นา พบว่าในระยะตั้งตัวต้นอ้อยในชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์มีจำนวนหน่อเฉลี่ยเกิดขึ้นมากที่สุด คือ 8,702.72 หน่อต่อไร่ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมที่มีจำนวนหน่อ 6,982.18 หน่อต่อไร่ เมื่อถึงระยะเวลาการเก็บเกี่ยวพบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ อ้อยมีการเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ ดี โดยชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์เท่านั้น (T2) และชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์และวัสดุพา (T3) มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ย 22.88 และ 21.05 ตันต่อไร่ ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์ที่มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ย 17.83 ตันต่อไร่ โดยอ้อยมีคุณภาพดีและมีค่าความหวานอยู่ในปริมาณที่รัฐบาลกำหนด นอกจากนี้พบว่าสามารถใช้อาหารโมลาสเพาะเลี้ยงแบคทีเรียให้เจริญเติบโตตามเกณฑ์ของหัวเชื้อแบคทีเรียเชิงพาณิชย์ได้ (8.39 - 9.09 log CFU ต่อ มิลลิลิตร) โดยสามารถนำโมลาสผสมกับ PEG6000 ไปใช้เตรียมหัวเชื้อชีวภาพที่มีการเก็บรักษายาวนานเพื่อการจำหน่ายซึ่งจะมีต้นทุน 5.21 บาทต่อลิตร และใช้โมลาสอย่างเดียวเพื่อการขยายหัวเชื้อสำหรับใช้ระหว่างการปลูกอ้อย ซึ่งจะมีต้นทุนเพียง 0.28 บาทต่อลิตร ดังนั้นสารชีวภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตของอ้อยได้ แต่ควรหาอัตราการใช้สารชีวภัณฑ์ที่น้อยที่สุดระหว่างการปลูกอ้อย เพื่อลดค่าใช้จ่ายต่อไป

คำสำคัญ: สารชีวภัณฑ์, แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต, ต้นอ้อย, ภาวะแล้ง

Abstract

Sugarcane production in Thailand tended to decrease because of drought problems. Application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) is an alternative approach to enhance sugarcane growth through various mechanisms of bacteria. This research selected 4 plant growth promoting rhizobacteria including *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 and *Weissella cibaria* PN3, to formulate as bioinoculant. Each bacterium showed different plant growth promoting activities, and their efficiencies including production of catalase, indole-3-acetic acid and siderophore, forming biofilm, fixing nitrogen and solubilizing phosphate were increased when combined. To confirm their efficiency under field condition, the bioinoculant was initially applied to sugarcane in cement pot at Nakonsawan province, compared with the un-inoculated treatment and treatment with other bacterial consortia. The result showed that the physiology of sugarcane in each treatment were similar. In addition, sugarcane plants were able to maintain cell function even in drought condition and recovered well after watering. After harvested, the treatment with bioinoculant had the averaged cane weight of 19.04 tons/rai, while the un-inoculated treatment had the averaged cane weight of 15.06 tons/rai. Later, the experiment was scale-up to a field plot. At germination-tillering phase, the treatment with bioinoculant had the highest number of tillers at 8,702.72 tillers/rai, while the un-inoculated treatment had 6,982.18 tillers/rai. The sugarcane from treatment with bioinoculant showed good growth characteristics at the harvest phase. The averaged cane weight from the treatment with only bioinoculant (T2) and the treatment with bioinoculant and carrier (T3) were 22.88 and 21.05 tons/rai, respectively. On the other hand, the un-inoculated treatment had the averaged cane weight of 17.83 tons/rai. The sugarcane juice had the quality corresponded to the government standard. Moreover, the results showed that molasses allowed bacterial growth to reach the commercial inoculum values of 8.39 - 9.09 log CFU/mL. Molasses could be mixed with PEG6000 for the preparation of commercial bioinoculant and long-term storage, which had the cost of 5.21 Baht/L. In addition, molasses alone could be used to increase the volume of bioinoculant before applying to sugarcane field at 0.28 Baht/L. In summary, the developed bioinoculant could be applied to increase sugarcane yield. However, the lowest bioinoculant application rate should be studied to further reduce the cost.

Keyword: Bioinoculant, Plant growth promoting rhizobacteria, Sugarcane, Drought

สารบัญเรื่อง

กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทสรุปผู้บริหาร.....	ข
บทคัดย่อ.....	ฉ
Abstract	ช
สารบัญเรื่อง.....	ซ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 หลักการและเหตุผล.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	4
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ต้นอ้อยและปัญหาการเพาะปลูกในประเทศไทย	5
2.2 บทบาทของจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญของพืช	9
2.3 สารชีวภัณฑ์.....	16
บทที่ 3.....	23
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย	23
3.1 แบบที่เรีที่ใช้ในการทดลอง	23
3.2 วัสดุตั้งที่ใช้ในการทดลอง.....	23
3.4 วิธีการดำเนินงาน.....	25

สารบัญเรื่อง

3.4.1 การเตรียมสารชีวภัณฑ์และการทดสอบการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช	253
3.4.2 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับบ่อปลูก	26
3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับไร่เนา	32
3.4.4 การพัฒนาวิธีผลิตชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์	36
บทที่ 4 ผลการวิจัย	39
4.1 การเตรียมสารชีวภัณฑ์	39
4.2 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับบ่อปลูก	40
4.2.1 จำนวนประชากรจุลินทรีย์ในดินรอบรากอ้อยในบ่อปลูก	40
4.2.2 ผลการเจริญของต้นอ้อยในระดับบ่อปลูก	41
4.3 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับไร่เนา	53
4.3.1 จำนวนหน่อและความสูงในระยะตั้งตัวและแตกกอ	53
4.3.2 จำนวนประชากรจุลินทรีย์ในดินรอบรากอ้อยในไร่	54
4.3.3 ผลการเจริญของต้นอ้อยในระดับไร่เนา	55
4.4 การพัฒนาวิธีการผลิตสารชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์	64
บทที่ 5 อภิปรายและวิจารณ์ผล	70
5.1 การเตรียมสารชีวภัณฑ์	70
5.2 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับบ่อปลูก	72

สารบัญเรื่อง

5.3 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยใน ภาวะแล้ง ในระดับไร่นา	74
5.4 การพัฒนาวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์.....	75
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	77
6.1 สรุปผลการวิจัย.....	77
6.2 ข้อจำกัดในการใช้งานและข้อเสนอแนะ.....	77
บรรณานุกรม	79
ภาคผนวก	89
สรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 1 หน้ากระดาษ A4 สำหรับประชาสัมพันธ์.....	89
สรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 5 บรรทัด	91
รายงานวิจัยในรูปแบบ info graphic	92
ภาคผนวก ที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย	93
ภาคผนวก ก.....	93
ภาคผนวก ข.....	98
ภาคผนวก ค.....	111
ภาคผนวก ง.....	123
คณะผู้วิจัย.....	126

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ตัวอย่างการใช้แบคทีเรีย PGPR ในการส่งเสริมการเจริญของพืช	14
ตารางที่ 2 ตัวอย่างการนำผลผลิตทางการเกษตรมาใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการพัฒนาสารชีวภัณฑ์ที่มีราคาถูกลง	19
ตารางที่ 3 ตัวอย่างการวิจัยที่มีการเติมสารปกป้องเซลล์หรือสารเติมแต่งในสารชีวภัณฑ์	21
ตารางที่ 4 ปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่ใช้สำหรับเติมระหว่างการทดสอบ	28
ตารางที่ 5 การทดสอบคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช	39
ตารางที่ 6 ปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่ใช้สำหรับเติมระหว่างการทดสอบ	40
ตารางที่ 7 ลักษณะการเจริญของอ้อยในบ่อปลูก	42
ตารางที่ 8 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นอ้อยในการทดลองระดับไร่นา	56
ตารางที่ 9 ค่าการดูดกลืนแสงของแบคทีเรียที่วัดได้ภายหลังการเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ	65
ตารางที่ 10 ราคาต้นทุน และปริมาณที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโมลาส สำหรับการผลิตสารชีวภัณฑ์	67
ตารางที่ 11 ต้นทุนการใช้สารชีวภัณฑ์ระหว่างปลูกอ้อยต่อไร่	69
ตารางที่ 12 คุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของพืชในสารชีวภัณฑ์ผสมเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้า	71

สารบัญภาพ

รูปที่ 1 ลักษณะของต้นอ้อยหลังระยะฟื้นตัวจากสภาวะแล้งเป็นเวลา 10 วัน.....	3
รูปที่ 2 ลักษณะการเจริญของอ้อยจากท่อนพันธุ์อ้อย ซึ่งประกอบด้วยการยืดยาวของรากจากบริเวณปมราก และการแตก หน่ออ้อย.....	6
รูปที่ 3 ลักษณะการเจริญเติบโตของอ้อยแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะตั้งตัว ระยะแตกกอ ระยะสร้างน้ำตาล และ ระยะสุกแก่.....	7
รูปที่ 4 การเปรียบเทียบปริมาณพื้นที่ปลูกอ้อย ปริมาณอ้อย ปริมาณน้ำฝน ผลผลิตต้นต่อไร่ระหว่างปี 2553/54 – 2562/63	8
รูปที่ 5 คุณสมบัติต่าง ๆ ของแบคทีเรียในการส่งเสริมการเจริญของพืช	11
รูปที่ 6 กลไกการผลิต ACC deaminase และการผลิต IAA โดยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช.....	13
รูปที่ 7 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการพัฒนาสารชีวภัณฑ์.....	18
รูปที่ 8 วัสดุจริงที่ใช้ในการทดลอง	24
รูปที่ 9 บริเวณพื้นที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญของอ้อย ณ กองวิชาการดงบ้าน โพธิ์ บริษัทเกษตรไทย อินเตอร์เนชั่นแนล ชูการ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (มหาชน)	24
รูปที่ 10 แบคทีเรียที่ใช้ในการทำวิจัย ประกอบด้วย ซึ่งประกอบด้วย <i>Bacillus thuringiensis</i> B2, <i>Bacillus</i> <i>stratophericus</i> L19, <i>Bacillus altitudinis</i> T17 และ <i>Weissella cibaria</i> PN3	25
รูปที่ 11 การเตรียมอ้อยสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญของอ้อยในระดับปอปลูก	28
รูปที่ 13 ตัวอย่างดินบริเวณรอบรากอ้อย และการนับจำนวนจุลินทรีย์ในดินบน 96 well plate	29
รูปที่ 14 อุปกรณ์ในการตรวจติดตามการฟื้นตัวของอ้อย	30
รูปที่ 15 ลักษณะการวัดการตอบสนองของใบต่อฟลูออเรสเซนซ์ ด้วยเครื่อง Handy PEA.....	30
รูปที่ 16 การตรวจติดตามการเจริญทางกายภาพของอ้อยโดยเกษตรกร.....	31
รูปที่ 17 ขั้นตอนการเพิ่มขนาดการเพาะเลี้ยงเชื้อและการผลิตหัวเชื้อแบคทีเรียในถังหมักขนาด 130 ลิตร	33
รูปที่ 18 การเตรียมท่อนพันธุ์สำหรับการปลูกระดับไร่นา	34
รูปที่ 19 การบำรุงดูแลเพิ่มเติมระหว่างการทดสอบในระดับไร่นา	35
รูปที่ 20 การเก็บและวัดการเจริญทางสัณฐานของอ้อยภายหลังการเพาะปลูก 12 เดือน.....	36

รูปที่ 21	ภายหลังการบ่มเขย่ากลุ่มแบคทีเรียทดสอบในอาหารโมลาส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	37
รูปที่ 22	จำนวนจุลินทรีย์ในดินรอบรากอ้อยในการทดลองระดับบ่อปลูก	41
รูปที่ 23	ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) จำนวนลำอ้อย ข) ความสูงของต้นอ้อย และ ค) ความยาวปล้องอ้อย	43
รูปที่ 24	ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) น้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ย และ ข) น้ำหนักอ้อยเข้าหีบ	44
รูปที่ 25	ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) ขนาดลำ ข) น้ำหนักลำ และ ค) น้ำหนักใบ	45
รูปที่ 26	ปริมาณความชื้นในดินในการทดสอบการฟื้นตัวของต้นอ้อยหลังภาวะแล้งในระดับบ่อปลูก	46
รูปที่ 27	ผลปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบในการทดสอบการฟื้นตัวของต้นอ้อยหลังภาวะแล้งในระดับบ่อปลูก	47
รูปที่ 28	ผลดัชนีพื้นที่ใบในการทดสอบการฟื้นตัวของต้นอ้อยหลังภาวะแล้งในระดับบ่อปลูก	48
รูปที่ 29	ผลประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สองของการทดสอบการฟื้นตัวของอ้อยหลังภาวะแล้งในระดับบ่อปลูก	49
รูปที่ 30	ผล Crop water stress index ของการทดสอบการฟื้นตัวของอ้อยหลังภาวะแล้งในระดับ	50
รูปที่ 31	ปริมาณค่าบrix ค่าโพล และค่าเส้นใยของอ้อยที่ได้จากการทดสอบระดับบ่อปลูก	51
รูปที่ 32	ปริมาณร้อยละของน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ของอ้อยที่ได้จากการทดสอบระดับบ่อปลูก	52
รูปที่ 33	จำนวนหน่อที่เจริญในระยะตั้งตัว (เดือนที่ 2) ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในภาวะแล้ง ในระดับไร่	53
รูปที่ 34	จำนวนหน่อ และความสูงของต้นอ้อย (เดือนที่ 4 และ 6) ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในภาวะแล้ง ในระดับไร่	54
รูปที่ 35	จำนวนจุลินทรีย์ในดินรอบรากอ้อยในการทดลองระดับไร่	55
รูปที่ 36	ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) ความสูงของต้นอ้อย และ ข) ขนาดลำอ้อย ในการทดลองระดับไร่	58
รูปที่ 37	ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) น้ำหนักลำอ้อย และ ข) ความยาวลำอ้อย ในการทดลองระดับไร่	58
รูปที่ 38	ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) จำนวนปล้อง และ ข) ความยาวปล้อง ในการทดลองระดับไร่	59
รูปที่ 39	ปริมาณน้ำหนักอ้อยในไร่เข้าหีบภายหลังการเก็บเกี่ยว ในการทดลองระดับไร่	60
รูปที่ 40	ผลการวัดดัชนีพื้นที่ใบในระยะสร้างน้ำตาลและสุกแก่ของอ้อยในการทดสอบระดับไร่	61
รูปที่ 41	ผลการตอบสนองของใบต่อแสงฟลูออเรสเซนซ์ในระยะสร้างน้ำตาลและสุกแก่ของอ้อย ในการทดสอบระดับไร่	62
รูปที่ 42	ปริมาณค่าบrix ค่าโพล และค่าเส้นใยของอ้อยที่ได้จากการทดสอบระดับไร่	63
รูปที่ 43	ผลวิเคราะห์คุณภาพน้ำตาล	64
รูปที่ 44	ผลการเจริญของแบคทีเรียผสมที่ใช้ผลิตสารชีวภัณฑ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง ..	66

รูปที่ 45 แผนงานสำหรับการนำสารชีวภัณฑ์ไปใช้ในแปลงเกษตร	68
รูปที่ 46 ความสามารถของสารชีวภัณฑ์ผสมจากงานวิจัยนี้ในการส่งเสริมการเจริญของพืช	72

บทที่ 1

บทนำ

1.1 หลักการและเหตุผล

อ้อย (*Sugarcane, Saccharum officinarum* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยแต่ละปีจะมีการผลิตอ้อยผลิตน้ำตาลและส่งออกราคาสูงถึง 1,000 บาท/ตัน สร้างรายได้ให้เกษตรกรมากถึง 24,000 บาทต่อไร่) โดยปริมาณน้ำถือเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตอ้อย หากอ้อยได้รับน้ำอย่างเพียงพอ การเจริญเติบโตของอ้อยจะเพิ่มปริมาณสูงขึ้น โดยทั่วไปแล้วการปลูกอ้อยส่วนใหญ่จะใช้น้ำฝนเป็นหลัก และให้น้ำเพิ่มในช่วงฝนทิ้งช่วง หรือการปลูกอ้อยในช่วงที่ไม่มีฝน (ปลูกอ้อยข้ามแล้ง) (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2562) ดังนั้นปัญหาความแห้งแล้งและฝนทิ้งช่วงจึงส่งผลกระทบต่ออ้อยโดยตรง ทำให้อ้อยเกิดภาวะเครียด (Stress) และมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิต โดยอ้อยที่ขาดน้ำจะมีผลผลิตลดลงอย่างเห็นได้ชัด ปัจจุบันมีการหาแนวทางแก้ไข เช่น การใช้สารเคมีปรับปรุงดิน การหมักพรวนดินและพลิกหน้าดิน และการเติมวัสดุกักเก็บความชื้น แต่วิธีเหล่านี้มีค่าใช้จ่ายสูงและอาจจะทำให้เกิดการสะสมของสารเคมีอันตรายในดิน สำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืชให้สามารถทนต่อความแห้งแล้ง เช่น การคัดเลือกพืชลูกผสมสายพันธุ์ทนแล้ง และการปรับปรุงพันธุกรรมพืช มีข้อจำกัดในเรื่องของระยะเวลาในการผลิตพันธุ์พืช เพราะอ้อยมีระบบพันธุกรรมที่ซับซ้อนเป็นพืชแบบโพลีพลอยด์และโครโมโซมมีลักษณะโมแซคสูง กลไกที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้งมีความซับซ้อน และครอบคลุมการเปลี่ยนแปลงในระดับสรีรวิทยา ชีวเคมี และชีววิทยาโมเลกุล (Vital และคณะ, 2017) ทำให้การปรับปรุงพันธุ์และการดัดแปลงพันธุกรรมของอ้อยทำได้ยากมาก (C. Li และคณะ, 2016) ในประเทศไทยยังมีข้อจำกัดที่สำคัญอีกประการ คือ พืชดัดแปลงพันธุกรรมเหล่านี้ ไม่ได้รับอนุญาตให้มีการเพาะปลูกในประเทศ ปัจจุบันในต่างประเทศเริ่มมีการใช้จุลินทรีย์ในดิน เช่น รา Arbuscular mycorrhiza (AMF) แบคทีเรียบริเวณรากพืช (Rhizobacteria) และแบคทีเรียในเซลล์พืช (Endophytic bacteria) มาเป็นหัวเชื้อสำหรับเคลือบเมล็ดพืชหรือใส่ในดินระหว่างการเพาะปลูกพืชเมื่อปลูกในสภาวะแห้งแล้งหรือสภาวะที่มีทรัพยากรจำกัด โดยพบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญของพืชและคงปริมาณผลผลิตของพืชเศรษฐกิจได้ ทั้งนี้นิยมใช้แบคทีเรียทนแล้ง (Drought tolerant bacteria) มาผลิตเป็นหัวเชื้อเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชระหว่างการขาดน้ำ เนื่องจากแบคทีเรียมีความหลากหลายของสายพันธุ์มาก สามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้เร็ว และเพาะเลี้ยงง่าย แบคทีเรียทนแล้งที่สามารถเจริญบริเวณรากพืชแบบไบโอฟิล์ม สามารถเพิ่มความสามารถในการใช้น้ำของพืชให้มากขึ้น หรือ ให้พืชมีความทนทานต่อสภาวะแล้ง แต่ไม่ได้ทำให้ผลผลิตพืชลดลง ดังนั้น การคัดเลือกหัวเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติดังกล่าวเพื่อนำมาใช้ในการส่งเสริมการเจริญของพืช เช่น นำมาเคลือบบนเมล็ดพืชก่อนปลูก ผสมกับวัสดุปลูก หรือการรดดินเพิ่มเติมในช่วงระหว่างสภาวะแล้ง จึงเป็นทางเลือกที่จะส่งเสริมประสิทธิภาพการทนต่อสภาวะแล้งของพืชได้ตัวอย่างการใช้แบคทีเรียเพื่อส่งเสริมการเจริญของอ้อยในสภาวะ

แล้ง เช่น (Moutia และคณะ, 2010) พบว่าในสภาวะแล้งแบคทีเรีย *Azospirillum* sp. ช่วยให้อ้อยพันธุ์ M 1176/77 มีความยาวยอดสูงขึ้น 15 เปอร์เซ็นต์ และมีมวลรากมากขึ้น 75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของหัวเชื้อแบคทีเรียมีความจำเพาะต่อพันธุ์ของอ้อย

แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (Plant growth promoting bacteria, PGPB) มีความหลากหลายสายพันธุ์ และมีกิจกรรมที่ต่างกัน PGPR ที่คัดเลือกมาเฉพาะจะช่วยชักนำให้เกิดการทนแล้งในพืชผ่านกลไกต่าง ๆ เช่น การผลิต เอนไซม์ ACC deaminase ซึ่งจะยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์เอธิลีนส่งผลให้บรรเทาภาวะเครียด และส่งเสริมการเจริญของพืช (Etesami และ Maheshwari, 2018) ผลิตเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระเช่นเอนไซม์ Catalase หรือ Ascorbate peroxidase ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันและโปรตีนที่ทำให้เซลล์ถูกทำลายและการผลิตฮอร์โมนพืชเช่น IAA ช่วยเพิ่มความยาวรากในการดูดซึมน้ำและสารอาหารนำไปสู่การเพิ่มการเจริญและจำนวนของแบคทีเรียบนผิวรากและรอบรากพืช (Vacheron และคณะ, 2013) นอกจากนี้ PGPB ยังช่วยเพิ่มสารอาหารในดินแก่พืชโดยการละลายฟอสเฟตผลิตซิเดอรโรฟอร์และตรึงไนโตรเจนในอีกแนวทางหนึ่งพบว่า PGPB ช่วยเพิ่มการสะสมตัวละลายในพืชเพื่อรักษาความเต่งของเซลล์และช่วยลดการสูญเสียน้ำ (Serraj และ Sinclair, 2002) อีกทั้งยังมีการผลิต extracellular polymeric substances (EPS) เพื่อช่วยป้องกันเซลล์และช่วยให้เซลล์ยึดเกาะกับดินและรากได้ดียิ่งขึ้น (Ngumbi และ Kloepper, 2016) รายงานก่อนหน้านี้พบว่าแบคทีเรียทนแล้งที่คัดแยกมีหลากหลายชนิด (Vurukonda และคณะ, 2016; Etesami และ Maheshwari, 2018) แต่การศึกษาของ Yasmin และคณะ (2017) ที่ทดสอบกลุ่มจุลินทรีย์กับการปลูกข้าวโพดในสภาวะแล้งพบว่า *Bacillus pumilus* เป็นประชากรเด่นภายหลังการทดลองซึ่งช่วยส่งเสริมให้มีการสะสมของ Absciscic acid (ABA) ที่ช่วยลดการคายน้ำของข้าวโพดและจากการศึกษาของ Vardharajula และคณะ (2011) พบว่ากลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกได้ประกอบด้วย *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus thuringiensis*, *Paenibacillus favisporus* และ *Bacillus subtilis* ช่วยเพิ่มการสะสมของสารออสโมไลต์ สารต้านอนุมูลอิสระ น้ำหนักชีวมวลและปริมาณน้ำภายในเซลล์ช่วยลดการขาดน้ำ จึงส่งเสริมให้ข้าวโพดเจริญเติบโตในสภาวะแล้งได้

ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงสนใจวิธีการเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต ซึ่งมีวิธีการใช้งานที่ไม่ซับซ้อน ราคาถูก และส่งเสริมการใช้ประโยชน์ทรัพยากรชีวภาพของประเทศไทย โดยหัวเชื้อแบคทีเรียผสมจะเจริญบริเวณรากอ้อย แล้วมีกิจกรรมต่างๆ ที่ช่วยลดความเครียดของพืชในสภาวะแล้ง ทำให้เพิ่มระยะเวลาการมีชีวิตอยู่ของอ้อยให้ข้ามแล้งหรือฝนทิ้งช่วงไปสู่ฤดูฝนหรือฝนตกอีกครั้งหนึ่ง โดยแบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยนี้ประกอบด้วยแบคทีเรีย 4 ชนิดได้แก่ แบคทีเรียบริเวณรากพืชที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชที่ทนต่อสภาวะแล้งได้ 3 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19 และ *Bacillus altitudinis* T17 และแบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิว 1 ชนิด ได้แก่ *Weissella cibaria* PN3 (เพ็ญนภา บุญจรัส, 2558; Subsanguan และคณะ, 2020) ซึ่งทำหน้าที่ช่วยในการสร้างโคโลนีบริเวณรากพืช ซึ่งจากโครงการวิจัยเรื่องการเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต ของรองศาสตราจารย์ ดร. เอกวัล ลือพร้อมชัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะ

วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยทุนวิจัยจากกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ปีงบประมาณ 2561 กรณีพิเศษ พบว่าการเติมแบคทีเรียแบบผสมลงในดินที่ปลูกอ้อยสามารถทนทานต่อสภาวะแล้งได้ดี โดยมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดในการทดลองระดับกระถางที่สภาวะการปลูกแบบห้องปฏิบัติการตั้งตัวอย่างในรูปที่ 1 นอกจากนี้ได้ทดลองผลิตชีวภัณฑ์สำหรับเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อย โดยนำหัวเชื้อแบคทีเรียผสมมาตรึงในวัสดุตรึงเพื่อช่วยเพิ่มการอยู่รอดของแบคทีเรียในดิน (เอกวิไล ลือพร้อมชัย, 2563) โดยวัสดุตรึงที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ ของผสมระหว่างถ่านชีวภาพ, ถ่านลอยและกากเนื้อในปาล์ม เพื่อนำข้อดีของวัสดุแต่ละชนิดมารวมกัน คือ ถ่านชีวภาพมีค่าความชื้นสัมพัทธ์สูงและมีรพูนจำนวนมากจึงง่ายต่อการที่แบคทีเรียจะเข้าไปอาศัยและเจริญอยู่ภายในถ่านลอยมีพื้นผิวที่เป็นรพูนที่แบคทีเรียสามารถเข้าไปอยู่ได้ และกากเนื้อในเมล็ดปาล์มมีธาตุไนโตรเจนสูงเหมาะแก่การเป็นแร่ธาตุที่สำคัญต่อการเจริญของอ้อย



รูปที่ 1 ลักษณะของต้นอ้อยหลังระยะฟื้นตัวจากสภาวะแล้งเป็นเวลา 10 วัน โดยกลุ่มชุดควบคุม, Mix 3 และ Mix 4 หมายถึง ชุดทดลองที่ไม่เติมแบคทีเรีย ชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียผสม 3 ชนิด และชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียผสม 4 ชนิดตามลำดับ

เนื่องจากสภาพแวดล้อมของไร่นามีความแตกต่างจากห้องปฏิบัติการและมีความแปรปรวนสูง และการติดตามการเจริญของอ้อยตลอดช่วงระยะการเจริญภายหลังจากการเติมหัวเชื้อแบคทีเรียยังไม่มีการศึกษามาก่อน โครงการวิจัยในปีงบประมาณ 2563 จึงได้นำชีวภัณฑ์ที่ประกอบด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตหลายชนิดและวัสดุตรึงไปทดสอบประสิทธิภาพในดินระหว่างการปลูกอ้อยในระดับไร่นา ณ กองวิชาการดงบ้านโพธิ์ บริษัทเกษตรไทย อินเตอร์เนชั่นแนล ซูการ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (มหาชน) บริเวณหมู่ 7 ต.หัวดง อ.แก้งเสือ จ.นครสวรรค์ โดยทดสอบการปลูกอ้อยในระดับบ่อ

ปลูกซีเมนต์และไรนา ผลการศึกษานี้จะสามารถยืนยันประโยชน์ของหัวเชื้อแบคทีเรียผสม และทราบวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ในระดับไรนาที่เหมาะสม นอกจากนี้ กลุ่มผู้วิจัยจะพัฒนาวิธีการเตรียมและผลิตสารชีวภัณฑ์ในระดับต้นแบบอุตสาหกรรมต่อไป โดยใช้สารอาหารที่มีราคาถูกเพื่อเพิ่มปริมาณหัวเชื้อแบคทีเรียในระดับขนาดใหญ่เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตสารชีวภัณฑ์ โดยในปัจจุบันมีการนำของเสียทางการเกษตรมาเป็นส่วนประกอบของหัวเชื้อสูตรน้ำ เช่น โชคชัย วนภู (2556) พบว่าอาหารที่เติมโมลาส 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์และแป้งมัน สามารถทำให้ *Azospirillum* sp. เจริญและมีชีวิตอยู่รอดได้มากกว่า 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 8 เดือน นอกจากนี้หัวเชื้อสูตรน้ำยังสามารถเติมสารปกป้องเซลล์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์ เช่น กลีเซอรอลสามารถปกป้องเซลล์จากสภาวะเครียดและปรับสมดุลแรงออสโมติกได้ (Lobo และคณะ, 2019) หรือสาร Polyvinylpyrrolidone (PVP) ที่ทำหน้าที่ปกป้องเซลล์โดยการเคลือบบนเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย (Anith และคณะ, 2016) จากนั้นสามารถนำไปใช้งานทางการเกษตรได้โดยการสเปรย์ลงตามแนวการเพาะปลูกพืช เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและเพิ่มปริมาณผลผลิตอ้อยให้กับผู้ประกอบการได้ อีกทั้งผู้ประกอบการวิสาหกิจเริ่มต้น (Startup) ยังสามารถนำงานวิจัยไปต่อยอดเพื่อการผลิตสารชีวภัณฑ์และจำหน่ายต่อไป รวมถึงเกษตรกรในพื้นที่แห้งแล้งก็สามารถใช้สารชีวภัณฑ์เพื่อปลูกอ้อยที่มีชีวมวลสูงในสภาวะน้ำจำกัดได้

1.2 วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อพัฒนาวิธีการใช้ชีวภัณฑ์ระดับไรนาให้มีประสิทธิภาพ สามารถเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยได้

2.2 เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์ โดยประกอบด้วยขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียและสารชีวภัณฑ์ที่ไม่ซับซ้อน และใช้สารเคมีเกรดอุตสาหกรรม

บทที่ 2

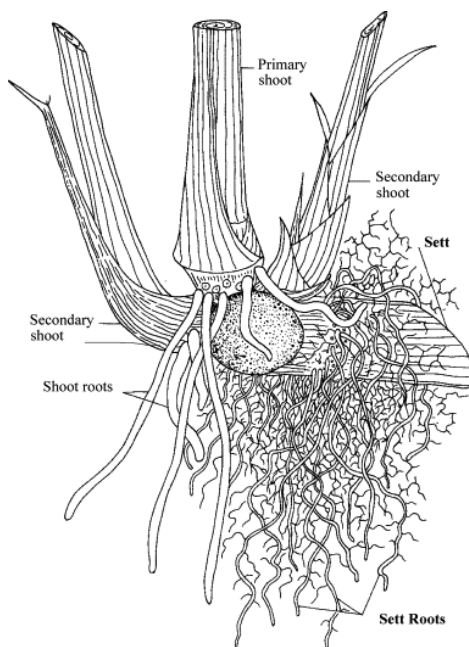
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นอ้อยและปัญหาการเพาะปลูกในประเทศไทย

2.1.1 อ้อยและลักษณะทั่วไป

อ้อย (Sugarcane) เป็นพืชที่สำคัญในด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมไทย โดยใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตเป็นน้ำตาลและเอทานอล (Ferreira และคณะ, 2017) นอกจากนี้ กากอ้อยยังสามารถนำไปเป็นเชื้อเพลิงผลิตกระแสไฟฟ้าหรือกระดาษได้ด้วย อีกทั้งในปัจจุบัน รัฐบาลได้มีการผลักดันและส่งเสริมให้เกษตรกรไทยหันมาปลูกอ้อยแทนการปลูกข้าวโพดและข้าวเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้การปลูกอ้อยในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2562)

อ้อยเป็นพืชที่แตกกอได้ กอหนึ่ง ๆ มีหลายต้น ขณะอายุน้อย แต่ละต้นจะเรียกว่าหน่อ (Shoot) แต่ละหน่อจะมีการเจริญไม่เท่ากัน กลุ่มของหน่อที่เกิดจากท่อนพันธุ์เดียวกันจะเรียกว่ากอ และเมื่อหน่อเจริญขึ้นจะเรียกว่าลำต้น (Stalk) โดยในแต่ละลำต้นจะมีข้อ (Node) และปล้อง (Internode) ลำต้นที่แก่จะมีข้อและปล้องที่มากกว่าลำต้นอ่อน ที่ข้อทุกข้อจะมีตา (Bud) 1 ตา นอกจากนี้ตาจะมีปมราก (Root promordia) จำนวนมาก จึงสามารถตัดออกเป็นท่อนพันธุ์ (Sett หรือ Seed piece หรือ Seed cane) สำหรับการขยายพันธุ์เป็นอ้อยกอใหม่ได้ เรียกการขยายพันธุ์ชนิดนี้ว่า การปลูกโดยใช้ท่อนพันธุ์อ้อย (Plant-cane cycle) (ดังรูปที่ 2) ส่วนใบอ้อยจะแบ่งใบออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่สั้นและหุ้มลำต้นที่มีตา เรียกว่ากาบใบ (Sheath) และอีกส่วนที่ยาวและอยู่ต่อจากกาบใบ เรียกว่า แผ่นใบ ขอบใบจะคม ปลายใบแหลม รากอ้อยจะมีระบบรากฝอยแผ่กระจายออกรอบลำต้นรัศมี 50-100 เซนติเมตร สีจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเมื่ออายุมากขึ้น ส่วนลำต้น เมื่อตัดลำต้นจะแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนนอกที่มีความแข็งเรียกว่าเปลือก มีลิกนินเป็นส่วนประกอบสำคัญ ถัดเข้าไปเรียกว่า เนื้ออ้อย (Flesh) ประกอบด้วยเซลล์ที่ทำหน้าที่เก็บน้ำตาล (Parenchyma cell) และส่วนของเส้นใย (Fiber) ที่ทำหน้าที่เป็นท่อนอาหาร (เกษม สุขสถาน, 2523)



รูปที่ 2 ลักษณะการเจริญของอ้อยจากท่อนพันธุ์อ้อย ซึ่งประกอบด้วยการยืดยาวของรากจากบริเวณปมราก และการแตกหน่ออ้อย (Smith และคณะ, 2005)

2.1.2 ระยะการเจริญ

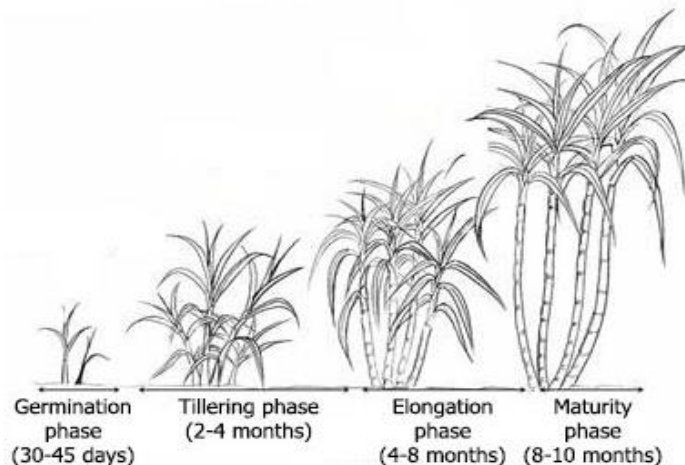
ระยะการเจริญเติบโตของอ้อยแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ในแต่ละระยะการเจริญของอ้อยต้องการปริมาณน้ำที่แตกต่างกันสำหรับการนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต (แสดงดังรูปที่ 3) แบ่งออกเป็น

1) ระยะตั้งตัว (Germination phase) เป็นระยะอ้อยเริ่มงอกและโผล่พ้นดิน อายุอ้อย 2-3 สัปดาห์ (30 วัน) เป็นช่วงที่อ้อยเริ่มงอกจนมีใบเป็นต้นอ่อน รากอ้อยยังคงสั้นและมีการคายน้ำน้อย ความต้องการน้ำ 4 มิลลิเมตรต่อวัน รวมแล้วในระยะนี้ใช้น้ำ 120 มิลลิเมตร

2) ระยะแตกกอ (Tillering phase) อายุอ้อย 2-4 เดือน (140 วัน) อ้อยจะมีการแตกกอและสร้างปล้อง รากอ้อยจะเริ่มแผ่กระจายทั้งแนวราบและแนวลึก ความต้องการน้ำ 4.5 มิลลิเมตรต่อวัน รวมแล้วในระยะนี้ใช้น้ำ 630 มิลลิเมตร

3) ระยะสร้างน้ำตาลหรือระยะยาวปล้อง (Elongation phase) อายุ 4-8 เดือน (125 วัน) ความต้องการน้ำ 5 มิลลิเมตรต่อวัน รวมแล้วในระยะนี้ใช้น้ำ 625 มิลลิเมตร

4) ระยะสุกแก่ (Maturity phase) อายุ 8-10 เดือน ระยะนี้อัตราการเจริญเติบโตจะช้าลงมาก น้ำตาลที่ใบสร้างขึ้นจากการสังเคราะห์แสงก็จะถูกใช้น้อยลงและมีเหลือเก็บสะสมในลำต้นมากขึ้น ช่วงที่อ้อยกำลังสะสมน้ำตาล การสะสมน้ำตาลจะเริ่มจากส่วนโคนไปหาปลาย ความต้องการน้ำ 4 มิลลิเมตรต่อวัน รวมแล้วในระยะนี้ใช้น้ำ 140 มิลลิเมตร (มิตรผล โมเดิร์นฟาร์ม, 2563)



รูปที่ 3 ลักษณะการเจริญเติบโตของอ้อยแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะตั้งตัว ระยะแตกกอ ระยะสร้างน้ำตาล และระยะสุกแก่ (มิตรผลโมเดิร์นฟาร์ม, 2563)

2.1.3 การกำหนดคุณภาพอ้อย

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย ได้กำหนดคุณภาพอ้อยเพื่อใช้เป็นหลักเกณฑ์ในการซื้อขายอ้อยระหว่างเกษตรกรและโรงงานผลิตน้ำตาล ผลผลิตอ้อยโดยทั่วไปจะประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นน้ำอ้อยและกากอ้อย โดยน้ำอ้อยจะประกอบด้วยตัวถูกละลายต่าง ๆ ได้แก่ น้ำตาลซูโครส กลูโคส ฟรุกโตสและเกลือแร่ต่าง ๆ สำหรับน้ำตาลซูโครสนั้นเป็นส่วนสำคัญที่สุดในการผลิตเป็นน้ำตาลดิบ ดังนั้นอ้อยที่มีน้ำตาลซูโครสมาก เมื่อผ่านกระบวนการผลิตน้ำตาลก็จะได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลมากขึ้นด้วย ดังนั้นการวัดคุณภาพอ้อยเพื่อการซื้อขายแก่โรงงานอุตสาหกรรมจะถูกกำหนดด้วยปริมาณของน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ ซึ่งการซื้อขายอ้อยตามค่าความหวานเริ่มใช้ตั้งแต่ฤดูการผลิตปี 2535/36 เป็นต้นมากำหนดให้ซื้อขายอ้อยตามคุณภาพความหวานวัดเป็น ซี.ซี.เอส. (Commercial Cane Sugar : C.C.S.) หรือปริมาณร้อยละของน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ ที่จะสามารถผลิตเป็นการค้าเชิงพาณิชย์ได้ ซึ่งคำนวณจากสมการ

$$C.C.S. = \frac{3}{2}P\left(1 - \frac{F+5}{100}\right) - \frac{B}{2}\left(1 - \frac{F+3}{100}\right)$$

เมื่อ P = เปอร์เซ็นต์โพลาริเซชันของน้ำตาลที่ได้จากลูกหีบชุดแรก (% Pol) โดยค่า %Pol คือปริมาณร้อยละโดยน้ำหนักของน้ำตาลซูโครสที่ละลายอยู่ในน้ำอ้อย

B = เปอร์เซ็นต์บริกซ์ของน้ำอ้อยที่ได้จากลูกหีบชุดแรก (% Brix) โดยค่า %Brix คือปริมาณร้อยละโดยน้ำหนักของของแข็งที่ละลายอยู่ในน้ำอ้อย (กาญจนา กิระศักดิ์, 2558)

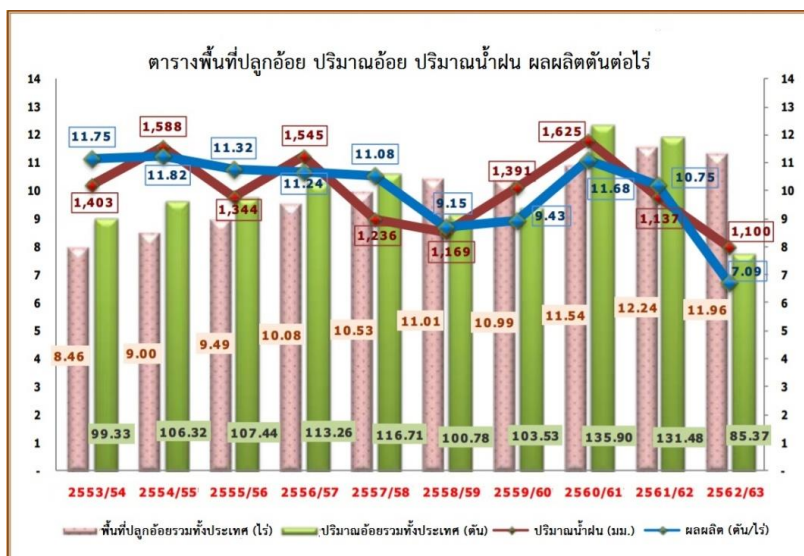
F = เปอร์เซ็นต์เส้นใยหรือไฟเบอร์ในอ้อย (% Fiber)

จากสมการจะเห็นว่า ค่า C.C.S. จะสามารถคำนวณปริมาณน้ำตาลบริสุทธิ์ที่ลบออกด้วยสิ่งเจือปนในอ้อยแล้ว ทำให้สามารถบอกถึงคุณภาพของอ้อยได้ ซึ่งราคาอ้อยจะผันแปรไปตามคุณภาพหรือความหวาน หากอ้อยมีความหวานมาก

คือมีค่า C.C.S. สูง ชาวไร่จะได้อายุสูงขึ้นด้วยโดยฤดูกาลผลิต 2563/2564 คำนวณราคาอายุในอัตราต้นอายุ ละไม่เกิน 920 บาท ณ ความหวานที่ 10 C.C.S. เท่ากับร้อยละ 98.17 ของประมาณการราคาอายุเฉลี่ยทั่วประเทศ 937.17 บาท/ต้นอายุและกำหนดอัตราขึ้น/ลงของราคาอายุ เท่ากับ 55.20 บาท ต่อ 1 หน่วย C.C.S. (รัฐบาลไทย, 2564)

2.1.4 ปัญหาการเพาะปลูกอายุในประเทศไทย

การปลูกอายุในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นจากการผลักดันของรัฐบาล แต่เนื่องจากปัญหาความแห้งแล้งที่เกิดจากภาวะโลกร้อน รวมถึงพื้นที่เพาะปลูกอายุของไทยส่วนใหญ่อยู่นอกเขตชลประทาน จึงต้องอาศัยน้ำจากน้ำฝนเป็นหลักในการปลูกอายุ ส่งผลให้อายุได้รับปริมาณน้ำไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต ซึ่งโดยปกติแล้วอายุต้องการน้ำประมาณ 1,200 - 1,600 มิลลิเมตรต่อปี (มิตรผลโมเดิร์นฟาร์ม, 2563) จากการศึกษาของ Ferreira และคณะ (2017) พบว่า หากอายุมีภาวะขาดน้ำจะทำให้ผลผลิตของอายุสูญเสียถึง 60 เปอร์เซ็นต์ และเกษม สุขสถาน (2523) กล่าวว่า ความยาวของปล้องแต่ละปล้องของอายุ จะขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำที่ได้รับ หากน้ำมาก ปล้องอายุจะมีความยาวที่มากขึ้น นอกจากนี้ การศึกษาของนุชจรินทร์ พึ่งพา และอรุณสิทธิ์ บุญธรรม (2555) พบว่า อายุจะต้องได้รับน้ำอย่างเพียงพอตลอดช่วงการเจริญเติบโตเพื่อปริมาณผลผลิตที่สูงขึ้น แต่ตามรายงานพื้นที่ปลูกอายุปีการผลิต 2562/63 ของสำนักงานคณะกรรมการอายุและน้ำตาลทรายปี 2563 พบว่าจังหวัดที่ปลูกอายุมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยในปี 2561/62 และ ปี 2562/63 มีปริมาณน้ำฝนลดลงจากปีก่อน ๆ ส่งผลให้ผลผลิตของอายุลดลง ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 การเปรียบเทียบปริมาณพื้นที่ปลูกอายุ ปริมาณอายุ ปริมาณน้ำฝน ผลผลิตต้นต่อไร่ระหว่างปี 2553/54 - 2562/63 (สำนักงานคณะกรรมการอายุและน้ำตาลทราย, 2563)

ปัญหาความแห้งแล้งในไทยดังกล่าวส่งผลให้ปริมาณผลผลิตอ้อยเข้าหีบในไทยลดลง โดยฤดูการผลิตอ้อยและน้ำตาลทรายปี 2562/63 มีปริมาณผลผลิตอ้อยเข้าหีบของไทยรวม 74.89 ล้านตัน ลดลงจากฤดูการผลิตปี 2561/62 ที่มีปริมาณอ้อยเข้าหีบ 130.97 ล้านตันอ้อย คิดเป็น 43% ส่งผลให้การผลิตน้ตาลลดลงเหลือ 8.27 ล้านตัน จากที่ผลิตน้ตาลได้ 14.58 ล้านตัน และมีแนวโน้มที่จะลดลงเรื่อย ๆ เนื่องจากปัญหาความแห้งแล้ง (ผู้จัดการออนไลน์, 2563)

