บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การศึกษาลักษณะอาการของโรคและการแยกเชื้อ

1.1 การศึกษาลักษณะอาการของโรค

นำผลพริกที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสจากแปลงปลูกในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ มาศึกษาและตรวจดูลักษณะอาการของโรคโดยละเอียด

1.2 การตรวจเชื้อและการแยกเชื้อ

นำผลพริกที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส ตามข้อ 1.1 มาทำการตรวจหาเชื้อสาเหตุด้วยวิธี free hand section แล้วนำไปตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ (compound microscope)

นำผลพริกที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสมาแยกเชื้อโดยการใช้มีดที่คมและสะอาดตัดเนื้อเยื่อผลพริกที่แสดงอาการโดยตัดบริเวณที่ติดกับเนื้อเยื่อปรกติ ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 3 x 3 มิลลิเมตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่ผิว โดยแช่ใน Clorox 10% เป็นเวลา 2-3 นาที แล้วนำชิ้นพืชไปวางบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) ในตู้ถ่ายเชื้อ (transfer chamber) ที่ปลอดเชื้อ แล้วบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อเจริญออกมาจากชิ้นพืช ใช้เข็มเขี่ยลนไฟให้ปลอดเชื้อตัดเอาปลายเส้นใยที่เจริญออกมาในแต่ละชิ้นไปเลี้ยงบนอาหาร PDA โดยเลือกเอาไอโซเลท (isolate) ที่เจริญดีเก็บเป็น stock culture เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2. การแยกและจำแนกชนิดเชื้อราเอนโดไฟท์

2.1 การทดสอบการฆ่าเชื้อที่ผิว (surface sterilization)

ทำการทดสอบการฆ่าเชื้อที่ผิวของส่วนต่างๆของต้นข้าพลูและคาวตอง (รายละเอียดในภาคผนวก ค) ซึ่งได้แก่ ส่วนลำต้น, ใบ, ก้านใบและราก เพื่อหาระยะเวลาและความเข้มข้นในการแช่ชิ้นพืชในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ที่เหมาะสม ด้วยวิธี triple surface sterilization ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. นำต้นพืชที่ไม่เป็นโรคมาล้างทำความสะอาด
2. ใช้มีดที่คมตัดส่วนต่างๆของพืชให้มีขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำชิ้นพืชนี้ไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95% นาน 1 นาที
3. นำชิ้นพืชในข้อ 2. มาแช่ในสารละลาย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5% เป็นเวลา 1, 3 และ 5 นาที
4. นำชิ้นพืชจากข้อ 3. มาแช่ในแอลกอฮอล์ 95% นาน 30 วินาที แล้วผึ่งชิ้นพืชให้แห้งบนกระดาษทิชชูที่ปลอดเชื้อ
5. นำชิ้นพืชไปวางบนอาหาร Rose Bengal Agar (RBA)
6. เมื่อเชื้อราเจริญออกจากชิ้นพืช ทำการตรวจดูเชื้อที่เจริญออกมาเพื่อใช้หาความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสม

2.2 การเก็บตัวอย่างพืชและการแยกเชื้อราเอนโดไฟท์

ทำการเก็บตัวอย่างต้นข้าพลูและต้นคาวตอง จากแหล่งต่างๆ ได้แก่

- อำเภอสันป่าตอง และ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่
- อำเภอเทิง จังหวัดเชียงราย
- อำเภอแม่ทา จังหวัดลำพูน

โดยนำไปฆ่าเชื้อที่ผิวโดยใช้ความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมตามขั้นตอนวิธีการในข้อ 2.1 นับจำนวนชิ้นพืชที่มีเชื้อเจริญออกมา เพื่อนำไปคำนวณหาค่า Isolate prevalence (Bussaban *et al.*, 2001) ซึ่งมีสูตรดังนี้

$$\text{Isolate prevalence} = \frac{\text{จำนวนชิ้นพืชที่มีเชื้อราเจริญออกมา}}{\text{จำนวนชิ้นพืชที่วางดสอบ}} \times 100$$

จากนั้นตัดปลายเส้นใยของเชื้อราที่เจริญออกมา นำไปวางบนอาหาร PDA เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วตัดปลายเส้นใยของเชื้อที่บริสุทธิ์แล้วเลี้ยงบน PDA slant เพื่อนำไปจัดจำแนกต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3 การจำแนกชนิดเชื้อราเอนโดไฟท์

