ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญา

โรคพืช	โรคพืช
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง แนวทางการลดการใช้สารเคมีเพื่อการจัดการโรคพืชในแปลงพริก

Strategies of Pesticide Usage Reduction for Plant Disease Management in Chilli Plantation

นามผู้วิจัย นางสาวนวรัตน์ อิ่มจิตร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(อาจารย์ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, Dr.sc.agr.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัติยา พงศ์พิสุทธา, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชนี ฮงประยูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

แนวทางการลดการใช้สารเคมีเพื่อการจัดการโรคพืชในแปลงพริก

Strategies of Pesticide Usage Reduction for Plant Disease Management in Chilli Plantation

โดย

นางสาวนวรัตน์ อิ่มจิตร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)
พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นวรัตน์ อิ่มจิตร 2554: แนวทางการลดการใช้สารเคมีเพื่อการจัดการโรคพืชในแปลงพริก ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, Dr.sc.agr. 119 หน้า

การจัดการโรคพริกแบบลดการใช้สารเคมี โดยใช้การจัดการระยะปลูกและการกระตุ้นความต้านทานในต้นกล้า จากการศึกษาผลของปัจจัยหลักคือระยะปลูก ร่วมกับปัจจัยรองคือ สาร Bion น้ำมันหอมระเหยข่า และปุ๋ยเคมี พบว่าการปลูกระยะชิดมีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีสูงกว่าการปลูกระยะห่าง ส่วนปัจจัยรองที่มีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีสูงที่สุดคือ สาร Bion สำหรับอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยหลักและปัจจัยรอง พบว่า กรรมวิธีการปลูกระยะชิดร่วมกับการใช้สาร Bion มีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีสูงกว่ากรรมวิธีอื่น เมื่อศึกษาการกระตุ้นต้นกล้าพริกด้วยไคโตซาน เป็นปัจจัยหลัก ร่วมกับการใช้สารกระตุ้นความต้านทานหลังย้ายต้นกล้าลงแปลงปลูกด้วยสาร Bion สารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส และสารไคโตซาน เป็นปัจจัยรอง พบว่า การกระตุ้นต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซานในระยะต้นกล้า และการใช้สารกระตุ้นชนิดอื่นในระยะเจริญเป็นปัจจัยรอง ต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่าอิทธิพลจากการกระตุ้นต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซานและการใช้สารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัสในระยะเจริญ และต้นกล้าพริกที่ไม่ผ่านกระตุ้นด้วยสารไคโตซานร่วมกับการใช้สาร Bion มีแนวโน้มทำให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีสูงกว่าทุกกรรมวิธี

การควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยน้ำมันหอมระเหย พบว่า สารออกฤทธิ์ Eugenol ที่ระดับความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถควบคุมการเจริญและการงอกของสปอร์ที่พัฒนาเป็นโคโลนีได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพทดสอบอาหารพิษ และเมื่อใช้น้ำมันหอมระเหยในการราดดินเพื่อการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในดิน พบว่า การราดดินด้วยสาร Eugenol ความเข้มข้น 2500 พีพีเอ็ม ที่ความชื้นดิน 50 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม ที่ความชื้นดิน 100 เปอร์เซ็นต์ และการใช้สาร Eugenol และ Geraniol เมื่อรมดินนาน 10 และ 20 วันตามลำดับ สามารถควบคุมปริมาณเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียในดินได้ดีที่สุด

การตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกในใบและผลพริกจากแปลง โดยใช้เทคนิค PCR ไพรเมอร์ที่เหมาะสมในการตรวจสอบเชื้อรา *Colletotrichum* คือไพรเมอร์ Col1/Col2 พบแถบดีเอ็นขนาดประมาณ 460 คู่เบส จากเชื้อรา *Colletotrichum* 3 สปีชีส์ ได้แก่ *C. acutatum C. capsici* และ *C. gloeosporioides* เมื่อนำไพรเมอร์ดังกล่าวมาตรวจสอบเชื้อรา *Colletorichum* โดยตรงจากผลพริกที่มีการปนเปื้อนต่ำสุดที่ 25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Nawarat Imjit 2011: Strategies of Pesticide Usage Reduction for Plant Disease Management in Chilli Plantation. Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Mr. Chainarong Rattankreetakul, Dr.sc.agr. 119 pages.

Disease management of chilli using pesticide treatment reduction was performed under plant spacing and seedling resistant induction. Effect of primary factor as plant spacing and secondary factor like Bion, clove oil and fertilizer was investigated. Close row planting illustrating percent of good produce quality weight was greater than wide row planting while Bion application showed the greatest percent of good quality weight. Interaction between primary and secondary factors, close row planting with Bion treatment illustrated the highest potential of good quality weight. Study on seedling resistant induction, seedling stimulated by chitosan as inducer substances were primary factor, and then transferred to plots with inducer substance application as Bion, silisa-immune plus and chitosan were secondary factor. No significant differences of good quality weight between primary factor and secondary factor were revealed. However, seedling induction with chitosan and then silisa-immune plus, also seedling without chitosan afterward with Bion illustrated higher potential of good quality weight than other treatments.

Efficacy of plant volatile oil to control *Colletotrichum gloeosporioides* using poisoned food technique was studied. The eugenol active compound at concentration of 200 ppm inhibited on mycelial growth and spore germination completely. Additionally, the efficiency of plant volatile oil pouring in soil was tested for soil microbial controlling. Eugenol at 2500 ppm with soil moisture at 50 % and eugenol at 200 ppm with soil moisture at 100 % were effected to decreasing the number of soil microorganism. The fumigation of soil with eugenol and geraniol for 10 and 20 day resulted on decreasing the number of soil fungi and soil bacteria.

Contaminated detection of *Colletotrichum* causing anthracnose on chilli leave and fruit from plantation with PCR reaction were performed. Specific primer, Col1/Col2 were used and a single specific band of 460 bp size was observed for three species of *Colletotrichum* like *C. acutatum C. capsici and C. gloeosporioides.* The PCR detection of merely chilli fruit with outstanding observation was revealed, at the minimum of 25 % of disease contamination weight.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักเป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้ความรู้ ให้คำปรึกษาวิธีการดำเนินการวิจัย และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์ รวมทั้งช่วยเหลือในด้านอื่นๆ เสมอมา ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัติยา พงศ์พิสุทธา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณ ดร. บุญญวดี จิระวุฒิ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก และ ดร. จินตนา อันอาตม์งาม ประธานการสอบวิทยานิพนธ์ที่ให้ความกรุณาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอบพระคุณศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร สถาบันวิทยาการขั้นสูงแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาทางโรคพืช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่สนับสนุนห้องปฏิบัติการวิจัย อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ในการศึกษาวิจัยและภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่สนับสนุนโรงเรือนและแปลงปลูกพืชทดลอง ขอบคุณพี่ เพื่อน น้อง เจ้าหน้าที่ และบุคลากรภาควิชาโรคพืชทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือในระหว่างการศึกษาและทำวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดีตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ รวมทั้งทุกคนในครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนในการศึกษาตลอดมา

ท้ายที่สุดนี้ขอกราบขอบพระคุณบูรพาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาความรู้ด้านต่างๆ ให้แก่ข้าพเจ้าตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

นวรัตน์ อิ่มจิตร

กรกฎาคม 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	19
ผลและวิจารณ์	33
สรุป	78
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	80
ภาคผนวก	91
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	119

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาปฏิกิริยา PCR	31
2	ฐานข้อมูลเกษตรอินทรีย์	33
3	ปัจจัยการผลิตสำหรับการป้องกันศัตรูพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ที่รวบรวมจากมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ที่ใช้ในประเทศต่างๆ	35
4	การเจริญเติบโตของพริกในด้านความสูงของต้นพริกที่เกิดจากระยะการปลูกและสารทดสอบ	38
5	ผลของระยะปลูก และสารทดสอบที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี	40
6	อิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยหลัก และปัจจัยรองที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี	45
7	การเจริญเติบโตของพริกในด้านความสูงต้นของพริกที่มีต่อการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ	47
8	การทดสอบการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซานและสารทดสอบที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี	49
9	การทดสอบการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซานและสารทดสอบที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี	53
10	การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา และการยับยั้งการงอกของสปอร์ที่พัฒนาเป็นโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เกิดจากน้ำมันหอมระเหยและสารออกฤทธิ์	56
11	ปริมาณเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียทั่วไปจากดินเกษตรกรรม และดินพักแปลง ที่เจริญบนอาหารที่ผสมน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	59
12	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป (CFU/g) หลังการราดน้ำมันหอมระเหยลงดินความเข้มข้นต่างๆ ที่ความชื้นดิน 100 เปอร์เซ็นต์	60
13	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป (CFU/g) หลังการราดน้ำมันหอมระเหยลงดินความเข้มข้นต่างๆ ที่ความชื้นดิน 50 เปอร์เซ็นต์	61

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป (CFU/g) จากดินเกษตรกรรมที่ความชื้นดิน 2 เปอร์เซ็นต์ภายหลังการบ่มเชื้อนาน 10 20 และ 30 วัน	63
15	เปรียบเทียบขนาดแถบดีเอ็นเอของไพรเมอร์ ITS1/ITS4 ไพรเมอร์ Col1/Col2 และ ไพรเมอร์ Cg/f-Int/ITS4 ที่มีต่อเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก และเชื้อรา *Fusarium* sp. ที่ใช้ในการศึกษา	69

ตารางผนวกที่

1	ชนิดของแมลงศัตรูพริกและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย	96
2	ผลของระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี	97
3	อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี	98
4	ผลของระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง	100
5	อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง	101
6	ผลของระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส	103
7	อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส	104
8	ผลของกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี	106
9	อิทธิพลร่วมระหว่างกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี	107
10	ผลของกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง	109

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
11	อิทธิพลร่วมระหว่างกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง	110
12	ผลของการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส	112
13	อิทธิพลร่วมระหว่างการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส	113
14	ผลของระยะปลูก และสารทดสอบที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง และโรคแอนแทรคโนส	115
15	อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง และโรคแอนแทรคโนส	116
16	ผลของการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง และโรคแอนแทรคโนส	117
17	อิทธิพลร่วมระหว่างการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง และโรคแอนแทรคโนส	118

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปฏิทินการระบาดแมลงศัตรูพริก	3
2	การจัดเตรียมข้อมูลการจัดการศัตรูพืชแบบลดการใช้สารเคมี	19
3	ชุดทดสอบประสิทธิภาพการปรับใช้น้ำมันหอมระเหยในการใช้กับดิน	26
4	ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั่วไปจากดินเกษตรกรรม	58
5	แถบดีเอ็นเอของยีนไรโบโซมอลของเชื้อ *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก และเชื้อ *Fusarium* sp. ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1/ITS4 และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์	66
6	แถบดีเอ็นเอจากการสังเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. และเชื้อ *Fusarium* sp. ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ Col1/Col2 และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์	67
7	แถบดีเอ็นเอจากการสังเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. และเชื้อ *Fusarium* sp. ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ Cg/f-Int/ITS4 และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1เปอร์เซ็นต์	68
8	แถบดีเอ็นเอจากการสังเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ของเชื้อ *Colletotrichum gloeopsorioides* ที่เพิ่มปริมาณได้จากการทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ดีเอ็นเอจากชิ้นส่วนพริกหลังการปลูกเชื้อรา *C. gloeopsorioides* นาน 1 2 3 และ 4 วัน และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์	71
9	การพัฒนาอาการโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกหลังจากปลูกเชื้อ 1 2 3 และ 4 วัน ด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* isolate NKP098	73

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
10	แถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากการตรวจสอบด้วยปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ด้วยไพรเมอร์ Col1/Col2 จากสารแขวนลอยสปอร์ที่ปนเปื้อนบนใบพริก และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์	74
11	แถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากการตรวจสอบด้วยปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ด้วยไพรเมอร์ Col1/Col2 จากสารแขวนลอยสปอร์ที่ปนเปื้อนบนเนื้อเยื่อพริก และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์	75
12	แถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เพิ่มปริมาณได้จากการทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ดีเอ็นเอจากผสมผลพริกเป็นโรค และผลพริกปกติบดละเอียด ที่ระดับการปนเปื้อนต่างๆ ด้วยไพรเมอร์ Col1/Col2 และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์	77

ภาพผนวกที่

1	อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี	99
2	อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง	102
3	อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส	105
4	อิทธิพลร่วมระหว่างกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี	108
5	อิทธิพลร่วมระหว่างกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง	111
6	อิทธิพลร่วมระหว่างการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส	114

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แนวทางการลดการใช้สารเคมีเพื่อการจัดการโรคพืชในแปลงพริก

Strategies of Pesticide Usage Reduction for Plant Disease Management in Chilli Plantation

คำนำ

การปลูกพริกในประเทศไทยปลูกกันอยู่ทั่วไปทุกจังหวัด ขึ้นอยู่กับชนิดของพริก สถิติการปลูกตามชนิดพืชปี 2546/2547 รายงานว่า มีพื้นที่ปลูกพริกทั้งหมด 530,626 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2547) และพื้นที่ปลูกมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น ในปี 2547 มีการส่งออกพริกทำรายได้ให้ประเทศมีมูลค่า 1430.48 ล้านบาท ประโยชน์ของพริกนอกจากบริโภคสดแล้ว ยังนำไปใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูป เช่น การสกัดสารแคปไซซิน (capsicin) เพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ นอกจากนี้ยังนำสารสกัดพริกนี้ใช้แทนแก๊สน้ำตา และใช้ไล่มด และแมลงเป็นต้น (อรพรรณ และคณะ, 2547)

ปัญหาเรื่องโรค และแมลงศัตรูของพริกนับได้ว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่มีผลโดยตรงต่อการผลิต โดยเฉพาะปัญหาเรื่องการระบาดของศัตรูพืชซึ่งก่อความเสียหาย ทำให้ผลผลิตลดลงทั้งทางด้านคุณภาพ และปริมาณ ปัญหาโรค และแมลงที่สำคัญในพริก เช่น โรคแอนแทรค-โนส โรคใบหงิกหรือใบลาย โรคใบจุดแบคทีเรีย เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยไฟ เป็นต้น การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และฉีดพ่นอย่างสม่ำเสมอ สามารถนำมาใช้เพื่อลดความเสียหายของผลพริกได้ แต่นอกจากจะเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตแล้ว สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชยังมีโอกาสที่จะตกค้างในผลพริก ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และตกค้างในสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

เนื่องด้วยการค้ากับต่างประเทศ มีการปรับเปลี่ยนมาเป็นระบบการค้าเสรีภายใต้กรอบสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (sanitary and phytosanitary) ดังนั้นผู้ประกอบการจะมุ่งเน้นระบบการค้าที่ปลอดภัยจากสารเคมี การศึกษาถึงการระบบจัดการนิเวศวิทยาแปลงปลูกที่คล้ายคลึงกับธรรมชาติ โดยลดหรือเลี่ยงการใช้สารสังเคราะห์เพื่อให้ผลผลิตปลอดภัยจากอันตรายของสารพิษตกค้างทำให้ปลอดภัยทั้งผู้ผลิต ผู้บริโภค และไม่ทำให้สภาพแวดล้อมเสื่อมโทรม โดยที่แนวทางดังกล่าว จะมีประโยชน์หากนำมาประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมกับวิถีการเกษตรของเกษตรกร งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเพื่อเป็นแนวทางที่สามารถนำมาใช้เพื่อลดความเสียหายของผลพริกแบบลดการใช้สารเคมีได้ต่อไปในอนาคต

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปัจจัยการผลิตที่เหมาะสมในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก แบบอ้างอิงสภาพธรรมชาติ

2. เพื่อทดสอบระบบการจัดการแบบลดการใช้สารเคมี เพื่อลดความเสียหายต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ในสภาพแปลงปลูก

3. เพื่อคัดเลือกวิธีการสำหรับการตรวจสอบ และติดตามเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ในแปลงปลูกพริก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

ถิ่นกำเนิด และลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพริก

พริกเป็นพืชในวงศ์ Solanaceae จัดอยู่ในสกุล *Capsicum* เช่นเดียวกับ มะเขือ มะเขือเทศ มันฝรั่ง และยาสูบ (สุชีลา, 2549) มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา (Heiser, 1976) ในประเทศไทยมีพริกอยู่ 2 ชนิดคือ *Capsicum annuum* L. และ *Capsicum frutescens* L. (มณีฉัตร, 2541) พริกเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนชื้น ไม่ทนต่ออากาศหนาวจัด เมล็ดงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 25 องศาเซลเซียส เจริญได้ในดินแทบทุกชนิด แต่จะเจริญได้ดีในดินร่วนปนทราย และมีการระบายน้ำดี (บุญญวดี, 2540)

ระบบการแนะนำการจัดการศัตรูพืช

การจัดการศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพ และให้ความปลอดภัยต่อผลิตผล ผู้ผลิตควรจะมีการจัดเตรียม หรือรวบรวมข้อมูลที่จำเป็นในการผลิตพืช ก่อนที่จะดำเนินการเพาะปลูกให้เหมาะสมกับพืชดังเช่น กรมส่งเสริมการเกษตร (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551) ได้กำหนดให้ระยะการเจริญของพืชมาเป็นเกณฑ์กำหนดชนิดศัตรูพืช และวิธีการป้องกันกำจัด (ภาพที่ 1) ข้อมูลดังกล่าวสามารถที่จะสื่อให้ผู้สนใจ ทราบถึงการจัดการที่เชื่อมโยงในการผลิตพริก ตั้งแต่การเพาะกล้า จนถึงระยะที่ให้ผลผลิต

ภาพที่ 1 ปฏิทินการระบาดแมลงศัตรูพริก

ที่มา: กรมส่งเสริมการเกษตร (2551)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำแนะนำในการจัดการพืชแบบไม่ใช้สารเคมี จะพบได้ในแหล่งข้อมูลเกี่ยวกับการจัดการระบบอินทรีย์ เช่น http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop และ http://www.ifoam.org ซึ่งจะมีการรวบรวมข้อมูลของวิธีการปฏิบัติต่างๆ เช่น สารที่อนุญาตให้ใช้ในระบบเกษตรอินทรีย์ ข้อแนะนำในการควบคุมศัตรูพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ เป็นต้น

โรค และแมลงศัตรูของพริก

พริกที่ปลูกโดยทั่วไปในประเทศไทยมักประสบปัญหาการเข้าทำลายของศัตรูพืชหลายชนิด ซึ่งสามารถแบ่งแยกได้ตามลักษณะของเชื้อสาเหตุดังนี้

1. โรคที่เกิดจากเชื้อรา

1.1 โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose)

โรคแอนแทรคโนสหรือโรคกุ้งแห้งนับว่าเป็นโรคที่ทำความเสียหายในการผลิตพริกมากที่สุดโรคหนึ่ง มักมีการระบาดมากในเขตที่มีความชื้นสูงหรือฝนตกชุก เชื้อสาเหตุเข้าทำลายพริกได้ทุกระยะที่ผลพริกกำลังเจริญเติบโตสามารถทำให้ผลผลิตลดลงได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (ศุภลักษณ์, 2536) อาการของโรคจะเห็นได้ชัดเจนในระยะผลเริ่มสุก โดยเกิดรอยช้ำเป็นแอ่งยุบลงแล้วกลายเป็นแผลสีน้ำตาลรูปร่างรี ขนาดใหญ่ (ศศิธร, 2549) พร้อมกับการสร้าง fruiting body ที่เรียกว่า acervulus เป็นที่เกิดของสปอร์หรือ conidia เป็นจุดสีเหลืองส้มหรือน้ำตาลดำเป็นวง ๆ เรียงซ้อนกันอยู่ที่แผลดังกล่าว (ศักดิ์, 2537) เนื้อเยื่อบริเวณแผลที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะหยุดการเจริญในขณะที่บริเวณรอบ ๆ ยังเจริญต่อไป (ศศิธร, 2549)

เชื้อสาเหตุสำคัญที่เข้าทำลายพริก และก่อความเสียหายมาก คือ *Colletotrichum capsici* *C. gloeosporioides* และ *C. acutatum* (ปวีณา และคณะ, 2551; รัติยา และคณะ, 2553; Than *et al*., 2008) แผลที่เกิดจาก *C. capsici* จะมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำเพราะเชื้อสร้าง setae มาก conidia เซลล์เดียว ใส รูปร่างโค้งคล้ายพระจันทร์เสี้ยว ขนาดเฉลี่ย 9-16x6.6-11.5 ไมโครเมตร ส่วนเชื้อ *C. gloeosporioides* จะทำให้แผลยุบตัวลงเป็นแอ่ง สร้าง acevulus กลุ่มสปอร์มีสีส้ม conidia เซลล์เดียว ใส รูปร่างทรงกระบอก หัวท้ายมน ขนาด 9-24x3-4.5 ไมโครเมตร (ศุภลักษณ์, 2536; ศศิธร, 2549) และผลพริกที่มีลักษณะแผลแห้งสีเหลืองอ่อน ตรงกลางแผลพบรอยแห้งแตกสเก็ด เกิดจากเชื้อ *C. acutatum* โดยเชื้อสร้างสปอร์เซลล์เดียว รูปร่างตรง หรือ fusiform ปลายเรียวด้านใดด้าน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หนึ่งหรือทั้งสองด้าน อาจพบรอยคอดกลางสปอร์ ขนาดของสปอร์ 2.5-5.0x7.5-23.75 ไมโครเมตร (รัติยา และคณะ, 2553)

1.2 โรคยอดและดอกเน่า (Choanephora wet rot or blight)

เป็นโรคที่พบระบาดซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Choanephora cucurbitarum* อาการของโรคจะเริ่มจากส่วนปลายที่อ่อนของพืช เช่น ยอด ใบอ่อน หรือช่อดอก โดยจุดที่เชื้อเข้าทำลายจะทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นเน่าแฉะกลายเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำ มักพบเชื้อราสร้างก้านชูสปอร์สีเทาเข้มส่วนปลายเส้นใยเป็นตุ้มสีดำ เมื่อโรคระบาดรุนแรงส่วนยอดของต้นจะหักลงมา

ลักษณะของเชื้อสาเหตุ จะสร้าง sporangiospore รูปกระสวย หัวท้ายเรียวตรงกลางป่อง สีน้ำตาลที่ผนังของสปอร์จะมีริ้วสีเข้ม (straite wall) และมีรยางค์ติดเป็นกระจุกอยู่ที่ปลายทั้ง 2 ด้าน (ศศิธร, 2549)

1.3 โรคเหี่ยวเหลือง (Fusarium wilt)

พริกจะเกิดอาการเหี่ยวอย่างช้าๆ ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และหลุดร่วงในที่สุด ต้นพริกมักแสดงอาการของโรคนี้ในระยะที่กำลังติดดอกออกผล เมื่อผ่าลำต้นตามยาวจะพบว่า ท่อน้ำท่ออาหารเป็นสีน้ำตาล และเนื่องจากเชื้อราชนิดนี้อาศัยอยู่ในดิน เชื้อสาเหตุจึงเข้าทำลายรากก่อน และอาจพบเชื้อสาเหตุเจริญอยู่บริเวณโคนต้น ลักษณะเป็นเส้นใยละเอียดฟูสีขาว ในสภาพที่อากาศและ/หรือดินมีความชื้นสูงอาจพบ slime mass สีส้มอ่อนปนอยู่ที่ปลายเส้นใย เชื้อโรคที่เข้าทำลายพริกตั้งแต่ยังเล็กอาจทำให้เกิดอาการเน่าคอดิน (damping off) ทำให้กล้าแห้งตายล้มพับ ต้นที่รอดตายจะแคระแกรน เชื้อโรคที่เข้าทำลายพริกในระยะที่โตจะทำให้พืชชะงักการเจริญ และพริกจะตายได้ เมื่อเชื้อสาเหตุโรครุนแรง และสภาพแวดล้อมเหมาะต่อการเกิดโรค (ศศิธร, 2549)

สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici* (สุชีลา, 2549) และ *F. oxysporum* var. *vasinfectum* เชื้อสามารถสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เข้าทำลายพืชได้ 3 ชนิด คือ macroconidia เป็นสปอร์ขนาดใหญ่ ผนังบางใสรูปร่างคล้ายพระจันทร์เสี้ยว มีหลายเซลล์ microconidia เป็นสปอร์รูปไข่ ผนังบางค่อนข้างเล็ก ขนาด 1-2 เซลล์ และ chlamydospore ทำหน้าที่เป็นส่วนขยายพันธุ์ที่อยู่ข้ามฤดู และเข้าทำลายพืชได้ (ศศิธร, 2549)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.4 โรครากและโคนเน่า (Southern blight, root rot)

โรครากและโคนเน่าเกิดจากเชื้อ *Sclerotium rolfsii* โดยเชื้อจะเข้าทำลายตั้งแต่ระยะต้นกล้า อาการที่ปรากฏส่วนใหญ่อาการจะคล้ายกับโรคเหี่ยวเหลืองของเชื้อ *Fusarium* ทำให้ต้นพริกที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย แสดงอาการใบเหลือง เหี่ยว เนื้อเยื่อที่บริเวณราก และโคนต้นจะมีลักษณะเปียกหรือเป็นแผลสีน้ำตาล โดยที่โคนต้นระดับผิวดินจะมีเส้นใยสีขาวขึ้นปกคลุม และมีเม็ด sclerotium ปะปนอยู่กับเส้นใย

ลักษณะของเชื้อสาเหตุจะไม่พบการสร้างสปอร์ แต่จะสร้างเม็ด sclerotium ซึ่งเกิดจากเส้นใยพันกันจนเป็นเม็ดกลมสีขาว และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำเมื่อแก่เต็มที่ เม็ด sclerotium นี้เป็นโครงสร้างที่ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ช่วยให้อยู่ข้ามฤดูในดินได้นาน (ศุภลักษณ์, 2536, ศศิธร, 2549; สุชีลา, 2549)

1.5 โรคตากบ (Frog eye)

อาการเริ่มแรกจะเกิดกับใบแก่ที่อยู่ด้านล่างใกล้ผิวดิน ลักษณะแผลสีน้ำตาลค่อนข้างกลม ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม ตรงกลางแผลมีสีเทาถึงสีขาวซีด หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดโรค จะพบแผลตามก้านใบ ลำต้น กลีบดอก และขั้วของผล ทำให้ดอกและผลร่วง นอกจากนี้ยังทำให้ต้นทรุดโทรมอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นอีกด้วย (ศศิธร, 2549; สุชีลา, 2549)

สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อ *Cercospora capsici* มีการสร้าง conidia บนก้าน conidiophore ที่มีลักษณะเป็นกระจุก (cluster หรือ fascicle) conidia รูปร่างเรียวยาว ถึงโค้งเล็กน้อย (straight to straight curved) ขนาดประมาณ 3-4x50-200 ไมโครเมตร (Meon, 1990) ผนังบางใส มีผนังกั้นตามขวาง แต่ละ conidia มี 9-13 เซลล์ (ศศิธร, 2549)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.6 โรคราแป้ง (Powdery mildrew)

ลักษณะอาการของโรคจะปรากฏแผลสีเหลืองด้านบนใบ และด้านล่างใบที่ตรงกันมีผงหรือขุยสีขาวคล้ายผงแป้ง ซึ่งเป็นส่วนของเส้นใย และสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค ถ้าเชื้อราปกคลุมยอดอ่อน ดอกอ่อน หรือผลอ่อน มีผลทำให้ส่วนนั้นเสียรูปทรง และไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

เชื้อสาเหตุของโรคคือ *Oidiopsis* sp. เชื้อรานี้มักเจริญอยู่ที่ผิวนอกของพืชแล้วสร้าง houstoria ดูดน้ำเลี้ยงจากพืช (ศศิธร, 2549)

2. โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

2.1 โรคใบจุด (Bacterial spot)

โรคนี้พบมากในระยะที่ฝนตกชุก อากาศร้อนอบอ้าว ความชื้นในแปลงสูง มีรายงานว่าเกิดจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* เชื้อสาเหตุโรคทำให้ใบเกิดแผลจุดสีน้ำตาล-ดำขนาด 1-5 มิลลิเมตร ขอบแผลมีลักษณะช้ำฉ่ำน้ำ (water soaked) และมีบริเวณสีเหลืองซีด (halo) ล้อมรอบแผล นอกจากนี้อาจพบ bacterial exudate สีเหลืองอ่อนซึมออกมาจากแผล (ศศิธร, 2549)

2.2 โรคเหี่ยวเขียว (Bacterial wilt)

สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* E.F. smith (ศุภลักษณ์, 2536) ซึ่งต่อมาได้เปลี่ยนชื่อเป็น *Ralstonia solanacearum* โรคนี้สามารถเกิดได้กับทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช โดยเริ่มแรกส่วนยอดจะแสดงอาการเหี่ยวในตอนกลางวันที่มีอากาศร้อน และอาจฟื้นขึ้นใหม่เวลากลางคืน ถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสมพืชจะแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น และตายอย่างรวดเร็วภายใน 3-4 วัน เมื่อตัดลำต้นตามยาวหรือตามขวาง จะเห็นท่อน้ำท่ออาหารช้ำเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อ และอาจเห็นของเหลวสีครีม (bacterial ooze) ไหลออกมาจากรอยเปื้อน (สำหรับประเทศไทยโรคนี้ยังไม่สร้างความรุนแรงแก่พริก) (ศศิธร, 2549)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. โรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัส

โรคพริกที่เกิดจากเชื้อไวรัสที่ระบาด และทำความเสียหายนั้น ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของเชื้อไวรัส อายุพริก และชนิดพันธุ์พริก สภาพแวดล้อม และปริมาณของแมลงพาหะ เชื้อไวรัสที่พบแพร่ระบาด และทำความเสียหายแก่พริกที่ปลูกในประเทศไทย ได้แก่

3.1 โรคใบด่างที่เกิดจากเชื้อ *Cucumber mosaic virus* (CMV)

เชื้อไวรัสมีผลทำให้พริกแสดงอาการใบด่างสีเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม ต้นที่แสดงอาการของโรคอย่างรุนแรงจะมีอาการต้นแคระแกรน ไม่ติดผล อาจพบอาการใบลดรูปเนื่องจากเนื้อเยื่อใบไม่เจริญ และบางครั้งอาจพบอาการเซลล์ตายจากปลายยอดลงมา ส่วนที่ผลอาจพบผลพริกด่างเป็นวง ผิวหยาบบิดเบี้ยว สีไม่สด (ศศิธร, 2549)

เชื้อสาเหตุของโรคคือ *Cucumber mosaic virus* จัดอยู่ในกลุ่ม Cucumovirus มีรูปร่างเป็นแบบทรงกลมหลายเหลี่ยม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 28-30 นาโนเมตร สามารถถ่ายทอดได้ด้วยวิธีกล และเพลี้ยอ่อน นอกจากนี้ยังพบว่าพืชตระกูลแตงเป็นพืชอาศัยของเชื้อนี้อีกด้วย (ศศิธร, 2549)

3.2 โรคใบด่างจุดประที่เกิดจาก *Chilli veinal mottle virus* (CVMV)

เชื้อสาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อ *Chilli veinal mottle virus* มีอนุภาคท่อนยาวคด ขนาดประมาณ 780 นาโนเมตร เป็นเชื้อไวรัสในกลุ่ม Potyvirus มีความคงทนต่อสภาพแวดล้อม เชื้อสามารถถ่ายทอดได้โดยวิธีสัมผัส และเพลี้ยอ่อนสามารถถ่ายทอดไวรัสให้กับต้นพืชได้ทันที โดยที่ไวรัสที่เพลี้ยอ่อนรับมานั้นจะติดอยู่ที่ปลายปากของแมลง ไม่มีการเคลื่อนย้ายเข้าสู่ตัวแมลง ซึ่งเป็นการถ่ายทอดโรคในลักษณะ non-persistant viruses (สุพัฒน์, 2552)

พริกที่ถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายจะแสดงอาการด่างเขียวซีดที่บริเวณเนื้อใบส่วนเส้นใบยังมีสีเขียวปกติ พริกที่ถูกเชื้อเข้าทำลายรุนแรง ใบจะลีบเล็ก รูปร่างผิดปกติ ยอดหดสั้น ต้นเตี้ยแคระแกรน และต้นชะงักการเจริญเติบโต (ศศิธร, 2549)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3 โรคใบด่างที่เกิดจาก *Tobacco mosaic virus* (TMV)

พริกที่ถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายจะแสดงอาการใบด่างมีสีซีดระหว่างเส้นใบ ใบหงิกงอ ต้นแคระแกรน ผลที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะมีขนาดเล็ก และแสดงอาการแผลขีดบนผล เชื้อไวรัสสาเหตุโรคคือ *Tobacco mosaic virus* มีรูปร่างเป็นท่อนตรง ขนาดประมาณ 13x278 นาโนเมตร จัดอยู่ในกลุ่ม Tobamovirus มีความคงทนต่อความร้อนสูงถึง 65-70 องศาเซลเซียส และค่าความคงทนเมื่อถูกทำให้เจือจาง เท่ากับ 1:10000-1:100000 (สุภลักษณ์, 2536) การแพร่ระบาดของโรคเกิดขึ้นได้ง่ายโดยการสัมผัสหรือติดไปกับเครื่องมือต่างๆ และไวรัสชนิดนี้ไม่มีแมลงพาหะ

4. โรคที่เกิดจากไส้เดือนฝอย

4.1 โรครากปม (Root knot)

ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* แพร่ระบาดได้ดีในสภาพดินทราย ชนิดของไส้เดือนฝอยที่สร้างความเสียหายคือ *M. incognita* ส่วน *M. arenaria* และ *M. hapla* จะพบว่าสร้างความเสียหายเป็นครั้งคราว โดยไส้เดือนฝอยจะทำให้รากเกิดปุ่มปมทั่วระบบราก จากการที่รากเกิดปุ่มปมนี้ทำให้เกิดการแย่งอาหาร และน้ำ ส่งผลให้พืชเจริญเติบโตช้า ต้นเหี่ยว เหลืองซีด แคระ-แกรน ผลผลิตต่ำและคุณภาพไม่ดี (สุชีลา, 2549)

5. โรคที่เกิดจากการขาดธาตุ

5.1 โรคใบลายที่เกิดจากการขาดธาตุแมกนีเซียม (Mg deficiency)

ใบพริกจะแสดงอาการเนื้อใบเหลือง แต่เส้นกลางใบยังมีสีเขียวเข้ม ลักษณะเช่นนี้เกิดจากปริมาณแมกนีเซียมซึ่งเป็นองค์ประกอบในการสร้างคลอโรฟิลล์ไม่สมดุล ทำให้การสร้างคลอโรฟิลล์ในกระบวนการสังเคราะห์แสงไม่สมบูรณ์ ส่งผลให้พริกสร้างอาหารได้น้อยลง ทำให้ต้นไม่สมบูรณ์ (ศศิธร, 2549)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.2 โรคยอดเหลืองที่เกิดจากการขาดธาตุเหล็ก (Fe deficiency)

พริกที่ขาดธาตุเหล็กจะแสดงอาการใบยอดเหลืองถึงซีดขาว ใบมีขนาดเล็กลง ข้อปล้องหดสั้น อันเนื่องมาจากการขาดธาตุที่เป็นองค์ประกอบในการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ และโปรตีน นอกจากนี้ยังช่วยในการดูดซึมธาตุอาหารชนิดอื่น ๆ อีกด้วย (ศศิธร, 2549)

6. แมลง และไรศัตรูพริก

6.1 เพลี้ยอ่อน (Aphids)

เพลี้ยอ่อนจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน ทำให้เส้นใบหดย่น บิดเบี้ยวเสียรูปทรง และพบว่าเพลี้ยอ่อนมีการปล่อยสิ่งขับถ่าย (honey drew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำทำให้เชื้อราเจริญปกคลุมบนใบ ส่งผลให้พืชเจริญเติบโตได้ไม่เต็มที่ นอกจากนั้นยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสอีกด้วย (ศศิธร, 2549; สุชีลา, 2549)

6.2 เพลี้ยไฟ (Thrips)

เพลี้ยไฟเข้าทำลายยอด ใบอ่อน และตาดอก โดยการดูดกินน้ำเลี้ยง ทำให้ใบอ่อนแคบเรียวยาวและหดย่น เมื่อใบแก่ขึ้นจะเป็นรอยด่านสีน้ำตาล เมื่อถูกดูดกินน้ำเลี้ยงนานๆ ใบมีอาการเหลืองแห้งกรอบ และหลุดร่วง ถ้าเพลี้ยไฟเข้าทำลายอย่างรุนแรง จะพบอาการยอดกุด ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ (ศศิธร, 2549; สุชีลา, 2549)

6.3 แมลงวันผลไม้ (Oriental fruit fly)

แมลงวันทองตัวเต็มวัยเพศเมียจะใช้อวัยวะวางไข่ (ovipositor) แทงผลพริกใกล้สุกหรือสุกเพื่อวางไข่ เมื่อตัวหนอนฟักจากไข่จะอาศัยอยู่ภายในบริเวณใต้ผิวพริก ซึ่งอาศัยอวัยวะส่วนหัวที่เรียกว่า mouth hook มีลักษณะเป็นขอแข็งแรงใช้ชอนไชกินเนื้อเยื่อภายในผลพริก ถ้ามองจากภายนอกจะเห็นรอยเป็นทางอยู่ภายในผลพริก หากผ่าผลพริกจะเห็นรกพริกเป็นสีดำบางครั้งเรียกว่าอาการไส้ดำ ต่อมาผลพริกที่ถูกทำลายจะเกิดอาการเน่าและร่วงจากต้น (นิรนาม, 2554ก; นิรนาม, 2554ข; นิรนาม, 2554ค)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6.4 ไรขาว (Mites)

ไรขาวจะเกาะดูดกินน้ำเลี้ยงบนใบอ่อนพืช ทำให้ขอบใบม้วน ใบอ่อนเล็กแคบ ใบพริกที่ถูกไรขาวดูดกินน้ำเลี้ยงมักร่วงเป็นจำนวนมาก จึงเกิดอาการยอดกุดแห้งตาย เนื่องจากไรขาวทั้งตัวอ่อน และตัวแก่ได้ดูดกินน้ำเลี้ยงทำให้พริกแคระแกรน ไม่เจริญเติบโต และชะงักการติดดอกออกผล ไรขาวจะขยายพันธุ์ และแพร่ระบาดทำลายพืชมากในช่วงที่อากาศแห้ง และเย็น (ศศิธร, 2549; สุชีลา, 2549)

7. ระบบการควบคุมโรคในพริก

การควบคุมโรคที่ดีและมีประสิทธิภาพ จำเป็นต้องมีการควบคุมตั้งแต่ในแปลงปลูก เพื่อที่จะสามารถควบคุมโรค และลดความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค โดยเฉพาะโรคที่มีการเข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) เช่น โรคแอนแทรคโนส เป็นต้น แนวทางปฏิบัติในการควบคุมโรคที่สำคัญคือ การใช้เมล็ดพันธุ์ปลอดโรค การใช้พันธุ์ต้านทานโรค การควบคุมโรคโดยการเขตกรรม ตลอดจนการใช้สารป้องกันและกำจัดศัตรูพืชซึ่งเป็นวิธีที่ได้ผลอย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพสูง เกษตรกรไม่สามารถทำด้วยวิธีการใดวิธีการหนึ่งเพียงอย่างเดียว จะต้องผสมผสานหลายๆ วิธีเข้าด้วยกัน เพื่อลดการเข้าทำลายของศัตรูพืช

1. การควบคุมโรคพริกโดยใช้สารเคมี

Hingole *et al.* (2004) ศึกษาสารเคมีควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้แก่ penconazole 10 EC (0.05 เปอร์เซ็นต์) copper oxychloride 50 WP (0.25 เปอร์เซ็นต์) mancozeb ผสม metalaxyl 72 WP (0.25 เปอร์เซ็นต์) carbendazim 50 WP (0.10 เปอร์เซ็นต์) aureofungin 46.15 sol. (0.02 เปอร์เซ็นต์) hexaconazole 5 EC (0.05 เปอร์เซ็นต์) propiconazole 25 EC (0.10 เปอร์เซ็นต์) และ captan 50 WP (0.25 เปอร์เซ็นต์) พบว่า การใช้ mancozeb ผสม metalaxyl มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้สูงสุด แต่เมื่อศึกษาถึงผลตอบแทนพบว่าการใช้ propiconazole และ carbendazim จะให้ผลตอบแทน (ต้นทุน:กำไร) ในอัตรา 1:15.36 เมื่อเปรียบเทียบกับ mancozeb ผสม metalaxyl ซึ่งให้ผลตอบแทนเพียง 1:2.92 ซึ่งประสิทธิภาพของสารเคมี จะมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Gopinath *et al.* (2006) ที่รายงานว่า สาร propiconazole ที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย การผลิตสปอร์ และการงอกของสปอร์ ของเชื้อ *C. capsici* ทั้งสภาพเรือนปลูกพืช และแปลงทดลองได้เช่นกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การใช้สารเคมีในการควบคุมโรคพืชนั้นเป็นวิธีที่ได้ผลดีและรวดเร็ว แต่การใช้สารเคมีติดต่อกันเป็นเวลานาน อาจชักนำให้เชื้อสาเหตุโรคสร้างความต้านทานต่อสารเคมีขึ้นได้ Jeffries *et al.* (1990) รายงานว่า เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส แสดงความต้านทานต่อสาร benomyl เมื่อใช้ในปริมาณที่มากเกินไป นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถต้านทานต่อสาร benomyl ได้ทั้งในระยะก่อนและหลังเก็บเกี่ยว (Spalding, 1982; Jeffries *et al*., 1990)

2. การควบคุมโรคพืชโดยใช้สารธรรมชาติ

การนำสารสกัดจากพืชมาใช้ควบคุมศัตรูพืชเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยลดการใช้สารเคมีให้น้อยลง เนื่องจากสารสกัดจากพืชธรรมชาติสลายตัวได้ง่าย ไม่สะสม นอกจากนี้แล้วยังเป็นทางเลี่ยงและลดปัญหาสารตกค้างในผลผลิต ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและเป็นการคำนึงถึงคุณภาพสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

อรพรรณ และจุมพล (2547) รายงานว่า การควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริกโดยใช้สารธรรมชาติ 5 ชนิดคือ Forgreen Pisatin Super-bio Polymer-s และ Sea weed น่าจะช่วยลดความเสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนสพริกได้ แต่อาจจะต้องเพิ่มอัตราการใช้และเพิ่มความถี่ในการพ่น หรืออาจต้องใช้ร่วมกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสพริก

Krishna *et al.* (2007) รายงานว่า เมื่อทำการพ่นน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจาก clove ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการปลูกเชื้อ *Pheoisariopsis personata* 10 นาที สามารถลดการเกิดโรคได้ 58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารดังกล่างมีประสิทธิภาพดีกว่าการพ่นสารออกฤทธิ์ citral น้ำมันหอมระเหย cinnamon หรือ น้ำมันหอมระเหย clove ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ และสารออกฤทธิ์ eugenol และ linalool ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

Stuart *et al.* (2008) ได้แสดงให้เห็นว่า เมื่อใช้น้ำมันหอมระเหย geraniol lemonglass และ tea tree ร่วมกับสาร kaolin ในการควบคุมโรคใบจุดเหี่ยวมะเขือเทศ (tomato spotted wilt) สามารถลดการเกิดโรคได้ 32-51 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2005 ส่วนในปี 2006 การเกิดโรคลดลง 6-25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม จากการทดลองพบว่า เมื่อประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เช่น น้ำมันหอมระเหย และสาร kaolin ประสบความสำเร็จในการลดการใช้สารเคมีกับมะเขือเทศได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Sutarya *et al*. (2009) ได้ศึกษาการใช้วัสดุคลุมแปลงร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์ พบว่า สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนส และลดการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ได้ และจากการตรวจติดตามแมลงศัตรูของพริกในสภาพแปลง พบว่า เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยไฟ เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของพริก หลังจากปลูกพริก 38 และ 48 วัน จะพบเพลี้ยอ่อนเป็นจำนวนมาก ส่วนเพลี้ยไฟจะพบมากหลังจากปลูกพืชนาน 58 และ 78 วัน การใช้วัสดุคลุมแปลง และการไม่ใช้วัสดุคลุมแปลง มีผลต่อปริมาณเพลี้ยอ่อน และเพลี้ยไฟที่ตรวจในแปลงปลูกพริกอย่างไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3. การควบคุมโรคพืชโดยการกระตุ้นความต้านทานในพืช

การชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช เกิดจากการกระตุ้นกลไกชักนำความต้านทานทั้งระบบ (induced systemic resistance, ISR) และกลไกความต้านทานแบบแพร่กระจาย (systemic acquired resistance, SAR) การชักนำความต้านทานโรคอาจเกิดจากการกระตุ้นกิจกรรมทางชีวภาพ ทางเคมี หรือจากสภาวะเครียด (stress) ซึ่งเกี่ยวกับการผลิตสารเคมีหรือเอนไซม์

Oxidative burst เป็นกิจกรรมการตอบสนองของพืชที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางชีวเคมี โดยเกิดการสะสมของ phytodecin และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานของพืช (pathogenesis-related proteins: PR proteins) เช่น เอนไซม์ chitinase และ เอนไซม์เบต้า-1, 3-glucanase ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนอิออน ที่ชั้นพลาสมาเมมเบรน (plasma membrane) ก่อให้เกิดการแตกตัวของออกซิเจน เพื่อการสร้าง nitric oxide (NO) และสารพวก reactive oxygen intermediates (ROI) ได้แก่ hydrogen peroxide และ superoxide สารดังกล่าวจะไปกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงโปรตีนของพืชในกลุ่ม kinase และเอนไซม์ NADPH oxidase เป็นต้น ทำให้เกิดการสะสมของสารตัวกลาง และเอนไซม์ของกระบวนการ phenolic accumulation pathway ซึ่งประกอบด้วย เอ็นไซม์ Phenylalanine Ammonia Lyase (PAL) เอ็นไซม์ Peroxidase (POX) สาร salicylic acid (SA) และสาร benzoic acid ในกระบวนการกระตุ้นให้เกิดความต้านทานยังมีการสร้างสาร jasmonic acid (JA) และ ethylene ซึ่งเกี่ยวข้องกับการตอบสนองให้เกิดความต้านทานทั้งระบบ (ISR) อันเป็นผลจากการกระตุ้นให้พืชสร้างโปรตีน (PR protein) และ phytoalexin นอกจากนี้ยังพบว่า สาร salicylic acid (SA) มีผลต่อเชื้อสาเหตุโรคหรือเป็นโมเลกุลสัญญาณ (signal molecule) ซึ่งจะส่งสัญญาณเป็นตัวกลางให้พืชเกิดความต้านทานแบบแพร่กระจาย (SAR) อีกด้วย (Agrios, 2005)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การศึกษาสารเคมีเพื่อกระตุ้นระบบความต้านทานในพืชแบบแพร่กระจายได้มีรายงานในปี 1961 โดย Ross (1961) รายงานว่า เมื่อเชื้อสาเหตุเข้าทำลายพืชบางชนิดจะสามารถกระตุ้นระบบความต้านทานในพืชได้ นอกจากนี้สารเคมี ประเภท salicylic acid และ 2, 6-dichloro-isonicotinic acid (INA) (Métraux *et al.*,1991; Uknes *et al.*, 1992) ก็พบรายงานการกระตุ้นระบบความต้านทานในพืชเช่นกัน แต่บางครั้งสารเคมีดังกล่าวจะมีความเป็นพิษต่อพืชจึงทำให้สารที่ค้นพบ ไม่สามารถผลิตเป็นการค้า สารประกอบบางชนิด เช่น acibenzolar-*S* -methyl (ABM) หรือ benzothiadiazole (BTH) ไม่มีความเป็นพิษต่อพืช และมีการผลิตเพื่อจำหน่ายในกลุ่มประเทศสหภาพยุโรปใช้ชื่อการค้าคือ BION (Syngenta Ltd., Basel, Switzerland) และในประเทศสหรัฐอเมริกาใช้ชื่อการค้าว่า Actigard (Syngenta Crop Protection Inc, Greensboro, North Carolina)

สาร ABM สามารถกระตุ้นให้ข้าวสาลีต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค (Görlach *et al*.,1996; Morris *et al*., 1998) นอกจากนี้ยังพบว่า สามารถกระตุ้นความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราและแบคทีเรียให้กับถั่ว (Siegrist, 1997) สารกระตุ้นความต้านทานนี้ไม่สามารถใช้แทนสารเคมีกำจัดเชื้อราและแบคทีเรีย แต่สามารถนำมาเป็นทางเลือกในการลดการใช้สารเคมี (Ortega *et al*., 1998; Lyon and Newton, 1999)

Romero *et al*. (2001) ศึกษาการประยุกต์ใช้สาร ABM (Actigard 50 WG) พ่น Bell pepper ในการป้องกันโรคใบจุดแบคทีเรีย ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* พบว่า เมื่อพ่น ABM หรือ ABM ร่วมกับทองแดงทุก 2 สัปดาห์ จะสามารถควบคุมโรคได้เท่ากับกรรมวิธีการใช้สารเคมี maneb ร่วมกับทองแดง เช่นเดียวกับ Matheron และ Porchas (2002) ที่ทดสอบการพ่น ABM ความเข้มข้น 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 4 ครั้ง มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค Phytophthora blight of pepper ได้ดีกว่ากรรมวิธีการใช้สารเคมี mefenoxam (Ridomil Gold 44WP) ใน Bell Tower (Syngenta Seeds, Inc., Gilroy, CA) และ chilli pepper cvs. AZ9 (Curry Seed Co., Pearce, AZ) และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของความถี่ในการพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร 1 ครั้ง พริกจะแสดงอาการสัปดาห์ที่ 4 ส่วนการพ่นสาร 4 ครั้ง พริกจะแสดงอาการสัปดาห์ที่ 5 หลังจากที่พ่นสาร เช่นเดียวกับ Kousik และ Subramanya (2001) ที่ได้รายงานว่าการใช้สาร ABM 4 ครั้ง จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรค Phytophthora blight of bell pepper ได้ดีกว่าการพ่นสาร ABM เพียงครั้งเดียว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Eikemo *et al.* (2003) รายงานว่าเมื่อใช้สาร ABM และสารไคโตซานในการควบคุมโรคพืช พบว่าสารทั้งสองชนิดให้ผลในการลดการเกิดโรค Crown rot ของสตอเบอร์รี่ ที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora cactarum* ได้ไม่แตกต่างกัน ภายหลังจากที่พืชได้รับสาร ABM หรือสารไคโตซาน ก่อนการปลูก 5 หรือ 15 วัน จากการทดสอบพบว่าไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 50 และ 500 ไมโครกรัมสารออกฤทธิ์ต่อมิลลิลิตร สามารถชะลอการเจริญของเชื้อรา *P. cactarum* ได้ โดยทั้งสาร ABM และสารไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมสารออกฤทธิ์ต่อมิลลิลิตร สามารถลดอัตราการเจริญของเชื้อ *P. fragirial* var. *fragariae* ได้

Bell *et al*. (1998) รายงานว่าอิทธิพลของสารไคตินและไคโตซาน ที่มีต่อการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค Fusarium yellow ของคื่นฉ่าย (Celery) และจำนวนของเชื้อ *Fusarium oxysporum* พบว่า การใส่ไคตินในดินก่อนการปลูกพืชทำให้การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคลดน้อยลง ในขณะที่เมื่อนำรากจุ่มลงในไคโตซานแม้จะไม่สามารถลดการเกิดโรคได้ แต่ก็สามารถลดความรุนแรงของโรคลงได้ถ้าหากใช้ร่วมกับพันธุ์ต้านทาน ภายหลังจากการตรวจสอบดินในปีที่สองของการทดลอง พบว่า ดินที่ใส่ไคตินลงไปเชื้อแบคทีเรียและแอคติโนมัยสีทจะเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามทั้งสองวิธีการก็ไม่มีผลในการลดลงของประชากรของเชื้อ *F. oxysporum* ที่อยู่ในดิน

ธวัช (2548) รายงานว่า การใช้สารละลายไคโตซานเข้มข้น 800 และ 1600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พีเอช 4.50 สามารถยับยั้งการงอกของโคนิเดีย และยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้อย่างสมบูรณ์ตามลำดับ และผลการจุ่มผลมะม่วงในสารละลายไคโตซานเข้มข้น 6,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พีเอช 5.00 และปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงภายหลังการเก็บเกี่ยว เช่นเดียวกับเกศนรี (2544) รายงานว่า สารละลายไคโตซานสามารถชักนำให้มีการสร้างเอนไซม์ไคติเนส และเอนไซม์เบต้า-1,3-กลูคาเนส และเอนไซม์ทั้งสองนั้นมีการทำงานร่วมกันแบบส่งเสริมกันเพื่อป้องกันตัวเองจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสบนใบอ่อน

นอกจากนี้มีรายงานว่าสารไคโตซานมีผลในการยับยั้งเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวในผักและผลไม้ได้หลายชนิด เช่น *Alternaria alternata Fusarium oxysporum Rhizopus stolonifer* และ *Penicillium* spp. โดยการทดสอบการยับยั้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อราที่ผสมไคโตซานในความเข้มข้นที่แตกต่างกันไป (Hirano and Nagao, 1989; Benhamou, 1992; Reddy *et al*., 1997) El Ghaouth *et al*. (1992) รายงานว่า ผลสตรอเบอร์รี่ที่มีการปลูกเชื้อรา *Botrytis cinerea* หรือ *Rhizopus stolonifer* แล้วชุบด้วยสารละลายไคโตซานเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บรักษาไว้ 14 วันจะพบว่าการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เน่าเสียจากเชื้อรา *B. cinerea* หรือ *R. stolonifer* ลดน้อยลงและจะยิ่งลดลงไปอีกถ้าหากว่ามีการเพิ่มความเข้มข้นของไคโตซานเป็น 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่านี้จะไม่สามารถลดความเสียหายลงไปได้อีก โดยไคโตซานจะไปมีผลในการยับยั้งการงอกของโคนิเดีย และการยืดยาวของ germ tube อีกทั้งทำให้รัศมีการเจริญเติบโตของเชื้อรา *B. cinerea* และ *R. stolonifer* ที่เจริญบนอาหารลดลง

เทคนิคอณูชีววิทยาเพื่อการตรวจติดตามเชื้อราสาเหตุโรค

ปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพได้เข้ามามีส่วนช่วยในการพัฒนาวิธีวินิจฉัยโรค การใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะในปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PCR) ถูกนำมาใช้เพื่อการตรวจติดตาม และการจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคโดยปราศจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม ทำให้การวินิจฉัยโรคทำได้ง่าย รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น การตรวจติดตามเชื้อโดยตรงจะเป็นไปได้สะดวกในปัจจุบัน ส่วนการตรวจติดตามเชื้อที่ปนอยู่ในวัสดุ หรือผลผลิตอื่นๆ บางครั้งจะให้ผลที่แตกต่างกันกับการตรวจเชื้อโดยตรง ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อจะเข้าทำลายแบบแฝง (latent infection) ตั้งแต่ก่อนการเก็บเกี่ยว และเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดโรคส่วนของเชื้อที่พักตัวในพืช จะแสดงอาการของโรคทั่วทั้งแปลง ทำให้การควบคุมโรคนั้นเป็นไปได้ยาก วิธีการที่เหมาะสมในการติดตามเชื้อสาเหตุโรคในสภาพแปลงจำเป็นต้องมีความแม่นยำ และรวดเร็วในการพยากรณ์การเกิดโรค

Ribosomal RNA (rRNA) จะประกอบด้วยส่วนอนุรักษ์ (conserve) และส่วนผันแปร (diverse) ที่มีจำนวนชุดเรียงซ้ำๆ กันตั้งแต่หนึ่งถึงหลายร้อยชุด ในจีโนม rRNA นี้ประกอบด้วยยีน 18S 5.8S 28S internal transcribed spacer 1 (ITS1) และ internal transcribed spacer 2 (ITS2) (White *et al.,* 1990) ซึ่งสามารถใช้ในการตรวจสอบเชื้อราในระดับสกุล และระดับชนิดได้

Martinez *et al.* (2003) ศึกษาเชื้อรา *Colletotrichum acutatum C. fragriae* และ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของสตอเบอร์รี่ โดยใช้เทคนิค PCR เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณ 5.8S และ ITS ด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบคือ Col1/Col2 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้จำเพาะต่อเชื้อราสกุล *Colletotrichum* ทุก species และให้แถบดีเอ็นเอขนาด 462 คู่เบส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Chen *et al*. (2006) ใช้เทคนิค PCR เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณ 5.8S ITS1 และ ITS2 ออกแบบไพรเมอร์ Colg1/Colg2 สำหรับตรวจเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ ไพรเมอร์ Colg1/CT2 สำหรับตรวจเชื้อรา *C. truncatum* ไพรเมอร์ทั้งสองสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอให้แถบดีเอ็นเอขนาด 443 และ 375 คู่เบส ตามลำดับ และเมื่อนำไพรเมอร์นี้ไปทำปฏิกิริยา PCR กับดีเอ็นเอต้นแบบที่สกัดได้จากฝักและต้นที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* เข้าทำลาย พบว่าได้ผลการทดลองที่สอดคล้องกันคือ สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอของเชื้อ *C. gloeosporioides C. truncatum* และ *G. cingulata* ที่แยกจากฝักและต้นได้

Jitareerat *et al*. (2006) ศึกษาวิธีการตรวจเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง โดยใช้เทคนิค PCR พบว่า ไพรเมอร์ CgInt/ITS4 มีความจำเพาะต่อเชื้อรา *Colletotrichum* spp. (19 ไอโซเลท) แต่ไม่จำเพาะต่อดีเอ็นเอของเชื้อรา *Phomopsis* sp. *Lasiodiplodia theobromae* และ *Aspergillus niger* ส่วนไพรเมอร์ ITS1/ITS4 ไพรเมอร์ ITS4/ITS5 และไพรเมอร์ CAP20/CAP20-R มีความจำเพาะต่อเชื้อ *Colletotrichum* spp. โดยให้แถบดีเอ็นเอขนาด 590 590 และ 610 คู่เบสตามลำดับ นอกจากนี้ได้ออกแบบไพรเมอร์ Cgm PG2/Cgm PG2-R จากยีน polygalacturonase ของเชื้อ *C. gloeosporioides* แต่เมื่อนำไปทดสอบพบว่า ไม่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *Colletotrichum* spp. ที่นำมาศึกษา และพบว่าไพรเมอร์ CgInt/ITS4 มีประสิทธิภาพในการตรวจเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในเปลือกมะม่วงดิบ (ไม่แสดงอาการโรค) และเปลือกมะม่วงสุกมีแสดงอาการโรคได้ไม่แตกต่างกัน

Tiesen *et al*. (2007) ศึกษาเชื้อรา *Plasmodiophora brassicae* ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากบวม (Clubroot) ของพืชตระกูลกะหล่ำ พบว่าเชื้อราสามารถสร้างสปอร์พักตัวอยู่ในแปลงปลูกได้เป็นเวลานาน ด้วยเหตุนี้จึงมีการพัฒนาทางด้านเทคนิค PCR เพื่อใช้ตรวจเชื้อดังกล่าวจากตัวอย่างพืชและดิน ไพรเมอร์ที่ออกแบบมี 2 คู่ พบว่าคู่ TC1F/TC2R เพิ่มปริมาณส่วนของยีน 18S ribosomal RNA (rRNA) ไพรเมอร์ TC2F/TC2R เพิ่มปริมาณในบริเวณ 18S และ internal transcribed spacer 1 (ITS1) ไพรเมอร์ทั้ง 2 นี้สามารถตรวจสอบเชื้อราและสปอร์ที่ปนเปื้อนในดินได้ 100 พิโคกรัม และ $1x10^3$ สปอร์ต่อกรัมดินได้ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Zhao *et al*. (2007) ออกแบบไพรเมอร์ PSF และ PSR จากบริเวณ internal transcribed spacer (ITS) ของเชื้อรา *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* พบว่าไพรเมอร์ PSF/PSR สามารถแยกความแตกต่างเชื้อรา *P. striiformis* f. sp. *tritici* กับเชื้อราชนิดอื่นๆ ซึ่งให้แถบดีเอ็นเอขนาด 169 คู่เบส จากนั้นเก็บตัวอย่างใบที่ไม่แสดงอาการของโรคในแปลงปลูกข้าวสาลี และใบข้าวสาลีที่ปลูกเชื้อในเรือนทดลอง มาตรวจสอบด้วยไพรเมอร์ดังกล่าว พบว่า ไพรเมอร์สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็น-เอของเชื้อ *P. striiformis* f. sp. *tritici* ในตัวอย่างใบข้าวสาลีในสภาพแปลงปลูก และพบแถบดีเอ็นเอขนาด 169 คู่เบส จากตัวอย่างใบข้าวสาลีที่ปลูกเชื้อนาน 4 วัน

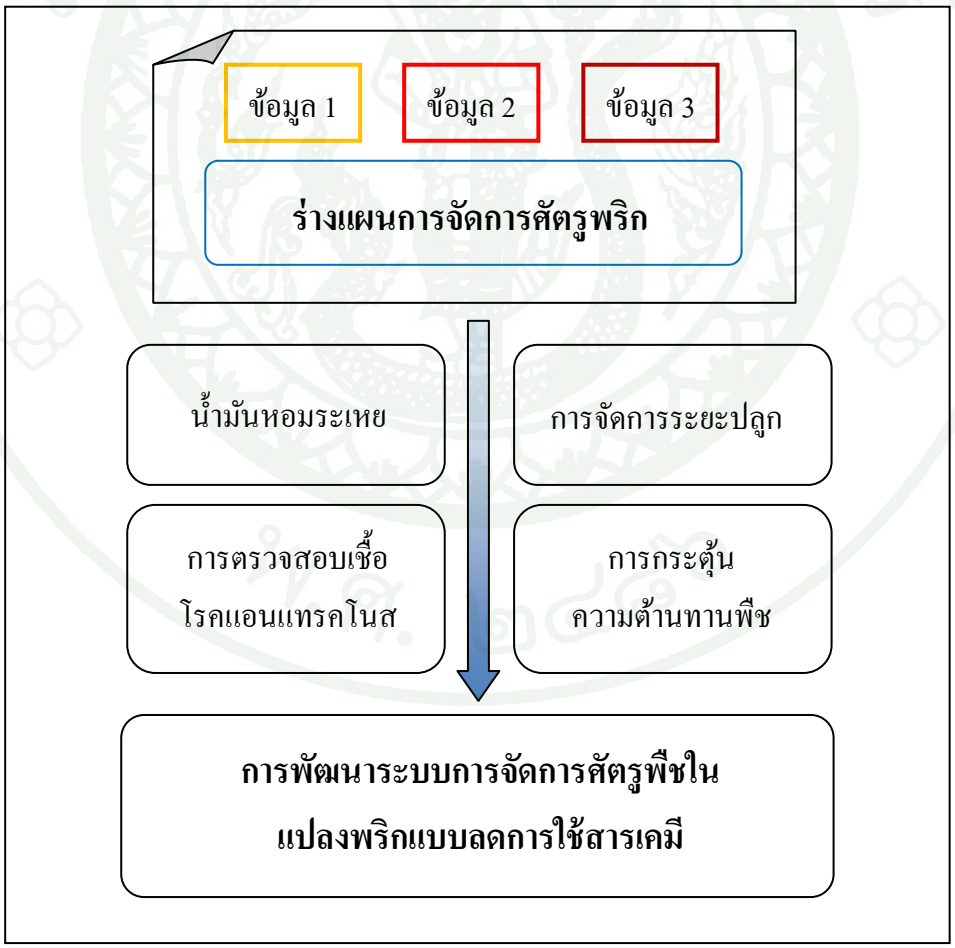
Pedley (2009) ศึกษาเชื้อรา *Puccinia horiana* สาเหตุโรคราสนิมขาว (white rust) ของเบญจมาศ (*Chrysanthemum monifolium*) โดยทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณส่วนปลายของบริเวณ 18S rDNA-ITS1-5.8S rDNA-ITS2 และส่วนปลายของบริเวณ 28S rDNA ของเชื้อรา *P. horiana* จำนวน 14 isolate และ *P. chrysanthemi* จำนวน 1 isolate ด้วย universal primer ITS5 ร่วมกับ ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อราสนิมคือไพรเมอร์ Rust1 ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 1300 คู่เบส และนำข้อมูลลำดับเบสมาออกแบบไพรเมอร์ได้ไพรเมอร์ 5 คู่ พบว่า ไพรเมอร์ Ph-F1/Ph-R1 มีความจำเพาะต่อเชื้อ *P. horiana* สามารถเพิ่มปริมาณให้แถบดีเอ็นเอขนาด 242 คู่เบส ส่วนความไว (sensitivity) ที่ไพรเมอร์สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อราได้ต่ำสุดคือที่ 1 นาโนกรัม ด้วยวิธี conventional PCR และได้ต่ำสุดที่ 1 พิโคกรัม ด้วยวิธี real time PCR จากนั้นนำไพรเมอร์มาทดสอบความสามารถในการตรวจสอบเชื้อราจากตัวอย่างพืช พบว่า วิธี real time PCR สามารถตรวจพบเชื้อราได้หลังจากปลูกเชื้อ 3 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี conventional PCR จะต้องปลูกเชื้อนาน 6 วันจึงจะสามารถตรวจพบเชื้อราได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. แหล่งข้อมูลในการเตรียมแผนการจัดการศัตรูพืชแบบลดการใช้สารเคมี

ทำการรวบรวมแผนจัดการศัตรูพืชที่อนุญาตให้ใช้ในมาตรฐานเกษตรอินทรีย์จากประเทศต่างๆ ได้แก่ ระบบการผลิตเกษตรอินทรีย์ของกรมวิชาการเกษตร (กรมวิชาการเกษตร, 2543) การผลิตเกษตรอินทรีย์ของสหภาพยุโรป (European Union, 2008) และสหรัฐอเมริกา (United States Department of Agriculture, 2008) จัดทำเป็นร่างแผนการจัดการศัตรูพืชในพริกแบบลดการใช้สารเคมี เพื่อนำไปทดสอบการปฏิบัติได้ในแปลง หรือพื้นที่ผลิต โดยมีประเด็นที่สำคัญ ได้แก่ การจัดการระยะปลูก การกระตุ้นความต้านทานพืช การใช้น้ำมันหอมระเหย และการตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การจัดเตรียมข้อมูลการจัดการศัตรูพืชแบบลดการใช้สารเคมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การทดสอบระบบการจัดการศัตรูพริกในระดับแปลงทดลอง

ทำการเพาะกล้าพริกสายพันธุ์ Super hot (บริษัท อีสต์ เวสท์ ซีดส์ จำกัด) จนมีอายุ 45 วัน ภายใต้โรงเรือนตาข่าย ดูแลให้น้ำ โดยทำการทดลอง 2 รอบการปลูก รอบการปลูกที่ 1 ช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนธันวาคม 2551 เพื่อทดสอบระยะปลูก และสารทดสอบ และรอบการปลูกที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายน 2552 ถึงเดือนมีนาคม 2553 เพื่อทดสอบการกระตุ้นต้นกล้า และสารทดสอบที่มีต่อพริก การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ Split plot in Randomized Complete Block Design (RCBD) มี 2 ซ้ำ โดยใช้แปลงทดลอง ของภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