2.1.5 การปรับตัวของอ้อยต่อภาวะแล้ง

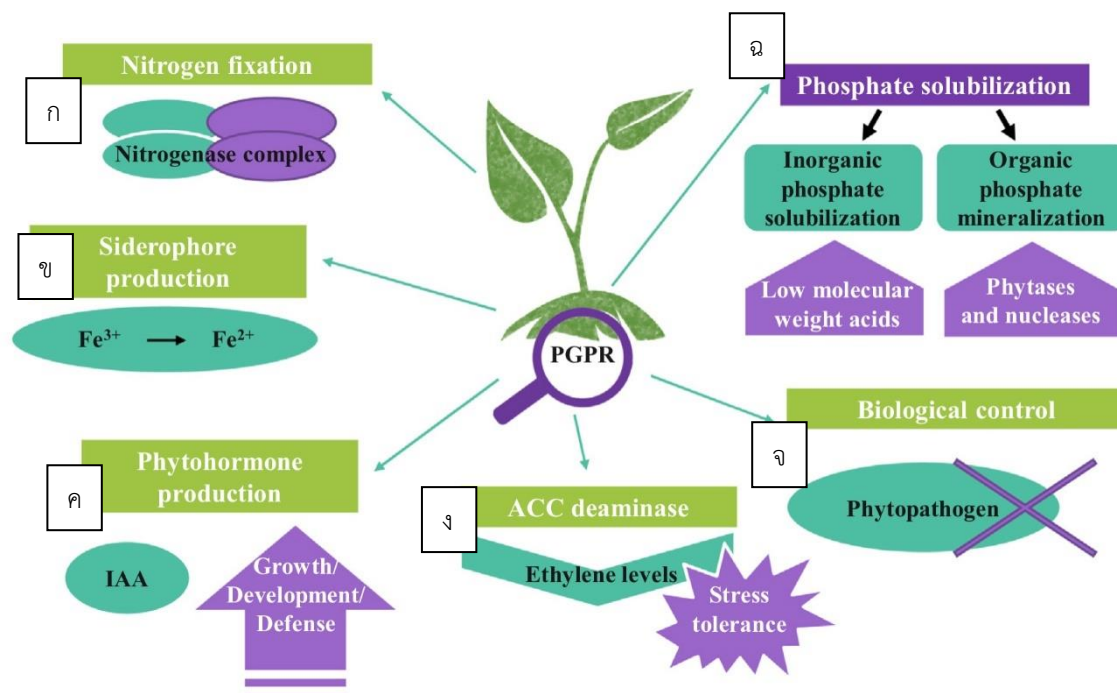
พืชทั่วไปมีการปรับตัวต่อภาวะกายภาพที่ไม่สมดุลหลายทาง เช่น การเปลี่ยนแปลงวัฏจักร (Life cycle) การปรับเปลี่ยนลักษณะของพืชเพื่อให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต เช่น การลดขนาดใบ การยืดยาวของราก หรือการพัฒนาการรับส่งสัญญาณความเครียด เพื่อการตอบสนองต่อความเครียดที่รวดเร็ว (You และ Chan, 2015) ซึ่งอ้อยก็มีกลไกการปรับตัวต่อภาวะแล้งเพื่อรักษาการเจริญเติบโตและสามารถฟื้นตัวหลังจากภาวะแล้งได้ โดยการศึกษาของ Ferreira และคณะ (2017) ได้แบ่งกลไกการปรับตัวของอ้อยต่อภาวะแล้งออกเป็น 2 แบบ ตามระดับความแล้ง ได้แก่ แล้งปานกลางและแล้งรุนแรง หากอ้อยเกิดภาวะแล้งปานกลาง ต้นอ้อยจะมีการปรับตัวเพื่อรักษาการเจริญเติบโตเอาไว้ (Growth maintenance) โดยจะชักนำให้เกิดการเปิดปิดปากใบเพื่อลดการสังเคราะห์แสงและลดอุณหภูมิที่ผิวใบ Cominelli และคณะ (2013) และสะสมตัวทำละลายเพื่อรักษาความต่างศักย์ภายในเซลล์ (Osmotic adjustment) หากอ้อยเกิดภาวะแล้งรุนแรง ต้นอ้อยจะมีการปรับตัวให้เข้ากับปริมาณความชื้นที่จำกัดเพื่อรักษาภาวะขาดน้ำภายในเซลล์ ได้แก่ การม้วนงอของใบ ลดการเปิดปากใบเพื่อป้องกันการคายน้ำ การยืดยาวของราก กระบวนการเหล่านี้จะส่งผลให้อ้อยมีการฟื้นฟูก่อนการผ่านภาวะแล้งได้ แต่ถึงต้นอ้อยจะมีกลไกในการปรับตัวเองภายใต้ภาวะแล้งได้ แต่จากการศึกษาของ McCormick และคณะ (2008) และ Goldschmidt และ Huber (1992) พบว่าอ้อยที่ประสบปัญหาแล้งก็จะมีมวลชีวภาพและปริมาณน้ำตาลลดลง ในปัจจุบันจึงมีการใช้ไมโครไบโอมโดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียต่าง ๆ มาส่งเสริมการเจริญของพืชผ่านทางกระบวนการต่าง ๆ

2.2 บทบาทของจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญของพืช

ไมโครไบโอม (Microbiome) หรือ ไมโครไบโอตา (Microbiota) หมายถึง จุลินทรีย์ที่พบได้ในสิ่งแวดล้อม ประกอบด้วยแบคทีเรีย ไวรัส และรา อาศัยร่วมกันเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่หลากหลายและมีจำนวนมากในระบบนิเวศ (Qiu และคณะ, 2019) ความหลากหลายของกลุ่มสิ่งมีชีวิต จะขึ้นอยู่กับบริเวณที่กลุ่มสิ่งมีชีวิตนั้นอาศัยอยู่ โดยแบ่งเป็นการอาศัยแบบอยู่ร่วมกันอย่างอิสระในดิน (Free-living) และอาศัยแบบพึ่งพากับสิ่งมีชีวิตที่วิวัฒนาการสูงกว่า ไมโครไบโอมของพืชจะประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช (Endophyte) และจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะกับผิวพืช เช่น จุลินทรีย์รอบรากพืช (Rhizosphere) ที่มีความสำคัญต่อการดูดซึมธาตุอาหาร (Agler และคณะ, 2016; Bais และคณะ, 2006) นอกจากนี้ ยังช่วยในการสังเคราะห์ธาตุอาหาร สลายสารอินทรีย์ภายในดิน ปกป้องพืชจากเชื้อก่อโรคจากกลไกการแข่งขันเพื่อแย่งอาหาร การสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiotic) หรือการหลั่งเอนไซม์ย่อย (Lytic enzyme) (Doornbos และคณะ, 2011) ช่วยกระตุ้น

ภูมิคุ้มกันของพืช (Induced Systemic Resistance; ISR) ให้มีการตอบสนองที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็วขึ้น โดยจุลินทรีย์รอบรากพืชนี้นิยมนำมาใช้เพื่อส่งเสริมการเจริญของพืช

กลุ่มแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (Plant Growth Promoting Rhizosphere; PGPR) เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ช่วยในการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งอาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืช สามารถดำรงชีวิตอยู่ เพิ่มจำนวน และแข่งขันกับกลุ่มจุลินทรีย์อื่นได้ นอกจากนั้นยังช่วยให้พืชทนต่อภาวะเครียดทางกายภาพที่ไม่เหมาะสมได้ เช่น ทนต่ออุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม ทนความเค็ม หรือทนกับภาวะขาดน้ำหรือทนแล้ง (Premachandra และคณะ, 2016) โดย Somers และคณะ (2004) ได้จำแนกแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชแบ่งออกตามหน้าที่ ได้แก่ (ก) กลุ่ม Biofertilizer ที่มีความสามารถเพิ่มปริมาณธาตุอาหารให้แก่พืช (ข) กลุ่ม Phytostimulator สามารถส่งเสริมการเจริญของพืช โดยการผลิตฮอร์โมนพืช (Phytohormone) (ค) กลุ่ม Rhizoremediator มีความสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เป็นพิษ และ (ง) กลุ่ม Biopesticide สามารถควบคุมการเกิดโรคในพืช สามารถนำมาผลิตเป็นสารปฏิชีวนะ (Antibiotic) และสารต้านเชื้อรา (Antifungal) ได้ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้สามารถแบ่งกลไกตามการทำงานได้ 2 แบบ ได้แก่ กลไกทางตรงและทางอ้อม ซึ่งกลไกส่งเสริมพืชทางตรงคือ สามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศแล้วเปลี่ยนเป็นสารที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ สามารถเพิ่มการละลายแร่ธาตุและสารอาหารที่จำเป็นต่อพืช ผลิตสารที่จำเป็นต่อการเจริญของพืชและฮอร์โมนพืช เช่น ออกซิน อีกทั้งยังสามารถผลิตสารที่ช่วยให้พืชทนภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดียิ่งขึ้น เช่น ACC deaminase เป็นต้น กลไกทางอ้อมของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช ได้แก่ การผลิตสารปฏิชีวนะที่ใช้ในการควบคุมโรคพืช ลดปริมาณของธาตุเหล็กบริเวณรากพืชที่เป็นประโยชน์ต่อเชื้อก่อโรคพืช การสร้างสารต่อต้านเชื้อรา การผลิตเอนไซม์ทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราโรคพืช สามารถแย่งเกาะบริเวณรากทำให้ลดโอกาสที่เชื้อก่อโรคจะเข้ามายังเซลล์พืช และเหนี่ยวนำให้เกิดการต้านทานโรค (ธนากร แสงสง่า, 2557) Lobo และคณะ (2019) ได้แสดงแผนผังบอกคุณสมบัติต่าง ๆ ของแบคทีเรียในการส่งเสริมการเจริญของพืช ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 คุณสมบัติต่าง ๆ ของแบคทีเรียในการส่งเสริมการเจริญของพืช ก) ผลิตเอนไซม์ Nitrogenase ในการตรึงไนโตรเจน และเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย ข) ผลิตไซเดอร์ฟออร์ เพื่อจับกับ Fe^{3+} และรีดิวซ์เป็น Fe^{2+} ค) ผลิตฮอร์โมนพืช เช่น IAA ที่มีส่วนช่วยในการเติบโตและพัฒนาของพืชในส่วนของ การปกป้องตนเองของพืช ง) ผลิตเอนไซม์ ACC deaminase ลดการเกิดสารเอธิลีนในพืช ที่จะส่งผลให้เกิดความเครียดในพืช จ) สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่สามารถต้านทานเชื้อก่อโรคพืชได้ และ ฉ) เปลี่ยนรูปฟอสเฟตที่อยู่ในรูปละลายไม่ได้ ให้อยู่ในรูปที่ละลายได้ ให้พืชสามารถนำไปใช้ได้ (Lobo และคณะ, 2019)

2.2.1 การตรึงไนโตรเจน (Biological Nitrogen fixation)

ทุกสิ่งมีชีวิตล้วนต้องการไนโตรเจน (N) ในการผลิตสารชีวโมเลกุล เช่น โปรตีน และกรดนิวคลีอิก อย่างไรก็ตาม แก๊สไนโตรเจนที่อยู่ในชั้นบรรยากาศที่เป็นแหล่งไนโตรเจนหลักในธรรมชาติ มักอยู่ในรูปที่สิ่งมีชีวิตอย่างพืชมักไม่สามารถนำไปใช้ได้ ดังนั้นการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย PGPR จึงเป็นกระบวนการในการรีดิวซ์ไนโตรเจน ให้อยู่ในรูปแอมโมเนีย (NH_3) เช่น แอมโมเนียมไนไตรต์ หรือไนเตรท เป็นต้น สามารถพบได้ในจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน (Diazotrophic microorganism) เช่น กลุ่มในรากพืชตระกูลถั่ว เช่น ไรโซเบียม (Rhizobia) แบคทีเรียไรโซเบียม (Premachandra และคณะ, 2016; Souza และคณะ, 2015) ในการเกษตรสมัยใหม่จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนหลายชนิดถูกนำมาใช้แทนปุ๋ยไนโตรเจน เพื่อลดค่าใช้จ่ายและลดการใช้สารเคมี เช่น การใช้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในพืชกลุ่มอ้อยในการศึกษาของ Govindarajan และคณะ (2006) พบว่า การใช้ *B. vietnamiensis* MG43 สามารถทำให้ชีวมวลของอ้อยเพิ่มขึ้นถึง 20 เปอร์เซ็นต์

2.2.2 การละลายฟอสเฟต (Phosphate solubilization)

ธาตุฟอสฟอรัส (P) เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นในโครงสร้างของกรดนิวคลีอิก ฟอสโฟลิพิด และ Adenosine triphosphate (ATP) ของพืช ซึ่งเป็นส่วนประกอบในกระบวนการเมแทบอลิซึมที่สำคัญอย่างกระบวนการสังเคราะห์แสง (Richardson และ Simpson, 2011; Souza และคณะ, 2015) ฟอสฟอรัสในดินส่วนใหญ่อยู่ในรูปละลายไม่ได้ แต่พืชสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปองค์ประกอบของออกซิเจน อย่างรูป Monobasic (H_2PO_4^-) และ Dibasic (HPO_4^{2-}) เกษตรกรนิยมใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัสในการเพิ่มสารฟอสฟอรัสในดิน แต่พืชสามารถดูดซึมฟอสเฟตไปใช้อย่างจำกัด ดังนั้น ฟอสฟอรัสจะเหลืออยู่ในดินและถูกชะล้าง เกิดเป็นสารตกค้างในแม่น้ำ (Premachandra และคณะ, 2016) แบคทีเรียละลายฟอสเฟต (Phosphate-solubilizing bacteria) สามารถละลายสารฟอสเฟตอนินทรีย์ (Inorganic phosphate) เช่น $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 และ AlPO_4 ผ่านกระบวนการผลิตกรดอินทรีย์ สารซิเตอร์โรฟอร์ และไฮดรอกไซด์ไอออน (Souza และคณะ, 2015)

2.2.3 การผลิตซิเตอร์โรฟอร์ (Siderophore)

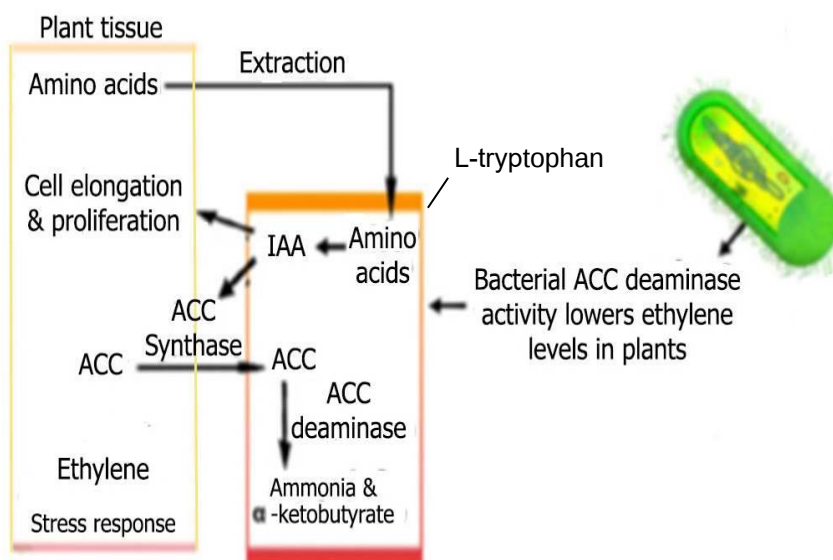
เหล็ก (Fe) เป็นจุลธาตุจำเป็นสำหรับพืชและจุลินทรีย์ซึ่งนำมาใช้ในกระบวนการทางชีววิทยาต่าง ๆ เช่น การสังเคราะห์แสง การหายใจ การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ และการตรึงไนโตรเจน เหล็กในสิ่งแวดล้อมจะอยู่ในรูป Fe^{3+} และ Fe^{2+} ที่อยู่ในรูปละลายไม่ได้ จุลินทรีย์มีการพัฒนาในการดูดซึม Fe โดยแบคทีเรียจะใช้ Chelator agent ที่เรียกว่า ซิเตอร์โรฟอร์ (Siderophore) ซึ่งมีความจำเพาะและจับกับ Fe^{3+} ในธรรมชาติ จากนั้นจะขนส่งและเปลี่ยนรูปเป็น Fe เข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย (Souza และคณะ, 2015) ในพืชมีกระบวนการปรับกรด (Acidification) ทางบริเวณรอบรากอ้อย จะทำให้เกิดการดูดซึม Fe โดยเปลี่ยนรูปเป็น Fe^{3+} ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ Fe^{3+} -chelate reductase ทำให้ Fe^{2+} เข้าสู่พืชทางราก นอกจากนั้นพืชสามารถผลิตซิเตอร์โรฟอร์เพื่อจับกับเหล็กแล้วขนส่งเข้าเซลล์ผ่านโปรตีนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ อย่างไรก็ตามการผลิตซิเตอร์โรฟอร์โดยพืชเกิดขึ้นไม่บ่อย โดยเฉพาะเมื่อดินหนาแน่นและดินเป็นด่าง ดังนั้นจึงต้องอาศัยซิเตอร์โรฟอร์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียในดิน (Premachandra และคณะ, 2016)

2.2.4 การผลิต Indole-3-acetic acid (IAA)

สารออกซิน (Auxin) เป็นฮอร์โมนพืชที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งเป็นส่วนประกอบในกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช Indole-3-acetic acid (IAA) เป็นฮอร์โมนพืชที่ประกอบด้วยกลุ่มคาร์บอกซิลจับกับกลุ่มเมธิลีน IAA เป็นสารอาหารให้พืชและช่วยในการพัฒนาการของพืชผ่านการแบ่งตัวของเซลล์ (Cell division) เพิ่มการยืดตัวของเซลล์ (Cell elongation) เพิ่มการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (Cell differentiation) และเพิ่มอัตราของไซลีน (Xylene) (Premachandra และคณะ, 2016) พืชสามารถผลิต IAA ได้น้อยเมื่อเทียบกับการผลิตโดยแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียสามารถผลิต IAA ได้หลายวิธี ซึ่งมีกรดอะมิโนที่ชื่อว่า ทริปโตเฟน (L-tryptophan) เป็นสารตั้งต้น (Precursor) ในการสังเคราะห์สารประกอบอินโดล แบคทีเรียส่วนใหญ่ผลิต IAA ผ่านวิถีอินโดลไพรูวิก (Indole-3-pyruvic acid pathway) นอกจากนั้นแบคทีเรียก่อโรคพืช IAA จะผลิตจาก L-tryptophan ผ่านวิถี Indole-aceto-amide (Souza และคณะ, 2015)

2.2.5 การผลิต ACC deaminase

เอธิลีน (Ethylene) เป็นฮอร์โมนพืชที่ทำให้เกิดกระบวนการเจริญ การพัฒนา รวมถึงทำให้เกิดการเหี่ยวเฉา แม้เอธิลีนทำหน้าที่ควบคุมการเจริญของพืช แต่ในบางครั้งก็ทำให้เกิดความเครียดในพืชด้วย (Souza และคณะ, 2015) ในภาวะที่พืชเกิดความเครียด (เช่น เชื้อก่อโรค อุทกภัย ความเค็ม ความแล้ง หรือการปนเปื้อนสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์) พืชจะมีกลไกในการผลิตเอธิลีนและทำให้ผลผลิตพืชลดลง นอกจากนี้ยังเหนี่ยวนำให้เกิดใบช้ำ และเหี่ยวเฉาอีกด้วย (Premachandra และคณะ, 2016) แบคทีเรีย PGPR สามารถผลิตเอนไซม์ ACC deaminase ทำให้เอธิลีนที่ทำให้เกิดความเครียดในพืชลดลง โดยแบคทีเรียจะใช้ ACC เป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอมโมเนีย และ α -ketobutyrate (Etesami และ Maheshwari, 2018) แสดงดังรูปที่ 6



รูปที่ 6 กลไกการผลิต ACC deaminase และการผลิต IAA โดยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (Vurukonda และคณะ, 2016)

2.2.6 การผลิต Extracellular polymeric substance (EPS)

จุลินทรีย์สามารถสร้างเอ็กโซพอลิแซ็กคาไรด์ (Exopolysaccharide) ระหว่างการเจริญเติบโต และหุ้มรอบพื้นผิวเซลล์ ซึ่งช่วยให้แบคทีเรียอยู่รอดได้ในภาวะที่ไม่เหมาะสม (Etesami และ Maheshwari, 2018) การสร้างไบโอฟิล์มไม่เพียงแต่เพิ่มการอยู่รอดของแบคทีเรีย แต่เมื่อจุลินทรีย์อยู่รวมกันในไบโอฟิล์มจะช่วยเพิ่มความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของพืชผ่านกลไกต่าง ๆ ได้ดีกว่าเซลล์ที่อาศัยเป็นอิสระ (Planktonic cell) (Ricci และคณะ, 2019)

2.2.7 การเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Antioxidative enzyme)

ในภาวะปกติ พืชจะสามารถสร้างสารอนุมูลอิสระ (Reactive oxygen species: ROS) จากกระบวนการเมแทบอลิซึมในเซลล์ แต่เมื่อพืชอยู่ในภาวะเครียด จะทำให้มีการสร้างสารอนุมูลอิสระมากเกินไป ทำให้ไปรบกวนกระบวนการเมแทบอลิซึม ซึ่งทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และระบบเอนโดเมมเบรน (Endomembrane) สารอนุมูลอิสระอย่างออกซิเจนอะตอมเดี่ยว (Singlet oxygen), Superoxide radical (O_2^-), Hydroxyl radical (OH) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) จะถูกสร้างออกมาภายใต้ภาวะเค็มและแล้ง ทำให้เกิดการออกซิเดชันของไขมัน ส่งผลเกิดการสลายของโปรตีน ดีเอ็นเอ และลิพิด (lipid) (Etesami และ Maheshwari, 2018; Vardharajula และคณะ, 2011) พืชจะสร้างสารต้านอนุมูลอิสระอย่างแคแทเลส (Catalase), Glutathione reductase (GR), Monodehydroascorbate reductase (MDHAR), Superoxide dismutase (SOD), Peroxidase (POD) และ Ascorbate peroxide (APX) ในการปกป้องตัวเองจากผลกระทบจาก ROS

2.2.8 การสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiotic production)

การสร้างสารต้านเชื้อรา สารปฏิชีวนะขึ้นอยู่กับความสามารถในการควบคุมทางชีวภาพ (Biocontrol) และจำนวนแบคทีเรียที่อาศัยบริเวณรากพืช สารปฏิชีวนะที่แบคทีเรียผลิตได้ส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์โมเลกุลต่ำที่สามารถออกฤทธิ์กับเชื้อก่อโรคได้ แบคทีเรีย PGPR ทำหน้าที่เป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ (Antagonistic) ต่อด้านเชื้อก่อโรคในพืชโดยการผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น ฟีนาซีน (Phenazines), Phloroglucinols, Pyrrolnitrin, Pyoluteorin, ไฮโดรเจนไซยาไนด์ (Hydrogen cyanide: HCN) และ Cyclic lipopeptides (Premachandra และคณะ, 2016) นอกจากนี้ความสามารถในการผลิตสารควบคุมทางชีวภาพของจุลินทรีย์เป็นทางเลือกหนึ่งในการลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชอีกด้วย (Backer และคณะ, 2018)

2.2.9 การสะสมสารออสโมไลต์ (Osmolyte accumulation)

การสะสมสารออสโมไลต์ (Compatible solute) เช่น โพรลีน (Proline), ทรีฮาโลส (Trehalose) และไกลซีนบีเทน (Glycine betaine) สามารถทำหน้าที่เป็นสาร Osmoprotectant ในกระบวนการปรับค่าแรงดันออสโมติก ช่วยรักษาค่าศักย์ของน้ำภายในเซลล์ให้ต่ำกว่าภายนอกเซลล์ เพื่อไม่ให้เซลล์พืชสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ (Vurukonda และคณะ, 2016)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างการใช้แบคทีเรีย PGPR ในการส่งเสริมการเจริญของพืช

ชนิดของแบคทีเรีย	คุณสมบัติ PGPR	ผลการดำเนินงาน	อ้างอิง
<i>B. subtilis</i> , <i>B. pumilus</i>	IAA	การใช้แบคทีเรียเดี่ยว <i>B. subtilis</i> และ <i>B. pumilus</i> สามารถส่งเสริมการเจริญของราก ทำให้น้ำหนักแห้งโดยรวมเพิ่มถึง 23% และ 13% เมื่อ	Santos และคณะ (2018)

ชนิดของแบคทีเรีย	คุณสมบัติ PGPR	ผลการดำเนินงาน	อ้างอิง
		เทียบกับชุดควบคุมและเมื่อใช้เป็น แบคทีเรียผสมสามารถเพิ่มปริมาณ ฟอสฟอรัสในดิน 13% เมื่อใช้ร่วมกับ ปุ๋ยธาตุอาหารและฟิลเตอร์เค้ก (Filter cake)	
<i>B. subtilis</i> BSSC11, <i>B. megaterium</i> BMSE7	P-solubilizing, IAA, Siderophore, Antioxidant enzyme	กออ้อยมีปริมาณธาตุอาหารเพิ่มขึ้น มีการแตกหน่อเพิ่มขึ้น เพิ่มความสูง ของต้นอ้อยและเพิ่มน้ำหนักราก พบ การทำงานของ SOD	P. Chandra และคณะ (2018)
<i>Ochrobactrum intermedium</i> TRD14, <i>Acinetobacter</i> sp. PK9, <i>Bacillus</i> sp. RSC29, <i>Escherichia</i> sp. VRE34	Antifungal activity	ต้นอ้อยที่ทดสอบด้วยแบคทีเรีย VRE34 สามารถทำให้ความสูงต้น อ้อยและขนาดปล้องเพิ่มจาก 13.27 เป็น 24.03 นิ้วและจาก 6.07 เป็น 9.87 มม.ตามลำดับ และสามารถ ยับยั้งเชื้อราก่อโรคในต้นอ้อยอย่าง <i>Colletotrichum falcatum</i> ได้	Patel และคณะ (2019)
<i>Azospirillum brasilense</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>	P-solubilizing	การใช้ <i>B. subtilis</i> ร่วมกับ <i>P.</i> <i>fluorescens</i> ทำให้ปริมาณ ฟอสฟอรัสที่พบในใบอ้อยมีความ เข้มข้นมากขึ้น นอกจากนี้ การใช้ <i>A.</i> <i>brasilense</i> ร่วมกับ <i>B. subtilis</i> และ P_2O_5 สามารถเพิ่มน้ำหนักแห้ง การ ดูดซึมฟอสเฟต ลดการใช้ปุ๋ยถึง 75%	Rosa และคณะ (2020)
<i>B. xiamenensis</i> PM14	Antifungal activity	สามารถยับยั้งโรคจุดแดงและส่งเสริม การเจริญ	Amna และคณะ (2020)
<i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>	P-solubilizing	การใช้ <i>B. subtilis</i> ร่วมกับ P_2O_5 สามารถเพิ่มผลผลิตเมล็ดข้าวโพดได้ ถึง 39.5, 29.1 และ 15.9% และ เมื่อใช้ <i>A. brasilense</i> ร่วมกับ P_2O_5 สามารถเพิ่มผลผลิตเมล็ดข้าวโพดได้	Pereira และคณะ (2020)

ชนิดของแบคทีเรีย	คุณสมบัติ PGPR	ผลการดำเนินงาน	อ้างอิง
		34.7% นอกจากนี้ เมื่อผสม <i>B. subtilis</i> และ <i>A. brasilens</i> สามารถเพิ่มการดูดซึมฟอสเฟต ทำให้ผลผลิตเมล็ดข้าวโพดดีขึ้น	

2.3 สารชีวภัณฑ์

2.3.1 การใช้สารชีวภัณฑ์

สารชีวภัณฑ์ หรือหัวเชื้อแบคทีเรีย (Bioinoculant) นิยมนำมาใช้ในการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร เช่น การใช้กลุ่มแบคทีเรีย PGPR ในการเพิ่มการเจริญเติบโตของพืช การใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมพืชและเชื้อก่อโรคทางชีวภาพ หรือการใช้จุลินทรีย์เป็นปุ๋ยชีวภาพ เพื่อแทนที่การใช้ปุ๋ยเคมีและลดสารอนินทรีย์ในดินที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ได้ ทั้งนี้ยังถูกใช้ในการเพิ่มธาตุอาหารแก่พืชโดยความสามารถในการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของจุลินทรีย์ ได้แก่ Mineralize, Solubilize และ Mobilise (Kalayu, 2019) จากการศึกษาของ Nguyen และคณะ (2017) พบว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพแบบจุลินทรีย์ผสมจากคัดแยกจากดินรอบรากพืชสามารถเพิ่มผลผลิตของข้าวมากขึ้น 26.7 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาของ Trivedi และคณะ (2017) พบว่า การใช้เชื้อผสมที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์หลากหลายชนิด ทำให้มีคุณสมบัติที่หลากหลาย สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการรอดชีวิตและช่วยให้การทำงานของรากดีขึ้น

การนำกลุ่มแบคทีเรียไปใช้ในในพื้นที่ทางการเกษตร นิยมพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์หัวเชื้อแบคทีเรียเพื่อรักษาจำนวนกิจกรรม และการแสดงออกของจุลินทรีย์ที่คัดเลือก รวมถึงยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์ สามารถแบ่งรูปแบบของหัวเชื้อออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ 1) แบบแข็ง โดยจะเกาะยึดบนวัสดุดูดซับหรือเตรียมให้อยู่ในรูปผงแห้ง และ 2) สูตรน้ำ โดยจะใช้เซลล์ที่เพาะเลี้ยงหรือใช้น้ำเลี้ยงเซลล์ หัวเชื้อสูตรน้ำยังสามารถพัฒนาการเก็บรักษาโดยการเติมสารปกป้องเซลล์เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีอายุยาวนานขึ้น เมื่อนำหัวเชื้อสูตรน้ำไปใช้งาน สามารถทำได้โดยพ่นลงในไร่ตามแนวการปลูกพืช เมื่อเปรียบเทียบกับแล้วจะเห็นว่าหัวเชื้อสูตรน้ำมีวิธีการที่ง่ายและราคาถูกกว่าหัวเชื้อแบบแข็งในการปลูกอ้อย ตัวอย่างการใช้สารชีวภัณฑ์สูตรน้ำ ได้แก่ Govindarajan และคณะ (2006) พบว่า การใช้แบคทีเรียผสม *B. vietnamiensis* MG43, *G. diazotrophicus* LMG7603 และ *H. seropedicae* LMG6513 ซึ่งมีคุณสมบัติในการตรึงไนโตรเจน เป็นหัวเชื้อสูตรน้ำ ทำให้ชีวมวลของอ้อยในแปลงเพิ่มขึ้น 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าการใช้หัวเชื้อแบบเชื้อเดี่ยว

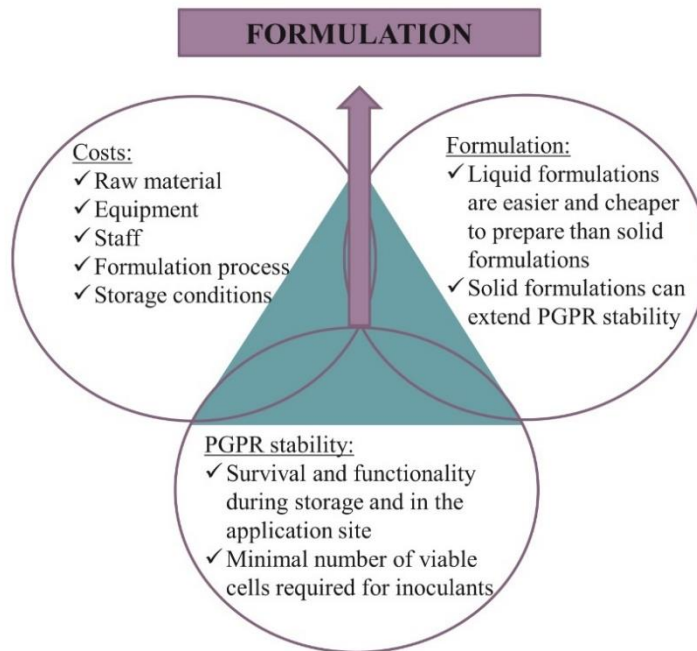
2.3.2 การพัฒนาสารชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์

การใช้สารทางชีวภาพในรูปแบบของผลิตภัณฑ์ส่งเสริมการเจริญของพืช ปุ๋ยสำหรับดิน และสารยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช ถูกใช้ในการทดแทนการใช้สารเคมีทางการเกษตร (Arora และ Mishra, 2016) ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรจะพัฒนาอยู่

ในรูปของหัวเชื้อเดี่ยว หรือหัวเชื้อผสม หรือสารโมลกุลที่จุลินทรีย์ผลิตออกมา โดยเป้าหมายหลักในการพัฒนาสารชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์ คือสารชีวภัณฑ์จะต้องประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ มีอายุการเก็บรักษายาวนาน และสามารถอาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืชในอัตราสูง (Backer และคณะ, 2018) การพัฒนาหัวเชื้อ PGPR ตามขั้นตอนของ Backer และคณะ (2018) มีดังนี้

- 1) คัดแยกแบคทีเรียจากราก หรือจากส่วนอื่น ๆ ของพืช
- 2) ศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการและคัดกรองภาวะที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโต
- 3) ศึกษาระดับภาคสนาม โดยคำนึงถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของพืช ได้แก่ ขนาดของแปลงปลูก สภาพภูมิศาสตร์ วันที่ทำการเพาะปลูก และชนิดของดิน
- 4) ประเมินความเป็นไปได้ที่จะใช้ในรูปแบบการผสมผสานกับสายพันธุ์ และ/หรือ สารประกอบอื่น ๆ
- 5) พิจารณาวิธีการจัดการ เช่น การใช้สารเคมีทางการเกษตร
- 6) ปรับปรุงสินค้า
- 7) ทดสอบผลกระทบที่อาจจะทำให้เกิดสารพิษในสิ่งแวดล้อม
- 8) กำหนดรูปแบบผลิตภัณฑ์ เช่น แบบแคปซูล สูตรน้ำ หรือแบบผง
- 9) ขึ้นทะเบียน และขออนุมัติผลิตภัณฑ์
- 10) วางจำหน่าย

ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการผลิตสารชีวภัณฑ์ประกอบด้วย 3 ปัจจัย ได้แก่ 1) รูปแบบของสารชีวภัณฑ์ โดยทั่วไปสารชีวภัณฑ์จะแบ่งออกเป็น 2 สูตร ได้แก่ สูตรแห้งที่มีอายุการเก็บรักษาและมีความเสถียรมาก และสูตรน้ำที่มีการผลิตง่ายและราคาถูกมากกว่าสูตรแห้ง 2) ความสามารถในการเก็บรักษาแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียที่เก็บรักษาอยู่ในรูปแบบของสารชีวภัณฑ์จะต้องมีชีวิตและยังสามารถรักษากิจกรรมของแบคทีเรียได้ นอกจากนี้จำนวนแบคทีเรียต้องอยู่ในช่วง 10^7 - 10^9 CFU/มิลลิลิตร และ 3) ราคา-ต้นทุนการผลิต ได้แก่ ค่าสารตั้งต้น ค่าอุปกรณ์ ค่าแรงงาน ค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิต และค่าการดูแลเก็บรักษา (Lobo และคณะ, 2019) ดังแสดงในรูปที่ 7 CFU/มิลลิลิตร และ 3) ราคา-ต้นทุนการผลิต ได้แก่ ค่าสารตั้งต้น ค่าอุปกรณ์ ค่าแรงงาน ค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิต และค่าการดูแลเก็บรักษา (Lobo และคณะ, 2019) ดังแสดงในรูปที่ 7



รูปที่ 7 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการพัฒนาสารชีวภัณฑ์ (Lobo และคณะ, 2019)

ในการสร้างผลิตภัณฑ์ PGPR ต้องพัฒนาสูตรที่ได้รับการยินยอมสำหรับการนำไปกระจายสู่พื้นที่การเกษตร และผลิตภัณฑ์ที่จะจำหน่ายในท้องตลาด จำเป็นต้องได้รับการอนุญาตในการจดทะเบียนผลิตภัณฑ์ แต่ในปัจจุบัน ระเบียบและข้อบังคับสำหรับการลงทะเบียนการค้าสารชีวภัณฑ์ในสหภาพยุโรป สหรัฐอเมริกา และแคนาดา ยังคงมีความซับซ้อน สาเหตุอันเนื่องมาจากยังไม่มีมาตรฐานและข้อบังคับทางกฎหมายที่สอดคล้องกันในการนิยามสารชีวภัณฑ์ที่ใช้ในการกระตุ้นการเจริญของพืช (Backer และคณะ, 2018)

ในประเทศไทยได้มีนิยามเกี่ยวกับสารชีวภัณฑ์และมีการบัญญัติการขออนุญาตและการออกใบอนุญาตในพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 โดยนิยามคำว่า “หัวเชื้อจุลินทรีย์” หมายถึงจุลินทรีย์ชีวภาพที่มีจำนวนเซลล์ต่อหน่วยสูง ซึ่งถูกเพาะเลี้ยงโดยกรรมวิธีทางวิทยาศาสตร์ โดยหัวเชื้อจุลินทรีย์จะถูกจัดเป็นปุ๋ยชีวภาพตามพระราชบัญญัติและการขออนุญาตในเชิงการค้าจะต้องปฏิบัติตาม หลักเกณฑ์วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการปุ๋ย ตามหมวดที่ 5 มาตราที่ 36/1 โดยผู้ขอขึ้นทะเบียนปุ๋ยชีวภาพจะต้องส่งตัวอย่างปุ๋ยชีวภาพที่ขอขึ้นทะเบียนพร้อมแจ้งรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ประเภทหรือชนิดของปุ๋ยชีวภาพ
2. วัสดุรองรับของปุ๋ยชีวภาพ
3. ชนิดของจุลินทรีย์และปริมาณจุลินทรีย์รับรอง

4. น้ำหนักสุทธิหรือขนาดบรรจุและภาชนะหรือหีบหอบรรจุ
5. ชื่อผู้ผลิตและสถานที่ผลิตปุ๋ยชีวภาพ
6. วิธีตรวจวิเคราะห์
7. วิธีการผลิตปุ๋ยชีวภาพโดยย่อ
8. ฉลาก
9. เอกสารกำกับปุ๋ยชีวภาพ
10. รายงานการวิเคราะห์จุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยของทางราชการ หรือห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยอื่นที่อธิบดีกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการปุ๋ย
11. รายละเอียดเกี่ยวกับคุณสมบัติและสรรพคุณ (ราชกิจจานุเบกษา, 2551)

2.3.3 การลดต้นทุนการผลิตสารชีวภัณฑ์

ต้นทุนของปุ๋ยชีวภาพ จะประกอบด้วย ค่าวัตถุดิบ ค่าเครื่องมือ และค่าแรง โดยรวมแล้วมีความใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ปุ๋ยเคมี ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการใช้สารตั้งต้นที่มีราคาถูก ผลผลิตพลอยได้หรือของเสียทางการเกษตร มาผสมกับสูตรดั้งเดิมเพื่อเพิ่มหัวเชื้อตั้งต้น เช่น กลีเซอรอลดิบ แป้งข้าวโพด กากถั่วเหลืองหรือรำข้าวโพด ซึ่งนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนหรือแหล่งไนโตรเจนในการเจริญของจุลินทรีย์ (Lobo และคณะ, 2019) นอกจากนี้วัตถุดิบที่นำมาใช้ยังสามารถใช้เป็นวัสดุตรึงแบคทีเรียด้วย ตัวอย่างการนำผลผลิตทางการเกษตรมาใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการพัฒนาสารชีวภัณฑ์ที่มีราคาถูก แสดงดังตารางที่ 2

โมลาส (Molass) เป็นผลผลิตพลอยได้ที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาล สีน้ำตาลเหนียวข้น ไม่สามารถตกผลึกน้ำตาลได้อีก ประกอบด้วยน้ำตาลประมาณ 50% (ได้แก่ น้ำตาลซูโครส กลูโคสและฟรักโตสโดยมีน้ำตาลซูโครสเป็นส่วนใหญ่), โปรตีน 4%, Trace element (ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม และเหล็ก) และวิตามิน (วิตามิน H หรือ B7) (Nikodinovic-Runic และคณะ, 2013) โชคชัย วณภู (2556) ได้นำโมลาสมาศึกษา เพื่อลดต้นทุนการผลิตหัวเชื้อพบว่าอาหารที่เติมโมลาส 2% ร่วมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์และแป้งมัน สามารถทำให้ *Azospirillum* sp. เจริญและมีชีวิตอยู่รอดได้มากกว่า 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร นาน 8 เดือน

ตารางที่ 2 ตัวอย่างการนำผลผลิตทางการเกษตรมาใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการพัฒนาสารชีวภัณฑ์ที่มีราคาถูก

ชนิดของแบคทีเรีย	สารทดแทนที่มีราคาถูก/ ผลผลิตพลอยได้ทางเกษตร	ผลการดำเนินงาน	อ้างอิง
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	น้ำเสียที่มีส่วนผสมของแป้งมันเทศ	เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารในสถานะที่เหมาะสม ชีวมวลสูงสุดของเชื้อเท่ากับ 9.7×10^9 CFU/มิลลิลิตร และนำไป	Xu และคณะ (2014)

ชนิดของแบคทีเรีย	สารทดแทนที่มีราคาถูก/ ผลผลิตพลอยได้ทางเกษตร	ผลการดำเนินงาน	อ้างอิง
		ทดสอบกับต้นชา พบว่าส่งผลให้ ผลผลิตชา และคุณภาพชาเพิ่มมากขึ้น	
<i>Bacillus siamensis</i>	กากน้ำตาลหัวบีท	ใช้กากน้ำตาลหัวบีท 2.3 % แบคทีเรีย มีความเข้มข้น 10^9 CFU/มิลลิลิตร ผล การทดสอบพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณ ไนโตรเจนได้	Pastor-Bueis และ คณะ (2017)
<i>Streptomyces fradiae</i> NKZ-259	โมลาสและกรด Humic	มีความเข้มข้นของเชื้อ 5.6×10^6 CFU/มิลลิลิตร วัดการผลิต IAA ได้ถึง 82.36 $\mu\text{g mL}$ สามารถเพิ่มความยาว รากและยอด และเพิ่มน้ำหนักของต้น มะเขือเทศได้	Myo และคณะ (2019)
<i>Bacillus subtilis</i>	กากรำข้าวโพด	<i>B. subtilis</i> ถ่ายลงในกากรำข้าวโพด เพื่อใช้เป็นวัสดุตั้งและเป็นแหล่ง อาหารในการหมักแบบ semi-solid หัวเชื้อสามารถเพิ่มการเจริญของข้าว สาลีและผักกาดจีน	Zhang และคณะ (2019)
<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Kebsiella</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Azotobacter</i> sp.	น้ำตาลและน้ำมะพร้าว	ปุ๋ยชีวภาพสามารถเพิ่มปริมาณแร่ธาตุ ในดินได้ ไนโตรเจน 69.7%, ฟอสเฟต 4.7% และ โพแทสเซียม 28%	Neneng (2020)
<i>Bacillus</i> sp., <i>Azotobacter</i> sp.	โมลาส	<i>Bacillus</i> และ <i>Azotobacter</i> สามารถ โตในอาหารเหลวโมลาส 1% w/v และ 0.1% NH_4Cl และสร้างฮอร์โมนพืช อย่าง IAA, Gibberellin, Kinetin และ Zeatin ได้	Hindersah และคณะ (2020)

2.3.4 สารปกป้องเซลล์ (Cell protectant)

สารชีวภัณฑ์ที่ดีจะต้องสามารถรักษาจำนวนแบคทีเรียและการทำงานของเซลล์ได้ (Bashan และคณะ, 2013) ในปัจจุบัน การใช้สารชีวภัณฑ์สูตรน้ำมีการเติมสารปกป้องเซลล์และสารเติมแต่งหลากหลายชนิด เพื่อให้จำนวนแบคทีเรียสามารถอยู่รอดได้นานขึ้นระหว่างการเก็บรักษา (Lobo และคณะ, 2019) ยกตัวอย่างเช่น

1) กลีเซอรอล (Glycerol) เป็นสารประเภทโพลีออล ใช้เป็นสารปกป้องเซลล์จากภาวะเครียดกายภาพ ควบคุมสมดุลแรงดันออสโมซิส และควบคุมการเข้าออกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (L. Li และคณะ, 2009) นอกจากนี้กลีเซอรอลยังสามารถเป็นแหล่งคาร์บอนให้จุลินทรีย์อีกด้วย เช่น การศึกษาของ Lee และคณะ (2016) ได้ใช้กลีเซอรอล 3% ในสารชีวภัณฑ์สามารถเก็บรักษาแบคทีเรียได้นาน 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2) Polyvinylpyrrolidone (PVP) เป็นโพลีเมอร์ที่นิยมใช้เพิ่มการยึดกับวัสดุตั้ง (Tittabutr และคณะ, 2007) และปกป้องเซลล์จากภาวะเซลล์แห้ง (Desiccation) (Sridhar และคณะ, 2004) เช่น การศึกษาของ Anith และคณะ (2016) พบว่า ใช้ PVP ในสารชีวภัณฑ์ที่ใช้น้ำมะพร้าวเป็นแหล่งอาหาร พบว่าสามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษา *Pseudomonas fluorescens* AMB-8 ได้นานถึง 6 เดือน

3) Polyethylene glycol (PEG) เป็นโพลีเมอร์ละลายน้ำได้ มีคุณสมบัติยึดเกาะ ความเหนียวและหนืดของ PEG ทำให้เกิดกระบวนการ Drying ลดลง (Mohamed และคณะ, 2019)

ตารางที่ 3 ตัวอย่างการวิจัยที่มีการเติมสารปกป้องเซลล์หรือสารเติมแต่งในสารชีวภัณฑ์

แบคทีเรีย	สารปกป้องเซลล์	จำนวนแบคทีเรีย (log CFU/มิลลิลิตร)	อายุการเก็บ รักษา	อ้างอิง
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> PS3	กลีเซอรอล (3.%)	8.10	1 เดือน (4 °C)	Lee และคณะ (2016)
	PVP (2.0%)	6.64		
	PEG (1.0%)	6.72		
<i>Azospirillum</i> spp.,	กลีเซอรอล (2.0%)	> 8.10	3 เดือน	Manimekalai และ Kannahi (2018)
<i>Azotobacter</i> spp.,	PEG (1.0%)	>7.00		
<i>Pseudomonas</i> spp.	PVP (2.0%)	>7.9		
<i>Bacillus megaterium</i>	กลีเซอรอล (0.5 %) + PEG (0.5 %)	10.00	6 เดือน	Sridhar และคณะ (2004)
<i>Azospirillum brasilense</i> Asp-7	PVP (4.0%)	10.94	3 เดือน	Mounika และคณะ (2017)
<i>Azospirillum brasilense</i>	PVP (2.0%)	9.82	3 เดือน (อุณหภูมิห้อง)	Kumaresan และ Reetha (2011)
	PEG (1.0%)	9.80		
<i>Pseudomonas fluorescens</i> AMB-8	กลีเซอรอล (2.0%)	7.08	6 เดือน	Anith และคณะ (2016)