ในการจำแนกชนิดของเชื้อรานั้นจะอาศัยการดูจาก รูปร่าง ขนาด สี ของสปอร์ และลักษณะโครงสร้างที่เชื้อราสร้างขึ้นบนอาหาร เช่น conidiophore conidia และ fruiting body เป็นต้น โดยจะจำแนกถึงระดับ genus โดยเปรียบเทียบกับหนังสืออ้างอิง ใน The Coelomycetes (Sutton, 1980), Dematiaceous Hyphomycetes (Ellis, 1971), More Dematiaceous Hyphomycetes (Ellis, 1976), Genera of Hyphomycetes (Carmichael *et al.*,1980) และ Illustrated Genera of Ascomycetes Vol. 2 (Handlin,1998) เป็นต้น

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (pathogenicity test) ของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ที่แยกได้

3.1 การเตรียมกล้าพริก

นำเมล็ดพริกชี้ฟ้าพันธุ์จักรพรรดิ จากตลาดต้นพยอม อ.เมือง จ.เชียงใหม่ มาเพาะบนถาดหลุมขนาด 104 หลุม/ถาด ที่ใส่ดินผสมสำเร็จรูปที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว รดน้ำทุกวัน เมื่อต้นกล้าอายุได้ 25 วัน จึงย้ายมาปลูกในกระถาง ดูแลใส่ปุ๋ยรดน้ำ เพื่อใช้ในการทดลอง

3.2 การชักนำให้เชื้อราสร้างสปอร์ (spore induction)

หลังจากแยกเชื้อรา *C. capsici* บริสุทธิ์ได้แล้ว เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ไม่พบการสร้างสปอร์ จึงชักนำให้สร้างสปอร์ โดยใช้แผ่นสไลด์แก้วขูดเส้นใย บริเวณผิวหน้าอาหาร PDA ออก แล้วนำไปผ่านน้ำก๊อกไหล (running tap water) นานประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วนำมาคว่ำให้เอียงด้านหนึ่งสูงจากพื้นเล็กน้อย เพื่อให้อากาศเข้าไปสัมผัสกับเชื้อราได้ (Dhingra and Sinclair, 1995) ทิ้งไว้ประมาณ 2 วัน เพื่อให้เชื้อราสร้างสปอร์

3.3 การเตรียม inoculum และการปลูกเชื้อ

เมื่อเชื้อราสร้างสปอร์แล้ว นำสปอร์มาเตรียม inoculum (spore suspension) โดยเทน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงไปบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ถูเบา ๆ ที่บริเวณผิวหน้าของอาหารที่มีเชื้อ *C. capsici* ให้ทั่ว แล้วนำมาตรวจนับจำนวน สปอร์ด้วย Heamacytometer โดยปรับความเข้มข้นของ spore ให้ได้ประมาณ10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำไปฉีดพ่นบนต้นพริกที่มีอายุประมาณ 6 สัปดาห์ ชุดควบคุมใช้น้ำสะอาดฉีดพ่น จากนั้นคลุม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ต้นพริกที่ฉีดพ่นเชื้อแล้วด้วยถุงพลาสติก เพื่อช่วยรักษาความชื้น คลุมไว้ 2-3 วัน แล้วเอาถุงพลาสติกออก ตรวจสอบดูอาการของโรค หลังปลูกเชื้อสาเหตุ 10 วัน

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ด้วยวิธี dual culture

นำตัวแทนของเชื้อราเอนโดไฟท์แต่ละกลุ่มที่จำแนกได้ มาทดสอบประสิทธิภาพ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. capsici* โดยวิธี dual culture ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วตัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ และเชื้อเอนโดไฟท์ มาวางบนอาหาร PDA วางห่างกัน 5 ซม. โดยวางเชื้อที่เจริญช้าก่อน แล้วจึงวางเชื้อที่เจริญเร็วในเวลาต่อมา บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลองโดยใช้เชื้อราเอนโดไฟล์ชนิดละ 5 ซ้ำๆ ละ 1 plate บันทึกผลโดยการวัดความยาวรัศมีเชื้อราสาเหตุด้านที่ติดกับเชื้อเอนโดไฟท์ และวัดความยาวรัศมีของเชื้อสาเหตุในชุดควบคุม (ไม่ได้วางเชื้อเอนโดไฟท์) ดังภาพที่ 1 แล้วนำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ตามสูตร