2.1 การจัดการระยะการปลูกพริก และสารทดสอบ ที่มีต่อการเจริญ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี น้ำหนักและคุณภาพผลผลิต

เตรียมแปลงปลูกโดยใช้ปุ๋ยหมักขี้ไก่ที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลา 6 เดือน จำนวน 3 ถุง (30 กิโลกรัม) ต่อร่องปลูก (ขนาด 1x12 เมตร) จากนั้นคลุมแปลงปลูกด้วยพลาสติกดำ โดยปัจจัยหลัก (main plot) ในการศึกษาคือ 1) ระยะปลูกแบบชิด ปลูกพริกแถวคู่สลับต้น ระยะห่างระหว่างต้น 70 เซนติเมตร (คิดเป็น 2.16 ต้นต่อตารางเมตร) และ 2) ระยะปลูกแบบห่าง ปลูกพริกแถวเดี่ยว ระยะห่างระหว่างต้น 70 เซนติเมตร (คิดเป็น 1.67 ต้นต่อตารางเมตร) และปัจจัยรอง (sub plot) 4 กรรมวิธีที่ทดสอบคือ

- ปุ๋ยเคมี: 16 - 8 – 8 (บริษัท ปุ๋ยไวกิ้ง จำกัด) อัตรา 10 กรัมต่อต้น
- น้ำมันหอมระเหยข่า อัตรา 0.2 มิลลิลิตรต่อลิตร
- สารกระตุ้นความต้านทาน: Bion (ABM) อัตรา 0.2 กรัมต่อลิตร
- ชุดควบคุม

ในระหว่างการย้ายปลูกให้ใช้ ปุ๋ยอินทรีย์ (แบทมูน) (บริษัท ซาโกร (ประเทศไทย) จำกัด) รองก้นหลุม อัตรา 5 กรัมต่อต้น ภายหลังการย้ายปลูก 20 วัน จึงเริ่มกรรมวิธีตามที่วางแผนไว้ โดยฉีดพ่นสารทดสอบต่าง ๆ ทุก 10 วัน เพื่อป้องกันกำจัดแมลงจะฉีดพ่นน้ำมันปิโตรเลียม ทุก 10 วัน โดยไม่มีการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชใดๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเก็บข้อมูลจะบันทึกข้อมูลความสูงต้น ปริมาณผลผลิตคุณภาพดี ปริมาณผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง ปริมาณผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี= (A/B) x 100

เมื่อ A คือ น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี
B คือ น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม R stat version 2.9.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลต่างๆ ทำการวิเคราะห์ Least significant difference (LSD) เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี

2.2 การใช้สารไคโตซานกระตุ้นความต้านทานในต้นกล้าพริก และสารทดสอบ ที่มีต่อการเจริญ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี น้ำหนักและคุณภาพผลผลิต

เตรียมแปลงปลูกโดยใช้รถไถ ไถตากดินนาน 1 เดือน จากนั้นคลุมแปลงปลูกด้วยพลาสติกดำ วางระบบน้ำหยด โดยประเด็นในการศึกษาประกอบด้วย ปัจจัยหลัก (main plot) คือการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และต้นกล้าปกติ และปัจจัยรอง (sub plot) คือการใช้สารกระตุ้นความต้านทาน ได้แก่

- สารซิลิซ่าผสมสารอิมมูนพลัส อัตรา 1 มิลลิลิตรต่อลิตร
- สาร Bion (ABM) อัตรา 0.2 กรัมต่อลิตร
- สารไคโตซาน อัตรา 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร
- ชุดควบคุม

ในระหว่างการย้ายปลูกให้ใช้ ปุ๋ยอินทรีย์ (แบทมูน) (บริษัท ซาโกร (ประเทศไทย) จำกัด) รองก้นหลุม อัตรา 5 กรัมต่อต้น ภายหลังการย้ายปลูก 20 วัน จึงเริ่มกรรมวิธีตามที่วางแผนไว้ โดยฉีดพ่นสารทดสอบต่าง ๆ ทุก 10 วัน เพื่อป้องกันกำจัดแมลงจะฉีดพ่นน้ำมันปิโตรเลียม ทุก 10 วัน โดยไม่มีการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชใดๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเก็บข้อมูลจะบันทึกข้อมูลความสูงต้น ปริมาณผลผลิตคุณภาพดี ปริมาณผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง ปริมาณผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี= (A/B) x 100

เมื่อ A คือ น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี
B คือ น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม R stat version 2.9.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลต่างๆ ทำการวิเคราะห์ Least significant difference (LSD) เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี

3. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารออกฤทธิ์จากน้ำมันหอมระเหยเพื่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนส และเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในดิน ในสภาพห้องปฏิบัติการ

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารออกฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

3.1.1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides*

นำเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่มีอายุ 7 วันมาทดสอบด้วยวิธี poisoned food วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำ 4 ซ้ำต่อการทดลอง ทำการผสมน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากข่า น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ น้ำมันส้มสังเคราะห์ และสารออกฤทธิ์ Linalool Eugenol Eucalyptal และ Geraniol ลงในอาหาร PDA ให้ได้ความเข้มข้น 200 400 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในชุดควบคุม (control) จะไม่ผสมน้ำมันหอมระเหย หลังจากผิวหน้าของอาหารแห้งสนิท ตัดเส้นใยของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน บริเวณขอบโคโลนี นำไปวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยให้ด้านที่มีเชื้อราสัมผัสกับผิวหน้าอาหารที่ผสมสารทดสอบดังกล่าวข้างต้น บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บันทึกข้อมูลโดย วัดการเจริญของเส้นใย เปรียบเทียบกับชุดควบคุม คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย = [(A – B)/A] x 100

เมื่อ A คือ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อราชุดควบคุม
B คือ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อราชุดผสมน้ำมันหอมระเหย

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม R stat version 2.9.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลสารทดสอบชนิดต่างๆ ทำการวิเคราะห์ Least significant difference (LSD) เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี

3.1.2 การทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์ที่พัฒนาเป็นโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides*

เตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยนำเข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ใส่ลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำการเจือจางที่ 1:100 จากนั้นดูดสารแขวนลอยสปอร์ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยบนอาหาร PDA ที่ผสมน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวแล้วข้างต้น บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องนาน 36 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำ 4 ซ้ำต่อการทดลอง

บันทึกข้อมูลโดย ตรวจนับจำนวนสปอร์ที่สามารถงอกเส้นใยของเชื้อรา เปรียบเทียบกับชุดควบคุม คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอก โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ = [(A – B)/A] x 100

เมื่อ A คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์เชื้อราที่งอกเส้นใยในชุดควบคุม
B คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์เชื้อราที่งอกเส้นใยในชุดผสมน้ำมันหอมระเหย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม R stat version 2.9.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลสารทดสอบชนิดต่างๆ ทำการวิเคราะห์ Least significant difference (LSD) เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารออกฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในดิน

3.2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในดินโดยวิธี Poisoned food

นำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากข่า น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ น้ำมันกานพลูสังเคราะห์ น้ำมันยี่หร่าสังเคราะห์ น้ำมันโป๊ยกั๊กสังเคราะห์ และสารออกฤทธิ์ Eugenol และ Geraniol ผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยวิธี poisoned food technique ทำการทดสอบน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปที่ได้จากดินพักแปลงและดินเกษตรกรรม ทำการผสมดินตัวอย่าง 45 กรัมกับสารละลาย 0.3 เปอร์เซ็นต์ peptone 45 มิลลิลิตร (ในอัตรา 1:1 w/v) และเจือจางสารละลายดินทดสอบที่ 1:10 สำหรับทดสอบเชื้อราจากดินพักแปลง และสารละลายดินทดสอบที่ 1:100 สำหรับทดสอบเชื้อราในดินเกษตรกรรม และใช้สารละลายดินทดสอบที่ 1:1,000 สำหรับทดสอบเชื้อแบคทีเรีย เกลี่ยสารละลายดินที่เจือจางแล้วปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารที่ผสมน้ำมันหอมระเหยในอาหาร PDA สำหรับเลี้ยงเชื้อรา และอาหาร NA สำหรับเชื้อแบคทีเรีย บ่มเชื้อ 3 หรือ 5 วัน

บันทึกข้อมูลโดย ตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปที่พบในแต่ละกรรมวิธี นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม R stat version 2.9.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลสารทดสอบชนิดต่างๆ ทำการวิเคราะห์ Least significant difference (LSD) เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2.2 การทดสอบการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในดินเกษตรกรรมที่ผสมน้ำมันหอมระเหยในดิน และชุดควบคุม ที่ระดับความชื้นดิน 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์

ใช้น้ำมันหอมระเหยหรือสารสังเคราะห์จากธรรมชาติปริมาตร 0.05 กรัม ละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่ผสมสารจับใบ (1 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จัดให้เป็นสารตั้งต้น สำหรับนำไปใช้ในปริมาตรที่สามารถรักษาความชื้นในดินไว้ที่ระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3ก) และมีความเข้มข้นเป็น 200 400 800 และ 1,600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ขวดทดลองปิดสนิทที่มีปริมาตร 157 มิลลิลิตร บรรจุดินเกษตรกรรม 45 กรัม และในปริมาตรที่สามารถรักษาความชื้นในดินไว้ที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3ข) และมีความเข้มข้นเป็น 2,500 5,000 และ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั่วไปที่พบ โดยการนำตัวอย่างดินมาทำ serial dilution และ spread plate บนอาหาร PDA และ NA

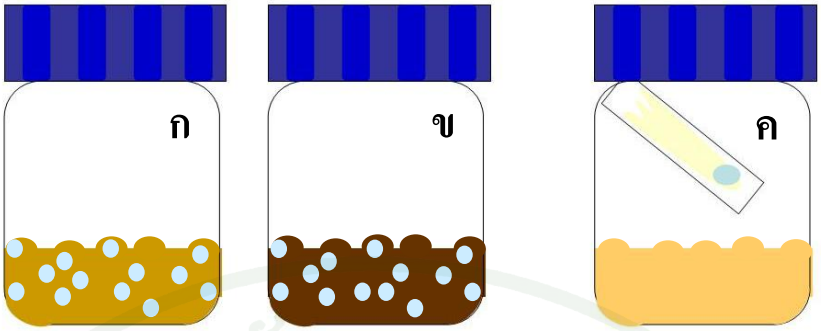
บันทึกข้อมูลโดย นับจำนวนเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียทั่วไปที่พบในแต่ละกรรมวิธี นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม R stat version 2.9.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลสารทดสอบชนิดต่างๆ ทำการวิเคราะห์ Least significant difference (LSD) เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี

3.3 การทดสอบการรมดินที่ผ่านการพักแปลงในสภาพห้องปฏิบัติการ

ชั่งดิน 45 กรัม บรรจุในขวดทดลองขนาดความจุปริมาตร 157 มิลลิลิตร จากนั้นหยดน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากข่า น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ สารออกฤทธิ์ Eugenol และ Geraniol 50 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง whatman® เบอร์ 1 ขนาด 1x6 เซนติเมตร นำกระดาษกรองวางบนขอบขวดจากนั้นปิดฝาให้แน่น (ภาพที่ 3ค) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์ทุก 10 วันจนครบ 30 วัน โดยการนำตัวอย่างดินมาทำ serial dilution และ spread plate บน อาหาร PDA และ อาหาร NA

บันทึกข้อมูลโดย ตรวจนับจำนวนเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียทั่วไปทุกชุดทดสอบ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม R stat version 2.9.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลปริมาณเชื้อในการทดสอบ โดยการวิเคราะห์ Least significant difference (LSD) เพื่อหาความแตกต่างทางสถิติในแต่ละกรรมวิธี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 3 ชุดทดสอบประสิทธิภาพการปรับใช้น้ำมันหอมระเหยในการใช้กับดิน
ก) ราดน้ำมันหอมระเหยลงดินความเข้มข้นต่างๆ ในปริมาตรที่สามารถรักษาความชื้นดิน 100 เปอร์เซ็นต์
ข) ราดน้ำมันหอมระเหยลงดินความเข้มข้นต่างๆ ในปริมาตรที่สามารถรักษาความชื้นดิน 50 เปอร์เซ็นต์
ค) รมดินด้วยน้ำมันหอมระเหยภายใต้สภาพปิด

4. การเตรียมเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก และการเตรียมตัวอย่างพริกที่เป็นโรค

4.1 การเตรียมเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

4.1.1 การแยกเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

เก็บตัวอย่างพริกที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ (tissue transplanting method) โดยตัดชิ้นส่วนบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อเยื่อพืชที่ดีกับเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 5x5 มิลลิเมตร นำชิ้นส่วนของพืชฆ่าเชื้อภายนอกด้วย sodium hypochlorite 0.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง จากนั้นนำชิ้นพืชวางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ในจานเลี้ยงเชื้อจานละ 4 ชิ้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องภายใต้แสง near UV และ cool white fluorescent เป็นเวลา 7 วัน และตรวจดูเชื้อรา *Colletotrichum*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นำเชื้อรา *Colletotrichum* spp.ที่แยกได้ ทำสารแขวนลอยสปอร์ โดยใช้เข็มเขี่ยขูดสปอร์แล้วนำมาเจือจางในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 มิลลิลิตร ดูดสารแขวนลอยสปอร์ 30 ไมโครลิตร นำไปเกลี่ยบนผิวหน้าอาหาร water agar (WA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาตรวจดูสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope แล้วใช้มีดผ่าตัดที่ฆ่าเชื้อแล้วตักสปอร์เดี่ยวขึ้นมาเลี้ยงไว้บนอาหาร potato carrot agar (PCA) นาน 7 วัน เก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้ในหลอดอาหารเอียง และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

4.1.2 การเตรียมเส้นใยหรือสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรค-โนสพริก

สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราที่ใช้ทดสอบสามารถเตรียมโดย ใช้เชื้อราบริสุทธิ์ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน หรือสังเกตว่าเชื้อราสร้างสปอร์ เทน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อลงในจานเลี้ยงเชื้อ ขูดผิวหน้าโคโลนีของเชื้อราเบาๆ กรองเอาเฉพาะของเหลวใสที่มีสปอร์ของเชื้อแขวนลอยอยู่ ปรับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยให้มีความเข้มข้น $1.0x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ด้วย haemacytometer ก่อนนำไปใช้ทดสอบต่อไป

นำสปอร์แขวนลอย 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหาร potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่ประกอบด้วยสารปฏิชีวนะ ampicillin อัตรา 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องในสภาพเขย่าบน rotary shaker เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บกลุ่มของเส้นใย (mycelium mat) โดยกรองด้วยกระดาษกรอง (whatman no. 1) และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 300 มิลลิลิตร นำไปทำให้แห้งโดย lyophilization เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง จึงนำไปสกัดดีเอ็นเอ หรือเก็บเส้นใยไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

4.2 การเตรียมตัวอย่างพริกเพื่อศึกษาการเกิดโรค

ใช้ผลพริกพันธุ์ซุปเปอร์ฮอท คัดเลือกผลปกติที่ไม่มีอาการของโรค สุกแก่เต็มที่ และมีสีแดง นำมาล้างน้ำไหล ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ผึ่งให้แห้ง ส่วนการทดสอบบนใบพริกจะใช้ใบอ่อนพริกพันธุ์ซุปเปอร์ฮอท (พริกอายุ 45 วัน) ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยด้วยวิธีเดียวกัน ผึ่งให้แห้ง นำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อ เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. การตรวจสอบเชื้อราด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อใช้ติดตามเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส

5.1 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเชื้อรา

สกัดดีเอ็นเอโดยดัดแปลงวิธีการของ Zimand *et al.* (1994) ดังนี้

1) บดตัวอย่างเชื้อราตัวอย่างละ 100 มิลลิกรัม ในโกร่งด้วยไนโตรเจนเหลวให้ละเอียด และตักผงเส้นใยใส่ใน microcentrifuge tube

2) เติม extraction buffer (อุ่นที่ 65 องศาเซลเซียส) 700 ไมโครลิตร (Tris-HCl 50 มิลลิ-โมลาร์ pH 8.0, NaCl 850 มิลลิโมลาร์, EDTA 100 มิลลิโมลาร์ และ SDS 1 เปอร์เซ็นต์)

3) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

4) เติม chloroform:isoamyl alcohol (อัตราส่วน 24:1 โดยปริมาตร) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

5) นำมาปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 12,000 g เป็นเวลา 10 นาที 2 ครั้ง

6) ดูดส่วนใสด้านบนแล้วย้ายลงหลอดใหม่

7) เติม absolute ethanol (แช่เย็นที่ -20 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 2 เท่า ผสมให้เข้ากัน

8) นำสารละลายไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

9) นำมาปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 12,000 g เป็นเวลา 15 นาที

10) เทสารละลายส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอนด้วย ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 300 ไมโครลิตร

11) นำมาปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 12,000 g เป็นเวลา 10 นาที 2 ครั้ง เทสารละลายส่วนใสทิ้ง

12) ตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งที่อุณหภูมิห้องด้วยวิธี Drying method

13) ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

14) ตรวจสอบคุณภาพ และปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้โดยนำดีเอ็นเอ 5 ไมโครลิตร ผสมกับ loading dye (3 เท่า) 2 ไมโครลิตร (EDTA 10 มิลลิโมลาร์, formamide 98 เปอร์เซ็นต์, bromophenol blue 0.02 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และ xylene-cyanol 0.02 เปอร์เซ็นต์ (w/v)) และ Gel Star (50 เท่า) 2 ไมโครลิตร ตรวจสอบด้วยวิธีเจลอิเลกโตรโฟลิซิส บน agarose gel 0.8 เปอร์เซ็นต์ ใน TBE buffer 0.5X (Tris-base 44.5 มิลลิโมลาร์, boric acid 44.5 มิลลิโมลาร์ และ EDTA 1 มิลลิโม ลาร์ pH8.0) ใช้ความต่างศักย์คงที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ตรวจสอบผลภายใต้แสง blue light

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โดยเครื่อง Dark Reader™ (Clare chemical research) และบันทึกภาพด้วยกล้อง Digital Single Lens Reflect (Nikon D40) เทียบกับ λPstI Marker (Fermentas) หรือเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

5.2 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างพืช

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างพืชโดยดัดแปลงจากวิธีการของชุด Genomic DNA Purification (Fermentas) ดังนี้

1) บดตัวอย่างพืชตัวอย่างละ 50-100 มิลลิกรัม ในโกร่งด้วยไนโตรเจนเหลวให้ละเอียด และตักผงพืชใส่ใน microcentrifuge tube

2) เติม TE buffer 200 ไมโครลิตร และ lysis solution 400 ไมโครลิตร

3) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

4) เติม chloroform:isoamyl alcohol (อัตราส่วน 24:1 โดยปริมาตร) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

5) นำมาปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 11,000 g เป็นเวลา 10 นาที

6) ดูดส่วนใสด้านบนลงหลอดใหม่ เติม precipitation solution 800 ไมโครลิตร (10X precipitation solution 80 ไมโครลิตร และ น้ำ 720 ไมโครลิตร)

7) ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-5 นาที

8) นำสารละลายมาปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 11,000 g เป็นเวลา 10 นาที

9) เทส่วนใสทิ้ง ละลายตะกอนด้วย NaCl solution 100 ไมโครลิตร ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน

10) เติม absolute ethanol (แช่เย็นที่ -20 องศาเซลเซียส) 300 ไมโครลิตร

11) นำสารละลายไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

12) นำมาปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 11,000 g เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายส่วนใสทิ้ง

13) ล้างตะกอนด้วย ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 300 ไมโครลิตร

14) นำมาปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 11,000 g เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายส่วนใสทิ้ง

15) ตากตะกอนดีเอ็นเอให้แห้งที่อุณหภูมิห้องด้วยวิธี Drying method

16) ละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย TE buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

17) ตรวจสอบคุณภาพ และปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยวิธีเดียวกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.3 การทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ต่อเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

ไพรเมอร์ที่ใช้ทดสอบมี 3 ชุด ได้แก่ ไพรเมอร์ ITS1/ITS4 ไพรเมอร์ Col1/Col2 และไพรเมอร์ Cg/f-Int/ITS4 ซึ่งมีองค์ประกอบของปฏิกิริยาดังนี้ DNA template 2 ไมโครลิตร, dNTPS 0.2 มิลลิโมลาร์, *Taq* buffer (10 เท่า) 2.5 ไมโครลิตร, $MgCl_2$ 2.5 มิลลิโมลาร์, *Taq* DNA polymerase 0.8 U, ไพรเมอร์ 400 นาโนโมลาร์ และปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ให้มีปริมาตรรวมเท่ากับ 25 ไมโครลิตร นำไปทำปฏิกิริยา PCR ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ (T-personal combi thermocycler; Biometra) กำหนดอุณหภูมิสำหรับทำปฏิกิริยาดังนี้ pre-denature ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที denature ที่ อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที annealing ที่อุณหภูมิที่จำเพาะต่อไพรเมอร์แต่ละชนิด เป็นเวลา 1 นาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ทำปฏิกิริยาทั้งสิ้น 35 รอบ ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย (final extension) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาจึงลดอุณหภูมิลงเหลือ 16 องศาเซลเซียส 10 นาที นำดีเอ็นเอจากการทำปฏิกิริยา PCR 10 ไมโครลิตร ผสมกับ loading dye (3 เท่า) 2 ไมโครลิตร (EDTA 10 มิลลิโมลาร์, formamide 98 เปอร์เซ็นต์, bromophenol blue 0.02 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และ xylene-cyanol 0.02 เปอร์เซ็นต์ (w/v)) และ Gel Star (50 เท่า) 2 ไมโครลิตร ตรวจสอบขนาดของแถบดีเอ็นเอด้วยเจลอิเลกโตรโฟลิซิส บน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์ ใน TBE buffer 0.5X (Tris-base 44.5 มิลลิโมลาร์, boric acid 44.5 มิลลิโมลาร์ และ EDTA 1 มิลลิโมลาร์ pH 8.0) ใช้ความต่างศักย์คงที่ 50 โวลต์ เป็นเวลา 50 นาที ตรวจสอบผลภายใต้แสง blue light โดยเครื่อง Dark Reader™ (Clare chemical research) และบันทึกภาพด้วยกล้อง Digital Single Lens Reflect (Nikon D40) เทียบกับ 1Kb DNA Marker (Fermentas)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาปฏิกิริยา PCR

ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	อุณหภูมิที่เหมาะสม (^{o}C)	ความจำเพาะ	แหล่งที่มา
ITS1	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G	53	18S rDNA-28S rDNA	White *et al*., 1990
ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC			
Col1	AAC CCT TTG TGA ACR TAC CTA	51	*Colletotrichum* sp.	Martinez *et al*., 2003
Col2	TTA CTA CGC AAA GGA GGC			
Cg/f-Int	GAC CCT CCC GGC CTC CCG CC	59	*C. gloeosporioides*	Ureña-Padilla *et al*., 2002
ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC			

5.4 การตรวจปริมาณสปอร์ต่ำสุดด้วยเทคนิค PCR เพื่อการตรวจสอบเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก บนเนื้อเยื่อพริก

นำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* isolate NKP098 มาเจือจางสปอร์ให้ได้ความเข้มข้น 1.00x 10^{2} 1.00x 10^{3} 1.00x 10^{4} 1.00x 10^{5} 1.00x10^{6} 1.00x10^{7} และ 4.60x10^{7} สปอร์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำใบอ่อนพริก และตัดเนื้อผลพริกที่เตรียมไว้ 1 ตารางเซนติเมตร หยดสปอร์แขวนลอยที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนเนื้อเยื่อที่เตรียมไว้ โดยที่ใบพริกจะมีความเข้มข้น 1.00x 10^{2} 1.00x 10^{3} 1.00x 10^{4} 1.00x 10^{5} 1.00x10^{6} 1.00x10^{7} และ 4.60x10^{7} สปอร์ต่อมิลลิลิตร ส่วนที่เนื้อผลพริกจะใช้ที่ความเข้มข้น 1.00x 10^{4} 1.00x 10^{5} และ 1.00x 10^{6} สปอร์ต่อมิลลิลิตร บ่มเชื้อไว้ 12 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างพริกบดให้เป็นผงแป้งด้วยไนโตรเจนเหลว และนำไปสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. การตรวจติดตามเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริกในผลพริก

นำผลพริกทำแผลบนผลพริกด้วยเข็มฆ่าเชื้อ 1 แผลต่อผล นำผลพริกใส่ในกล่องพลาสติก (ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์) จากนั้น ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* isolate NKP098 อายุ 7 วัน นำ mycelial disc วางคว่ำบนแผล เมื่อครบ 48 ชั่วโมง นำชิ้นวุ้นออก

บันทึกข้อมูล อาการของโรคทุกวันโดยบันทึกภาพ และตัดผลพริกบริเวณที่ทำแผลขนาด 1 ตารางเซนติเมตร นำไปสกัดดีเอ็นเอ (ข้อ 5.2) และตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR

7. การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของโรคแอนแทรคโนสพริกในผลผลิตพริก

เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* isolate NKP098 นำผลพริกที่เตรียมไว้ ทำแผลให้กระจายทั้งผลจำนวน 6 แผลต่อผล แช่ในสปอร์แขวนลอยนาน 5 นาที และสำหรับกรรมวิธีควบคุมจะแช่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำผลพริกดังกล่าวไปบ่มใน moist chamber เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด สุ่มผลพริกกรรมวิธีละ 60 ผล นำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า แล้วผสมให้มีเนื้อเยื่อพริกที่เกิดโรค 0 1 5 10 25 50 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (เป็นพื้นฐานที่เตรียมไว้ 1.5 กรัม) บดตัวอย่างพริกให้เป็นผงแป้งด้วยไนโตรเจนเหลว และตักผงพริกใส่ใน microcentrifuge tube 100 มิลลิกรัม นำไปสกัดดีเอ็นเอ (ข้อ 5.2) และตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

1. ข้อมูลการจัดการศัตรูพืชในพริกแบบลดการใช้สารเคมี

การวางแผนเพื่อลดการใช้สารเคมีในการผลิตพริก ได้เน้นการเลียนแบบการจัดการศัตรูพืชเพื่อระบบเกษตรกรรมแบบยั่งยืน (Sustainable agriculture) โดยการจัดการสภาพแวดล้อมในการผลิต ได้แก่ การจัดการระยะปลูกที่เหมาะสม ร่วมกับการเตรียมการเพื่อการป้องกันศัตรูพืช ได้แก่ การกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทาน โดยทั้งนี้ชนิดของสารเคมี และปุ๋ยน้ำหมักชีวภาพจะอ้างอิงจากฐานข้อมูลเกษตรอินทรีย์ในระบบรับรองต่างๆ ที่รวบรวมไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ฐานข้อมูลเกษตรอินทรีย์

ประเทศ	มาตรฐานเกษตรอินทรีย์	แหล่งที่มา
ไทย	Department of agricultural	http://it.doa.th/organic/organic/standard.pdf
สหรัฐอเมริกา	United States Department of Agriculture	http://www.ams.usda.gov
	National archives and records administration	http://ecfr.gpoacess.gov/cgi/t/text/text-idx?.
สหภาพยุโรป	European Union	http://www.contrlunion.com/certification/program/subprogram/Subprogram.aspx?Subprogram_ID=1&Program_ID=1

จากการรวบรวมข้อมูลการจัดการศัตรูพืชที่อนุญาตให้ใช้ในระบบเกษตรอินทรีย์เพื่อนำมาศึกษาการนำไปใช้ควบคุมศัตรูพริกแบบลดการใช้สารเคมี ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 โดยพบว่าสารเคมีบางชนิดได้แก่ สารกำมะถัน สารประกอบทองแดงหรือบอโดมิกเจอร์ โปรตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต และแอมโมเนียมคาร์บอเนต สามารถนำมาใช้ได้ในทุกระบบการรับรองเกษตรอินทรีย์ (ยกเว้นสารเคมีสังเคราะห์ เพื่อกำจัดศัตรูพืช) สำหรับสารชีวภาพประเภท Bacillus หรือ NPV (Nuclerar Polyhedrosis Virus) มีการอนุญาตให้ใช้ได้ แต่สำหรับสารประเภท น้ำมันหอมระเหย จัดอยู่ในกลุ่ม Plant oil และน้ำมันปิโตรเลียมจัดเป็นกลุ่ม mineral oil

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากตารางที่ 3 พบว่า สารในกลุ่ม Plant oils (น้ำมันหอมระเหย) สามารถควบคุมแมลง (เพลี้ยไฟ, เพลี้ยอ่อน, Broad mite) และเชื้อรา (แอนแทรคโนส, ใบจุด) ได้ทุกระยะการเจริญของพืช และเป็นสารที่อนุญาตให้ใช้ได้ทั้ง 3 มาตรฐานการผลิตพืชอินทรีย์ ดังนั้น จึงคัดเลือกสารในกลุ่ม Plant oils นำไปใช้เป็นปัจจัยหนึ่งในการทดลองระดับแปลงทดลองเพื่อลดการเกิดโรคแอนแทรค-โนสพริกแบบลดการใช้สารเคมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 ปัจจัยการผลิตสำหรับการป้องกันศัตรูพืชในระบบเกษตรอินทรีย์ที่รวบรวมจากมาตรฐานเกษตรอินทรีย์ที่ใช้ในประเทศต่างๆ

ระยะพืช	ชนิดของศัตรูพืช	Sulpher/Elemeant sulfur	Plant oils	*Bacillus thuringinesis*	Copper, Bordeauxmixture	Potassium permanganate	Lecithin	Mineral oils	Azadirachtin	Nicotin solution	Pyrethrins	Rotenone	Quassia	NPV virus	Ammonium carbonate
ระยะกล้า (วันที่ 0-35)	แบคทีเรีย[b]			✓		✓									
	แมลง[d]	●	✓×●	×				×●	✓×	✓	✓	✓×	✓	×	●
ระยะเจริญเติบโตทางลำต้น (วันที่ 35-65)	เชื้อรา[a]	✓×	✓×●	✓	✓×●	✓	✓	×●							
	แบคทีเรีย[b]			✓		✓									
	ไวรัส			✓											
	แมลง[d]	●	✓×●	×				×●	✓×	✓	✓	✓×	✓	×	●
ระยะออกดอก (วันที่ 65-80)	เชื้อรา[a]	✓×	✓×●	✓	✓×●	✓	✓	×●							
	แบคทีเรีย[c]			✓		✓									
	แมลง[d]	●	✓×●	×				×●	✓×	✓	✓	✓×	✓	×	●

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ระยะพืช	ชนิดของศัตรูพืช	Sulpher/Elemeant sulfur	Plant oils	*Bacillus thuringensis*	Copper, Bodhomixture	Potassium permanganate	Lecithin	Mineral oils	Azadirachtin	Nicotin solution	Pyrethrins	Rotenone	Quassia	NPV virus	Ammonium carbonate
ระยะออกผล (วันที่ 80-115)	เชื้อรา[a]	✓✕	✓✕●	✓	✓✕●	✓	✓	✕●							
	แบคทีเรีย[c]			✓		✓									
	แมลง[d]	●	✓✕●	✕				✕●	✓✕	✓	✓	✓✕	✓	✕	●

● Europion Union (EU)

✕ Department of agriculture (DOA)

✓ United states department of agriculture (USDA)

[a]แอนแทรคโนส, ใบจุด

[b]Bacterial soft rot

[c]wilt, Bacterial soft rot

[d]เพลี้ยไฟ, เพลี้ยอ่อน, Broad mite

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การทดสอบการจัดการศัตรูพริกในระดับแปลงทดลอง

การจัดการศัตรูของพริกแบบลดการใช้สารเคมี ใช้พริกพันธุ์ซุปเปอร์ฮอทที่ปลูกในสภาพแปลงทดลอง พร้อมกับการทดสอบสภาพการจัดการศัตรูพริก ตั้งแต่การใช้พลาสติกดำคลุมแปลงปลูก เพื่อลดปัญหาวัชพืชในแปลง การควบคุมการให้น้ำโดยใช้ระบบน้ำหยดเพื่อลดความชื้นทรงพุ่ม โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบผลที่เกิดจากสภาพการจัดการศัตรูพริกต่างๆ ได้แก่ การจัดการระยะการปลูกพริก และการใช้สารไคโตซานกระตุ้นความต้านทานในต้นกล้าพริก โดยจัดให้มีการทดสอบเสริมในด้าน การฉีดพ่นสาร Bion การพ่นน้ำมันหอมระเหย การใส่ปุ๋ยเคมี การพ่นสารซิลิ-ซ่าผสมอิมมูนพลัส และการพ่นสารไคโตซาน ผลการศึกษามีดังนี้

2.1 การทดสอบระยะการปลูกพริก และสารทดสอบ ที่มีต่อการเจริญ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี และน้ำหนักของคุณภาพผลผลิตพริก

2.1.1 การทดสอบระยะการปลูกพริก และสารทดสอบ ที่มีต่อการเจริญของพริก

จากผลการวิเคราะห์ความสูงต้นของพริกพันธุ์ซุปเปอร์ฮอทที่มีการเปรียบเทียบระยะปลูก 2 ระยะคือ ระยะห่าง (1.67 ต้นต่อตารางเมตร) และระยะชิด (2.16 ต้นต่อตารางเมตร) จัดให้เป็นปัจจัยหลัก และปัจจัยรอง คือ สาร Bion น้ำมันหอมระเหยข่า ปุ๋ยเคมี และชุดควบคุม โดยเปรียบเทียบกับความสูงของพริกภายหลังการย้ายปลูก 30 60 และ 90 วัน พบว่า ความสูงต้นของพริกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่4)

โดยที่ 30 วัน หลังการย้ายปลูก การปลูกพริกระยะชิดให้ความสูงต้นพริกสูงกว่าการปลูกระยะห่าง การปลูกระยะชิดร่วมกับการได้รับปุ๋ยเคมีส่งผลให้พริกมีความสูงต้นสูงที่สุดคือ 42.55 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ การปลูกระยะชิดร่วมกับการพ่นน้ำมันหอมระเหยข่า การปลูกระยะชิดร่วมกับการพ่นสาร Bion และการปลูกระยะชิดในชุดควบคุมตามลำดับ (39.00 40.10 และ 37.10 เซนติเมตร) กรรมวิธีการปลูกระยะชิดร่วมกับการพ่นน้ำมันหอมระเหยข่าให้ความสูงต้นที่ 60 และ 90 วัน สูงที่สุดคือ 69.75 และ 79.62 เซนติเมตรตามลำดับ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีการปลูกระยะชิดร่วมกับการพ่นสาร Bion การปลูกระยะชิดร่วมกับการได้รับปุ๋ยเคมี และการปลูกระยะชิดในชุดควบคุมตามลำดับ (60 วัน; 69.15 67.25 และ 62.35 เซนติเมตร 90 วัน; 71.43 69.67 และ 65.70 เซนติเมตร) ส่วนการปลูกระยะห่างส่งผลให้ความสูงต้นของพริกเมื่อได้รับปัจจัยรอง คือ น้ำมันหอมระเหยข่า ชุดควบคุม ปุ๋ยเคมี และสาร Bion หลังการปลูก 60 วัน มีความสูงต้นของพริกเท่ากับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

62.75 61.00 59.85 และ 56.25 เซนติเมตรตามลำดับ และหลังการย้ายปลูกพริก 90 วัน มีความสูงเท่ากับ 60.25 61.78 65.15 และ 59.83 25 เซนติเมตรตามลำดับข้างต้น

ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของพริกในด้านความสูงของต้นพริกที่เกิดจากระยะการปลูกและสารทดสอบ

กรรมวิธี		ความสูงต้นพริกหลังการย้ายปลูก (ซม.)[1/]		
		30 วัน	60 วัน	90 วัน
ระยะห่าง	ชุดควบคุม	36.05^{bc}	61.00^{cd}	61.78^{c}
	Bion	32.85^{c}	56.25^{d}	59.83^{c}
	น้ำมันหอมระเหยข่า	36.70^{bc}	62.75^{bcd}	60.25^{c}
	ปุ๋ยเคมี	36.20^{bc}	59.85^{d}	65.15^{bc}
ระยะชิด	ชุดควบคุม	37.10^{b}	62.35^{cd}	65.70^{bc}
	Bion	40.10^{ab}	69.15^{ab}	71.43^{b}
	น้ำมันหอมระเหยข่า	39.00^{ab}	69.75^{a}	79.62^{a}
	ปุ๋ยเคมี	42.55^{a}	67.25^{abc}	69.67^{b}
	C.V. %	17.60	16.45	16.56

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ระยะปลูกพริก จะมีผลต่อความสูงของพริก โดยการปลูกระยะชิดนั้น ทำให้ทุกกรรมวิธีมีความสูงมากกว่าการปลูกระยะห่าง ลักษณะเช่นนี้มีความสอดคล้องกับผลการทดลองของ Stoffella และ Bryan (1988) ที่ได้ศึกษาจำนวนความหนาแน่นของต้นที่มีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพริกหยวก โดยพบว่า ในระยะปลูกแคบนั้นทำให้พริกหยวกมีทรงต้นสูงที่สุด เนื่องจากในระยะปลูกแคบหรือชิด ต้นพริกจะเกิดการบังแสงกันเอง ทำให้ต้นพริกพยายามจะเพิ่มความสูงของต้นเพื่อรับแสง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.1.2 การทดสอบระยะการปลูกพริก ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี และน้ำหนักของคุณภาพผลผลิตพริก

ผลการศึกษาระยะปลูก 2 ระยะ คือ การปลูกระยะชิด (2.16 ต้นต่อตารางเมตร) และการปลูกระยะห่าง (1.67 ต้นต่อตารางเมตร) จัดเป็นปัจจัยหลัก ร่วมกับปัจจัยรอง ได้แก่ สาร Bion น้ำมันหอมระเหยข่า ปุ๋ยเคมี และชุดควบคุม ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตพริกต่อพื้นที่ขนาด 12 ตารางเมตร พบว่า การปลูกระยะชิดจะให้น้ำหนักผลผลิตพริกรวมเฉลี่ย 5,034.85 กรัม (ไม่ได้แสดงข้อมูล) และการปลูกระยะห่างมีน้ำหนักผลผลิตรวมเฉลี่ย 2,378.00 กรัม (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ซึ่งผลรวมของน้ำหนักผลผลิตที่ศึกษาสอดคล้องกับการทดลองของ Lorenzo และ Castilla (1995) ซึ่งปลูกพริกหวาน 2 ระยะปลูก คือ การปลูกระยะชิด (3.20 ต้นต่อตารางเมตร) และ การปลูกระยะห่าง (2.00 ต้นต่อตารางเมตร) เมื่อเทียบระหว่างการปลูกระยะชิด:ระยะห่าง พบว่า การปลูกระยะชิดให้ปริมาณผลผลิตรวมที่มากกว่าในอัตรา 6.13 ต่อ 4.78 กิโลกรัมต่อตารางเมตร เช่นเดียวกับปริมาณผลผลิตทางการค้า (5.68 ต่อ 4.39 กิโลกรัมต่อตารางเมตร) และคุณภาพผลผลิต (3.82 ต่อ 3.04 กิโลกรัมต่อตารางเมตร) ให้ปริมาณผลผลิตแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการปลูกพืชในระยะที่เหมาะสม จะสามารถเพิ่มน้ำหนักผลผลิตรวมได้ (Ahmed, 1984; Granges and Leger, 1989)

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลของเปอร์เซ็นต์ผลผลิตคุณภาพดีจากระยะปลูกทั้งสองระยะพบว่า การปลูกระยะชิดมีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตดีมากกว่าการปลูกระยะห่าง โดยเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตดีของการปลูกระยะชิด และการปลูกระยะห่าง ภายหลังการย้ายปลูก 54 64 76 84 และ 95 วัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนภายหลังการย้ายปลูก 107 126 และ 135 วัน พบว่า ระยะปลูกทั้ง 2 มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือ ที่ 107 126 และ 135 วันหลังการย้ายปลูก การปลูกระยะชิดมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตดีเท่ากับ 57.81 40.49 และ 34.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สูงกว่าการปลูกระยะห่างซึ่งมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตดีเท่ากับ 41.21 29.00 และ 19.92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ผลของระยะปลูก และสารทดสอบที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี หลังการย้ายปลูก (วัน)								
	54	64	76	84	95	107	126	135	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย
ระยะชิด	57.28	76.43	88.72	76.87	58.42	57.81[a]	40.49[a]	34.68[a]	63.51
ระยะห่าง	62.37	81.33	88.56	74.09	58.93	41.21[b]	29.00[b]	19.92[b]	49.74
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	*	ns
C.V.%	7.00	33.93	8.69	13.96	17.76	18.51	51.44	52.10	5.20
ชุดควบคุม	57.30[b]	72.94	90.60	75.83	56.02	51.45[ab]	25.05	27.76	54.14
Bion	75.65[a]	87.27	84.13	86.23	67.35	64.53[a]	33.79	32.57	58.31
น้ำมันหอมระเหยข่า	52.69[b]	72.55	88.90	71.62	58.41	38.21[b]	40.58	29.72	56.48
ปุ๋ยเคมี	53.66[b]	82.76	90.92	68.24	52.91	43.86[b]	39.55	19.16	57.57
F-test	*	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
C.V.%	22.39	18.56	5.03	24.44	18.94	19.60	23.42	22.63	6.95

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากข้อมูลน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี (รวบรวมไว้ในตารางผนวกที่ 2) และเมื่อนำมาจำแนกความเสียหายอันเนื่องมาจากแมลง และโรคแอนแทรคโนส ได้รวบรวมไว้ในตารางผนวกที่ 4 และตารางผนวกที่ 6 โดยจะพบว่า การปลูกระยะชิดมีน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลงสูงกว่าการปลูกระยะห่าง และในช่วงแรกที่เก็บข้อมูลปริมาณผลผลิตที่เสียหายมีน้อย และเพิ่มสูงขึ้นภายหลังการย้ายปลูกในแปลงที่นานขึ้น โดยเฉพาะภายหลังการย้ายปลูก 135 วัน ทั้ง 2 ระยะการปลูกมีปริมาณผลผลิตเสียหายเนื่องจากแมลงสูงที่สุด โดยความเสียหายเกิดจากแมลงวันผลไม้ที่พบในจังหวัดนครปฐม และกาญจนบุรี จากการศึกษาของ วิภาดา และคณะ (2551) พบว่า แมลงวันผลไม้ชนิดที่เข้าทำลายพริก คือ *Bactrocera latifrons* (Hendel) ซึ่งสามารถระบาด และเข้าทำลายได้ตลอดช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยว และระยะปลูกไม่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากการเข้าทำลายของโรคแอนแทรคโนสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยจะพบว่า เมื่อระยะเวลานานขึ้นผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนสจะพบมากขึ้น โดยการปลูกระยะห่างมีปริมาณผลผลิตเสียหายน้อยกว่าที่การปลูกระยะชิด ทั้งนี้เนื่องจาก การปลูกระยะห่างมีจำนวนต้นต่อพื้นที่น้อยกว่าส่งผลให้การระบายอากาศในแปลงเกิดได้ดี ซึ่งจะมีผลในการลดปริมาณความชื้นในแปลง โดยความชื้นจะมีผลต่อการงอกของสปอร์ และกระบวนการเข้าทำลายพืชโดยการสร้าง germ tube ได้ (Agrios, 2005)

2.1.3 การทดสอบสารทดสอบ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี และน้ำหนักของคุณภาพผลผลิตพริก

จากตารางที่ 5 แสดงประสิทธิภาพของปัจจัยรองทั้ง 4 ได้แก่ สาร Bion น้ำมันหอมระเหยข่า ปุ๋ยเคมี และชุดควบคุม ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี พบว่า ภายหลังการย้ายปลูก 54 และ 107 วัน ปัจจัยรองทั้ง 4 ให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือ ภายหลังการย้ายปลูก 54 วัน กรรมวิธีที่ใช้สาร Bion มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีสูงที่สุดคือ 75.65 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ ชุดควบคุม (57.30 เปอร์เซ็นต์) ปุ๋ยเคมี (53.66 เปอร์เซ็นต์) และน้ำมันหอมระเหยข่า (52.69 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ส่วนภายหลังการย้ายปลูก 107 วัน มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีของกรรมวิธีสาร Bion ชุดควบคุม ปุ๋ยเคมี และน้ำมันหอมระเหยข่า เท่ากับ 64.53 51.45 43.86 และ 38.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อมูลน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีที่เกิดจากปัจจัยรองได้แสดงไว้ใน ตารางผนวกที่ 2 พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทุกระยะที่เก็บข้อมูล แต่พบว่า กรรมวิธีที่ได้รับปุ๋ยเคมีในระยะแรกให้ผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีอื่น เนื่องจากปุ๋ยเคมีที่ใส่มีธาตุอาหารหลัก (ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแตสเซียม) และธาตุไนโตรเจนเป็นธาตุที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของพืชนอกจากเหนือจากการเจริญทางต้นแล้วยังเกี่ยวข้องกับปริมาณของผลผลิตอีกด้วย แม้ว่าไนโตรเจนจะไม่มีอิทธิพลโดยตรงต่อการเจริญของผลผลิต แต่หากในพื้นที่ที่มีไนโตรเจนสะสมในดินน้อย การใส่ปุ๋ยจะทำให้พืชสามารถดึงไนโตรเจนมาใช้ได้ และช่วยในการเจริญได้ดีกว่าที่ไม่ใส่ปุ๋ย สอดคล้องกับการทดลองของ Lozano and Lara (2002) ที่ทำการศึกษาระดับการใส่ปุ๋ยต่อผลผลิตพริกแห้ง พบว่า พืชที่ได้รับไนโตรเจนที่ใส่เพิ่มลงไปนั้นจะมีผลผลิตที่มากกว่าต้นที่ไม่ได้รับไนโตรเจนและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับการทดลองของ Naeem *et al.* (2002) พบว่า ต้นพริกที่ได้รับปุ๋ยไนโตรเจนมีผลผลิตรวมมากกว่า และหากมีการใส่ร่วมกันของปุ๋ยไนโตรเจนและฟอสฟอรัสแล้วด้วยผลผลิตที่ได้จะเพิ่มมากขึ้น

สำหรับผลผลิตพริกที่เสียหายเนื่องจากแมลง พบว่า ปัจจัยรองไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 4) แต่พบแนวโน้มว่า การพ่นสาร Bion มีน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลงน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น (1,290.21 กรัม) ส่วนกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยมีปริมาณผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลงมากที่สุด (1,458.70 กรัม) เนื่องมาจาก ปุ๋ยเคมีทำให้พริกมีการเจริญเร็วกว่ากรรมวิธีอื่นๆ และส่งผลให้พริกมี cell wall ที่ไม่แข็งแรง เป็นผลให้แมลงเข้าทำลายพริกได้ง่ายกว่ากรรมวิธีอื่น นอกจากนี้ยังพบว่าสาร Bion มีปริมาณผลผลิตรวมที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนสน้อยที่สุด คือ 84.57 กรัม รองลงมาได้แก่ น้ำมันหอมระเหยข่า (109.78 กรัม) ชุดควบคุม (137.00 กรัม) และกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมี มีปริมาณผลผลิตเสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนสสูงที่สุด คือ 240.85 กรัม (ตารางผนวกที่ 6) ให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Nam *et al.* (2006) ที่ศึกษาระดับของการใส่ปุ๋ยต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนสของสตรอเบอร์รี่ พบว่า เมื่อความเข้มข้นของไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่สูงขึ้นจะมีผลต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนสสูงขึ้นด้วย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.1.4 การทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างระยะการปลูกพริก และสารทดสอบ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี และน้ำหนักของคุณภาพผลผลิตพริก

การทดสอบประสิทธิภาพของอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยหลัก และปัจจัยรองที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี ได้แสดงในตารางที่ 6 พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยหลักและปัจจัยรองส่งผลให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตดีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังการย้ายปลูกที่ 54 76 และ 107 วัน โดยที่ 54 วันหลังการย้ายปลูก กรรมวิธีปลูกระยะชิด:Bion มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตดีสูงที่สุดคือ 82.19 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีปลูกระยะห่าง:Bion (69.11 เปอร์เซ็นต์) ปลูกระยะห่าง:น้ำมันหอมระเหยข่า (65.26 เปอร์เซ็นต์) ปลูกระยะห่าง:ปุ๋ยเคมี (62.90 เปอร์เซ็นต์) ปลูกระยะชิด:ชุดควบคุม (62.40 เปอร์เซ็นต์) ปลูกระยะห่าง:ชุดควบคุม (52.21 เปอร์เซ็นต์) ปลูกระยะชิด:ปุ๋ยเคมี (44.42 เปอร์เซ็นต์) และปลูกระยะชิด:น้ำมันหอมระเหยข่า (40.12 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ส่วนที่ 76 วันหลังการย้ายปลูกพบว่า กรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีสูงที่สุดคือ ปลูกระยะชิด:ปุ๋ยเคมี (95.34 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาได้แก่ ระยะห่าง:ชุดควบคุม (91.61 เปอร์เซ็นต์) ระยะห่าง:น้ำมันหอมระเหยข่า (90.61 เปอร์เซ็นต์) ระยะชิด:ชุดควบคุม (89.60 เปอร์เซ็นต์) ระยะชิด:น้ำมันหอมระเหยข่า (87.20 เปอร์เซ็นต์) ระยะห่าง:ปุ๋ยเคมี (86.50 เปอร์เซ็นต์) ระยะห่าง:Bion (85.52 เปอร์เซ็นต์) และระยะชิด:Bion (82.75 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ และที่ 107 วันหลังการย้ายปลูก พบว่า กรรมวิธีปลูกระยะชิด:Bion มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตดีสูงที่สุดคือ 72.42 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ ระยะห่าง:Bion (56.64 เปอร์เซ็นต์) ระยะชิด:ชุดควบคุม (55.34 เปอร์เซ็นต์) ระยะชิด:น้ำมันหอมระเหยข่า (53.55 เปอร์เซ็นต์) ระยะชิด:ปุ๋ยเคมี (49.95 เปอร์เซ็นต์) ระยะห่าง:ชุดควบคุม (47.55 เปอร์เซ็นต์) ระยะห่าง:ปุ๋ยเคมี (37.76 เปอร์เซ็นต์) และระยะห่าง:น้ำมันหอมระเหยข่า (22.88 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูกและสารทดสอบที่มีต่อปริมาณผลผลิตคุณภาพดีในช่วงระยะการเก็บข้อมูล (ตารางผนวกที่ 3 และภาพผนวกที่ 1) พบว่า กรรมวิธีการปลูกระยะชิด:ปุ๋ยเคมี มีแนวโน้มให้ผลผลิตคุณภาพดีปริมาณมากที่สุดทุกครั้งที่เก็บข้อมูล รองลงมาได้แก่ ปลูกระยะชิด:Bion และปลูกระยะชิด:น้ำมันหอมระเหยข่า ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยหลัก และปัจจัยรองที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทุกระยะที่เก็บข้อมูล แต่เมื่อพิจารณาน้ำหนักผลผลิตรวมมีแนวโน้มพบว่า การปลูกระยะชิด:ปุ๋ยเคมี มีน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลงน้อยที่สุด (866.23 กรัม) รองลงมาได้แก่ ปลูกระยะห่าง:น้ำมันหอมระเหยข่า (1,005.12 กรัม) ปลูกระยะห่าง:ชุดควบคุม (1,130.86 กรัม) ปลูกระยะห่าง:Bion (1,188.34 กรัม) ปลูกระยะชิด:Bion (1,392.10 กรัม) ปลูกระยะชิด:ชุดควบคุม (1,628.56 กรัม) ปลูกระยะชิด:น้ำมันหอมระเหยข่า (1,694.57 กรัม) และปลูกระยะชิด:ปุ๋ยเคมี (2,051.17 กรัม) ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 5 และภาพผนวกที่ 2)

เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมของระยะปลูกและสารทดสอบต่อปริมาณผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส พบว่า การปลูกพริกระยะชิด และระยะห่าง ร่วมกับการได้รับปุ๋ยเคมี จะทำให้พริกเสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนสสูงที่สุด คือ 252.16 และ 229.53 กรัม ตามลำดับ กล่าวคือเมื่อพริกได้รับธาตุอาหารสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ และส่งเสริมการเจริญเติบโตได้เร็วกว่า จึงเป็นผลทำให้พืชอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum* spp.) ส่วนกรรมวิธีการปลูกพริกระยะชิด และระยะห่าง ร่วมกับการพ่นสาร Bion มีปริมาณผลผลิตเสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนสน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น คือ 65.01 และ 104.15 กรัม ตามลำดับ (ตารางผนวกที่ 7 และภาพผนวกที่ 3)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 อิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยหลัก และปัจจัยรองที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี หลังการย้ายปลูก (วัน)								
	54	64	76	84	95	107	126	135	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย
ระยะชิด:ชุดควบคุม	62.40[ab]	54.29	89.60[ab]	75.72	54.68	55.34[ab]	35.01	38.08	60.47
ระยะชิด:Bion	82.19[a]	86.70	82.75[b]	83.89	74.69	72.42[a]	37.23	35.62	68.72
ระยะชิด:น้ำมันหอมระเหยข่า	40.12[b]	80.51	87.20[ab]	70.76	60.26	53.55[ab]	40.54	42.83	62.90
ระยะชิด:ปุ๋ยเคมี	44.42[b]	84.23	95.34[a]	77.12	44.05	49.95[ab]	49.17	22.18	61.96
ระยะห่าง:ชุดควบคุม	52.21[ab]	91.60	91.61[ab]	75.94	57.36	47.55[abc]	15.10	17.44	47.81
ระยะห่าง:Bion	69.11[ab]	87.85	85.52[ab]	88.57	60.01	56.64[ab]	30.35	29.51	47.91
ระยะห่าง:น้ำมันหอมระเหยข่า	65.26[ab]	64.59	90.61[ab]	72.48	56.56	22.88[c]	40.63	16.61	50.06
ระยะห่าง:ปุ๋ยเคมี	62.90[ab]	81.30	86.50[ab]	59.37	61.78	37.76[bc]	29.93	16.13	53.19
F-test	*	ns	*	ns	ns	*	ns	ns	ns
C.V.%	22.39	18.56	5.03	24.44	18.94	19.60	23.42	22.63	6.95

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 การกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อการเจริญ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี และน้ำหนักของคุณภาพผลผลิตพริก

2.2.1 การกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบที่มีต่อการเจริญของพริก

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นพริกสายพันธุ์ซุปเปอร์ฮอทที่เปรียบเทียบการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน และต้นกล้าปกติ (ไม่กระตุ้นด้วยไคโตซาน) เป็นปัจจัยหลัก ร่วมกับปัจจัยรองคือ การได้รับสาร Bion สารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส สารไคโตซาน และชุดควบคุม พบว่า ภายหลังการย้ายปลูก 30 60 และ 90 วัน ความสูงต้นของพริกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยความสูงต้นพริกภายหลังการย้ายปลูก 30 วัน กรรมวิธีการกระตุ้นต้นกล้าร่วมกับสาร Bion มีความสูงที่สุดคือ 35.65 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ต้นพริกปกติร่วมกับสาร Bion (34.23 เซนติเมตร) ต้นพริกปกติร่วมกับสารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส (33.85 เซนติเมตร) และพริกที่กระตุ้นต้นกล้าร่วมกับสารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส (33.15 เซนติเมตร) ตามลำดับ ส่วนภายหลังการย้ายปลูก 60 วัน กรรมวิธีต้นปกติร่วมกับสาร Bion มีความสูงต้นสูงที่สุดคือ 64.46 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีต้นปกติร่วมกับชุดควบคุม และกรรมวิธีต้นปกติร่วมกับสารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส ตามลำดับ (62.50 และ 61.31 เซนติเมตร ตามลำดับ) และภายหลังการย้ายปลูก 90 วัน กรรมวิธีต้นปกติร่วมกับสาร Bion มีความสูงต้นสูงที่สุด รองลงมาคือ กรรมวิธีต้นปกติร่วมกับสารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส และกรรมวิธีต้นปกติร่วมกับชุดควบคุมให้ความสูงต้นคือ 80.58 75.81 และ 74.35 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ทั้งนี้การกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน พบว่าไม่มีผลต่อการเพิ่มความสูงต้น ซึ่งต่างจากการทดลองของ Abdel-Mawgoud *et al.* (2010) ที่พบว่าสตรอเบอร์รี่ตอบสนองในระยะเจริญต่อสารไคโตซาน ส่งผลให้มีความยาวใบสูงที่สุดเมื่อใช้สารไคโตซานที่ความเข้มข้น 2 มิลลิลิตรต่อลิตร นอกจากนี้แล้วยังเพิ่มจำนวนใบต่อต้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 การเจริญเติบโตของพริกในด้านความสูงต้นของพริกที่มีต่อการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ

กรรมวิธี		ความสูงต้นพริกหลังการย้ายปลูก (ซม.)[1/]		
		30 วัน	60 วัน	90 วัน
กระตุ้นต้นกล้า	ชุดควบคุม	28.96^{c}	54.23^{d}	66.31^{c}
	Bion	35.65^{a}	59.15^{abcd}	68.69^{bc}
	ซิลิซ่าผสมอิมูนพลัส	33.15^{a}	55.46^{cd}	69.31^{bc}
	ไคโตซาน	27.92^{c}	54.12^{d}	68.12^{bc}
ต้นกล้าปกติ	ชุดควบคุม	32.81^{ab}	62.50^{ab}	74.35^{abc}
	Bion	34.23^{a}	64.46^{a}	80.58^{a}
	ซิลิซ่าผสมอิมูนพลัส	33.85^{a}	61.31^{abc}	75.81^{ab}
	ไคโตซาน	29.77^{bc}	56.54^{bcd}	66.38^{c}
	C.V.%	18.36	19.09	21.30

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

2.2.2 การทดสอบการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซานที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี และน้ำหนักของคุณภาพผลผลิตพริก

ทดสอบการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตต่อพื้นที่ขนาด 12 ตารางเมตร ระหว่างการกระตุ้นต้นกล้าในระยะเจริญด้วยสารไคโตซาน กับการเพาะต้นกล้าปกติ พบว่า ต้นกล้าปกติจะให้น้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยรวม 6,305.72 กรัม สูงกว่าการกระตุ้นต้นกล้าในระยะเจริญด้วยสารไคโตซานซึ่งให้น้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยรวม 4,959.56 กรัม (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ให้ผลแตกต่างจากการทดลองของ Cho *et al*. (2008) ซึ่งรายงานว่า การแช่เมล็ดทานตะวันในสารละลายไคโตซานนาน 18 ชั่วโมง สามารถเพิ่มปริมาณน้ำหนักรวมได้ 6.4 ถึง 17.1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีการควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการเปรียบเทียบระหว่างปัจจัยหลักคือ การกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน และต้นกล้าปกติ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี (ตารางที่ 8) พบว่า ปัจจัยหลักไม่มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีที่ 44 51 60 68 72 84 97 111 154 และ 166 วัน ยกเว้นที่ 123 วัน หลังการย้ายปลูก พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีต้นกล้าปกติมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีเท่ากับ 64.82 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ากรรมวิธีกรรมวิธีกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน (45.53 เปอร์เซ็นต์)

เมื่อพิจารณาคุณภาพผลผลิตคุณภาพดี ที่มีต่อการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน และต้นกล้าปกติ (ปัจจัยหลัก) พบว่า น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีที่ได้จากการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน กับต้นกล้าปกติ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทุกระยะที่เก็บข้อมูล แต่พบว่า น้ำหนักผลผลิตดีที่ 60 วันหลังการย้ายปลูก กรรมวิธีกระตุ้นต้นกล้า มีน้ำหนักสูงที่สุดคือ 928.32 กรัม รองลงมาคือที่ 111 วัน หลังการย้ายปลูก (588.81 กรัม) และ 123 วันหลังการย้ายปลูก (569.50 กรัม) ตามลำดับ และน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีที่ได้จากต้นกล้าปกติมีปริมาณ 926.53 775.10 และ 679.90 กรัม ตามลำดับ (ที่ 60 111 และ 123 วันหลังการย้ายปลูก) (ตารางผนวกที่ 8) เช่นเดียวกับข้อมูลน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง (ตารางผนวกที่ 10) และโรคแอนแทรคโนส (ตารางผนวกที่ 12) ซึ่งพบว่า การกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซานให้ผลผลิตที่เสียหายน้อยกว่าต้นกล้าปกติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 การทดสอบการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี หลังการย้ายปลูก (วัน)											
	44	51	60	68	72	84	97	111	123	154	166	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย
กระตุ้นต้นกล้า	70.10	97.71	96.21	98.85	86.58	88.55	27.43	77.19	45.53[b]	86.79	37.95	83.05
ต้นกล้าปกติ	74.16	92.85	91.20	94.50	86.67	90.15	15.38	77.48	64.82[a]	80.45	47.73	82.92
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
C.V.%	63.70	7.14	6.69	6.62	11.70	5.14	150.38	12.72	32.57	19.44	40.79	4.86
ชุดควบคุม	100.00	94.29	93.03	96.33	88.82	91.86[a]	46.98	68.64	40.68	77.72	40.74	79.92
Bion	65.71	97.60	93.84	100.00	90.56	89.69[ab]	0.00	79.43	69.04	92.44	63.05	86.53
ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	97.82	93.64	93.68	91.85	74.54	80.44[b]	22.25	75.69	59.56	84.66	36.52	81.97
ไคโตซาน	25.00	95.60	94.28	98.50	92.59	95.41[a]	16.40	85.58	51.44	79.66	31.06	83.53
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	41.04	8.57	5.66	6.62	18.73	12.11	136.25	5.58	20.28	6.78	50.33	4.93

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2.3 การทดสอบสารกระตุ้นความต้านทาน ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี และน้ำหนักของคุณภาพผลผลิตพริก

การศึกษาสารกระตุ้นความต้านทาน (ปัจจัยรอง) ทั้ง 4 คือ สาร Bion สารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส สารไคโตซาน และชุดควบคุม ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี พบว่าปัจจัยรองไม่มีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี ยกเว้นที่ 84 วันหลังการย้ายปลูก ซึ่งพบว่า ปัจจัยรองทำให้เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีที่ทดสอบด้วยสารไคโตซาน ชุดควบคุม สาร Bion และสารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส เท่ากับ 95.41 91.86 89.69 และ 80.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 8) โดยสารทดสอบต่างๆ ไม่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี (ตารางผนวกที่ 8) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทุกระยะที่เก็บข้อมูล แต่มีแนวโน้มพบว่า การใช้สารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส มีผลให้น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีสูงกว่ากรรมวิธีอื่น ซึ่งสารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส มีน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยรวมเท่ากับ 5,583.52 กรัม รองลงมาได้แก่ สาร Bion (5,212.84 กรัม) ชุดควบคุม (4,318.38 กรัม) และสารไคโตซาน (3,747.67 กรัม) ตามลำดับ

จากการพิจารณาข้อมูลน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง (ตารางผนวกที่ 10) และผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส (ตารางผนวกที่ 12) ภายหลังการได้รับสารกระตุ้นความต้านทาน พบว่า น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายไม่แตกต่างอย่างมีนียสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่พบว่า ความเสียหายเนื่องจากแมลง ใน กรรมวิธีสารไคโตซานมีปริมาณผลผลิตเสียหายน้อยที่สุด รองลงมาได้แก่กรรมวิธีชุดควบคุม สาร Bion และสารซิลิซ่าผสมอิม-มูนพลัส และพบว่า สาร Bion สามารถลดปริมาณผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนสได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Baysal *et al.* (2005) ที่รายงานว่า การใช้สาร Bion ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อตารางเมตร พ่นใบพริกก่อนการปลูกเชื้อ *Phytophthora capsici* นาน 3 วัน จะสามารถลดการเกิดโรคได้ 45 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสาร Bion ไปกระตุ้นความต้านทานของพืช เช่น กระบวนการของเอ็นไซม์ Phenylalanine Ammonia Lyase (PAL) โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานของพืช (PR protein) และ การสะสมของฟีนอล ซึ่งช่วยในการสร้างความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *P. capsici* สำหรับสารไคโตซาน Bautista-Banos *et al.* (2003) ได้รายงานว่า การใช้สารไคโตซานที่ความเข้มข้น 2.50 และ 3.00 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* อย่างสมบูรณ์ในช่วง 7 วันของการบ่มเชื้อ ทั้งนี้ไคโตซานมีผลต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้งการเจริญของเส้นใย การสร้างโคนิเดียและสัณฐานวิทยาของสปอร์ที่เปลี่ยนแปลงไป และมีรายงานว่าสารไคโตซานสามารถชะลอการสุก ยืดอายุการเก็บรักษา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และลดการเน่าเสียของผลผลิตทางเกษตร เช่น bell pepper (El Ghaouth *et al*., 1997) ทั้งนี้จากการมีฤทธิ์เป็นสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของไคโตซานทำให้สามารถลดการเกิดโรคได้

2.2.4 การทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริก และสารกระตุ้นความต้านทาน ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี และน้ำหนักของคุณภาพผลผลิตพริก