แบคทีเรีย	สารปกป้องเซลล์	จำนวนแบคทีเรีย (log CFU/มิลลิลิตร)	อายุการเก็บ รักษา	อ้างอิง
	PVP (2.0%)	7.15		
<i>Bradyrhizobium</i> SEMIA 587	PVP (1.5%)	> 9.54	8 เดือน	Denardin และ Freire (2000)
<i>Bradyrhizobium</i> SEMIA 5019	+ Xanthan, Jatai gums			
	PVG (1.5%)	> 8.57		
	+ Xanthan, Jatai gums			

2.3.5 วัสดุตรึง

วัสดุตรึง (Carrier) นิยมนำมาช่วยในการส่งเสริมการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในดิน โดยนำมาผสมกับดิน เพื่อให้จุลินทรีย์เข้าไปอาศัยบนวัสดุตรึงที่มีรูพรุน งานวิจัยนี้ใช้วัสดุตรึง 3 ชนิด คือ ถ่านชีวภาพ ถ้ำลอย และกากเนื้อในปาล์มน้ำมัน ซึ่งสมบัติดังต่อไปนี้

1) ถ่านชีวภาพ (Biochar) สามารถช่วยเปลี่ยนตัวบ่งชี้ภายในดินที่เกี่ยวข้องกับการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ได้ ซึ่งประกอบด้วย ค่าพีเอช สารอินทรีย์ การแลกเปลี่ยนประจุไอออน การกักเก็บธาตุอาหารและน้ำ ความหนาแน่นของดิน และช่วยให้มีพื้นที่สำหรับการอยู่อาศัยของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันเชื้อราได้ด้วย (Backer และคณะ, 2018)

2) ถ้ำลอย (Fly ash) มีคุณสมบัติเป็นสารปรับปรุงดิน เช่น ช่วยปรับพีเอช ปรับปรุงองค์ประกอบดิน และช่วยในการอุ้มน้ำในดิน ถ้ำลอยมีความเป็นด่างมาก ($\text{pH} \geq 9$) จึงนิยมใช้ในการลดปัญหาดินเป็นกรดให้ดินมีสภาพเหมาะกับการเพาะปลูก ช่วยให้พืชเข้าถึงสารอาหารภายในดิน (Usmani และคณะ, 2019)

3) กากเนื้อในปาล์มน้ำมัน (Palm kernel cake) ถูกนำมาใช้เป็นสารประกอบในอาหารสัตว์และปุ๋ยชีวภาพ เนื่องจากมีกากใยอาหารในปริมาณสูง (Zahari และ Alimon, 2003)

การศึกษาของ Tripti และคณะ (2017) พบว่า การใช้ *Burkholderia* sp. และ *Bacillus cloacae* มาตรึงในวัสดุตรึงถ่านชีวภาพและถ้ำลอย สามารถช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตของพืชให้ดีขึ้น ดินมีความอุดมสมบูรณ์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และการศึกษาของ Maheshwari และคณะ (2015) พบว่า การใช้ *Pseudomonas aeruginosa* KRP1 และ *Bacillus licheniformis* KRB1 บนทราย ขี้เลื่อย และแร่แวนอร์มิคูลไลท์ ช่วยเพิ่มผลผลิตของพืชและทำให้พืชเจริญดีขึ้น

การเลือกใช้วัสดุตรึงจะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น การเข้าถึงการรบกวนของวัสดุ คุณสมบัติเฉพาะของวัสดุ เช่น คุณสมบัติการเป็นกรดต่าง ความสามารถในการอุ้มน้ำ ค่าความชื้นของวัสดุ เป็นต้น

บทที่ 3

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

1. *Bacillus thuringiensis* B2 รหัส MSCU0882 (เพ็ญนภา บุญจริง, 2558)
2. *Bacillus stratophericus* L19 รหัส MSCU0873 (เพ็ญนภา บุญจริง, 2558)
3. *Bacillus altitudinis* T17 รหัส MSCU0867 (เพ็ญนภา บุญจริง, 2558)
4. *Weissella cibaria* PN3 รหัส MSCU0840 (Subsanguan และคณะ, 2020)

5. กลุ่มแบคทีเรียผสม M4 (ยังไม่ได้รับการระบุชนิดแบคทีเรีย) จากการคัดแยกของนางสาวต้องตา สายทอง ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยวิทยานิพนธ์ เรื่องการพัฒนาหัวเชื้อแบคทีเรียผสมเพื่อส่งเสริมการเจริญของอ้อยในภาวะแล้ง หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี พ.ศ. 2563 โดยผู้วิจัยนำกลุ่มแบคทีเรีย M4 มาใช้เพื่อการเปรียบเทียบในงานวิจัยนี้ เนื่องจากเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่คัดแยกจากรากอ้อยที่ฟื้นตัวหลังสภาวะแล้ง จึงคาดว่าจะมีประสิทธิภาพสูง และหากกลุ่มแบคทีเรียนี้สามารถส่งเสริมการเจริญของพืชได้ ผู้วิจัยมีแผนว่าจะนำกลุ่มแบคทีเรีย M4 ไปคัดแยกเป็นแบคทีเรียเดี่ยวหลายชนิด แล้วจึงนำแบคทีเรียชนิดที่ไม่จัดเป็นเชื้อก่อโรคมารวมกันเป็นกลุ่มแบคทีเรียอีกครั้ง (Defined bacterial consortium) เพื่อใช้เป็นสารชีวภัณฑ์ชนิดใหม่ต่อไป

3.2 วัสดุตั้งที่ใช้ในการทดลอง

1. ถ่านชีวภาพ จากกลุ่มเกษตรกรริมคลอง (Erevthai) ดังรูปที่ 8ก
2. ถั่วลอ่ย จากบริษัทพิภย์กำแพงเพชร ไบโอเอนเนอจี จำกัด ดังรูปที่ 8ข
3. กากเนื้อในเมล็ดปาล์ม จากบริษัทโกลเด้นไทม์เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด ดังรูปที่ 8ค



ก)

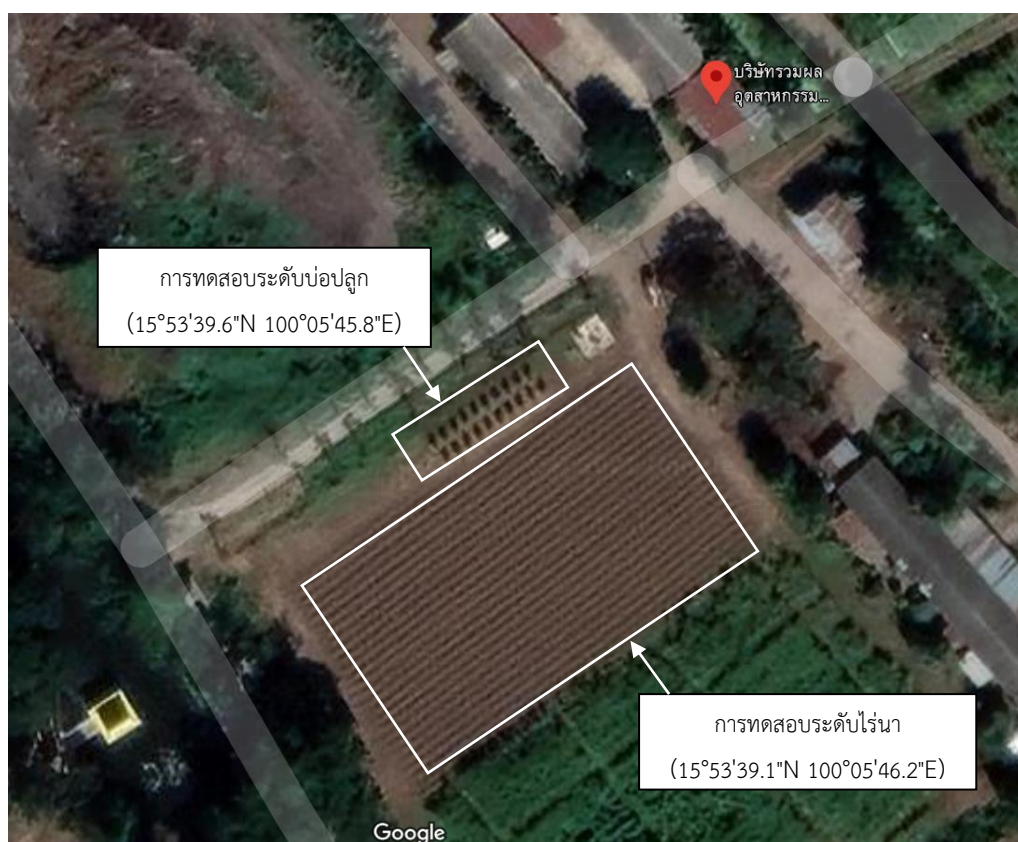
ข)

ค)

รูปที่ 8 วัสดุจริงที่ใช้ในการทดลอง ก) ถ่านชีวภาพ ข) ถ่านล่อย และ ค) กากเนื้อในเมล็ดปาล์ม

3.3 ต้นอ้อยที่ใช้ในการทดลอง

ต้นอ้อย (*Saccharum officinarum* L.) สายพันธุ์ขอนแก่น 3 ซึ่งได้รับจากกองวิชาการดงบ้านโพธิ์ บริษัทเกษตรไทย อินเตอร์เนชั่นแนล ซูการ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (มหาชน)



รูปที่ 9 บริเวณพื้นที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญของอ้อย ณ กองวิชาการดงบ้านโพธิ์ บริษัทเกษตรไทย อินเตอร์เนชั่นแนล ซูการ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (มหาชน)

3.4 วิธีการดำเนินงาน

3.4.1 การเตรียมสารชีวภัณฑ์และการทดสอบการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช

ผู้วิจัยได้คัดเลือกแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช 4 ชนิด เพื่อใช้ในการทดสอบการส่งเสริมการเจริญของอ้อยในภาวะแล้ง โดยทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่เลี้ยงหลังจากการคัดแยกของเพ็ญภา บุญจริง (2558) จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T 17 และคัดเลือกแลคติกแบคทีเรีย *Weissella cibaria* PN3 ที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิว จากการคัดเลือกของ Subsanguan และคณะ (2020) เพื่อนำมารวมกลุ่มเป็นแบคทีเรียผสม โดยก่อนการนำไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญของอ้อยนั้น ผู้วิจัยทำการทดสอบคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชในด้านต่าง ๆ ได้แก่ การผลิตแคแทเลส การผลิตละลายฟอสเฟต การตรึงไนโตรเจน การผลิตสาร IAA การผลิต EPS และการสร้างสารไซโตไคน์ ซึ่งการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแต่ละชนิดนั้น จะเริ่มเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกัน โดย *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 จะทำการลงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว tryptic soy broth (TSB) ส่วน *Weissella cibaria* PN3 จะทำการลงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Lactobacillus MRS broth (MRS) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 - 30 ชั่วโมง นำสารแขวนลอยแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^8 - 10^9 CFU/มิลลิลิตร (ความเข้มข้นที่ค่า OD₆₀₀ ประมาณ 0.9 ถึง 1) ของแบคทีเรียแต่ละชนิดมาผสมกันในอัตราส่วนที่เท่ากันในรูปของแบคทีเรียผสมก่อนการนำไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญของอ้อยต่อไป



รูปที่ 10 แบคทีเรียที่ใช้ในการทำวิจัย ประกอบด้วย ซึ่งประกอบด้วย *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3

1) การทดสอบสมบัติในการสร้างแคแทเลส ด้วยสารละลาย Hydrogen peroxide ตามวิธีการของ Singh และ Jha (2015) สังเกตการเกิดฟองแก๊สที่เกิดขึ้น

2) การทดสอบสมบัติในการละลายฟอสเฟต โดยถ่ายเชื้อเริ่มต้น ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya's agar (PVK) ตามวิธีการของ Paul และ Sinha (2013) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเกิดวงใสรอบโคโลนีและวัดเส้นผ่านศูนย์กลางที่เกิดขึ้น คำนวณหาค่าดัชนีการละลายฟอสเฟตจากสูตร

$$\text{ค่าดัชนีการละลายฟอสเฟต (SI)} = \frac{(\text{เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี} + \text{เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส})}{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี}}$$

3) การทดสอบสมบัติในการตรึงไนโตรเจน โดยถ่ายเชื้อเริ่มต้น ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Jensen's medium ซึ่งเป็นอาหารที่ไม่มีการเติมไนโตรเจน และเติมสับรอมไฮบอลลู เพื่อสังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงจากการสร้างแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจากการใช้ไนโตรเจนที่อยู่ในบรรยากาศของเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ หากแบคทีเรียมีการเจริญบนอาหาร และอาหารมีการเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองรอบโคโลนี แสดงว่าแบคทีเรียมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน

4) การทดสอบสมบัติในการสร้างไบโอฟิล์ม (EPS production) ด้วยสีย้อมอัลเซียนบลู ตามวิธีการของ Chantamalee และ Luepromchai (2012) โดยนำเชื้อเริ่มต้น 100 ไมโครลิตร ถ่ายลงอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 4 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นจึงทดสอบการสร้าง EPS ของเชื้อโดยการหยดสีย้อมอัลเซียนบลู 50 ไมโครลิตร และบ่มเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้สารทดสอบยึดเกาะกับสาร EPS ที่เชื้อสร้างขึ้น แล้วจึงนำไปตกตะกอนเซลล์ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 606 นาโนเมตร คำนวณเปอร์เซ็นต์การสร้าง EPS โดยเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของชุดการทดลองเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อ

5) การทดสอบสมบัติในการสร้างซิติเตอร์ฟอรัส บนอาหารแข็ง Chrome azurole S ตามวิธีการของ Louden และคณะ (2011) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเกิดวงเหลืองใสรอบโคโลนีจากการที่แบคทีเรียแย่งจับกับธาตุเหล็กในอาหาร และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางที่เกิดขึ้น

6) การทดสอบสมบัติในการผลิต IAA โดยนำเชื้อเริ่มต้น 100 ไมโครลิตร ถ่ายลงในอาหาร NB ที่มีการเติมทริปโตเฟน 1 กรัมต่อลิตร ประมาณ 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสที่ได้ทดสอบกับสารทดสอบ Salkowski ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นจึงบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และวัดปริมาณ IAA ที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ IAA ตามวิธีการของ Singh และ Jha (2015)

3.4.2 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับบ่อปลูก

ศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของกลุ่มแบคทีเรียผสมต่ออ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับบ่อปลูก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร (มีพื้นที่ปลูก 0.50 ตารางเมตร) ณ บ่อปลูกอ้อย อ. แก้วเลี้ยว จ. นครสวรรค์ แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ได้แก่

T1) ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์

T2) ชุดการทดลองที่เติมวัสดุตรึงเท่านั้น โดยวัสดุตรึงจะประกอบด้วยถ่านชีวภาพ, แถ่ลอย และกากเนื้อในปาล์มในอัตราส่วน 1:1:1

T3) ชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์ผสม 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 ในอัตราส่วน 1:1:1:1 และเติมวัสดุตรึง

T4) ชุดการทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรียผสม M4 และเติมวัสดุตรึง

เตรียมการทดลองโดยการเคลือบแบคทีเรียบริเวณรากอ้อย ทำการคัดเลือกต้นอ้อยที่มีความสูง 8-11 เซนติเมตร และแช่รากอ้อยลงในสารชีวภัณฑ์ที่มีความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น 10^8 - 10^9 CFU/มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (รูปที่ 11) จากนั้นจึงวางต้นอ้อยลงในบ่อปลูกและกลบด้วยดิน โดยแต่ละบ่อจะประกอบด้วยต้นอ้อย 2 ต้น วางต้นอ้อยห่างกัน 50 เซนติเมตร ซึ่งการก่อนวางอ้อย ชุดการทดลองที่เติมวัสดุตรึงจะทำการเติมวัสดุตรึงก่อนวางอ้อยเป็นจำนวน หลุมละ 50 กรัม จากนั้นเติมสารชีวภัณฑ์เพิ่มเติมบ่อละ 1.5 ลิตร (ปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่เติมจะอ้างอิงจากการทดลองของเอกวิทย์ ลือพร้อมชัย (2563) คือประมาณ 5% v/w ของน้ำหนักดิน) นอกจากนี้ ชุดการทดลอง T1 และ T2 ที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์จะมีการเติมน้ำแทนสารชีวภัณฑ์ในปริมาตรที่เท่ากัน กรรมวิธีทดลองจะควบคุมการให้น้ำที่ความชื้นดิน ร้อยละ 50 ของความชื้นสนาม และเติมสารชีวภัณฑ์เพิ่มเติมบ่อละ 1 ลิตร เป็นเวลา 3 วัน จำนวนสารชีวภัณฑ์ที่ผู้วิจัยได้เติมเพิ่มเติมตลอดระยะเวลาที่ปลูก แสดงดังตารางที่ 4

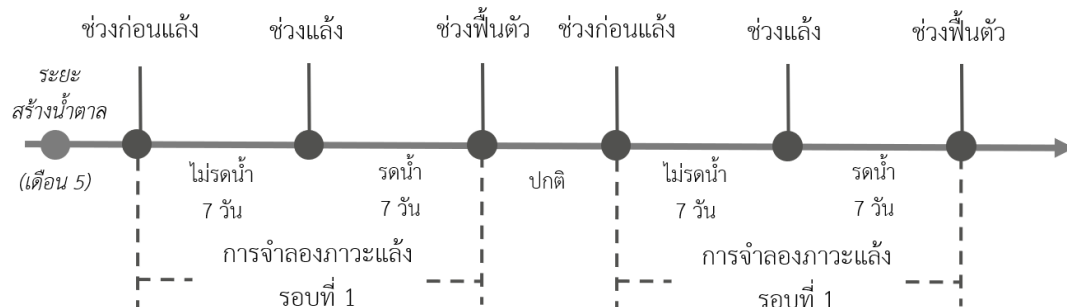


รูปที่ 111 การเตรียมอ้อยสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญของอ้อยในระดับบ่อปลูก

ตารางที่ 4 ปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่ใช้สำหรับเติมระหว่างการทดสอบ

การทดสอบ	เดือนที่	ปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่เติม (ลิตร)			
		ชุดการทดลอง T3		ชุดการทดลอง T4	
		บ่อละ	รวม	บ่อละ	รวม
ระยะตั้งตัว	เริ่มต้นปลูก	4.5	18.0	4.5	18.0
	1	3.0	12.0	3.0	12.0
	2	3.0	12.0	3.0	12.0
ระยะแตกกอ	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
ระยะสร้างน้ำตาล	5	3.0	12.0	3.0	12.0
	6	3.0	12.0	3.0	12.0
	7	3.0	12.0	3.0	12.0
ระยะสุกแก่	8	3.0	12.0	3.0	12.0

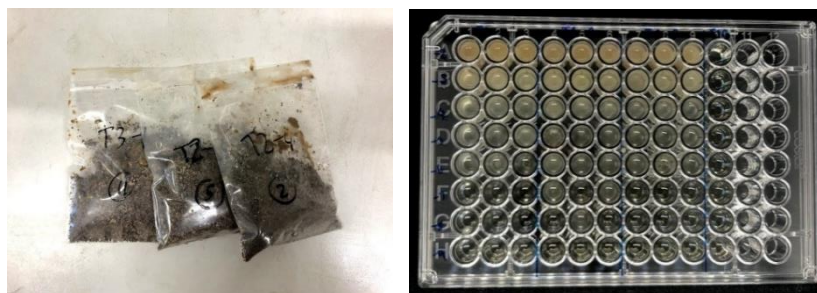
ในระหว่างการสร้างน้ำตาลของอ้อย จะทำการทดสอบการฟื้นตัวของอ้อย โดยจำลองภาวะแล้ง ออกเป็น 3 ช่วงเวลา ได้แก่ ช่วงก่อนแล้ง, ช่วงแล้ง ที่อ้อยมีภาวะแล้งจากการขาดน้ำ และช่วงฟื้นตัว ที่อ้อยมีการฟื้นตัวหลังภาวะเครียด ในแต่ละช่วงของการจำลองภาวะแล้งนั้น จะทำการนับจำนวนจุลินทรีย์รอบรากอ้อย วัดความชื้นของดิน และวัดความเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของอ้อย ทำการทดสอบภาวะแล้งทั้งหมด 2 รอบ ตามแผนภาพที่ 12



รูปที่ 12 แผนภาพการทดลองจำลองภาวะแล้งในการทดสอบการฟื้นตัวของอ้อยในระหว่างการสร้างน้ำตาลของอ้อยในบ่อปลูก

เมื่ออ้อยเข้าสู่ระยะสุกแก่ จึงวัดการเจริญเติบโตของอ้อยทางกายภาพ และตัดอ้อยเพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพอ้อยในภายหลัง โดยการตรวจติดตามการทดลองจะแบ่งการดำเนินการออกเป็น

1) การนับจำนวนจุลินทรีย์รอบรากอ้อย ทำการทดสอบโดยการเก็บตัวอย่างดินรอบรากอ้อยเป็นจำนวน 5 กรัม จากนั้นทำการเจือจางตามลำดับส่วน และนับประชากรโดยใช้วิธี MPN บน 96 well plate (รูปที่ 13) โดยแบ่งออกเป็น 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ อาหาร TSB เพื่อนับจำนวนประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมดในดิน, อาหาร TSB ที่เติม PEG6000 15% เพื่อนับจำนวนแบคทีเรียทนแล้ง และอาหาร MRS เพื่อนับจำนวนแลคติกแบคทีเรียในดิน



รูปที่ 12 ตัวอย่างดินบริเวณรอบรากอ้อย และการนับจำนวนจุลินทรีย์ในดินบน 96 well plate

2) การวัดความชื้นของดิน ด้วยเครื่อง Hydro Sense II เพื่อยืนยันการจำลองภาวะแล้งในดิน ทำการวัดบริเวณดินรอบรากอ้อยบ่อละ 3 จุด

3) การวัดค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (%RLWC) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำในใบ ทดสอบการกักเก็บน้ำภายในใบ เมื่อเข้าสู่ภาวะแล้งโดยการตัดใบอ้อยยาว 5 เซนติเมตร วัดน้ำหนักสด น้ำหนักอิมตัว และน้ำหนักแห้ง และคำนวณหาค่า %RLWC จากสูตร

$$\text{ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ} = \frac{\text{น้ำหนักสด} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักอิมตัว} - \text{น้ำหนักแห้ง}} \times 100$$

4) วัดดัชนีพื้นที่ใบ (LAI) เพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการรับแสงและสังเคราะห์แสงของใบ โดยเครื่อง Plant Canopy Analyzer LAI-2000 ทำการวัดโดย 3 จุดบริเวณโดยรอบของต้นอ้อย จากนั้นจึงอ่านค่าที่ได้



รูปที่ 13 อุปกรณ์ในการตรวจติดตามการฟื้นตัวของอ้อย ก) การวัดความชื้นในดิน ด้วยเครื่อง Hydro Sense II ข) การเก็บใบอ้อยขนาด 5 เซนติเมตร เพื่อวัดค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ และ ค) เครื่อง Plant Canopy Analyzer LAI-2000 สำหรับการวัดดัชนีพื้นที่ใบ

5) วัดค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบที่สอง (Fv/Fm) เพื่อทดสอบการตอบสนองของใบต่อแสงฟลูออเรสเซนซ์ ด้วยเครื่อง Handy PEA โดยใช้ตัวหนีบที่ใบอ้อยเป็นเวลา 15 นาที เพื่อหยุดการรับแสงของใบ จากนั้นจึงเปิดจุดรับแสงที่ตัวหนีบและวัดด้วยเครื่อง Handy PEA ที่มีการปล่อยฟลูออเรสเซนซ์ จากนั้นจึงวัดปริมาณฟลูออเรสเซนซ์ที่ใบอ้อยสามารถตอบสนองได้



รูปที่ 14 ลักษณะการวัดการตอบสนองของใบต่อฟลูออเรสเซนซ์ ด้วยเครื่อง Handy PEA

6) การทดสอบ Crop water stress index (CWSI) โดยวัดจากรูปถ่ายความร้อนที่เกิดจากอ้อยคายน้ำ ซึ่งทำการวัดอุณหภูมิปกติ (T_c) อุณหภูมิขณะปากใบเปิด (T_{dry}) และอุณหภูมิขณะปากใบปิด (T_{wet}) โดยทำการทาสีที่ผิวใบเพื่อจำกัดการหายใจที่ผิวใบ จากนั้นคำนวณในสูตร

$$CWSI = \frac{T_c - T_{wet}}{T_{dry} - T_{wet}}$$

7) วัดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของอ้อยในช่วงหลังอ้อยเข้าสู่ระยะสุกแก่ วัดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของอ้อยโดยการนับจำนวนลำ วัดความสูงของต้นอ้อย ความยาวปล้องอ้อย ขนาดลำ จำนวนลำ น้ำหนักของท่อนอ้อย และน้ำหนักใบสด จากนั้นคำนวณน้ำหนักอ้อยเข้าหีบต่อบ่อปลูกเทียบกับพื้นที่ปลูก



รูปที่ 15 การตรวจติดตามการเจริญทางกายภาพของอ้อยโดยเกษตรกร

วิธีการคำนวณน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ยในแต่ละบ่อปลูกโดยเทียบกับพื้นที่ปลูก

กำหนดให้

- เส้นผ่านศูนย์กลางบ่อปลูก 80 เซนติเมตร หรือพื้นที่ปลูกในบ่อ 0.50 ตารางเมตร
- พื้นที่ 1 ไร่ มีพื้นที่เท่ากับ 1,600 ตารางเมตร
- น้ำหนัก 1 ตัน มีค่าเท่ากับ 1,000 กิโลกรัม

ตัวอย่าง

- เมื่อพื้นที่ปลูกมีขนาด 0.50 ตารางเมตร น้ำหนักอ้อยเฉลี่ยในชุดการทดลอง T4 มีน้ำหนักเฉลี่ยแต่ละบ่อเท่ากับ 5.95 กิโลกรัม ดังนั้นพื้นที่ปลูก 1.00 ตารางเมตร จะมีน้ำหนักอ้อย $(5.95 \times 1.00)/0.50 = 11.90$ กิโลกรัมต่อตารางเมตร
- เมื่อคำนวณพื้นที่ปลูก 1,600 ตารางเมตร จะมีน้ำหนักอ้อย $(11.90 \times 1,600)/1.00 = 19,040$ กิโลกรัมต่อตารางเมตร หรือ 19.04 ตันต่อไร่

8) วัดคุณภาพอ้อย โดยหลังการตัดอ้อยและนำไปวัดวิเคราะห์คุณภาพอ้อยในบ่อปลูก ซึ่งประกอบด้วย การหาค่า โพล (Pol), ค่าบริกซ์ (Brix) และ ค่าเส้นใยของอ้อย (%Fiber) เพื่อนำวิเคราะห์ค่า Commercial Cane Sugar (C.C.S) โดยการวิเคราะห์นี้ดำเนินการโดยบริษัทเกษตรไทย อินเตอร์เนชั่นแนล ชูการ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด

3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในภาวะแล้ง ในระดับไร่

การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญของอ้อยทำในไร่อ้อยของกองวิชาการดงบ้านโพธิ์ บริษัทเกษตรไทย อินเตอร์เนชั่นแนล ชูการ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (มหาชน) หมู่ 7 ต.หัวดง อ.เก้าเลี้ยว จ.นครสวรรค์ และเตรียมสารชีวภัณฑ์ โดยดำเนินการเพาะเลี้ยงในถังหมัก ขนาด 130 ลิตร ที่บริษัท ไบโอฟิล เทคโนโลยี จำกัด โดยการดำเนินการจะมีการเพิ่มขนาดตั้งแต่ในฟลาสก์ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิเมตร เพิ่มขนาดเป็นในฟลาสก์ขวดรูปชมพู่ขนาด 5 ลิตร จากนั้นถึงย้ายเลี้ยงในถังหมักขนาด 130 ลิตร จนแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ $10^8 - 10^9$ CFU/มิลลิลิตร (ความเข้มข้นที่ค่า OD₆₀₀ ประมาณ 0.9 ถึง 1 (ลักษณะการขยายในถังหมักตามรูปที่ 17) การทดสอบกำหนดชุดการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่

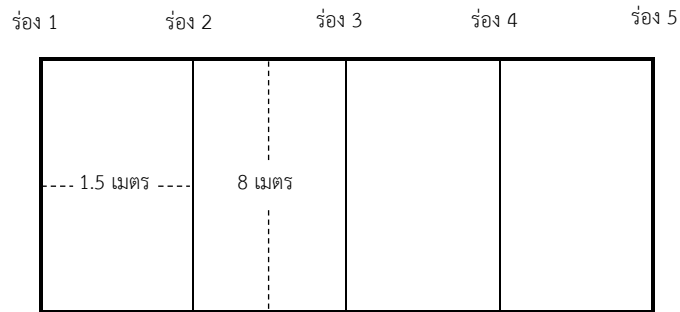
T1) ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์

T2) ชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อแบคทีเรียผสม 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 ในอัตราส่วน 1:1:1:1

T3) ชุดการทดลองที่เติมหัวเชื้อแบคทีเรียผสม 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 ในอัตราส่วน 1:1:1:1 และเติมวัสดุตรึงซึ่งประกอบด้วย กากเนื้อในเมล็ดปาล์ม ถ่านชีวภาพ และถ่านลอยผสมกัน ในอัตราส่วน 1:1:1 แพลงละ 9 กิโลกรัม

เตรียมท่อนพันธุ์อ้อยก่อนการปลูกโดยแช่ท่อนอ้อยลงในสารชีวภัณฑ์แบคทีเรียผสมที่เตรียมไว้ เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง เพื่อให้แบคทีเรียเกาะที่ผิวท่อนอ้อย ยกเว้นท่อนอ้อยในชุดควบคุมโดยให้แช่ในน้ำสะอาดในเวลาที่เท่ากัน จากนั้นวางท่อนอ้อยลงดิน ทำการทดลองชุดละ 4 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำ (แปลง) จะมีร่องปลูกอ้อย 5 ร่อง (ความยาว 8 เมตร กว้าง 1.5 เมตร) และแต่ละร่องวางท่อนอ้อย 2 แถว แถวละ 16 ท่อน ท่อนละ 2-3 ตา ซึ่งสอดคล้องกับวิธีปลูกอ้อยของเกษตรกร เมื่อวางท่อนอ้อยเสร็จจะกลบร่องด้วยดิน 7-10 เซนติเมตร หลังจากนั้น เติมหูลงในไร่ แพลงละ 65 ลิตร ในกรณีของชุดการทดลองที่ 3 (T3) จะมีวัสดุตรึงก่อนวางท่อนพันธุ์อ้อยในดิน จากนั้นเติมสารชีวภัณฑ์เพิ่มเติมในเดือนที่ 2 และ 3 แพลงละ 65 ลิตร จากนั้นติดตามการเจริญของอ้อย โดยการนับการแตกหน่อ วัดสรีรวิทยาของอ้อย วัดความชื้นในดิน และเก็บตัวอย่างดินอย่างต่อเนื่อง โดยในขั้นนี้จะทำการทดลองจนถึงระยะเก็บเกี่ยว

การคำนวณจำนวนหน่ออ้อยที่เจริญโดยเทียบกับขนาดพื้นที่ปลูก



กำหนดให้

- แต่ละแปลงทดลองมี 5 ร่อง แต่ละร่องมีความยาว 8 เมตร และกว้าง 1.5 เมตร ดังนั้นแปลงการทดลองมีแนวการปลูกยาว $(8 \times 5) = 40$ เมตร
- 1 ไร่ มีพื้นที่เท่ากับ 1,600 ตารางเมตร ดังนั้นความยาวในการปลูกอ้อย 1 ไร่ เทียบกับแปลงการทดลองปลูกอ้อย จะมีความยาวเท่ากับ $(1,600 \div 1.5) = 1,067$ เมตร
- น้ำหนัก 1 ต้น มีค่าเท่ากับ 1,000 กิโลกรัม

ตัวอย่าง

ในตามแนวการปลูก 40 เมตร ชุดการทดลอง T3 มีหน่ออ้อยเจริญเฉลี่ย 326.25 หน่อ ดังนั้น แนวปลูกหนึ่งไร่มีความยาว 1,067 เมตร มีหน่ออ้อยเจริญเฉลี่ย $(326.25 \times 1,067)/40 = 8,702.71$ หน่อต่อไร่



รูปที่ 16 ขั้นตอนการเพิ่มขนาดการเพาะเลี้ยงเชื้อและการผลิตหัวเชื้อแบคทีเรียในถังหมักขนาด 130 ลิตร



รูปที่ 17 การเตรียมท่อนพันธุ์สำหรับการปลูกระดับไร่นา ก) วัสดุจริง สำหรับชุดการทดลอง T3 แปลงละ 9 กิโลกรัม ข) แห่ท่อนพันธุ์อ้อยลงในเบคทีเรียผสม ค) ลักษณะการวางท่อนพันธุ์อ้อย โดยวางขนานกัน 2 แถว แถวละ 16 ท่อน ต่อร่อง

ศึกษาการเจริญของอ้อยในแต่ละชุดการทดลอง จะมีเก็บตัวอย่างดินและวัดการเจริญต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการปลูก เป็นระยะเวลา 1 ปี (ธันวาคม พ.ศ. 2563 – ธันวาคม 2564) โดยการตรวจติดตามการทดลองจะแบ่งการดำเนินการออกเป็น

1) การนับจำนวนหน่อและความสูงในระยะตั้งตัวและแตกกอ โดยนับหน่ออ้อยที่เจริญจากท่อนพันธุ์อ้อยในเดือนที่ 2 (ระยะตั้งตัว) และวัดความสูงของปล้องอ้อยในเดือนที่ 4 และ 6 (แตกกอ) ซึ่งจำนวนของหน่อและความสูงของอ้อยจะสามารถบอกถึงความหนาแน่นของอ้อยได้ หากจำนวนหน่อและความสูงมาก อ้อยจะมีการเจริญมีดี อาจส่งผลให้ม้ออ้อยมีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบที่ดี

2) การนับจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในดินรอบรากอ้อยในไร่ โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดิน ในเดือนที่ 1, 2 และ 6 และดินเริ่มต้น ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ จากนั้นทำการเจือจางตามลำดับส่วน และนับประชากรโดยใช้วิธี MPN บน 96 well plate โดยแบ่งออกเป็น 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ อาหาร TSB เพื่อนับจำนวนประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมดในดิน, อาหาร TSB ที่เติม PEG6000 15% เพื่อนับจำนวนแบคทีเรียทนแล้ง และอาหาร MRS เพื่อนับจำนวนแลคติกแบคทีเรียในดิน

3) การวัดผลการเจริญของต้นอ้อยในระดับบ่อปลูก แบ่งออกเป็น 1) ศึกษาลักษณะสัณฐานของต้นอ้อย โดยระหว่างการเพาะปลูกจะทำการถ่ายภาพด้านบนด้วยโดรน และวัดความสูงและน้ำหนักของอ้อยภายหลังการเก็บเกี่ยว 2) ศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของต้นอ้อย โดยจะทำการวัด ได้แก่ ดัชนีพื้นที่ใบ (LAI) โดยเครื่อง Plant Canopy Analyzer LAI-2000 ทำการวัดโดย 3 จุดบริเวณโดยรอบของต้นอ้อย และค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สอง (Fv/Fm) ด้วยเครื่อง Handy PEA ในเดือนที่ 6, 7 (ระยะสร้างน้ำตาล), 10, 11 และ 12 (ระยะสุกแก่)



รูปที่ 18 การบำรุงดูแลเพิ่มเติมระหว่างการทดสอบในระดับไร่นา ก) การกำจัดวัชพืช ข) การพลิกหน้าดิน และ ค) การติดตามการเจริญของต้นอ้อยโดยโดรน



รูปที่ 19 การเก็บและวัดการเจริญทางสัณฐานของอ้อยภายหลังการเพาะปลูก 12 เดือน ก) การตัดต้นอ้อยรอการวัด ข) การชั่งน้ำหนักอ้อย และ ค) ต้นอ้อยหลังการตัดใบและลอกกาบ รอการตรวจวัดปริมาณน้ำตาล

3.4.4 การพัฒนาวิธีผลิตชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์

1) การทดสอบการใช้สารโมลาสในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเบื้องต้น

ศึกษาการใช้ผลผลิตพลอยได้ทางการเกษตรในการเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญของแบคทีเรีย เพื่อใช้ในลดต้นทุนการผลิตสารชีวภัณฑ์แบคทีเรียผสม เช่น โมลาส แล้วพัฒนาขั้นตอนการเตรียมสารชีวภัณฑ์ที่ไม่ซับซ้อนและใช้สารเคมีเกรดอุตสาหกรรมเป็นองค์ประกอบ พร้อมทั้งคำนวณต้นทุนของการผลิตและวิธีการใช้สารชีวภัณฑ์ ผู้วิจัยได้ศึกษาการใช้โมลาสเป็นส่วนประกอบในอาหารโมลาส โดยเบื้องต้นได้ทดสอบกับกลุ่มแบคทีเรียผสม M4 ไม่ทราบชนิดจุลินทรีย์ในการเป็นต้นแบบการผลิต เพื่อวัดปริมาณค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อ โดยการนำกลุ่มแบคทีเรียเลี้ยงในอาหารโมลาส ที่มีสูตรอาหารประกอบด้วย โมลาส 10 กรัม, ยีสต์สกัด 0.5 กรัม, K_2HPO_4 0.5 กรัม, $MgSO_4$ 0.2 กรัม และ NaCl 0.1 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร บ่มเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเปรียบเทียบค่าที่วัดได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงในอาหารโมลาส เทียบกับค่าที่ใช้จากการเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารสำเร็จรูป จากนั้นจึงวิเคราะห์หาวิธีการใช้และการขยายขนาดเพื่อใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป



รูปที่ 20 ภายหลังการบ่มเชื้อกลุ่มแบคทีเรียทดสอบในอาหารโมลาส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2) การวัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียผสมในอาหาร TSB และโมลาสที่แตกต่างกัน

ศึกษาการเจริญของแบคทีเรียผสมในอาหาร เพื่อศึกษาอาหารและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย โดยทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเริ่มต้น 4 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB บ่มเชื้อ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียแต่ละชนิด โดยให้ OD₆₀₀ มีค่าเท่ากับ 1 นำแบคทีเรียที่ได้มาผสมเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในอัตรา 1:1:1:1 จากนั้นจึงถ่ายลงในอาหารทดสอบ 4 ชนิด ที่มีองค์ประกอบอาหารแตกต่างกัน ได้แก่ 1) อาหาร TSB ซึ่งเป็นอาหารสำเร็จรูปที่มีสารอาหารเหมาะแก่การเจริญของแบคทีเรีย โดยอาหาร TSB นี้จะใช้ในการเปรียบเทียบกับอาหารโมลาส เพื่อศึกษาแนวโน้มการใช้อาหารอาหารโมลาสที่มีราคาถูกในการแทนอาหารสำเร็จรูป TSB 2) อาหารโมลาส (Molasses) ที่มีการเติมโมลาสในน้ำกลั่น 10 กรัม/ลิตร เท่านั้น 3) อาหารโมลาสที่มีการเติมสารอาหารเพิ่มเติม (Molasses + nutrients) ที่ประกอบด้วย โมลาส 10 กรัม, ยีสต์สกัด 0.5 กรัม, K₂HPO₄ 0.5 กรัม, MgSO₄ 0.2 กรัม และ NaCl 0.1 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร 4) อาหารโมลาสที่มีการเติมสารอาหารและสารปกป้องเซลล์ PEG (Molasses + nutrients + PEG) ซึ่งเป็นอาหารโมลาสที่มีการเติมสารอาหารและมีการเติมสารปกป้องเซลล์ PEG เพิ่มเติมเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาสารชีวภัณฑ์ โดย PEG มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ มีคุณสมบัติยึดเกาะ ความเหนียวและความหนืดของ PEG ทำให้เกิดกระบวนการ Dying ลดลง (Mohammed และคณะ, 2019) โดยอาหารแต่ละชนิดจะมีปริมาตร 135 มิลลิลิตร และเติมหัวเชื้อแบคทีเรียผสมเริ่มต้น 15 มิลลิลิตร บ่มเชื้อ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยที่ช่วงเวลาที่ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง จะทำการเก็บตัวอย่างเพื่อนับจำนวนแบคทีเรียโดยวิธีการ Drop plate ลงบนอาหาร TSB บ่มที่อุณหภูมิเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงสร้างกราฟการเจริญเติบโตของแบคทีเรียผสม (Growth curve) เพื่อศึกษาอาหารและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การเตรียมสารชีวภัณฑ์

ในขั้นต้น นำแบคทีเรียที่เก็บรักษาไว้มาทดสอบคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชเพื่อยืนยันถึงประสิทธิภาพของแบคทีเรียแต่ละชนิด พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 มีความสามารถในการผลิตแคแตเลส การละลายฟอสเฟต การตรึงไนโตรเจน การผลิตสาร IAA การผลิต EPS และการสร้างสารไฮเดรโอฟอร์ที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 5 ดังนั้นคณะผู้ทำวิจัยจึงนำแบคทีเรียดังกล่าวมาเพิ่มจำนวนและเตรียมเป็นสารชีวภัณฑ์ส่งเสริมการเจริญของอ้อยในสภาวะแล้ง โดยมีปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่ใช้สำหรับเติมระหว่างทดสอบแสดงดังตารางที่ 6 โดยการผลิตสารชีวภัณฑ์สำหรับการทดลองระดับบ่อปลูกทำที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในขณะที่การผลิตสารชีวภัณฑ์สำหรับการทดลองระดับไร่ना ต้องใช้ถึงหมักขนาด 130 ลิตร ของบริษัท ไบโอฟิล เทคโนโลยี จำกัด เพื่อขยายขนาดการผลิต

ตารางที่ 5 การทดสอบคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช

แบคทีเรีย	CAT	NF	PSI	IAA ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	EPS (%)	Siderophore (mm)
<i>Bacillus thuringiensis</i> B2	++	++	2.43 ± 0.33	9.99 ± 1.68	96.26 ± 2.54	7.67 ± 0.47
<i>Bacillus stratophericus</i> L19	+++	+	1.00 ± 0.00	9.07 ± 0.44	89.84 ± 2.12	15.34 ± 0.47
<i>Bacillus altitudinis</i> T17	+++	+	2.13 ± 0.00	5.54 ± 0.60	95.85 ± 1.11	13.17 ± 0.23
<i>Weissella cibaria</i> PN3	-	-	2.27 ± 0.08	7.09 ± 0.41	91.19 ± 4.30	7.34 ± 0.47
สารชีวภัณฑ์ (แบคทีเรียผสม 4 ชนิด)	+++	+++	2.29 ± 0.51	77.33 ± 9.93	91.54 ± 4.89	30.00 ± 1.88
กลุ่มแบคทีเรีย M4	+++	+++	2.78 ± 0.07	95.28 ± 3.14	96.50 ± 1.25	18.34 ± 0.94

หมายเหตุ: CAT แสดงระดับความสามารถในการสร้างแคแตเลส, NF แสดงระดับความสามารถในการตรึงไนโตรเจน, PSI แสดงค่าดัชนีการละลายฟอสเฟต, IAA แสดงผลผลิตที่สาร IAA ที่แบคทีเรียผลิตได้, EPS แสดงเปอร์เซ็นต์การผลิตสาร EPS และ Siderophore แสดงค่าเส้นผ่าศูนย์กลางของวงสีส้มบนอาหาร CAS

ตารางที่ 6 ปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่ใช้สำหรับเติมระหว่างการทดสอบ

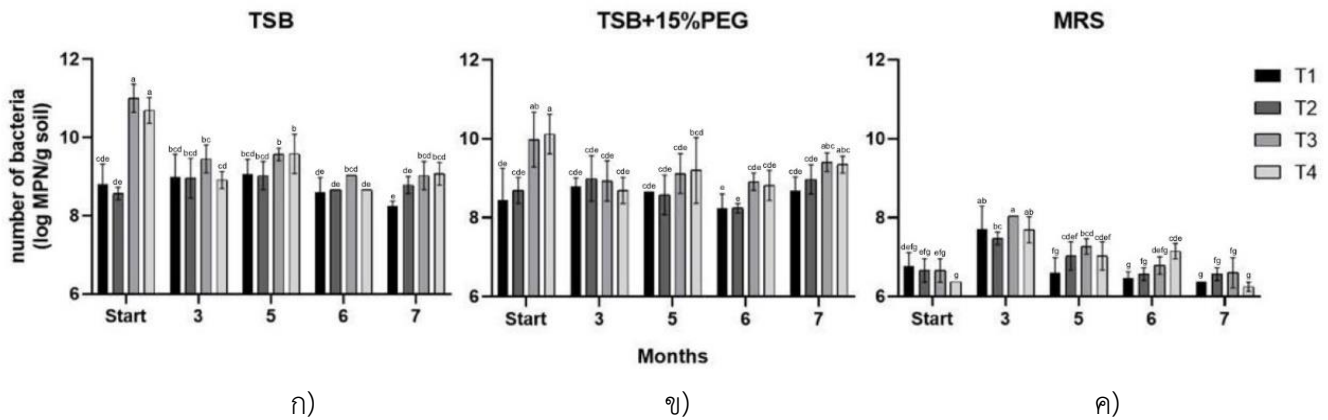
การทดสอบ	เดือนที่	ปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่เติม (ลิตร)			
		ชุดการทดลอง T3		ชุดการทดลอง T4	
		แต่ละซ้ำ	รวม	แต่ละซ้ำ	รวม
ระดับบ่อปลูก	0	4.5	22.5	4.5	22.5
	1	3.0	15.0	3.0	15.0
	2	3.0	15.0	3.0	15.0
	5	3.0	15.0	3.0	15.0
	6	3.0	15.0	3.0	15.0
	7	3.0	15.0	3.0	15.0
	8	3.0	15.0	3.0	15.0
		ชุดการทดลอง T2		ชุดการทดลอง T3	
ระดับไรนา	0	65.0	260.0	65.0	260.0
	1	65.0	260.0	65.0	260.0
	2	65.0	260.0	65.0	260.0

