อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษานี้ใช้เวลาดำเนินการ 2 ปี ปีแรกเป็นการศึกษาพัฒนาการของการแสดงออกของขนาดของแผล และการสร้างสปอร์ ในช่วงอายุต่าง ๆ กันของถั่วลิสง 6 พันธุ์ ซึ่งมีระดับความต้านทานต่อโรคราสนิมและโรคใบจุด และอายุเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน และประเมินประสิทธิภาพของการวัดระดับของความต้านทานต่อโรคในแปลงในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน ของวิธีการประเมินโดยใช้ขนาดของแผลและการสร้างสปอร์ และวิธีการประเมินตามแบบของ ICRISAT (ดูรายละเอียดในภาคผนวกที่ 1) โดยเทียบกับการประเมินในเรือนทดลองโดยใช้เทคนิคการตัดใบ (detached leaf technique) (ดูรายละเอียดในภาคผนวกที่ 2) ปีที่ 2 เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ขนาดของแผล และการสร้างสปอร์ ในการประเมินระดับความต้านทานต่อโรคใบจุดและโรคราสนิมในสภาพแปลง ของถั่วลิสง 6 พันธุ์เดิม เมื่อทำการประเมินเพียงครั้งเดียว ในช่วงเวลาที่โรคมีการแสดงออกเต็มที่ ในสภาพที่มีการแข่งขันและไม่มีการแข่งขันกันระหว่างโรคทั้งสอง และในสภาพที่มีการปลูกเชื้อ และสภาพของการเกิดโรคตามธรรมชาติ

พันธุ์ถั่วลิสงที่ใช้ในการศึกษามี 6 พันธุ์ เป็นพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคใบจุดและโรคราสนิม 3 พันธุ์ และพันธุ์อ่อนแอ 3 พันธุ์ พันธุ์แต่ละกลุ่มประกอบด้วยพันธุ์ที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น (80 วัน) อายุการเก็บเกี่ยวปานกลาง (100-105 วัน) และอายุการเก็บเกี่ยวยาว (115-120 วัน) พันธุ์ที่ใช้และลักษณะของแต่ละพันธุ์ แสดงในตารางที่ 1

การทดลองในปีแรก แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การทดลองในแปลงและการทดลองในเรือนทดลอง

การทดลองในแปลง ทำโดยปลูกถั่วลิสงทั้ง 6 พันธุ์ ในแปลงที่ให้มีการแพร่ระบาดของโรคใบจุดและราสนิมตามสภาพธรรมชาติ และปลูกล้อมด้วยถั่วลิสงและข้าวโพดเพื่อป้องกันสปอร์รุ่นหลัง ๆ ที่อาจจะพัดพามาจากแปลงถั่วลิสงที่อยู่ใกล้เคียง ปลูกพันธุ์ที่ทดสอบโดยใช้แผนการทดลองแบบ randomized complete block มี 5 ซ้ำ แปลงย่อยมีขนาด 2 แถว แถวยาว 10 เมตร ระยะปลูก 50x20 เซนติเมตร 1 ต้นต่อหลุม แปลงริมปลูก border อีก 2 แถว ระหว่างซ้ำเว้นระยะห่าง 1 แถว รอบแปลงทดสอบปลูกล้อมด้วยถั่วลิสง 10 แถว ระยะปลูก 30x10 เซนติเมตร และรอบนอกปลูกล้อมด้วยข้าวโพด

ตารางที่ 1 พันธุ์ถั่วลิสงที่ใช้ในการศึกษา อายุการเก็บเกี่ยวและลักษณะต้านทานต่อโรค

พันธุ์	อายุ	ลักษณะต้านทานต่อโรค*		
		ใบจุดสีน้ำตาล	ใบจุดสีดำ	ราสนิม
1. ICGS(E) 56	สั้น	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	MR
2. NC Ac 17090	ปานกลาง	MR	S	R
3. KKU 90309 [(M 145 x NC Ac 17090) -B_2-B_1-B_2-2B_1-27C-1]	ยาว	MR	MR	R
4. ICGS(E) 22	สั้น	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	S
5. Tainan 9	ปานกลาง	S	S	S
6. Khon Kaen 60-3 (NC 7)	ยาว	MR	S	S

* R = ต้านทาน, MR = ต้านทานปานกลาง, S = อ่อนแอ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Wongkaew (1986-1989)

อีก 10 แถว ระยะปลูก 70x20 เซนติเมตร ปลูกถั่วลิสงพันธุ์ทดสอบและพืชที่ล้อมรอบพร้อมกัน การใส่ปุ๋ย กลบโคน กำจัดวัชพืช และการพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง ทำเช่นเดียวกับการปฏิบัติในการทดสอบพันธุ์โดยทั่วไป ไม่มีการพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรค

เมื่อถั่วลิสงอายุได้ 66, 73, 80, 87 และ 94 วัน บันทึกลักษณะขนาดของแผล การสร้างสปอร์ และคะแนนความเป็นโรคตามวิธีของ ICRISAT ของโรคใบจุดและโรคราสนิม

คะแนนความเป็นโรคตามวิธีของ ICRISAT ใช้วิธีประเมินแต่ละแปลงย่อยโดยให้คะแนน 1-9 (1 = ไม่เป็นโรค ถึง 9 = เป็นโรคมาก) และแบ่งระดับความต้านทานออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1-3 = ต้านทาน, 4-6 = ต้านทานปานกลาง และ 7-9 = อ่อนแอ

การบันทึกลักษณะขนาดของแผล และการสร้างสปอร์ ในแต่ละช่วงเวลา ทำโดยสุ่มตัวอย่างแปลงย่อยละ 1 ต้น ตัดเอาเฉพาะลำต้นหลัก โดยตัดเหนือแขนงคู่แรกจากโคนต้น ริดกิ่งแขนงออกให้เหลือแต่ใบที่อยู่บนลำต้นหลัก นำมาวัดขนาดแผล และการสร้างสปอร์ ของแต่ละโรค โดยวัดทุกใบที่เหลืออยู่ ตั้งแต่ใบที่ 3 จากปลายยอดลงมา และนับจำนวนและบันทึกตำแหน่งของใบที่ร่วงไปแล้ว

สำหรับโรคใบจุด การวัดของขนาดแผลทำ 2 แบบ คือ วัดขนาดแผลที่ใหญ่ที่สุด และแผลที่เป็นตัวแทนของแผลส่วนใหญ่บนใบที่วัด การวัดทำโดยใช้ grid พลาสติกใสที่ทำขนาดแผลมาตรฐานไว้เป็นเกณฑ์เปรียบเทียบ การวัดการสร้างสปอร์ ทำโดยการให้คะแนน 1-5 จากการประเมินด้วยสายตา ตามความมากน้อยของสปอร์ที่สร้าง ทั้งจากแผลใหญ่สุด และจากแผลที่เป็นตัวแทน

สำหรับโรคราสนิม องค์ประกอบของความต้านทานในเรื่องขนาดของแผล วัดเป็นเปอร์เซ็นต์ของแผลขนาดใหญ่ (ตั้งแต่ 1 ตารางมิลลิเมตรขึ้นไป) และองค์ประกอบของความต้านทานในเรื่องการสร้างสปอร์ วัดเป็นเปอร์เซ็นต์ของแผลที่สร้างสปอร์ทั้งสองลักษณะประเมินจากแผลทั้งหมดประมาณ 50 แผล แต่หากใบที่วัดมีแผลจำนวนน้อยก็ประเมินจากแผลทั้งหมดในใบนั้น การคำนวณเปอร์เซ็นต์ใช้สูตรข้างล่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของแผลขนาดใหญ่} = \frac{\text{จำนวนแผลขนาดใหญ่} \times 100}{\text{จำนวนแผลทั้งหมด}}$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของแผลที่สร้างสปอร์} = \frac{\text{จำนวนแผลที่สร้างสปอร์} \times 100}{\text{จำนวนแผลทั้งหมด}}$$

การทดลองในเรือนทดลอง ทำโดยปลูกพันธุ์ทดสอบ 6 พันธุ์ ในกระถาง พันธุ์ละ 20 กระถาง กระถางละ 2 ต้น เมื่อถั่วลิสงอายุได้ 28 วัน พ่นสาร chlorothalonil (Daconil) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุของโรคก่อนทำการปลูกเชื้อ เมื่อถั่วลิสงอายุได้ 50 วัน ตัดใบที่ 3 หรือ 4 ของแต่ละต้นไปปักชำตามวิธีการของการปักชำใบเพื่อทดสอบความเป็นโรค (detached leaf technique) โดยปักชำแก้วละ 2 ใบ ในแต่ละพันธุ์จะมีใบที่ปักชำ 32 ใบ สุ่มแบ่งออกเป็น 4 ส่วน ส่วนที่ 1 ปลูกเชื้อ *C. arachidicola* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาลส่วนที่ 2 ปลูกเชื้อ *P. personata* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคใบจุดสีดำ ส่วนที่ 3 ปลูกเชื้อ *P. arachidis* ซึ่ง

เป็นสาเหตุของโรคราสนิมส่วนที่ 4 ไม่มีการปลูกเชื้อ (control) การปลูกเชื้อจะทำหลังจากตัดใบประมาณ 10 วันหลังจากปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ วัดลักษณะขนาดของแผล และการสร้างสปอร์ ของโรคใบจุดสีน้ำตาลและโรคใบจุดสีดำเช่นเดียวกับการทดลองในแปลง ส่วนในโรคราสนิม ขนาดแผลวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโดยใช้กล้อง Stereomicroscope

เมื่อได้ข้อมูลจากการวัดแต่ละลักษณะของแต่ละโรคแล้ว ทำการประเมินระดับความต้านทานต่อโรคใบจุดทั้งสองในแต่ละลักษณะ โดยเทียบระดับความต้านทานต่อโรคออกเป็น 3 ระดับ คือ ต้านทาน ต้านทานปานกลาง และอ่อนแอ โดยในขั้นต้นกำหนดเกณฑ์สำหรับแบ่งระดับความต้านทานจากค่าที่วัดได้ในการทดสอบในเรือนทดลองก่อน หลังจากนั้นใช้สมการทำนาย (prediction equation) ในการแบ่งเกณฑ์การประเมินในเรือนทดลองเป็นเกณฑ์การประเมินในแปลงสำหรับแต่ละลักษณะ สมการทำนายดังกล่าวได้มาจาก regression analysis ระหว่างค่าที่วัดได้จากการทดสอบในเรือนทดลองกับค่าที่วัดได้จากการทดสอบในแปลง ในช่วงอายุที่ค่าทั้งสองมีสหสัมพันธ์ (correlation) สูงที่สุด

การกำหนดเกณฑ์สำหรับแบ่งระดับความต้านทานของโรคใบจุดในเรือนทดลอง ในลักษณะขนาดของแผล ทำโดยใช้คะแนนสูงสุดลบด้วยคะแนนต่ำสุดแล้วแบ่งออกเป็น 3 ช่วง ช่วงคะแนนต่ำถือว่าต้านทาน คะแนนช่วงกลางถือว่าต้านทานปานกลาง และช่วงคะแนนสูงถือว่าอ่อนแอ สำหรับคะแนนการสร้างสปอร์ เกณฑ์ที่ใช้คือ น้อยกว่า 2 = ต้านทาน 2-3 = ต้านทานปานกลาง และ มากกว่า 3 = อ่อนแอ ตารางที่ 2 แสดงเกณฑ์ที่ใช้ในการประเมินระดับความต้านทานต่อโรคใบจุดและโรคราสนิมในเรือนทดลอง และในแปลงของแต่ละลักษณะ