อิทธิพลร่วมระหว่างการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริก และการทดลองควบคุม (ไม่กระตุ้นด้วยไคโตซาน) เป็นปัจจัยหลัก และสารกระตุ้นความต้านทานชนิดต่างๆ เป็นปัจจัยรอง ได้แสดงในตารางที่ 9 โดยพบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ 111 123 และ 154 วันหลังการย้ายปลูก โดยที่ 111 วันหลังการย้ายปลูก กรรมวิธีกระตุ้นต้นกล้า: ไคโตซาน มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีสูงที่สุดคือ 85.62 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีต้นกล้าปกติ: ไคโตซาน (85.54 เปอร์เซ็นต์) ต้นกล้าปกติ:Bion (84.32 เปอร์เซ็นต์) ต้นกล้าปกติ:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส (77.18 เปอร์เซ็นต์) กระตุ้นต้นกล้า: Bion (74.54 เปอร์เซ็นต์) กระตุ้นต้นกล้า:ชุดควบคุม (74.41 เปอร์เซ็นต์) กระตุ้นต้นกล้า:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส (74.20 เปอร์เซ็นต์) และ ต้นกล้าปกติ:ชุดควบคุม (62.87 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ส่วนที่ 123 วันหลังการย้ายปลูก พบว่า กรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีสูงที่สุดคือ ต้นกล้าปกติ:Bion (76.64 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีต้นกล้าปกติ:ชุดควบคุม (66.08 เปอร์เซ็นต์) กระตุ้นต้นกล้า:Bion (61.44 เปอร์เซ็นต์) กระตุ้นต้นกล้า:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส (60.70 เปอร์เซ็นต์) ต้นกล้าปกติ:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส (58.43 เปอร์เซ็นต์) ต้นกล้าปกติ: ไคโตซาน (58.15 เปอร์เซ็นต์) กระตุ้นต้นกล้า: ไคโตซาน (44.72 เปอร์เซ็นต์) และ กระตุ้นต้นกล้า:ชุดควบคุม (15.29 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ และที่ 154 วันหลังการย้ายปลูก พบว่า กรรมวิธีกระตุ้นต้นกล้า:Bion มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีสูงที่สุดคือ 96.52 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีกระตุ้นต้นกล้า:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส (88.40 เปอร์เซ็นต์) ต้นกล้าปกติ:Bion (88.36 เปอร์เซ็นต์) กระตุ้นต้นกล้า: ไคโตซาน (83.51 เปอร์เซ็นต์) ต้นกล้าปกติ:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส (80.93 เปอร์เซ็นต์) กระตุ้นต้นกล้า:ชุดควบคุม (78.74 เปอร์เซ็นต์) ต้นกล้าปกติ:ชุดควบคุม (76.71 เปอร์เซ็นต์) และ ต้นกล้าปกติ: ไคโตซาน มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดีน้อยที่สุดคือ 75.81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลของต้นกล้าปกติที่ถูกกระตุ้นด้วยสาร Bion (ตารางผนวกที่ 9 และภาพผนวกที่ 4) และผลของการกระตุ้นต้นกล้าและไม่กระตุ้นต้นกล้าที่ได้รับสารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส ให้น้ำหนักผลผลิตที่สูง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนการศึกษาอิทธิพลร่วมระหว่างการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริก และการทดลองควบคุม (ไม่กระตุ้นด้วยไคโตซาน) เป็นปัจจัยหลัก และสารกระตุ้นความต้านทานชนิดต่างๆ เป็นปัจจัยรอง ต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายจากแมลง พบว่า น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายจากแมลง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นที่ 68 72 และ 111 วัน หลังการย้ายปลูก กล่าวคือ กรรมวิธีที่มีน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลงสูงที่สุด ที่ 68 วัน หลังการย้ายปลูก คือ กรรมวิธีต้นกล้าปกติ:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส มีน้ำหนักผลผลิตเสียหายเนื่องจากแมลงเท่ากับ 28.32 กรัม ส่วนที่ 72 วัน หลังการย้ายปลูก กรรมวิธีกระตุ้นต้นกล้า:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส มีน้ำหนักผลผลิตเสียหายเนื่องจากแมลง คือ 88.25 กรัม และที่ 111 วัน หลังการย้ายปลูก กรรมวิธีกระตุ้นต้นกล้า:Bion มีน้ำหนักผลผลิตเสียหายเนื่องจากแมลง คือ 98.73 กรัม และเมื่อพิจารณาน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยรวม พบว่า กรรมวิธีต้นกล้าปกติ: ไคโตซาน มีปริมาณผลผลิตเสียหายเนื่องจากแมลงน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น คือ 329.55 กรัม (ตารางผนวกที่ 11 และภาพผนวกที่ 5)

สำหรับอิทธิพลร่วมระหว่างการกระตุ้นต้นกล้า และสารทดสอบต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส พบว่า น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นที่ 60 97 และ 111 วันหลังการย้ายปลูก เมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิตรวม พบว่า กรรมวิธีกระตุ้นต้นกล้า:Bion กรรมวิธีกระตุ้นต้นกล้า: ไคโต-ซาน และกรรมวิธีต้นกล้าปกติ:Bion มีปริมาณผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนสน้อยที่สุดคือ 226.01 356.89 และ 433.93 กรัมตามลำดับ จากผลการทดลองจึงอาจกล่าวได้ว่ากรรมวิธีกระตุ้นต้นกล้า:Bion มีแนวโน้มสามารถนำมาใช้ในการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนสพริกได้ (ตารางผนวกที่ 13 และภาพผนวกที่ 6)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 การทดสอบการกระตุ้นความต้านทานในระยะต้นกล้าพริกด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี หลังการย้ายปลูก (วัน)											
	44	51	60	68	72	84	97	111	123	154	166	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย
กระตุ้นต้นกล้า:ชุดควบคุม	100.00^{a}	100.00	96.38	100.00	86.52	90.81	76.94	74.41^{ab}	15.29^{c}	78.74^{b}	23.83	79.62
กระตุ้นต้นกล้า:Bion	84.77^{a}	95.19	95.92	100.00	93.25	85.53	0.00	74.54^{ab}	61.44^{ab}	96.52^{a}	67.85	86.74
กระตุ้นต้นกล้า:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	95.65^{a}	99.33	96.63	98.38	77.98	87.04	0.00	74.20^{ab}	60.70^{ab}	88.40^{ab}	39.05	82.52
กระตุ้นต้นกล้า: ไคโตซาน	0.00^{b}	96.32	95.92	97.01	88.59	90.82	32.79	85.62^{a}	44.72^{bc}	83.51^{ab}	21.08	83.34
ต้นกล้าปกติ:ชุดควบคุม	100.00^{a}	88.59	89.67	92.66	91.13	92.92	17.03	62.87^{b}	66.08^{ab}	76.71^{b}	57.66	80.23
ต้นกล้าปกติ:Bion	46.65^{ab}	100.00	91.75	100.00	87.87	93.84	0.00	84.32^{a}	76.64^{a}	88.36^{ab}	58.25	86.32
ต้นกล้าปกติ:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	100.00^{a}	87.95	90.74	85.33	71.10	73.85	44.50	77.18^{a}	58.43^{ab}	80.93^{ab}	33.99	81.42
ต้นกล้าปกติ: ไคโตซาน	50.00^{ab}	94.88	92.64	100.00	96.58	100.00	0.00	85.54^{a}	58.15^{ab}	75.81^{b}	41.04	83.72
F-test	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	*	ns	ns
C.V.%	41.04	8.57	5.66	6.62	18.73	12.11	136.25	5.58	20.28	6.78	50.33	4.93

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารออกฤทธิ์จากน้ำมันหอมระเหยเพื่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนส และเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในดิน ในสภาพห้องปฏิบัติการ

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารออกฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

3.1.1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยข่า น้ำมันส้มสังเคราะห์ น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ สารออกฤทธิ์ Linalool Eugenol Eucalyptal และ Geraniol ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ด้วยวิธี Poisoned Food Technique ที่ความเข้มข้น 200 400 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารออกฤทธิ์ Eugenol Geraniol น้ำมันส้มสังเคราะห์ น้ำมันหอมระเหยข่า น้ำมันตะไคร้-หอมสังเคราะห์ สารออกฤทธิ์ Linalool และ Eucalyptal มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเท่ากับ 100 45.29 13.56 12.76 9.19 5.52 และ 1.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารออกฤทธิ์ Geraniol และ Eugenol สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมันหอมระเหยข่า น้ำมันส้มสังเคราะห์ น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ สารออกฤทธิ์ Eugenol และ Linalool มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 22.76 17.47 14.94 13.10 และ 10.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ สารออกฤทธิ์ Geraniol และ Eugenol สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยข่า สารออกฤทธิ์ Linalool น้ำมันส้มสังเคราะห์ และ สารออกฤทธิ์ Eucalyptal ตามลำดับ (47.47 24.14 22.76 และ 7.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) (ตารางที่ 10)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.1.2 การทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์ที่พัฒนาเป็นโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides*

ประสิทธิภาพของสารทดสอบในกลุ่มน้ำมันหอมระเหย และสารออกฤทธิ์แต่ละชนิดเพื่อควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่จะพัฒนาเป็นโคโลนี บนอาหาร PDA ได้แสดงไว้ในตารางที่ 10 โดยพบว่า สารออกฤทธิ์ Geraniol และ Eugenol ที่ความเข้มข้น 200 400 และ800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารมารถยับยั้งการงอกของสปอร์จนพัฒนาเป็นโคโลนีได้ ขณะที่สารสกัดจากข่า ตะไคร้หอม และส้มมีประสิทธิภาพรองลงมาคือ ที่ระดับความเข้มข้น 400 และ 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สปอร์ของเชื้อราไม่สามารถงอกได้ ส่วนความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากตะไคร้หอม และน้ำมันส้มสังเคราะห์จะมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์เท่ากับ 20.58 และ 29.4 ตามลำดับ ส่วนสารออกฤทธิ์ Eucalyptal ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ต่ำที่สุดคือ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์ที่ระดับความเข้มข้น 200 400 และ800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ18.13 8.80 และ14.7 ตามลำดับ โดยน้ำมันหอมระเหยที่มีประสิทธิภาพดีคือ น้ำมันหอมระเหยข่า และตะไคร้หอม และสารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพดีคือ สารออกฤทธิ์ Eugenol และ Geraniol นำไปศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในดินต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา และการยับยั้งการงอกของสปอร์ที่พัฒนาเป็นโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่เกิดจากน้ำมันหอมระเหยและสารออกฤทธิ์

แหล่งที่มา		เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย [1/]			เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ [1/]		
		200 ppm	400 ppm	800 ppm	200 ppm	400 ppm	800 ppm
น้ำมันหอมระเหย	ข่า	12.76^{c}	22.76^{b}	47.47^{b}	86.27^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}
	ตะไคร้หอม	9.19^{c}	14.94^{c}	100.00^{a}	20.58^{b}	100.00^{a}	100.00^{a}
	ส้ม	13.56^{c}	17.47^{bc}	22.76^{c}	29.41^{b}	100.00^{a}	100.00^{a}
สารออกฤทธิ์	Linalool	5.52^{c}	10.80^{c}	24.14^{c}	20.09^{b}	39.21^{b}	78.43^{b}
	Eugenol	100.00^{a}	100.00^{a}	100^{a}	100^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}
	Eucalyptal	1.49^{c}	13.10^{c}	7.58^{d}	18.13^{b}	8.80^{c}	14.70^{c}
	Geraniol	45.29^{b}	100.00^{a}	100.00^{a}	100^{a}	100.00^{a}	100.00^{a}

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

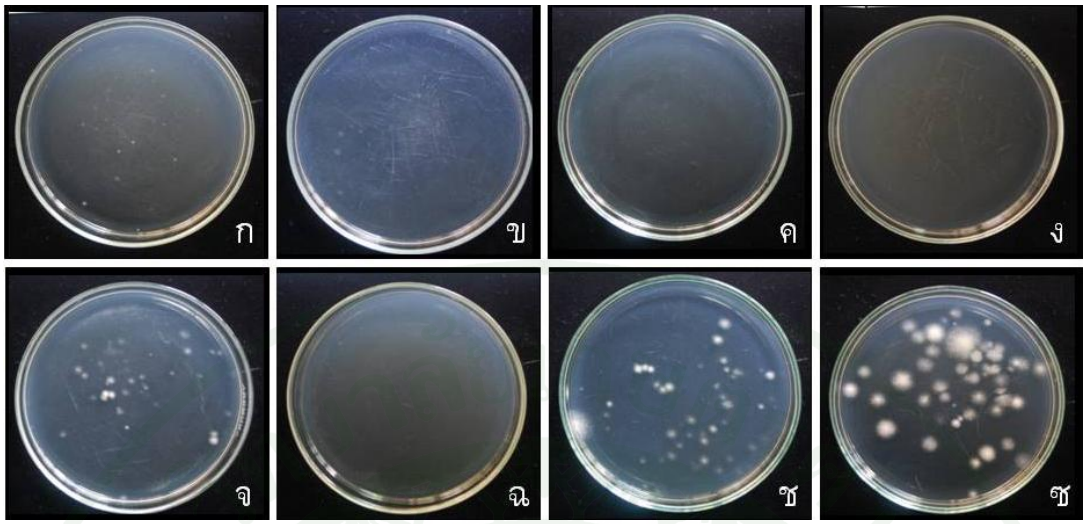
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย และสารออกฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในดิน

3.2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในดิน โดยวิธี Poisoned food

เชื้อจุลินทรีย์ดินที่ทดสอบได้จากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย จากดินเกษตรกรรม และดินพักแปลง ทำการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั่วไปที่เปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับน้ำมันหอมระเหย ข่า น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ น้ำมันยี่หร่าสังเคราะห์ น้ำมันกานพลูสังเคราะห์ น้ำมันโป๊ยกั๊กสังเคราะห์ สารออกฤทธิ์ Eugenol และ Geraniol ที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า สารออกฤทธิ์ Eugenol สามารถควบคุมการสร้างโคโลนีของเชื้อราและแบคทีเรียได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 11 และภาพที่ 4; ง) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Matan (2007) เกี่ยวกับประสิทธิภาพของ Eugenol ที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะสามารถยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus niger* ได้ สารที่มีประสิทธิภาพรองลงมาคือ Geraniol ที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดี และมีผลต่อเชื้อแบคทีเรียบางส่วน ทั้งนี้จะพบว่าสาร Geraniol ที่มีการศึกษาของ ชัยณรงค์ และคณะ (2548) ที่พบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราประเภท *Candida* sp. *Cryptococcus* sp. *Aspergillus* sp. *Alternaria* sp. และ *Helminthosporium* sp. ได้ดี และยังมีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก ชนิดกลม และชนิดท่อนได้ สำหรับน้ำมันหอมระเหยจาก กานพลู ยี่หร่า ตะไคร้หอม ข่า และ โป๊ยกั๊ก สามารถยับยั้งได้เล็กน้อย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั่วไปจากดินเกษตรกรรม ก) น้ำมันหอมระเหยข่า ข) น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ ค) สารออกฤทธิ์ Geraniol ง) สารออกฤทธิ์ Eugenol จ) น้ำมันยี่หร่าสังเคราะห์ ฉ) น้ำมันกานพลูสังเคราะห์ ช) น้ำมันโป๊ยกั๊กสังเคราะห์ และ ซ) ชุดควบคุม ที่ระดับความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 ปริมาณเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียทั่วไปจากดินเกษตรกรรม และดินพักแปลง ที่เจริญบนอาหารที่ผสมน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

	น้ำมันหอมระเหย	ดินพักแปลง[1/]		ดินเกษตรกรรม[1/]	
		250 ppm	500 ppm	250 ppm	500 ppm
เชื้อรา	ข่า	$3.20x10^{2cd}$	$1.80x10^{2b}$	$4.60x10^{3bc}$	$2.40x10^{3b}$
	ตะไคร้หอม	$9.00x10^{2b}$	0.00^{c}	$2.60x10^{3cd}$	0.00^{c}
	Geraniol	0.00^{d}	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{c}
	Eugenol	0.00^{d}	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{c}
	ยี่หร่า	$5.93x10^{2bc}$	0.00^{c}	$4.26x10^{3bc}$	0.00^{c}
	กานพลู	$4.06x10^{2cd}$	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{c}
	Fennel oil	$7.20x10^{2bc}$	0.00^{c}	$6.90x10^{3ab}$	0.00^{c}
	ชุดควบคุม	$16.40x10^{2a}$	$16.40x10^{2a}$	$9.46x10^{3a}$	$9.46x10^{3a}$
เชื้อแบคทีเรีย	ข่า	$16.80x10^{4cd}$	$5.70x10^{4b}$	$8.40x10^{4bc}$	$4.47x10^{4b}$
	ตะไคร้หอม	$0.06x10^{4d}$	0.00^{c}	$0.90x10^{4c}$	0.00^{c}
	Geraniol	$0.20x10^{4d}$	0.00^{c}	$1.70x10^{4c}$	$0.20x10^{4bc}$
	Eugenol	0.00^{d}	0.00^{c}	$0.60x10^{4c}$	0.00^{c}
	ยี่หร่า	$24.70x10^{4bc}$	0.00^{c}	$9.67x10^{4bc}$	0.00^{c}
	กานพลู	$26.70x10^{4abc}$	0.00^{c}	$14.60x10^{4b}$	0.00^{c}
	Fennel oil	$45.80x10^{4ab}$	0.00^{c}	$17.20x10^{4b}$	0.00^{c}
	ชุดควบคุม	$47.60x10^{4a}$	$47.60x10^{4a}$	$59.6x10^{4a}$	$59.60x10^{4a}$

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2.2 การทดสอบการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปในดินเกษตรกรรมที่ผสมน้ำมันหอมระเหยในดิน ที่ระดับความชื้นดิน 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์

ความชื้นในดินจะมีผลต่อการปรับใช้น้ำมันหอมระเหยในลักษณะนี้จะมีผลต่อการแพร่กระจายของสารออกฤทธิ์ในเนื้อดิน (ลักษณะนี้จะพบในคำแนะนำของการใช้สารเคมีในดินที่จะต้องมีการระมัดระวังเรื่องของความชื้น) โดยพบว่า สารออกฤทธิ์ Eugenol และ น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ มีแนวโน้มที่จะใช้ลดปริมาณเชื้อราจากดินได้ และจะพบว่าสามารถทำให้ปริมาณของโคโลนีของแบคทีเรียลดลงเมื่อเทียบกับเชื้อในชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารใดๆ

จากผลการทดลองพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร น้ำมันหอมระเหยข่า ยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั่วไปได้ดีที่สุด โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั่วไปได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ สารออกฤทธิ์ Geraniol และ Eugenol และ น้ำมันหอมระเหยข่า โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป (CFU/g) หลังการราดน้ำมันหอมระเหยลงดินความเข้มข้นต่างๆ ที่ความชื้นดิน 100 เปอร์เซ็นต์

น้ำมันหอมระเหย	เชื้อรา $x10^4$ (CFU/g) [1/]				เชื้อแบคทีเรีย $x10^6$ (CFU/g) [1/]			
	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)				ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	200	400	800	1600	200	400	800	1600
ข่า	3.50^{a}	4.50^{b}	5.00^{b}	10.00^{b}	5.00^{de}	4.80^{de}	5.35^{cde}	17.10^{a}
ตะไคร้หอม	4.00^{b}	2.00^{b}	2.00^{b}	5.00^{b}	1.40^{e}	4.10^{e}	9.45^{bc}	11.30^{b}
Geraniol	34.50^{b}	3.50^{b}	5.50^{b}	6.50^{b}	3.50^{e}	9.90^{b}	8.80^{bcd}	9.85^{b}
Eugenol	3.00^{b}	1.00^{b}	3.50^{b}	6.50^{b}	3.60^{e}	2.50^{e}	2.90^{e}	4.00^{e}
ชุดควบคุม	4.05^{b}				11.00^{b}			

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการทดสอบประมิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยข่า น้ำมันตะไคร้หอม สังเคราะห์ สารออกฤทธิ์ Geraniol และ Eugenol ในการควบคุมเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียทั่วไปในดิน ด้วยวิธีการราดน้ำมันหอมระเหยลงในดินที่ความชื้นดิน 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 2,500 5,000 และ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร น้ำมันหอมระเหยข่า น้ำมันตะไคร้หอม สังเคราะห์ สารออกฤทธิ์ Geraniol และ Eugenol ควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปได้ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 13)

ที่ระดับความชื้นดิน 50 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ว่าจะมีการใช้น้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นที่สูง ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมการสร้างโคโลนีของเชื้อราและแบคทีเรียจะน้อยกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยที่ระดับความชื้น 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12) แต่จะพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสารออกฤทธิ์ Geraniol ในการใช้ที่ระดับความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์จะมีแนวโน้มในการควบคุมเชื้อราจากดินได้ ซึ่งลักษณะนี้จะไม่พบในเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 13 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป (CFU/g) หลังการราดน้ำมันหอมระเหยลงดินความเข้มข้นต่างๆ ที่ความชื้นดิน 50 เปอร์เซ็นต์

น้ำมันหอมระเหย	เชื้อรา $x10^4$ (CFU/g) [1/]			เชื้อแบคทีเรีย $x10^6$ (CFU/g) [1/]		
	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	2500	5000	10000	2500	5000	10000
ข่า	8.60^{de}	1.93^{cd}	2.93^{g}	8.60^{bcd}	5.70^{de}	6.93^{cde}
ตะไคร้หอม	20.67^{a}	1.93^{gh}	2.06^{gh}	17.20^{a}	6.20^{de}	15.50^{a}
Geraniol	12.60^{b}	7.20^{e}	0.50^{h}	8.20^{bcd}	14.20^{a}	6.33^{de}
Eugenol	5.20^{f}	10.60^{c}	21.20^{a}	5.90^{de}	13.10^{ab}	6.00^{de}
ชุดควบคุม	1.60^{gh}			1.70^{e}		

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.3 การทดสอบการรมดินที่ผ่านการพักแปลงในสภาพห้องปฏิบัติการ

การทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหย โดยใช้วิธีการรมดินในสภาพปิดกับดินที่ผ่านการปลูกพืชมาแล้ว และอยู่ในสภาพการพักแปลง ผลของน้ำมันหอมระเหยที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไปแสดงไว้ในตารางที่ 14 พบว่า สารออกฤทธิ์ Eugenol มีประสิทธิภาพสามารถควบคุมปริมาณเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียทั่วไปได้ดีกว่า สารออกฤทธิ์ Geraniol และการรมที่นานขึ้นถึง 30 วัน ก็มีผลทำให้ปริมาณเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียลดลงด้วย สอดคล้องกับผลการวิจัย พบว่า สารออกฤทธิ์ Eugenol สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli Listeria monocytogenes* และ *Lactobacillus sakei* (Blaszyk and Holley, 1998; Gill and Holley, 2004) และมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราที่ย่อยสลายเนื้อไม้อีกด้วย (Wang *et al.*, 2005; Tsair-Bor and Shang-Tzen, 2008; Yen and Chang, 2008) สำหรับน้ำมันหอมระเหยข่า และน้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ ประสิทธิภาพน้อยกว่าหรือเทียบเท่ากับชุดควบคุม น้ำมันตะไคร้หอมสังเคราะห์ต่อการปรับใช้ในการควบคุมเชื้อราจะมีประสิทธิภาพน้อย ดังที่พบในรายงานของ Yang and Clausen (2007) ที่ได้มีการศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหยในการควบคุมเชื้อราที่ทำให้เกิดการผุพังในไม้ และพบว่าสารที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดอยู่ในกลุ่มของสารสกัดจาก rosemarry และ tea tree ในขณะที่สารสกัดจากตะไคร้จะให้ผลน้อยในการควบคุมเชื้อราจากการผุพังของไม้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 14 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป (CFU/g) จากดินเกษตรกรรมที่ความชื้นดิน 2 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการบ่มเชื้อนาน 10 20 และ 30 วัน

น้ำมันหอมระเหย	เชื้อรา x10^4 (CFU/g) [1/]			เชื้อแบคทีเรีย x10^5 (CFU/g) [1/]		
	ระยะเวลาการบ่มเชื้อ (วัน)			ระยะเวลาการบ่มเชื้อ (วัน)		
	10	20	30	10	20	30
ข่า	2.03^{bcd}	1.93^{cd}	1.86^{cd}	21.00^{b-f}	31.00^{bc}	14.30^{def}
ตะไคร้หอม	2.46^{abc}	3.16^{a}	2.40^{bc}	18.00^{c-f}	24.60^{b-e}	20.60^{c-f}
Geraniol	0.83^{ef}	0.16^{f}	2.40^{bc}	7.70^{f}	11.60^{ef}	30.00^{bcd}
Eugenol	1.46^{de}	0.70^{f}	0.50^{f}	12.00^{ef}	17.60^{c-f}	18.30^{c-f}
ชุดควบคุม	2.70^{ab}			47.60^{ab}		

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การตรวจสอบเชื้อราด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อใช้ติดตามเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

4.1 การทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ต่อเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอน-แทรคโนสพริก

การทดสอบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส ได้คัดเลือกไพรเมอร์ 3 คู่ ได้แก่ 1) primer ITS1/ITS4 (White *et al*., 1990) 2) ไพรเมอร์ Col1/Col2 (Martinez *et al*., 2003) และ 3) ไพรเมอร์ Cg/f-Int/ITS4 (Ureña-Padilla *et al*., 2002) โดยนำดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. acutatum C. capsici C. gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. มาทำปฏิกิริยา PCR ร่วมกับไพรเมอร์ ITS1/ITS4 จะพบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 600 คู่เบส จากเชื้อรา *Colletotrichum* ทั้ง 3 species (9 isolate) และเชื้อรา *Fusarium* sp. (1 isolate) (ภาพที่ 5) เนื่องจากไพรเมอร์ ITS1/ITS4 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณ 18S rDNA (Nuclear Small rDNA) และ 28S rDNA (Nuclear Large rDNA) ตามลำดับ ซึ่งบริเวณดังกล่าวเป็นตำแหน่งของ rDNA genes (18S 5.8S และ28S) เป็นส่วนที่สิ่งมีชีวิตใช้สังเคราะห์ rRNAs และเนื่องจากไพรเมอร์ ITS1/ITS4 สามารถตรวจสอบเชื้อราได้ทุกชนิด แต่จะให้แถบดีเอ็นเอที่ขนาดแตกต่างกัน โดยจะพบว่า เชื้อรา *Colletotrichum* จะให้แถบดีเอ็นเอขนาดระหว่าง 600-700 คู่เบส โดย *C. acutatum* จะได้แถบดีเอ็นเอขนาดเล็ก ในขณะที่ *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ได้แถบดีเอ็นเอที่ขนาดใกล้เคียงกัน สำหรับเชื้อรา *Fusarium* sp. ซึ่งมีการใช้เป็น negative control จะได้แถบดีเอ็นเอขนาดเล็กกว่า 600 คู่เบส ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอที่ได้มีความสอดคล้องกับ หทัยชนก (2546) ที่ใช้ universal primer ITS1/ITS4 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. capsici C. dematium* และ *C. gloeosporioides* จากการวิเคราะห์ลำดับเบสได้แถบดีเอ็นเอขนาด 580 580 และ 574 คู่เบส ตามลำดับ

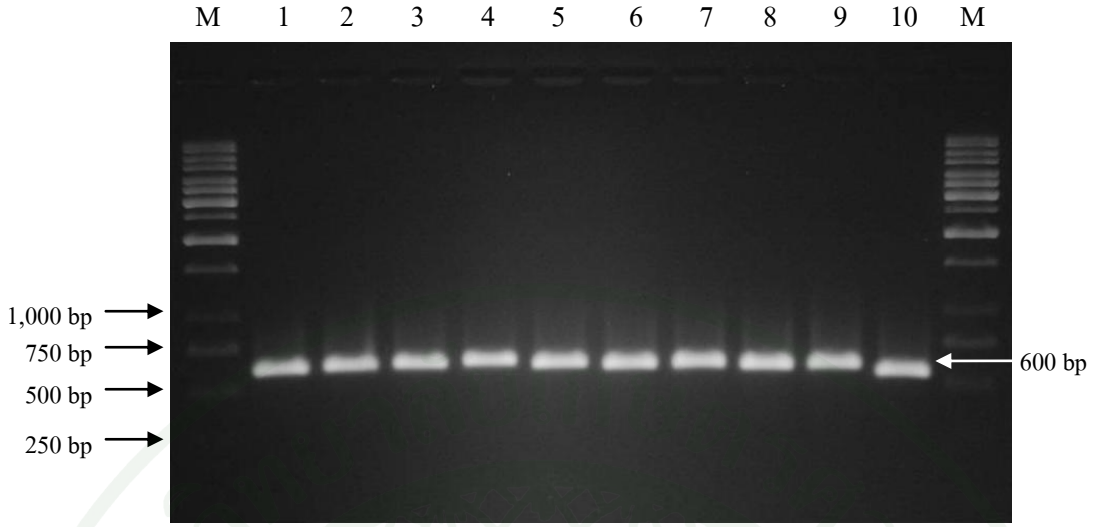
เมื่อนำไพรเมอร์ Col1/Col2 ทำปฏิกิริยา PCR กับดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. acutatum C. capsici C. gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. พบว่า ไพรเมอร์ Col1/Col2 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตรงส่วน ITS1-5.8S-ITS2 ซึ่งจำเพาะต่อเชื้อรา *C. acutatum C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ให้แถบดีเอ็นเอเดี่ยวขนาดประมาณ 460 คู่เบส (ภาพที่ 6) แต่ไพรเมอร์ดังกล่าวไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อรา *Fusarium* sp. เนื่องจาก Martinez *et al.* (2003) ออกแบบ primer Col1/Col2 จากบริเวณ ITS1 และ ITS2 ของเชื้อรา *Colletotrichum* ซึ่งบริเวณ ITS นั้นมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลำดับเบสผันแปรที่เพียงพอสำหรับนำไปออกแบบไพรเมอร์ให้จำเพาะหรือใช้แยกความแตกต่างในระดับสกุลหรือระดับชนิดของเชื้อราหลายชนิด (White *et al*., 1990)

ส่วนการใช้ไพรเมอร์ Cg/f-Int/ITS4 เพื่อการตรวจสอบเชื้อ *C. gloeosporioides* จากการศึกษาของ Ureña-Padilla *et al.* (2002) ที่ออกแบบไพรเมอร์ดังกล่าวขึ้นมา โดยผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 500 คู่เบส และจากการทดสอบ พบว่า ไพรเมอร์ดังกล่าวสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* (ภาพที่ 7; ช่องที่ 6-9) และให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 500 คู่เบส เนื่องจากไพรเมอร์ Cg/f-Int ออกแบบจากตำแหน่ง ITS1 จากการศึกษาของศรัญญา (2544) พบว่า ตำแหน่ง ITS1 มีความผันแปรสูงกว่าตำแหน่ง ITS2 และยีน 5.8S (27.07 เปอร์เซ็นต์ 11.73 เปอร์เซ็นต์ และ 0.65 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) ดังนั้นตำแหน่ง ITS1 จึงเหมาะสมในการใช้ออกแบบไพรเมอร์เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างสปีชีส์ของเชื้อรา *Colletotrichum* ในขณะที่เชื้อ *C. acutatum* (ภาพที่ 7; ช่องที่ 1-4) และเชื้อ *C. capsici* (ภาพที่ 7; ช่องที่ 5) ไม่พบแถบดีเอ็นเอ ส่วนเชื้อรา *Fusarium* sp. พบแถบดีเอ็นเอ 3 แถบขนาดประมาณ 2250 1100 และ 750 คู่เบส ตามลำดับ ซึ่งอาจเกิดจากดีเอ็นเอของเชื้อรา *Fusarium* sp. มีลำดับเบสที่เป็นคู่สมกับไพรเมอร์ดังกล่าว ส่วนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏมากกว่า 1 แถบ เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. อาจมีจำนวนซ้ำ (repetitive sequence) ในจีโนมดีเอ็นเอมากกว่าเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Fusarium* sp. ที่ปรากฏไม่ใช่ตำแหน่งที่สนใจ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 5 แถบดีเอ็นเอของยีนไรโบโซมอลของเชื้อ *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก และเชื้อ *Fusarium* sp. ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1/ITS4 และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์

ช่อง M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 Kb DNA ladder, Fermentas)

ช่องที่ 1 = C. *acutatum* NKP044

ช่องที่ 2 = C. *acutatum* KPS004

ช่องที่ 3 = C. *acutatum* KPS005

ช่องที่ 4 = C. *acutatum* KPS006

ช่องที่ 5 = *C. capsici* NKP038

ช่องที่ 6 = *C. gloeosporioides* NKP098

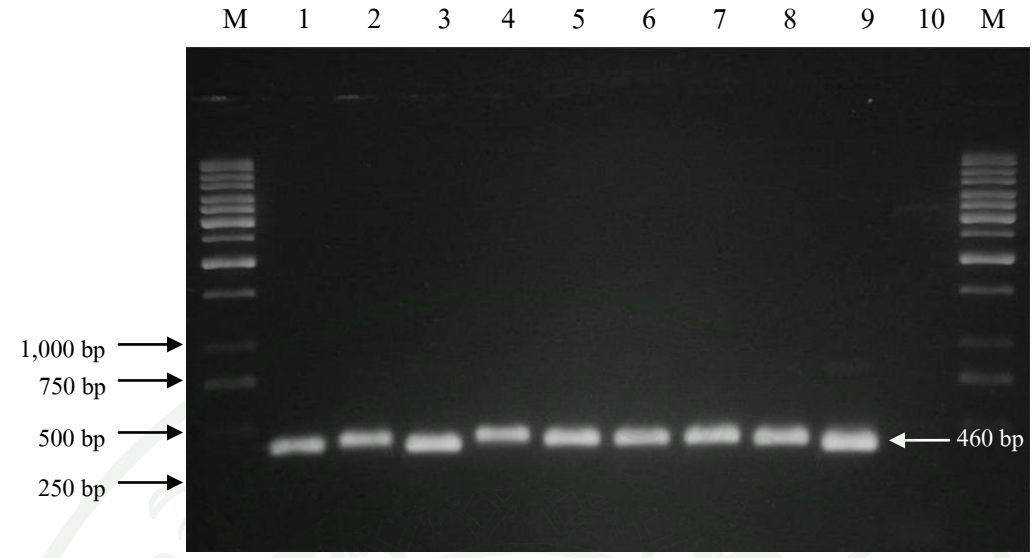
ช่องที่ 7 = *C. gloeosporioides* KPS001

ช่องที่ 8 = *C. gloeosporioides* KPS002

ช่องที่ 9 = *C. gloeosporioides* KPS003

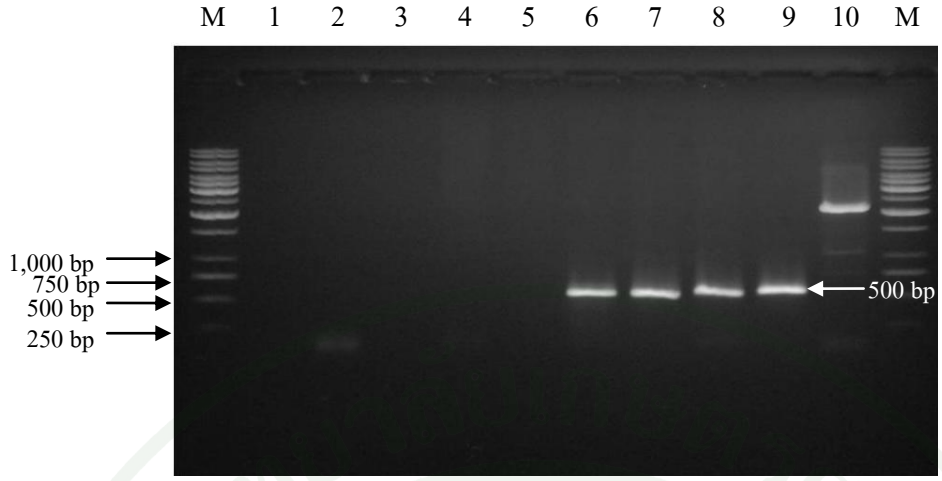
ช่องที่ 10 = *Fusarium* sp. RP041

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 แถบดีเอ็นเอจากการสังเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. และเชื้อ *Fusarium* sp. ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ Col1/Col2 และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์
ช่อง M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 Kb DNA ladder, Fermentas)
ช่องที่ 1 = C. *acutatum* NKP044
ช่องที่ 2 = C. *acutatum* KPS004
ช่องที่ 3 = C. *acutatum* KPS005
ช่องที่ 4 = C. *acutatum* KPS006
ช่องที่ 5 = *C. capsici* NKP038
ช่องที่ 6 = *C. gloeosporioides* NKP098
ช่องที่ 7 = *C. gloeosporioides* KPS001
ช่องที่ 8 = *C. gloeosporioides* KPS002
ช่องที่ 9 = *C. gloeosporioides* KPS003
ช่องที่ 10 = *Fusarium* sp. RP041

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 7 แถบดีเอ็นเอจากการสังเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. และเชื้อ *Fusarium* sp. ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ Cg/f-Int/ITS4 และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์

ช่อง M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 Kb DNA ladder, Fermentas)

ช่องที่ 1 = C. *acutatum* NKP044

ช่องที่ 2 = C. *acutatum* KPS004

ช่องที่ 3 = C. *acutatum* KPS005

ช่องที่ 4 = C. *acutatum* KPS006

ช่องที่ 5 = *C. capsici* NKP038

ช่องที่ 6 = *C. gloeosporioides* NKP098

ช่องที่ 7 = *C. gloeosporioides* KPS001

ช่องที่ 8 = *C. gloeosporioides* KPS002

ช่องที่ 9 = *C. gloeosporioides* KPS003

ช่องที่ 10 = *Fusarium* sp. RP041

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการเปรียบเทียบไพรเมอร์ทั้ง 3 คู่ คือ 1) ไพรเมอร์ ITS1/ITS4 2) ไพรเมอร์ Col1/Col2 และ 3) ไพรเมอร์ Cg/f-Int/ITS4 (ตารางที่ 15) ที่นำมาใช้ในการตรวจติดตามเชื้อ *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก พบว่า ไพรเมอร์ Col1/Col2 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อรา *C. acutatum C. capsici* และ *C. gloeosporioides* โดยจะพบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 600–700 คู่เบส ซึ่งเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการตรวจติดตามเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในผลพริก เนื่องจากเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในประเทศไทยเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* ทั้ง 3 สปีชีส์

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบขนาดแถบดีเอ็นเอของไพรเมอร์ ITS1/ITS4 ไพรเมอร์ Col1/Col2 และไพรเมอร์ Cg/f-Int/ITS4 ที่มีต่อเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก และเชื้อรา *Fusarium* sp. ที่ใช้ในการศึกษา

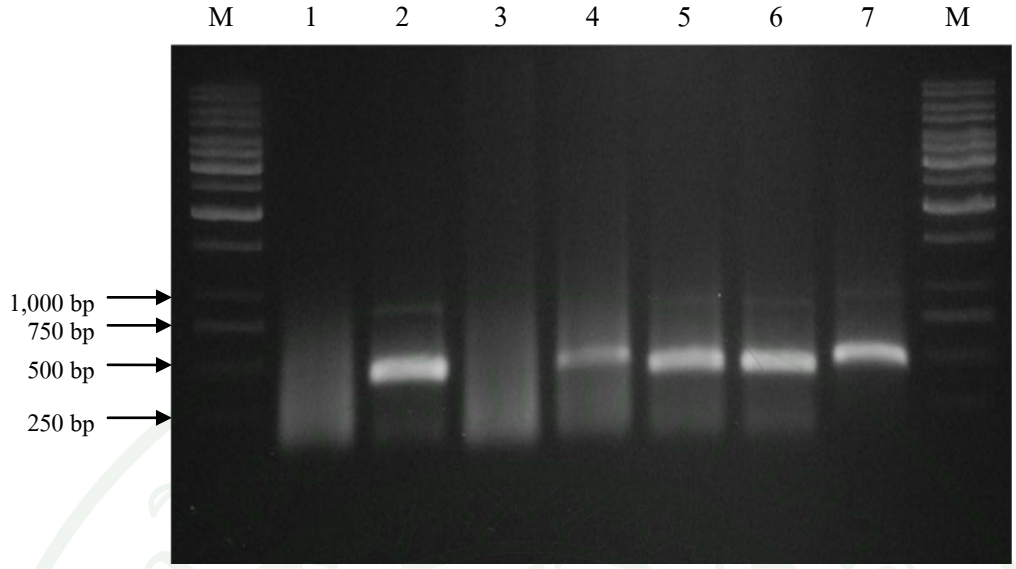
เชื้อสาเหตุ	ไอโซเลท	ขนาดแถบดีเอ็นเอ (คู่เบส)		
		ITS1/ITS4	Col1/Col2	Cg/f-Int/ITS4
C. acutatum	KPS004	600-700	460	-
C. acutatum	KPS005	600-700	460	-
C. acutatum	KPS006	600-700	460	-
C. acutatum	NKP044	600-700	460	-
C. capsici	NKP038	600-700	460	-
C. gloeosporioides	KPS001	600-700	460	500
C. gloeosporioides	KPS002	600-700	460	500
C. gloeosporioides	KPS003	600-700	460	500
C. gloeosporioides	NKP098	600-700	460	500
Fusarium sp.	RP041	600-700	-	2250, 1100, 750

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2 การใช้เทคนิค PCR เพื่อติดตามการพัฒนาของเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส บนผลพริก

จากการปลูกเชื้อบนผลพริกด้วยเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* นาน 1 2 3 4 วัน และชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อ) จากนั้นตัดเนื้อเยื่อผลพริกขนาด 1 ตารางเซนติเมตร รอบบริเวณที่ปลูกเชื้อนำมาบดให้ละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลวก่อนนำไปสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นนำดีเอ็นเอไปทำปฏิกิริยา PCR กับไพรเมอร์ Col1/Col2 พบว่า ไพรเมอร์ดังกล่าวสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum* ให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 500 คู่เบส (ภาพที่ 8) ได้หลังการปลูกเชื้อ 1 วัน และเห็นแถบดีเอ็นเออย่างชัดเจนเมื่อปลูกเชื้อไปแล้ว 2 วัน ส่วนชุดควบคุมไม่พบแถบดีเอ็นเอ เช่นเดียวกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งการตรวจติดตามดังกล่าวเป็นการทดสอบเพื่อให้เกิดความมั่นใจว่า เชื้อรา *Colletotrichum* สามารถเข้าทำลายพริกได้ภายใน 1 วัน ผ่านบาดแผลที่ปลูกเชื้อ และไพรเมอร์ที่ใช้ไม่ทำปฏิกิริยากับดีเอ็นเอของตัวอย่างพืช โดยผลจากการทดลองนี้จะนำไปยืนยันว่า ผลพริกที่เตรียมไว้เพื่อปลูกเชื้อนั้นมีเชื้อ *Colletotrichum* อยู่แน่นอน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 8 แถบดีเอ็นเอจากการสังเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ ITS1-5.8S-ITS2 ของเชื้อ *Colletotrichum gloeopsorioides* ที่เพิ่มปริมาณได้จากการทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ดีเอ็นเอจากชิ้นส่วนพริกหลังการปลูกเชื้อรา *C. gloeopsorioides* นาน 1 2 3 และ 4 วัน และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์
ช่อง M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 Kb DNA ladder, Fermentas)
ช่องที่ 1 = น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
ช่องที่ 2 = เชื้อรา *C. gloeopsorioides*
ช่องที่ 3 = เนื้อเยื่อพริกปกติ (ชุดควบคุม; ไม่ปลูกเชื้อ)
ช่องที่ 4 = เนื้อเยื่อพริกหลังจากปลูกเชื้อ 1 วัน
ช่องที่ 5 = เนื้อเยื่อพริกหลังจากปลูกเชื้อ 2 วัน
ช่องที่ 6 = เนื้อเยื่อพริกหลังจากปลูกเชื้อ 3 วัน
ช่องที่ 7 = เนื้อเยื่อพริกหลังจากปลูกเชื้อ 4 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

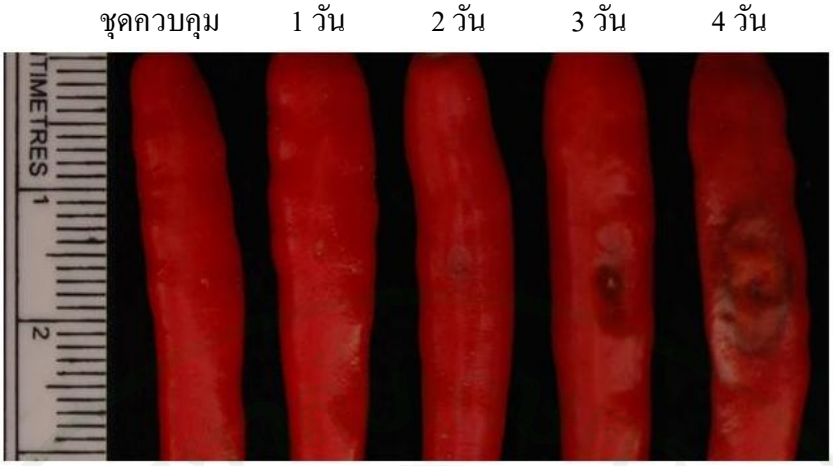
5. การประเมิน การตรวจสอบโรคแอนแทรคโนสด้วยเทคนิค PCR

การตรวจประเมินโรคแอนแทรคโนสในผลผลิตพริก เป็นการสำรวจเพื่อใช้เป็นระบบประเมินความรุนแรงของโรคที่พบในแปลงผลิต แต่เนื่องจากโรคนี้เกิดขึ้นในผลผลิตพริก และมีโอกาสแฝงตัวอยู่ในผลพริกได้ การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ PCR เพื่อการตรวจประเมินโรคในผลผลิตพริก และความไวของวิธีดังกล่าวโดยมีหัวข้อในการศึกษา ดังนี้

5.1 การตรวจติดตามเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ในผลพริก

ทำการปลูกเชื้อบนผลพริกด้วยเส้นใยเชื้อ *C. gloeosporioides* NKP098 โดยการทำแผลและบ่มในที่ชื้น พบว่า หลังจากปลูกเชื้อ 1 วัน พริกยังไม่แสดงอาการของโรค เนื่องจากเส้นใยของเชื้อราเริ่มเจริญและเคลื่อนย้ายลงสู่ชั้น epidermal cell ซึ่งการเจริญในช่วงแรกเป็นแบบ Biotrophic คือ เส้นใยใช้อาหารจากเซลล์พืชโดยไม่ทำลายเซลล์ ต่อมาภายใน 48-72 ชั่วโมง โดยเชื้อจะเปลี่ยนการทำลายเป็นแบบ necrotrophic hyphaeโดยเชื้อราเจริญเพิ่มปริมาณ และขยายพันธุ์อยู่ในเซลล์เป็นสาเหตุทำให้พืชแสดงอาการของโรค ภายหลังการปลูกเชื้อนาน 2 และ 3 วัน ในระยะเดียวกันเชื้อจะสร้างสปอร์จำนวนมากในชั้น epidermis ส่งผลให้พืชเกิดรอยแตก และมี acervulus ปรากฏขึ้น (4 วัน หลังการปลูกเชื้อ) โดย acervulus จะพบได้ในเนื้อเยื่อพืชที่ตายหรืออาจพบในเนื้อเยื่อพืชที่มีชีวิตอยู่ได้ (ภาพที่ 9) (ปริฉัตร, 2549) การเข้าทำลายพืชของเชื้อรา *C. gloeosporioides* นี้ได้มีความเกี่ยวข้องกับสารเคมีที่สะสมในพืชด้วยโดย Adikaram *et al.* (1988) พบว่า สาร capsicanol ที่พืชสร้างนั้นจะมีความเป็นพิษต่อเชื้อรา ดังนั้นภายหลังการปลูกเชื้อลงบนผลพริก ซึ่งมีการสะสมของสาร capsicanol อยู่จึงทำให้พืชไม่แสดงอาการของโรค จากการตรวจสอบพบว่า ความเข้มข้นของสาร capsicanol ในผลสุกจะมีต่ำกว่าผลไม่สุก ดังนั้นเมื่อผลพริกสุกมากขึ้นความเข้มข้นของสาร capsicanol จึงลดลงจนไม่เพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และทำให้ผลพริกแสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสออกมาได้ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อผลพริกได้ถูกเชื้อ *Colletotrichum* ใดๆ เข้าทำลายและฝังตัวในผลพริก ก็จะทำให้ผลพริกแสดงอาการโรคออกมาในภายหลัง จากการศึกษานี้ทำให้ทราบว่า ภายหลังการปลูกเชื้อโดยการทำแผลบนผลพริกนาน 2 วัน ก็จะแน่ใจได้ว่าเชื้อ *Colletotrichum* สามารถที่จะเข้าทำลายผลพริกได้ ซึ่งในการทดลองต่อไปจะใช้เวลาในการปลูกเชื้อดังกล่าวในการเตรียมผลพริกเพื่อการทดสอบการเข้าทำลายของเชื้อ *Colletotrichum* บนผลพริก ดังนั้นการศึกษาต่อไปจึงเป็น การตรวจสอบการปรับใช้เทคนิค PCR เพื่อการประเมินโรคแอนแทรคโนสในผลผลิตพริกในระดับห้องปฏิบัติการว่าจะมีข้อจำกัดเช่นใด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 การพัฒนาอาการโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกหลังจากปลูกเชื้อ 1 2 3 และ 4 วัน ด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* isolate NKP098

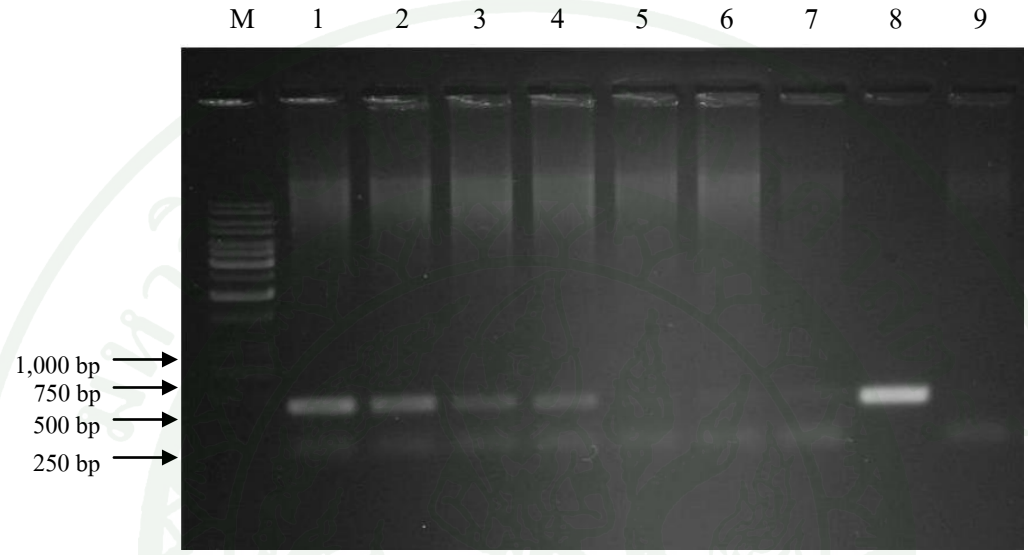
5.2 การตรวจปริมาณสปอร์ต่ำสุดด้วยเทคนิค PCR เพื่อการตรวจสอบเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก บนเนื้อเยื่อพริก

การตรวจสอบความไวในการทำปฏิกิริยาของไพรเมอร์ โดยการปรับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยของเชื้อ *C. gloeosporioides* แล้วปลูกเชื้อลงบนผลพริกในพื้นที่ปลูกเชื้อขนาด 1 ตารางเซนติเมตร และใบอ่อนพริกขนาดประมาณ 2 ตารางเซนติเมตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องนาน 12 ชั่วโมง จากนั้นนำไปสกัดดีเอ็นเอ และนำมาตรวจสอบโดยเทคนิค PCR ด้วยไพรเมอร์ Col1/Col2 พบว่า ไพรเมอร์ Col1/Col2 สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum* และให้แถบดีเอ็นเอขนาด 460 คู่เบส ซึ่งเป็นแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ปรากฏในตัวอย่างใบและผลพริก ที่มีการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ลงไป และจะพบว่า ที่ความเข้มข้นสปอร์ต่ำสุดที่สามารถตรวจสอบได้คือที่ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตรต่อชิ้นส่วนพืชที่ทดสอบ และพบแถบดีเอ็นเอตั้งแต่ความเข้มข้นสปอร์ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ขึ้นไป โดยที่ระดับต่ำกว่านั้นจะไม่สามารถตรวจสอบได้ทั้งในใบและผลพริก (ภาพที่ 10 และภาพที่ 11)

การตรวจสอบปริมาณเชื้อราที่ต่ำสุดเป็นการยืนยันว่าการใช้เทคนิค PCR โดยมีโปรแกรมการตรวจวัดดังกล่าวจะมีข้อจำกัดในด้านการหาดีเอ็นเอเฉพาะของ *C. gloeosporioides* ซึ่งในลักษณะทั่วๆ ไป จะเป็นการตรวจหาแถบดีเอ็นเอเฉพาะของ *C. gloeosporioides* โดยตรง ในขณะที่การนำไปผสมกับเนื้อเยื่อพืชจะเป็นปัจจัยที่มาลดศักยภาพในการตรวจจับลดลง ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อเยื่อพืชมีส่วนของสาร phenolic น้ำตาล และเอนไซม์ ในรูปแบบต่างๆ ในปริมาณที่ไม่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เท่ากัน ข้อจำกัดในการตรวจหาเชื้อราในพืช หรือความไวของวิธีการจึงมีความแตกต่างกันด้วย อย่างไรก็ตาม ได้มีการนำวิธีการตรวจนี้ไปทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในพริก เพื่อจะทราบถึงปริมาณต่ำสุดเมื่อนำไปใช้ตรวจการปนเปื้อนของโรคแอนแทรคโนสในผลผลิตพริกต่อไป



ภาพที่ 10 แถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากการตรวจสอบด้วยปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ด้วยไพรเมอร์ Col1/Col2 จากสารแขวนลอยสปอร์ที่ปนเปื้อนบนใบพริก และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์

ช่อง M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 Kb DNA ladder, Fermentas)

ช่องที่ 1 = เนื้อเยื่อใบพริกปกติ และสปอร์แขวนลอยเชื้อ $4.6x10^5$ สปอร์

ช่องที่ 2 = เนื้อเยื่อใบพริกปกติ และสปอร์แขวนลอยเชื้อ $1x10^5$ สปอร์

ช่องที่ 3 = เนื้อเยื่อใบพริกปกติ และสปอร์แขวนลอยเชื้อ $1x10^4$ สปอร์

ช่องที่ 4 = เนื้อเยื่อใบพริกปกติ และสปอร์แขวนลอยเชื้อ $1x10^3$ สปอร์

ช่องที่ 5 = เนื้อเยื่อใบพริกปกติ และสปอร์แขวนลอยเชื้อ $1x10^2$ สปอร์

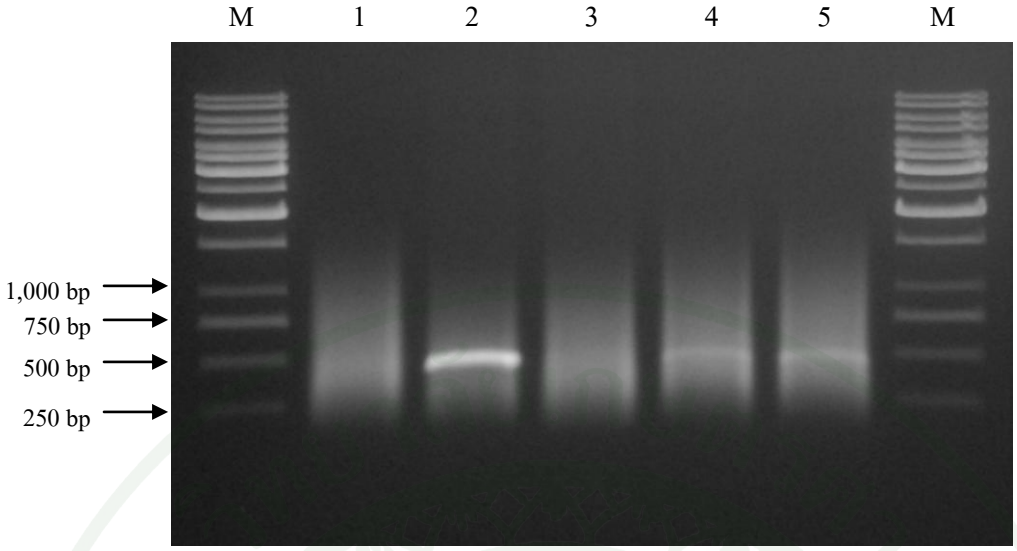
ช่องที่ 6 = เนื้อเยื่อใบพริกปกติ และสปอร์แขวนลอยเชื้อ 10 สปอร์

ช่องที่ 7 = เนื้อเยื่อใบพริกปกติ และสปอร์แขวนลอยเชื้อ 1 สปอร์

ช่องที่ 8 = เชื้อรา *C. gloeosporioides*

ช่องที่ 9 = น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 11 แถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* จากการตรวจสอบด้วยปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) ด้วยไพรเมอร์ Col1/Col2 จากสารแขวนลอยสปอร์ที่ปนเปื้อนบนเนื้อเยื่อพริก และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบนagarose gel 1 เปอร์เซ็นต์

ช่อง M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 Kb DNA ladder, Fermentas)

ช่องที่ 1 = น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

ช่องที่ 2 = เชื้อรา *C. gloeosporioides*

ช่องที่ 3 = เนื้อเยื่อพริก 1 ตารางเซนติเมตร และสปอร์แขวนลอยเชื้อ $1x10^2$ สปอร์

ช่องที่ 4 = เนื้อเยื่อพริก 1 ตารางเซนติเมตร และสปอร์แขวนลอยเชื้อ $1x10^3$ สปอร์

ช่องที่ 5 = เนื้อเยื่อพริก 1 ตารางเซนติเมตร และสปอร์แขวนลอยเชื้อ $1x10^4$ สปอร์

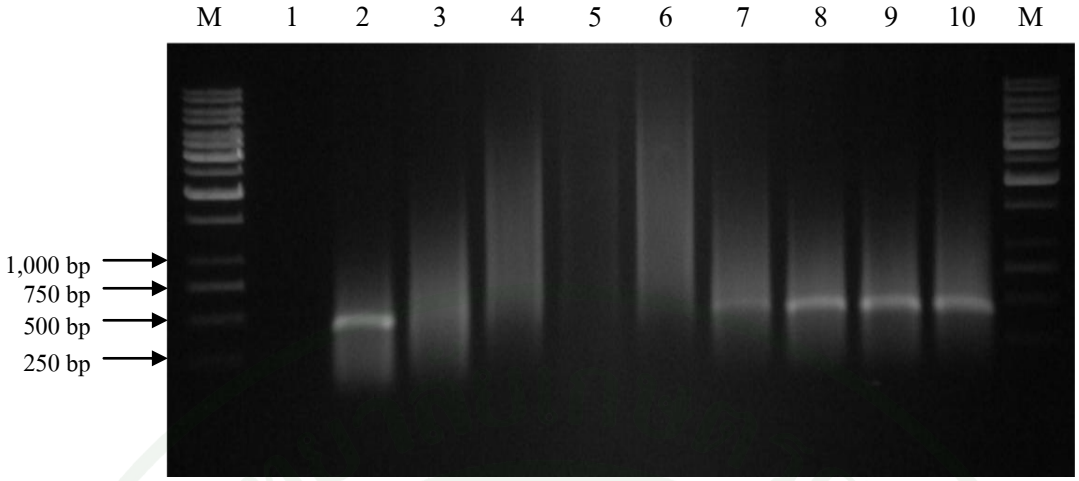
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.3 การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของโรคแอนแทรคโนสพริกในผลผลิตพริก

การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeopsorioides* บนผลพริก เพื่อใช้ประเมินโอกาสการเน่าเสียของผลผลิตพริกที่สำคัญในระบบการค้า ทำการผสมเนื้อเยื่อพริกที่เป็นโรคแอนแทรคโนส (จากการปลูกเชื้อ) ในระดับต่างๆ โดยปรับให้มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนตั้งแต่ 0 1 5 10 25 50 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันและบดตัวอย่างด้วยไนโตรเจนเหลวก่อนนำไปสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอ ทำการตรวจสอบดีเอ็นเอที่ได้โดยใช้เทคนิค PCR ร่วมกับไพรเมอร์ Col1/Col2 ผลการตรวจสอบการปนเปื้อนได้แสดงในภาพที่ 12 พบว่า การใช้เทคนิค PCR สามารถตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในผลผลิตได้ตั้งแต่ 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้นไปจนถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยจะพบแถบดีเอ็นเอขนาด 460 คู่เบส เท่ากับแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สำหรับการปนเปื้อนที่ 1 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถตรวจสอบได้ ผลการทดลองดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงกว่า หทัยชนก (2546) ที่ได้ตรวจสอบเมล็ดพริกที่ปนเปื้อนเชื้อรา *C. capsici* ด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบคือ ไพรเมอร์ F/ITS1-CC กับ R/ITS2-CC ไพรเมอร์ดังกล่าวสามารถตรวจสอบได้ต่ำสุดที่ระดับการปนเปื้อน 60 เปอร์เซ็นต์ จากการบดเมล็ดอย่างละเอียดก่อนนำไปสกัดดีเอ็นเอ แต่จากรายงานของ Chen *et al.* (2007) ที่พัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อรา *C. lindermuthianum* ในเนื้อเยื่อถั่วแห้ง โดยการออกแบบไพรเมอร์ CIF4 และใช้ร่วมกับไพรเมอร์ ITS4 ในการทำปฏิกิริยา Nested PCR พบว่า สามารถตรวจสอบได้ต่ำสุดที่ระดับการปนเปื้อน 1 เปอร์เซ็นต์

การใช้เทคนิค PCR เพื่อการตรวจประเมินโรคในผลผลิตพริก พบว่า วิธีดังกล่าวสามารถตรวจสอบเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสโดยตรง หรือใช้ตรวจสอบเชื้อที่ปนเปื้อนในใบ หรือผลได้ แต่ปริมาณเชื้อที่ตรวจสอบจะต้องมีปริมาณมากพอ ตั้งแต่ 1000 สปอร์ขึ้นไปหรือมีการปนเปื้อนในผลผลิตคิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ของผลผลิตทั้งหมด ข้อจำกัดในด้านประสิทธิภาพการตรวจพบเชื้อรา *Colletotrichum* ในระดับต่ำของเทคนิคนี้เป็นเพราะการสกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสจะมีปริมาณสารจากตัวอย่างพืชที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยา PCR ได้ ซึ่งสารดังกล่าวเป็นสาร polysaccharides และ phenolic compounds เป็นต้น (Wilson, 1997)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 12 แถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เพิ่มปริมาณได้จากการทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ดีเอ็นเอจากผสมผลพริกเป็นโรค และผลพริกปกติบดละเอียด ที่ระดับการปนเปื้อนต่างๆ ด้วยไพรเมอร์ Col1/Col2 และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสบน agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์

ช่อง M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 Kb DNA ladder, Fermentas)

ช่องที่ 1 = น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

ช่องที่ 2 = เชื้อรา *C. gloeosporioides*

ช่องที่ 3 = เนื้อเยื่อพริกปกติ 100 เปอร์เซ็นต์

ช่องที่ 4 = เนื้อเยื่อพริกปกติ 99 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อเยื่อพริกเป็นโรค 1 เปอร์เซ็นต์

ช่องที่ 5 = เนื้อเยื่อพริกปกติ 95 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อเยื่อพริกเป็นโรค 5 เปอร์เซ็นต์

ช่องที่ 6 = เนื้อเยื่อพริกปกติ 90 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อเยื่อพริกเป็นโรค 10 เปอร์เซ็นต์

ช่องที่ 7 = เนื้อเยื่อพริกปกติ 75 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อเยื่อพริกเป็นโรค 25 เปอร์เซ็นต์

ช่องที่ 8 = เนื้อเยื่อพริกปกติ 50 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อเยื่อพริกเป็นโรค 50 เปอร์เซ็นต์

ช่องที่ 9 = เนื้อเยื่อพริกปกติ 25 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อเยื่อพริกเป็นโรค 75 เปอร์เซ็นต์

ช่องที่ 10 = เนื้อเยื่อพริกเป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุป

จากการรวบรวมฐานข้อมูลเกษตรอินทรีย์ของประเทศไทย สหรัฐอเมริกา และสหภาพยุโรป และจัดทำแผนการจัดการศัตรูพืชในพริกแบบลดการใช้สารเคมีเพื่อเป็นแนวทางการควบคุมศัตรูพืชที่เตรียมไว้เมื่อเกิดศัตรูพืชเข้าทำลาย โดยใช้ข้อมูลปัจจัยการผลิตจากมาตรฐานระบบเกษตรอินทรีย์ วิธีการจัดการต่างๆได้แก่ การใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ การใช้สารเคมีจากธรรมชาติ เช่น สารกำมะถัน สารประกอบทองแดงหรือบอโดมิกเจอร์ โปรตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต และแอมโมเนียมคาร์บอเนต สามารถนำมาใช้ได้ เมื่อพบการเข้าทำลายของศัตรูพืชเป้าหมายแบบไม่ใช้สารเคมีในทุกระบบการรับรองเกษตรอินทรีย์ สำหรับกลุ่มของสารที่มาจากน้ำมัน เช่น น้ำมันหอมระเหย จะมีผลทั้งต่อเชื้อสาเหตุโรค หรือใช้เพื่อการไล่ศัตรูพืชออกไปจากพื้นที่ได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารเคมีที่จัดว่าไม่เป็นพิษต่อเชื้อโรค หรือแมลงโดยตรง แต่จะไปทำให้เกิดกระบวนการต้านทานขึ้นในพืชได้ สารดังกล่าวได้แก่ acibensolar-S methyl และ silisa ซึ่งเป็นปุ๋ยชนิดหนึ่ง

การปลูกพริกพันธุ์ซุปเปอร์ฮอทในระยะชิดจะให้พริกมีการเจริญ และได้ผลผลิตที่ดี ที่มากกว่าการปลูกในระยะห่าง และเมื่อมีการใช้สาร Bion ร่วมด้วย จะให้ผลผลิตพริกคุณภาพดีในเปอร์เซ็นต์ที่ดีกว่าการทดสอบร่วมแบบอื่นๆ ในขณะที่ การปลูกพริกในระยะห่างร่วมกับปุ๋ยเคมีจะทำให้ได้ผลผลิตด้อยคุณภาพในเปอร์เซ็นต์ที่สูง

การกระตุ้นต้นกล้าในระยะเจริญด้วยสารไคโตซาน และต้นกล้าปกติ จะไม่มีผลต่อคุณภาพของผลผลิตพริก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จะมีผลต่อความสูงต้นของพริก ผลที่เกิดจากการใช้สารซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส ร่วมกับการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน หรือต้นกล้าปกติ จะให้ผลผลิตที่เสียหายจากแมลงได้มาก เมื่อเทียบกับผลผลิตพริกที่ได้จากการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซานอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่การใช้สาร Bion จะสามารถลดการเกิดโรคได้ทั้งจากพืชที่กระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และต้นกล้าปกติ

การใช้สารออกฤทธิ์ Eugenol และ Geraniol สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใย และการงอกของสปอร์ที่พัฒนาเป็นโคโลนีของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ โดยการใช้ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และการปรับใช้เพื่อลดปริมาณเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียทั่วไปในดิน สามารถใช้ได้ดีที่ระดับความชื้นในดิน 2 เปอร์เซ็นต์ และผ่านการรมนาน 10-20 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไพรเมอร์ Col1/Col2 มีความจำเพาะต่อเชื้อราสกุล *Colletotrichum* ทั้ง 3 สกุล ได้แก่ *C. acutatum C. capsici* และ *C. gloeosporioides* สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และให้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 460 คู่เบส และพบว่า สามารถตรวจพบดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อรา *Colletotrichum* ได้ที่ระดับต่ำสุด 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และสามารถตรวจพบดีเอ็นเอของเชื้อรา *Colletotrichum* ได้หลังการปลูกเชื้อนาน 1 วัน และไพรเมอร์ Col1/Col2 สามารถตรวจสอบผลพริกที่ปนเปื้อนจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในระดับต่ำสุดที่การปนเปื้อน 25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2543. **มาตรฐานการผลิตพืชอินทรีย์ของประเทศไทย**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2547. **สถิติการปลูกตามชนิดพืช**. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2551. **ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด: พืชผัก**. แหล่งที่มา: http://www.doae.go.th/pest/vegeta/chilli/chillison.htm, 20 กันยายน 2551.

เกศนรี จองโชติศิริกุล. 2544. **การศึกษาผลของไคโตแซนต่อเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนสและการชักนำ การสร้างเอนไซม์ไคติเนสและเบต้า-1,3-กลูคาเนสในองุ่น**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, สุภัทรา จามกระโทก, ชลิดา เล็กสมบูรณ์, นวลวรรณ ฟ้ารุ่งสาง และอุดม ฟ้ารุ่งสาง. 2548. องค์ประกอบทางเคมีบางประการของน้ำมันกระชายและฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช, น. 697-704. *ใน* **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 (สาขาพืช)**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธวัช หะหมาน. 2548. **ผลของไคโตแซนต่อการชักนำ ความต้านทานของผลมะม่วงต่อโรคแอนแทรคโนส.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิรนาม ก. ม.ป.ป. **การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้เจาะผลพริก**. แหล่งที่มา: http://www.-rakbankerd.com/agriculture/print.php?id=1460&s=tblplant, 20 เมษายน 2554.

นิรนาม ข. ม.ป.ป. **แมลงศัตรูพริกที่สำคัญ**. แหล่งที่มา: http://www.oard3.org/knowledge-_oard3.asp, 20 เมษายน 2554.

นิรนาม ค. ม.ป.ป. **ว่าด้วยเรื่อง แมลงศัตรูพริก**. แหล่งที่มา: http://www.siamsouth.com/smf/-index.php?topic=19463.0, 20 เมษายน 2554.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บุญญวดี จิระวุฒิ. 2540. **การทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนผลพริก และการถ่ายทอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ด และต้นกล้า**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปริฉัตร พละพลึง. 2549. **การปรับปรุงพันธุ์สตรอเบอรี่ต้านทานโรคแอนแทรคโนส**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ปวีณา มนตรี, Taylor. P. W. J. และ อรรัตน์ มงคลพร. 2551. **การตอบสนองของพริก 4 ชนิดต่อเชื้อ *Colletotrichum capsici, C. acutatum* และ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอนแทรกโนส ในประเทศไทย**. แหล่งที่มา: http://conf.agi.nu.ac.th/nhc7/upload/abstract/Ab_NHC7_%E0% B8%9B%E0%B8%A7%E0%B8%B5%E0%B8%93%E0%B8%B2_01.doc, 3 กันยายน 2551.

มณีฉัตร นิกรพันธ์. 2541. **พริก**. โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์, กรุงเทพฯ.

รัติยา พงศ์พิสุทธา, วรานันท์ วิญญรัตน์, โชติรส รอดเกตุ และ เทพพนม แสงเพลิง. 2553. ความผันแปรทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก. **ว. วิทย. กษ.** 41(1) (พิเศษ): 318–321.

วิภาดา ปลอดครบุรี, สัญญาณี ศรีคชา, เกรียงไกร จำเริญมา และ อัมพร วิโนทัย. 2551. **การศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้ ศัตรูธรรมชาติ และฤดูการระบาดของแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในแหล่งปลูกพริก**, น. 109-110. บทคัดย่อ รายงานผลงานวิจัยและพัฒนาด้านพืชและเทคโนโลยีการเกษตร ปีงบประมาณ 2551.

ศรัญญา ลิ้มไขแสง. 2544. **ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Colletotrichum* จากการวิเคราะห์ลำดับเบสในตำแหน่งอินเทอร์นัลทรานสไครพ์สเพเซอร์.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2549. **โรคของผักและการควบคุมโรค**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. **โรคของผักและการป้องกันกำจัด**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศุภลักษณ์ ฮอกะวัด. 2536. **โรคผักตระกูลพริกและมะเขือเทศ**. ขอนแก่นการพิมพ์, ขอนแก่น.

สุชีลา เตชะวงค์เสถียร. 2549. **พริก: การผลิต การจัดการ และการปรับปรุงพันธุ์**. เพรส มีเดีย, กรุงเทพฯ.

สุพัฒน์ อรรถธรรม. 2552. **โรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัส**. เพชรรุ่งการพิมพ์, นนทบุรี.

หทัยชนก คงแก้ว. 2546. **การพัฒนาชุดไพรเมอร์สำหรับตรวจ *Colletotrichum* spp. บนเมล็ดพริก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรพรรณ วิเศษสังข์ และ จุมพล สาระนาค. 2547**.** การบริหารโรคกุ้งแห้งของพริก, น. 456-466. *ใน* **รายงานผลการทดลองปี 2547 กลุ่มวิจัยโรคพืช**. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

อรพรรณ วิเศษสังข์, จุมพล สาระนาค, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, วันเพ็ญ ศรีทองชัย, มนตรี เอี่ยมวิมังสา และ ธารทิพย ภาสบุตร. 2547. การศึกษาชนิดของโรคพริกเพื่อการส่งออก, น. 806-831. *ใน* **รายงานผลการทดลองปี 2547 กลุ่มวิจัยโรคพืช**. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

Abdel-Mawgoud, A. M. R., A. S. Tantawy, M. A. El-Nemr and Y. N. Sassine. 2010. Growth and Yield Responses of Strawberry Plants to Chitosan Application. **European Journal of Scientific Research** 39(1): 170-177.

Adikaram N. K. B., A. E. Brown and T. R. Swinburne. 1988. Phytoalexin Induction as a Factor in the Protection of *Capsicum annuum* L. Fruits Against Infection by *Botrytis cinerea* Pers. **Phytopathology** 122: 267-273.

Agrios, G. N. 2005. **Plant pathology**. Acdemic Press, New York.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Ahmed, M.K. 1984. Optimum plant spacing and nitrogen fertilization of sweet pepper in the Sudan Gezira. **Acta Hortic**. 143: 305-310.

Bautista-Banos, S., M. Hernandez-Lopez, E. Bosquez-Molina and C.L. Wilson. 2003. Effect of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioide,* anthracnose leaves and quality of papaya fruit. **Crop Protection** 22: 1087–1092.

Baysal, O., C. Turgut and G. Mao. 2005. Acibenzolar-S-methyl induced resistance to *Phytophthora capsici* in pepper leaves. **Biologia Plantarum** 49(4): 599-604.

Bell, A. A., J. C. Hubbard, L. Liu, R. M. Davis and K. V. Subbarao. 1998. Effects of chitin and chitosan on the incidence and severity of Fusarium yellows in celery. **Plant Dis**. 82: 322-328.

Benhamou, N. 1992. Ultrastructural and cytochemical aspects of chitosan on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis – lycopersici*, agent of tomato crown and root rot. **Phytopathology** 82: 1185–1193.

Blaszyk M. and R.A. Holley. 1998. Interaction of monolaurin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms. **International Journal of Food Microbiology** 39: 175–183.

Chen, L. S., C. Chu, C. D. Liu, R. S. Chen and J. G. Tsay. 2006. PCR-based Detection and differentiation of anthracnose pathogens, *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. truncatum*, from vegetable soybean in Taiwan. **Phytopathology** 154: 654-662.

Chen, Y.-Y., R. L. Conner, C. L. Gillard, G. J. Boland, C. Babcock, K.-F. Chang, S. F. Hwang and P. M. Balasubramanian. 2007. A specific and sensitive method for the detection of *Colletotrichum lindemuthianum* in dry bean tissue. **Plant Dis.** 91: 1271-1276.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Cho, M. H., H. K. No, and W. Prinyawimatkul. 2008. Chitosan treatments affect growth and selected Quality of sunflower sprouts. **Journal of food science** 73(1): 70-77.

Eikemo, H., A. Stensvand and A. M. Tronsmo. 2003. Induced resistance as a possible means to control diseases of strawberry caused by *Phytophthora* spp. **Plant Dis.** 87: 345-350.

El Ghaouth, A. J. Arul, C. Wilson and N. Benhamou. 1997. Biochemical and cytochemical aspects of the interaction of chitosan and *Botrytis cinerea* in bell pepper fruit. **Postharvest Biol. Technol**. 12: 183-194.

El Ghaouth, A., J. Arul, J. Grenier and A. Asselin. 1992. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology** 82: 398–402.

European Union. 2008. **EEC Regulation No. 2092/91.** Available Source: http://www.controlunion.com/certification/program/subprogram/Subprogram.aspx?Subprogram_ID=1&Program_ID=1, June 23, 2008.

Gill, A.O. and R.A. Holley. 2004. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. **Applied and Environmental Microbiology** 70: 5750-5755.

Gopinath, K., N. V. Radhakrishnan and J. Jayaraj. 2006. Effect of propiconazole and difenoconazole on the control of anthracnose of chilli fruits caused by *Colletotrichum capsici*. **Crop protection** 25: 1024-1031.

Görlach, J., S. Volrath, G. Knauf-Beiter, G. Hengy, U. Beckhove, K.-H. Kogel, M. Oostendorp, T. Staub, E. Ward, H. Kessmann and J. Ryals. 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **Plant Cell** 8: 629-643.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Granges, A. and A. Leger. 1989. Comment ameliorer la productivite du poivron en serre et en culture de courte duree? Rev. Suisse Viticult. **Arboricult. Hortic**. 21: 313-316.

Heiser, C. B. 1976. Peppers: Capsicum (Solanaceae). *In* N.W. Simmonds (ed.), **Evaluation of crop plants**, pp. 256-268. Longman Inc., New York.

Hingole, D. G. and B. P. Kurundkar. 2004. **Fungicidal evaluation and economic in controlling anthracnose of chilli**. Available Source: http://www.cababstractsplus.org/google/ abstract.asp?AcNo=20043103543, September 22, 2008.

Hirano, A. and N. Nagao. 1989. Effect of chitosan, pectic acid, lysozyme and chitinase on the growth of several phytopathogen. **Agric. Biol. Chem**. 11: 3065-3066.

Jaffries, P., J. C. Dood, M. J. Jeger and R. A. Plumbley. 1990. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. **Plant pathology** 39: 343-366.

Jitareerat P., C. Wongs-Aree and S. Sangchote. 2006. Detection of Quiescent Infection of *Colletotrichum gloeosporioides* on Green Mango Fruit by Polymerase Chain Reaction. **Acta Hortic.** 712: 927-936.

Kousik, C. S. and S. R. Subramanya. 2001. Evaluation of Actigard 50 WG treatment for management of Phytophthora blight and Erwinia soft rot on bell pepper, 2000. **Fungic. Nematic. Tests.** 56: V34. *Cited* Matheron, M. E. and M. Porchas. 2002. Suppression of Phytophthora root and crown rot on pepper plants treated with acibenzolar-*S*-methyl. **Plant Dis**. 86: 292-297.

Krishna, K. G., S. Pande and S. Harish. 2007. **Evaluation of Essential Oils and Their Components for Broad-Spectrum Antifungal Activity and Control of Late Leaf Spot and Crown Rot Diseases in Peanut**. Available Source: http: //apsjournals.apsnet.org /doi /abs/10. 1094/PDIS-91-4-0375, September 08, 2008.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Lorenzo P. and N. Castilla. 1995. Bell pepper yield response to plant density and radiation in unheated plastic greenhouse. **Acta Hortic.** 412: 330-334.

Lozano, A. B. and A. Lara. 2002. **Dry pepper response to ferti-irrigation evaluated in Zacate CAS, Mexico.** Proceed of the 16th International Pepper Conference Tampico, Tamaulipas, Maxico, pp. 10-12. Available Source: http://www.worldpepper.org /ipc2002/proceedings/dry_pepper_response.pdf, April 10, 2011.

Lyon, G. D. and A. C. Newton. 1999. Implementation of elicitor-mediated induced resistance in Agriculture, pp 299-318. *in* **Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores. Biochemistry, Ecology, and Agriculture**. A. A. Agrawal, S. Tuzun, and E. Bent, eds. APS Press, St. Paul, MN.

Martinez-Culebras, P. V., A. Querol, M. B. Suarez-Fernandez, M. D. Garcia-Lopez and E. Barrio. 2003. Phylogenetic relationships among *Colletotrichum* pathogens of strawberry and design of PCR primer for their identification. **Phytopathology** 151: 135-143.

Matan N. 2007. Growth Inhibition of *Aspergillus niger* by Cinnamaldehyde and Eugenol. **Walailak J Sci & Tech.** 4(1): 41-51.

Matheron, M. E. and M. Porchas. 2002. Suppression of Phytophthora root and crown rot on pepper plants treated with acibenzolar-*S*-methyl. **Plant Dis**. 86: 292-297.

Meon S. 1990. Infection of Chilli by *Cercospora capsici*. **Pertanika** 13(3): 321-325.

Métraux, J. P., P. A. Goy, T. Staub, J. Speich, A. Steinemann, J. Ryals and E. Ward. 1991. Induced systemic resistance in cucumber in response to 2,6-dichloro-isonicotinic acid and pathogen. **Adv. Mol. Genet. Plant-Microbe Interact**. 1: 432-439.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Morris, S. W., B. Vernooij, S. Titatarn, M. Starrett, S. Thomas, C. C. Wiltse, R. A. Frederiksen, A. Bhandhufalck, S. Hulbert and S. Iknes. 1998. Induced resistance response in maize. **Mol. Plant-Microbe Interact.** 11: 643-658.

Naeem, N., I. Muhammad, J. Khan, G. Nabi, N. Muhammad and N. Badshah. 2002. Influence of various levels of nitrogen and phosphorus on the growth and yield of chilli (*Capsicum annum* L.). **Asian Journal of Plant Science** 1(5): 599-601.

Nam, M. H., S. K. Jeong, Y. S. Lee, J. M. Choi and H. G. Kim. 2006. Effects of nitrogen, phosphorus, potassium and calcium nutrition on strawberry anthracnose. **Plant Pathology** 55: 246–249.

Ortega, F., U. Steiner and H. W. Dehne. 1998. Induced resistance: a tool for fungicide resistance management. **Pestic. Sci**. 53: 193-196.

Pedley, K. F. 2009. PCR-based assays for the detection of Puccinia horiana on chrysanthemums. **Plant Dis**. 93: 1252-1258.

Reddy, B.M.V., A.B. Essaid, F. Castaigne and J. Arul. 1997. Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici.* **94th Annu, Conf, Am. Soc. Hort. Sci. V. 32**, Utah.

Romero, A. M., C. S. Kousik and D. F. Ritchie. 2001. Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by acibenzolar-*S*-methyl. **Plant Dis**. 85: 189-194.

Ross, A. F. 1961. Ststemic acquired resistance induced by localized virus infection in plants. **Virilogy** 14: 340-358.

Siegrist, J., D. Glenewinkel, C. Kolle and M. Schmidtke. 1997. Chemically induced resistance in green bean against bacterial and fungal pathogens. **J. Plant Dis. Prot**. 104: 599-610.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Spalding, D.H. 1982. Resistance of mango pathogens to fungicides used to control postharvest disease. **Plant Dis**. 66: 1185-1186.

Stoffella, P.J. and H.H. Bryan. 1988. Plant population influences growth and yields of bell pepper. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 113: 835-839.

Stuart R. R., G. Maiorino, S. Olson, R. Sprenkel and M. T. Momol. 2008. **Integrating Plant Essential Oils and Kaolin for the Sustainable Management of Thrips and Tomato Spotted Wilt on Tomato**. Available Source: http://apsjournals.apsnet.org/ doi/abs/ 10.1094/PDIS-92-6-0878, September 08, 2008.

Sutarya R., P. A. Gniffke, M. C. Palada, A. Dibiyantoro and T. Hardjo. 2009. Integrated Chilli Management to control Some Major Diseases in Brebes district, Central Java, Indonesia, pp. 61-70. *In* **Kumpulan Makalah Seminar Ilmiah PerhortI**.

Tiesen Cao, Jalpa Tewari and Stephen E. Strelkov. 2007. Molecular detection of *Plasmodiophora brassicae*, causal agent of clubroot of crucifer, in plant and soil. **Plant Dis.** 91: 80-87.

Than, P.P., R. Jeewon, K.D. Hyde, S. Pongsupasamit, O. Mongkolporn and P.W.J. Taylor. 2008. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. **Plant Pathology** 57(3): 562-572.

Tsair-Bor, Y. and C. Shang-Tzen. 2008. Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. **Bioresource Technology** 99: 232–236.

Uknes, S., B. Mauch-Mani, M. Moyer, S. Potter, S. Williams, S. Dincher, D. Chandler, A. Slusarenko, E. Ward and J. Ryals. 1992. Acquired resistance in Arabidopsis. **Plant Cell** 4: 645-656.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

United States Department of Agriculture. 2008. **Organic standards**. Available Source: http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/ams.fetchTemplateData.do?template=TemplateN&navID=NationalListLinkNOPNationalOrganicProgramHome&rightNav1=NationalListLinkNOPNationalOrganicProgramHome&topNav=&leftNav=NationalOrganicProgram&page=NOPNationalList&resultType=&acct=nopgeninfo, June 24, 2008.

Ureña-Padilla, A. R., S. J. MacKenzie, B. W. Bowen and D. E. Legard. 2002. Etiology and population genetics of *Colletotrichum* spp. causing crown and fruit rot of strawberry. **Phytopathology** 92: 1245-1252.

Wang, S.Y., P.F., Chen and S.T. Chang. 2005. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (Cinnamomum osmophloeum) leaves against wood decay fungi. **Bioresour. Technol**. 96: 813–818.

Wilson, I. G. 1997. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. **Appl. Environ. Microbiol.** 63: 3741-3751.

White, T. J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Applification and direct sequencing of fungi ribosomal RNA genes for phylogenetics *In* Martinez-Culebras, P. V., A. Querol, M. B. Suarez-Fernandez. M. D. Garcia-Lopez and E. Barrio. 2003. Phylogenetic relationships among *Colletotrichum* pathogens of strawberry and design of PCR primer for Their identification. **Phytopathology** 151: 135-143.

Yang, V. W. and C. A. Clausen. 2007. Inhibitory Effect of Essential Oils on Decay Fungi and Mold Growth on Wood, pp. 62-70. *In* McCown, C. One Hundred **Third Annual Meeting of the American Wood Protection Association. American Wood Protection Association.** St. Louis, Missouri.

Yen, T.B., and S.T. Chang. 2008. Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. **Bioresour. Technol**. 99: 232–236.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Zhao, J., X. J. Wang, C. Q. Chen, L. L. Huang and Z. S. Kang. 2007. A PCR –based assay for detection of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in wheat. **Plant Dis**. 91: 1669-1674.

Zimand, G., L. Valinsky, Y. Elad, I. Chet and S. Manulis. 1994. Use of RAPD procedure for the identification of Trichoderma stains. **Mycol. Res**. 98: 531-534.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาล Dextrose	20	กรัม
วุ้น	11	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

2. Potato Dextrose Broth (PDB)

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาล Dextrose	20	กรัม
น้ำ	1	ลิตร
Yeast Extract	0.2	เปอร์เซ็นต์

3. Potato Carrot Agar (PCA)

มันฝรั่ง	20	กรัม
แครอท	20	กรัม
วุ้น	11	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

4. Nutrient Agar (NA)

Peptone	5	กรัม
Yeast Extract	3	กรัม
วุ้น	11	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารละลายที่ใช้ในการทดลอง

1. Extraction buffer (Zimand *et al*., 1994)

1 M Tris-HCl pH 8.0	5	มิลลิลิตร
5 M NaCl	17	มิลลิลิตร
500 mM EDTA	20	มิลลิลิตร
10% SDS	10	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

2. Chloroform : Isoamyl alcohol อัตราส่วน 24 :1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

Chloroform	96	มิลลิลิตร
Isoamyl alcohol	4	มิลลิลิตร

3. 1 M Tris-HCl (pH 8.0)

Tris	121	กรัม

ละลายสารในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วย HCl และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

4. 5 M NaCl

NaCl	292.5	กรัม

ละลายสารด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. 500 mM EDTA

Ethylenediaminetetraacetic acid	186.1	กรัม
10 M NaOH	50	มิลลิลิตร

ละลายสารด้วยน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 10 M NaOH ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วย HCl และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

6. 10 M NaOH

NaOH	400	กรัม

ละลายสารด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

7. TE buffer

1 M Tris-HCl pH 8.0	0.5	มิลลิลิตร
500 mM EDTA	0.1	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วย HCl และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

8. 5X Tris-borate buffer

Tris-base	54	กรัม
Boric acid	27.5	กรัม
500 mM EDTA	20	มิลลิลิตร

ผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 8.0 ด้วย HCl และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

9. 50X Gel star

10000X Gel star	5	ไมโครลิตร
TE buffer	995	ไมโครลิตร

เจือจาง Gel star ด้วย TE buffer ตามอัตราที่ใช้ จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 1 ชนิดของแมลงศัตรูพริกและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย

ชนิดศัตรูพืช		ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย
ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	
1. เพลี้ยไฟพริก (Chilli thrips)	*Scirtothrips dorsalis* Hood *Thrips parvispinus* Karny	ดูดกินน้ำเลี้ยงใบอ่อน ยอด ตาดอก ดอก ผลพริก
2. หนอนเจาะสมอฝ้าย (Cotton bollworm)	*Helicoverpa armigera* Hubner	กัดกินใบ ดอก ผลพริก
3. เพลี้ยอ่อนฝ้าย (Cotton aphid)	*Aphis gossypii* Glover	ดูดน้ำเลี้ยงใบ
4. แมลงหวี่ขาวยาสูบ (Tobacco whitefly)	*Bemisia tabaci* (Gennadius)	ดูดน้ำเลี้ยงใบ
5. แมลงวันผลไม้ในพริก (Solanum fruit fly)	*Bactrocera latifrons* (Hendel)	เจาะกัดกินในผลพริก
6. เพลี้ยไฟฝ้าย (Cotton thrips)	*Thrips palmi* Karny	ดูดน้ำเลี้ยงที่ใบ ดอก
7. เพลี้ยไฟดอกไม้ (Cotton bud thrips)	*Frankliniella schultzei* (Trybom)	ดูดน้ำเลี้ยงที่ใบ ดอก
8. หนอนกระทู้ผัก (Common cutworm)	*Spodoptera litura* (Fabricuis)	กัดกินใบ ดอก ผลพริก
9. หนอนกระทู้หอม (Beet armyworm)	*Spodoptera exigua* Hubner	กัดกินใบ ดอก ผลพริก

ที่มา: http://www.oard3.org/knowledge_oard3.asp (2553)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 2 ผลของระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]								
	54	64	76	84	95	107	126	135	น้ำหนักเฉลี่ย
ปลูกระยะชิด	140.57	261.04[a]	661.65[a]	634.84[a]	454.26[a]	466.10[a]	284.49[a]	300.21[a]	3203.14[a]
ปลูกระยห่าง	42.18	122.11[b]	292.42[b]	188.73[b]	143.07[b]	102.36[b]	124.91[b]	164.66[b]	1180.43[b]
F-test	ns	*	*	*	*	*	*	*	*
C.V.%	83.59	19.31	31.54	48.16	61.76	53.53	37.81	33.58	32.37
ชุดควบคุม	83.95	176.72	429.15	396.71	261.03	217.49	164.02	204.54	1933.62
BION	62.95	185.52	253.89	347.47	373.29	512.78	169.27	307.82	2212.98
น้ำมันหอมระเหยข่า	81.11	141.19	502.18	382.61	332.48	170.07	240.97	233.34	2083.94
ปุ๋ยเคมี	137.49	262.86	722.92	520.36	227.85	236.59	244.52	184.03	2536.61
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	126.46	61.34	52.23	53.51	50.99	38.28	66.90	59.28	26.38

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

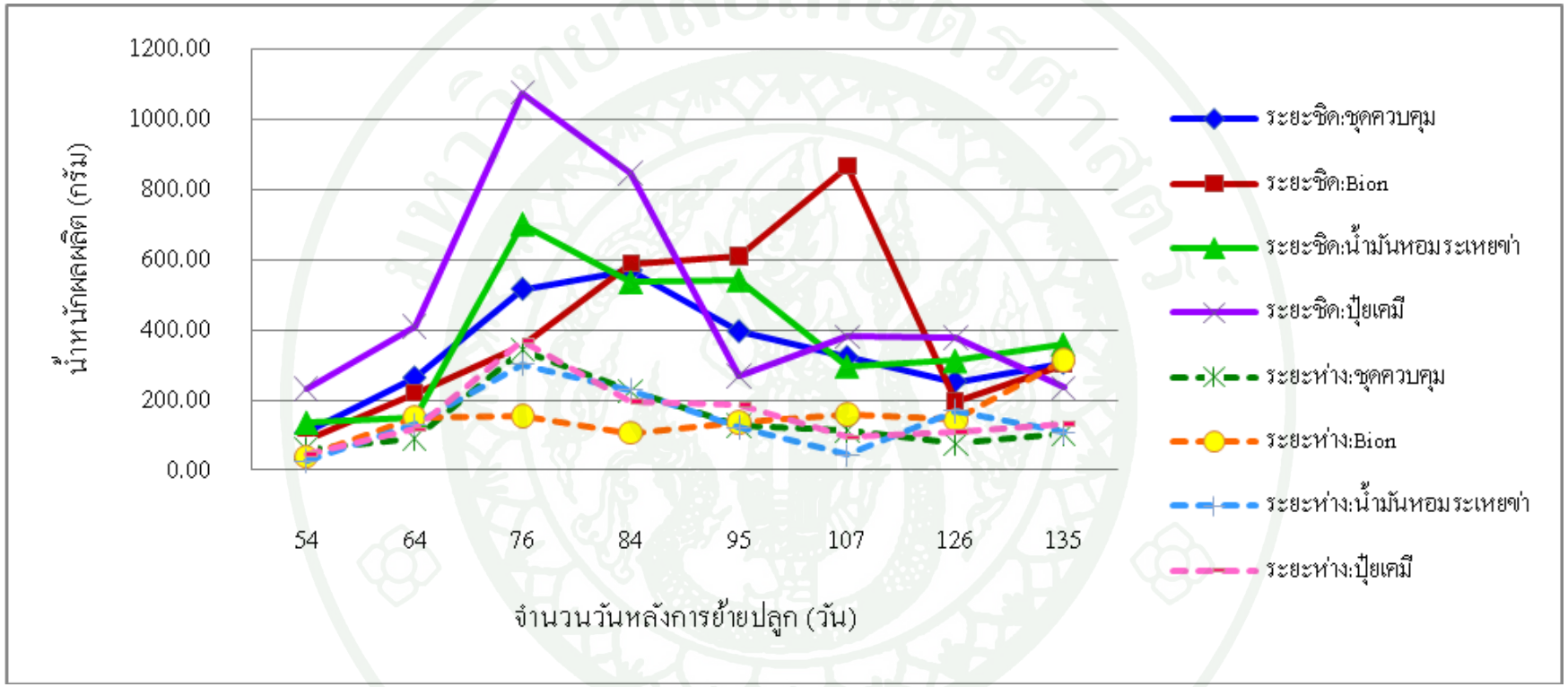
ตารางผนวกที่ 3 อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]								
	54	64	76	84	95	107	126	135	น้ำหนักเฉลี่ย
ระยะชิด:ชุดควบคุม	107.29	263.045[b]	515.17[bc]	567.71	394.61	321.67	252.38	305.31	2727.17
ระยะชิด:Bion	87.03	219.34[bc]	353.46[bc]	588.45	610.17	865.80	195.05	301.90	3221.19
ระยะชิด:น้ำมันหอมระเหยข่า	136.30	152.00[cd]	702.55[ab]	536.96	542.75	296.91	312.45	359.04	3038.95
ระยะชิด:ปุ๋ยเคมี	231.66	409.76[a]	1075.43[a]	846.24	269.51	380.03	378.08	234.61	3825.30
ระยะห่าง:ชุดควบคุม	60.60	90.40[d]	343.14[bc]	225.72	127.46	113.32	75.66	103.78	1140.08
ระยะห่าง:Bion	38.88	151.70[cd]	154.33[c]	106.48	136.41	159.75	143.50	313.75	1204.78
ระยะห่าง:น้ำมันหอมระเหยข่า	25.92	130.39[cd]	301.81[bc]	228.26	122.21	43.23	169.49	107.65	1128.94
ระยะห่าง:ปุ๋ยเคมี	43.32	115.97[d]	370.40[bc]	194.48	186.20	93.15	110.97	133.45	1247.93
F-test	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	83.59	19.31	31.54	48.16	61.76	53.53	37.81	33.58	32.38

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 1 อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี

ตารางผนวกที่ 4 ผลของระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]								
	54	64	76	84	95	107	126	135	น้ำหนักเฉลี่ย
ปลูกระยะชิด	37.63	36.52	78.74[a]	153.18[a]	275.31[a]	280.38	383.32	446.53	1691.60[a]
ปลูกระยะห่าง	10.50	30.55	27.64[b]	44.27[b]	65.00[b]	119.70	293.00	456.92	1047.58[b]
F-test	ns	ns	*	*	*	ns	ns	ns	*
C.V.%	120.62	110.36	48.06	59.09	41.80	58.42	28.29	22.42	17.75
ชุดควบคุม	18.25	50.90	36.25	105.89	173.57	198.57	416.02	380.16	1379.61
BION	12.00	14.94	46.54	48.56	139.11	216.09	279.59	533.37	1290.21
น้ำมันหอมระเหยข่า	20.75	36.15	51.03	104.39	189.95	191.70	355.95	399.93	1349.84
ปุ๋ยเคมี	45.25	32.15	78.95	136.06	177.98	193.79	301.10	493.43	1458.70
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	128.26	146.85	64.05	54.22	59.71	50.89	23.66	48.16	27.24

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

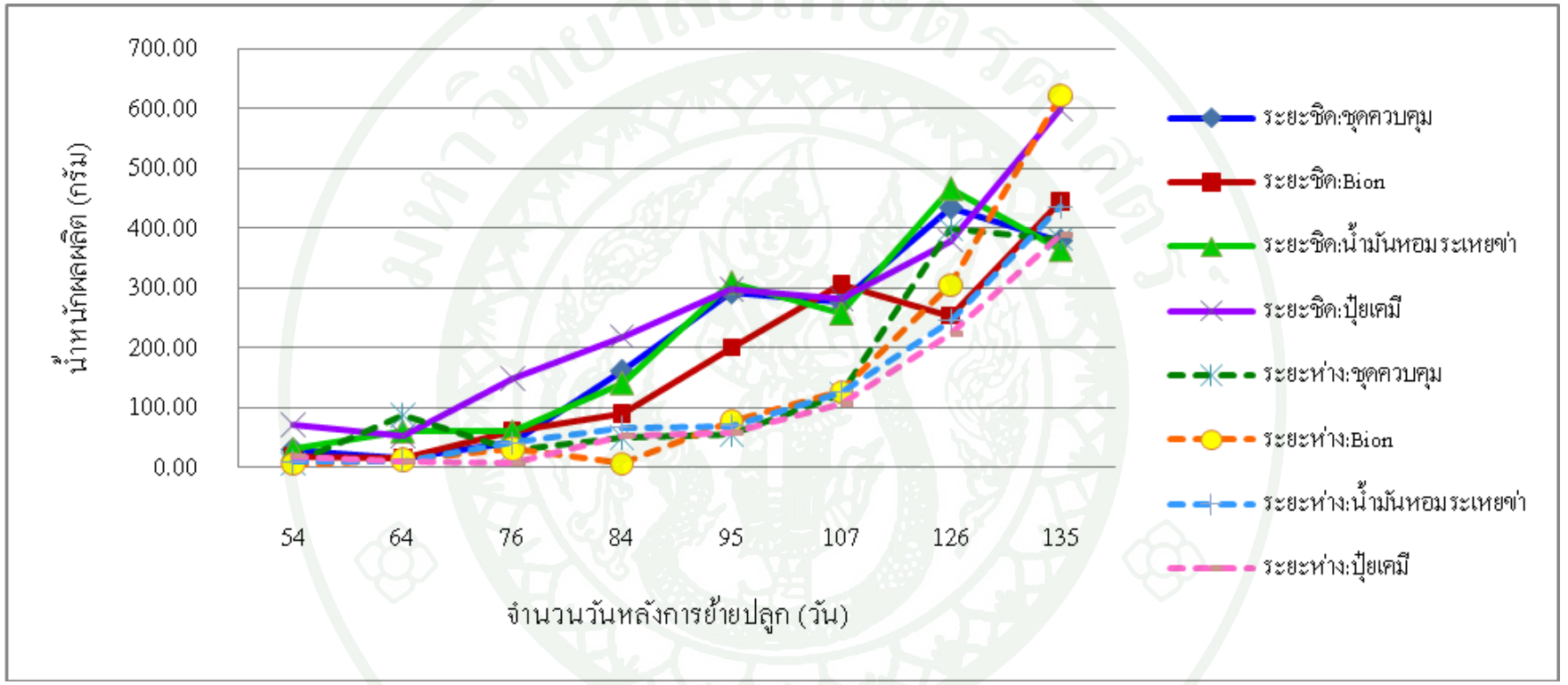
ตารางผนวกที่ 5 อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]								
	54	64	76	84	95	107	126	135	น้ำหนักเฉลี่ย
ระยะชิด:ชุดควบคุม	30.00	14.96	42.75[b]	161.02	292.29	275.52	433.53	378.51	1628.56
ระยะชิด:Bion	18.00	16.67	61.89[b]	90.53	200.36	305.86	253.83	444.97	1392.10
ระยะชิด:น้ำมันหอมระเหยข่า	31.50	61.26	60.86[b]	142.01	309.81	258.45	466.65	364.05	1694.57
ระยะชิด:ปุ๋ยเคมี	71.00	53.20	149.47[a]	219.16	298.79	281.69	379.29	598.58	2051.17
ระยะห่าง:ชุดควบคุม	6.50	86.85	29.75[b]	50.76	54.85	121.63	398.51	381.82	1130.66
ระยะห่าง:Bion	6.00	13.22	31.20[b]	6.60	77.87	126.33	305.35	621.77	1188.33
ระยะห่าง:น้ำมันหอมระเหยข่า	10.00	11.05	41.21[b]	66.78	70.10	124.94	245.24	435.81	1005.12
ระยะห่าง:ปุ๋ยเคมี	19.50	11.10	8.42[b]	53.00	57.18	105.89	222.92	388.28	866.23
F-test	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	120.62	110.36	48.06	59.09	41.80	58.42	28.29	22.42	17.75

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 2 อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 6 ผลของระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]								
	54	64	76	84	95	107	126	135	น้ำหนักเฉลี่ย
ปลูกระยะชิด	0	22.46	16.93	8.56	35.625	35.74	34.18	9.30	140.11
ปลูกระยะห่าง	0	22.01	12.00	7.90	25.88	22.81	23.52	9.20	145.99
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	-	36.60	75.68	79.30	119.15	93.02	104.89	49.03	37.98
ชุดควบคุม	0	32.20	7.50	12.84	26.10	36.79	12.35	9.23	137.00[ab]
BION	0	4.23	11.34	3.89	9.30	15.18	29.11	11.53	84.58[b]
น้ำมันหอมระเหยข่า	0	18.15	14.19	9.46	24.33	26.42	14.52	2.73	109.78[b]
ปุ๋ยเคมี	0	34.37	24.84	6.74	63.29	38.70	59.41	13.50	240.85[a]
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
C.V.%	-	98.51	111.01	133.53	120.52	69.87	122.96	85.11	35.51

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

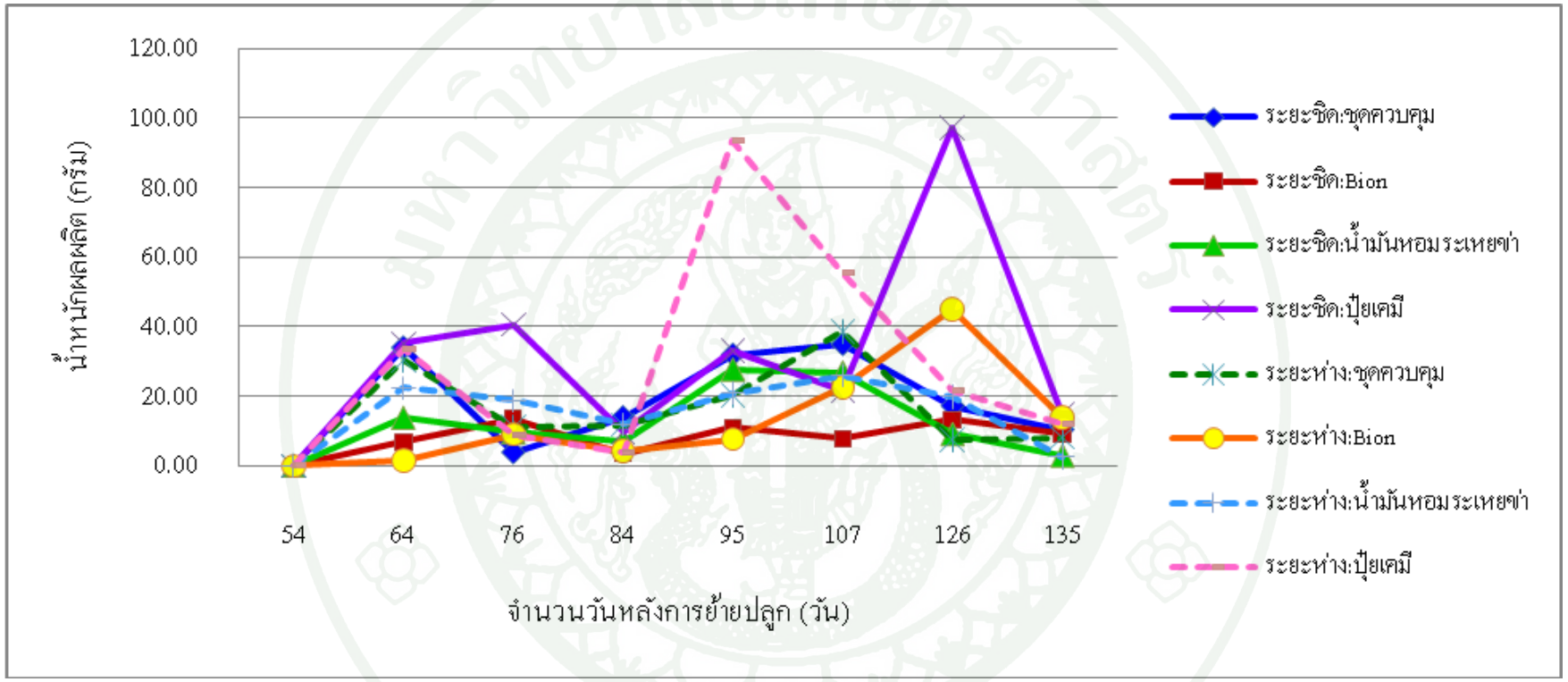
ตารางผนวกที่ 7 อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]								
	54	64	76	84	95	107	126	135	น้ำหนักเฉลี่ย
ระยะชิด:ชุดควบคุม	0	34.00	3.85	13.91	31.87	34.88	17.19^{ab}	10.39	146.03
ระยะชิด:Bion	0	6.82	13.62	3.47	10.92	7.78	13.28^{ab}	9.13	65.01
ระยะชิด:น้ำมันหอมระเหยข่า	0	13.85	9.62	7.09	27.73	26.90	9.15^{b}	2.94	97.26
ระยะชิด:ปุ๋ยเคมี	0	35.22	40.64	9.78	33.01	21.67	97.11^{a}	14.75	252.46
ระยะห่าง:ชุดควบคุม	0	30.44	11.16	11.76	20.33	38.70	7.52^{b}	8.08	127.98
ระยะห่าง:Bion	0	1.63	9.05	4.32	7.69	22.59	44.94^{ab}	13.94	104.15
ระยะห่าง:น้ำมันหอมระเหยข่า	0	22.44	18.77	11.83	20.92	25.94	19.89^{ab}	2.52	122.31
ระยะห่าง:ปุ๋ยเคมี	0	33.53	9.04	3.70	93.57	55.74	21.72^{ab}	12.25	229.53
F-test	-	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
C.V.%	-	36.60	75.68	79.30	119.15	93.02	104.89	49.03	37.98

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 3 อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 8 ผลของกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]											
	44	51	60	68	72	84	97	111	123	154	166	น้ำหนักเฉลี่ย
กระตุ้นต้นกล้า	136.73	391.18	926.53	316.78	484.41	228.31	59.79	588.81	569.50	378.98	120.79	4210.85
ต้นกล้าปกติ	87.33	531.05	928.32	484.99	697.40	315.34	31.72	775.10	679.90	553.78	125.22	5220.35
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	94.33	40.64	28.55	72.19	50.06	69.51	100.14	23.71	19.42	38.80	51.34	23.67
ชุดควบคุม	84.77	500.01	902.48	413.59	689.90	342.91	73.36	484.95	478.37	256.39	88.08	4318.38
BION	133.38	324.85	1031.48	383.56	676.38	207.23	13.09	842.16	794.74	659.11	126.60	5212.84
ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	143.20	652.10	966.40	546.32	632.08	315.93	42.10	878.67	760.40	462.41	172.63	5583.52
ไคโตซาน	86.79	367.50	809.32	260.07	365.28	221.22	54.47	522.05	465.28	487.60	104.71	3747.67
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	90.19	55.14	49.02	83.47	74.61	86.95	101.40	69.62	65.40	42.37	93.05	45.34

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

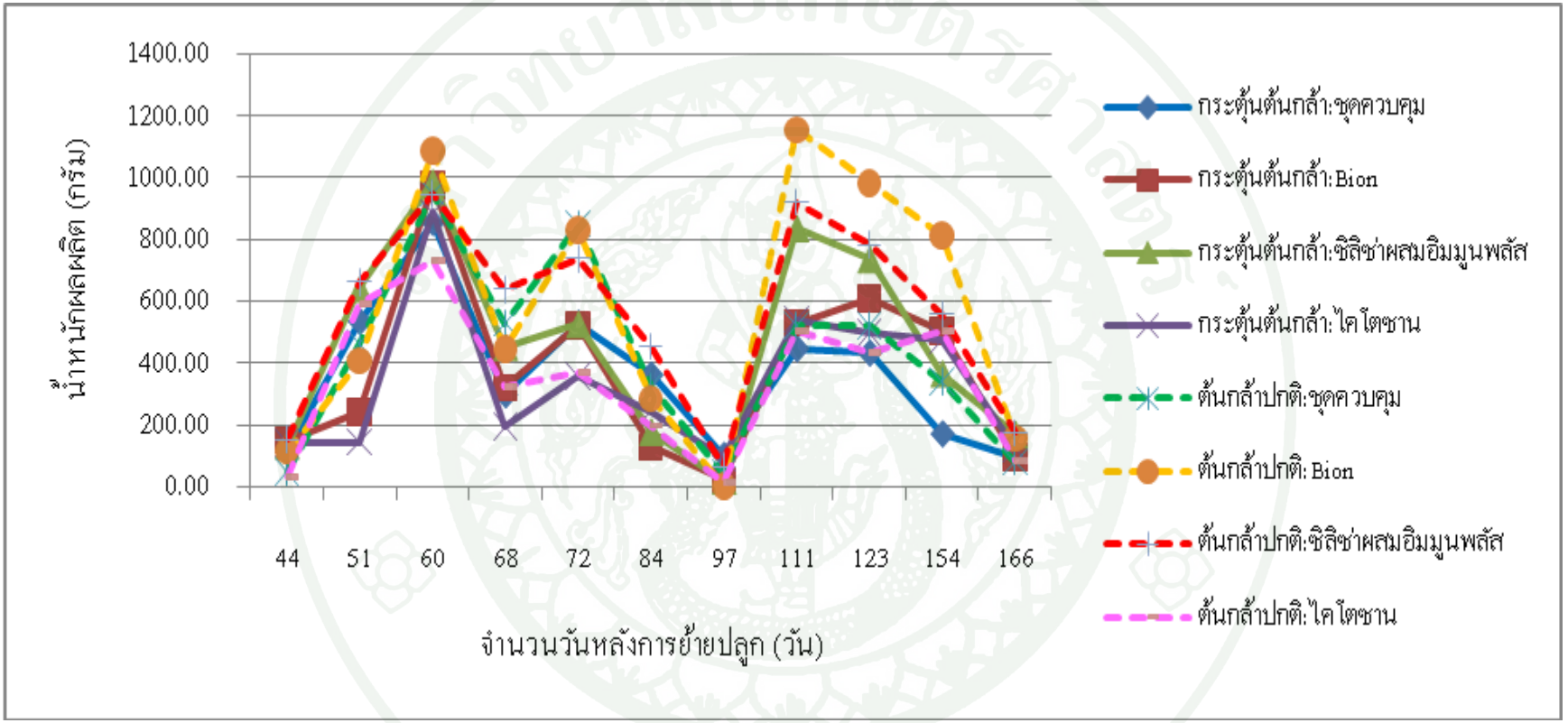
ตารางผนวกที่ 9 อิทธิพลร่วมระหว่างกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]											
	44	51	60	68	72	84	97	111	123	154	166	น้ำหนักเฉลี่ย
กระตุ้นต้นกล้า:ชุดควบคุม	120.41	535.61	856.10	297.85	529.82	362.28	102.00	447.28^{c}	433.68^{c}	171.54^{b}	94.59	3955.61
กระตุ้นต้นกล้า:Bion	151.01	242.48	977.31	320.97	523.03	128.75	24.06	529.71^{bc}	608.36^{bc}	504.14^{ab}	95.01	4123.87
กระตุ้นต้นกล้า:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	133.49	641.27	985.74	453.64	526.28	177.88	18.85	837.02^{abc}	737.49^{abc}	366.85^{ab}	169.42	5053.78
กระตุ้นต้นกล้า:ไคโตซาน	142.02	145.37	886.95	194.65	358.53	244.34	94.27	541.24^{bc}	498.46^{bc}	473.39^{ab}	124.13	3710.13
ต้นกล้าปกติ:ชุดควบคุม	49.12	464.40	948.87	529.32	849.98	323.55	44.72	522.62^{bc}	523.06^{bc}	341.25^{ab}	81.58	4681.15
ต้นกล้าปกติ:Bion	115.76	407.23	1085.65	446.15	829.73	285.71	2.13	1154.61^{a}	981.13^{a}	814.09^{a}	158.20	6301.81
ต้นกล้าปกติ:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	152.91	662.93	947.07	639.00	737.88	453.99	65.35	920.33^{ab}	783.32^{ab}	557.97^{ab}	175.84	6113.26
ต้นกล้าปกติ:ไคโตซาน	31.55	589.63	731.69	325.49	372.04	198.10	14.67	502.87^{bc}	432.09^{c}	501.82^{ab}	85.28	3785.21
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	*	ns	ns
C.V.%	94.33	40.64	28.55	72.19	50.06	69.51	100.14	23.71	19.42	38.80	51.34	23.67

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 4 อิทธิพลร่วมระหว่างกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตคุณภาพดี

ตารางผนวกที่ 10 ผลของกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]											
	44	51	60	68	72	84	97	111	123	154	166	น้ำหนักเฉลี่ย
กระตุ้นต้นกล้า	3.71	20.35	61.21	11.98	35.88	9.99	14.73	57.19	69.09	28.85	103.24	416.45
ต้นกล้าปกติ	14.48	38.96	67.92	10.61	29.64	9.93	7.71	56.93	73.72	47.69	111.81	470.81
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	198.58	96.93	65.79	22.50	57.76	87.42	121.43	33.05	55.70	104.05	48.49	20.99
ชุดควบคุม	10.53	25.28	80.62	9.40	31.45	13.67	18.23	45.93	35.94	31.42	89.22	391.67
BION	7.18	15.87	68.37	8.93	14.97	10.32	3.32	89.07	127.01	42.46	82.66	472.73
ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	16.10	47.03	65.76	23.99	68.44	5.58	5.03	54.65	64.31	38.73	149.64	539.92
ไคโตซาน	2.56	30.43	43.52	2.87	16.18	10.26	18.31	38.60	58.34	40.47	108.58	370.18
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	217.55	94.25	79.34	191.51	100.25	66.92	91.62	124.18	61.16	67.01	112.54	40.15

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

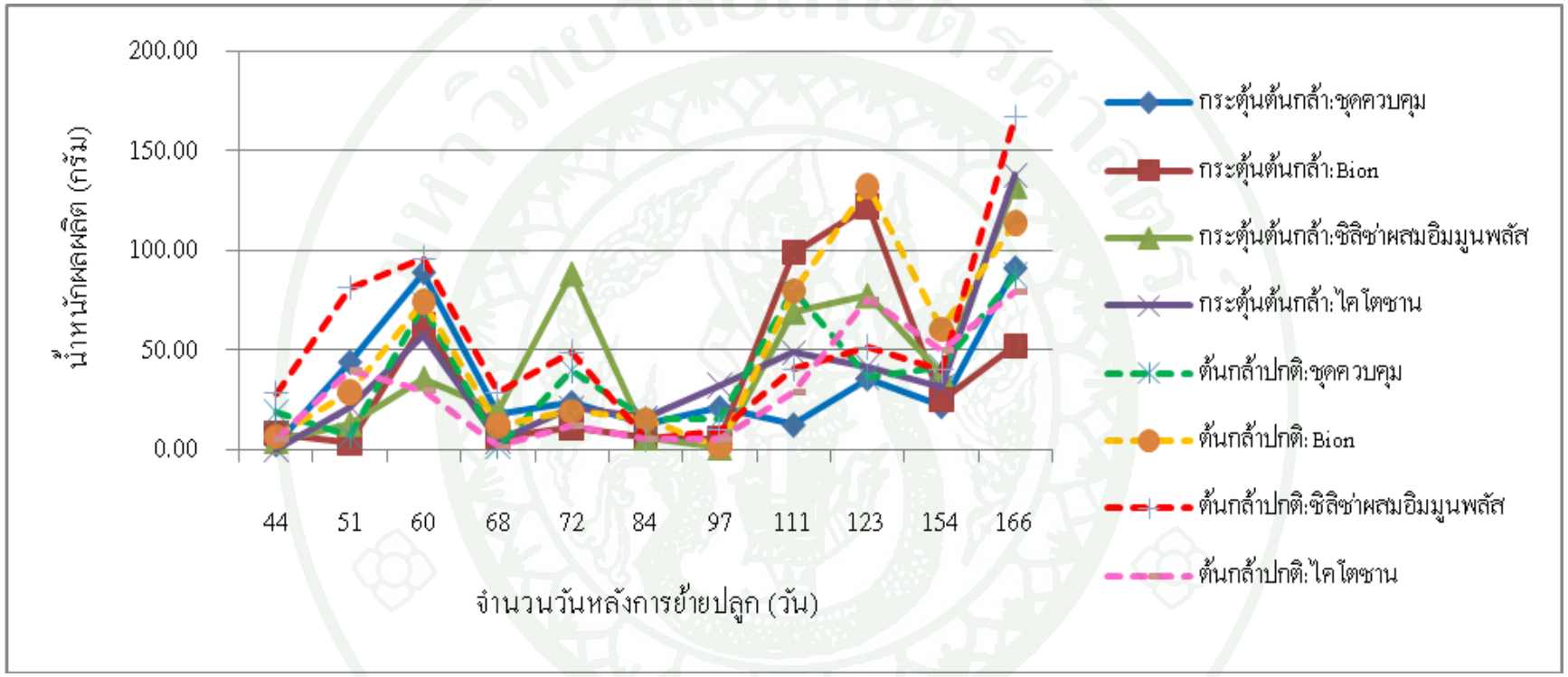
ตารางผนวกที่ 11 อิทธิพลร่วมระหว่างกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]											
	44	51	60	68	72	84	97	111	123	154	166	น้ำหนักเฉลี่ย
กระตุ้นต้นกล้า:ชุดควบคุม	2.61	43.85	88.75	17.54^{bc}	23.50^{b}	12.36	20.88	12.32^{c}	35.58	21.66	90.88	369.91
กระตุ้นต้นกล้า:Bion	7.86	3.20	62.71	6.31^{de}	10.98^{b}	5.88	5.43	98.73^{a}	122.07	24.74	51.77	400.46
กระตุ้นต้นกล้า:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	4.23	12.89	35.76	19.67^{b}	88.25^{a}	6.00	0.75	69.28^{ab}	77.36	37.88	132.57	484.61
กระตุ้นต้นกล้า:ไคโตซาน	0.13	21.46	57.63	4.42^{e}	20.80^{b}	15.71	31.88	48.46^{abc}	41.35	31.12	137.74	410.81
ต้นกล้าปกติ:ชุดควบคุม	18.45	6.70	72.49	1.25^{e}	39.40^{ab}	14.99	15.58	79.54^{ab}	36.31	41.19	87.57	413.44
ต้นกล้าปกติ:Bion	6.51	28.55	74.02	11.56^{cd}	18.97^{b}	14.76	1.21	79.42^{ab}	131.95	60.18	113.55	545.00
ต้นกล้าปกติ:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	27.97	81.17	95.77	28.32^{a}	48.63^{ab}	5.16	9.32	40.03^{bc}	51.27	39.58	166.71	595.24
ต้นกล้าปกติ:ไคโตซาน	4.99	39.41	29.42	1.32^{e}	11.56^{b}	4.81	4.74	28.74^{bc}	75.34	49.83	79.42	329.55
F-test	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
C.V.%	198.58	96.93	65.79	22.50	57.76	87.42	121.43	33.05	55.70	104.05	48.49	20.99

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 5 อิทธิพลร่วมระหว่างกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 12 ผลของการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]											
	44	51	60	68	72	84	97	111	123	154	166	น้ำหนักเฉลี่ย
กระตุ้นต้นกล้า	0.00[b]	5.71 [b]	17.97	3.07	17.90	40.31	38.79	84.51	224.94	33.35	5.72	472.26
ต้นกล้าปกติ	0.48[a]	16.31 [a]	22.53	6.94	27.94	33.88	47.02	128.92	280.31	44.61	5.63	614.56
F-test	*	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	42.38	45.73	96.65	62.26	61.35	45.76	78.87	84.89	33.15	51.74	63.24	33.55
ชุดควบคุม	0.00[b]	4.34	15.55	1.96	19.24	24.35	57.75	174.82	408.35	35.56	4.54	746.46
BION	0.00[b]	2.42	11.49	3.48	6.97	27.05	30.97	53.97	174.81	17.49	1.34	329.97
ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	0.97[a]	22.26	32.90	5.99	48.00	69.62	44.30	127.58	292.40	57.90	13.30	715.23
ไคโตซาน	0.00[b]	15.01	21.07	8.59	17.46	27.36	38.59	70.49	134.94	44.97	3.52	382.00
F-test	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	42.38	81.98	58.52	83.08	113.47	62.46	87.09	135.57	129.16	124.16	196.78	103.17

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

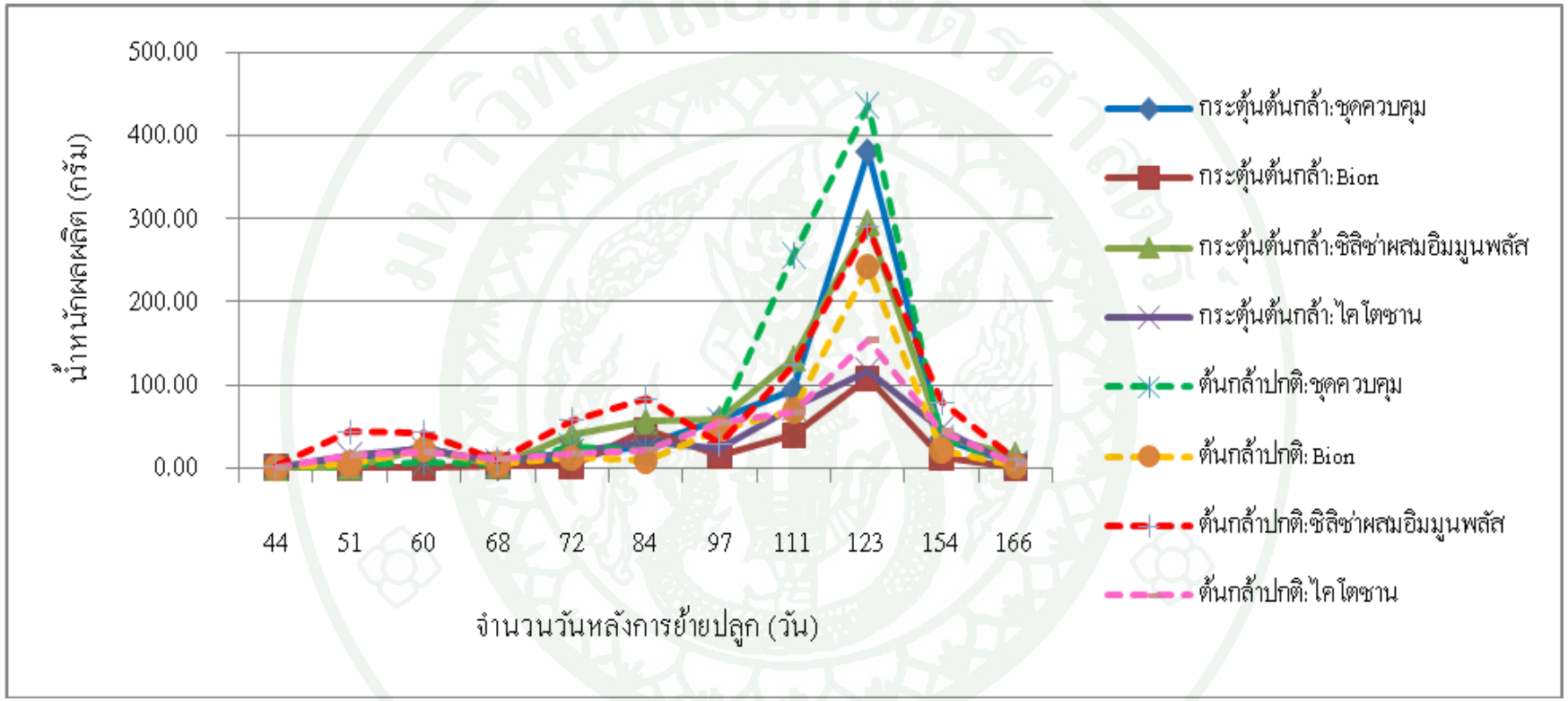
ตารางผนวกที่ 13 อิทธิพลร่วมระหว่างการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส

การทดลอง	น้ำหนักผลผลิต (กรัม) หลังการย้ายปลูก (วัน)[1/]											
	44	51	60	68	72	84	97	111	123	154	166	น้ำหนักเฉลี่ย
กระตุ้นต้นกล้า:ชุดควบคุม	0^{b}	7.06^{bcd}	25.09	0.00^{b}	12.06^{b}	27.72^{b}	58.12	93.41	380.54^{ab}	35.75^{ab}	3.74^{bc}	643.47
กระตุ้นต้นกล้า:Bion	0^{b}	0.00^{d}	1.05	2.28^{ab}	1.67^{b}	45.24^{ab}	14.91	39.26	107.65^{c}	13.52^{b}	0.45^{c}	226.01
กระตุ้นต้นกล้า:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	0^{b}	1.29^{cd}	23.38	3.44^{ab}	39.15^{ab}	55.85^{ab}	59.12	132.08	295.11^{abc}	37.38^{ab}	15.89^{a}	662.67
กระตุ้นต้นกล้า: ไคโตซาน	0^{b}	14.47^{bc}	22.38	6.56^{ab}	18.71^{ab}	32.45^{b}	23.02	73.29	116.46^{c}	46.75^{ab}	2.83^{bc}	356.89
ต้นกล้าปกติ:ชุดควบคุม	0^{b}	1.62^{bcd}	6.02	3.93^{ab}	26.43^{ab}	20.99^{b}	57.39	256.23	436.16^{a}	35.37^{ab}	5.35^{bc}	849.45
ต้นกล้าปกติ:Bion	0^{b}	4.84^{bcd}	21.92	4.69^{ab}	12.26^{b}	8.87^{b}	47.03	68.68	241.97^{abc}	21.46^{b}	2.24^{bc}	433.93
ต้นกล้าปกติ:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	1.94^{a}	43.23^{a}	42.43	8.55^{ab}	56.85^{a}	83.40^{a}	29.49	123.09	289.70^{abc}	78.43^{a}	10.72^{ab}	767.78
ต้นกล้าปกติ: ไคโตซาน	0^{b}	15.56^{b}	19.76	10.62^{a}	16.22^{b}	22.27^{b}	54.17	67.69	153.42^{bc}	43.20^{ab}	4.22^{bc}	407.11
F-test	*	*	ns	*	*	*	ns	ns	*	*	*	ns
C.V.%	42.38	45.73	96.65	62.26	61.35	45.76	78.87	84.89	33.15	51.74	63.24	33.55

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 6 อิทธิพลร่วมระหว่างการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากโรคแอนแทรคโนส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 14 ผลของระยะปลูก และสารทดสอบที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง และโรคแอนแทรคโนส

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิต หลังการย้ายปลูก (วัน)								
	54	64	76	84	95	107	126	135	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย
ปลูกระยะชิด	42.72	23.57	11.28	23.13	41.58	42.19[b]	59.51[b]	65.32[b]	36.49[b]
ปลูกระยะห่าง	37.63	18.67	11.45	25.91	41.08	58.80[a]	71.00[a]	80.08[a]	50.26[a]
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	*	*
C.V.%	10.42	126.73	67.77	42.97	25.22	18.15	27.39	19.56	6.79
ชุดควบคุม	42.70[a]	27.06	9.40	24.17	43.98	48.56[ab]	74.95	72.24	45.87
BION	24.35[b]	12.73	15.87	13.77	32.66	35.47[b]	66.21	67.44	41.69
น้ำมันหอมระเหยข่า	47.31[a]	27.46	11.10	28.39	41.59	61.79[a]	59.42	70.29	43.52
ปุ๋ยเคมี	46.34[a]	17.24	9.08	31.76	47.09	56.15[a]	60.45	80.85	42.43
F-test	*	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
C.V.%	33.35	69.34	39.23	75.21	26.89	19.22	12.47	8.50	9.07

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 15 อิทธิพลร่วมระหว่างระยะปลูก และสารทดสอบ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง และโรคแอนแทรคโนส

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิต หลังการย้ายปลูก (วัน)								
	54	64	76	84	95	107	126	135	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย
ระยะชิด:ชุดควบคุม	37.60^{ab}	45.71	10.40^{ab}	24.28	45.32	44.67^{bc}	65.00^{ab}	61.92^{bc}	39.54
ระยะชิด:Bion	17.81^{b}	13.31	17.26^{a}	16.12	25.32	27.58^{c}	62.77^{ab}	64.38^{bc}	31.28
ระยะชิด:น้ำมันหอมระเหยข่า	59.88^{a}	19.50	12.80^{ab}	29.25	39.74	46.46^{bc}	59.46^{b}	57.18^{c}	37.10
ระยะชิด:ปุ๋ยเคมี	55.58^{a}	15.78	4.66^{b}	22.88	55.96	50.10^{bc}	50.83^{b}	77.82^{ab}	38.05
ระยะห่าง:ชุดควบคุม	47.80^{ab}	8.41	8.40^{ab}	24.07	42.64	52.45^{abc}	84.91^{a}	82.56^{a}	52.20
ระยะห่าง:Bion	30.90^{ab}	12.15	14.49^{ab}	11.43	40.00	43.36^{bc}	69.65^{ab}	70.49^{abc}	52.10
ระยะห่าง:น้ำมันหอมระเหยข่า	34.75^{ab}	35.42	9.40^{ab}	27.53	43.44	77.13^{a}	59.38^{b}	83.40^{a}	49.94
ระยะห่าง:ปุ๋ยเคมี	37.10^{ab}	18.70	13.51^{ab}	40.64	38.23	62.24^{ab}	70.08^{ab}	83.87^{a}	46.81
F-test	*	ns	*	ns	ns	*	*	*	ns
C.V.%	33.35	69.34	39.23	75.21	26.89	19.22	12.47	8.50	9.07

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 16 ผลของการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบ ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลง และโรคแอนแทรคโนส

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิต หลังการย้ายปลูก (วัน)											
	44	51	60	68	72	84	97	111	123	154	166	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย
กระตุ้นต้นกล้า	4.90	2.29	3.79	1.15	13.42	11.45	47.57	22.81	54.47[a]	13.21	62.05	16.95
ต้นกล้าปกติ	0.84	7.15	8.80	5.51	13.33	9.85	34.62	22.52	35.18[b]	19.55	52.27	17.08
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
C.V.%	243.29	144.08	99.65	192.23	75.77	43.13	113.48	43.40	40.10	99.22	30.57	23.68
ชุดควบคุม	0.00	5.71	6.98	3.67	11.18	8.14[b]	28.02	31.36	59.32	22.28	59.26	20.08
Bion	9.29	2.41	6.17	0.00	9.45	10.32[ab]	25.00	20.57	30.96	7.56	36.95	13.47
ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	2.18	6.36	6.32	8.15	25.47	19.56[a]	27.75	24.31	40.44	20.35	63.48	18.04
ไคโตซาน	0.00	4.40	5.72	1.50	7.42	4.59[b]	83.61	14.42	48.57	20.35	68.94	16.47
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.%	332.84	173.04	84.21	191.14	121.31	101.63	98.39	19.05	24.96	34.60	37.73	24.06

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 17 อิทธิพลร่วมระหว่างการกระตุ้นต้นกล้าด้วยสารไคโตซาน และสารทดสอบที่มีต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิตที่เสียหายเนื่องจากแมลงและโรคแอนแทรคโนส

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักผลผลิต หลังการย้ายปลูก (วัน)											
	44	51	60	68	72	84	97	111	123	154	166	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย
กระตุ้นต้นกล้า:ชุดควบคุม	0.00	0.00	3.62	0.00	13.48	9.19	23.07	25.59^{ab}	84.72^{a}	21.26^{a}	76.18	20.39
กระตุ้นต้นกล้า:Bion	15.23	4.81	4.08	0.00	6.76	14.47	50.00	25.46^{ab}	38.57^{bc}	3.48^{b}	32.16	13.27
กระตุ้นต้นกล้า:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	4.36	0.68	3.38	1.62	22.03	12.97	50.00	25.80^{ab}	39.31^{bc}	11.61^{ab}	60.95	17.49
กระตุ้นต้นกล้า:ไคโตซาน	0.00	3.68	4.08	3.00	11.41	9.18	67.21	14.38^{b}	55.28^{ab}	16.50^{ab}	78.93	16.66
ต้นกล้าปกติ:ชุดควบคุม	0.00	11.42	10.33	7.35	8.88	7.09	32.97	37.14^{a}	33.93^{bc}	23.30^{a}	42.35	19.77
ต้นกล้าปกติ:Bion	3.35	0.00	8.25	0.00	12.14	6.16	0.00	15.68^{b}	23.36^{c}	11.64^{ab}	41.75	13.68
ต้นกล้าปกติ:ซิลิซ่าผสมอิมมูนพลัส	0.00	12.05	9.27	14.68	28.91	26.15	5.51	22.82^{b}	41.58^{bc}	19.08^{ab}	66.01	18.59
ต้นกล้าปกติ:ไคโตซาน	0.00	5.12	7.37	0.00	3.42	0.00	100.00	14.46^{b}	41.85^{bc}	24.20^{a}	58.96	16.29
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	*	*	ns	ns
C.V.%	332.84	173.04	84.21	191.14	121.31	101.63	98.39	19.05	24.96	34.60	37.73	24.06

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) (P= 0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวนวรัตน์ อิ่มจิตร
วัน เดือน ปี ที่เกิด	26 กันยายน พ.ศ. 2527
สถานที่เกิด	จังหวัดชัยนาท
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน (เกียรตินิยมอันดับสอง)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงาน	- นวรัตน์ อิ่มจิตร และ ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. 2551. การทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยต่อโรคแอนแทรคโนสเพื่อใช้เตรียมแผนจัดการศัตรูพืชในพริกแบบลดการใช้สารเคมี. ว. วิทย. กษ. 39(3) (พิเศษ): 66-69. - นวรัตน์ อิ่มจิตร ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล และ รัติยา พงศ์พิ-สุทธา. 2553. การทดสอบวิธีการประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ในดิน, น. 65-72. *ใน* การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร สถาบันวิทยาการขั้นสูงแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์