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยใน สภาวะแล้ง ในระดับบ่อปลูก

4.2.1 จำนวนประชากรจุลินทรีย์ในดินรอบรากอ้อยในบ่อปลูก

การทดสอบกลุ่มแบคทีเรียผสมต่อการส่งเสริมการเจริญของพืชและการฟื้นตัวของอ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับบ่อปลูก ผู้วิจัยได้เติมกลุ่มแบคทีเรียผสมลงในบ่อปลูก เพื่อส่งเสริมการเจริญของอ้อย ผู้วิจัยทำการเก็บตัวอย่างดินเริ่มต้นและตัวอย่างดินรอบรากอ้อยในแต่ละเดือนตลอดการทดลอง เพื่อนับจำนวนจุลินทรีย์ที่อาศัยรอบรากอ้อย แบ่งชนิดจุลินทรีย์ที่นับออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียทนแล้ง และจำนวนแลคติกแบคทีเรีย พบว่าเมื่อเติมกลุ่มแบคทีเรียผสม 4 ชนิด ลงในชุดทดลอง T3 และเติมกลุ่มแบคทีเรีย M4 ลงในชุดการทดลอง T4 พบว่าทำให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด, จำนวนแบคทีเรียทนแล้ง และจำนวนแลคติกแบคทีเรียมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น โดยชุดการทดลอง T3 มีจำนวน 11.00 ± 0.36 , 9.98 ± 0.69 และ 6.66 ± 0.30 log MPN/กรัมของดิน ตามลำดับ และชุดการทดลอง T4 มีจำนวน 10.69 ± 0.33 , 10.12 ± 0.50 และ 6.38 ± 0.00 log MPN/กรัมของดิน ตามลำดับ ซึ่งจากเดิมดินก่อนปลูกมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียทนแล้ง และจำนวนแลคติกแบคทีเรีย เท่ากับ 8.66, 6.38 และ 7.37 log MPN/กรัมของ

ดิน เป็น 10.69 ± 0.33 , 10.12 ± 0.50 และ 6.38 ± 0.00 log MPN/กรัมของดิน ตามลำดับ หลังจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์ในดินมีจำนวนลดลงตามเวลา ดังแสดงในรูปที่ 22



รูปที่ 21 จำนวนจุลินทรีย์ในดินรอบรากอ้อยในการทดลองระดับบ่อปลูก แบ่งออกเป็น ก) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ข) จำนวนแบคทีเรียทนแล้ง และ ค) จำนวนแลคติกแบคทีเรีย

4.2.2 ผลการเจริญของต้นอ้อยในระดับบ่อปลูก

ลักษณะสัณฐานของต้นอ้อยในระดับบ่อปลูก

การศึกษาลักษณะการเจริญของต้นอ้อยในบ่อปลูกจากการสังเกตด้วยตาเปล่า พบว่าเมื่อเข้าสู่เดือนที่ 3 ต้นอ้อยมีขนาดสูงขึ้น และมีการแตกกอออก 2-4 กอ โดยอ้อยแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันมาก เมื่อเข้าสู่เดือนที่ 5 ต้นอ้อยจะเข้าสู่ระยะสะสมสร้างน้ำตาล ในระยะนี้จะไม่เห็นความแตกต่างของแต่ละชุดการทดลองด้วยตาเปล่า พื้นที่ใบอ้อยที่ใช้ประโยชน์ได้ลดน้อยลง พบร่องรอยเหี่ยวเฉา และจากการแตกกอของอ้อยทำให้มีจำนวนใบมากขึ้น นอกจากนั้น ผู้วิจัยได้งดการให้น้ำเพื่อให้อ้อยเข้าสู่ภาวะแล้ง ทำให้ต้นอ้อยมีภาวะขาดน้ำ และเมื่อเข้าเดือนที่ 6-7 ต้นอ้อยในบ่อยังมีลักษณะไม่แตกต่างจากเดือนที่ 5 มากนัก (แสดงดังตารางที่ 7) จากนั้นเมื่ออ้อยอยู่ในระยะสุกแก่ (เดือนที่ 8) จึงนับจำนวนลำอ้อย วัดความสูงของต้นอ้อย ความยาวปล้องอ้อย ขนาดลำ จำนวนลำ น้ำหนักของท่อนอ้อยและน้ำหนักใบสด เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของต้นอ้อยในแต่ละชุดการทดลอง

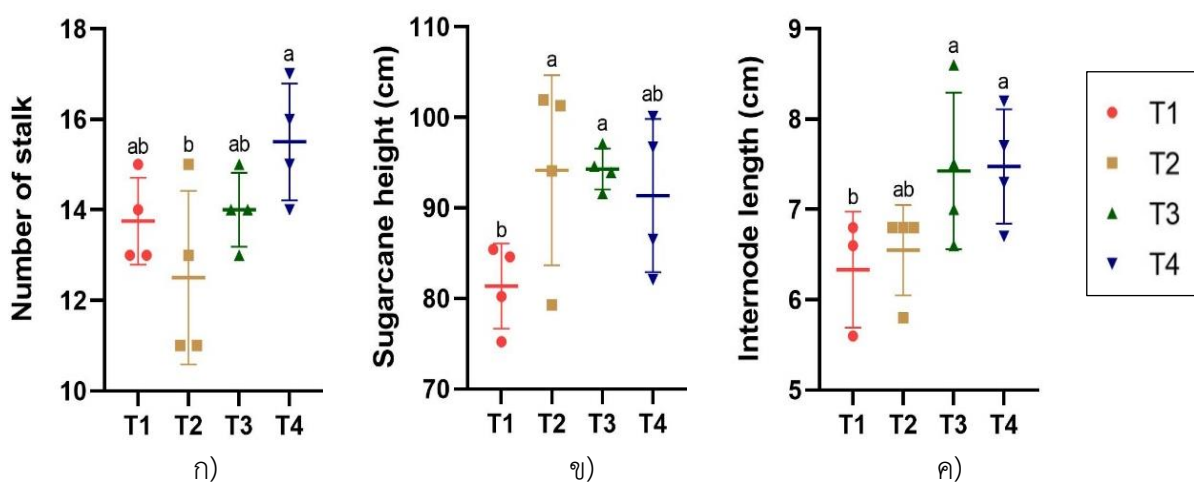
ตารางที่ 7 ลักษณะการเจริญของอ้อยในบ่อปลูก

ชุด	ภาวะที่ใช้	หลังการปลูก	เดือนที่ 3	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6	เดือนที่ 7
T1	- ชุดควบคุม					
T2	- เดิมวัสดุพา					
T3	- เดิมวัสดุพา - เดิมสารชีวภัณฑ์ แบคทีเรียผสม 4 ชนิด สูตรโมลาส					
T4	- เดิมวัสดุพา - เดิมสาร ชีวภัณฑ์M4 สูตรโมลาส					

- จำนวนลำ (Number of stalk) พบว่าจำนวนลำในชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ T4 มีจำนวนมากที่สุด เท่ากับ 15.50 ± 1.29 ลำ ดังรูปที่ 23ก

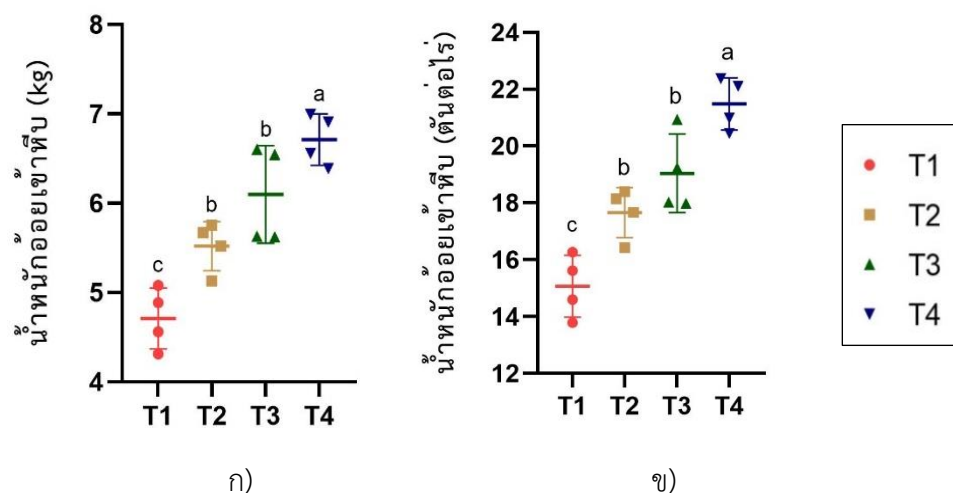
- ความสูงต้นอ้อย (Plant height) พบว่า ชุดการทดลอง T3 และ T2 มีความสูงของต้นอ้อยใกล้เคียงกัน เท่ากับ 94.30 ± 2.26 และ 94.15 ± 10.52 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และมากกว่าชุดการทดลอง T4 และ T1 ที่มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 91.35 ± 8.45 และ 81.35 ± 4.69 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 23ข

- ความยาวของปล้องอ้อย (Internode length) พบว่า ชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ T4 และ T3 ต้นอ้อยมีความยาวของปล้องอ้อยมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยความยาวเฉลี่ยของ T4, T3, T2 และชุดควบคุม มีความยาวเท่ากับ 7.48 ± 0.63 , 7.43 ± 0.87 , 6.55 ± 0.50 และ 5.87 ± 0.64 เซนติเมตร ตามลำดับดังรูปที่



รูปที่ 22 ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) จำนวนลำอ้อย ข) ความสูงของต้นอ้อย และ ค) ความยาวปล้องอ้อย

- น้ำหนักอ้อยเข้าหีบ พบว่าชุดการทดลอง T4 มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบต่อบ่อเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 6.71 ± 0.29 กิโลกรัม โดยชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ หรือมีการเติมวัสดุตรึงมีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยน้ำหนักอ้อยเข้าหีบต่อบ่อเฉลี่ยของ T3, T2 และชุดควบคุม (T1) เท่ากับ 5.95 ± 0.43 , 5.52 ± 0.27 และ 4.71 ± 0.34 กิโลกรัม ตามลำดับ ดังรูปที่ 23ก เมื่อพิจารณาน้ำหนักอ้อยเข้าหีบต่อบ่อโดยเปรียบเทียบกับพื้นที่ปลูกในหน่วยตารางเมตร ชุดการทดลอง T4, T3, T2 และชุดควบคุม (T1) มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเท่ากับ 13.43 ± 0.57 , 11.90 ± 0.87 , 11.04 ± 0.55 และ 9.42 ± 0.68 กิโลกรัมต่อตารางเมตร (ดังแสดงในภาคผนวก ข : ตารางที่ ข.10) และเทียบกับพื้นที่ปลูกในระดับไร่ตามวิธีวิเคราะห์ตามวิธีการดำเนินงานที่ 3.4.2 พบว่าชุดการทดลอง T4, T3, T2 และชุดควบคุม (T1) มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเท่ากับ 21.48 ± 0.91 , 19.04 ± 1.39 , 17.66 ± 0.88 และ 15.06 ± 1.09 ตันต่อไร่ (ดังแสดงในรูปที่ 24ข. และภาคผนวก ข : ตารางที่ ข.10)

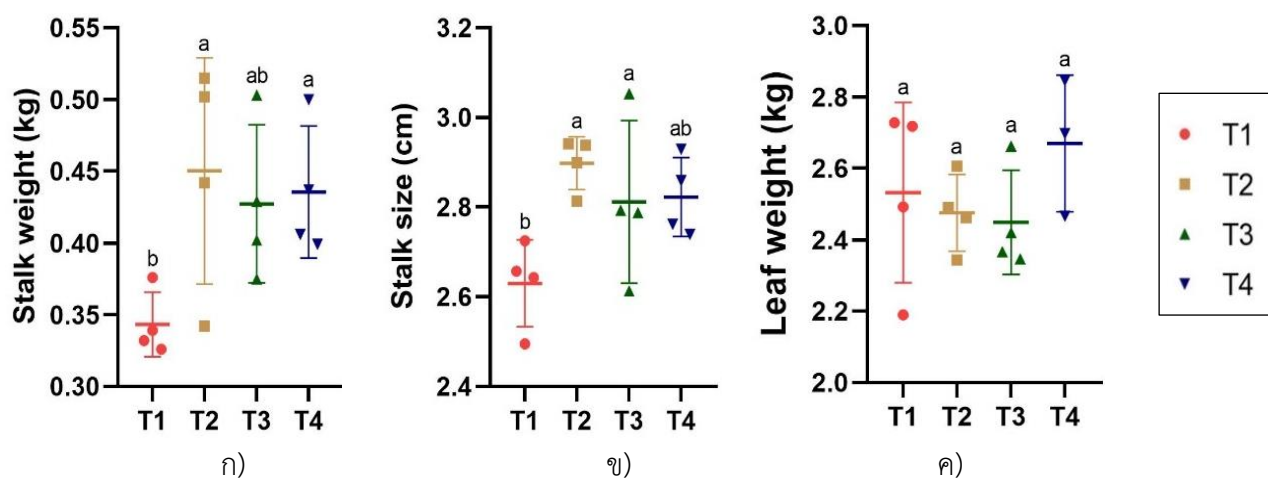


รูปที่ 23 ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) น้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ย (กิโลกรัมต่อบ่อ) และ ข) น้ำหนักอ้อยเข้าหีบ (ตันต่อไร่)

- ขนาดลำ (Stalk size) พบว่าชุดการทดลอง T2 และ T4 มีขนาดลำอ้อยใหญ่ที่สุด เท่ากับ 2.90 ± 0.06 , 2.81 ± 0.18 เซนติเมตร รองลงมาคือ ชุดการทดลอง T3 มีขนาดลำอ้อย เท่ากับ 2.82 ± 0.09 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์หรือเติมวัสดุตรึง มีขนาดลำเฉลี่ยมากกว่าชุดควบคุม (T1) อย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ 2.63 ± 0.10 เซนติเมตร ดังรูปที่ 25ก

- น้ำหนักลำ (Stalk weight) พบว่า ชุดการทดลอง T2 และ T4 มีน้ำหนักลำอ้อยมากที่สุด อย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ 0.45 ± 0.08 , 0.44 ± 0.05 กิโลกรัม นอกจากนี้ ยังพบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ หรือเติมวัสดุตรึง มีน้ำหนักลำเฉลี่ยมากกว่าชุดควบคุมด้วย ดังแสดงในรูปที่ 25ข

- น้ำหนักใบ (Leaf weight) พบว่าน้ำหนักใบในแต่ละชุดการทดลองมีน้ำหนักใบใกล้เคียงกัน โดย T4, T2, T3 และ T1 มีน้ำหนักใบเท่ากับ 2.67 ± 0.19 , 2.53 ± 0.25 , 2.48 ± 0.11 และ 2.45 ± 0.15 กิโลกรัม ตามลำดับ โดยทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญ ดังรูปที่ 25ค

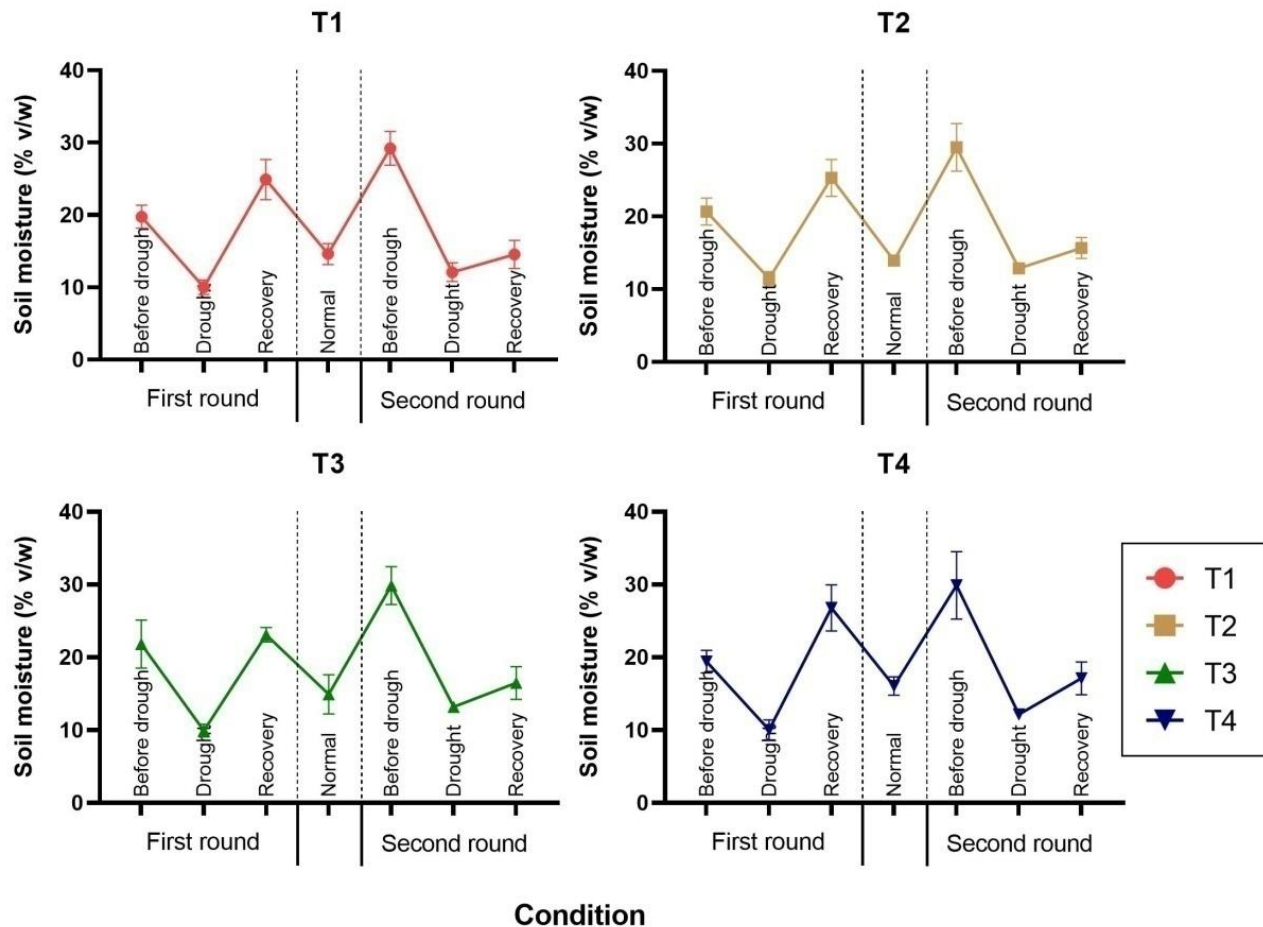


รูปที่ 24 ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) ขนาดลำ ข) น้ำหนักลำ และ ค) น้ำหนักใบ

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของอ้อยในระดับบ่อปลูก

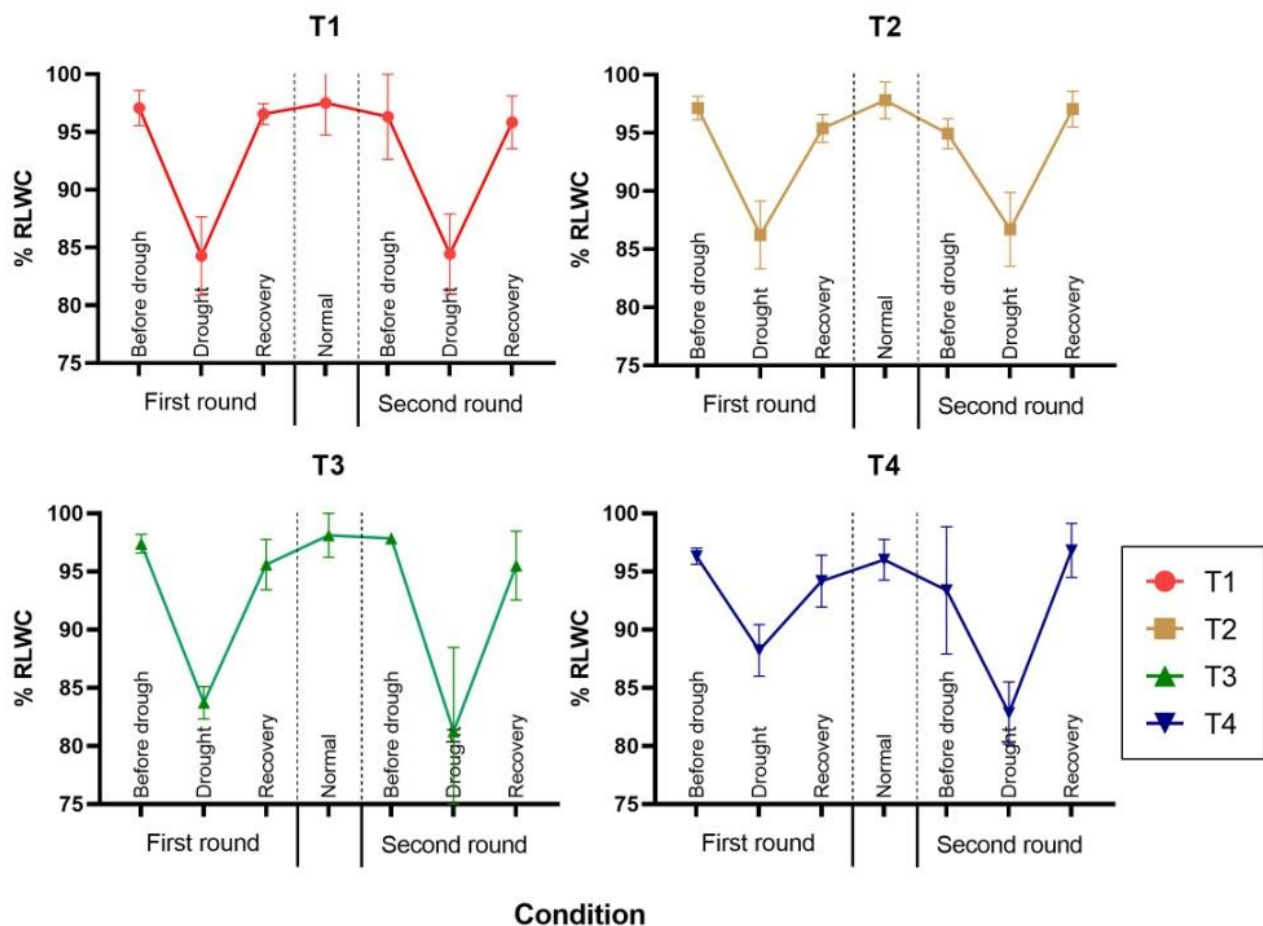
การทดสอบผลของสารชีวภัณฑ์ผสมต่อการเจริญเติบโตของอ้อยในบ่อปลูก ผู้วิจัยได้จำลองภาวะแล้งในช่วงระยะสร้างน้ำตาลของอ้อย โดยกำหนดให้อ้อยเข้าสู่ภาวะขาดน้ำเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นจึงให้น้ำเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อทดสอบความสามารถในการฟื้นตัวของอ้อย ในระยะนี้ต้นอ้อยไม่มีความเปลี่ยนแปลงทางกายภาพมากนัก ดังนั้นเพื่อศึกษาความเปลี่ยนแปลงและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของอ้อยจึงต้องอาศัยการวิเคราะห์ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช โดยแบ่งผลการทดลองออกเป็นดังนี้

- ความชื้นภายในดิน (Soil moisture) ผู้วิจัยได้วัดความชื้นภายในดิน เพื่อยืนยันการจำลองภาวะแล้งภายในดิน แบ่งออกได้เป็น ช่วงการแล้ง ช่วงแล้ง และให้น้ำอีกครั้งเป็นช่วงฟื้นตัวของอ้อย พบว่า ช่วงก่อนแล้ง ทุกชุดการทดลอง มีปริมาณความชื้นภายในดินเริ่มต้นใกล้เคียงกัน เท่ากับ $19.40 \pm 1.56 - 21.83 \pm 3.30\%$ (v/w) และเมื่องดการให้น้ำเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จะทำให้ความชื้นในดินของทุกชุดการทดลองมีปริมาณลดน้อยลง เท่ากับ $9.91 \pm 0.88 - 11.44 \pm 0.94\%$ (v/w) แสดงดังรูปที่ 26



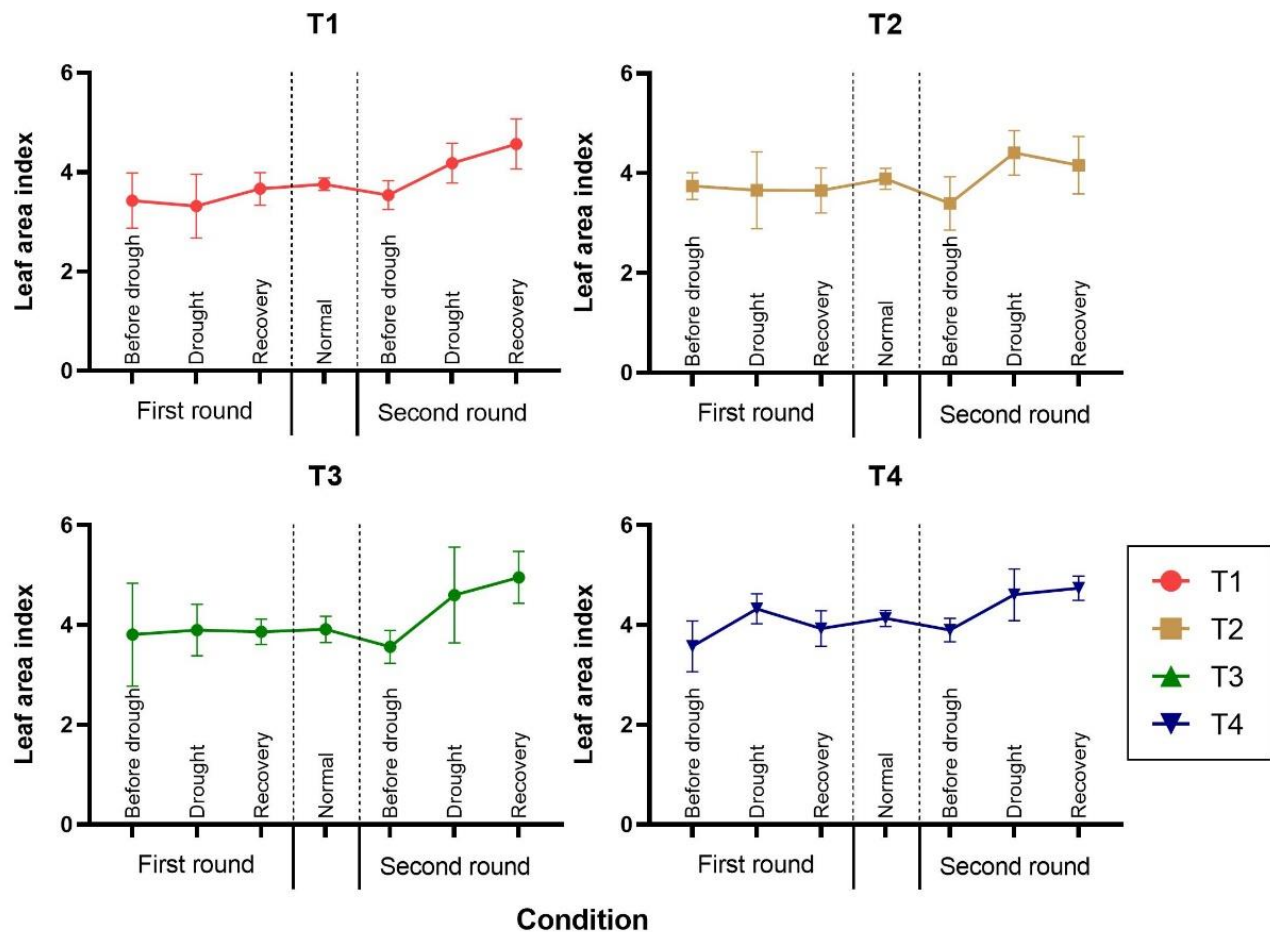
รูปที่ 25 ปริมาณความชื้นในดินในการทดสอบการฟื้นตัวของต้นอ้อยหลังภาวะแล้งในระดับบ่อปลูก

- ค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบ (Relative leaf water content) หรือค่า %RLWC พบว่า ทุกชุดการทดลองสามารถคืนค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ภายในใบและฟื้นตัวหลังการจำลองภาวะแล้งได้ แต่เมื่อพิจารณาความสามารถในการรักษาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ภายในใบช่วงภาวะแล้ง พบว่าระหว่างการจำลองภาวะแล้งรอบแรก ชุดการทดลอง T4 ที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ M4 สามารถรักษาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบได้มากที่สุด เท่ากับ $88.61 \pm 2.36\%$ และชุดการทดลอง T2 ที่มีการเติมวัสดุอย่างเดียวย สามารถรักษาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบได้มากที่สุดระหว่างการจำลองภาวะแล้งรอบสอง เท่ากับ $86.91 \pm 3.04\%$ ดังแสดงในรูปที่ 27



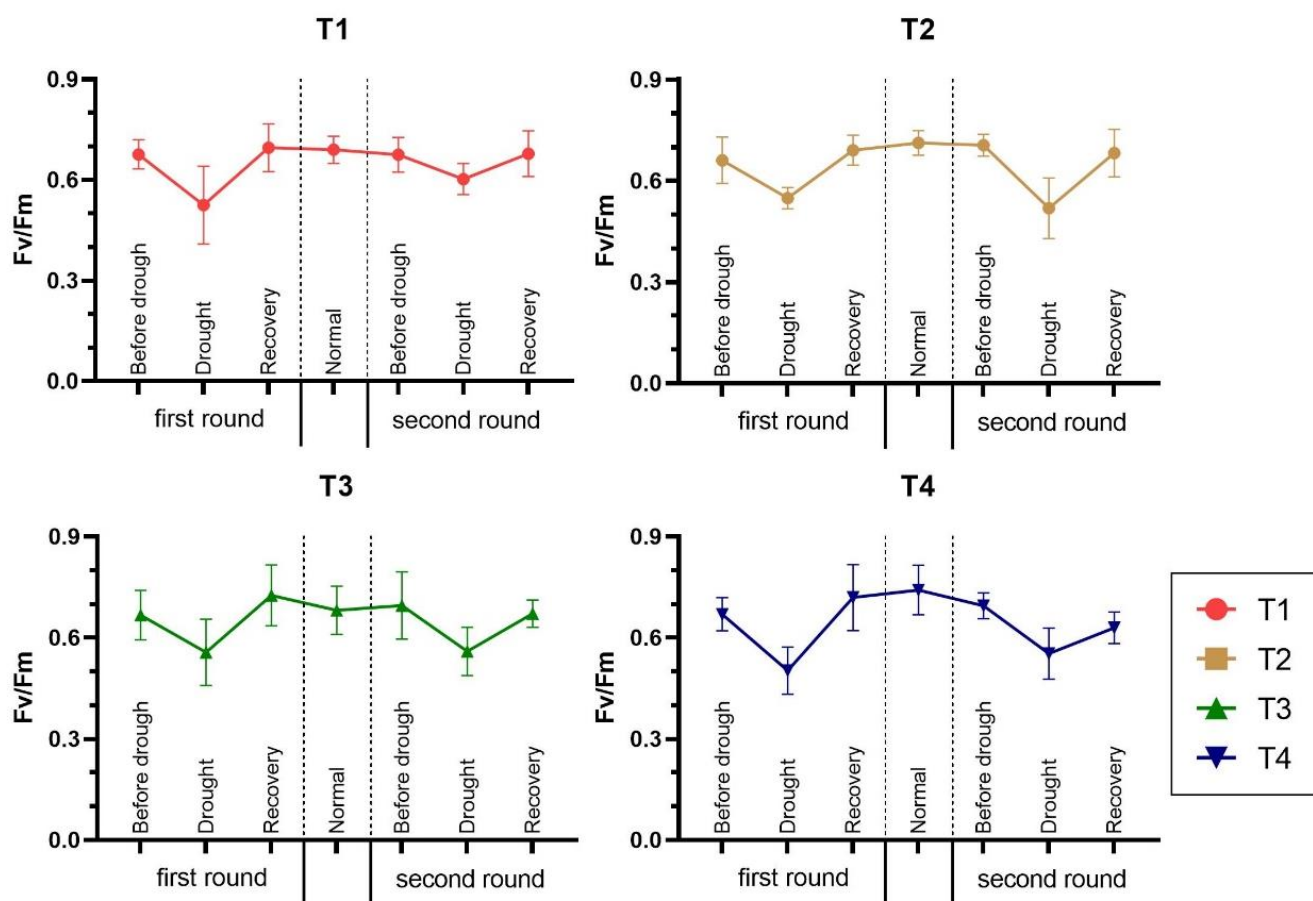
รูปที่ 26 ผลปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบในการทดสอบการฟื้นตัวของต้นอ้อยหลังภาวะแล้งในระดับบ่อปลูก

- ดัชนีพื้นที่ใบ (Leaf area index) หรือ ค่า LAI พบว่าภายหลังการจำลองภาวะแล้ง 2 รอบ ต้นอ้อยในชุดการทดลอง T3 ที่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียผสม 4 ชนิด มีค่า LAI มากที่สุด เท่ากับ 4.95 ± 0.52 รองลงมาคือชุดการทดลอง T4 เท่ากับ 4.74 ± 0.22 นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 27 พบว่าแม้อ้อยเข้าสู่ภาวะแล้ง อ้อยยังมีค่า LAI สูงขึ้น โดยเฉพาะชุดการทดลอง T3 สามารถแสดงได้ว่าต้นอ้อยยังสามารถเติบโตได้แม้เข้าสู่ภาวะแล้งเนื่องจาก ค่า LAI สามารถบ่งบอกความสามารถในการรับแสงและสังเคราะห์แสงของพืชด้วย แสดงผลการวัดค่า LAI ดังรูปที่ 28



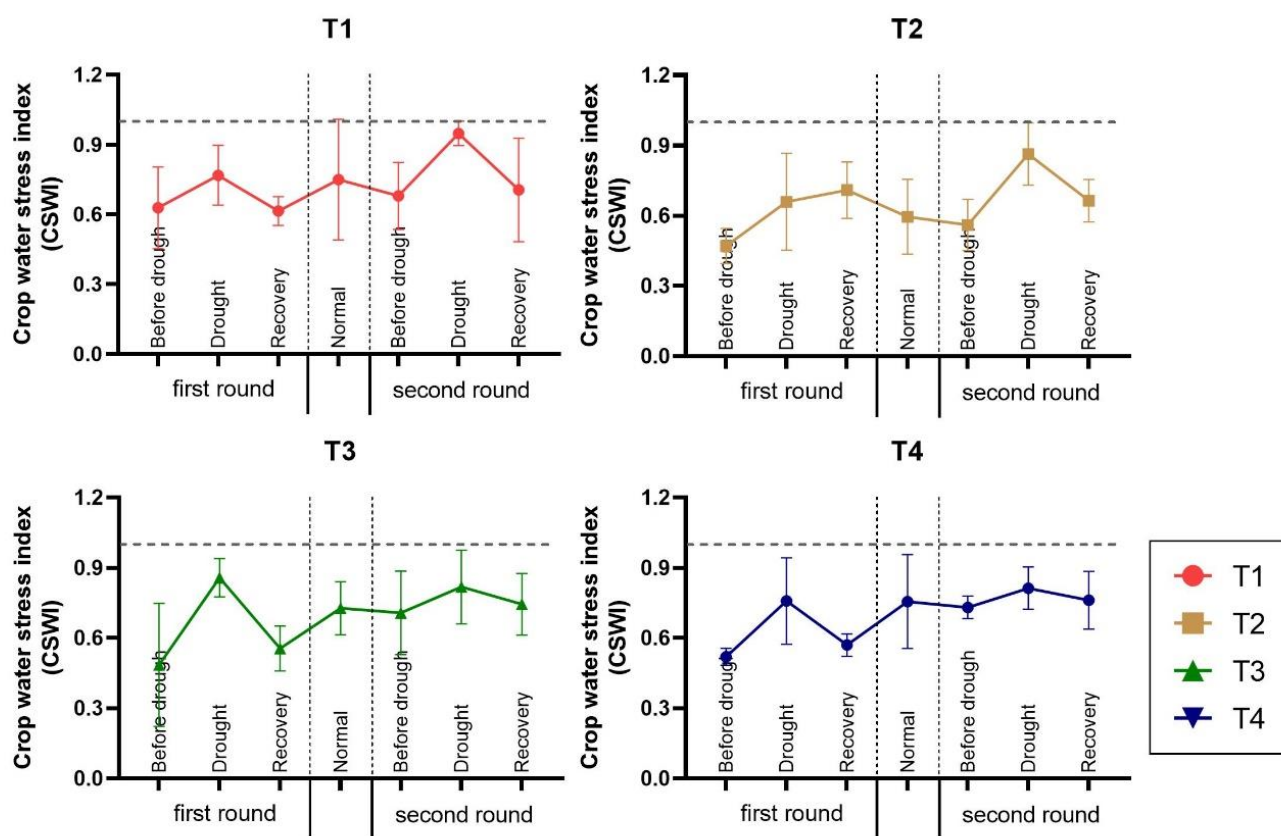
รูปที่ 27 ผลดัชนีพื้นที่ใบในการทดสอบการฟื้นตัวของต้นอ้อยหลังภาวะแล้งในระดับบ่อปลูก

- ค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สอง (Fv/Fm) พบว่าเมื่ออ้อยเข้าสู่ภาวะแล้ง การตอบสนองของใบต่อแสงฟลูออเรสเซนซ์มีค่าลดน้อยลง และเมื่อให้น้ำ อ้อยมีการฟื้นตัวและยังสามารถตอบสนองต่อแสงได้ เพื่อพิจารณาถึงการจำลองภาวะแล้งรอบแรก พบว่าชุดการทดลอง T3 ที่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียผสม 4 ชนิด ยังสามารถรักษาค่า Fv/Fm ได้มากที่สุด เท่ากับ 0.56 ± 0.10 และสามารถคืนค่า Fv/Fm ตอนช่วงฟื้นตัวได้มากที่สุด เท่ากับ 0.73 ± 0.09 แสดงดังรูปที่ 29



รูปที่ 28 ผลประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สองของการทดสอบการฟื้นตัวของอ้อยหลังภาวะแล้งในระดับบ่อปลูก

- ค่า Crop water stress index (CSWI) ซึ่งวัดจากรูปถ่ายความร้อนที่เกิดจากอ้อยคายน้ำ โดยหาค่า CSWI ใกล้เคียง 1 จะแสดงว่าพืชมีภาวะเครียด พบว่าเมื่ออ้อยเข้าสู่ช่วงภาวะแล้งในการจำลองรอบแรก ชุดการทดลอง T3 ที่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียผสม 4 ชนิด มีความเครียดมากที่สุด แต่เมื่อรดน้ำเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ค่า CWSI มีค่าลดลงมากที่สุด 0.56 ± 0.10 แสดงว่าอ้อยมีความเครียดลดลง และเมื่อพิจารณาการจำลองภาวะแล้งในรอบที่สอง พบว่าชุดควบคุมที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์และวัสดุจริง มีความเครียดมากที่สุดในช่วงภาวะแล้งอย่างมีนัยสำคัญ และชุดการทดลองที่เหลือยังสามารถรักษาค่า CSWI ได้ดี แสดงดังรูปที่ 30



รูปที่ 29 ผล Crop water stress index ของการทดสอบการฟื้นตัวของอ้อยหลังภาวะแล้งในระดับ

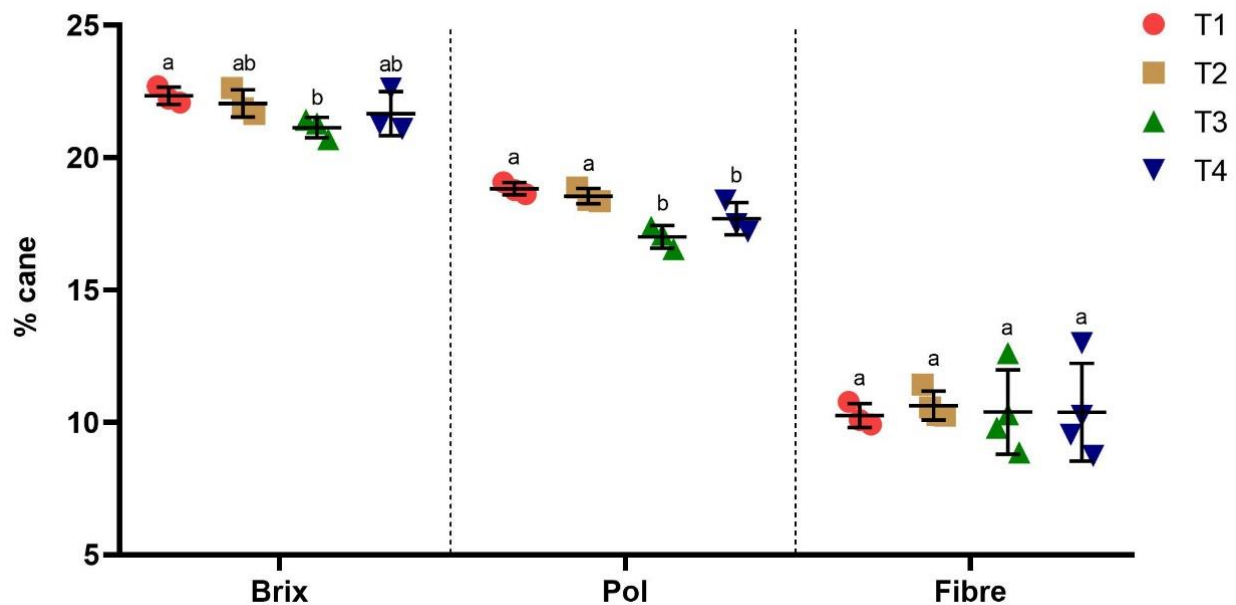
ผลการวิเคราะห์คุณภาพพ้อยจากบ่อปลูก

เพื่อกำหนดคุณภาพพ้อยและมาตรฐานของน้ำตาล จึงจำเป็นต้องวัดคุณภาพพ้อยที่อยู่ในรูปของน้ำตาลซูโครส โดยคุณภาพพ้อยจะพิจารณาได้จาก ค่า Commercial Cane Sugar (C.C.S) ซึ่งคำนวณจาก ค่าโพล (%Pol), ค่าบริกซ์ (%Brix) และ ค่าเส้นใยของพ้อย (%Fiber) แสดงดังรูปที่ 31

- ค่าบริกซ์ (%Brix) หรือค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ พบว่าชุดควบคุมมีค่าบริกซ์มากที่สุด เท่ากับ $22.33 \pm 0.33\%$ รองลงมาคือ ชุดการทดลอง T2 และ T4 มีค่าบริกซ์ 22.05 ± 0.52 และ $21.66 \pm 0.84\%$ ตามลำดับ

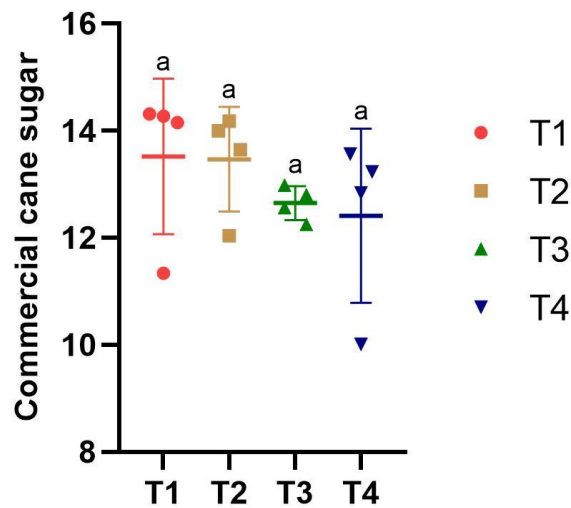
- ค่าโพล (%Pol) หรือค่าร้อยละของน้ำตาลซูโครส พบว่า ชุดควบคุมและชุดการทดลอง T2 มีค่าโพลมากที่สุด เท่ากับ $18.82 \pm 0.23\%$ และ $18.54 \pm 0.29\%$ ตามลำดับ

- ค่าเส้นใยของพ้อย (%Fiber) หรือค่าปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ พบว่าแต่ละชุดการทดลองมีค่าเส้นใยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยชุดควบคุม, T2, T3 และ T4 มีปริมาณเส้นใย เท่ากับ 10.26 ± 0.23 , 10.63 ± 0.55 , 17.00 ± 0.43 และ $17.69 \pm 0.61\%$ ตามลำดับ



รูปที่ 30 ปริมาณค่าบริกซ์ ค่าโพล และค่าเส้นใยของพ้อยที่ได้จากการทดสอบระดับบ่อปลูก

- ค่า Commercial Cane Sugar (C.C.S) หรือปริมาณร้อยละของน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ที่จะสามารถผลิตเป็นการค้าเชิงพาณิชย์ได้ พบว่าแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยชุดควบคุมและชุดการทดลอง T2 มีค่า C.C.S. มากที่สุด เท่ากับ 13.52 ± 1.45 และ 13.47 ± 0.98 ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 32



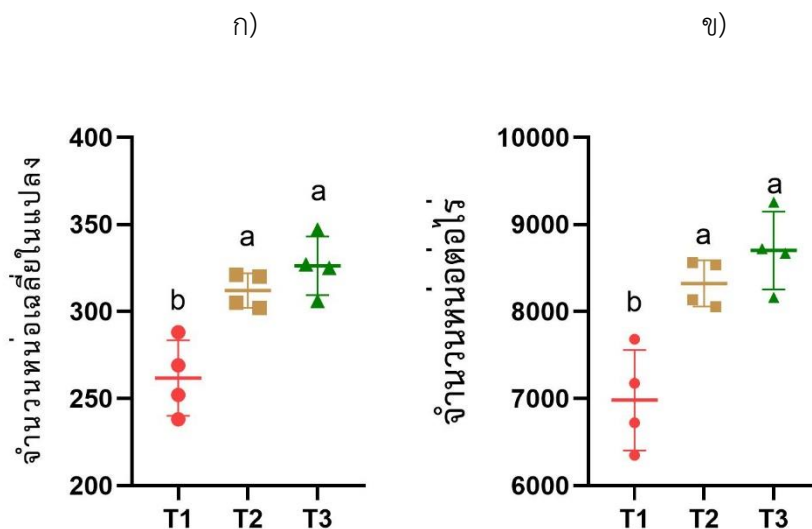
รูปที่ 31 ปริมาณร้อยละของน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ของอ้อยที่ได้จากการทดสอบระดับบ่อปลูก