สำหรับโรคราสนิม ซึ่งวัดลักษณะขนาดของแผลเป็นเปอร์เซ็นต์ของแผลขนาดใหญ่ และวัดการสร้างสปอร์เป็นเปอร์เซ็นต์ของแผลที่สร้างสปอร์ ระดับความต้านทานพิจารณาจากค่าเปอร์เซ็นต์ที่วัดได้โดยตรง

การวิเคราะห์ข้อมูล ถือว่าระดับความต้านทานของพันธุ์ทดสอบที่ประเมินได้จากการทดสอบในเรือนทดลองโดยใช้เทคนิคการปักชำใบ เป็นค่าที่ถูกต้อง ทำการวิเคราะห์ว่าลักษณะองค์ประกอบใด และวัดในช่วงเวลาใด ที่ให้ค่าประเมินของระดับความต้านทานของพันธุ์ที่ทดสอบ ถูกต้องตรงกับผลการประเมินโดยใช้เทคนิคการปักชำใบ และเมื่อเทียบกับวิธีของ ICRISAT แล้วจะดีกว่าหรือไม่ โดยพิจารณาจากค่าดรรชนีสหสัมพันธ์

ตารางที่ 2 เกณฑ์ในการแบ่งระดับความต้านทานต่อโรคใบจุดและโรคราสนิมในสภาพเรือนทดลองและในสภาพแปลงของการทดลองในปีที่ 1

โรค/ลักษณะ	ในสภาพเรือนทดลอง*			ในสภาพแปลง*		
	R	MR	S	R	MR	S
			โรคใบจุดสีน้ำตาล			
ขนาดของแผลตัวแทน(มม.^{2})	<3	3-6	>6	<3.6	3.6-5.7	>5.7
ขนาดของแผลใหญ่(มม.^{2})	<5	5-10	>10	<3.3	3.3-6.9	>6.9
การสร้างสปอร์(1-5)	<2	2-3	3-5	<2	2-3	3-5
			โรคใบจุดสีดำ			
ขนาดของแผลตัวแทน(มม.^{2})	<3	3-6	>6	<2.9	2.9-3.2	>3.2
ขนาดของแผลใหญ่(มม.^{2})	<4	4-8	>8	<5.2	5.2-6.8	>6.8
การสร้างสปอร์(1-5)	<2	2-3	3-5	<2	2-3	3-5
			โรคราสนิม			
ขนาดของแผล(มม.)	<.35	.35-.50	>.50	-	-	-
ขนาดของแผล(เปอร์เซ็นต์ของแผลใหญ่)	-	-	-	<30	30-60	>60
การสร้างสปอร์(เปอร์เซ็นต์ของแผลที่สร้างสปอร์)	<30	30-60	>60	<30	30-60	>60

* R = ต้านทาน, MR = ต้านทานปานกลาง, S = อ่อนแอ

(correlation coefficient) ระหว่างค่าที่วัดได้ในเรือนทดลองกับค่าที่วัดได้ในแปลง ซึ่งคำนวณจากค่าเฉลี่ยจากทุกซ้ำ และจากการเปรียบเทียบระดับของความต้านทาน ที่ประเมินได้จากการทดสอบในเรือนทดลอง และจากการทดสอบในแปลง ในแต่ละช่วงเวลา ยังประเมินด้วยว่า การวัดลักษณะองค์ประกอบต่าง ๆ จากใบที่มีการแสดงออกของโรค

เต็มที่ โดยที่ไม่กำหนดว่าเป็นใบใด และการวัดจากใบที่กำหนดตำแหน่ง ซึ่งในการศึกษานี้กำหนดให้เป็นใบที่ 4 นับจากยอด อย่างไหนจะให้ผลถูกต้อง และมีประสิทธิภาพมากกว่ากัน โดยใช้ผลการประเมินในเรือนทดลองเป็นเกณฑ์เปรียบเทียบเช่นเดียวกัน

การทดลองในปีที่ 2 เป็นการประเมินระดับความต้านทานของพันธุ์ทดสอบ 6 พันธุ์เดิม ในสภาพแปลงเพียงครั้งเดียว จากลักษณะขนาดแผล และการสร้างสปอร์ โดยวางแผนว่าจะประเมินใน 4 สภาพ คือ ในแปลงที่มีการสร้างสภาพการเป็นโรคใบจุดสีดำและควบคุมโรคราสนิม (blackspot nursery) ในแปลงที่มีการสร้างสภาพการเป็นโรคราสนิมและควบคุมโรคใบจุดสีดำ (rust nursery) ในแปลงที่มีการสร้างสภาพการเป็นโรคใบจุดสีดำและโรคราสนิม (combined diseases nursery) และในแปลงที่ให้การเกิดโรคเป็นไปตามธรรมชาติ ส่วนโรคใบจุดสีน้ำตาลไม่สามารถทำการศึกษาได้ เนื่องจากไม่มีแหล่งสปอร์เพียงพอในการสร้างสภาพการเกิดโรค

ในแต่ละแปลง ปลูกถั่วลิสงพันธุ์ทดสอบทั้ง 6 พันธุ์ โดยใช้แผนการทดลองแบบ randomized complete block มี 4 ซ้ำ ขนาดแปลงย่อย 3 แถว แถวยาว 5 เมตร ระยะปลูก 50x20 เซนติเมตร 1 ต้นต่อหลุม รอบนอกปลูกล้อมด้วยถั่วลิสง 10 แถว ระยะปลูก 30x10 เซนติเมตร และปลูกข้าวโพดล้อมรอบอีก 6 แถว ระยะปลูก 80x20 เซนติเมตร สำหรับแปลงที่ให้การเกิดโรคเป็นไปตามธรรมชาติ ไม่มีการปลูกข้าวโพดล้อมรอบ ในแปลงที่มีการสร้างสภาพการเกิดโรค เมื่อถั่วลิสงอายุได้ประมาณ 25 วัน ทำการพ่นสาร chorothalonil(Daconil) เพื่อควบคุมการแพร่ระบาดตามธรรมชาติของโรคใบจุดและโรคราสนิม และเมื่อถั่วลิสงอายุ 45 วัน ทำการปลูกเชื้อ โดยในแปลงทดสอบโรคใบจุด ฉีดพ่นด้วย spore suspension ของเชื้อ *P. personata* ในแปลงทดสอบโรคราสนิม ฉีดพ่นด้วย spore suspension ของเชื้อ *P. arachidis* และในแปลงทดสอบทั้ง 2 โรค ฉีดพ่นด้วย spore suspension ของเชื้อทั้ง 2 โรค ทำเครื่องหมายใบที่ได้รับการปลูกเชื้อไว้ หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ ในแปลงทดสอบโรคใบจุดฉีดพ่นด้วยสาร oxycarboxin (Plant vax) เพื่อป้องกันการระบาดของโรคราสนิม และในแปลงทดสอบโรคราสนิม ฉีดพ่นด้วยสาร benomy(Benlate OD) เพื่อป้องกันการระบาดของโรคใบจุด แต่ในแปลงทดสอบทั้ง 2 โรค ซึ่งไม่ควรจะมีการฉีดสารเคมีใด ๆ มีการปฏิบัติผิดพลาด คือ ได้ทำการพ่นสาร Benlate OD ซึ่งป้องกันการระบาดของโรค

ใบจุดทำให้แปลงนี้มีการแพร่ระบาดเฉพาะโรคราสนิม จึงถือว่าเป็นแปลงที่มีการสร้างสภาพการเป็นโรคราสนิมและควบคุมโรคใบจุดอีกแปลงหนึ่ง อย่างไรก็ตาม พบว่าแปลงนี้มีการแพร่ระบาดของ mycoparasite คลุมอยู่บนแผลส่วนใหญ่ ทั้งที่สร้างสปอร์และยังไม่สร้างสปอร์ ดังนั้นการทดลองในปีที่ 2 จึงเป็นการประเมินระดับความต้านทานของพันธุ์ทดสอบทั้ง 6 พันธุ์ ในแปลง เพียง 3 สภาพ คือ ในแปลงที่มีการสร้างสภาพการเป็นโรคใบจุดสีดำและควบคุมโรคราสนิม (leafspot nursary) ในแปลงที่มีการสร้างสภาพการเป็นโรคราสนิมและควบคุมโรคใบจุด (rust nursary) ซึ่งมี 2 แปลง และในแปลงที่ให้การเกิดโรคเป็นไปตามธรรมชาติ การปฏิบัติดูแลรักษาอื่น ๆ ทำเช่นเดียวกับปีแรก

เมื่อสังเกตเห็นว่าโรคแสดงอาการชัดเจน และแผลพัฒนาเต็มที่ บันทึกลักษณะขนาดของแผล การสร้างสปอร์ และให้คะแนนตามวิธีของ ICRISAT ของโรคใบจุดสีดำ โรคราสนิม หรือทั้งสองโรค ตามประเภทของแปลงทดสอบ โดยสุ่มตัวอย่างมาแปลงย่อยละ 10 ต้น แต่ละต้นให้คะแนนการเป็นโรคตามวิธีของ ICRISAT ในแปลงที่มีการปลูกเชื้อ ตัดใบที่เป็นตัวแทนใบที่ได้รับการปลูกเชื้อต้นละ 3 ใบ โดยตัดจากลำต้นหลัก 1 ใบ และจากแขนงคู่แรก แขนงละ 1 ใบ นำไปวัดขนาดของแผล และการสร้างสปอร์ สำหรับต้นจากแปลงที่การเกิดโรคเป็นไปตามธรรมชาติ ตัดใบตัวแทนใบที่มีแผลใหญ่และมีจำนวนมาก ซึ่งน่าจะเกิดจากสปอร์ชุดเดียวกัน นำไปวัดขนาดของแผล และการสร้างสปอร์เช่นเดียวกัน ในแปลงนี้มีการระบาดของโรคยอดไหม้จากเชื้อ Choanephora มาก การสุ่มตัวอย่างจึงเลือกเฉพาะต้นที่ไม่เป็นโรค ซึ่งทำได้เพียง 3 ซ้ำเท่านั้น

ในการวัดขนาดของแผล และการสร้างสปอร์ สำหรับโรคใบจุดสีดำ วัดขนาดของแผลตัวแทน และให้คะแนนการสร้างสปอร์ 1-5 เช่นเดียวกับในปีแรก ส่วนโรคราสนิม นับจำนวนแผลที่สร้างสปอร์ และจำนวนแผลทั้งหมดในพื้นที่วงกลมที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร และวัดขนาดของแผลที่สร้างสปอร์ โดยวัดใต้กล้อง stereomicroscope และประเมินพื้นที่ใบที่ถูกทำลายด้วยโรค โดยเปรียบเทียบกับมาตรฐานที่สร้างขึ้น เป็นคะแนน 1-10 (1 = พื้นที่แผลน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ต่อใบย่อย และ 10 = พื้นที่แผลมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ต่อใบย่อย) (ภาคผนวกที่ 3)

การประเมินว่า ถ้าทำการประเมินอัตราการเป็นโรคครั้งเดียว เมื่อโรคแสดงอาการชัดเจนและแผลพัฒนาเต็มที่ จะให้ผลการประเมินถูกต้องหรือไม่ และการประเมินใน

สภาพการเกิดโรคตามธรรมชาติ และในสภาพการสร้างสภาพการเป็นโรค จะให้ผลแตกต่างกันหรือไม่ ทำโดยวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะองค์ประกอบของความต้านทานต่อโรคที่วัดได้จากแปลงที่ให้การเกิดโรคเป็นไปตามธรรมชาติ และที่วัดได้จากแปลงที่สร้างสภาพการเป็นโรค กับผลที่ได้จากการประเมินในเรือนทดลอง ในปีที่ 1 โดยวิธีการปักชำใบ และเปรียบเทียบระดับความต้านทานต่อโรค ที่ประเมินได้จากการทดสอบในแปลงสภาพต่าง ๆ กับที่ประเมินได้จากการทดสอบในเรือนทดลองในปีที่ 1 โดยวิธีปักชำใบ

ในการแบ่งเกณฑ์การประเมินระดับความต้านทานต่อโรคใบจุดสีดำ และโรคราสนิมในสภาพการเกิดโรคธรรมชาติและในสภาพการสร้างสภาพการเป็นโรค ใช้วิธีการเดียวกับปีที่ 1 ตารางที่ 3 แสดงเกณฑ์ที่ใช้ในการประเมินระดับความต้านทานต่อโรคใบจุดสีดำ และโรคราสนิมในเรือนทดลอง และในแปลง ของแต่ละลักษณะ

การประเมินว่าผลการประเมินอัตราการเกิดโรคในสภาพที่มีการแข่งขันกัน และในสภาพที่ไม่มีการแข่งขันกันของโรค จะแตกต่างกันหรือไม่ ทำโดยการหาค่าเฉลี่ยในแต่ละลักษณะของพันธุ์ทดสอบเปรียบเทียบกันระหว่างแปลง

ส่วนการประเมินว่า การแสดงออกของโรคบนลำต้นหลักและบนกิ่งแขนง จะต่างกันหรือไม่ ทำโดยการวิเคราะห์หาค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะองค์ประกอบของความต้านทานต่อโรค ที่วัดได้จากลำต้นหลักและที่วัดได้จากแขนงทั้ง 2 กับที่วัดได้ในเรือนทดลอง โดยใช้วิธีการปักชำใบ และเปรียบเทียบระดับความต้านทานที่ประเมินได้จากแต่ละวิธีการ

ในการทดลอง ปรากฏว่า ในแปลงที่ให้การเกิดโรคเป็นไปตามธรรมชาติ มีการแพร่ระบาดของโรค Choanephora และโรคราสนิมเกิดน้อยมากและไม่สม่ำเสมอ ทำให้ไม่สามารถวัดลักษณะองค์ประกอบของความต้านทานต่อโรคราสนิมได้ เพื่อที่จะศึกษาผลกระทบของโรค Choanephora ที่มีต่อการแพร่ระบาดของโรคใบจุด จึงได้ทำการเปรียบเทียบลักษณะขององค์ประกอบของโรคใบจุดของพันธุ์ทดสอบในสภาพที่มี และไม่มีการระบาดของโรค Choanephora ในทำนองเดียวกัน ได้เปรียบเทียบค่าองค์ประกอบต่าง ๆ ของโรคราสนิม ที่ได้จากแปลงโรคราสนิมทั้ง 2 แปลง ซึ่งแปลงหนึ่งมีการระบาดของ mycoparasite ส่วนอีกแปลงหนึ่งไม่มีการระบาด เพื่อศึกษาผลกระทบของ mycoparasite ที่มีต่อการระบาดของโรคราสนิม

ตารางที่ 3 เกณฑ์ในการแบ่งระดับความต้านทานต่อโรคใบจุดสีดำและโรคราสนิมในสภาพเรือนทดลอง และในสภาพแปลงของการทดลองในปีที่ 2

โรค/ลักษณะ	ในสภาพเรือนทดลอง*			ในสภาพแปลง*		
	R	MR	S	R	MR	S
			โรคใบจุดสีดำ			
ขนาดของแผล(มม.^{2})						
แปลงธรรมชาติ	<3	3-6	>6	<3.11	3.11-3.35	>3.35
แปลงโรคใบจุดสีดำ	<3	3-6	>6	<4.4	4.4-6.4	>6.4
การสร้างสปอร์(1-5)	<2	2-3	>3	<2	2-3	>3
			โรคราสนิม			
ขนาดของแผล(มม.)	<.35	.35-.50	>.50	<.35	.35-.50	>.50
การสร้างสปอร์(เปอร์เซ็นต์)	<30	30-60	>60	<30	30-60	>60
พื้นที่ใบที่ถูกทำลาย (1-10)	-	-	-	<3	3-6	>6

* R = ต้านทาน, MR = ต้านทานปานกลาง, S = อ่อนแอ