$$\% \text{ inhibition} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

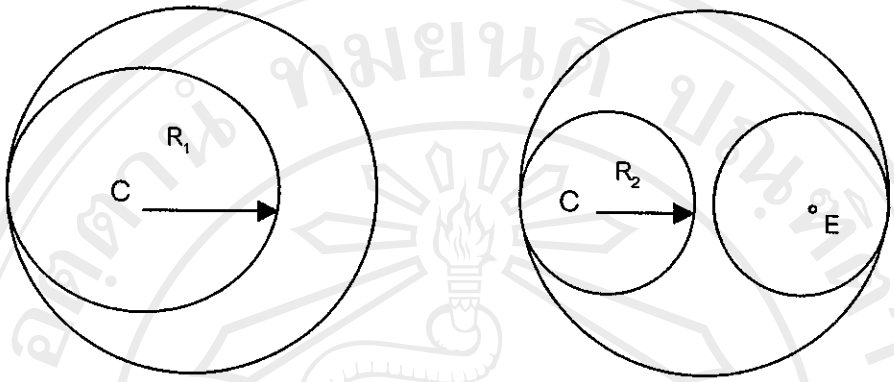
R_1 = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุในชุดควบคุม

R_2 = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุในชุดทดสอบ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อเชื้อรา *C. capsici* แล้วประเมินความสามารถในการยับยั้งได้ดังนี้ (เกษม, 2532)

> 75%	=	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก
61-75%	=	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง
51-60%	=	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง
< 50%	=	มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ชุดควบคุม **ชุดทดสอบ**

C = เชื้อรา *Colletotrichum capsici*

E = เชื้อราเอนโดไฟท์

R_1 = ความยาวรัศมีของเชื้อรา *C. capsici* ในชุดควบคุม

R_2 = ความยาวรัศมีของเชื้อรา *C. capsici* ในชุดทดสอบ

ภาพที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อ เชื้อรา *Colletotrichum capsici* โดยวิธี dual culture

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. การทดสอบประสิทธิภาพของ culture filtrate ของเชื้อรา *Chaetomium* sp. No.357 ในการยับยั้งการการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนอาหาร PDA

นำเชื้อราเอนโดไฟท์ *Chaetomium* sp. No.357 ไปเลี้ยงใน PDB (Potato Dextrose Broth) จากนั้นนำไปวางบนเครื่องเขย่า (shaker) ความเร็ว 120 ครั้ง/นาที เป็นเวลา 10 วัน แล้วนำมากรองผ่านกระดาษ Whatman เบอร์ 1 ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำ culture filtrate ที่ได้มาผสม PDA ที่เตรียมแบบลดปริมาณน้ำลงเพื่อใช้ culture filtrate ที่ได้ไปแทนที่น้ำ (ดูวิธีการเตรียมในภาคผนวก ก) โดยผสม culture filtrate ที่ปริมาณ 10, 30 และ 50 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. ตัดเส้นใยของเชื้อ *C. capsici* ที่เลี้ยงบน PDA แล้วนำ culture disc มาวางไว้บน PDA ที่ผสม culture filtrate ที่ปริมาณต่าง ๆ โดยวางไว้จุดกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ชิ้นต่อ 1 จาน โดยทำกรรมวิธีละ 5 ซ้ำๆ ละ 1 plate เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้ววัดการเจริญเติบโตของเชื้อราเมื่อเชื้อสาเหตุเจริญได้ 10 วัน แล้วนำไปหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ (ดูวิธีคำนวณจากภาคผนวก ก)

6. การตรวจหาเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนเมล็ดพริกและความงอกของเมล็ดพริก

นำเมล็ดพริกชี้ฟ้าพันธุ์จักรพรรดิ มาตรวจหาเชื้อ *C. capsici* ที่ติดมากับเมล็ดโดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้น (blotter method) โดยใช้กระดาษฟาง 2 แผ่น ซ้อนกับกระดาษ Whatman เบอร์ 1 จุ่มในน้ำฆ่าเชื้อ แล้ววางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด โดยวางจานละ 25 เมล็ด บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ตรวจดูเชื้อรา *C. capsici* ที่เจริญขึ้นบนเมล็ด พร้อมตรวจหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด

7. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อความงอกของเมล็ดและต้นกล้าพริก

7.1 การเตรียม spore suspension ของเชื้อราเอนโดไฟท์และเชื้อ *Colletotrichum capsici* เพื่อใช้ในการทดลอง

เลือกเอนโดไฟท์ 3 ชนิดคือ *Chaetomium* sp. No.357, *Sclerococcum* sp. No.142 และ Ascomycetes 2 No. 423 ซึ่งเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ที่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* ในเปอร์เซ็นต์ที่สูง และ มีการสร้างสปอร์ (ที่ได้จากการทดลองในข้อ 4) และ เชื้อรา *C. capsici* โดยใช้น้ำฆ่าเชื้อ ปริมาตร 10 มล./ plate เทลงในจานอาหารที่มีเชื้อราดังกล่าวเจริญอยู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ใช้ loop ขูดเส้นใย แล้วกรองผ่านผ้าขาวบางปรับ spore suspension ให้ได้ความเข้มข้น 10^6 สปอร์ / มล.

7.2 การทดสอบผลของเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อความงอกของเมล็ดพริก

นำเมล็ดพริกที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วมาแช่ใน spore suspension ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่ได้จากข้อ 7.1 โดยแบ่งเป็น 4 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 แช่เมล็ดด้วย *Chaetomium* sp. No. 357
กรรมวิธีที่ 2 แช่เมล็ดด้วย *Sclerococcum* sp. No. 142
กรรมวิธีที่ 3 แช่เมล็ดด้วย Ascomycete 2 No. 423
กรรมวิธีที่ 4 แช่ด้วยน้ำฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

โดยแช่เมล็ดในแต่ละกรรมวิธีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แบ่งเมล็ดออกเป็น 2 ชุด โดยชุดแรกนำไปวางบนกระดาษชื้นในจานอาหาร โดยทำกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด ชุดที่ 2 นำไปเพาะในถาดหลุมสำหรับเพาะกล้า ทำกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ดเพื่อดูว่าเชื้อเอนโดไฟท์มีผลต่อความงอกของเมล็ดหรือไม่ แล้วใช้ต้นกล้าที่ได้นี้ไปใช้ในการทดลองอื่นต่อไป

7.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อความงอกและความผิดปกติของต้นกล้าของเมล็ดพริกที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Colletotrichum capsici*

นำเมล็ดพริกที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วมาแช่ใน spore suspension ของเชื้อ *C. capsici* นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาบ่มไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดพริกที่ปลูกเชื้อแล้วมาแช่ใน spore suspension ของเชื้อราเอนโดไฟท์ แต่ละชนิดที่เตรียมไว้จากข้อ 7.1 โดยแบ่งเป็น 5 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 แช่เมล็ดด้วย *C. capsici* + แช่ด้วย *Chaetomium* sp. No. 357
กรรมวิธีที่ 2 แช่เมล็ดด้วย *C. capsici* + แช่ด้วย *Sclerococcum* sp. No. 142
กรรมวิธีที่ 3 แช่เมล็ดด้วย *C. capsici* + แช่ด้วย Ascomycctes 2 No. 423
กรรมวิธีที่ 4 แช่เมล็ดด้วย *C. capsici* + แช่ด้วยน้ำฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุมปลูกเชื้อ)
กรรมวิธีที่ 5 แช่เมล็ดด้วยน้ำฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

โดยแช่เมล็ดในแต่ละกรรมวิธีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แบ่งเมล็ดออกเป็น 2 ชุด โดยชุดแรกนำไปวางบนกระดาษชื้นในจานอาหาร กรรมวิธีละ 4 ซ้ำๆ ละ 100 เมล็ด วางจานละ 25 เมล็ด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนชุดที่ 2 นำไปเพาะในถาดหลุม กรรมวิธีละ 4 ซ้ำๆ ละ 100 เมล็ด ตรวจดูว่าเชื้อราเอนโดไฟท์มีผลในการยับยั้งการเข้าทำลายเมล็ดของเชื้อ *C. capsici* หรือไม่ โดยตรวจดูเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด และดูว่าต้นกล้าที่เจริญออกมามีความผิดปกติหรือไม่

8. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกในโรงเรือน

8.1 ประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกโดยการแช่เมล็ดก่อนปลูก