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยใน ภาวะแล้ง ในระดับไร่นา

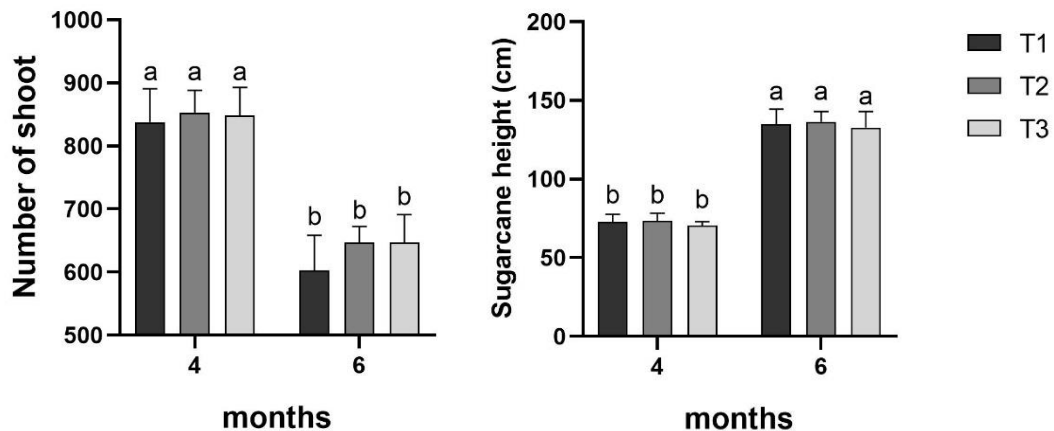
4.3.1 จำนวนหน่อและความสูงในระยะตั้งตัวและแตกกอ

การทดสอบสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญของพืชและการฟื้นตัวของอ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับไร่นา โดยเติมสารชีวภัณฑ์ใน ช่วง 3 เดือนแรก จำนวนแปลงละ 65 ลิตร/เดือน และไถพรวนดินเพื่อกำจัดวัชพืชในร่องดินทางเดิน และพลิกดินเพื่อปิดกักความชื้นในเดือนที่ 2

คณะผู้วิจัยติดตามการเจริญของต้นกล้าอ้อย โดยนับจำนวนหน่ออ้อยที่งอกในระยะตั้งตัวและแตกกอของอ้อย พบว่าท่อนพันธุ์อ้อยในแต่ละชุดการทดลองมีการแตกหน่อที่แตกต่างกัน โดยชุดการทดลอง T2 และ T3 ที่มีการเติมแบคทีเรียผสม มีจำนวนหน่อในเดือนที่ 2 มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญ โดยชุดการทดลอง T1, T2 และ T3 มีจำนวนหน่อเฉลี่ยต่อแปลงเท่ากับ 261.75 ± 21.61 , 312.00 ± 9.90 และ $T3 = 326.25 \pm 16.76$ หน่อต่อแปลง ตามลำดับ (แสดงดังรูปที่ 33ก) และเมื่อเทียบจำนวนหน่อต่อพื้นที่ปลูกในระดับไร่นาตามแนววิเคราะห์ในวิธีการดำเนินงานที่ 3.4.3 พบว่า ชุดการทดลอง T1, T2 และ T3 มีจำนวนหน่อ 6,982.18, 8,322.60 และ 8,702.72 หน่อต่อไร่ตามลำดับ (ดังแสดงในรูปที่ 33ข) เช่นเดียวกับในระยะแตกกอ เดือนที่ 4 และ 6 ที่ชุดการทดลอง T2 และ T3 ที่มีการเติมแบคทีเรียผสม มีจำนวนหน่อมากกว่าชุดควบคุม (แสดงในภาคผนวก ค: ตารางที่ ค.2) แสดงว่าสารชีวภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถช่วยส่งเสริมการแตกหน่อของอ้อย ทำให้มีการเจริญเติบโตดีขึ้น นอกจากนี้คณะผู้วิจัยได้ทำการวัดความสูงเฉลี่ยของต้นอ้อยจำนวนชุดการทดลองละ 10 ต้น พบว่าความสูงของต้นอ้อยในแต่ละชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากต้นอ้อยยังอยู่ในระยะตั้งตัว ความสูงของต้นอ้อยจึงยังไม่แตกต่างกันมากนัก (แสดงดังรูปที่ 34)



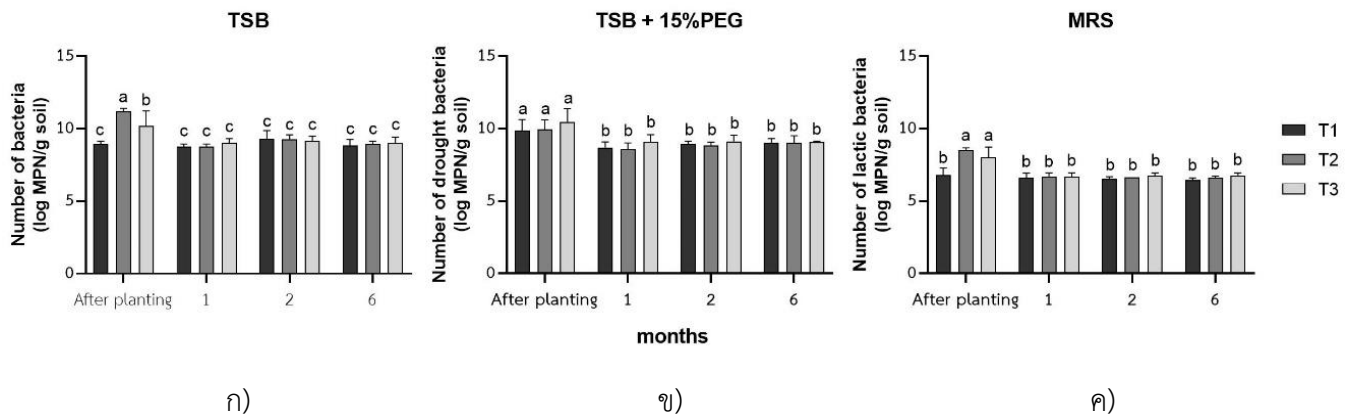
รูปที่ 32 จำนวนหน่อที่เจริญในระยะตั้งตัว (เดือนที่ 2) ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับไร่นา



รูปที่ 33 จำนวนหน่อ และความสูงของต้นอ้อย (เดือนที่ 4 และ 6) ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในภาวะแล้ง ในระดับไร่หนา

4.3.2 จำนวนประชากรจุลินทรีย์ในดินรอบรากอ้อยในไร่

ผู้วิจัยได้เก็บตัวอย่างดินจากบริเวณรากอ้อยช่วงก่อนปลูก ช่วงหลังปลูก ช่วงเดือนที่ 1, 2 และ 6 เพื่อบันทึกจำนวนประชากรแบคทีเรียทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียทนแล้ง และจำนวนแลคติกแบคทีเรีย โดยวิธี MPN พบว่าดินก่อนการปลูกมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด แบคทีเรียทนแล้ง และแลคติกแบคทีเรียจำนวน 9.23 ± 0.52 , 9.05 ± 0.35 และ 7.38 ± 1.00 log MPN/กรัมดิน ตามลำดับ จากนั้นเมื่อเติมสารชีวภัณฑ์หลังปลูกท่อนพันธุ์ ทำให้จำนวนแบคทีเรียแบคทีเรียทั้งหมดในชุดการทดลอง T2 และ T3 เพิ่มขึ้นเป็น 11.21 ± 0.20 และ 10.19 ± 1.05 log MPN/กรัมดิน ตามลำดับ แต่ชุดการทดลอง T1 ที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์ มีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเพียง 8.95 ± 0.19 log MPN/กรัมดิน และเมื่อพิจารณาจำนวนแบคทีเรียในเดือนที่ 6 พบว่าจำนวนแบคทีเรียไม่แตกต่างจากเดือนที่ 1 และ 2 ที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์เพิ่มเติม ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่ได้เติมไปนั้น สามารถทำให้เกิดความรักษาความหนาแน่นของแบคทีเรียรอบรากอ้อย และแสดงให้เห็นว่าปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่ได้เติมลงในชุดการทดลองนั้นเพียงพอต่อการส่งเสริมการเจริญของอ้อย ผลการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์รอบรากอ้อยแสดงดังรูปที่ 35



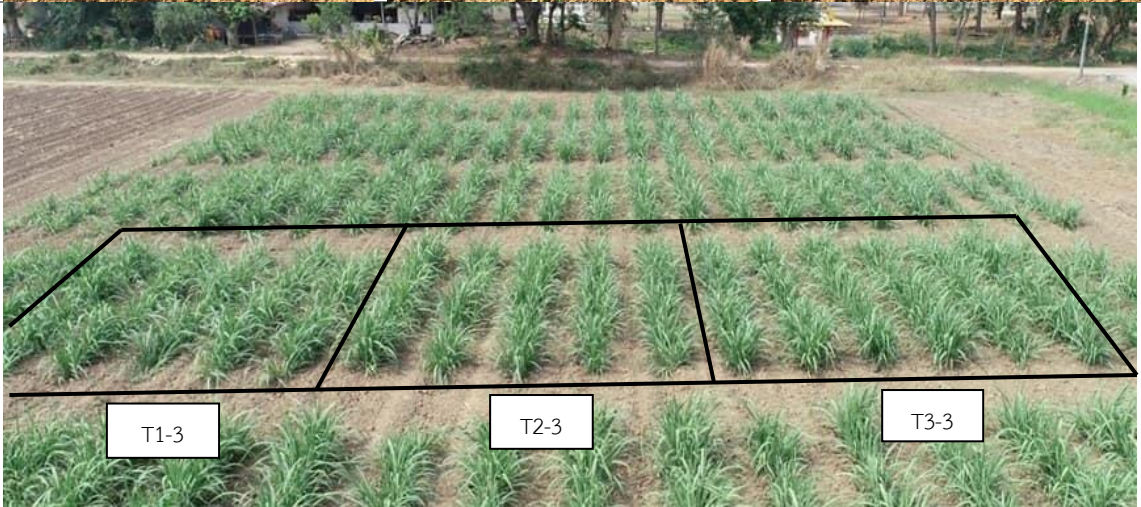
รูปที่ 34 จำนวนจุลินทรีย์ในดินรอบรากอ้อยในการทดลองระดับไร่เนา แบ่งออกเป็น ก) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ข) จำนวนแบคทีเรียทนแล้ง และ ค) จำนวนแลคติกแบคทีเรีย

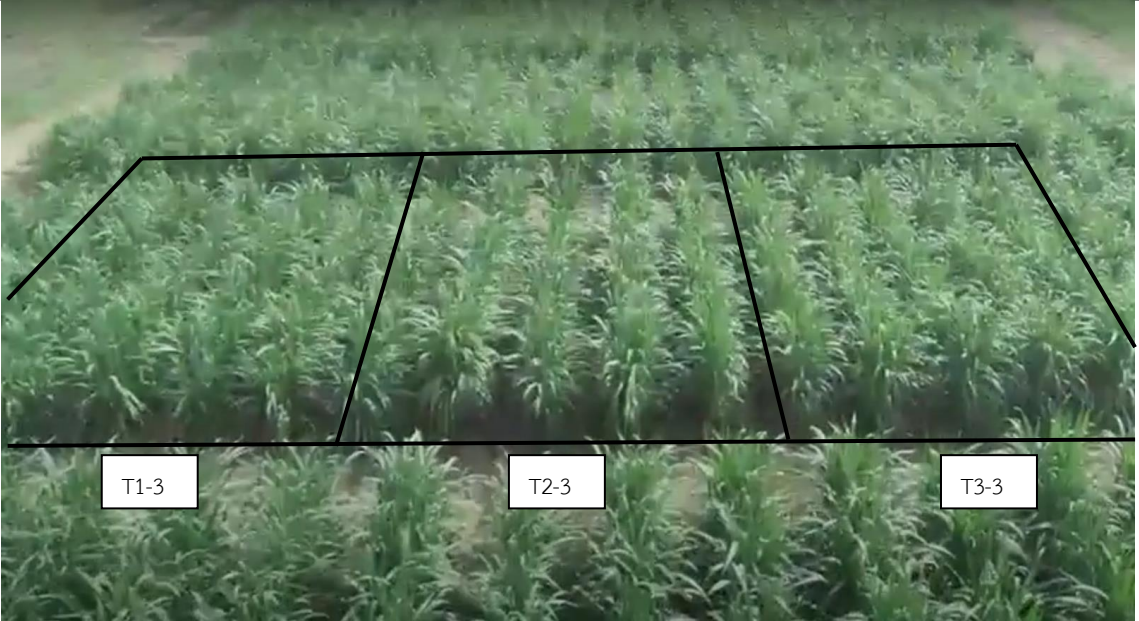
4.3.3 ผลการเจริญของต้นอ้อยในระดับไร่เนา

ลักษณะสัณฐานของต้นอ้อยในระดับไร่เนา

ลักษณะการเจริญของต้นอ้อยหลังปลูกเป็นเวลา 2 เดือน (ระยะตั้งตัว) สามารถเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า โดยจำนวนกอและจำนวนหน่อของอ้อยในชุดการทดลองในชุดการทดลอง T2 และ T3 มีความหนาแน่นมากกว่าชุดควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับผลการนับจำนวนหน่อในการทดลองข้อที่ 4.3.1 และเมื่อระยะเวลาผ่านไปต้นอ้อยมีความสูงและหนาแน่นมากขึ้นทำให้ไม่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า โดยลักษณะการเจริญของต้นอ้อยแสดงดังตารางที่ 8 จากนั้นจึงทำการเก็บเกี่ยวอ้อยภายหลังเดือนที่ 12 และ จึงนับจำนวนลำอ้อย วัดความสูงของต้นอ้อย ความยาวปล้องอ้อย ขนาดลำจำนวนลำ น้ำหนักของท่อนอ้อยและน้ำหนักใบสด เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของต้นอ้อยในแต่ละชุดการทดลอง

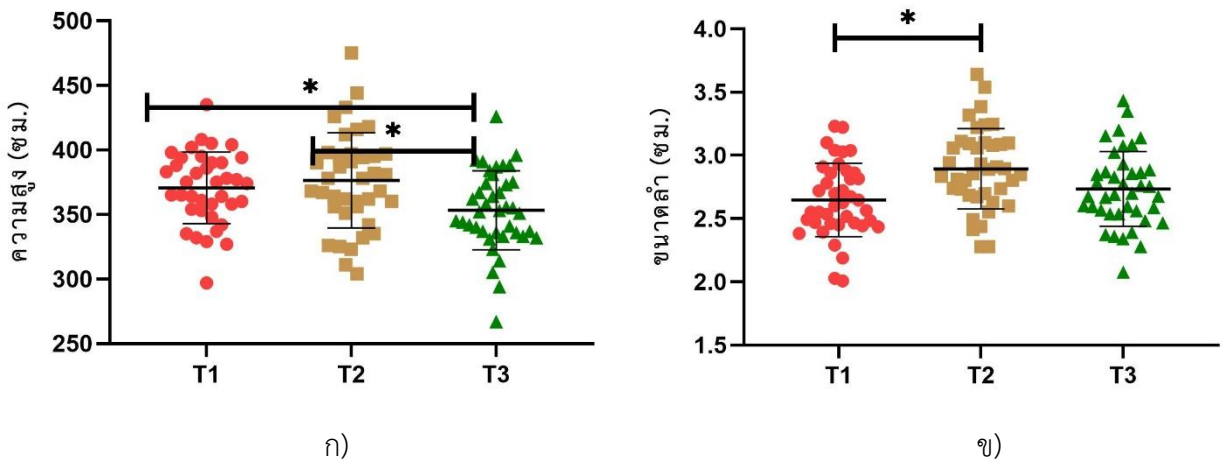
ตารางที่ 8 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นอ้อยในการทดลองระดับไร่นา

การทดลอง	T1	T2	T3
ภาวะที่ใช้	ชุดควบคุม	เติมสารชีวภัณฑ์	เติมวัสดุตรึงและสารชีวภัณฑ์
เดือนที่ 1			
เดือนที่ 2			
เดือนที่ 3			

การทดลอง	T1	T2	T3
ภาวะที่ใช้	ชุดควบคุม	เติมสารชีวภัณฑ์	เติมวัสดุตรึงและสารชีวภัณฑ์
เดือนที่ 5			

- ความสูงต้นอ้อย (Plant height) พบว่า ชุดการทดลอง T2 มีความสูงของต้นอ้อยมากที่สุด เท่ากับ 376.30 ± 17.48 เซนติเมตร มากกว่าชุดการทดลอง T1 และ T3 ที่มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 370.73 ± 15.15 และ 353.25 ± 15.95 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 36ก

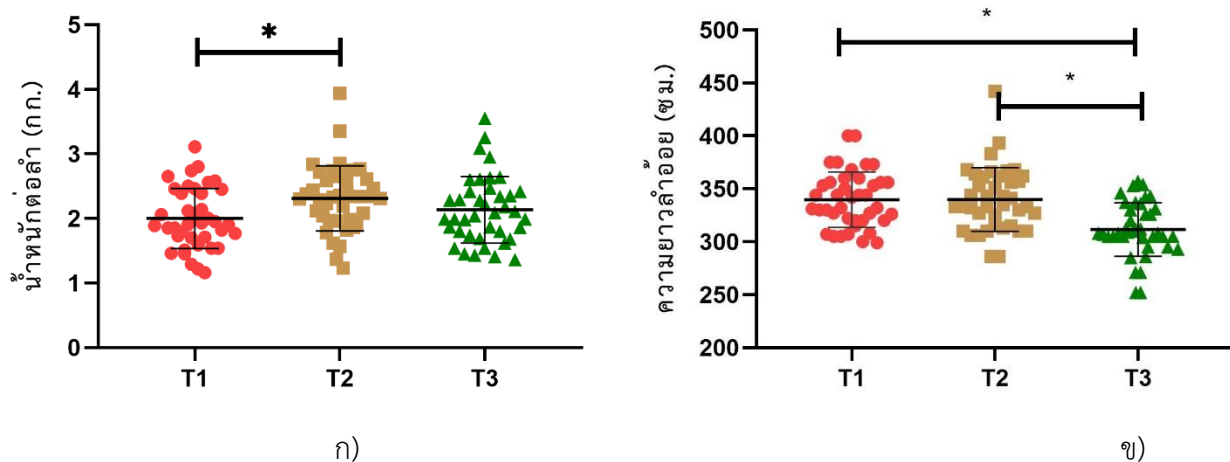
- ขนาดลำ (Stalk size) พบว่าชุดการทดลอง T2 มีขนาดลำอ้อยใหญ่ที่สุด เท่ากับ 2.89 ± 0.10 เซนติเมตร รองลงมาคือ ชุดการทดลอง T3 มีขนาดลำอ้อยเฉลี่ย เท่ากับ 2.73 ± 0.14 เซนติเมตร โดยชุดการทดลอง T2 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมที่มีขนาดลำอ้อย 2.65 ± 0.10 เซนติเมตร ดังรูปที่ 36ข



รูปที่ 35 ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) ความสูงของต้นอ้อย และ ข) ขนาดลำอ้อย ในการทดลองระดับไร่นา

- น้ำหนักลำ (Stalk weight) พบว่า ชุดการทดลอง T2 มีน้ำหนักลำอ้อยมากที่สุด เท่ากับ 2.31 ± 0.15 กิโลกรัม/ลำ รองลงมาคือชุดการทดลอง T3 เท่ากับ 2.14 ± 0.22 กิโลกรัมต่อลำ โดยชุดการทดลอง T2 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมที่มีขนาดลำอ้อยซึ่งมีน้ำหนัก 2.00 ± 0.18 กิโลกรัมต่อลำ ดังแสดงในรูปที่ 37ก

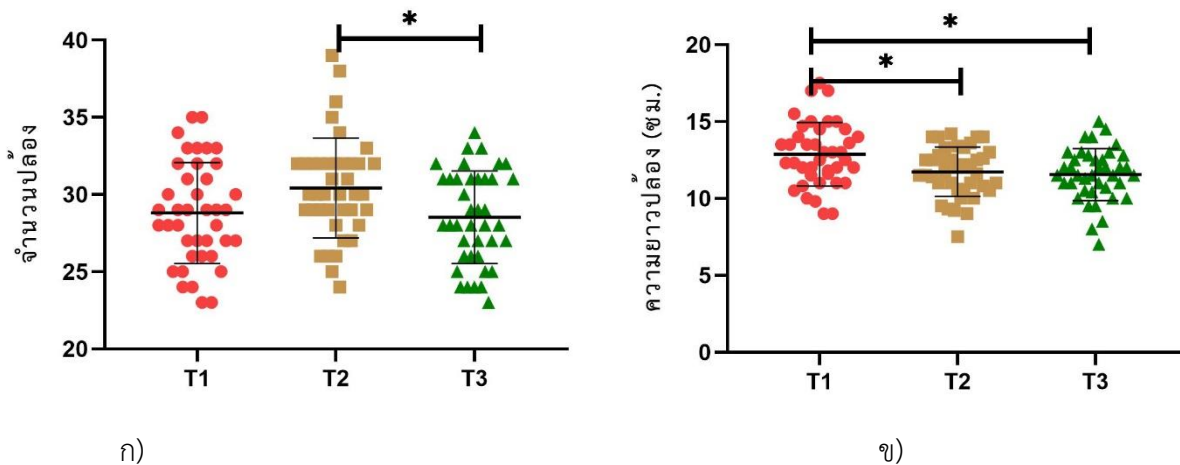
- ความยาวลำอ้อย พบว่า ชุดการทดลอง T2, T1 และ T3 มีความยาวลำ เท่ากับ 344.58 ± 17.67 , 340.35 ± 14.71 และ 321.00 ± 16.67 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลอง T2 และชุดควบคุมมีความยาวมากกว่าชุดการทดลอง T3 อย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 37ข



รูปที่ 36 ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) น้ำหนักลำอ้อย และ ข) ความยาวลำอ้อย ในการทดลองระดับไร่นา

- จำนวนปล้อง พบว่า ชุดการทดลอง T2 มีจำนวนปล้องมากที่สุด เท่ากับ 30.43 ± 1.43 ปล้อง ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมและชุดการทดลอง T3 อย่างมีนัยสำคัญ วัดได้ 28.80 ± 1.36 , 28.53 ± 1.08 ปล้อง ตามลำดับ ดังรูปที่ 38ก

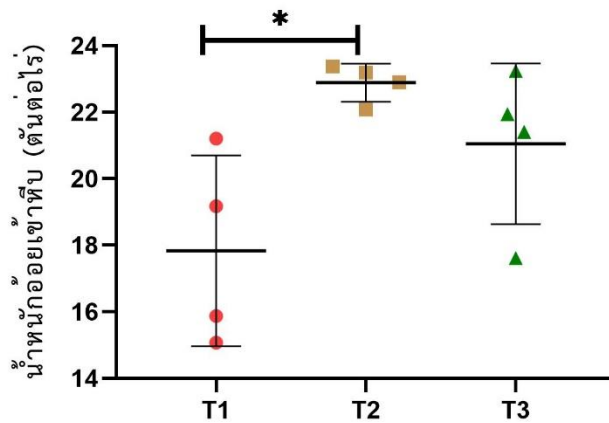
- ความยาวปล้อง พบว่า ชุดควบคุมมีความยาวปล้องมากกว่าชุดการทดลอง T2 และ T3 อย่างมีนัยสำคัญ โดยชุดควบคุม ชุดการทดลอง T2 และ T3 มีความยาวปล้องเท่ากับ 12.87 ± 0.26 , 11.73 ± 0.62 และ 11.55 ± 0.50 เซนติเมตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 38ข



รูปที่ 37 ผลการเจริญของต้นอ้อยในระยะสุกแก่ ก) จำนวนปล้อง และ ข) ความยาวปล้อง ในการทดลองระดับไร่นา

- จำนวนลำเข้าหีบ พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสม ชุดการทดลอง T2 และ T3 มีจำนวนลำอ้อยเข้าหีบใกล้เคียงกัน คือเท่ากับ $9,933.25 \pm 582.02$ และ $9,850.00 \pm 329.64$ ลำต่อไร่ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญ โดยชุดควบคุมมีจำนวนลำเฉลี่ยเพียง $8,875.00 \pm 728.57$ ลำต่อไร่

- น้ำหนักอ้อยเข้าหีบ พบว่าการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสมมีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบมากกว่าชุดควบคุม โดย T2 และ T3 มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบ 22.88 ± 0.57 และ 21.05 ± 2.42 ตันต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลอง T2 มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญ ที่มีน้ำหนักเท่ากับ 17.83 ± 2.87 ตันต่อไร่ ดังแสดงในรูปที่ 39

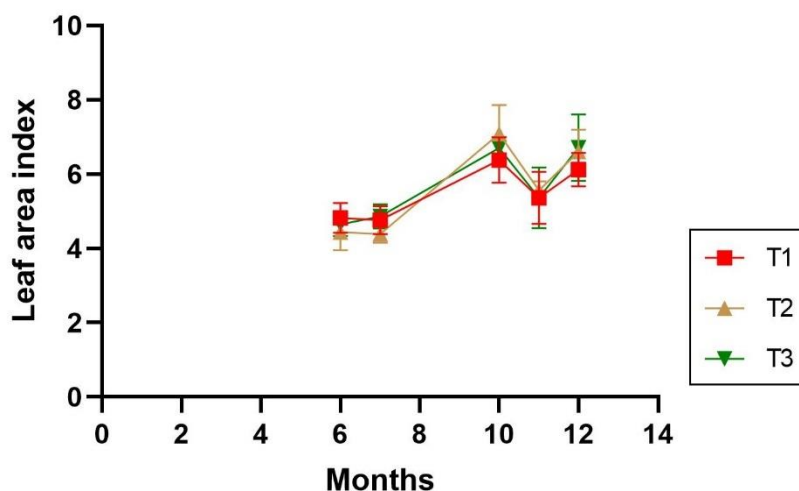


รูปที่ 38 ปริมาณน้ำที่ก้อยในไร่เข้าทาบภายหลังการเก็บเกี่ยว ในการทดลองระดับไร่นา

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของอ้อยในไร่นา

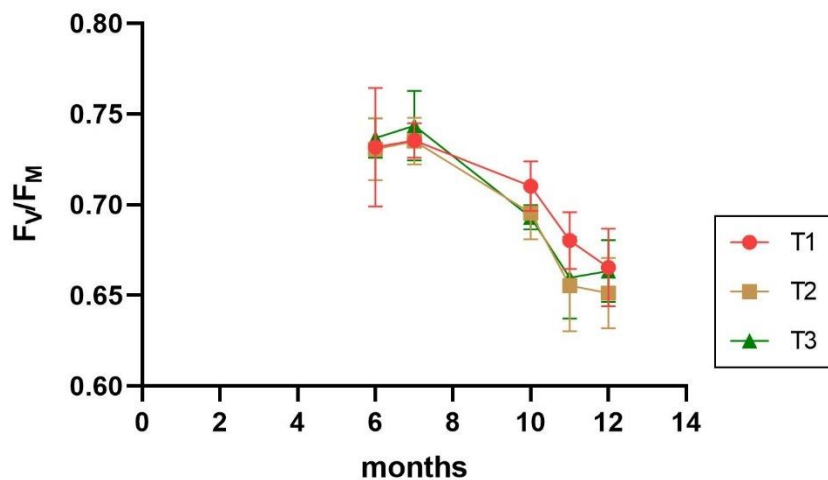
ผลการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของอ้อยในระยะสร้างน้ำตาล (เดือนที่ 6 และ 7) และสุกแก่ (เดือนที่ 10, 11 และ 12) แบ่งออกเป็น ดังนี้

- ดัชนีพื้นที่ใบ (Leaf area index) หรือ ค่า LAI พบว่าในระยะสร้างน้ำตาล ค่า LAI ที่วัดได้ในแต่ละชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเข้าระยะสุกแก่ ค่า LAI ของชุดการทดลอง T2 และ T3 ที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสมมีค่ามากกว่าชุดควบคุม (T1) ที่ไม่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ โดยในเดือนที่ 12 ก่อนการเก็บเกี่ยว ชุดการทดลอง T2 และ T3 มีค่า LAI เท่ากับ 6.60 ± 0.59 และ 6.71 ± 0.89 มากกว่าชุดควบคุมที่วัดค่า LAI ได้เพียง 6.12 ± 0.45 นอกจากนี้ ค่า LAI ในระยะสุกแก่ของอ้อยมีค่ามากกว่าในระยะสร้างน้ำตาลอีกด้วย แสดงผลได้ดังรูปที่ 40



รูปที่ 39 ผลการวัดดัชนีพื้นที่ใบในระยะสร้างน้ำตาลและสุกแก่ของอ้อยในการทดสอบระดับไร้นา

- ค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สอง (F_v/F_m) พบว่าเมื่ออ้อยเข้าระยะสุกแก่ การตอบสนองของใบต่อแสงฟลูออเรสเซนซ์มีค่าน้อยลงกว่าระยะสร้างน้ำตาล โดยสามารถวัดค่า F_v/F_m ในระยะสร้างน้ำตาลได้ในช่วง 0.71 – 0.77 และลดลงในระยะสุกแก่ ซึ่งวัดได้เพียง 0.62 – 0.72 แสดงให้เห็นว่าในระยะสุกแก่มีการลดการสังเคราะห์แสงและลดการสร้างน้ำตาล นอกจากนี้ในระยะสร้างน้ำตาล ค่า F_v/F_m ที่วัดได้ในแต่ละชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเข้าระยะสุกแก่ ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารชีวภัณฑ์มีค่า F_v/F_m มากกว่าชุดการทดสอบที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ โดยในเดือนที่ 11 สามารถวัดค่าในชุด T1 ได้ 0.68 ± 0.02 ซึ่งมากกว่าชุดทดสอบ T2 และ T3 ซึ่งวัดได้ 0.65 ± 0.02 และ 0.66 ± 0.02 ตามลำดับ แสดงได้ดังรูปที่ 41



รูปที่ 40 ผลการตอบสนองของใบต่อแสงฟลูออเรสเซนซ์ในระยะสร้างน้ำตาลและสุกแก่ของอ้อย ในการทดสอบระดับไร่นา

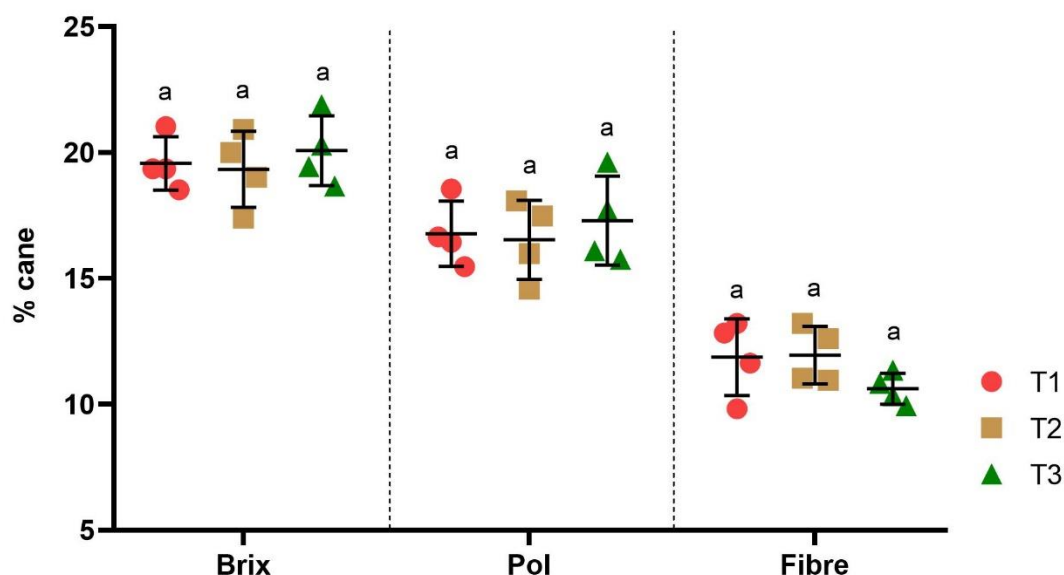
ผลการวิเคราะห์คุณภาพอ้อยจากบ่อปลูก

เก็บเกี่ยวอ้อยภายหลังการปลูก 12 เดือน เพื่อวัดคุณภาพอ้อยและมาตรฐานของน้ำตาล โดยคุณภาพอ้อยจะพิจารณาได้จาก ค่า Commercial Cane Sugar (C.C.S) ซึ่งคำนวณจาก ค่าโพล (%Pol), ค่าบริกซ์ (%Brix) และ ค่าเส้นใยของอ้อย (%Fiber) แสดงดังรูปที่ 42

- ค่าบริกซ์ (%Brix) หรือค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ พบว่าแต่ละชุดการทดลองมีค่าบริกซ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยชุดการทดลอง T3 มีค่าบริกซ์มากที่สุด เท่ากับ $20.07 \pm 1.38\%$ รองลงมาคือ ชุดควบคุม T1 มีค่าบริกซ์ $19.56 \pm 1.06\%$

- ค่าโพล (%Pol) หรือค่าร้อยละของน้ำตาลซูโครส พบว่าแต่ละชุดการทดลองมีค่าโพลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ชุดการทดลอง T3 มีค่าโพลมากที่สุด เท่ากับ $17.29 \pm 1.77\%$ มากกว่าชุดควบคุมและชุดการทดลอง T2 ที่มีค่าโพลเท่ากับ 16.77 ± 1.29 และ $16.53 \pm 1.58\%$ ตามลำดับ

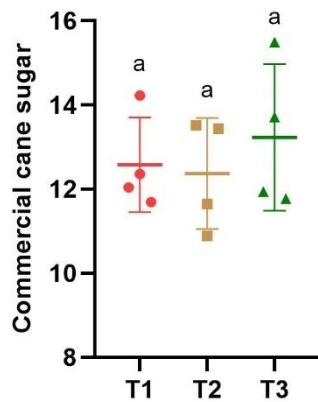
- ค่าเส้นใยของอ้อย (%Fiber) หรือค่าปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ พบว่าแต่ละชุดการทดลองมีค่าเส้นใยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยชุดควบคุม, T2 และ T3 มีเส้นใยร้อยละ เท่ากับ 11.87 ± 1.52 , 11.95 ± 1.13 และ $10.61 \pm 0.61\%$ ตามลำดับ



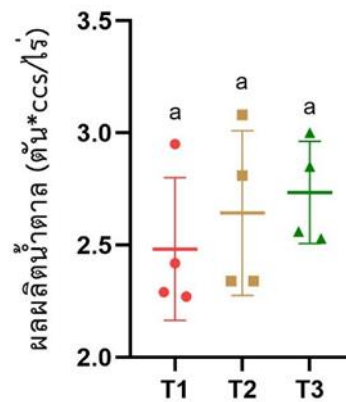
รูปที่ 41 ปริมาณค่าบริกซ์ ค่าโพล และค่าเส้นใยของอ้อยที่ได้จากการทดสอบระดับไร่นา

- ค่า Commercial Cane Sugar (C.C.S) หรือปริมาณร้อยละของน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ที่จะสามารถผลิตเป็นการค้าเชิงพาณิชย์ได้ พบว่าแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยชุดการทดลอง T3 มีค่า C.C.S. มากที่สุด เท่ากับ 13.58 ± 1.13 รองลงมาคือชุดควบคุมและชุดการทดลอง T2 ซึ่งมีค่า C.C.S. เท่ากับ 12.58 ± 1.13 และ 12.37 ± 1.32 ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 43ก

- ผลผลิตน้ำตาล โดยคำนวณจากน้ำหนักอ้อยเข้าหีบและค่า C.C.S. พบว่าผลผลิตน้ำตาลที่พบในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งชุดการทดลอง T3 และ T2 ที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผลผลิตน้ำตาลมากที่สุดคือ 2.73 ± 0.23 และ 2.64 ± 0.37 (ตัน $\times$ C.C.S./ไร่) ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารชีวภัณฑ์เท่ากับ 2.48 ± 0.32 (ตัน $\times$ C.C.S./ไร่) แสดงดังรูปที่ 43ข



ก)



ข)

รูปที่ 42 ผลวิเคราะห์คุณภาพน้ำตาล ก) ปริมาณร้อยละของน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ของอ้อย และ ข) ผลผลิตน้ำตาล ในการทดลองระดับไร่นา

4.4 การพัฒนาวิธีการผลิตสารชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์

1) การทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ สำหรับเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

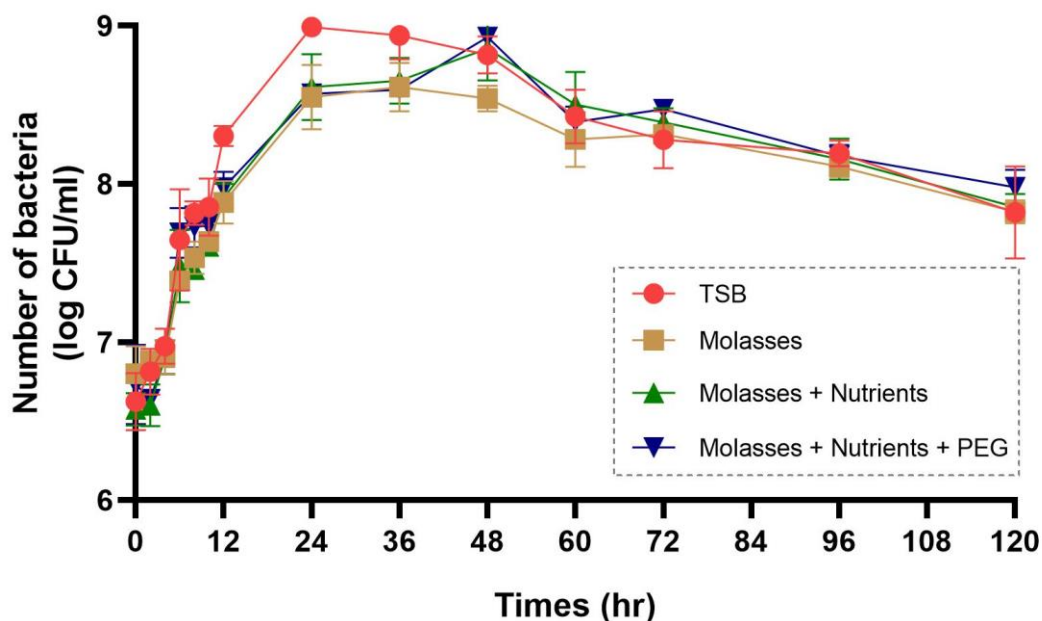
ในขั้นต้นของการทดลอง ผู้วิจัยได้เตรียมเพาะเลี้ยงแบคทีเรียลงอาหาร Tryptic Soy Broth และ Lactobacillus MRS Broth ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปที่มีธาตุอาหารเหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรีย และเมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่คัดเลือก จะทำให้ได้ความชุ่มชื้นของจุลินทรีย์ตามตารางที่ 9 แต่อย่างไรก็ตาม อาหาร TSB และ MRS มีราคาสูง เมื่อต้องการสารชีวภัณฑ์ในจำนวนที่มากขึ้น ปริมาณอาหารที่ใช้จึงเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ศึกษาวิธีการใช้โมลาส ซึ่งเป็นผลผลิตพลอยได้จากการผลิตน้ำตาลของอ้อยมาใช้เป็นส่วนประกอบหลักในการเพาะเลี้ยงสารชีวภัณฑ์ เนื่องจากโมลาสมีกลูโคสมากถึง 50% จึงเหมาะแก่การนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญของจุลินทรีย์ (Nikodinovic-Runic และคณะ, 2013) ในเบื้องต้นผู้วิจัยได้ทดสอบการใช้โมลาสในการเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ผสมเข้ากับธาตุอาหารที่จำเป็นบางชนิดของจุลินทรีย์ ทำการทดสอบเบื้องต้นโดยการเลี้ยงกลุ่มแบคทีเรียผสม M4 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นของเชื้อใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูป TSB ดังนั้นจึงนำโมลาสไปประยุกต์ในการเลี้ยงแบคทีเรียผสม 4 ชนิด เพื่อเตรียมเป็นสารชีวภัณฑ์ต่อไป

ตารางที่ 9 ค่าการดูดกลืนแสงของแบคทีเรียที่วัดได้ภายหลังการเลี้ยงเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ

อาหารเลี้ยงเชื้อ	แบคทีเรีย	ค่าการดูดกลืนแสง OD ₆₀₀	
		24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
TSB	<i>Bacillus thuringiensis</i> B2	1.612	1.560
	<i>Bacillus altitudinis</i> T17	1.582	1.088
	<i>Bacillus stratosphericus</i> L19	1.672	1.212
MRS	<i>Weissella cibaria</i> PN3	1.909	1.978
โมลาส	กลุ่มแบคทีเรีย M4	ND	1.532

2) การวัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียผสมที่ใช้ผลิตสารชีวภัณฑ์ในอาหาร TSB และโมลาสที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาการเจริญของแบคทีเรียผสมที่ใช้ผลิตสารชีวภัณฑ์ในอาหารที่แตกต่างกัน พบว่า 1) ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย ที่ช่วงเวลา 24 – 48 ชั่วโมง เป็นช่วงเวลาที่แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด โดยมีจำนวนแบคทีเรียที่นับได้อยู่ในช่วง 8.4 – 9.1 log CFU/มิลลิลิตร และ 2) สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย พบว่า ที่เวลา 24 และ 36 ชั่วโมง แบคทีเรียผสมในอาหาร TSB มีจำนวนมากกว่าอาหารโมลาสต่าง ๆ โดยชั่วโมงที่ 24 แบคทีเรียผสมที่เจริญในอาหาร TSB มีจำนวน 8.99 ซึ่งมีจำนวนมากกว่าแบคทีเรียที่เจริญในอาหารโมลาส, อาหารโมลาสที่เติมสารอาหาร และอาหารที่เติมสารอาหารและ PEG เท่ากับ 8.55, 8.61 และ 8.57 log CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ และชั่วโมงที่ 36 แบคทีเรียผสมที่เจริญในอาหาร TSB มีจำนวน 8.94 ซึ่งมีจำนวนมากกว่าแบคทีเรียที่เจริญในอาหารโมลาส, อาหารโมลาสที่เติมสารอาหาร และอาหารที่เติมสารอาหารและ PEG เท่ากับ 8.61, 8.65 และ 8.59 log CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ดังแสดงในภาคผนวก ง. : ตารางที่ ง.1) และเมื่อระยะเวลาผ่านไป จำนวนแบคทีเรียในอาหารแต่ละชนิดมีจำนวนใกล้เคียงกัน และสารปกป้องเซลล์ PEG สามารถยืดระยะเวลาการเก็บรักษาได้ ดังจะเห็นได้จากที่ชั่วโมง 120 แบคทีเรียผสมที่เจริญในอาหารโมลาสที่เติม PEG มีจำนวน 7.98 log CFU/มิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าอาหาร TSB, อาหารโมลาส และอาหารโมลาสที่เติมสารอาหาร ซึ่งมีจำนวนแบคทีเรีย 7.82, 7.82 และ 7.85 log CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 44



รูปที่ 43 ผลการเจริญของแบคทีเรียผสมที่ใช้ผลิตสารชีวภัณฑ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ได้แก่ 1) อาหาร TSB (TSB) 2) อาหารโมลาส (Molasses) 3) อาหารโมลาสที่มีการเติมสารอาหาร (Molasses + Nutrients) และ 4) อาหารโมลาสที่มีการเติมสารอาหารและสารปกป้องเซลล์ (Molasses + Nutrients + PEG) เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

ผู้วิจัยได้คำนวณราคาต้นทุนและปริมาณที่ใช้ในการผลิตสารชีวภัณฑ์โดยมีโมลาสเป็นส่วนประกอบหลัก พบว่าจากเดิมใช้อาหาร TSB ในการเตรียมสารชีวภัณฑ์จะมีราคา 45.00 บาทต่อลิตร เมื่อเปลี่ยนเป็นการใช้อาหารสูตรที่มีโมลาสอย่างเดียว พบว่าต้นทุนการผลิตมีราคาเหลือประมาณ 0.28 บาทต่อลิตร สามารถประหยัดต้นทุนอาหารได้ถึง 44.72 บาทต่อลิตร และเมื่อเติมสารอาหารลงในอาหารโมลาสเพื่อให้แบคทีเรียผสมได้รับสารอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญ พบว่ามีต้นทุน 2.34 บาทต่อลิตร และเมื่อเติมสารปกป้องเซลล์ PEG เพื่อยืดระยะเวลาการเก็บรักษาแบคทีเรีย จะมีต้นทุน 5.21 บาทต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 10 แต่เมื่อผู้วิจัยได้เปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียที่เจริญในอาหารแต่ละชนิดและเทียบกับราคาการผลิต พบว่าจำนวนแบคทีเรียในอาหารแต่ละชนิดมีจำนวนใกล้เคียงกัน โดยจำนวนแบคทีเรียในชั่วโมงที่ 24 – 48 เป็นช่วงเวลาที่แบคทีเรียเจริญเติบโตมากที่สุด ซึ่งอยู่ในช่วงประมาณ 8.39 – 9.09 log CFU/มิลลิลิตร มีจำนวนตามมาตรฐานของปริมาณหัวเชื้อทั่วไปที่ควรมี ดังนั้นอาหารที่มีโมลาสสามารถใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแทนการใช้อาหารสำเร็จรูปสำหรับการพัฒนาสารชีวภัณฑ์ผสมต่อไปได้

ตารางที่ 10 ราคาต้นทุน และปริมาณที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโมลาส สำหรับการผลิตสารชีวภัณฑ์

ส่วนผสม	ราคาต้นทุน (บาท)	ปริมาณที่ใช้/ลิตร (กรัม)	ราคา/ลิตร (บาท)
โมลาส	285 บาท / 10 ลิตร	10.0	0.2800
ยีสต์สกัด	1,200 บาท / 0.5 กก.	0.5	1.2000
K ₂ HPO ₄	450 บาท / 0.5 กก.	0.5	0.4500
MgSO ₄	1,010 บาท / 0.5 กก.	0.2	0.4040
NaCl	14 บาท / 1 กก.	0.1	0.0014
รวม			2.3354
PEG6000	287 บาท / 1 กก.	10.0	2.8700
รวม			5.2054

แนวทางการนำสารชีวภัณฑ์ไปใช้งาน สามารถแบ่งเป็นระดับบริษัทผู้ผลิตและระดับเกษตรกร

1) กรณีของผู้ผลิตสารชีวภัณฑ์ สามารถเติมสารปกป้องเซลล์อย่าง PEG เพื่อเพิ่มอายุในการเก็บรักษา โดยสูตรอาหารจะประกอบด้วยโมลาส สารอาหาร และ PEG ซึ่งมีราคาต้นทุนการผลิต 5.21 บาท/ลิตร โดยดำเนินการเพาะเลี้ยงในถังหมัก ขนาด 130 ลิตร ที่บริษัท ไบโอฟิล เทคโนโลยี จำกัด จากนั้นจะถูกบรรจุขวดขนาดต่าง ๆ สำหรับการวางขายเพื่อให้เกษตรกรสามารถนำไปขยายหัวเชื้อ

2) กรณีของเกษตรกร สามารถนำสารชีวภัณฑ์ไปใช้ในแปลงอ้อยที่มีขนาดใหญ่ โดยทำการขยายสารชีวภัณฑ์ที่ซื้อจากผู้ผลิตโดยใช้โมลาส โดยเกษตรกรสามารถเพิ่มปริมาณของหัวเชื้อได้โดยการใช้โมลาส 10 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ซึ่งจะมีราคาต้นทุนเพียง 0.28 บาท/ลิตร หรือใช้โมลาส 1 ส่วน นำมาเจือจางในน้ำสะอาด 10 ส่วน และเติมด้วยสารชีวภัณฑ์ 1 ส่วน ตามวิธีการทำปุ๋ยอินทรีย์ทั่วไปของเกษตรกร (Greenpeace Thailand, 2017) ซึ่งหากต้องการให้มีจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นสามารถเพาะเลี้ยงใน Bioreactor ที่มีการต่อเข้ากับเครื่องให้อากาศ เพื่อให้อากาศสำหรับการเจริญของแบคทีเรียเป็นเวลา 4-5 วัน จากนั้นจึงนำหัวเชื้อแบคทีเรียไปแช่ท่อนพันธุ์อ้อยก่อนปลูก หรือใช้พ่นตามแปลงปลูกอ้อยต่อไป โดยสามารถขยายหัวเชื้อตามภาพที่ 45



รูปที่ 44 แผนงานสำหรับการนำสารชีวภัณฑ์ไปใช้ในแปลงเกษตร

การคำนวณต้นทุนการใช้สารชีวภัณฑ์ระหว่างปลูกอ้อยต่อไร่ โดยใช้ข้อมูลจากงานวิจัยนี้

- ในงานวิจัยนี้แต่ละแปลงทดลองมี 5 ร่อง แต่ละร่องมีความยาว 8 เมตร และกว้าง 1.5 เมตร ดังนั้นแปลงการทดลองมีแนวการปลูกยาว $(8 \times 5) = 40$ เมตร
- 1 ไร่ มีพื้นที่เท่ากับ 1,600 ตารางเมตร ดังนั้นความยาวในการปลูกอ้อย 1 ไร่ เทียบกับแปลงการทดลองปลูกอ้อย จะมีความยาวเท่ากับ $(1,600 \div 1.5) = 1,067$ เมตร
- 1 แปลง ใช้สารชีวภัณฑ์ฉีดพ่นตามแนวปลูก เดือนละ 65 ลิตร ดังนั้น 1 ไร่ จะใช้สารชีวภัณฑ์เป็นจำนวน $(65 \times 1,067) \div 40 = 1,733.875$ ลิตรต่อเดือน

ตารางที่ 11 ต้นทุนการใช้สารชีวภัณฑ์ระหว่างปลูกอ้อยต่อไร่

ต้นทุน	ปริมาณที่ใช้ (ลิตร)	ราคา (บาท)
- หัวเชื้อชีวภาพ ราคา 50 บาท/ลิตร ผสมในปริมาณ 1:10	0.10	5.00
- โมลาส	0.10	0.28
- ต้นทุนขยายเชื้อต่อไร่ (1 เดือน)	1,734.00	9,155.52
- ต้นทุนขยายเชื้อต่อไร่ (3 เดือน)	5,202.00	27,466.56

บทที่ 5

อภิปรายและวิจารณ์ผล

5.1 การเตรียมสารชีวภัณฑ์

ภาวะแล้งที่เกิดขึ้นอย่างรุนแรง ส่งผลทำให้ผลผลิตทางการเกษตรในประเทศไทยลดลงอย่างมาก โดยผลผลิตอ้อยในฤดูกาลผลิตปี 2561/62 ลดลงถึง 43% ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลส่งออกลดลงเหลือเพียง 8.27 ล้านตัน จากเดิมปีฤดูกาลก่อนหน้าผลิตได้ 14.58 ล้านตัน และมีแนวโน้มลดลงเพิ่มขึ้นจากภาวะขาดน้ำที่เกิดขึ้น (ผู้จัดการออนไลน์, 2563) ดังนั้นเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชที่มีประสิทธิภาพในการทนแล้งเป็นแนวทางการแก้ไขปัญหาหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการลดปัญหาดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียต่ออ้อยในภาวะแล้งระดับบ่อปลูกและระดับไร่เนา เพื่อนำไปสู่การพัฒนาหัวเชื้อแบคทีเรียเป็นสารชีวภัณฑ์ที่สะดวกและเหมาะสมแก่การนำไปใช้งาน

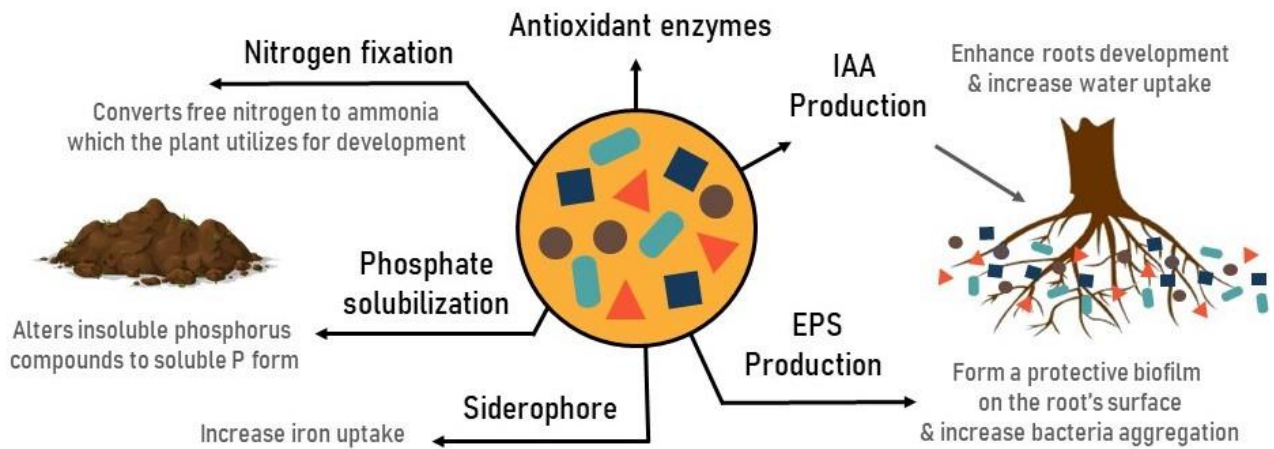
ผู้วิจัยได้คัดเลือกแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชและไม่เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่เก็บภายในคลังจุลินทรีย์ของคณะวิทยาศาสตร์ สาขาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 นำมาศึกษาคุณสมบัติในการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชพบว่า แบคทีเรียแต่ละชนิดมีความสามารถที่แตกต่างกันออกไป และส่วนใหญ่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของพืชมากกว่า 1 กิจกรรม สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้า (Martínez-Viveros และคณะ, 2010; Rodrigues และคณะ, 2016; Singh และ Jha, 2015; Vardharajula และคณะ, 2011) (ดังแสดงในตารางที่ 12) และเมื่อผสมแบคทีเรีย 4 ชนิดรวมเป็นสารชีวภัณฑ์ผสม พบว่าทำให้คุณสมบัติเพิ่มมากขึ้น เช่น ในแบคทีเรียเดี่ยวแต่ละชนิดมีการผลิต IAA อยู่ในช่วง $5.54 - 9.99 \mu\text{g mL}^{-1}$ แต่เมื่อรวมกลุ่มเป็นสารชีวภัณฑ์ผสม พบว่าสามารถผลิต IAA ได้สูงถึง $77.33 \mu\text{g mL}^{-1}$ และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้าที่ได้มีการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสาร IAA โดยเฉพาะ พบว่ามีความใกล้เคียงกับสารชีวภัณฑ์ผสม เช่น แบคทีเรีย *Streptomyces fradiae* NKZ-259 ในการศึกษาของ Myo และคณะ (2019) สามารถผลิตสาร IAA $82.36 \mu\text{g mL}^{-1}$ และการศึกษาของ Chandra และคณะ (2018) ที่พบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตได้ $81.7 - 91.7 \mu\text{g mL}^{-1}$ โดยสาร IAA ที่แบคทีเรียผลิตออกมาจะสามารถช่วยได้ในการส่งเสริมในการยืดยาวออกของราก ทำให้สามารถดูดซึมน้ำและแร่ธาตุในภาวะที่ขาดน้ำได้ดีมากขึ้น นอกจากนี้สารชีวภัณฑ์ผสมสามารถสร้างซิเดอรอโรฟอร์ ช่วยในการดูดจับธาตุเหล็กเข้าสู่พืช และสามารถตรึงไนโตรเจนที่อยู่บรรยากาศให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากกว่าแบคทีเรียเดี่ยวด้วย ทั้งนี้แบคทีเรียผสมยังสามารถละลายฟอสเฟตในดินให้อยู่ในรูปที่อ้อยสามารถดูดซึมไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้ (Ahemad และ Kibret, 2014) โดยวัดค่าดัชนี

ฟอสเฟต (SI) ได้ 2.29 ซึ่งเมื่อใกล้เคียงกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ได้มีการศึกษาแบคทีเรียย่อยสลายฟอสเฟตโดยเฉพาะ เช่น งานวิจัยของ Pande และคณะ (2017) ที่ได้ศึกษาแบคทีเรีย *Alcaligenes aquatilis* และ *Burkholderia cepacia* พบว่ามีค่า SI อยู่ระหว่าง 1.77-4.88 และงานวิจัยของ Paul และ Sinha (2013) พบว่าในจำนวนแบคทีเรียไฮโซเลตที่คัดแยกทั้งหมด *Bacillus* sp. JPSB16 มีค่า SI มากที่สุด เท่ากับ 3.14 ดังนั้นจากผลการทดสอบคุณสมบัติของสารชีวภัณฑ์นี้ พบว่าการใช้แบคทีเรียแบบรวมกลุ่มกัน สามารถทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์กันของแบคทีเรีย ส่งผลให้มีกิจกรรมเอนไซม์ที่ดีกว่าการใช้แบคทีเรียเดี่ยว คุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของพืชโดยสารชีวภัณฑ์แสดงดังรูปที่รูปที่ นอกจากนี้จากการศึกษาของ เอกวัล ลือพร้อมชัย (2563) ที่ได้ศึกษาการใช้วัสดุตรึงรวมกับการใช้แบคทีเรีย พบว่าการใช้แบคทีเรียบนวัสดุผสมที่ประกอบด้วย ถ่านชีวภาพ, ถั่วลย และกากเนื้อในปาล์ม ในอัตราส่วน 1:1:1 เพื่อเพิ่มแบคทีเรียในดิน พบว่าถ่านชีวภาพและถั่วลยมีค่าความชื้นสูง มีรพุนมาก เหมาะแก่การอาศัยของแบคทีเรีย และกากเนื้อในปาล์มมีธาตุไนโตรเจนมาก ซึ่งเหมาะแก่การเจริญของอ้อย ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกการใช้สารชีวภัณฑ์ผสมรวมการใช้วัสดุตรึงในการศึกษาการส่งเสริมการเจริญของอ้อยในภาวะแล้งในระดับบ่อปลูกและระดับไร่นาต่อไป

ตารางที่ 12 คุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของพืชในสารชีวภัณฑ์ผสมเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้านี้

แบคทีเรีย	ชนิดของพืช	CAT	NF	PSI	IAA ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	EPS (%)	SD	อ้างอิง
สารชีวภัณฑ์ (แบคทีเรียผสม 4 ชนิด)	อ้อย	+++	+++	2.29	77.33	91.54	30.00*	งานวิจัยนี้
<i>Enterobacter cloaceae</i>	ข้าวสาลี	ND	+	+	0.53	ND	-	Singh และ Jha (2015)
<i>Enterobacter</i> sp. KRZ6	อ้อย	ND	+	3.88	64.30	ND	ND	Rodrigues และคณะ (2016)
<i>Enterobacter</i> sp. KRZ23	อ้อย	ND	+	6.32	74.55	ND	ND	
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Vallisneria natans</i>	ND	ND	+	46.80	ND	ND	Wang และ คณะ (2021)

หมายเหตุ: CAT แสดงระดับความสามารถในการสร้างแคแตเลส, NF แสดงระดับความสามารถในการตรึงไนโตรเจน, PSI แสดงค่าดัชนีการละลายฟอสเฟต, IAA แสดงผลผลิตที่สาร IAA ที่แบคทีเรียผลิตได้, EPS แสดงเปอร์เซ็นต์การผลิตสาร EPS, SD แสดงความสามารถในการผลิตซิเตอร์โรฟอร์ม, ND แสดงถึงไม่มีการทดสอบ และเครื่องหมาย * แสดงค่าเส้นผ่านศูนย์กลางวงเหลืองที่วัดได้บนอาหาร CAS



รูปที่ 45 ความสามารถของสารชีวภัณฑ์ผสมจากงานวิจัยนี้ในการส่งเสริมการเจริญของพืช

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสถานะแล้ง ในระดับบ่อปลูก

การศึกษาการนำสารชีวภัณฑ์ผสมไปใช้นั้น จำเป็นต้องจำลองในระดับย่อม จากนั้นจึงค่อยนำไปสู่การพัฒนาในการใช้ระดับเกษตรกรจริง ดังนั้นผู้วิจัยจึงเริ่มศึกษาการใช้สารชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญของอ้อยในระดับบ่อปลูกเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์ผสม และชุดการทดลองที่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียไม่ทราบชนิด โดยระหว่างการทดสอบผู้วิจัยมีการเติมสารชีวภัณฑ์เพิ่มเติมเดือนละ 1.0-1.5 ลิตรต่อบ่อ หรือปริมาณ 5% (v/w) ของน้ำหนักดิน และเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับจุลินทรีย์ที่อยู่ภายในดิน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ในชุดการทดลองที่มีการเติมแบคทีเรียในเดือน 5, 6 และ 7 มีจำนวนมากกว่าชุดการทดลองไม่มีการเติมแบคทีเรีย และจำนวนจุลินทรีย์ในเดือน 5, 6 และ 7 มีปริมาณลดลงอย่างไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ ดังนั้นปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่เติมลงไปอาจเป็นปริมาณที่เหมาะสมที่ทำให้จุลินทรีย์สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมในดินได้

เมื่อพิจารณาการเจริญของอ้อย พบว่าการเจริญของต้นอ้อยในระยะตั้งตัวและแตกกอของแต่ละชุดการทดลองมีการเจริญที่ต่างกัน โดยชุดการทดลอง T3 ที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสม และชุดการทดลอง T4 ที่มีการเติมกลุ่มแบคทีเรียผสมไม่ทราบชนิดมีการแตกกอที่ดีกว่าชุดควบคุม และความสูงต้นอ้อยในชุดควบคุมยังต่ำกว่าชุดการทดลอง T2, T3 และ T4 แต่เมื่อต้นอ้อยเข้าสู่ระยะสร้างน้ำตาลที่มีการจำลองภาวะแล้ง การเจริญของอ้อยมีลักษณะใกล้เคียงกัน จนไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ด้วยตาเปล่า ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีการวัดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา เพื่อศึกษาความสามารถใน

การเจริญและการฟื้นตัวในภาวะแล้งของอ้อย พบว่าชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์ผสม สามารถรักษาค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบได้แม้จะอยู่ในช่วงภาวะแล้ง และสามารถคืนค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบได้ขณะที่อ้อยมีการฟื้นตัว โดยพืชที่สามารถทนความแล้งได้นั้นจะสามารถรักษาน้ำในช่วงที่แล้งได้ ส่งผลให้มีค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมาก (Colom และ Vazzana, 2003) ชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์ผสมในการทดลอง T3 มีค่าดัชนีพื้นที่ใบมากที่สุดระหว่างการจำลองภาวะแล้งรอบที่สอง เท่ากับ 4.95 สูงกว่าการศึกษา ของ Begum และคณะ (2012) ซึ่งวัดค่าดัชนีพื้นที่ใบอ้อยในภาวะแล้งได้ 4.37 (ไม่เติมสารชีวภัณฑ์) โดยค่าดัชนีพื้นที่ใบนี้ เป็นดัชนีหนึ่งที่บ่งบอกถึงความสามารถในการรับแสงและอัตราการสังเคราะห์แสงของพืช เพราะการเจริญเติบโตของพืช จะเท่ากับอัตราการสังเคราะห์รวมกับพื้นที่ใบ (Jeen-on และคณะ, 2008) และเมื่อวัดค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สองอ้อย โดยวัดจากค่าการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ในระบบ Photosystem II (สุภาลัย อารีรักษ์, 2563) พบว่าอ้อยในชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์ สามารถรักษาการทำงานในช่วงแล้งได้มากที่สุดเท่ากับ 0.56 และสามารถฟื้นการทำงานได้มากที่สุดเท่ากับ 0.73 ซึ่งโดยทั่วไปแล้วพืชที่มีการเจริญปกติและไม่อยู่ในภาวะเครียด จะมีค่า F_v/F_m อยู่ระหว่าง 0.75-85 (Krause และคณะ, 1989; Silva และคณะ, 2018) ซึ่งผลจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าอ้อยในภาวะแล้งจะเกิดความเครียด เนื่องจากมีกระบวนการยับยั้งการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้น และเมื่อให้อ้อยฟื้นตัวโดยการให้น้ำ อ้อยยังสามารถสังเคราะห์แสงต่อได้ โดยมีการสังเคราะห์ใกล้เคียงกับพืชทั่วไปที่ไม่เกิดภาวะเครียด สอดคล้องกับค่า Crop water stress index ที่ผู้วิจัยได้วัดเพื่อประเมินความเครียดในพืชโดยวัดจากอุณหภูมิความร้อนที่พืช โดยพบว่าอ้อยในภาวะฟื้นตัวค่า CSWI ที่วัดได้นั้นน้อยกว่าเกณฑ์ที่แสดงถึงว่าพืชมีความเครียด (โดยทั่วไป ค่า $CWSI \geq 1$ แสดงว่าพืชมีความเครียด) ดังนั้นจากผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาต่าง ๆ ของอ้อย สามารถบ่งบอกได้ว่าอ้อยในชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสมยังรักษาการทำงานในเซลล์ได้แม้เข้าสู่ภาวะขาดน้ำ และหลังจากให้น้ำ อ้อยมีการฟื้นตัวได้ดีจนมีการค่าการทำงานต่าง ๆ อยู่ในช่วงทั่วไป

คณะผู้วิจัยได้ทำการวัดการเจริญของอ้อยภายหลังการเก็บเกี่ยวในระยะสุกแก่ของอ้อย พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสม มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบ ความสูงของต้นอ้อย ความยาวของปล้องอ้อย น้ำหนักปล้องอ้อย และขนาดลำอ้อยมีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมสารชีวภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ยเท่ากับ 5.95 กิโลกรัม ต่อบ่อ หรือเท่ากับ 19.04 ต้นต่อไร่ มากกว่าชุดควบคุมถึง 3.98 ต้นต่อไร่ และมากกว่าปริมาณผลผลิตโดยทั่วไปที่เกษตรกรเก็บเกี่ยวได้ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเกษตรกรจะสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตอ้อยได้อยู่ที่ประมาณ 18 ต้นต่อไร่ นอกจากนี้ชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์มีระดับความหวานเท่ากับ 11.93 ซี.ซี.เอส. ซึ่งมากกว่าปริมาณที่รัฐบาลกำหนดไว้ โดยรัฐบาลประกาศราคาอ้อยฤดูการผลิต 2563/2564 รับในอัตราตันละ 920 บาท ณ ระดับ 10 ซี.ซี.เอส. (รัฐบาลไทย, 2564) ดังนั้นการใช้สารชีวภัณฑ์ผสมสามารถทำให้อ้อยเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์ ดังที่เห็นได้จากผลจากน้ำหนักอ้อยเข้าหีบที่เพิ่มขึ้นเมื่อเติมสารชีวภัณฑ์ และสามารถส่งเสริมให้พืชสามารถทนต่อความแล้งได้ซึ่งจะเห็นได้จากผลการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในด้านต่าง ๆ

5.3 การทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยใน ภาวะแล้ง ในระดับไร่นา

ผู้วิจัยได้ทำการเพิ่มขนาดการทดลองการใช้สารชีวภัณฑ์ในการปลูกอ้อยระดับไร่นา โดยวิธีการปลูกและการดูแลไร่ จะดำเนินการตามแผนการของเกษตรกร โดยผู้วิจัยจะเพิ่มเติมในส่วนของการตรึงสารชีวภัณฑ์ผสมที่ท่อนพันธุ์อ้อยและเติม แบกที่เรียผสมเพิ่มเติมใน 3 เดือนแรกเท่านั้น พบว่าภายหลังการปลูก 60 วัน ชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสม ร่วมกับวัสดุตรึงมีจำนวนหน่อเฉลี่ย 2.04/ท่อน มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Cipriano และ คณะ (2021) ที่ศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียแต่ละชนิดต่อการส่งเสริมการเจริญของอ้อย ซึ่งมีจำนวนหน่อเฉลี่ยอยู่ที่ 2.25-3.08/ท่อน และส่งผลทำให้อ้อยมีน้ำหนักมวลมากขึ้น และผลจากการวิเคราะห์จุลินทรีย์รอบรากอ้อย พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ ใน 3 เดือนแรก ที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสมมีจำนวนไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากจำนวนจุลินทรีย์ในเดือนที่ 6 ดังนั้น ปริมาณสารชีวภัณฑ์ผสมที่ใส่ลงไปเพียงพอต่อการคงอยู่ในธรรมชาติ ซึ่งเท่ากับ 195 ลิตรต่อแปลง (เดิมเป็น 3 เดือน เดือน ละ 65 ลิตร) หรือ 5,202 ลิตรต่อไร่ ซึ่งงานวิจัยของ da Silva และคณะ (2017) มีการใช้หัวเชื้อชีวภาพในการช่วยการ ส่งเสริมการเจริญของอ้อย โดยปริมาณที่ใช้เท่ากับ 400 ลิตรต่อไร่ (1,200 ตารางเมตร) ดังนั้นจึงมีโอกาที่จะใช้ปริมาณสาร ชีวภัณฑ์น้อยกว่าที่ผู้วิจัยทดลองในระหว่างการปลูกอ้อยได้

ผลของการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา พบว่าดัชนีพื้นที่ใบของอ้อยในไร่มีค่ามากขึ้นเมื่อเข้าสู่ระยะสุกแก่ แสดงให้ เห็นว่าอ้อยในการทดสอบระดับไร่นามีอัตราการสังเคราะห์แสงเพิ่มขึ้นเมื่อเข้าระยะสุกแก่ ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Som-ard และคณะ (2021) และ Juntahum และคณะ (2021) ที่เมื่ออ้อยเข้าสู่ระยะสุกแก่จะมีค่าดัชนีพื้นที่ใบลดลง เนื่องจากน้ำในใบถูกใช้เพื่อสะสมน้ำตาลซูโครสในลำ และการเจริญของชีวมวลอ้อยลดลงจนทำให้มีลำอ้อยขนาดไม่แตกต่าง จากระยะสร้างน้ำตาล นอกจากนี้ความชื้นและแร่ธาตุภายในดินลดลง ทำให้การมีการลดการเปิดปากใบลดลง ส่งผลให้มี การสังเคราะห์แสงลดน้อยลง ในขณะที่ผลการวัดการตอบสนองของแสง (F_v/F_m) ในอ้อยระดับไร่นาสอดคล้องกับงานวิจัย อื่น ๆ คือมีการตอบสนองต่อแสงของอ้อยลดลงเมื่อเข้าสู่ระยะสุกแก่ เนื่องจากการสะสมของน้ำตาลและลดการสังเคราะห์ แสง (Juntahum และคณะ, 2021)

คณะผู้วิจัยได้ทำการวัดการเจริญของอ้อยภายหลังการเก็บเกี่ยวในระยะสุกแก่ของอ้อย พบว่าชุดการทดลองที่มีการ เติมสารชีวภัณฑ์ผสมมีความสูง ขนาดลำ น้ำหนักลำ น้ำหนักกาบและใบ จำนวนลำอ้อยเข้าหีบ น้ำหนักอ้อยเข้าหีบ และ ผลผลิตน้ำตาลมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์ โดยชุดการทดลอง T2 มีการเจริญในด้านต่าง ๆ สูงที่สุด และเมื่อ พิจารณาน้ำหนักอ้อยเข้าหีบพบว่าชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์เท่านั้น (T2) และชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์และ วัสดุพา (T3) มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ย 22.88 และ 21.05 ตันต่อไร่ โดยมากกว่าการทดสอบในระดับบ่อปลูกที่มีน้ำหนัก เข้าหีบมากที่สุดเพียง 19.04 ตันต่อไร่ เนื่องจากระยะเวลาปลูกมากกว่า และไม่ถูกจำกัดการเจริญของราก จะเห็นได้ว่า ผลผลิตอ้อยที่ได้จากการทดสอบในระดับบ่อปลูกและไร่นามากกว่าผลผลิตอ้อยในปีการผลิต 2563/64 ซึ่งมีผลผลิตเฉลี่ยทั่ว

ประเทศเพียง 7.21 ต้น/ไร่ (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2563) นอกจากนี้ค่าซี.ซี.เอส.ในชุดการทดลอง T3 ที่เติมสารชีวภัณฑ์และวัสดุพามีค่า 13.58 ซี.ซี.เอส. ซึ่งมากกว่าการทดสอบในระดับบ่อปลูกที่มีเพียง 11.93 ซี.ซี.เอส. และมากกว่าค่าซี.ซี.เอส.เฉลี่ยทั่วประเทศในปีการผลิต 2563/64 ซึ่งมีค่า 12.91 ซี.ซี.เอส. (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2563)

5.4 การพัฒนาวิธีการผลิตชีวภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์

การใช้สารชีวภัณฑ์เพื่อการส่งเสริมการเกษตร จำเป็นต้องมีการเตรียมในปริมาณที่มาก ดังนั้นเพื่อความคุ้มทุนในการผลิต จึงจำเป็นต้องมีการลดต้นทุนการผลิต ซึ่งในรายงานก่อนหน้ามีการใช้สารตั้งต้นราคาถูกผสมกับส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และยังสามารถเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ได้ชีวมวลตามที่ต้องการ (Bashan และคณะ, 2013; Lobo และคณะ, 2019) ดังนั้น การนำผลผลิตพลอยได้ทางการเกษตร หรือของเสียมาใช้เป็นส่วนประกอบในการเป็นแหล่งคาร์บอนหรือแหล่งไนโตรเจน จึงเป็นทางเลือกที่ดีในการลดปัญหาด้านต้นทุนการผลิตสารชีวภัณฑ์

ผู้วิจัยได้เลือกโมลาสมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย โดยใช้กลุ่มแบคทีเรีย M4 ไม่ทราบชนิดในการใช้เป็นต้นแบบการผลิต พบว่าปริมาณจุลินทรีย์หลังจากเลี้ยงด้วยอาหารโมลาสอยู่ในมาตรฐานของปริมาณหัวเชื้อทั่วไปที่ควรมี (ในช่วง 10^7 - 10^9 CFU/มิลลิลิตร) (Lobo และคณะ, 2019) โดยก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษาการนำโมลาสไปใช้ในการเป็นหัวเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ งานวิจัยของโชคชัย วณภู (2556) ที่โดยการใช้อาหารที่เติมโมลาส 2% ร่วมกับสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์และแป้งมัน สามารถทำให้ *Azospirillum* sp. เจริญและมีชีวิตรอดได้มากกว่า 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร นาน 8 เดือน และการศึกษาของ Lo และคณะ (2020) รายงานการเพิ่มชีวมวลของหัวเชื้อ *R. palustris* PN3 โดยการใช้โมลาส 32.35 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำหมักข้าวโพด 39.41 มิลลิลิตรต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 37.9 องศาเซลเซียส pH 7 และ DO 30.0% สามารถเพิ่มชีวมวลได้ 2.18 กรัมต่อลิตร ในเวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้อาหารโมลาสในใช้แทนอาหารสำเร็จรูปที่มีราคาแพง

จากการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียผสมพบว่าอาหารโมลาสสามารถใช้แทนอาหารสำเร็จรูป TSB ได้ เนื่องจากจำนวนแบคทีเรียที่วัดได้ในแต่ละอาหารแต่ละชนิดมีจำนวนใกล้เคียงกัน โดยจำนวนแบคทีเรียในชั่วโมงที่ 24 - 48 เป็นช่วงเวลาที่แบคทีเรียเจริญเติบโตมากที่สุด ซึ่งอยู่ในช่วงประมาณ 8.39 - 9.09 log CFU/มิลลิลิตร มีจำนวนตามมาตรฐานของปริมาณหัวเชื้อทั่วไปที่ควรมี และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นาน 120 ชั่วโมง (จำนวนแบคทีเรีย 7.74 - 8.10 log CFU/มิลลิลิตร) นอกจากนี้การเติมสารปกป้องเซลล์ PEG6000 สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาจำนวนแบคทีเรียผสมได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Sipahutar และคณะ (2018) ที่รายงานการใช้สารชีวภัณฑ์ที่มีการผสมซีลี้อย โมลาส 5% (w/v) และ PEG 1% (w/v) สามารถเก็บรักษา *Pseudomonas fluorescens* MC46 ได้นานถึง 20 สัปดาห์ ดังนั้นการเติมสารปกป้องเซลล์ PEG6000 ลงในอาหารโมลาสจึงเหมาะแก่การผลิตเป็นหัวเชื้อชีวภาพสำหรับการจัดจำหน่าย เนื่องจากสูตรอาหารนี้ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอน ธาตุอาหารและสารปกป้องเซลล์ จึงมีต้นทุนอาหาร 5.21 บาท/ลิตร แต่สำหรับ

เกษตรกรที่ต้องการนำสารชีวภัณฑ์ผสมไปใช้ในพื้นที่ทางการเกษตรที่จำเป็นต้องขยายเชื้อเป็นจำนวนมาก สามารถเติมสารชีวภัณฑ์ 1 ส่วน ในโมลาสเจือจาง ปริมาณ 10 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร ซึ่งจะมีต้นทุนเพียง 0.28 บาท/ลิตร โดยจากการทดสอบระดับไร่นาทำให้ทราบว่าใช้สารชีวภัณฑ์ผสมไร่ละ 1,734 ลิตรต่อครั้ง เมื่อคำนวณเป็นเงิน 9,155.52 บาท/ไร่ เติมน้ำเป็นเวลา 3 เดือน จะใช้ต้นทุน 27,466.56 บาท/ไร่ (ตามตารางที่ 11) น้ำหนักอ้อยเข้าหีบของการทดลอง T2 มีน้ำหนัก 22.88 ตัน/ไร่ รัฐบาลประกาศราคารอ้อยฤดูการผลิต 2563/2564 รับในอัตราตันละ 920 บาท ณ ระดับ 10 ซี.ซี.เอส. (รัฐบาลไทย, 2564) ดังนั้นอ้อยชุดการทดลอง T2 จะทำเงินได้ 21,049.60 บาท/ไร่ ซึ่งถือว่าต้นทุนยังมีราคาที่สูง เนื่องจากโดยทั่วไปเกษตรกรจะได้ราคาอ้อยประมาณ 12,000-14,000 บาท/ไร่ ดังนั้นอาจลดต้นทุนโดยการลดปริมาณของหัวเชื้อที่ใช้ลง หรือลดความถี่ในการเติมสารชีวภัณฑ์ อย่างไรก็ตามอาหารโมลลัสยังถือเป็นส่วนผสมราคาถูกลงและมียอดประกอบที่เหมาะสมสำหรับผลิตสารชีวภัณฑ์ต่อไป

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการวิจัย

กลุ่มแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 นำมาผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ผสมสูตรน้ำ เพื่อในการส่งเสริมการเจริญของอ้อยในภาวะแล้งผ่านกระบวนการต่าง ๆ ของแบคทีเรีย ได้แก่ การผลิตแคแทเลส การตรึงไนโตรเจน การสร้างไบโอฟิล์ม การละลายฟอสเฟต การสร้าง IAA และการสร้างซิเดอรโอพอร์ เมื่อนำกลุ่มแบคทีเรียไปใช้ระหว่างการปลูกอ้อยในระดับไร่นา พบว่าอ้อยยังคงรักษาน้ำภายในเซลล์ รักษาการทำงานของเซลล์ เช่น การสังเคราะห์แสงหรือการหายใจได้แม้จะเข้าสู่ภาวะแล้ง และหลังภาวะแล้ง อ้อยยังคงสามารถฟื้นตัวได้ดี นอกจากนี้ยังส่งผลให้ปริมาณน้ำหนัและความยืดยาวของอ้อยเพิ่มมากขึ้นจากชุดควบคุมอีกด้วย จึงนำไปสู่การพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ผสม โดยใช้โหมลาสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญของแบคทีเรีย ส่งผลให้ได้เป็นสารชีวภัณฑ์ผสมที่มีราคาถูกเพื่อจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ เหมาะสำหรับการนำไปใช้เพื่อการเกษตรต่อไป

6.2 ข้อจำกัดในการใช้งานและข้อเสนอแนะ

เนื่องจากงานวิจัยนี้มีระยะเวลาจำกัด ทำให้ผู้วิจัยไม่มีเวลาเพียงพอที่จะแปรผันปริมาณสารชีวภัณฑ์ที่ใช้ หรือศึกษาปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่จะมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการใช้สารชีวภัณฑ์ในอนาคต นอกจากนี้งานวิจัยศึกษาอ้อยในฤดูการปลูก 2563-2564 ซึ่งมีน้ำฝนมากกว่าปกติ อ้อยจึงมีโอกาสเกิดความเครียดต่อภาวะแล้งน้อย

แบคทีเรียที่คัดเลือกมีคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรีย PGPR ด้านต่าง ๆ ในการผลิตสารทุติยภูมิที่มีประโยชน์ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของพืช ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการส่งเสริมการเจริญของพืชทางตรง อย่างไรก็ตามควรศึกษาคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรีย PGPR ทางอ้อมเพิ่มเติมเช่น การทดสอบคุณสมบัติการเป็น Antifungal และ Biopesticide ของกลุ่มแบคทีเรีย เนื่องจากการทดสอบปลูกอ้อยในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ มีปัจจัยทางชีวภาพอื่นมาเกี่ยวข้อง ได้แก่ เชื้อราก่อโรคพืช ปลวก หรือหนอนในดิน หากกลุ่มแบคทีเรียมีความสามารถดังกล่าว จะสามารถลดความเสี่ยงทางชีวภาพและเป็นการช่วยส่งเสริมการเจริญของอ้อยทางอ้อมได้

ปัจจุบันมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของความหนาแน่นและชนิดของจุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืช โดยการทำเมตาจีโนมิกส์ (Metagenomics) (Chaudhary และคณะ, 2021; Gupta และคณะ, 2016) คาดว่าจะสามารถนำมาอธิบายบทบาทของสารชีวภัณฑ์ผสมที่มีผลต่อการเจริญของอ้อย รวมถึงความสัมพันธ์กับกลุ่มแบคทีเรียรอบรากพืชประจำถิ่นได้

งานวิจัยนี้พบว่าสารชีวภัณฑ์มีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตอ้อย และสามารถใช้เป็นต้นแบบเพื่อส่งเสริมให้ผู้ประกอบการ/ชุมชนมีรายได้จากการจำหน่ายผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ผสม นอกจากนี้หากมีการใช้สารชีวภัณฑ์ผสมอย่างแพร่หลาย ยังส่งผลทำให้ปริมาณน้ำหนกอ้อยเข้าหีบเพียงพอต่อความต้องการของโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับประเทศได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามเกษตรกรจำเป็นต้องเติมสารชีวภัณฑ์ปริมาณค่อนข้างมาก ทำให้มีค่าใช้จ่ายต่อไร่สูง จึงควรหาอัตราการใช้สารชีวภัณฑ์ที่น้อยที่สุดระหว่างการปลูกอ้อย และศึกษาปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่อาจจะมีผลต่อประสิทธิภาพของแบคทีเรีย นอกจากนี้จากนี้สารชีวภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นประกอบด้วยแบคทีเรียเท่านั้น ซึ่งการอยู่รอดและการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์บริเวณรากพืชจะอยู่ในขอบเขตที่จำกัด การเตรียมสารชีวภัณฑ์ที่ประกอบด้วยราและแบคทีเรียจะช่วยเพิ่มการกระจายของแบคทีเรียได้ เนื่องจากราจะมีสายใยแผ่กระจายในดินได้เป็นบริเวณกว้าง

สำหรับการนำสารชีวภัณฑ์มาใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ และการส่งเสริมธุรกิจที่ใช้ทรัพยากรจุลินทรีย์ในประเทศ จำเป็นต้องทำการศึกษาวิจัยเพิ่ม เพื่อหาตลาดในการจำหน่ายสารชีวภัณฑ์อื่นๆ และเพิ่มมูลค่าของสารชีวภัณฑ์ ทั้งนี้คาดว่าสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นจะสามารถใช้กับพืชที่มีราคาจำหน่ายสูงแต่ไม่ทนต่อความแห้งแล้ง เช่น ผักสลัด กัญชง ไม้ประดับ และผลไม้เมืองหนาว ได้

บรรณานุกรม

- Agler, M. T., Ruhe, J., Kroll, S., Morhenn, C., Kim, S. T., Weigel, D. and Kemen, E. M. 2016. Microbial hub taxa link host and abiotic factors to plant microbiome variation. *PLOS Biology*. 14(1): e1002352. doi:10.1371/journal.pbio.1002352.
- Ahemad, M. and Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*. 26(1): 1-20. doi:10.1016/j.jksus.2013.05.001.
- Amna, Xia, Y., Farooq, M. A., Javed, M. T., Kamran, M. A., Mukhtar, T., Ali, J., Tabassum, T., Rehman, S. U., Hussain Munis, M. F., Sultan, T. and Chaudhary, H. J. 2020. Multi-stress tolerant PGPR *Bacillus xiamenensis* PM14 activating sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) red rot disease resistance. *Plant Physiology and Biochemistry*. 151: 640-649. doi:10.1016/j.plaphy.2020.04.016.
- Anith, K. N., Vyshakhi, A. S., Viswanathan, A., Varkey, S. and Aswini, S. 2016. Population dynamics and efficiency of coconut water based liquid formulation of *Pseudomonas fluorescens* AMB-8. *Journal of Tropical Agriculture* 54(2): 184-189.
- Arora, N. K. and Mishra, J. 2016. Prospecting the roles of metabolites and additives in future bioformulations for sustainable agriculture. *Applied Soil Ecology*. 107: 405-407. doi:10.1016/j.apsoil.2016.05.020.
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S. and Smith, D. L. 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*. 9: 1473. doi:10.3389/fpls.2018.01473.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S. and Vivanco, J. M. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*. 57: 233-266. doi:10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159.
- Bashan, Y., de-Bashan, L. E., Prabhu, S. R. and Hernandez, J.-P. 2013. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant and Soil*. 378(1-2): 1-33. doi:10.1007/s11104-013-1956-x.
- Begum, M. K., Alam, M. R., Islam, M. S. and Arefin, M. S. 2012. Effect of water stress on physiological characters and juice quality of sugarcane. *Sugar Tech*. 14(2): 161-167.

- Chandra, P., Tripathi, P. and Chandra, A. 2018. Isolation and molecular characterization of plant growth-promoting *Bacillus* spp. and their impact on sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) growth and tolerance towards drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 40(11). doi:10.1007/s11738-018-2770-0.
- Chandra, S., Askari, K. and Kumari, M. 2018. Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 16(2): 581-586. doi:10.1016/j.jgeb.2018.09.001.
- Chantamalee, C. and Luepromchai, E. 2012. Isolation and application of *Gordonia* sp. JC11 for removal of boat lubricants for removal of boat lubricants. *Journal of General and Applied Microbiology*. 58: 19-31.
- Chaudhary, P., Khatri, P., Chaudhary, A., Maithani, D., Kumar, G. and Sharma, A. 2021. Cultivable and metagenomic approach to study the combined impact of nanogypsum and *Pseudomonas taiwanensis* on maize plant health and its rhizospheric microbiome. *PLoS One*. 16(4): e0250574. doi:10.1371/journal.pone.0250574.
- Cipriano, M. A. P., Freitas-Iorio, R. P., Dimitrov, M. R., de Andrade, S. A. L., Kuramae, E. E. and Silveira, A. 2021. Plant-growth endophytic bacteria improve nutrient use efficiency and modulate foliar N-metabolites in sugarcane seedling. *Microorganisms*. 9(3). doi:10.3390/microorganisms9030479.
- Colom, M. R. and Vazzana, C. 2003. Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping lovegrass plants. *Environmental and Experimental Botany*. 49: 135-144. doi:10.1016/S0098-8472(02)00065-5.
- Cominelli, E., Conti, L., Tonelli, C. and Galbiati, M. 2013. Challenges and perspectives to improve crop drought and salinity tolerance. *New Biotechnology*. 30: 355-361. doi:10.1016/j.nbt.2012.11.001.
- da Silva, S. F., Olivares, F. L. and Canellas, L. P. 2017. The biostimulant manufactured using diazotrophic endophytic bacteria and humates is effective to increase sugarcane yield. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 4(1). doi:10.1186/s40538-017-0106-8.
- Denardin, N. D. and Freire, J. R. J. 2000. Assessment of polymers for the formulation of legume inoculants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 16: 215-217.
- Doornbos, R. F., van Loon, L. C. and Bakker, P. A. H. M. 2011. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 32(1): 227-243. doi:10.1007/s13593-011-0028-y.

- Etesami, H. and Maheshwari, D. K. 2018. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 156: 225-246.
doi:10.1016/j.ecoenv.2018.03.013.
- Ferreira, Tsunada, M. S., Bassi, D., Araujo, P., Mattiello, L., Guidelli, G. V., Righetto, G. L., Goncalves, V. R., Lakshmanan, P. and Menossi, M. 2017. Sugarcane water stress tolerance mechanisms and its implications on developing biotechnology solutions. *Frontiers in Plant Science*. 8: 1077.
doi:10.3389/fpls.2017.01077.
- Goldschmidt, E. and Huber, S. C. 1992. Regulation of photosynthesis by end-product accumulation in leaves of plants storing starch, sucrose, and hexose sugars. *Plant Physiology*. 99: 1443-1448.
- Govindarajan, M., Balandreau, J., Muthukumarasamy, R., Revathi, G. and Lakshminarasimhan, C. 2006. Improved yield of micropropagated sugarcane following inoculation by endophytic *Burkholderia vietnamiensis*. *Plant and Soil*. 280: 239-252.
- Greenpeace Thailand. 2017. วิธีการทำปุ๋ยอินทรีย์ต่างๆ. เข้าถึงจาก
<https://www.greenpeace.org/thailand/story/1805/nature-compost/>. เข้าถึงเมื่อ 25 มิถุนายน 2564.
- Gupta, R., Bisaria, V. S. and Sharma, S. 2016. Response of rhizospheric bacterial communities of *Cajanus cajan* to application of bioinoculants and chemical fertilizers: A comparative study. *European Journal of Soil Biology*. 75: 107-114. doi:10.1016/j.ejsobi.2016.02.008.
- Hindersah, R., Setiawati, M. R., Asmiran, P. and Fitriatin, B. N. 2020. Formulation of *Bacillus* and *Azotobacter* consortia in liquid cultures: preliminary research on microbes-coated Urea. *International Journal of Agriculture System*. 8(1). doi:10.20956/ijas.v8i1.2283.
- Jeen-on, S., Manochai, P., Pintaluk, A. and Jarassamrit, N. 2008. Development of fruit quality in “Daw” Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) by mature leaf thinning. *The Journal of Agricultural Science*. 39(3): 1-4.
- Kalayu, G. 2019. Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. *International Journal of Agronomy*. 2019: 1-7. doi:10.1155/2019/4917256.
- Krause, G. H., Somersalo, S., Osmond, C. B., Briantais, J. M. and Schreiber, U. 1989. Fluorescence as a tool in photosynthesis research: application in studies of photoinhibition, cold acclimation and freezing stress. 323: 281-293.

- Kumaresan, G. and Reetha, D. 2011. Survival of *Azospirillum brasilense* in liquid formulation amended with different chemical additives. *Journal of Phytology*. 3(10): 48-51.
- Lee, S. K., Lur, H. S., Lo, K. J., Cheng, K. C., Chuang, C. C., Tang, S. J., Yang, Z. W. and Liu, C. T. 2016. Evaluation of the effects of different liquid inoculant formulations on the survival and plant-growth-promoting efficiency of *Rhodopseudomonas palustris* strain PS3. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 100(18): 7977-7987. doi:10.1007/s00253-016-7582-9.
- Li, C., Nong, Q., Solanki, M. K., Liang, Q., Xie, J., Liu, X., Li, Y., Wang, W., Yang, L. and Lib, Y. 2016. Differential expression profiles and pathways of genes in sugarcane leaf at elongation stage in response to drought stress. *Scientific Reports*. 6: 25698. doi:10.1038/srep25698.
- Li, L., Ye, Y., Pan, L., Zhu, Y., Zheng, S. and Lin, Y. 2009. The induction of trehalose and glycerol in *Saccharomyces cerevisiae* in response to various stresses. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 387(4): 778-783. doi:10.1016/j.bbrc.2009.07.113.
- Lo, K. J., Lee, S. K. and Liu, C. T. 2020. Development of a low-cost culture medium for the rapid production of plant growth-promoting *Rhodopseudomonas palustris* strain PS3. *PLoS One*. 15(7): e0236739. doi:10.1371/journal.pone.0236739.
- Lobo, C. B., Juarez Tomas, M. S., Viruel, E., Ferrero, M. A. and Lucca, M. E. 2019. Development of low-cost formulations of plant growth-promoting bacteria to be used as inoculants in beneficial agricultural technologies. *Microbiology Research*. 219: 12-25. doi:10.1016/j.micres.2018.10.012.
- Louden, B. C., Haarmann, D. and Lynne, A. M. 2011. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology and Biology Education*. 12(1): 51-53. doi:10.1128/jmbe.v12i1.249.
- Maheshwari, D. K., Dubey, R. C., Agarwal, M., Dheeman, S., Aeron, A. and Bajpai, V. K. 2015. Carrier based formulations of biocoenotic consortia of disease suppressive *Pseudomonas aeruginosa* KRP1 and *Bacillus licheniformis* KRB1. *Ecological Engineering* 81(1): 272-277.
- Manimekalai, G. and Kannahi, M. 2018. Evaluation of low cost liquid formulation of PGPR inoculants with protective substances. *International Journal of Recent Scientific Research*. 9(6B): 27330-27335. doi:10.24327/ijrsr.
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G. and Mora, M. L. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 10(3): 293-319. doi:10.4067/S0718-95162010000100006.

- McCormick, A. J., Cramer, M. D. and Watt, D. A. 2008. Regulation of photosynthesis by sugars in sugarcane leaves. *Journal of Plant Physiology*. 165(17): 1817-1829.
doi:10.1016/j.jplph.2008.01.008.
- Mohamed, S. S., Hassan, M. A. and Abdelgani, M. E. 2019. The shelf life of Rhizobial liquid inoculants amended with different polymeric additives. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 13(11). doi:10.22587/ajbas.2019.13.11.4.
- Mounika, N., Muralidhara, R. D., Uma, A., Sandhya, V. and Ali, S. K. Z. 2017. Simple and effective method for development of longer shelf life liquid formulation with *Azospirillum brasilense* strain Asp-7. *Asian Journal of Advanced Basic Sciences*. 5(2): 127-135.
- Moutia, J. F. Y., Saumtally, S., Spaepen, S. and Vanderleyden, J. 2010. Plant growth promotion by *Azospirillum* sp. in sugarcane is influenced by genotype and drought stress. *Plant and Soil*. 337: 233-242. doi:10.1007/s11104-010-0519-7.
- Myo, E. M., Ge, B., Ma, J., Cui, H., Liu, B., Shi, L., Jiang, M. and Zhang, K. 2019. Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces fradiae* NKZ-259 and its formulation to enhance plant growth. *BMC Microbiology*. 19(1): 155. doi:10.1186/s12866-019-1528-1.
- Neneng, P. 2020. Formulation of liquid biofertilizer for enhance of soil nutrients in Peatland. *Budapest International Research in Exact Science (BirEx) Journal*. 2(3): 314-322.
- Ngumbi, E. and Kloepper, J. 2016. Bacterial-mediated drought tolerance: Current and future prospects. *Applied Soil Ecology*. 105: 109-125. doi:10.1016/j.apsoil.2016.04.009.
- Nguyen, T. H., Phan, T. C., Choudhury, A. T. M. A., Rose, M. T., Deaker, R. J. and Kennedy, I. R. 2017. BioGro: A Plant Growth-Promoting Biofertilizer Validated by 15 Years' Research from Laboratory Selection to Rice Farmer's Fields of the Mekong Delta. In *Agro-Environmental Sustainability* (pp. 237-254).
- Nikodinovic-Runic, J., Guzik, M., Kenny, S. R., Babu, R., Werker, A. and Connor, K. E. O. 2013. Carbon-rich wastes as feedstocks for biodegradable polymer (polyhydroxyalkanoate) production using bacteria. In *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 84, pp. 139-200).
- Pande, A., Pandey, P., Mehra, S., Singh, M. and Kaushik, S. 2017. Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 15(2): 379-391. doi:10.1016/j.jgeb.2017.06.005.

- Pastor-Bueis, R., Mulas, R., Gómez, X. and González-Andrés, F. 2017. Innovative liquid formulation of digestates for producing a biofertilizer based on *Bacillus siamensis*: field testing on sweet pepper. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 180(6): 748-758.
doi:doi.org/10.1002/jpln.201700200.
- Patel, P., Shah, R., Joshi, B., Ramar, K. and Natarajan, A. 2019. Molecular identification and biocontrol activity of sugarcane rhizosphere bacteria against red rot pathogen *Colletotrichum falcatum*. *Biotechnology Report*. 21: e00317. doi:10.1016/j.btre.2019.e00317.
- Paul, D. and Sinha, S. N. 2013. Phosphate solubilizing activity of some bacterial strains isolated from jute mill effluent exposed water of river Ganga. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*. 3(3): 39-45.
- Pereira, N. C. M., Galindo, F. S., Gazola, R. P. D., Dupas, E., Rosa, P. A. L., Mortinho, E. S. and Filho, M. C. M. T. 2020. Corn yield and phosphorus use efficiency response to phosphorus rates associated with plant growth promoting bacteria. *Frontiers in Environmental Science*. 8.
doi:10.3389/fenvs.2020.00040.
- Premachandra, D., Hudek, L. and Brau, L. 2016. Bacterial modes of action for enhancing of plant growth. *Journal of Biotechnology & Biomaterials*. 6(3). doi:10.4172/2155-952x.1000236.
- Qiu, Egidi, E., Liu, H., Kaur, S. and Singh, B. K. 2019. New frontiers in agriculture productivity: Optimised microbial inoculants and in situ microbiome engineering. *Biotechnology Advances*. 37(6): 107371.
doi:10.1016/j.biotechadv.2019.03.010.
- Ricci, E., Schwinghamer, T., Fan, D., Smith, D. L. and Gravel, V. 2019. Growth promotion of greenhouse tomatoes with *Pseudomonas* sp. and *Bacillus* sp. biofilms and planktonic cells. *Applied Soil Ecology*. 138: 61-68. doi:10.1016/j.apsoil.2019.02.009.
- Richardson, A. E. and Simpson, R. J. 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant Physiology*. 156(3): 989-996. doi:10.1104/pp.111.175448.
- Rodrigues, A. A., Forzani, M. V., Soares, R. d. S., Sibov, S. T. and Vieira, J. D. G. 2016. Isolation and selection of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 46(2): 149-158. doi:10.1590/1983-40632016v4639526.
- Rosa, P. A. L., Mortinho, E. S., Jalal, A., Galindo, F. S., Buzetti, S., Fernandes, G. C., Barco Neto, M., Pavinato, P. S. and Teixeira Filho, M. C. M. 2020. Inoculation with growth-promoting bacteria

- associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. *Frontiers in Environmental Science*. 8. doi:10.3389/fenvs.2020.00032.
- Santos, R. M., Kandasamy, S. and Rigobelo, E. C. 2018. Sugarcane growth and nutrition levels are differentially affected by the application of PGPR and cane waste. *Microbiologyopen*. 7(6): e00617. doi:10.1002/mbo3.617.
- Serraj, R. and Sinclair, T. R. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, Cell and Environment*. 25: 333-341.
- Silva, M. d. A., Pincelli, R. P. and Barbosa, A. d. M. 2018. Water stress effects on chlorophyll fluorescence and chlorophyll content in sugarcane cultivars with contrasting tolerance. *Bioscience Journal*: 75-87. doi:10.14393/BJ-v34n1a2018-36570.
- Singh, R. P. and Jha, P. N. 2015. Plant growth promoting potential of ACC deaminase rhizospheric bacteria isolated from *Aerva javanica*: A plant adapted to saline environments. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 4(7): 142-152.
- Sipahutar, M. K., Piapukiew, J. and Vangnai, A. S. 2018. Efficiency of the formulated plant-growth promoting *Pseudomonas fluorescens* MC46 inoculant on triclocarban treatment in soil and its effect on *Vigna radiata* growth and soil enzyme activities. *Journal of Hazardous Materials*. 344: 883-892. doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.11.046.
- Smith, D. M., Inman-Bamber, N. G. and Thorburn, P. J. 2005. Growth and function of the sugarcane root system. *Field Crops Research*. 92(2-3): 169-183. doi:10.1016/j.fcr.2005.01.017.
- Somers, E., Vanderleyden, J. and Srinivasan, M. 2004. Rhizosphere bacterial signalling: A love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology*. 30(4): 205-240. doi:10.1080/10408410490468786.
- Souza, R., Ambrosini, A. and Passaglia, L. M. 2015. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics Molecular Biology*. 38(4): 401-419. doi:10.1590/S1415-475738420150053.
- Sridhar, V., Brahmaprakash, G. P. and Hegde, S. V. 2004. Development of a liquid inoculant using osmoprotectants for phosphate solubilizing bacterium (*Bacillus megaterium*). *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*. 17(2): 251-257.

- Tittabutr, P., Payakapong, W., Teaumroong, N., Singleton, P. W. and Boonkerd, N. 2007. Growth, Survival and field performance of bradyrhizobial liquid inoculant formulations with polymeric additives. *ScienceAsia*. 33(1). doi:10.2306/scienceasia1513-1874.2007.33.069.
- Tripti, Kumar, A., Usmani, Z., Kumar, V. and Anshumali. 2017. Biochar and flyash inoculated with plant growth promoting rhizobacteria act as potential biofertilizer for luxuriant growth and yield of tomato plant. *Journal of Environmental Management* 190: 20-27.
- Trivedi, P., Schenk, P. M., Wallenstein, M. D. and Singh, B. K. 2017. Tiny microbes, big yields: enhancing food crop production with biological solutions. *Microbial Biotechnology*. 10(5): 999-1003. doi:10.1111/1751-7915.12804.
- Usmani, Z., Kumar, V., Gupta, P., Gupta, G., Rani, R. and Chandra, A. 2019. Enhanced soil fertility, plant growth promotion and microbial enzymatic activities of vermicomposted fly ash. *Scientific Reports*. 9(1): 10455. doi:10.1038/s41598-019-46821-5.
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moenne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dye, F. and Prigent-Combaret, C. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science*. 4: 356. doi:10.3389/fpls.2013.00356.
- Vardharajula, S., Zulfikar Ali, S., Grover, M., Reddy, G. and Bandi, V. 2011. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Journal of Plant Interactions*. 6(1): 1-14. doi:10.1080/17429145.2010.535178.
- Vital, C. E., Giordano, A., de Almeida Soares, E., Rhys Williams, T. C., Mesquita, R. O., Vidigal, P. M. P., de Santana Lopes, A., Pacheco, T. G., Rogalski, M., de Oliveira Ramos, H. J. and Loureiro, M. E. 2017. An integrative overview of the molecular and physiological responses of sugarcane under drought conditions. *Plant Molecular Biology*. 94(6): 577-594. doi:10.1007/s11103-017-0611-y.
- Vurukonda, S. S., Vardharajula, S., Shrivastava, M. and Sk, Z. A. 2016. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiology Research*. 184: 13-24. doi:10.1016/j.micres.2015.12.003.
- Wang, C., Wang, H., Li, Y., Li, Q., Yan, W., Zhang, Y., Wu, Z. and Zhou, Q. 2021. Plant growth-promoting rhizobacteria isolation from rhizosphere of submerged macrophytes and their growth-promoting effect on *Vallisneria natans* under high sediment organic matter load. *Microbiology Biotechnology*. 14(2): 726-736. doi:10.1111/1751-7915.13756.

- Xu, S., Bai, Z., Jin, B., Xiao, R. and Zhuang, G. 2014. Bioconversion of wastewater from sweet potato starch production to *Paenibacillus polymyxa* biofertilizer for tea plants. Scientific Reports. 4: 4131. doi:10.1038/srep04131.
- Yasmin, H., Nosheen, A., Naz, R., Bano, A. and Keyani, R. 2017. l-tryptophan-assisted PGPR-mediated induction of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). Journal of Plant Interactions. 12(1): 567-578. doi:10.1080/17429145.2017.1402212.
- You, J. and Chan, Z. 2015. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. Frontiers in Plant Science. 6: 1092. doi:10.3389/fpls.2015.01092.
- Zahari, M. W. and Alimon, A. R. 2003. Use of palm kernel cake and oil palm by-products in compound feed. Palm Oil Developments. 40: 1-9.
- Zhang, H., Liu, Y. and Wang, G. 2019. Integrated use of maize bran residue for one-step phosphate bio-fertilizer production. Applied Microbiology and Biotechnology. 187(4): 1475-1487. doi:10.1007/s12010-018-2874-4.
- เกษม สุขสถาน. 2523. อ้อย. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว เล่ม 5. กรุงเทพฯ. หน้า 65-107.
- เอกวัล ลือพร้อมชัย. 2563. การเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- โชคชัย วนภู. 2556. การพัฒนาหัวเชื้อ PGPR เพื่อการเก็บรักษาระยะยาว (Development of PGPR inoculum for long shelf-life). เข้าถึงจาก http://ird.sut.ac.th/ird_engine/view_detail.php?mode=research&id=138. เข้าถึงเมื่อ 21 มกราคม 2562.
- กาญจนา กิระศักดิ์, ทักษิณา ศันสยะวิชัย วีระพล พลรัตน์ และอัมรารวรรณ ทิพย์วัฒน์. 2558. การวัดค่าความหวานของอ้อยด้วยแสงย่านใกล้อินฟราเรด. วารสารวิชาการเกษตร. 33(2): 159-168.
- ธนากร แสงสง่า. 2557. พีจีอาร์: บทบาทในการส่งเสริมและป้องกันพืชภายใต้สภาวะเครียด. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี: 553-570.
- นุชจรินทร์ พึ่งพา และอรรถสิทธิ์ บุญธรรม. (2555). การศึกษาปริมาณน้ำที่เหมาะสมในแต่ละช่วงของอายุการเจริญเติบโตของอ้อย. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9 “ตามรอยพระยุคลบาท เกษตรศาสตร์กำแพงแสน” ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ระหว่างวันที่ 6-7 ธันวาคม พ.ศ. 2555. 2241-2247.
- ผู้จัดการออนไลน์. 2563. เปิดผลผลิตอ้อยและน้ำตาลทรายไทยต่ำสุดในรอบ 10 ปี ภัยแล้งยังกระทบต่อ. เข้าถึงจาก <https://mgronline.com/business/detail/9630000035249>. เข้าถึงเมื่อ 20 กุมภาพันธ์ 2564.

- มิตรผลโมเดิร์นฟาร์ม. 2563. น้ำจากฝนเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของอ้อยหรือไม่. เข้าถึงจาก <http://www.mitrpholmodernfarm.com/news>. เข้าถึงเมื่อ 20 กุมภาพันธ์ 2564.
- รัฐบาลไทย. 2564. การประชุมคณะรัฐมนตรี วันที่ 23 กุมภาพันธ์ 2564. เข้าถึงจาก <https://www.thaigov.go.th/news/contents/details/39334>.
- พระราชบัญญัติ ปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2550, (2551, 11 มกราคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 7 ตอนที่ 125. หน้า 1-29.
- สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2562. รายงานการผลิตอ้อยและน้ำตาลทรายประจำวัน ปีการผลิต 2561/62. เข้าถึงจาก <http://www.ocsb.go.th/th/home/index.php>. เข้าถึงเมื่อ 20 กุมภาพันธ์ 2562.
- สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2563. รายงานการผลิตอ้อยและน้ำตาลทรายประจำวัน ปีการผลิต 2562/63. เข้าถึงจาก <http://www.ocsb.go.th/th/cms/detail.php?ID=923&SystemModuleKey=journal>. เข้าถึงเมื่อ 23 กุมภาพันธ์ 2563.
- สุภาลัย อารีรักษ์ และสิริวัฒน์ สาครวาสี. 2563. การวิเคราะห์ทางสรีรวิทยาและการแสดงออกของยีนในมะเขือเทศ ที่ได้รับสารแคลเซียมซิลิเกตภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 37(2): 12-24.

ภาคผนวก

สรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 1 หน้ากระดาษ A4 สำหรับประชาสัมพันธ์

1. ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต: การศึกษาระดับไร่นา
(ภาษาอังกฤษ) Enhancement of drought tolerant in sugarcane by growth promoting bacteria: A field study
2. ชื่อ-นามสกุล นักวิจัย รศ.ดร. เอกวัล ลือพร้อมชัย
Assoc. prof. Ekawan Luepromchai
3. ที่อยู่ติดต่อได้ โทรศัพท์ 0851595213 โทรสาร 022527576 E-mail: ekawan.l@chula.ac.th
4. ชื่อหน่วยงาน ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 10330
5. ปี พ.ศ. ที่ดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2565
6. คำค้น Key word (ภาษาไทย) สารชีวภัณฑ์, แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต, ต้นอ้อย, ภาวะแล้ง
(ภาษาอังกฤษ) Bioinoculant, Plant growth promoting rhizobacteria, Sugarcane, Drought
6. รูปภาพ ที่สำคัญเกี่ยวกับผลการวิจัย สามารถแยกไฟล์ หรือ ใส่รวมไว้ในเนื้อหา

7. คำอธิบาย 1 หน้ากระดาษเอ 4 Font Tahama ขนาด 10 pt แบบ regular

อ้อย เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถใช้เป็นส่วนตั้งต้นในการผลิตน้ำตาล เอทานอล และเชื้อเพลิง แต่เนื่องจากอ้อยในประเทศไทยส่วนใหญ่อยู่นอกเขตชลประทาน จึงต้องอาศัยน้ำจากน้ำฝนเป็นหลักในการเจริญเติบโต ทำให้เมื่อเกิดภาวะแล้ง อ้อยที่อยู่นอกเขตชลประทานจะเกิดภาวะขาดน้ำ ส่งผลให้ผลผลิตของอ้อยลดลง ปริมาณอ้อยเข้าหีบไม่เพียงพอต่อความต้องการของโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งภาวะขาดน้ำส่งผลให้เกิดความเครียดในพืช นำไปสู่การเปลี่ยนทางสรีรวิทยา และมีการปรับเปลี่ยนการเจริญเติบโตเพื่อปรับตัวให้เข้ากับปริมาณน้ำที่ได้รับ เพื่อให้มีชีวิตรอดและยังสามารถเจริญภายใต้ภาวะเครียด เช่น ลดการหายใจ ลดขนาดพื้นที่ใบ หรือลดการสังเคราะห์แสง เป็นต้น ถึงแม้ว่าพืชจะมีการปรับตัวเมื่อเข้าสู่ภาวะแล้งแล้ว การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช หรือแบคทีเรีย PGPR ก็สามารถช่วยลดความเครียดที่เกิดจากความแล้งในพืชได้ โดย PGPR ช่วยเพิ่มการเจริญและความทนแล้งผ่านกระบวนการต่าง ๆ ได้แก่ การผลิตฮอร์โมนพืช เช่น การผลิต IAA ช่วยยืดความยาวรากเพื่อให้ดูดซึมน้ำและธาตุอาหารได้ดีมากขึ้น หรือผลิตสารต่าง ๆ เพื่อเปลี่ยนสารให้อยู่ในรูปที่สามารถนำไปใช้ได้ เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงคัดเลือกแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *Bacillus thuringiensis* B2, *Bacillus stratophericus* L19, *Bacillus altitudinis* T17 และ *Weissella cibaria* PN3 มาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ผสม ซึ่งเมื่อทดสอบคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชในด้านต่าง ๆ พบว่าแบคทีเรียแต่ละชนิดมีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืชแตกต่างกัน และเมื่อรวมกลุ่มแบคทีเรียเข้าด้วยกันจะมีการเสริมฤทธิ์กันของแบคทีเรีย ทำให้มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญของพืชเพิ่มมากขึ้น และเพื่อยืนยันถึงประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ผสม ผู้วิจัยจึงนำสารชีวภัณฑ์ผสมทดสอบกับต้นอ้อยที่ปลูกในบ่อปูนซีเมนต์ โดยเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่เติมแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่เติมเพียงวัสดุพา และชุดการทดลองที่เติมกลุ่มแบคทีเรียชนิดอื่น ระหว่างการทดลองมีการเติมสารชีวภัณฑ์ในแต่ละเดือนเพิ่มเติมปริมาณ 1 ลิตรต่อบ่อ เก็บตัวอย่างดินและวัดความชื้นภายในดิน จากการเก็บตัวอย่างดินและนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี MPN พบว่าจำนวนแบคทีเรียมีจำนวนลดลงตามเวลาเล็กน้อย ปริมาณจุลินทรีย์ที่อยู่ในดินภายหลังการปลูก 7 เดือน มีจำนวนสูงถึง 9.03 log CFU/กรัมดิน ดังนั้นปริมาณที่เติมเข้าไปอาจจะเป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการคงอยู่ของแบคทีเรีย นอกจากนี้ จากผลการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในระยะสร้างน้ำตาลของแบคทีเรียโดยการจำลองภาวะแล้ง พบว่าชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์ผสมสามารถรักษาปริมาณน้ำสัมพันธ์ภายในใบได้ สามารถวัดค่าดัชนีพื้นที่ใบที่บ่งบอกถึงความสามารถในการรับแสงได้มากที่สุด และสามารถรักษาค่า Fv/Fm ที่บ่งบอกความสามารถในการสังเคราะห์แสงได้มากที่สุดแม้จะอยู่ในภาวะแล้ง นอกจากนี้ต้นอ้อยยังสามารถฟื้นตัวได้เมื่อมีการให้น้ำดังจะเห็นได้จากความสามารถในการสังเคราะห์แสงที่อยู่ในเกณฑ์ปกติ และค่า CSWI ซึ่งวัดค่าอุณหภูมิที่ผิวใบสามารถใช้ในการบ่งชี้ภาวะเครียดในพืช ผลวิเคราะห์พบว่าพืชไม่มีความเครียด ภายหลังการเก็บเกี่ยว ผู้วิจัยได้วัดการเจริญเติบโตของอ้อยพบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสม มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบ ความสูงของต้นอ้อย ความยาวของปล้องอ้อย น้ำหนักปล้องอ้อย และขนาดลำอ้อยมีค่ามากกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมสารชีวภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเท่ากับ 19.04 ต้นต่อไร่ และมีระดับความหวานเท่ากับ 11.93 ซี.ซี.เอส. ซึ่งมากกว่าปริมาณที่รัฐบาลกำหนดไว้ จะเห็นได้ว่าการใช้สารชีวภัณฑ์ผสมสามารถทำให้อ้อยเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์ จากนั้นผู้วิจัยจึงขยายการทดสอบการใช้สารชีวภัณฑ์ต่ออ้อยโดยการทดสอบในระดับไรนา โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็นชุดการทดลองที่ไม่เติมแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสม และชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ผสมร่วมกับวัสดุตรึง เริ่มการทดสอบโดยการตรึงแบคทีเรียที่ท่อนพันธุ์อ้อย หลังฝังกลบดินเติมสารชีวภัณฑ์เพิ่มเติมแปลงเดือนละ 65 ลิตร เป็นเวลา 3 เดือนตลอดการทดลองมีการเก็บตัวอย่างดินเพื่อบ่งชี้จำนวนจุลินทรีย์พบว่าจุลินทรีย์ใน 3 เดือนแรก ไม่แตกต่างจากเดือนที่ 6 ที่ไม่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ ดังนั้นปริมาณที่เติมอาจเป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการเติมสารชีวภัณฑ์ลงดินและคงอยู่ภายในดิน เมื่อพิจารณาถึงจำนวนหน่อที่เกิดในเดือนที่สองจากการแตกกอของต้นอ้อย ชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์และชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ร่วมกับวัสดุตรึง มีจำนวนหน่อเกิดขึ้นมากกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติมแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญ ($T_1 = 6,982.18$, $T_2 = 8,322.60$ และ $T_3 = 8,702.72$ หน่อต่อไร่) เมื่อถึงระยะเวลาการเก็บเกี่ยวพบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารชีวภัณฑ์ อ้อยมีการเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ ดี โดยชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์เท่านั้น (T_2) และชุดการทดลองที่เติมสารชีวภัณฑ์และวัสดุพา (T_3) มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ย 22.88 และ 21.05 ต้นต่อไร่ ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองที่ไม่เติมสารชีวภัณฑ์ที่มีน้ำหนักอ้อยเข้าหีบเฉลี่ย 17.83 ต้นต่อไร่ โดยอ้อยมีคุณภาพดีและมีค่าความหวานอยู่ในปริมาณที่รัฐบาลกำหนด นอกจากนี้พบว่าสามารถใช้อาหารโมลาสเพาะเลี้ยงแบคทีเรียให้เจริญเติบโต ตามเกณฑ์ของหัวเชื้อแบคทีเรียเชิงพาณิชย์ได้ (8.39 - 9.09 log CFU ต่อมิลลิลิตร) โดยสามารถนำโมลาสผสมกับ PEG6000 ไปใช้เตรียมหัวเชื้อชีวภาพที่มีการเก็บรักษายาวนานเพื่อการจำหน่าย ซึ่งจะมีต้นทุน 5.21 บาทต่อลิตร และใช้โมลาสอย่างเดียวเพื่อการขยายหัวเชื้อสำหรับใช้ระหว่างการปลูกอ้อย ซึ่งจะมีต้นทุนเพียง 0.28 บาทต่อลิตร ดังนั้นสารชีวภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้เพื่อเพิ่มผลผลิตของอ้อยได้ แต่ควรหาวิธีการใช้สารชีวภัณฑ์ที่น้อยที่สุดระหว่างการปลูกอ้อย เพื่อลดค่าใช้จ่ายต่อไป

สรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 5 บรรทัด

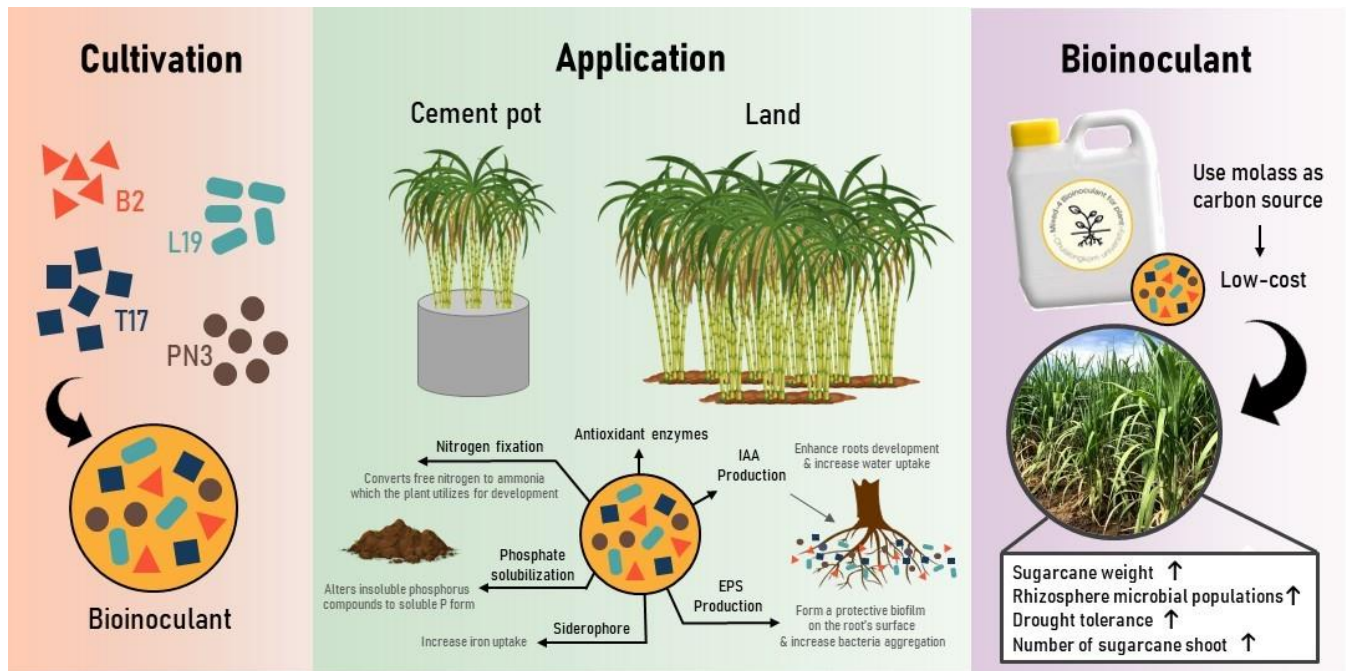
สำหรับเผยแพร่ในระบบ EXPLORE ผ่านทางเว็บไซต์ www.thai-explore.net ประกอบด้วย

1. ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต: การศึกษาระดับไร่นา
(ภาษาอังกฤษ) Enhancement of drought tolerant in sugarcane by growth promoting bacteria: A field study
2. ชื่อ-นามสกุล นักวิจัย รศ.ดร. เอกวัล ลือพร้อมชัย
Assoc. prof. Ekawan Luepromchai
3. ที่อยู่ติดต่อได้ โทรศัพท์ 0851595213 โทรสาร 022527576 E-mail: ekawan.l@chula.ac.th
4. ชื่อหน่วยงาน ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 10330
5. ปี พ.ศ. ที่ดำเนินการเสร็จ พ.ศ. 2565
6. คำค้น Key word (ภาษาไทย) สารชีวภัณฑ์, แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต, ต้นอ้อย, ภาวะแล้ง
(ภาษาอังกฤษ) Bioinoculant, Plant growth promoting rhizobacteria, Sugarcane, Drought
7. รูปภาพ ที่สำคัญเกี่ยวกับผลการวิจัย สามารถแยกไฟล์ หรือ ใส่รวมไว้ในเนื้อหา
8. คำอธิบาย

งานวิจัยนี้คัดเลือกกลุ่มแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช 4 ชนิด นำมาผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ผสมสูตรน้ำ เพื่อใช้ในการส่งเสริมการเจริญของอ้อยในภาวะแล้ง ผ่านกระบวนการต่าง ๆ ของแบคทีเรีย เมื่อนำกลุ่มแบคทีเรียไปใช้ระหว่างการปลูกอ้อยในระดับไร่นา พบว่าอ้อยยังคงรักษาการทำงานในเซลล์ สามารถเจริญเติบโตได้แม้เข้าสู่ภาวะแล้ง นอกจากนี้ยังส่งผลให้อ้อยมีน้ำหนักและความสูงเพิ่มมากขึ้น จึงนำไปสู่การพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ผสม ที่มีการใช้โมลาสเป็นแหล่งอาหารในการเจริญของแบคทีเรีย ส่งผลให้สามารถผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ผสมที่มีราคาถูกเพื่อจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ เหมาะสำหรับการนำไปใช้เพื่อการเกษตรต่อไป

9. ให้นำเข้าข้อมูลสรุปผลงานวิจัย/โครงการวิจัย 5 บรรทัด ในระบบ EXPLORE ผ่านทางเว็บไซต์ www.thai-explore.net

รายงานวิจัยในรูปแบบ info graphic



การเสริมสร้างความทนทานต่อภาวะแห้งแล้งของอ้อยด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโต: การศึกษาระดับไร่นา

Enhancement of drought tolerant in sugarcane by growth promoting bacteria: A field study

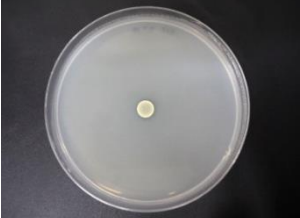
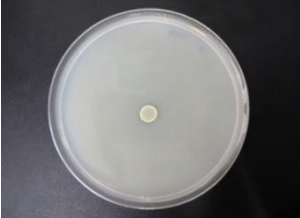
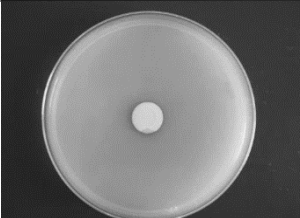
สอบถามข้อมูลเพิ่มเติมได้ที่ - อ.ดร. บุญลือ คณะเกษตรศาสตร์ คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล boonlue.kac@mahidol.ac.th
- รศ.ดร. เอกวิทย์ ลิ้มพร้อมชัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ekawan.l@chula.ac.th

ภาคผนวก ที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

ภาคผนวก ก.

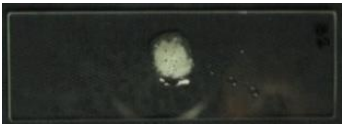
ผลการทดสอบการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช

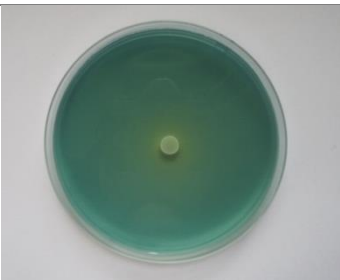
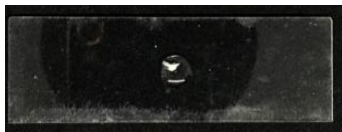
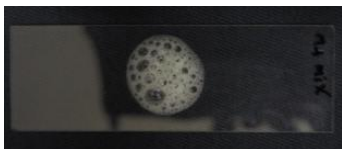
ตารางที่ ก.1 ผลการทดสอบคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรีย

แบคทีเรีย	ลักษณะการเจริญบน PVK	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มม.)			เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มม.)			ค่า SI ± SD
		1	2	3	1	2	3	
<i>Bacillus thuringiensis</i> B2		8.33	7.00	8.00	10.33	12.67	10.00	2.43 ± 0.33
<i>Bacillus altitudinis</i> T17		8.00	8.33	8.00	0.00	0.00	0.00	1.00 ± 0.00
<i>Bacillus stratosphericus</i> L19		8.00	8.00	8.00	9.00	9.00	9.00	2.13 ± 0.00
<i>Weissella cibaria</i> PN3		14.33	12.33	14.67	17.00	16.00	19.67	2.27 ± 0.08
แบคทีเรียผสม B2, T17, L19 และ PN3		9.67	10.33	8.00	10.33	15.00	11.67	2.29 ± 0.51

แบคทีเรีย	ลักษณะการเจริญบน PVK	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มม.)			เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มม.)			ค่า SI ± SD
		1	2	3	1	2	3	
กลุ่มแบคทีเรีย M4		9.33	9.67	9.67	17.33	16.67	17.00	2.78 ± 0.07

ตารางที่ ก.2 ผลการทดสอบคุณสมบัติในการตรึงไนโตรเจนและการสร้างแคแทเลส

แบคทีเรีย	ลักษณะการเจริญบนอาหาร N-Free	ระดับ การตรึง ไนโตรเจน	ลักษณะการเกิดฟอง ในการทดสอบแคแทเลส	ระดับ การเกิด แคแทเลส
<i>Bacillus thuringiensis</i> B2		++		++
<i>Bacillus altitudinis</i> T17		+		+++
<i>Bacillus stratosphericus</i> L19		+		+++

แบคทีเรีย	ลักษณะการเจริญบนอาหาร N-Free	ระดับการตรึงไนโตรเจน	ลักษณะการเกิดฟองในการทดสอบแคแทเลส	ระดับการเกิดแคแทเลส
<i>Weissella cibaria</i> PN3		-		-
แบคทีเรียผสม B2, T17, L19 และ PN3		+++		+++
กลุ่มแบคทีเรีย M4		+++		+++

*เกณฑ์การให้คะแนนระดับการตรึงไนโตรเจน

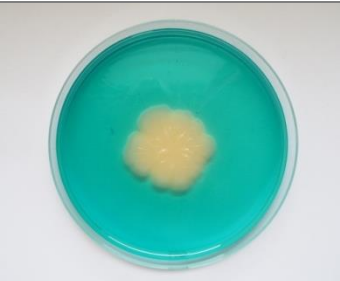
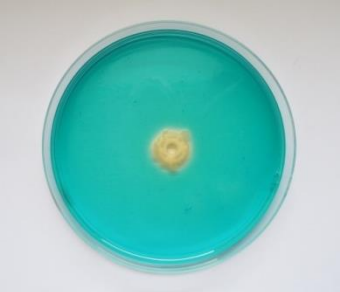
- หมายถึง แบคทีเรียไม่เจริญบนอาหาร N-free
- + หมายถึง แบคทีเรียมีการเจริญบนอาหาร N-free และเปลี่ยนสีโคโลนีเป็นสีเหลือง
- ++ หมายถึง แบคทีเรียมีการเจริญบนอาหาร N-free เปลี่ยนสีโคโลนีเป็นสีเหลือง และเปลี่ยนสีอาหารจากสีฟ้าเป็นสีเหลือง โดยวัดจากขอบโคโลนีไม่เกิน 5 มิลลิเมตร
- +++ หมายถึง แบคทีเรียมีการเจริญบนอาหาร N-free เปลี่ยนสีโคโลนีเป็นสีเหลือง และเปลี่ยนสีอาหารจากสีฟ้าเป็นสีเหลือง โดยวัดจากขอบโคโลนีเกิน 5 มิลลิเมตร

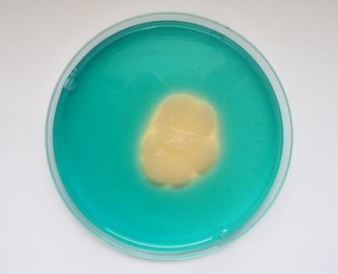
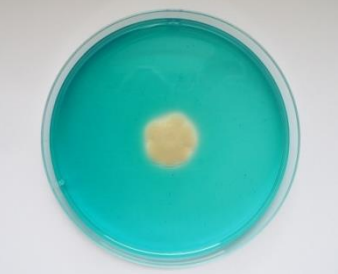
ตารางที่ ก.3 ผลการทดสอบคุณสมบัติในสร้างไบโอฟิล์ม

แบคทีเรีย	OD ₆₀₆			%EPS			ค่าเฉลี่ย	S.D.
	1	2	3	1	2	3		
Control	0.565	0.577	0.571					

<i>Bacillus thuringiensis</i> B2	0.04	0.013	0.011	92.995	97.723	98.074	95.359	2.537
<i>Bacillus altitudinis</i> T17	0.045	0.072	0.057	92.119	87.391	90.018	89.755	2.119
<i>Bacillus stratosphericus</i> L19	0.025	0.016	0.030	95.622	97.198	94.746	96.410	1.111
<i>Weissella cibaria</i> PN3	0.042	0.081	0.028	92.644	85.814	95.096	89.229	4.302
แบคทีเรียผสม B2, T17, L19 และ PN3	0.084	0.035	0.026	85.289	93.870	95.447	89.580	4.889
กลุ่มแบคทีเรีย M4	0.012	0.028	0.02	97.898	95.096	96.497	96.497	1.253

ตารางที่ ก.4 ผลการทดสอบคุณสมบัติการสร้างซิติเตอร์โฟร์

แบคทีเรีย	ลักษณะการเจริญบน CAS	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเหลือง (มม.)			
		1	2	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน
<i>Bacillus thuringiensis</i> B2		7.33	8.00	7.67	0.47
<i>Bacillus altitudinis</i> T17		15.00	15.67	15.34	0.47

แบคทีเรีย	ลักษณะการเจริญบน CAS	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเหลือง (มม.)			
		1	2	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน
<i>Bacillus stratosphericus</i> L19		13.00	13.33	13.17	0.23
<i>Weissella cibaria</i> PN3		7.00	7.67	7.34	0.47
แบคทีเรียผสม B2, T17, L19 และ PN3		28.67	31.33	30.00	1.88
กลุ่มแบคทีเรีย M4		19.00	17.67	18.34	0.94

ตารางที่ ก.5 ผลการทดสอบสมบัติในการผลิต IAA

แบคทีเรีย	OD ₅₃₀			ปริมาณ IAA ($\mu\text{g mL}^{-1}$)				
	1	2	3	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	S.D.
<i>Bacillus thuringiensis</i> B2	0.512	0.527	0.435	10.779	11.350	7.852	9.994	1.679

<i>Bacillus altitudinis</i> T17	0.475	0.474	0.452	9.373	9.335	8.498	9.068	0.442
<i>Bacillus stratosphericus</i> L19	0.378	0.355	0.390	5.684	4.810	6.141	5.545	0.605
<i>Weissella cibaria</i> PN3	0.422	0.401	0.422	7.357	6.559	7.357	7.091	0.412
แบคทีเรียผสม B2, T17, L19 และ PN3	1.951	2.306	2.530	65.494	78.992	87.510	77.332	9.929
กลุ่มแบคทีเรีย M4	2.677	2.841	2.685	93.099	99.335	93.403	95.279	3.145

ภาคผนวก ข.

ผลการทดสอบการทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของอ้อยในสภาวะแล้ง ในระดับปอปลูก

ตารางที่ ข.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในดินรอบรากอ้อยจากการทดสอบการเจริญของอ้อยในบ่อปลูก

เดือน	ชุดการทดลอง	จำนวนจุลินทรีย์ (log MPN/กรัมของดิน)				
		1	2	3	ค่าเฉลี่ย	S.D.
0	T1	8.38	8.66	9.38	8.81	0.52
	T2	8.38	8.66	8.66	8.57	0.16
	T3	10.66	11.38	10.97	11.00	0.36
	T4	10.38	11.04	10.66	10.69	0.33
3	T1	8.66	9.66	8.66	8.99	0.58
	T2	9.18	8.38	9.32	8.96	0.51
	T3	9.04	9.66	9.66	9.45	0.36
	T4	9.04	8.66	9.04	8.91	0.22
5	T1	9.18	8.66	9.38	9.07	0.37
	T2	8.66	9.04	9.38	9.03	0.36
	T3	9.66	9.38	9.66	9.57	0.16
	T4	9.66	9.04	10.04	9.58	0.50
6	T1	8.38	8.38	9.04	8.60	0.38
	T2	8.66	8.66	8.66	8.66	0.00
	T3	9.04	9.04	9.04	9.04	0.00
	T4	8.66	8.66	8.66	8.66	0.00
7	T1	8.24	8.16	8.38	8.26	0.11
	T2	8.66	8.66	9.04	8.79	0.22
	T3	8.66	9.04	9.38	9.03	0.36
	T4	9.04	9.38	8.80	9.07	0.29

ตารางที่ ข.2 จำนวนแบคทีเรียทนแล้งในดินรอบรากอ้อยจากการทดสอบการเจริญของอ้อยในบ่อปลูก

เดือน	ชุดการทดลอง	จำนวนแบคทีเรียทนแล้ง (log MPN/กรัมของดิน)				
		1	2	3	ค่าเฉลี่ย	S.D.
0	T1	7.97	9.38	7.97	8.44	0.81

	T2	8.38	9.04	8.66	8.69	0.33
	T3	10.38	10.38	9.18	9.98	0.69
	T4	10.66	10.04	9.66	10.12	0.50
3	T1	9.04	8.66	8.66	8.79	0.22
	T2	8.66	8.66	9.66	8.99	0.58
	T3	9.38	8.38	9.04	8.93	0.51
	T4	8.38	8.66	9.04	8.69	0.33
5	T1	8.66	8.66	8.66	8.66	0.00
	T2	8.66	9.04	8.04	8.58	0.50
	T3	9.66	9.04	8.66	9.12	0.50
	T4	9.18	10.04	8.38	9.20	0.83
6	T1	8.04	8.66	8.04	8.25	0.36
	T2	8.38	8.18	8.17	8.24	0.12
	T3	8.66	9.04	9.04	8.91	0.22
	T4	9.04	8.38	9.04	8.82	0.38
7	T1	8.34	9.04	8.66	8.68	0.35
	T2	8.88	8.66	9.38	8.97	0.37
	T3	9.38	9.66	9.19	9.41	0.24
	T4	9.12	9.38	9.54	9.35	0.21

ตารางที่ ข.3 จำนวนแลคติกแบคทีเรียในดินรอบรากอ้อยจากการทดสอบการเจริญของอ้อยในบ่อปลูก

เดือน	ชุดการทดลอง	จำนวนแลคติกแบคทีเรีย (log MPN/กรัมของดิน)				
		1	2	3	ค่าเฉลี่ย	S.D.
0	T1	6.97	6.97	6.38	6.77	0.34

	T2	6.38	6.63	6.97	6.66	0.30
	T3	6.97	6.63	6.38	6.66	0.30
	T4	6.38	6.38	6.38	6.38	0.00
3	T1	8.38	7.38	7.38	7.71	0.58
	T2	7.66	7.38	7.38	7.47	0.16
	T3	8.04	8.04	8.04	8.04	0.00
	T4	8.04	7.38	7.66	7.69	0.33
5	T1	6.38	6.38	7.04	6.60	0.38
	T2	7.38	6.66	7.04	7.03	0.36
	T3	7.04	7.38	7.38	7.27	0.20
	T4	7.04	7.38	6.66	7.03	0.36
6	T1	6.66	6.38	6.38	6.47	0.16
	T2	6.66	6.38	6.66	6.57	0.16
	T3	6.66	6.66	7.04	6.79	0.22
	T4	7.04	7.04	7.38	7.15	0.20
7	T1	6.38	6.38	6.38	6.38	0.00
	T2	6.66	6.66	6.38	6.57	0.16
	T3	6.38	7.04	6.38	6.60	0.38
	T4	6.18	6.18	6.38	6.25	0.12

ตารางที่ ข.4 ปริมาณความชื้นในดินจากต้นอ้อยในการทดสอบระดับบ่อปลูก

ชุดการทดลอง	การจำลองแล้งครั้งที่ 1			ช่วงปกติ	การจำลองแล้งครั้งที่ 2		
	ช่วง ก่อนแล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้นตัว		ช่วง ก่อนแล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้นตัว

T1-1	18.23	10.25	24.33	12.87	27.63	11.20	12.03
T1-2	20.50	11.32	23.03	16.30	29.90	13.87	14.67
T1-3	21.63	9.10	29.00	14.20	32.20	11.13	16.73
T1-4	18.67	9.40	23.27	15.03	27.13	12.17	14.73
ค่าเฉลี่ย	19.76	10.02	24.91	14.60	29.22	12.09	14.54
S.D.	1.59	1.00	2.79	1.44	2.33	1.28	1.93
T2-1	19.30	12.70	24.97	14.83	31.10	12.57	14.03
T2-2	19.07	11.60	25.80	13.60	32.47	13.60	17.30
T2-3	23.03	10.65	22.10	13.50	24.97	13.07	16.23
T2-4	21.23	10.80	28.23	13.73	29.37	12.13	15.03
ค่าเฉลี่ย	20.66	11.44	25.28	13.92	29.48	12.84	15.65
S.D.	1.85	0.94	2.53	0.62	3.26	0.63	1.42
T3-1	20.33	11.15	23.40	18.67	30.70	13.83	13.37
T3-2	19.30	9.80	24.30	14.97	28.97	13.67	17.37
T3-3	21.00	9.10	22.03	12.73	32.90	12.23	18.70
T3-4	26.67	9.60	22.63	13.27	26.77	12.94	16.43
ค่าเฉลี่ย	21.83	9.91	23.09	14.91	29.84	13.17	16.47
S.D.	3.30	0.88	0.98	2.68	2.60	0.74	2.27
T4-1	19.00	10.90	26.53	15.83	31.43	12.87	15.23
T4-2	18.00	10.50	28.57	14.97	30.33	12.33	17.40
T4-3	21.63	8.00	22.43	15.50	34.33	11.07	15.63
T4-5	18.97	10.70	29.57	17.87	23.40	12.32	20.16
ค่าเฉลี่ย	19.40	10.03	26.78	16.04	29.87	12.15	17.11
S.D.	1.56	1.36	3.16	1.27	4.63	0.76	2.24

ตารางที่ ข.5 ผลปริมาณน้ำในใบสัมพันธ์จากต้นอ้อยในการทดสอบระดับบ่อปลูก

ชุดการทดลอง	การจำลองแล้งครั้งที่ 1			ช่วงปกติ	การจำลองแล้งครั้งที่ 2		
	ช่วง ก่อนแล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้นตัว		ช่วง ก่อนแล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้นตัว

T1-1	95.141	86.484	97.613	99.516	98.087	84.921	
T1-2	99.370	88.840	95.471	93.454	98.520	87.077	95.554
T1-3	97.233	80.545	97.252	99.477	98.620	85.853	97.360
T1-4	96.537	81.833	96.502	95.733	96.403	78.406	92.704
ค่าเฉลี่ย	97.070	84.425	96.710	97.045	97.908	84.064	95.206
S.D.	1.763	3.895	0.947	2.980	1.029	3.874	2.348
T2-1	96.641	85.510	93.912	97.076	94.872	89.146	96.506
T2-2	98.592	86.195	97.050	98.647	93.345	85.289	98.434
T2-3	97.215	81.755	94.999	95.335	96.934	87.181	97.546
T2-4	95.898	89.151	96.023	99.131	94.787	82.005	98.088
ค่าเฉลี่ย	97.086	85.653	95.496	97.547	94.985	86.905	97.643
S.D.	1.139	3.041	1.347	1.716	1.476	3.040	0.842
T3-1	97.893	81.898	94.722	99.744	98.170	84.146	91.179
T3-2	97.407	85.131	97.770	98.434	98.025	84.879	96.429
T3-3	97.202	84.682	97.164	97.190	97.967	84.830	98.628
T3-4	96.178	82.628	92.346	99.838	97.962	84.013	97.346
ค่าเฉลี่ย	97.170	83.585	95.500	98.802	98.031	84.467	95.895
S.D.	0.722	1.566	2.482	1.251	0.097	0.451	3.271
T4-1	97.144	89.319	97.090	97.100	93.544	86.324	96.829
T4-2	95.635	87.572	92.010	94.254	83.993	81.198	98.439
T4-3	95.546	91.513		97.099	95.358	83.463	98.894
T4-5	96.648	86.033	94.690	97.610	97.872	79.313	96.872
ค่าเฉลี่ย	96.243	88.609	94.597	96.516	92.692	82.575	97.759
S.D.	0.781	2.356	2.542	1.527	6.065	3.021	1.065

ตารางที่ ข.6 ผลดัชนีพื้นที่ใบจากต้นอ้อยในการทดสอบระดับบ่อปลูก

ชุดการทดลอง	การจำลองแล้งครั้งที่ 1			ช่วงปกติ	การจำลองแล้งครั้งที่ 2		
	ช่วงก่อน แล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้นตัว		ช่วงก่อน แล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้นตัว

T1-1	95.141	86.484	97.613	99.516	98.087	84.921	
T1-2	99.370	88.840	95.471	93.454	98.520	87.077	95.554
T1-3	97.233	80.545	97.252	99.477	98.620	85.853	97.360
T1-4	96.537	81.833	96.502	95.733	96.403	78.406	92.704
ค่าเฉลี่ย	97.070	84.425	96.710	97.045	97.908	84.064	95.206
S.D.	1.763	3.895	0.947	2.980	1.029	3.874	2.348
T2-1	96.641	85.510	93.912	97.076	94.872	89.146	96.506
T2-2	98.592	86.195	97.050	98.647	93.345	85.289	98.434
T2-3	97.215	81.755	94.999	95.335	96.934	87.181	97.546
T2-4	95.898	89.151	96.023	99.131	94.787	82.005	98.088
ค่าเฉลี่ย	97.086	85.653	95.496	97.547	94.985	86.905	97.643
S.D.	1.139	3.041	1.347	1.716	1.476	3.040	0.842
T3-1	97.893	81.898	94.722	99.744	98.170	84.146	91.179
T3-2	97.407	85.131	97.770	98.434	98.025	84.879	96.429
T3-3	97.202	84.682	97.164	97.190	97.967	84.830	98.628
T3-4	96.178	82.628	92.346	99.838	97.962	84.013	97.346
ค่าเฉลี่ย	97.170	83.585	95.500	98.802	98.031	84.467	95.895
S.D.	0.722	1.566	2.482	1.251	0.097	0.451	3.271
T4-1	97.144	89.319	97.090	97.100	93.544	86.324	96.829
T4-2	95.635	87.572	92.010	94.254	83.993	81.198	98.439
T4-3	95.546	91.513		97.099	95.358	83.463	98.894
T4-5	96.648	86.033	94.690	97.610	97.872	79.313	96.872
ค่าเฉลี่ย	96.243	88.609	94.597	96.516	92.692	82.575	97.759
S.D.	0.781	2.356	2.542	1.527	6.065	3.021	1.065

ตารางที่ ข.7 ผลทดสอบประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สองของอ้อยในการทดสอบระดับบ่อปลูก

ชุดการ ทดลอง	รอบการวัด	การจำลองแล้งครั้งที่ 1				การจำลองแล้งครั้งที่ 2		
		ช่วงก่อน แล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้น ตัว	ช่วงปกติ	ช่วงก่อน แล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้น ตัว
T1-1	วัดรอบ 1	0.639	0.636	0.694	0.716	0.709	0.495	0.718
	วัดรอบ 2	0.648	0.288	0.636	0.716	0.681	0.637	0.600
	วัดรอบ 3	0.725		0.610		0.674	0.661	0.606
T1-2	วัดรอบ 1	0.719	0.608	0.708	0.702	0.646	0.615	0.676
	วัดรอบ 2	0.636	0.630	0.640	0.707	0.719	0.599	0.767
	วัดรอบ 3	0.618		0.876		0.678	0.675	0.706
T1-3	วัดรอบ 1	0.720	0.480	0.727	0.717	0.660	0.572	0.730
	วัดรอบ 2	0.693	0.463	0.638	0.710	0.534	0.596	0.732
	วัดรอบ 3	0.651		0.684		0.730	0.591	0.731
T1-4	วัดรอบ 1	0.734	0.557	0.664	0.620	0.687	0.587	0.597
	วัดรอบ 2	0.696	0.536	0.735	0.629	0.657	0.586	0.706
	วัดรอบ 3	0.626		0.733		0.718	0.612	0.560
ค่าเฉลี่ย		0.675	0.525	0.695	0.690	0.674	0.602	0.677
S.D.		0.043	0.116	0.071	0.041	0.052	0.046	0.068
T2-1	วัดรอบ 1	0.525	0.614	0.617	0.739	0.717	0.502	0.684
	วัดรอบ 2	0.676	0.517	0.678	0.727	0.752	0.557	0.681
	วัดรอบ 3	0.761		0.647		0.666	0.593	0.694
T2-2	วัดรอบ 1	0.579	0.517	0.701	0.648	0.713	0.376	0.752
	วัดรอบ 2	0.638	0.525	0.694	0.712	0.683	0.545	0.749
	วัดรอบ 3	0.653		0.657		0.747	0.623	0.747
T2-3	วัดรอบ 1	0.712	0.555	0.638	0.676	0.713	0.547	0.729
	วัดรอบ 2	0.620	0.563	0.708	0.768	0.683	0.429	0.706
	วัดรอบ 3	0.700		0.707		0.747	0.409	0.712
T2-4	วัดรอบ 1	0.714	0.549	0.735	0.713	0.707	0.415	0.579
	วัดรอบ 2	0.618	0.549	0.760	0.715	0.658	0.619	0.531
	วัดรอบ 3	0.732		0.744		0.676	0.605	0.622
ค่าเฉลี่ย		0.661	0.549	0.691	0.712	0.705	0.518	0.682
S.D.		0.068	0.032	0.044	0.037	0.032	0.090	0.070
T3-1	วัดรอบ 1	0.462	0.622	0.640	0.587	0.524	0.562	0.667
	วัดรอบ 2	0.658	0.630	0.617	0.737	0.742	0.551	0.676

ชุดการ ทดลอง	รอบการวัด	การจำลองแล้งครั้งที่ 1				การจำลองแล้งครั้งที่ 2		
		ช่วงก่อน แล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้น ตัว	ช่วงปกติ	ช่วงก่อน แล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้น ตัว
T3-2	วัดรอบ 3	0.740		0.896		0.923	0.436	0.655
	วัดรอบ 1	0.659	0.426	0.898	0.562	0.604	0.553	0.574
	วัดรอบ 2	0.696	0.436	0.722	0.747	0.707	0.467	0.622
	วัดรอบ 3	0.635		0.737		0.706	0.452	0.707
T3-3	วัดรอบ 1	0.648	0.457	0.719	0.709	0.712	0.581	0.715
	วัดรอบ 2	0.690	0.628	0.727	0.719	0.625	0.603	0.676
	วัดรอบ 3	0.696		0.738		0.747	0.616	0.712
T3-4	วัดรอบ 1	0.729	0.653	0.689	0.729	0.743	0.653	0.670
	วัดรอบ 2	0.657	0.598	0.664	0.654	0.695	0.626	0.680
	วัดรอบ 3	0.729		0.649		0.608	0.608	0.696
ค่าเฉลี่ย		0.667	0.556	0.725	0.681	0.695	0.559	0.671
S.D.		0.073	0.098	0.090	0.071	0.100	0.072	0.040
T4-1	วัดรอบ 1	0.578	0.382	0.722	0.695	0.640	0.549	0.547
	วัดรอบ 2	0.650	0.484	0.701	0.734	0.658	0.616	0.572
	วัดรอบ 3	0.653		0.649		0.705	0.379	0.675
T4-2	วัดรอบ 1	0.716	0.496	0.760	0.911	0.674	0.536	0.624
	วัดรอบ 2	0.630	0.504	0.898	0.732	0.684	0.629	0.660
	วัดรอบ 3	0.691		0.670		0.738	0.616	0.639
T4-3	วัดรอบ 1	0.730	0.435	0.916	0.683	0.634	0.595	0.690
	วัดรอบ 2	0.677	0.558	0.725	0.728	0.727	0.475	0.563
	วัดรอบ 3	0.704		0.624		0.740	0.580	0.653
T4-5	วัดรอบ 1	0.735	0.591	0.642	0.756	0.728	0.635	0.609
	วัดรอบ 2	0.607	0.566	0.689	0.688	0.726	0.519	0.655
	วัดรอบ 3	0.656		0.626		0.677	0.501	0.657
ค่าเฉลี่ย		0.669	0.502	0.719	0.741	0.694	0.553	0.629
S.D.		0.049	0.070	0.098	0.073	0.038	0.076	0.046

ตารางที่ ข.8 ค่า Crop water stress index ของอ้อยในการทดสอบระดับบ่อปลูก

ชุดการทดลอง	การจำลองแล้งครั้งที่ 1				การจำลองแล้งครั้งที่ 2		
	ช่วง ก่อนแล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้นตัว	ช่วงปกติ	ช่วง ก่อนแล้ง	ช่วงแล้ง	ช่วงฟื้นตัว
T1-1	0.747	0.790	0.594	1.008	0.582	0.997	0.815
T1-2	0.711	0.591	0.546	0.716	0.531	0.893	0.380
T1-3	0.426	0.791	0.695	0.869	0.790	0.989	0.872
T1-4	-0.238	0.899	0.623	0.405	0.815	0.913	0.753
ค่าเฉลี่ย	0.412	0.768	0.615	0.750	0.680	0.948	0.705
S.D.	0.456	0.128	0.062	0.259	0.144	0.053	0.222
T2-1	0.383	0.910	0.835	0.582	0.588	0.957	0.770
T2-2	0.442	0.425	0.663	0.771	0.654	0.881	0.660
T2-3	0.500	0.725	0.775	0.643	0.402	0.671	0.549
T2-4	0.557	0.578	0.563	0.387	0.599	0.946	0.677
ค่าเฉลี่ย	0.471	0.660	0.709	0.596	0.561	0.864	0.664
S.D.	0.075	0.207	0.121	0.160	0.110	0.133	0.091
T3-1	0.762	0.895	0.696	0.624	0.827	0.695	0.739
T3-2	0.456	0.763	0.508	1.154	0.594	0.916	0.944
T3-3	0.239	0.914	0.483	0.709	0.889	0.987	0.654
T3-4	-0.193	0.244	0.536	0.848	0.520	0.674	0.932
ค่าเฉลี่ย	0.316	0.704	0.556	0.834	0.708	0.818	0.817
S.D.	0.401	0.314	0.096	0.233	0.178	0.157	0.144
T4-1	0.545	0.572	0.519	1.028	0.725	0.893	0.906
T4-2	0.478	0.762	0.619	0.785	0.795	0.874	0.821
T4-3	0.536	0.941	0.601	0.605	0.726	0.694	0.667
T4-5	0.299	1.165	0.542	0.605	0.677	0.791	0.652
ค่าเฉลี่ย	0.465	0.860	0.570	0.756	0.731	0.813	0.762
S.D.	0.114	0.253	0.047	0.200	0.049	0.091	0.123

ตารางที่ ข.9 ผลการเจริญเติบโตของอ้อยภายหลังเก็บเกี่ยวในบ่อปลูก

ชุดการ ทดลอง	น้ำหนักใบ (กก.)	น้ำหนักอ้อย (กก.)	จำนวนลำ (ลำ)	น้ำหนักลำ หลังตากกาบ (กก.)	ความสูง (ซม.)	ขนาดลำ (ซม.)	ความยาว ปล้อง (ซม.)
T1-1	2.49	4.31	13.00	0.33	75.20	2.73	5.40
T1-2	2.72	4.56	14.00	0.33	85.40	2.50	6.60
T1-3	2.73	4.88	13.00	0.38	84.60	2.66	5.60
T1-4	2.19	5.08	15.00	0.34	80.20	2.64	
ค่าเฉลี่ย	2.53	4.71	13.75	0.34	81.35	2.63	5.87
S.D.	0.25	0.34	0.96	0.02	4.69	0.10	0.64
T2-1	2.49	5.13	15.00	0.34	79.30	2.81	5.80
T2-2	2.61	5.52	11.00	0.50	101.90	2.90	6.80
T2-3	2.46	5.67	11.00	0.52	101.30	2.94	6.80
T2-4	2.34	5.75	13.00	0.44	94.10	2.94	6.80
ค่าเฉลี่ย	2.48	5.52	12.50	0.45	94.15	2.90	6.55
S.D.	0.11	0.27	1.91	0.08	10.52	0.06	0.50
T3-1	2.66	5.63	14.00	0.40	91.60	2.79	7.00
T3-2	2.37	6.54	13.00	0.50	94.60	3.05	7.50
T3-3	2.42	6.01	14.00	0.43	93.90	2.61	6.60
T3-4	2.35	5.62	15.00	0.38	97.10	2.79	8.60
ค่าเฉลี่ย	2.45	5.95	14.00	0.43	94.30	2.81	7.43
S.D.	0.15	0.43	0.82	0.06	2.26	0.18	0.87
T4-1		6.39	16.00	0.40	82.10	2.93	7.30
T4-2	2.47	6.56	15.00	0.44	100.10	2.76	8.20
T4-3	2.85	6.91	17.00	0.41	86.50	2.74	6.70
T4-4	2.70	6.99	14.00	0.50	96.70	2.86	7.70
ค่าเฉลี่ย	2.67	6.71	15.50	0.44	91.35	2.82	7.48
S.D.	0.19	0.29	1.29	0.05	8.45	0.09	0.63

ตารางที่ ข.10 น้ำหนักอ้อยเข้าหีบของอ้อยในแต่ละชุดการทดลองภายหลังเก็บเกี่ยวในบ่อปลูก

ชุดการทดลอง	น้ำหนักอ้อย (กิโลกรัมต่อบ่อ)	น้ำหนักอ้อยเทียบพื้นที่บ่อ (กิโลกรัมต่อตารางเมตร)	น้ำหนักอ้อยเทียบพื้นที่ไร่ (กิโลกรัมต่อตารางเมตร)	น้ำหนักอ้อย (ตันต่อไร่)
T1-1	4.31	8.62	13792.00	13.79
T1-2	4.56	9.12	14592.00	14.59
T1-3	4.88	9.76	15616.00	15.62
T1-4	5.08	10.16	16256.00	16.26
ค่าเฉลี่ย	4.71	9.42	15064.00	15.06
S.D.	0.34	0.68	1090.31	1.09
T2-1	5.13	10.26	16416.00	16.42
T2-2	5.52	11.04	17664.00	17.66
T2-3	5.67	11.34	18144.00	18.14
T2-4	5.75	11.50	18400.00	18.40
ค่าเฉลี่ย	5.52	11.04	17656.00	17.66
S.D.	0.27	0.55	881.16	0.88
T3-1	5.63	11.26	18016.00	18.02
T3-2	6.54	13.08	20928.00	20.93
T3-3	6.01	12.02	19232.00	19.23
T3-4	5.62	11.24	17984.00	17.98
ค่าเฉลี่ย	5.95	11.90	19040.00	19.04
S.D.	0.43	0.87	1386.26	1.39
T4-1	6.39	12.78	20448.00	20.45
T4-2	6.56	13.12	20992.00	20.99
T4-3	6.91	13.82	22112.00	22.11
T4-4	6.99	13.98	22368.00	22.37
ค่าเฉลี่ย	6.71	13.43	21480.00	21.48
S.D.	0.29	0.57	911.25	0.91

ตารางที่ ข.11 ปริมาณน้ำตาลในอ้อยจากการทดสอบในบ่อปลูก

ชุดการทดลอง		Brix%cane	Pol%cane	Fibre%cane	Purity	C.C.S.	ปลวกกิน
T1	T1-1	22.70	19.07	10.77	84.02	14.31	
	T1-2				80.31	11.34	✓
	T1-3	22.08	18.62	9.92	84.34	14.15	
	T1-4	22.22	18.78	10.09	84.53	14.27	
	ค่าเฉลี่ย	22.33	18.82	10.26	83.30	13.52	
	S.D.	0.33	0.23	0.45	2.00	1.45	
T2	T2-1	21.86	18.35	11.43	83.92	13.64	
	T2-2	21.65	18.40	10.28	84.99	14.00	
	T2-3			10.56	81.62	12.04	✓
	T2-4	22.63	18.87	10.26	83.40	14.18	
	ค่าเฉลี่ย	22.05	18.54	10.63	83.48	13.47	
	S.D.	0.52	0.29	0.55	1.41	0.98	
T3	T3-1	21.29	17.09	9.79	80.27	12.56	
	T3-2	20.69	16.54	8.86	79.93	12.25	✓
	T3-3	21.42	17.38	10.30	81.16	12.80	
	T3-4			12.61	79.04	10.10	✓
	ค่าเฉลี่ย	21.13	17.00	10.39	80.10	11.93	
	S.D.	0.39	0.43	1.60	0.88	1.24	
T4	T4-1	22.62	18.38	10.25	81.27	13.56	✓
	T4-2			12.99	77.51	10.01	✓
	T4-3	21.28	17.49	8.74	82.17	13.23	
	T4-4	21.08	17.21	9.54	81.63	12.84	
	ค่าเฉลี่ย	21.66	17.69	10.38	80.65	12.41	
	S.D.	0.84	0.61	1.85	2.12	1.63	

ภาคผนวก ค.

ค่าการทดสอบประสิทธิภาพและหาวิธีใช้ที่เหมาะสมของชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญและการฟื้นตัวของ
อ้อยในภาวะแล้ง ในระดับไร่นา

ตารางที่ ค.1 จำนวนหน่อของอ้อยในระยะตั้งตัว

เดือน	ชุดการ ทดลอง	ร่องที่ 1	ร่องที่ 2	ร่องที่ 3	ร่องที่ 4	ร่องที่ 5	รวม	เฉลี่ย	S.D.
เดือน 2	T1-1	54.00	39.00	44.00	49.00	52.00	238.00	261.75	21.61
	T1-2	43.00	49.00	58.00	55.00	64.00	269.00		
	T1-3	51.00	56.00	44.00	58.00	43.00	252.00		
	T1-4	50.00	60.00	59.00	65.00	54.00	288.00		
	T2-1	68.00	57.00	57.00	63.00	60.00	305.00	312.00	9.90
	T2-2	77.00	52.00	72.00	60.00	60.00	321.00		
	T2-3	63.00	53.00	66.00	65.00	55.00	302.00		
	T2-4	60.00	48.00	64.00	73.00	75.00	320.00		
	T3-1	64.00	73.00	57.00	58.00	54.00	306.00	326.25	16.76
	T3-2	78.00	66.00	66.00	54.00	63.00	327.00		
	T3-3	64.00	71.00	65.00	66.00	59.00	325.00		
	T3-4	69.00	66.00	61.00	74.00	77.00	347.00		
เดือน 4	T1-1	199.00	182.00	145.00	197.00	186.00	909.00	837.50	53.28
	T1-2	165.00	156.00	192.00	172.00	162.00	847.00		
	T1-3	140.00	189.00	187.00	125.00	160.00	801.00		
	T1-4	163.00	158.00	150.00	155.00	167.00	793.00		
	T2-1	170.00	193.00	196.00	185.00	153.00	897.00	852.75	35.26
	T2-2	172.00	160.00	173.00	155.00	153.00	813.00		
	T2-3	166.00	175.00	175.00	175.00	169.00	860.00		
	T2-4	165.00	145.00	192.00	176.00	163.00	841.00		
	T3-1	168.00	178.00	187.00	176.00	162.00	871.00	848.25	44.44
	T3-2	159.00	169.00	162.00	204.00	170.00	864.00		
	T3-3	176.00	168.00	186.00	178.00	168.00	876.00		
	T3-4	140.00	165.00	162.00	148.00	167.00	782.00		

เดือน 6	T1-1	146.00	118.00	122.00	136.00	124.00	646.00	602.50	56.09
	T1-2	100.00	130.00	112.00	125.00	145.00	612.00		
	T1-3	140.00	123.00	122.00	112.00	134.00	631.00		
	T1-4	105.00	107.00	109.00	102.00	98.00	521.00		
	T2-1	126.00	151.00	136.00	133.00	130.00	676.00	647.25	25.20
	T2-2	147.00	132.00	125.00	129.00	120.00	653.00		
	T2-3	139.00	110.00	147.00	134.00	115.00	645.00		
	T2-4	104.00	136.00	120.00	108.00	147.00	615.00		
	T3-1	135.00	140.00	150.00	119.00	156.00	700.00	647.25	43.65
	T3-2	105.00	110.00	149.00	140.00	122.00	626.00		
	T3-3	138.00	145.00	115.00	115.00	150.00	663.00		
	T3-4	130.00	101.00	110.00	143.00	116.00	600.00		

ตารางที่ ค.2 จำนวนหน่อต่อแปลง และจำนวนหน่อต่อไร่ในเดือนที่ 2, 4 และ 6

ชุดการทดลอง		จำนวนหน่อต่อแปลง			จำนวนหน่อต่อไร่		
		เดือนที่ 2	เดือนที่ 4	เดือนที่ 6	เดือนที่ 2	เดือนที่ 4	เดือนที่ 6
T1	T1-1	238.00	909.00	646.00	6348.65	24247.58	17232.05
	T1-2	269.00	847.00	612.00	7175.58	22593.73	16325.10
	T1-3	252.00	801.00	631.00	6722.10	21366.68	16831.93
	T1-4	288.00	793.00	521.00	7682.40	21153.28	13897.68
	ค่าเฉลี่ย	261.75	837.50	602.50	6982.18	22340.31	16071.69
	S.D.	21.61	53.28	56.09	576.40	1421.14	1496.10
T2	T2-1	305.00	897.00	676.00	8135.88	23927.48	18032.30
	T2-2	321.00	813.00	653.00	8562.68	21686.78	17418.78
	T2-3	302.00	860.00	645.00	8055.85	22940.50	17205.38
	T2-4	320.00	841.00	615.00	8536.00	22433.68	16405.13
	ค่าเฉลี่ย	312.00	852.75	647.25	8322.60	22747.11	17265.39
	S.D.	9.90	35.26	25.20	264.07	940.43	672.14
T3	T3-1	306.00	871.00	700.00	8162.55	23233.93	18672.50
	T3-2	327.00	864.00	626.00	8722.73	23047.20	16698.55
	T3-3	325.00	876.00	663.00	8669.38	23367.30	17685.53
	T3-4	347.00	782.00	600.00	9256.23	20859.85	16005.00
	ค่าเฉลี่ย	326.25	848.25	647.25	8702.72	22627.07	17265.39
	S.D.	16.76	44.44	43.65	447.09	1185.44	1164.24

ตารางที่ ค.3 ความสูงของต้นอ้อยเดือนที่ 4 ในการทดสอบระดับไร่นา

ชุดการ ทดลอง	ความสูง (ซม.)										เฉลี่ย	S.D.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
T1-1	77.00	81.00	86.00	77.00	81.00	81.00	72.00	80.00	78.00	82.00	72.95	4.68
T1-2	71.00	70.00	67.00	77.00	60.00	58.00	68.00	68.00	67.00	78.00		
T1-3	55.00	67.00	72.00	86.00	83.00	66.00	74.00	54.00	82.00	80.00		
T1-4	70.00	59.00	81.00	78.00	60.00	80.00	84.00	66.00	70.00	72.00		
T2-1	72.00	71.00	71.00	82.00	85.00	78.00	77.00	81.00	80.00	82.00	73.43	4.76
T2-2	56.00	67.00	77.00	72.00	87.00	85.00	75.00	75.00	80.00	80.00		
T2-3	77.00	72.00	81.00	90.00	64.00	65.00	82.00	79.00	61.00	65.00		
T2-4	60.00	62.00	59.00	68.00	64.00	82.00	80.00	67.00	70.00	56.00		
T3-1	67.00	66.00	77.00	75.00	85.00	84.00	72.00	75.00	62.00	74.00	70.38	2.62
T3-2	76.00	80.00	85.00	68.00	71.00	62.00	80.00	51.00	69.00	68.00		
T3-3	66.00	65.00	64.00	81.00	56.00	75.00	60.00	73.00	80.00	72.00		
T3-4	65.00	87.00	72.00	70.00	55.00	62.00	59.00	62.00	64.00	80.00		

ตารางที่ ค.4 ความสูงของต้นอ้อยเดือนที่ 6 ในการทดสอบระดับไร่นา

ชุดการ ทดลอง	ความสูง (ซม.)										เฉลี่ย	S.D.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
T1-1	125.00	132.00	150.00	128.00	145.00	137.00	130.00	88.00	124.00	116.00	134.98	9.46
T1-2	148.00	141.00	132.00	130.00	142.00	152.00	137.00	161.00	137.00	138.00		
T1-3	102.00	122.00	124.00	138.00	137.00	116.00	132.00	145.00	122.00	124.00		
T1-4	145.00	148.00	155.00	150.00	138.00	151.00	152.00	142.00	141.00	122.00		
T2-1	130.00	137.00	130.00	127.00	135.00	155.00	142.00	140.00	142.00	152.00	136.38	6.55
T2-2	112.00	140.00	130.00	142.00	151.00	143.00	152.00	148.00	140.00	148.00		
T2-3	132.00	135.00	152.00	152.00	136.00	130.00	142.00	130.00	141.00	143.00		
T2-4	127.00	125.00	130.00	137.00	102.00	124.00	130.00	133.00	130.00	128.00		
T3-1	134.00	132.00	152.00	151.00	152.00	132.00	152.00	142.00	138.00	142.00	132.70	10.16
T3-2	140.00	144.00	142.00	151.00	137.00	152.00	164.00	112.00	124.00	136.00		
T3-3	112.00	92.00	132.00	132.00	127.00	135.00	132.00	147.00	113.00	121.00		
T3-4	121.00	120.00	121.00	124.00	121.00	125.00	128.00	124.00	127.00	125.00		

ตารางที่ ค.5 จำนวนประชากรจุลินทรีย์ในดินรอบรากอ้อยระดับไร่เนา

เดือน	ชุดการทดลอง	จำนวนจุลินทรีย์ (log MPN/กรัมของดิน)					
		1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย	S.D.
ดินก่อนปลูก		9.38	8.66	9.66		9.29	0.52
หลังการปลูก	T1	9.04	8.66	9.04	9.04	8.95	0.19
	T2	11.04	11.04	11.38	11.38	11.21	0.20
	T3	10.38	10.66	11.04	8.66	10.19	1.05
1	T1	8.66	8.66	9.04	8.66	8.76	0.19
	T2	8.66	9.04	8.66	8.66	8.76	0.19
	T3	8.66	9.04	9.04	9.38	9.03	0.29
2	T1	9.66	9.87	9.04	8.66	9.31	0.56
	T2	9.04	9.04	9.38	9.66	9.28	0.30
	T3	8.66	9.17	9.38	9.38	9.15	0.34
6	T1	9.32	8.38	9.04	8.66	8.85	0.41
	T2	9.04	9.04	9.04	8.66	8.95	0.19
	T3	9.38	8.66	8.66	9.38	9.02	0.42

ตารางที่ ค.6 จำนวนแบคทีเรียทนแล้งในดินรอบรากอ้อยระดับไร่เนา

เดือน	ชุดการทดลอง	จำนวนจุลินทรีย์ (log MPN/กรัมของดิน)					
		1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย	S.D.
ดินก่อนปลูก		9.32	8.66	9.18		9.05	0.35
หลังการปลูก	T1	9.32	10.66	9.18	10.38	9.89	0.74
	T2	10.04	10.04	10.66	9.04	9.95	0.67
	T3	11.04	11.04	10.66	9.04	10.45	0.95
1	T1	9.04	8.38	9.04	8.38	8.71	0.38
	T2	9.04	8.66	8.04	8.66	8.60	0.41
	T3	8.66	9.66	9.38	8.66	9.09	0.51
2	T1	9.04	8.66	9.04	9.04	8.95	0.19
	T2	9.04	8.66	9.04	8.66	8.85	0.22

	T3	9.04	9.66	9.17	8.66	9.13	0.41
6	T1	9.38	9.04	9.04	8.66	9.03	0.29
	T2	9.66	8.66	9.17	8.66	9.04	0.48
	T3	9.04	9.04	9.04	9.17	9.07	0.07

ตารางที่ ค.7 จำนวนแลคติกแบคทีเรียในดินรอบรากอ้อยระดับไร่เนา

เดือน	ชุดการทดลอง	จำนวนจุลินทรีย์ (log MPN/กรัมของดิน)					S.D.
		1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย	
ดินก่อนปลูก		6.38	7.38	8.38		7.38	1.00
หลังการปลูก	T1	7.38	6.38	7.04	6.38	6.80	0.50
	T2	8.38	8.66	8.66	8.38	8.52	0.16
	T3	8.38	8.04	8.66	7.04	8.03	0.71
1	T1	7.04	6.38	6.38	6.66	6.62	0.31
	T2	6.66	6.66	6.38	7.04	6.69	0.27
	T3	6.66	6.66	6.38	7.04	6.69	0.27
2	T1	6.66	6.66	6.38	6.38	6.52	0.16
	T2	6.66	6.66	6.66	6.66	6.66	0.00

เดือน	ชุดการทดลอง	จำนวนจุลินทรีย์ (log MPN/กรัมของดิน)					S.D.
		1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย	
6	T3	6.66	6.66	6.66	7.04	6.76	0.19
	T1	6.66	6.38	6.38	6.38	6.45	0.14
	T2	6.66	6.66	6.66	6.38	6.59	0.14
	T3	6.66	6.66	6.66	7.04	6.76	0.19

ตารางที่ ค.8 ผลดัชนีพื้นที่ใบในการทดสอบอ้อยระดับไร่นา

ระยะเวลา	ชุดการทดลอง	ค่าดัชนีพื้นที่ใบ				ค่าเฉลี่ย	S.D.
		1	2	3	4		
เดือน 6	T1	4.29	5.27	4.86	4.86	4.82	0.40
	T2	4.24	3.85	4.92	4.73	4.44	0.48
	T3	4.81	4.51	4.98	4.27	4.64	0.32
เดือน 7	T1	4.46	4.76	4.53	5.29	4.76	0.38
	T2	4.15	4.22	4.61	4.58	4.39	0.24
	T3	4.43	4.82	5.01	5.20	4.87	0.33

เดือน 10	T1	7.20	6.48	6.00	5.82	6.38	0.62
	T2	6.86	6.31	8.17	7.02	7.09	0.78
	T3	7.10	6.73	6.61	6.39	6.71	0.30
เดือน 11	T1	5.63	5.16	6.15	4.51	5.36	0.70
	T2	5.76	5.42	5.77	5.29	5.56	0.24
	T3	5.25	6.03	4.25	5.91	5.36	0.82
เดือน 12	T1	5.75	5.95	6.78	6.00	6.12	0.45
	T2	6.64	6.70	7.25	5.81	6.60	0.59
	T3	5.56	7.25	6.49	7.55	6.71	0.89

ตารางที่ ค.9 ผลทดสอบประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สองของอ้อยในระดับไร่หนา

ระยะเวลา	ชุดการทดลอง	ค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สอง (F_v/F_m)				ค่าเฉลี่ย	S.D.
		1	2	3			
เดือนที่ 6	T1	1	0.725	0.729	0.738	0.731	0.732
		2	0.730	0.815	0.775	0.773	
		3	0.644	0.708	0.728	0.693	
		4	0.734	0.732	0.723	0.730	
	T2	1	0.729	0.757	0.717	0.734	0.731
		2	0.704	0.705	0.708	0.706	
		3	0.754	0.763	0.710	0.742	

เดือนที่ 7	T3	4	0.732	0.729	0.759	0.740	0.737	0.011
		1	0.769	0.714	0.775	0.753		
		2	0.716	0.724	0.765	0.735		
		3	0.734	0.717	0.737	0.729		
		4	0.696	0.769	0.726	0.730		
	T1	1	0.751	0.751	0.676	0.726	0.735	0.010
		2	0.751	0.759	0.735	0.748		
		3	0.760	0.732	0.702	0.731		
		4	0.729	0.741	0.738	0.736		
	T2	1	0.767	0.747	0.741	0.752	0.735	0.013
		2	0.659	0.764	0.742	0.722		
		3	0.773	0.698	0.742	0.738		
		4	0.733	0.742	0.712	0.729		
เดือนที่ 10	T3	1	0.741	0.768	0.762	0.757	0.744	0.019
		2	0.736	0.787	0.748	0.757		
		3	0.732	0.707	0.710	0.716		
		4	0.757	0.749	0.726	0.744		
	T1	1	0.724	0.691	0.713	0.709	0.710	0.014
		2	0.702	0.729	0.753	0.728		
		3	0.663	0.673	0.747	0.694		
		4	0.698	0.710	0.721	0.710		

ตารางที่ ค.9 ผลทดสอบประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สองของอ้อยในระดับไร่นา (ต่อ)

ระยะเวลา	ชุดการทดลอง	ค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สอง (F _v /F _m)						
		1	2	3	ค่าเฉลี่ย	S.D.		
เดือนที่ 10	T2	1	0.686	0.698	0.688	0.691	0.695	0.015
		2	0.695	0.697	0.733	0.708		
		3	0.673	0.683	0.761	0.706		
		4	0.637	0.682	0.712	0.677		
	T3	1	0.699	0.690	0.667	0.685	0.693	0.007
		2	0.677	0.688	0.728	0.698		
		3	0.647	0.709	0.743	0.700		

เดือนที่ 11	T1	4	0.633	0.688	0.748	0.690	0.680	0.016
		1	0.731	0.717	0.643	0.697		
		2	0.735	0.659	0.651	0.682		
		3	0.605	0.731	0.641	0.659		
		4	0.693	0.687	0.669	0.683		
	T2	1	0.722	0.704	0.639	0.688	0.655	0.025
		2	0.592	0.638	0.650	0.627		
		3	0.697	0.624	0.634	0.652		
		4	0.629	0.689	0.646	0.655		
	T3	1	0.718	0.702	0.635	0.685	0.660	0.023
		2	0.590	0.638	0.663	0.630		
		3	0.646	0.689	0.641	0.659		
		4	0.653	0.685	0.656	0.665		
เดือนที่ 12	T1	1	0.671	0.677	0.736	0.695	0.665	0.021
		2	0.625	0.676	0.685	0.662		
		3	0.745	0.608	0.632	0.662		
		4	0.722	0.569	0.638	0.643		
	T2	1	0.644	0.653	0.717	0.671	0.651	0.019
		2	0.621	0.672	0.686	0.660		
		3	0.621	0.616	0.641	0.626		
		4	0.693	0.586	0.664	0.648		

ตารางที่ ค.9 ผลทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของระบบที่สองของอ้อยในระดับไร่ (ต่อ)

ระยะเวลา	ชุดการทดลอง	ค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบที่สอง (F _v /F _m)						
		1	2	3	ค่าเฉลี่ย	S.D.		
เดือนที่ 12	T3	1	0.637	0.670	0.676	0.661	0.663	0.017
		2	0.618	0.685	0.721	0.675		
		3	0.714	0.596	0.723	0.678		
		4	0.708	0.567	0.645	0.640		

ตารางที่ ค.10 ผลการเจริญเติบโตของอ้อยภายหลังเก็บเกี่ยวในการทดสอบระดับไร่

ชุดการ ทดลอง	ความสูงอ้อย (ซม.)	ความยาวลำ (ซม.)	จำนวน ปล้อง	ความยาว ปล้อง (ซม.)	ขนาดลำ (ซม.)	นน./ลำ (กก.)	นน.ใบ (กก.)
T1-1	387.00	352.00	29.00	12.60	2.61	2.03	2.42
T1-2	381.00	354.00	31.00	13.10	2.74	2.25	2.62
T1-3	361.00	327.00	28.00	12.80	2.52	1.83	2.33
T1-4	355.00	328.00	28.00	13.10	2.73	1.90	2.31
ค่าเฉลี่ย	370.73	340.35	28.80	12.87	2.65	2.00	2.42
S.D.	15.15	14.71	1.36	0.26	0.10	0.18	0.14
T2-1	355.00	327.00	29.00	11.20	2.90	2.18	2.38
T2-2	376.00	345.00	30.00	12.60	2.73	2.17	2.43
T2-3	398.00	369.00	32.00	11.80	3.08	2.46	2.71
T2-4	376.00	338.00	31.00	11.30	2.86	2.43	3.28
ค่าเฉลี่ย	376.30	344.58	30.43	11.73	2.89	2.31	2.70
S.D.	17.48	17.67	1.43	0.62	0.15	0.15	0.41
T3-1	333.00	300.00	28.00	11.00	2.88	2.30	3.21
T3-2	367.00	337.00	30.00	11.30	2.83	2.30	3.18
T3-3	364.00	331.00	29.00	11.80	2.64	2.11	2.65
T3-4	349.00	316.00	27.00	12.10	2.59	1.84	2.72
ค่าเฉลี่ย	353.25	321.00	28.53	11.55	2.73	2.14	2.94
S.D.	15.95	16.6	1.08	0.50	0.14	0.22	0.30

ตารางที่ ค.11 ผลผลิตอ้อยเข้าหีบภายหลังเก็บเกี่ยวในการทดสอบระดับไร่นา

ชุดการทดลอง		จำนวนลำเข้าหีบ (ลำ/ไร่)	ผลผลิตอ้อย (ตัน/ไร่)	C.C.S.	ผลผลิตน้ำตาล (ตัน × C.C.S./ไร่)
T1	T1-1	9,467.00	19.17	14.22	2.95
	T1-2	9,433.00	21.21	12.04	2.42
	T1-3	8,667.00	15.87	12.36	2.27
	T1-4	7,933.00	15.07	11.69	2.29
	ค่าเฉลี่ย	8,875.00	17.83	12.58	2.48
	S.D.	728.57	2.87	1.13	0.32

T2	T2-1	10,133.00	22.08	13.44	2.81
	T2-2	10,667.00	23.19	13.52	3.08
	T2-3	9,500.00	23.37	10.88	2.34
	T2-4	9,433.00	22.89	11.64	2.34
	ค่าเฉลี่ย	9,933.25	22.88	12.37	2.64
	S.D.	582.02	0.57	1.32	0.37
T3	T3-1	9,533.00	21.94	11.77	2.53
	T3-2	10,100.00	23.24	11.94	2.56
	T3-3	10,167.00	21.40	13.71	2.85
	T3-4	9,600.00	17.62	15.49	3.00
	ค่าเฉลี่ย	9,850.00	21.05	13.23	2.73
	S.D.	329.64	2.42	1.74	0.23

ตารางที่ ค.12 ปริมาณน้ำตาลในอ้อยจากการทดสอบในการทดสอบระดับไรโน

ชุดการทดลอง		Brix%cane	Pol%cane	Fibre%cane	Purity	C.C.S.
T1	T1-1	21.03	18.55	11.63	88.21	14.22
	T1-2	19.35	16.43	13.21	84.88	12.04
	T1-3	19.35	16.64	12.82	85.98	12.36
	T1-4	18.51	15.46	9.82	83.54	11.69
	ค่าเฉลี่ย	19.56	16.77	11.87	85.65	12.58
	S.D.	1.06	1.29	1.52	1.98	1.13
T2	T2-1	19.99	17.48	10.95	87.45	13.44

	T2-2	20.92	18.08	12.60	86.42	13.52
	T2-3	17.39	14.57	11.03	83.80	10.88
	T2-4	19.01	15.98	13.21	84.07	11.64
	ค่าเฉลี่ย	19.33	16.53	11.95	85.44	12.37
	S.D.	1.51	1.58	1.13	1.79	1.32
T3	T3-1	18.66	15.75	11.35	84.41	11.77
	T3-2	19.44	16.09	10.83	82.77	11.94
	T3-3	20.29	17.72	10.33	87.30	13.71
	T3-4	21.89	19.61	9.94	89.58	15.49
	ค่าเฉลี่ย	20.07	17.29	10.61	86.02	13.23
	S.D.	1.38	1.77	0.61	3.03	1.74

ภาคผนวก ง.

จำนวนแบคทีเรียที่เจริญในการอาหาร TSB และอาหารโมลาสต่าง ๆ

ตารางที่ ง.1 จำนวนแบคทีเรียผสมในอาหารที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด

ระยะเวลา	อาหาร TSB	อาหารโมลาส	อาหารโมลาสที่เติม สารอาหาร	อาหารโมลาสที่เติม สารอาหารและ PEG
ชั่วโมงที่ 0	6.43	6.70	6.49	6.72
	6.79	7.00	6.55	6.49
	6.65	6.70	6.69	6.99
ชั่วโมงที่ 2	6.92	6.88	6.50	6.67

	6.65	6.86	6.75	6.63
	6.87	6.91	6.55	6.62
ชั่วโมงที่ 4	6.87	7.00	6.75	6.60
	7.09	6.92	6.85	6.95
	6.96	6.79	6.80	6.74
	7.71	7.34	7.30	7.58
ชั่วโมงที่ 6	7.30	7.40	7.74	7.62
	7.93	7.42	7.40	7.87
	7.73	7.62	7.49	7.79
ชั่วโมงที่ 8	7.86	7.42	7.47	7.58
	7.86	7.56	7.42	7.82
	7.73	7.66	7.62	7.81
	8.06	7.64	7.60	7.67
ชั่วโมงที่ 10	7.77	7.61	7.60	7.73
	8.23	7.97	7.82	8.07
	8.34	7.95	7.99	7.87
ชั่วโมงที่ 12	8.34	7.73	7.93	7.99
	9.03	8.48	8.80	8.54
	8.98	8.39	8.39	8.57
ชั่วโมงที่ 24	8.96	8.78	8.65	8.60

ตารางที่ ง.1 จำนวนแบคทีเรียผสมในอาหารที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด (ต่อ)

ระยะเวลา	อาหาร TSB	อาหารโมลาส	อาหารโมลาสที่เติม สารอาหาร	อาหารโมลาสที่เติม สารอาหารและ PEG
ชั่วโมงที่ 36	8.79	8.54	8.80	8.54
	9.09	8.51	8.51	8.65
	8.94	8.79	8.65	8.60
ชั่วโมงที่ 48	8.80	8.56	8.89	8.82
	8.94	8.61	8.64	9.01
	8.71	8.45	9.04	8.96

ชั่วโมงที่ 60	8.30	8.48	8.74	8.28
	8.36	8.22	8.37	8.44
	8.62	8.15	8.40	8.46
ชั่วโมงที่ 72	8.26	8.30	8.49	8.47
	8.11	8.38	8.32	8.48
	8.47	8.26	8.36	8.47
ชั่วโมงที่ 96	8.25	8.10	8.15	8.24
	8.23	8.05	8.03	8.10
	8.10	8.18	8.29	8.19
ชั่วโมงที่ 120	7.89	7.86	7.95	8.10
	7.50	7.87	7.80	7.88
	8.07	7.74	7.81	7.96

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รศ.ดร. เอกวัล ลือพร้อมชัย

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 10330

โทรศัพท์ 0851595213 โทรสาร 022527576 E-mail ekawan.l@chula.ac.th

ผู้ร่วมงานวิจัย

1.2.1 อ.ดร. บุญลือ คะเชนทร์ชาติ

คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา

1.2.2 นายพิวัตร เกตุยิม

บริษัท เกษตรไทย อินเตอร์เนชั่นแนล ชูการ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (มหาชน) สาขา 3