อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองแบ่งเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่1 เป็นงานทดลองในห้องปฏิบัติการ ณ.ภาควิชาพืชไร่และภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และงานทดลองในกระถางทดลองในแปลงทดลองภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ การวางแผนการทดลองแบบ Split Plot in RCBD โดยให้ main plot เป็นโรคใบไหม้โดยใช้เชื้อจากแหล่งต่าง ๆ กัน 3 สายพันธุ์ (isolate) คือ isolate ที่ 1, 2 และ 3 จากตัวอย่างในอำเภอเชียงดาว, สันป่าตอง และ หางดง จังหวัดเชียงใหม่ ตามลำดับ ส่วน sub plot คือสารกำจัดวัชพืชชนิดหลังงอกที่ใช้ในนาข้าว 3 ชนิด โดยแบ่งเป็น 10 กรรมวิธีดังนี้คือ

1. propanil	อัตรา	240	กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
2. propanil	อัตรา	320	กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
3. propanil	อัตรา	400	กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
4. bispyribac sodium	อัตรา	4	กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
5. bispyribac sodium	อัตรา	6	กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
6. bispyribac sodium	อัตรา	8	กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
7. fenoxaprop-p-ethyl	อัตรา	4	กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
8. fenoxaprop-p-ethyl	อัตรา	6	กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
9. fenoxaprop-p-ethyl	อัตรา	8	กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
10. control (ไม่ฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืช)			

งานทดลองในห้องปฏิบัติการ

เก็บตัวอย่างใบข้าวที่เป็นโรคใบไหม้จากนั้นแยกเชื้อจากแผลของใบข้าวที่เป็นโรค โดยทำ single spore isolate เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์เพื่อเก็บเป็น stock จากนั้นทำการเลี้ยงไว้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Rice Polish Agra (RPA) ซึ่งประกอบด้วยสูตรผสมดังนี้ รำข้าว 30 กรัม, Dextrose 20 กรัม, Agar 20 กรัม, น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร และได้เตรียมไว้เพื่อทำการปลูกเชื้อบนต้นพืช (inoculation) และทำการเลี้ยงเชื้อสาเหตุในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของสารกำจัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิดในแต่ละอัตราโดยทำเป็นจำนวน 4 ซ้ำ ส่วนในการเตรียมเพื่อปลูกเชื้อในต้นข้าวนั้น การแบ่งเชื้อแต่ละครั้งจะใช้ระยะเวลาประมาณ 10-14 วันเชื้อสาเหตุจึงจะสร้าง conidia แล้วจึงนำไปทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคโดยวิธีปลูกเชื้อโดยใช้ conidia โดยนำเชื้อราโรคใบไหม้ทั้ง 3 isolate ที่เลี้ยงบนอาหารที่มีการสร้าง conidia ที่ดีที่สุด และชักนำให้เชื้อราสร้าง conidia

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(induce sporulation) ขูดเฉพาะ conidia และเส้นใยให้มีความเข้มข้นของ conidia เป็น 10^6 (นับจำนวนสปอร์เชื้อราโดยใช้เครื่อง Heamacytometer) โดยทำการสุ่มวัดจำนวน 4 ซ้ำแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยปริมาณ spore จากนั้นจึงนำไปปลูกเชื้อบนต้นข้าวในกระถาง

งานทดลองในสภาพกระถางทดลอง

ทำการปลูกข้าวพันธุ์หอมสุพรรณบุรี ในกระถางทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้วทำการหว่านเมล็ดพันธุ์ 120 เมล็ด/กระถาง โดยใช้ถุงพลาสติกรองพื้นกระถางเพื่อไม่ให้น้ำไหลออกจากกระถางเพื่อรักษาระดับน้ำในกระถาง โดยกะให้ระยะเวลาในการปลูกข้าวสอดคล้องกับการเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติเพื่อจะได้ทำการปลูกเชื้อได้ตามระยะเวลาการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชหลังหว่านข้าว 25 วัน ซึ่งจะทำการปลูกเชื้อหลังจากการพ่นสารกำจัดวัชพืชไปแล้ว 1 วัน ซึ่งช่วงเวลาการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชหลังหว่านช่วงเวลานี้จะสอดคล้องกับการพ่นสารปกติในการใช้ของเกษตรกรโดยทั่วไป โดยทำการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชในกระถางทดลองโดยใช้ถังโยกแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) ฉีดพ่นด้วยปริมาณน้ำยาต่อไร่ (spray volume) 80 ลิตรต่อไร่ ใช้หัวฉีดพ่นแบบพัด (flat fan nozzle) ซึ่งระยะเก็บผลการทดลองจะอยู่ในช่วง 8-10 วันหลังฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืช และการปลูกเชื้อบนต้นพืช (ซึ่งจะเก็บข้อมูล คะแนนการเข้าทำลาย และเปอร์เซ็นต์จำนวนต้นข้าวที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย) หลังจากนั้น ทำการถอนแยกต้นข้าวจากกระถางทดลองเดิมแล้วนำไปปลูกในกระถางทดลองอีกชุด 10 ต้นต่อกระถาง เพื่อเก็บข้อมูลความสูง, การแตกกอ และความเป็นพิษต่อต้นข้าว

การบันทึกข้อมูลในการทดลอง

การบันทึกข้อมูลของต้นข้าวในกระถางนั้น จะดูเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายบนใบข้าว (ประเมินความรุนแรงของการเกิดโรค) และบันทึกจำนวนต้นข้าวที่เชื้อเข้าทำลายในแต่ละกระถาง ซึ่งความอ่อนแอของพืชทดสอบ (ข้าว) สามารถจัดระดับได้ด้วยการประเมินลักษณะอาการของโรคที่เกิดขึ้นบนใบ ซึ่งจะปรากฏหลังจากปลูกเชื้อ โดยการประเมินแบ่งออกเป็น 6 ระดับ ตั้งแต่ 0-9 คือ

0 = ไม่มีการเข้าทำลายจากเชื้อ

1 = เกิดจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก โดยเส้นผ่านศูนย์กลางมีขนาดเล็กกว่า 0.5 มิลลิเมตร แผลไม่มีการสร้าง conidia

3 = เกิดจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางของแผลประมาณ 0.5-1.0 มิลลิเมตร แผลไม่มีการสร้าง conidia

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5 = แผลค่อนข้างกลมหรือเป็นรูปไข่ เส้นผ่านศูนย์กลางของแผลมีขนาดประมาณ 1-3 มิลลิเมตร กลางแผลเป็นสีเทาโดยขอบแผลเป็นสีน้ำตาล อาจมีการสร้าง conidia บริเวณแผลได้

7 = แผลมีลักษณะเป็นรูปตาชัดเจน แผลมีการสร้าง conidia โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 มิลลิเมตร กลางแผลเป็นสีเทาโดยขอบแผลเป็นสีน้ำตาลจากการตายของเนื้อเยื่อ และขอบแผลเกิดอาการฉ่ำน้ำหรือเป็นสีน้ำตาลแดง แผลไม่มีการลุกลามหรือเกิดเพียงเล็กน้อย

9 = ลักษณะอาการเหมือน 7 แต่ครึ่งหนึ่งของ leaf blade 1-2 ใบ ถูกทำลายจากการลุกลาม

การบันทึกผลการทดลอง

1) การวัดการเจริญเติบโตของเชื้อราใบไหม้ในข้าว บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารกำจัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิด ในแต่ละอัตรา และ control โดยเก็บจานเลี้ยงเชื้อไว้ในอุณหภูมิห้อง ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา ที่ระยะเวลา 4, 7, 10, และ14 วันหลังจากย้ายเชื้อ ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา
2) ประเมินความรุนแรงหลังจากการเข้าทำลายในต้นข้าว (ตามที่กล่าวข้างต้น)
3) นับจำนวนต้นข้าวที่เชื้อเข้าทำลาย
4) ทำการบันทึกความเป็นพิษ (phytotoxic) ของสารกำจัดวัชพืชต่อใบข้าวหลังพ่น ได้แก่อาการใบเหลือง ใบไหม้ ยอดหยิก ยอดไหม้ หรือตายเป็นเปอร์เซ็นต์โดยสายตา (visual) ดังนี้ 0=ไม่แสดงอาการเป็นพิษ, 100= พืชตาย
5) ทำการวัดความสูงของต้นข้าวหลังฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชที่ 14, 21, 28 และ 35 วันหลังฉีดพ่น

งานทดลองในส่วนที่ 2 ทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อรา *Pyricularia grisea* ของสารกำจัดวัชพืช ในสภาพกระถางทดลองในแต่ละช่วงเวลาการเข้าทำลาย โดยใช้กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 นิ้ว จากนั้นปลูกข้าว จำนวน 100 ต้นต่อกระถาง โดยใช้ดินที่นำมาจากแหล่งที่ไม่พบการระบาดของเชื้อราสาเหตุของโรคใบไหม้ เมื่อกล้าข้าวอายุ 25 วัน ทำการเตรียมพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยใช้ถังโยกแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) ฉีดพ่นด้วยปริมาณน้ำยา (spray volume) 80 ลิตรต่อไร่ ใช้หัวฉีดพ่นแบบพัด (flat fan nozzle) โดยการฉีด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พ่นสารกำจัดวัชพืชนี้จะทำการพ่นเป็นช่วงเวลาก่อนและหลังที่จะปลูกเชื้อ (inoculation) เป็นช่วงเวลา ดังนี้

1) ฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชก่อนที่จะปลูกเชื้อ 1, 3 และ 5 วัน
2) ฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชหลังที่จะปลูกเชื้อ 1, 3 และ 5 วัน

โดยใช้สารกำจัดวัชพืช 3 ชนิด ชนิดละอัตรา โดยใช้ที่อัตราสูง ดังนี้

1) สารกำจัดวัชพืช propanil อัตรา 400 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
2) สารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-p-ethyl อัตรา 8 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
3) สารกำจัดวัชพืช bispyribac sodium อัตรา 8 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
4) กรรมวิธีควบคุม (ไม่ฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืช)

โดยเปรียบเทียบผลของช่วงเวลาของการเข้าทำลายของเชื้อ และเปอร์เซ็นต์ของจำนวนต้นข้าวที่เป็นโรคใบไหม้ก่อนและหลังการพ่นสารกำจัดวัชพืช โดยเปรียบเทียบว่า ที่สารกำจัดวัชพืชในอัตรานั้นจะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์จำนวนต้นข้าว และมีผลต่อลักษณะการติดโรคมากหรือน้อย โดยยังคงใช้เชื้อรา *Pyricularia grisea* จำนวน 3 สายพันธุ์ โดยเตรียมสารแขวนลอยของ conidia ของเชื้อราสาเหตุ แล้วทำการชักนำให้เชื้อราสร้าง conidia (induce sporulation) โดยมีความเข้มข้นของ conidia ประมาณ 10^6 และจากนั้นนำไปปลูกเชื้อบนต้นข้าวในกระถางทดลอง

การบันทึกผลการทดลอง

1) เปอร์เซ็นต์ของจำนวนต้นข้าวที่ถูกเชื้อทำลาย
2) คะแนนการเข้าทำลายของเชื้อราบนใบข้าว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved