

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สํารวจอาการผิดปกติของต้นยางพารา

3.1.1 สํารวจข้อมูลพื้นฐานของแหล่งปลูกยางพาราต่างๆ

สํารวจภายในพื้นที่แปลงปลูกยางพารา ของ สจล. วิทยาเขตชุมพร และแปลงของเกษตรกร ในทุกตำบลเขตอำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร ประกอบด้วยตำบลทะเลทรัพย์, เขาไชยราช, ชุมโค, ดอนยาง, สะพลี, ปากคลอง, และบางสน สุ่มตำบลละ 3 แปลง เป็นจำนวน 21 แปลง รวมทั้งหมด 36 แปลง สํารวจ ช่วงเดือนธันวาคม 2555 ถึง พฤษภาคม 2556 บันทึกข้อมูลด้านการเพาะปลูกแต่ละแปลง ดังนี้

- สายพันธุ์ของยางพารา
- อายุของต้นยางพารา
- จำนวนต้นต่อแปลง

พร้อมทั้งบันทึกข้อมูลด้านสภาพภูมิอากาศ เป็นต้น

- ปริมาณน้ำฝน
- อุณหภูมิ

3.1.2 สํารวจลักษณะอาการผิดปกติของต้นยางพาราจากแหล่งปลูกต่างๆ

บันทึกลักษณะอาการผิดปกติของโรคต้นยางพารา เริ่มตั้งแต่ช่วงเดือนธันวาคม 2555 ถึง พฤษภาคม 2556 โดยบันทึกช่วงการระบาดในแต่ละเดือน

ประเมินระดับความรุนแรง ตามค่ากำหนดระดับความรุนแรงของโรค (Disease score-rating chart) และ คำนวณเปอร์เซ็นต์ความรุนแรง (Disease incidence) ของโรคที่เกษตรกรให้ความสำคัญมากที่สุด

$$\text{Disease severity} = (\text{No. of diseased plants in each rating category} \times \text{correction factor}) / \text{total number of plants}$$
$$\text{Disease incidence} = (\text{number of diseased plants} / \text{total number of plants}) \times 100$$

3.2 วินิจฉัยสาเหตุการเกิดโรคที่สำคัญ

นำตัวอย่างลักษณะอาการที่พบ วินิจฉัยระดับเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ เช่น ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หรือ ศึกษาเปรียบเทียบกับรายงานที่ผ่านมา และวินิจฉัยด้วยเทคนิคทางโรคพืช ตามวิธีการต่างๆ เพื่อวินิจฉัยหาสาเหตุโรค เช่น tissue transplanting technique

กรณี แยกเชื้อรา

Tissue transplanting technique

- ตัดชิ้นพืชระหว่างส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคขนาดประมาณ 1*1 มม.²
- ใส่เชื้อที่ผิวนอกด้วย clorox 10% นานประมาณ 1-3 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น
- ซับด้วยกระดาษให้แห้ง
- วางบนอาหาร water agar (WA) จานละ 5 ชิ้น วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

- เมื่อเชื้อราเริ่มเจริญย้าวยางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA)

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ศึกษาลักษณะพื้นฐาน และลักษณะอื่นๆ ที่ปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ศึกษาการเจริญของเชื้อ และคุณสมบัติอื่นๆ เพื่อประกอบการพิจารณาจำแนกเชื้อรา

กรณี อื่นๆ

ศึกษาตามลักษณะอาการ หรือ ใช้เทคนิคเฉพาะด้านเพื่อการวินิจฉัยในการหาสาเหตุต่อไป

3.3 ทดสอบความสามารถในการก่อโรคที่สำคัญ (Pathogenicity test)

จากการทดลองที่ 2 นำเชื้อก่อโรคที่สร้างระดับความเสียหายแก่ต้นยางพาราในระดับรุนแรง มาทดสอบความสามารถในการก่อโรค โดยวิธี detached leaf เพื่อทดสอบระดับความสามารถในการเป็นเชื้อก่อโรค และทดสอบความสามารถในการก่อโรคข้ามของเชื้อที่แยกได้ระหว่างสายพันธุ์ยางพารา

3.4 ทดสอบสายพันธุ์ยางพาราคือความต้านทานโรคที่สำคัญ

จากการทดลองที่ 3 นำเชื้อเชื้อก่อโรคที่มีความสามารถในการเป็นเชื้อก่อโรคที่อยู่ในระดับรุนแรง ทดสอบกับสายพันธุ์ยางพารา เพื่อศึกษาความต้านทานโรคของสายพันธุ์ยางพาราที่เกษตรกรนิยมปลูก ทดสอบวิธีเดียวกับการทดลองที่ 3