ย้ายต้นกล้าพริกที่ได้แช่เชื้อราเอนโดไฟท์จากข้อ 7.1 อายุ 25 วัน นำมาปลูกในกระถางดำที่บรรจุดินผสมที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทำการทดลองเมื่อต้นพริกอายุได้ 7 สัปดาห์ ใช้กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น แบ่งการทดลองเป็น 8 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 แช่เมล็ดด้วย *Chaetomium* sp. No. 357 + พ่นด้วย *C. capsici*
กรรมวิธีที่ 2 แช่เมล็ดด้วย Ascomycetes 2 No. 423 + พ่นด้วย *C. capsici*
กรรมวิธีที่ 3 แช่เมล็ดด้วย *Sclerococcum* sp. No. 142 + พ่นด้วย *C. capsici*
กรรมวิธีที่ 4 แช่เมล็ดด้วยน้ำฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุมปลูกเชื้อ) + พ่นด้วย *C. capsici*
กรรมวิธีที่ 5 แช่เมล็ดด้วย *Chaetomium* sp. No. 357 + พ่นด้วยน้ำฆ่าเชื้อ
กรรมวิธีที่ 6 แช่เมล็ดด้วย Ascomycetes 2 No. 423 + พ่นด้วยน้ำฆ่าเชื้อ
กรรมวิธีที่ 7 แช่เมล็ดด้วย *Sclerococcum* sp. No. 142 + พ่นด้วยน้ำฆ่าเชื้อ
กรรมวิธีที่ 8 แช่เมล็ดด้วยน้ำฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) + พ่นด้วยน้ำฆ่าเชื้อ

8.2 ประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกโดยการฉีดพ่น

นำต้นกล้าพริกจากถาดหลุมที่เพาะจากเมล็ดพริกที่ฆ่าเชื้อที่ผิว แต่ไม่ได้แช่เอนโดไฟท์ อายุ 25 วัน ย้ายปลูกลงในกระถางดำ ทำการทดลองเมื่อต้นพริกอายุได้ 7 สัปดาห์ โดยการพ่นเชื้อราเอนโดไฟท์ ก่อนและหลัง การปลูกเชื้อสาเหตุ 24 ชั่วโมง ใช้กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น แบ่งการทดลองเป็น 8 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วย *Chaetomium* sp. No. 357 ก่อน (24 ชม.) + พ่นด้วย *C. capsici*
กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วย Ascomycetes 2 No. 423 ก่อน (24 ชม.) + พ่นด้วย *C. capsici*
กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วย *Sclerococcum* sp. No.142 ก่อน (24 ชม.) + พ่นด้วย *C. capsici*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วย *C. capsici* (ชุดควบคุมปลูกเชื้อ)

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วย *C. capsici* ก่อน (24 ชม) + พ่นด้วย *Chaetomium* sp. No. 357

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วย *C. capsici* ก่อน (24 ชม.) + พ่นด้วย Ascomycetes 2 No. 432

กรรมวิธีที่ 7 พ่นด้วย *C .capsici* ก่อน (24 ชม.) + พ่นด้วย *Sclerococcum* sp. No. 142

กรรมวิธีที่ 8 พ่นด้วยน้ำฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

จากข้อ 8.1 และ 8.2 ฉีดพ่นโดยใช้ความเข้มข้นของสปอร์ของเชื้อ *C. capsici* และเชื้อราเอนโดไฟท์ที่ 10^6 สปอร์ / มล. โดยใช้ Foggy ฉีดพ่นให้ทั่วต้น ใช้ถุงพลาสติกคลุมไว้ 3 วัน แล้วเปิดถุงออก ดูแลรดน้ำทุกวัน แล้วประเมินความรุนแรงของโรคหลังฉีดพ่นเชื้อสาเหตุ 10 วัน

8.3 การประเมินความรุนแรงของโรค

อ้างอิงจากสืบศักดิ์ (2540) โดยแบ่งความรุนแรงเป็น 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0	ต้นพริกไม่มีอาการใบจุดแอนแทรคโนสเลย	
1	ต้นพริกมีอาการใบจุด	1-25% ของพื้นที่ใบที่สุ่ม
2	ต้นพริกมีอาการใบจุด	26-50% ของพื้นที่ใบที่สุ่ม
3	ต้นพริกมีอาการใบจุด	51-75% ของพื้นที่ใบที่สุ่ม
4	ต้นพริกมีอาการใบจุด	76-100% ของพื้นที่ใบที่สุ่ม

นำผลที่ได้จากการประเมินมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ใบเป็นโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย มีสูตรดังนี้ คือ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ใบเป็นโรค} = \frac{\text{จำนวนใบที่เป็นโรค}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย} = \frac{\text{ผลรวมของการเป็นโรคแต่ละระดับ}}{\text{จำนวนต้นพริกที่สุ่ม}} \times \frac{100}{\text{ระดับสูงสุดของการเป็นโรค}}$$

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved