

การใช้สารทุติยภูมิจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007
และโคโคซาน ชักนำความต้านทานต่อโรคเชื้อราในองุ่น

นางสาวชญมน ฝิวทอง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2557

**APPLICATION OF SECONDARY METABOLITES OF
Bacillus subtilis STRAIN CaSUT007 AND CHITOSAN
TO INDUCE RESISTANCE AGAINST FUNGAL
DISEASES IN GRAPE VINE**



**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science Program in Crop Science
Suranaree University of Technology
Academic Year 2014**

การใช้สารทุติยภูมิจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไลโคซาน
ชักนำความต้านทานต่อโรคเชื้อราในองุ่น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(อ. ดร. รุจ มรกต)

ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร. ณัฐธิญา เบ็อนสันเทียะ)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(อ. ดร. อัญมณี อาวุชานนท์)

กรรมการ

(ดร. กาญจนา ธรรมนุ)

กรรมการ

(ศ. ดร. ชูกิจ ลิ้มปีจันทร์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการและนวัตกรรม

(ผศ. ดร. สุเวทย์ นิงสานนท์)

คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ชัยมน ฝิวทอง : การใช้สารทุติยภูมิจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน ชักนำความต้านทานต่อโรคเชื้อราในองุ่น (APPLICATION OF SECONDARY METABOLITES OF *Bacillus subtilis* STRAIN CaSUT007 AND CHITOSAN TO INDUCE RESISTANCE AGAINST FUNGAL DISEASES IN GRAPE VINE) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐธิญา เป็อนสันเทียะ, 120 หน้า.

การควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่นรับประทานผลสดพันธุ์มารูซีดเลส (*Vitis vinifera* cv. Marroo seedless) โดยใช้ความต้านทานจากสิ่งกระตุ้น (elicitor) 2 ชนิด โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและกลไกของสารทุติยภูมิจากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซานในการชักนำความต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อราที่สำคัญในองุ่น ทำการทดลองโดยพ่นต้นองุ่นด้วยสิ่งกระตุ้นทั้ง 2 ชนิด คือ สารทุติยภูมิ SecCaSUT007 ที่สกัดจากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 1000 ppm จำนวน 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน ในสภาพเรือนทดลอง จากนั้นจึงทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคต้นแบบในการทดลอง 2 ชนิด คือ *Plasmopara viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้าง และ *Sphaceloma ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ พบว่าเมื่อประเมินการเกิดโรค 10 วันหลังปลูกเชื้อ กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และไคโตซาน สามารถลดการเกิดโรคราน้ำค้างได้ 40 และ 20% และสามารถลดการเกิดโรคสแคบได้ 20 และ 30% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม เมื่อนำใบองุ่นจากตัวอย่างดังกล่าว ไปวัดปริมาณ salicylic acid (SA), phenolic compound (PC) และ lignin พบว่า หลังจากปลูกเชื้อ *P. viticola* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และไคโตซาน ทำให้ปริมาณ SA เพิ่มขึ้นเป็น 113.28 ± 0.94 และ 115.83 ± 0.55 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ปริมาณ PC ลดลงเป็น 9.28 ± 0.02 และ 9.29 ± 0.04 ไมโครกรัมแกลลิกแอซิดต่อกรัมน้ำหนักสด และมีปริมาณ lignin เพิ่มขึ้นเป็น 79.31 ± 0.56 และ 78.32 ± 1.46 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ในขณะที่การปลูกเชื้อ *S. ampelinum* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้ควบคุมทั้งสองทำให้ปริมาณ SA ลดลงเป็น 107.69 ± 1.41 และ 108.09 ± 0.57 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ปริมาณ SA เท่ากับ 126.23 ± 1.26 และ 108.43 ± 0.50 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ทั้งนี้มีปริมาณ PC เพิ่มขึ้นเป็น 9.25 ± 0.01 และ 9.26 ± 0.00 ไมโครกรัมแกลลิกแอซิดต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ที่มีปริมาณ PC 9.33 ± 0.02 และ 9.24 ± 0.01 ไมโครกรัมแกลลิกแอซิดต่อกรัมน้ำหนักสด ส่วนปริมาณ lignin เพิ่มขึ้นเป็น 82.12 ± 0.98 และ 82.81 ± 0.44 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ที่มีปริมาณ lignin 78.03 ± 0.79 และ

81.64±0.99 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และโคโตซาน ทำให้ได้ปริมาณไขมัน ชนิด C-H stretching เท่ากับ 8.91±1.03 และ 8.13±0.13% ตามลำดับ ขณะเดียวกันมีเปอร์เซ็นต์ไขมันชนิด C=O ester เท่ากับ 1.18±0.05 และ 0.97±0.42% ตามลำดับ มีสารในกลุ่ม amide protein เท่ากับ 25.35±1.56 และ 27.65±0.71% ตามลำดับ สารในกลุ่ม CH bending เท่ากับ 8.22±0.40 และ 7.31±0.54% ตามลำดับ สารในกลุ่ม cellulose เท่ากับ 5.85±0.60 และ 5.63±1.53% และสารในกลุ่ม carbohydrate เท่ากับ 50.49±1.58 และ 50.30±1.90% ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อนำสิ่งกระตุ้นทั้ง 2 ชนิดมาทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลองช่วงฤดูฝน พบว่า SecCaSUT007 และโคโตซาน สามารถลดความรุนแรงของโรค สแคบได้ 5 และ 27% ในระยะแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน และ 24 และ 27% ในระยะสุกแก่ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่ต่างกันทางสถิติจากชุดควบคุม ทั้งนี้ไม่พบการเข้าทำลายของโรคราน้ำค้างได้ในทั้งสองระยะการเจริญเติบโต ส่วนการทดลองในช่วงฤดูหนาว พบว่า SecCaSUT007 และโคโตซาน สามารถลดความรุนแรงของโรคสแคบได้ 31 และ 46% ในระยะแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน และลดการเกิดโรคสแคบในระยะสุกแก่ได้ 4 และ 22% ตามลำดับ ทั้งนี้สามารถลดโรคราน้ำค้างในระยะแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อนได้เพียง 6 และ 0% และลดโรคในระยะสุกแก่ได้ 8 และ 7% ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า สิ่งกระตุ้นทั้งสองชนิดสามารถชักนำให้อุ่นพันธุ์ต้านทาน โรคสแคบได้อย่างมีประสิทธิภาพและควบคุมโรคราน้ำค้างได้บางระยะการเจริญเติบโต ซึ่งสามารถนำข้อมูลนี้ไปประยุกต์ใช้เพื่อลดหรือร่วมกับการใช้สารเคมีในการผลิตองุ่นได้ในอนาคต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
ปีการศึกษา 2557

ลายมือชื่อนักศึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

TUNYAMON PHIWTHONG : APPLICATION OF SECONDARY
METABOLITES OF *Bacillus subtilis* STRAIN CaSUT007 AND CHITOSAN
TO INDUCE RESISTANCE AGAINST FUNGAL DISEASE IN
GRAPE VINE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NATTHIYA
BUENSANTEAI, Ph.D., 120 PP.

GRAPEVINE/*Bacillus subtilis*/CHITOSAN/FUNGAL DISEASE/INDUCED
RESISTANCE/FTIR SPECTROSCOPY

Control of fungal disease in grapevine cv. Marroo seedless (*Vitis vinifera* cv. Marroo seedless) caused by fungi using resistance elicitors was studied. Resistance induction was conducted using two elicitors, the secondary metabolites extracted from *Bacillus subtilis* CaSUT007 and chitosan 1000 ppm using RCBD under greenhouse conditions. The plants were sprayed with resistance elicitors 7 times, 7 days for a week and then they were inoculated with suspension of *Plasmopara viticola* and *Sphaceloma ampelinum* fungal pathogens. It was found that 10 days after pathogen inoculation, foliar treated with SecCaSUT007 and chitosan gave the highest downy mildew disease reduction by 40 and 20 percent, and reduced scab disease by 20 and 30 percent, respectively. Analysis of SA in induced plants found that SecCaSUT007 and chitosan after 24 h for downy mildew gave SA content of 113.28 ± 0.94 and $115.83 \pm 0.55 \mu\text{g g}^{-1}$ fresh weight, respectively. The PC decreased gave 9.28 ± 0.02 and $9.29 \pm 0.04 \mu\text{g GAE g}^{-1}$ fresh weight, while the lignin increased gave 79.31 ± 0.56 and $78.32 \pm 1.46 \mu\text{g g}^{-1}$ dry weight, respectively. In addition, of SA in induced grapevine against scab disease found that SecCaSUT007 and chitosan after 24 h after pathogen inoculation gave SA content of 107.69 ± 1.41 and $108.09 \pm 0.57 \mu\text{g g}^{-1}$ fresh weight,

respectively. The PC decreased gave 9.25 ± 0.01 and 9.26 ± 0.00 $\mu\text{g GAE g}^{-1}$ fresh weight, while the lignin increased gave 82.12 ± 0.98 and 82.81 ± 0.44 $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight, respectively. The SecCaSUT007 and chitosan treatment increased significantly with C-H stretching by 8.91 ± 1.03 and 8.13 ± 0.13 percent, C=O ester by 1.18 ± 0.05 and 0.97 ± 0.42 percent, amide protein by 25.35 ± 1.56 and 27.65 ± 0.71 percent, CH bending by 8.22 ± 0.40 and 7.31 ± 0.54 percent, cellulose by 5.85 ± 0.60 and 5.63 ± 1.53 percent, and carbohydrate by 50.49 ± 1.58 and 50.30 ± 1.90 percent, respectively. These experiments were conducted under vineyard conditions. In the rainy season, the results indicate that SecCaSUT007 and chitosan can reduce scab severity up to 5 and 27 percent at the fruiting stage and 24 and 27 percent at the veraison stage and are asymptomatic of downy mildew disease in both stages of plant growth. In the winter, both elicitors can reduce scab severity up to 31 and 46 percent at the fruiting stage and 4 and 22 percent at the veraison stage. While both elicitors reduced downy mildew at 6 and 0 percent at the fruiting stage and 8 and 7 percent at the veraison stage, respectively. Our findings demonstrate therefore that the SecCaSUT007 and chitosan can be used to reduce the severity of fungal disease in grapevine production under vineyard conditions.

School of Crop Production Technology

Academic Year 2014

Student's Signature_____

Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบุคคลและกลุ่มบุคคลต่าง ๆ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและให้ความช่วยเหลือทางด้านวิชาการ และการดำเนินงานวิจัยเป็นอย่างดี อัน ได้แก่

ผศ. ดร.ณัฐธิญา เบื่อนสันเทียะ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้โอกาสการศึกษาต่อในระดับบัณฑิตศึกษา ชี้แนะแนวทาง อบรมสั่งสอน ช่วยเหลือเอาใจใส่อย่างดียิ่ง และช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ดร.กาญจนา ธรรมนุ และอาจารย์ ดร.อัญมณี อาวุษานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่คอยดูแลและให้คำแนะนำ ติดตามงานอย่างสม่ำเสมอ

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.รุจ มรกต ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และขอขอบพระคุณอาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชทุกท่าน ที่ให้ความเมตตาและคอยอบรมสั่งสอนประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้

ขอขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ สถาบันวิจัยและพัฒนาบัณฑิตมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้การสนับสนุนทุนการศึกษาบางส่วน

ขอขอบพระคุณ คุณ สมบัติ วิเชียรณรัตน์ เจ้าของไร่องุ่นลายเถาว์ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ที่ให้ความอนุเคราะห์กิ่งพันธุ์องุ่นตลอดระยะเวลาการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ คุณกิตติมา กฤษณสุวรรณ และเจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไป ที่ให้ความช่วยเหลือด้านการประสานงาน และเตรียมเอกสารต่าง ๆ ขอขอบพระคุณ คุณเอกวัฒน์ ธาราพฤษพงศ์ คุณอรทัย นาชิน เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกีฏวิทยาและโรคพืช คุณชนิษฐา ภูโบริณ เจ้าหน้าที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และคอยอำนวยความสะดวกในทุก ๆ ด้าน

ขอบคุณ คุณมธุกร สมพงษ์ และขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ ผู้ร่วมเรียนในระดับบัณฑิตศึกษา ที่คอยให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจตลอดการทำวิทยานิพนธ์

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การเลี้ยงดู อบรมสั่งสอนและส่งเสริมการศึกษาเป็นอย่างดี อีกทั้งให้ความช่วยเหลือ เป็นกำลังใจที่ทำให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ธัญมน พิฆทอง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ก
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ฐ
คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ	ค
บทที่	

1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	2
1.3 สมมติฐานการวิจัย.....	2
1.4 ขอบเขตการวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3

2 ทัศนัวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญขององุ่นในประเทศไทย	4
2.2 โรคที่สำคัญของการผลิตองุ่น	5
2.2.1 โรคราน้ำค้าง (Downy mildew).....	5
2.2.1.1 ความสำคัญและประวัติการระบาด	5
2.2.1.2 ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา <i>P. viticola</i> สาเหตุโรคราน้ำค้างองุ่น.....	7
2.2.1.3 วงจรการเกิดโรค.....	8
2.2.2 โรคสแคบ (Scab)	9
2.2.2.1 ความสำคัญและประวัติการระบาด	9
2.2.2.2 ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา <i>S. ampelinum</i> de Bary สาเหตุโรคสแคบขององุ่น.....	10

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.2.2.3	วงจรการเกิดโรค.....	11
2.2.3	โรคแอนแทรกโนส (Anthracnose)	12
2.2.3.1	ความสำคัญและประวัติการระบาด	12
2.2.3.2	ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> สาเหตุโรคแอนแทรกโนสอ่อน	13
2.2.3.3	วงจรการเกิดโรค.....	14
2.2.4	โรคราสนิม (Rust).....	15
2.2.4.1	ความสำคัญและประวัติการระบาด	15
2.2.4.2	ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา <i>P. ampelopsidis</i> สาเหตุโรคราสนิมอ่อน	16
2.2.4.3	วงจรการเกิดโรค.....	16
2.2.5	การควบคุมโรคอ่อนที่เกิดจากเชื้อรา	17
2.2.5.1	การควบคุมโรคโดยวิธีเขตกรรม (cultural practices)	17
2.2.5.2	การควบคุมโรคโดยใช้สารเคมี (chemical control)	18
2.2.5.3	การควบคุมโรคโดยชีววิธี (biological control).....	18
2.2.5.4	การควบคุมโรคโดยวิธีชักนำให้เกิดความต้านทาน (induced resistance)	19
2.3	การชักนำความต้านทานพืช (Induced resistance)	19
2.3.1	Induced systemic resistance: ISR	19
2.3.2	Systemic acquired resistance : SAR	21
2.3.3	การชักนำความต้านทานโรคในอ่อน	25
2.4	สิ่งกระตุ้นที่มีรายงานความสามารถ ชักนำให้เกิดความต้านทาน (elicitors)	26
2.4.1	เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโต (plant growth promoting rhizobacteria : PGPR).....	26
2.4.2	สารทุติยภูมิ (<i>Secondary metabolites</i>).....	27
2.4.3	ไคโตซาน (chitosan).....	29

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5	กลไกการป้องกันการรุกรานจากเชื้อก่อโรค (plant defense mechanisms).....	30
2.5.1	กลไกทางโครงสร้างของพืช (structural defenses)	31
2.5.1.1	โครงสร้างของพืชก่อนเชื้อเข้าทำลาย (pre-existing structural defenses).....	31
2.5.1.2	โครงสร้างที่พืชสร้างขึ้นหลังถูกรุกราน (induced structural defenses)	31
2.5.2	กลไกทางชีวเคมี (biochemical defenses)	31
2.5.2.1	สารเคมีที่พืชผลิตขึ้นก่อนการถูกเข้าทำลาย (pre-existing biochemical defense).....	31
2.5.2.2	สารชีวเคมีที่พืชสร้างขึ้นหลังจากการถูกเข้าทำลาย (induced biochemical defense)	32
2.6	เทคนิคในการศึกษาการกลไกการป้องกันตนเองและองค์ประกอบ ของเซลล์พืช	32
2.6.1	การศึกษาการกลไกการป้องกันตนเองของพืชด้วยวิธีทางชีวเคมีพื้นฐาน ...	32
2.6.2	การศึกษาการกลไกการป้องกันตนเองของพืชด้วยวิธีทางชีวเคมีด้วย เทคนิค infrared (IR) spectroscopy.....	33
3	วิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1	การผลิตสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ CaSUT007	38
3.1.1	การทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์	38
3.1.2	การทดสอบประสิทธิภาพสิ่งกระตุ้น (elicitors) ในการควบคุม โรคสแคบและราน้ำค้างในสภาพโรงเรือนทดลอง.....	39
3.1.2.1	การเตรียมสารแขวนลอย สำหรับเชื้อรา <i>P. viticola</i> สาเหตุโรคราน้ำค้าง.....	39
3.1.2.2	การเตรียมสารแขวนลอย สำหรับเชื้อรา <i>S. ampelinum</i> สาเหตุโรคสแคบ.....	39

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.3	การทดสอบประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้น เพื่อชักนำองุ่นให้ต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้าง และสแคบในสภาพโรงเรือนทดลอง.....	39
3.1.4	ศึกษากลไกการปกป้องตนเองขององุ่น	41
3.1.4.1	ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางองค์ประกอบของเซลล์องุ่นด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy.....	41
3.1.4.2	ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางองค์ประกอบของเซลล์องุ่นด้วยเทคนิค Infrared (IR) Spectrometer	42
3.1.5	การทดสอบประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการชักนำองุ่นให้ต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อราในสภาพแปลงทดลอง.....	42
3.2	การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ	43
4	ผลการทดลอง	
4.1	การทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคราน้ำค้างองุ่นสภาพใบตัดในระดับห้องปฏิบัติการ	44
4.2	การทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และ ไคโตซาน ในการชักนำความต้านทานและการศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นในสภาพเรือนทดลอง ...	46
4.2.1	การทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไคโตซานในการชักนำความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง	46
4.2.2	การทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไคโตซานในการชักนำความต้านทานต่อโรคสแคบ.....	47
4.2.3	การศึกษาสารชีวเคมีที่เปลี่ยนแปลงไปในกลไกปกป้องตนเองขององุ่นด้วย เทคนิค UV-VIS Spectroscopy.....	51
4.2.3.1	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลไกปกป้องตนเองขององุ่นในการชักนำความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง	51
4.2.3.2	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลไกปกป้องตนเองขององุ่นในการชักนำความต้านทานต่อโรคสแคบ	54
4.2.4	การศึกษาสารชีวเคมีที่เปลี่ยนแปลงไปในกลไกปกป้องตนเองขององุ่นด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR).....	58

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2.4.1	การวิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Infrared (IR).....	58
4.3	การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ และอิลิซิเตอร์ชนิด ไคโตซาน ในการชักนำความต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคที่เกิดจากเชื้อรา ในสภาพแปลงทดลอง	64
5	สรุปผลและวิจารณ์การทดลอง	
5.1	ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาร SecCaSUT007 ในการควบคุม โรคราน้ำค้างงุ่นสภาพใบตัด.....	71
5.2	การทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไคโตซานในการ ชักนำความต้านทาน	71
5.3	การศึกษากลไกปกป้องตนเอง	73
5.4	การทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไคโตซานในสภาพ แปลงทดลอง.....	79
5.5	การทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าสาร SecCaSUT007 ที่สกัดจากเชื้อแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ CaSUT007 ความเข้มข้น 1000 ppm และไคโตซาน ความเข้มข้น 1000 ppm.....	80
	รายการอ้างอิง	81
	ภาคผนวก.....	98
	ประวัติผู้เขียน	120

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	ปริมาณและมูลค่าการส่งออกองุ่นและผลิตภัณฑ์ของประเทศไทย ประจำปี 2555-2557..... 5
2.2	ตัวอย่าง PGPR ที่ช่วยในการชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช 27
2.3	แสดงช่วงของการคุกคามแสงอินฟราเรดของสารชีวโมเลกุล 36
3.1	กรรมวิธีการทดลองและความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองในสภาพโรงเรือน 40
4.1	ผลของความเข้มข้นของสาร SecCaSUT007 ต่อการควบคุมเชื้อรา <i>P. viticola</i> สาเหตุโรคน้ำค้ำในสภาพใบตัด ที่เวลา 7 วันหลังการปลูกเชื้อ 45
4.2	ประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไลโคซานในการชักนำให้อองุ่นต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคน้ำค้ำในอองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส หลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 10 วัน 47
4.3	ประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไลโคซานในการชักนำให้อองุ่นต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคสแคบในอองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส หลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 10 วัน 48
4.4	ปริมาณสาร salicylic acid ในใบอองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา <i>P. viticola</i> 52
4.5	ปริมาณสาร phenolic compound ในใบอองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา <i>P. viticola</i> 53
4.6	ปริมาณสาร lignin ในใบอองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา <i>P. viticola</i> 54
4.7	ปริมาณสาร salicylic acid ในใบอองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา <i>S. ampelinum</i> 55
4.8	ปริมาณสาร phenolic compound ในใบอองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา <i>S. ampelinum</i> 56
4.9	ปริมาณสาร lignin ในใบอองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา <i>S. ampelinum</i> 57
4.10	ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราในสภาพแปลงทดลองช่วงฤดูฝน ระยะติดแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน 67

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.11	ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราในสภาพแปลงทดลองช่วงฤดูฝน ระยะสุกแก่.....68
4.12	ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราในสภาพแปลงทดลองช่วงฤดูหนาว ระยะติดแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน69
4.13	ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราในสภาพแปลงทดลองช่วงฤดูหนาว ระยะสุกแก่.....70
ตารางภาคผนวกที่	
1	สภาพภูมิอากาศประจำเดือน พฤษภาคม 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา..... 112
2	สภาพภูมิอากาศประจำเดือน มิถุนายน 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา 113
3	สภาพภูมิอากาศประจำเดือน กรกฎาคม 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา 114
4	สภาพภูมิอากาศประจำเดือน สิงหาคม 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา..... 115
6	สภาพภูมิอากาศประจำเดือน ตุลาคม 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา..... 116
7	สภาพภูมิอากาศประจำเดือน พฤศจิกายน 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา..... 117
8	สภาพภูมิอากาศประจำเดือน ธันวาคม 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา..... 118
9	สภาพภูมิอากาศประจำเดือน มกราคม 2557 อ.เมือง จ.นครราชสีมา..... 119

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	ลักษณะอาการของโรคราน้ำค้าง สาเหตุจากเชื้อรา <i>P. viticola</i>7
2.2	ลักษณะสปอร์ของเชื้อ <i>P. viticola</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X8
2.3	วงจรการเกิดโรคราน้ำค้างขององุ่น ที่เกิดจากเชื้อรา <i>P. viticola</i>9
2.4	ลักษณะอาการของสแคบ สาเหตุจากเชื้อรา <i>S. ampelinum</i> 10
2.5	ลักษณะสปอร์ของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X 11
2.6	วงจรการเกิดโรคสแคบขององุ่น ที่เกิดจากเชื้อรา <i>S. ampelinum</i> 12
2.7	ลักษณะอาการของโรคแอนแทรกโนส สาเหตุจากเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> 13
2.8	ลักษณะสปอร์ของเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X 14
2.9	วงจรการเกิดโรคแอนแทรกโนส ขององุ่น ที่เกิดจากเชื้อรา <i>C. gloeosporioides</i> 14
2.10	ลักษณะอาการของโรคสาสนิมบนใบองุ่น สาเหตุจากเชื้อรา <i>P. ampelopsidis</i> 15
2.11	แสดงลักษณะสปอร์ของเชื้อราสนิมองุ่น 16
2.12	วงจรการเกิดโรคราสนิมองุ่น ที่เกิดจากเชื้อรา <i>P. ampelopsidis</i> 17
2.13	กระบวนการเกิดกลไกการปกป้องตนเองของพืช (Induced Systemic Resistance : ISR) 20
2.14	วิธีสังเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในพืช 22
2.15	Pathway of Systemic acquired resistance (SAR) 24
2.16	กระบวนการเกิด Systemic acquired resistance (SAR) 24
2.17	รูปแบบการส่งสัญญาณของ SA, JA และ ET ในกระบวนการชักนำ ความต้านทานพืชต่อการเข้าทำลายต่อเชื้อสาเหตุโรคชนิดต่าง ๆ 25
2.18	โครงสร้างทั่วไปของ surfactin, iturin และ fengycin 29
2.19	ขั้นตอนการเปลี่ยนสาร Chorismate เป็น Tryptophan ของเชื้อจุลินทรีย์ 29
2.20	แสดงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากไคติน เป็น ไคโตซาน 30
2.21	การสันแบบพื้นฐานของพันธะเคมี 34
2.22	แสดงลักษณะสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงอินฟราเรดใน ช่วงกลางอินฟราเรดของสารชีวโมเลกุล 35

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.1	ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการลดความรุนแรงของโรคน้ำค้างที่เกิดจากเชื้อรา <i>P. viticola</i> บนองุ่นสายพันธุ์มาร์ซูชีสเลส ที่เวลา 10 วันหลังการปลูกเชื้อ..... 49
4.2	ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการลดความรุนแรงของโรคสแคบที่เกิดจากเชื้อรา <i>S. ampelinum</i> บนองุ่นสายพันธุ์มาร์ซูชีสเลส ที่เวลา 10 วันหลังการปลูกเชื้อ 50
4.3	Spectra แสดงช่วงของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600-4000 นาโนเมตรของสารชีวเคมีกลุ่มต่าง ๆ 58
4.4	กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ lipid ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มาร์ซูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ 59
4.5	กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ C=O ester ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มาร์ซูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ..... 60
4.6	กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ amide protein ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มาร์ซูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ 61
4.7	กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ CH bending ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มาร์ซูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ 62
4.8	กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ cellulose, hemicellulose ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มาร์ซูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ..... 63
4.9	กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ carbohydrate ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มาร์ซูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ 64
5.1	กลไกการชักนำความต้านทาน (induced resistance) ภายในเซลล์ใบองุ่นหลังการถูกชักนำให้เกิดความต้านทานด้วย SecCaSUT007 และไคโตซาน..... 77
5.2	กลไกการเกิดราน้ำค้าง และสแคบ (diseased) ภายในเซลล์ใบองุ่นเมื่อถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อราสาเหตุโรค..... 78

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพภาคผนวกที่	หน้า
1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตรกับปริมาณ salicylic acid.....	101
2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตรกับปริมาณ gallic acid	101
3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตรกับปริมาณ tannic acid	102
4 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ lipid ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลสที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ	102
5 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ C=O ester ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่น พันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ	103
6 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ amide protein ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์	103
7 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ CH bending ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ	104
8 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ cellulose, hemicellulose ที่เปลี่ยนแปลงไปใน ใบองุ่น พันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุ โรคสแคบ	104
9 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ carbohydrate ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ	105
10 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ lipid ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส ที่ เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	105
11 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ C=O ester ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	106
12 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ amide protein ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	106
13 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ CH bending ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	107
14 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ cellulose, hemicellulose ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่น พันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ	107

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพภาคผนวกที่	หน้า
15 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ carbohydrate ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	108
16 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ lipid ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	108
17 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ C=O ester ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	109
18 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ amide protein ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	109
19 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ amide protein ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	110
20 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ cellulose, hemicellulose ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่น พันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	110
21 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ carbohydrate ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ.....	111

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ABA	=	abscisic acid
CAT	=	catalase
DAMPs	=	damage-associated molecular pattern
ELISA	=	enzyme linked immunosorbent assay
ET	=	ethylene
FT-IR	=	fourier transform infrared spectroscopy
HR	=	hypersensitive response
IAA	=	indole-3-acetic acid
IR	=	infrared spectroscopy
ISR	=	induced systemic resistance
JA	=	jasmonic acid
MAMPs	=	microbe-associated molecular patterns
NADPH	=	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase
NGB	=	nutrient glucose broth
PAL	=	phenylalanine ammonia lyase
PAMPs	=	pathogen-associated molecular patterns
PDA	=	potato dextrose agar
PGPR	=	plant growth promoting rhizobacteria
POD	=	superoxide Dismutase
POX	=	peroxidase
PPO	=	polyphenol oxidase
PR protein	=	pathogenesis-related protein
ROS	=	reactive oxygen species
SAR	=	systemic acquired resistance
SA	=	salicylic acid
SecCaSUT007	=	secondary metabolism of <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ CaSUT007
THT	=	tyramine N-transferase hydroxycinnamoyl

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

องุ่น (*Vitis vinifera* Linn.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่สำคัญของโลก มีผู้นิยมบริโภคเป็นจำนวนมาก มีคุณค่าทางโภชนาการ และมีราคาสูง สามารถรับประทานผลสด และนำไปแปรรูปได้หลากหลาย เช่น ลูกเกด แยม น้ำองุ่น และไวน์ เป็นต้น (นันทกร บุญเกิด, 2546; อธิษญา ประคองคำ, 2555) นอกจากนี้เปลือก และ เมล็ดองุ่น ยังมีสารโพรแอนโทไซยานิน ซึ่งมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระสูง จึงถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตยาสำหรับรักษาโรคและผลิตเครื่องสำอางมากขึ้น (สุรทิน ใจดี, 2553) ทำให้องุ่นเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ การผลิตองุ่นเพื่อการค้าในประเทศไทย ระยะเวลาเริ่มปลูกทางภาคตะวันตก ได้แก่ อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี อำเภอสามพราน อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม และอำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร (อภิชาติ ศรีสอาด, 2543) ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกองุ่นประมาณ 28,742 ไร่ กระจายอยู่เกือบทั่วทุกภาค (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2548) องุ่นที่ปลูกส่วนใหญ่เป็นองุ่นรับประทานผลสด รองลงมาเป็นองุ่นทำไวน์ โดยการส่งออกผลิตภัณฑ์จากองุ่นในปี 2557 มีมูลค่ากว่า 89 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) แต่เนื่องจากประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้น มีฝนตกชุกตลอดปี ทำให้เกษตรกรผู้ปลูกองุ่นประสบปัญหาเรื่องโรคและแมลงเข้าทำลายเป็นจำนวนมาก ทำให้พื้นที่ปลูกดังกล่าวมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากการผลิตองุ่นในทุกภูมิภาคพบปัญหาการเข้าทำลายของโรคองุ่นอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อรา ซึ่งโรคพืชที่มีความสำคัญในระบบการผลิตองุ่น ได้แก่ โรคราน้ำค้าง โรคสแคบ โรคแอนแทรคโนส และโรคราสนิม ซึ่งโรคเหล่านี้สามารถทำความเสียหายให้กับองุ่นในทุกระยะการเจริญเติบโต ส่งผลให้ผลผลิตมีคุณภาพต่ำ และเพิ่มต้นทุนในการผลิตขึ้นเนื่องจากค่าใช้จ่ายในการควบคุมโรค โดยทั่วไปเกษตรกรนิยมใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด ทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายจำนวนมากในการซื้อสารเคมี และค่าแรงงานฉีดพ่น นอกจากนี้ยังส่งผลให้เกิดการสะสมและตกค้างของสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค อย่างไรก็ตามปัจจุบันการป้องกันกำจัดโรคสามารถใช้วิธีอื่นที่ร่วมกับหรือทดแทนการใช้สารเคมี เช่น การเกษตรกรรม (cultural practices) การควบคุมโดยชีววิธี (biological control) และวิธีผสมผสาน นอกจากนี้การชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (induced resistance : IR) เป็นวิธีการหนึ่งซึ่งช่วยให้พืชสามารถสร้างความต้านทานต่อโรค และช่วยลดการใช้สารเคมีได้อย่างมีประสิทธิภาพ (สุทธฤดีและคณะ, 2554; Buensanteai et al., 2009) ซึ่งการชักนำความต้านทานสามารถทำได้โดยใช้สิ่งกระตุ้น (elicitors) เช่น การใช้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการ

เจริญเติบโต (plant growth promoting rhizobacteria : PGPR) เชื้อราไตรโคเดอร์มา (trichoderma) การใช้สารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ (bio-product elicitors) เช่น สารกรองที่ได้จากการเลี้ยงไตรโคเดอร์มา และสารทุติยภูมิในกลุ่มกลุ่มลิโปเปปไทด์ ที่สกัดจากเชื้อ *Bacillus* เป็นต้น (Intana et al., 2003; Pyoung-II et al., 2010) และ การใช้สารเคมีสังเคราะห์ เช่น ไคโตซาน BTH (อินชญา ประคองคำ, 2555) เพื่อชักนำความต้านทานประเภทกระจายทั่วทั้งต้นของพืช (systemic resistance) ซึ่งการศึกษาการควบคุมโรคโดยชักนำให้พืชเกิดความต้านทานยังมีค่อนข้างน้อยในประเทศไทย ดังนั้นในการศึกษารุ่นนี้ จึงได้ทำการศึกษา การใช้สารทุติยภูมิจากเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซานในการชักนำความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่นสายพันธุ์มารูชีสเลส รวมทั้งศึกษาถึงกลไกการป้องกันตนเองขององุ่นที่เกิดขึ้นหลังจากที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทาน ซึ่งผลจากการใช้วิธีชักนำความต้านทานนี้จะสามารถลดปริมาณการใช้สารเคมีเพิ่มความปลอดภัยให้แก่เกษตรกรผู้ผลิตองุ่น และผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1. ศึกษาประสิทธิภาพของสารทุติยภูมิจากเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน ในการชักนำความต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่น
- 1.2.2. ศึกษากลไกการป้องกันตนเองขององุ่นพันธุ์อ่อนแอ หลังจากถูกกระตุ้นด้วยสารทุติยภูมิจากเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน

1.3 สมมติฐานการวิจัย

- 1.3.1 สารทุติยภูมิจากเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน สามารถชักนำความต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่นได้
- 1.3.2 เมื่อองุ่นถูกชักนำด้วยสารทุติยภูมิ จากเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน จะสามารถสร้างกลไกในการป้องกันตนเอง ด้วยการสร้างสารชีวเคมีก่อนให้เกิดความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราได้

1.4 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ ศึกษาการใช้สารทุติยภูมิที่สกัดจาก เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 (Secondary metabolism of *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007: SecCaSUT007) และไคโตซาน ชักนำความต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่นรับประทานผลสดสายพันธุ์มารูชีสเลส ในระดับ โรงเรือนทดลองโดยใช้เชื้อรา *Plasmopara viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้าง และ เชื้อรา

Sphaceloma ampelinum สาเหตุโรคสแคบ เป็นเชื้อราสาเหตุโรคต้นแบบในการทดลอง นอกจากนี้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ induced resistance 3 ชนิดคือ salicylic acid (SA), phenolic compound และ lignin ด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy และศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางองค์ประกอบของเซลล์ใบองุ่น ด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy จากนั้นทำการยืนยันการทดลองในสภาพแปลงทดลองโดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน กับสารกระตุ้นที่มีรายงานความสามารถในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อรา และสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา ประเมินความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อรา ได้แก่ โรคคราบน้ำค้าง โรคสแคบ โรคแอนแทรคโนส และโรคราสนิม โดยให้ระดับคะแนน 1-5 ซึ่งการทดลองในสภาพแปลงทดลองนี้กระทำต่อเนื่องใน 2 ฤดูกาลตัดแต่ง คือ ฤดูฝน 20 พฤษภาคม ถึง 31 สิงหาคม 2556 และ ฤดูหนาว 6 พฤศจิกายน 2556 ถึง 15 มกราคม 2557 ในพื้นที่แปลงองุ่น ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.5.1 ทราบประสิทธิภาพของสารทุติยภูมิ จากเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน ในการชักนำความต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่น ทราบข้อมูลกลไกในการการป้องกันตนเอง เมื่อองุ่นถูกชักนำด้วยสารทุติยภูมิ จากเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน
- 1.5.2 ทราบข้อมูลกลไกในการการป้องกันตนเอง เมื่อองุ่นถูกชักนำด้วยสารทุติยภูมิ จากเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน

บทที่ 2

ปรัทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญขององุ่นในประเทศไทย

องุ่น (*Vitis vinifera* Linn.) เป็นพืชยืนต้นชนิดเถาเลื้อยอยู่ในวงศ์ Vitaceae (Ampelidaceae) ทั่วโลกมีประมาณ 10,000 สายพันธุ์ (Chadha and Shikhamany, 1999) สกุล *Vitis* มีประมาณ 60-80 ชนิด ซึ่ง มีมากกว่า 7,000 สายพันธุ์ ชนิดที่นิยมปลูกกันมากที่สุดคือ *V. vinifera* (Cuisset et al., 1995; Winkler, 1974) แบ่งได้เป็น 2 สกุลย่อยคือ Euvitis และ Muscadinia (นันทกร บุญเกิด, 2546) องุ่นถือว่าเป็นไม้ผลที่มีอายุเก่าแก่ชนิดหนึ่งของโลก โดยพบว่ามีกรปลูกองุ่นมานานไม่ต่ำกว่า 6,000 ปี ซึ่งถิ่นกำเนิดขององุ่นอยู่บริเวณเอเชียไมเนอร์ระหว่างทะเลดำและทะเลเมดิเตอร์เรเนียน สามารถเจริญเติบโตได้ดี ตั้งแต่เส้นละติจูดที่ 15-45 องศาเหนือ จนถึงเส้นลองจิจูด 15-45 องศาใต้ (Chadha and Shikhamany, 1999) เนื่องจากสภาพภูมิอากาศของพื้นที่ค่อนข้างแห้งแล้งและหนาวเย็น ทำให้การผลิตองุ่นเป็นไปได้อย่างต่อเนื่อง และมีการแพร่ขยาย ไปทั้งทางตะวันออกและตะวันตกไปสู่ประเทศแถบยุโรป อเมริกาเหนือ-ใต้ เช่น อิตาลี ฝรั่งเศส สเปน ตุรกี สหรัฐอเมริกา และชิลี เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันได้แพร่กระจายออกไปยังภูมิภาคเอเชียและ แอฟริกา เช่น จีน ญี่ปุ่น แอฟริกาใต้ (Cuisset et al., 1995) สำหรับประเทศไทยเริ่มมีการปลูกองุ่นในสมัยรัชกาลที่ 7 แต่ไม่แพร่หลาย (นันทกร บุญเกิด, 2546) ต่อมาในปี พ.ศ. 2493 เริ่มมีการปลูกองุ่นอย่างจริงจังโดย หลวงสมานวนกิจ นำพันธุ์จากแคลิฟอร์เนีย เข้ามาทดลองปลูกภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และกรมวิชาการ เกษตร ถัดมาในปี พ.ศ. 2497 ดร.พิศ บุญญาลักษณ์ ได้นำพันธุ์องุ่นในกลุ่ม *V. vinifera* จากยุโรปมาปลูกเพิ่มเติม ซึ่งให้ผลเป็นที่น่าพอใจ (วันณรงค์ เหล่าประดิษฐ์, 2542) และในปี 2506 ปวิณ ปุณณศรี และคณะได้นำองุ่นยุโรปหลายสายพันธุ์เข้ามา เช่น พันธุ์มัสแคทแฮมเบิร์ก คาร์ดินัน ไวท์มะละกา (อินชญา ประคองคำ, 2555) เป็นต้น การผลิตองุ่นเพื่อการค้าในประเทศไทยระยะแรกอยู่ในภาค ตะวันตก ในปัจจุบันพื้นที่ปลูกองุ่นได้ขยายไปเกือบทั่วทุกภาคโดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคตะวันออก ยกเว้นภาคใต้ ที่มีปริมาณน้ำฝนมากเกินไปทำให้ไม่เหมาะที่จะปลูกองุ่น อีกทั้งในปัจจุบันได้มีการนำองุ่นไร้เมล็ดมาปลูกเพื่อเป็นการค้ามากขึ้นด้วย สายพันธุ์ที่นิยมปลูก ได้แก่ เฟลมซิดเลส คริมสันซิดเลส และ มาร์ชซิดเลส เป็นต้น (สุรทิน ใจดี, 2553) เนื่องจากองุ่นเป็น พืชที่ให้ผลตอบแทนค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับไม้ผลชนิดอื่น (อภิชาติ ศรีสอาด, 2543) โดย มูลค่าการส่งออกองุ่นของประเทศในปี 2557 มากกว่า 89 ล้านบาท (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตาม เทียบ กับปี 2555 และปี 2556 พบว่า มูลค่าการส่งออกองุ่นลดลงอย่างชัดเจน (สำนักงานงานเศรษฐกิจ

การเกษตร, 2558) เนื่องจากประสบปัญหาการเข้าทำลายของโรคพืช ที่เกิดจากเชื้อราหลายชนิดอย่างต่อเนื่อง ในทุกช่วงของการผลิตองุ่นและทุกฤดูการตัดแต่ง เกษตรกรจึงจำเป็นต้องใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชปริมาณมากในการควบคุมโรคพืชดังกล่าว ซึ่งต้องเสียค่าใช้จ่ายจำนวนมากในการซื้อสารเคมีกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืช และค่าแรงงานฉีดพ่น จึงทำให้พื้นที่ปลูกลดลง และคุณภาพของผลผลิตต่ำและพบการตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชดังกล่าว ส่งผลให้มูลค่าการส่งออกองุ่นลดลงตามไปด้วย

ตารางที่ 2.1 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกองุ่นและผลิตภัณฑ์ของประเทศไทย ประจำปี 2555-2557

รายการสินค้า	2555		2556		2557	
	ปริมาณ (กิโลกรัม)	มูลค่า (ล้านบาท)	ปริมาณ (กิโลกรัม)	มูลค่า (ล้านบาท)	ปริมาณ (กิโลกรัม)	มูลค่า (ล้านบาท)
องุ่น	3,124,678	105,216,623	3,193,082	96,103,518	3,037,571	89,951,059
องุ่นสด	159,530	7,497,625	251,193	8,153,282	168,143	7,215,568
องุ่นแห้ง	17,570	2,934,828	40,957	8,669,353	24,639	3,445,564
น้ำองุ่น	2,947,578	94,784,170	2,900,932	79,280,883	2,844,789	79,289,927

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร โดยความร่วมมือของ กรมศุลกากร, 2558

2.2 โรคที่สำคัญของการผลิตองุ่น

เนื่องจากประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น มีฝนตกชุก และองุ่นสามารถออกดอกติดผลได้มากกว่า 1 ครั้งต่อปี จึงเป็นสาเหตุทำให้เกิดการระบาดของโรคได้ง่ายและต่อเนื่องตลอดทั้งปี โรคองุ่นที่พบในประเทศไทย ได้แก่ โรคราน้ำค้าง โรคราแป้ง โรคสแคบ โรคแอนแทรคโนส โรคราสนิม โรคกิ่งและใบจุด ปลายกิ่งตาย ยอดอ่อนและผลเน่า เป็นต้น ซึ่งโรคที่พบทำความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมากมีเพียง 4 ชนิด คือ โรคราน้ำค้าง โรคสแคบ โรคแอนแทรคโนส และโรคราสนิม

2.2.1 โรคราน้ำค้าง (Downy mildew)

2.2.1.1 ความสำคัญและประวัติการระบาด

สาเหตุเกิดจาก เชื้อรา *Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis.) Berl. & De Toni in Sacc. เป็นเชื้อราชนิด obligate parasite ของพืชชั้นสูง พบครั้งแรกโดยบังเอิญในประเทศฝรั่งเศส และในปี 1878 ได้แพร่กระจายไปทั่วยุโรปโดยเฉพาะประเทศอิตาลี โรคราน้ำค้างพบแพร่ระบาดรุนแรงในเขตอบอุ่นที่มีความชื้นในอากาศสูง เช่น อาเจนติน่า บราซิล ตะวันออกของอเมริกาเหนือ ตะวันออกของออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ จีน และ ญี่ปุ่น ในขณะที่ในแถบอัฟกานิสถาน แคลิฟอร์เนีย

และชนิด พบการแพร่ระบาดของโรคนี้โดยพบว่าองุ่นในสายพันธุ์ *V. vinifera* มีความอ่อนแอต่อโรคสูง ในขณะที่ *V. aestivalis* และ *V. labrusca* มีความต้านทานต่อโรคปานกลาง ส่วน *V. cordifolia*, *V. cordifolia*, *V. rupestris* และ *V. rotundifolia* มีความต้านทานต่อโรคสูง (Pearson and Goheen, 1998) โรคราน้ำค้างจัดเป็นโรคที่สำคัญที่สุดขององุ่นสามารถทำความเสียหายให้กับองุ่นในทุกๆ การเจริญเติบโตโดยทำให้เซลล์ตาย ใบร่วง ผลผลิตมีคุณภาพต่ำ ในประเทศอิตาลีโรคราน้ำค้างได้ทำความเสียหายอย่างรุนแรงส่งผลกระทบต่อปริมาณของผลผลิตและคุณภาพของไวน์ในพื้นที่ปลูกองุ่น 53,000 เฮกตาร์ ทั้งนี้ปัญหาดังกล่าวก่อให้เกิดต้นทุนในการผลิตสูงขึ้นจากค่าใช้จ่ายในการควบคุมโรคพืชในปีที่มีการแพร่ระบาดของโรคสูง (Kennelly et al., 2005) ในประเทศไทย พบว่าองุ่นทุกสายพันธุ์เป็นโรคราน้ำค้าง โดยความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และการจัดการสภาพแวดล้อมรอบแปลงปลูกโรคนี้สามารถแพร่ระบาดรุนแรงตลอดทั้งปี ลักษณะอาการบนใบระยะแรกเป็นจุดขนาดเล็กสีเขียวซีดทางด้านบนของใบ ต่อมาจะขยายเป็นแผลขนาดใหญ่ ขนาดของแผลไม่แน่นอน ถ้าดูด้านล่างของใบตรงที่เป็นแผลจะพบกลุ่มสปอร์และก้านชูสปอร์สีขาวเห็นได้ชัดเชื้อสามารถเจริญแพร่ระบาดติดต่อไปยังใบอื่น ๆ หรือแปลงอื่น โดยปลิวไปกับลม (นิพนธ์ วิจารณ์, 2542) อาการของโรคจะสังเกตได้ก็ต่อเมื่อเชื้อราเข้าทำลายแล้ว 4-6 วัน อาการที่ชัดเจน มีลักษณะแครกแกรน ยอดสั้น มีกลุ่มสปอร์และก้านชูสปอร์ขึ้นปกคลุมเห็นได้ชัดเจน ยอดอ่อนที่ถูกทำลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแห้งตายในที่สุด อาการที่ช่อดอก จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเป็นหย่อม ๆ ต่อมาจะเห็นชั้นส่วนของเชื้อราสีขาวขึ้นปกคลุม ช่อดอกจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแห้งติดเถาจากโคนช่อ ปลายช่อ หรือกลางช่อ อาการที่ช่อผล เกิดกับผลอ่อนมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาลเปลือกผลเหี่ยวเปลี่ยนเป็นสีเทา น้ำเงินหรือน้ำตาลแก่ ถ้าเป็นมากผลจะเหี่ยวหมดทั้งช่อ อาการที่เถาและมือเกาะ เริ่มจากเกิดแผลสีเหลืองซีดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อแผลมีอายุมากขึ้น การเกิดอาการที่เถาจะทำให้ยอดแครกแกรนเนื่องจากขาดอาหาร (อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และคณะ, 2551)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะอาการของโรคน้ำค้าง สาเหตุจากเชื้อรา *P. viticola* (A) ลักษณะอาการจุดสีเหลืองที่แสดงบนใบและพบกลุ่มสปอร์สีขาวฟูบริเวณใต้ใบ (Westover, 2014) (B) ลักษณะอาการที่แสดงบนช่อดอกพบเส้นใยใสปกคลุมทั่วทั้งช่อดอก ทำให้ช่อดอกแห้ง (C) ลักษณะอาการที่แสดงบนผลพบกลุ่มสปอร์สีขาวบนผล ทำให้ผลฝ่อและแห้งในที่สุด (Taylor, 2015)

2.2.1.2 ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคน้ำค้างองุ่น

เชื้อรา *P. viticola* อยู่ในชั้นของ oomycetes โดยมีข้อมูลการจัดจำแนกทางวิทยาศาสตร์ ดังนี้ (Kennelly et al., 2005)

Scientific classification

Domain : Eukaryota

Kingdom : Protista

Subkingdom : Chromalveolata

Class : Oomycetes

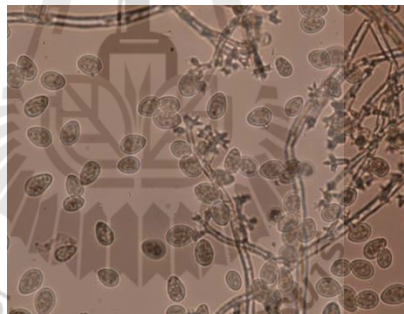
Order : Peronosporales

Family : Peronosporaceae

Genus : *Plasmopara*

Species : *P. viticola*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา พบว่า ลักษณะของเส้นใยไม่มี septum เจริญอยู่ระหว่างเซลล์ของพืชอาศัยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8-10 ไมโครเมตร มีการสร้าง haustoria รูปร่างกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4-10 ไมโครเมตร แทะผ่านเข้าไปในเซลล์ของพืชอาศัย sporangia มีสี่ใส รูปร่างแบบ ellipsoid ขนาด 14×11 ไมโครเมตร ภายใน sporangium ผลิต zoospores ได้ 1-10 อัน มีขนาด $6-8 \times 4-5$ ไมโครเมตร เชื้ออยู่ข้ามฤดูในรูปของ oospore มีขนาด 20-120 ไมโครเมตรเมื่อเข้าฤดูฝน oospore งอกเป็น germ tube และ sporangium ซึ่งให้กำเนิด zoospores sporangia หลุดออกจาก sporangiophores โดยลม เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิเหมาะสมคือประมาณ 22-25 องศาเซลเซียส (นิพนธ์ วิสารทนนท์, 2542) sporangia จะปล่อย zoospores ซึ่งจะเคลื่อนสู่บริเวณปากใบ จากนั้นจึงงอก germ tubes แทะเข้าสู่ปากใบหรือระหว่างเซลล์โดยใช้เวลาน้อยกว่า 90 นาที ระยะเวลาตั้งแต่ช่วงเข้าทำลายจนถึงระยะแรกที่ปรากฏอาการขึ้นอยู่กับอายุของใบ สายพันธุ์ อุณหภูมิและความชื้น โดยทั่วไปใช้เวลาประมาณ 4 วัน ฝนมีบทบาทค่อนข้างสูงในการแพร่ระบาดของโรค ส่วนอุณหภูมิมีบทบาทในการเร่งหรือชะลอการพัฒนาของเชื้อรา อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของเชื้อคือ 25 องศาเซลเซียส (Pearson and Goheen, 1998)

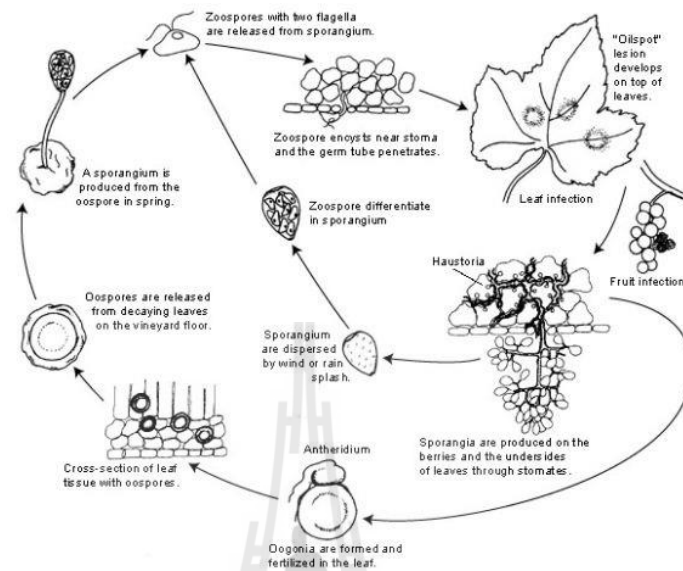


ภาพที่ 2.2 ลักษณะสปอร์ของเชื้อ *P. viticola* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X

2.2.1.3 วงจรการเกิดโรค

สปอร์ของเชื้อรา *P. viticola* สามารถพักตัวในสภาพ oospore ในเศษซากพืชและตกค้างในดินและในสภาพเส้นใยพักตัวที่ตาบกกิ่งอ่อน สามารถแพร่ระบาดได้ดีทางลมและฝน ในสภาพอากาศชื้นฝนตกชุก เงื่อนไขที่จำเป็นสำหรับการงอก oospore คืออุณหภูมิสูงกว่า 10 องศาเซลเซียส (50 องศาฟาเรนไฮต์) ปริมาณน้ำฝนไม่น้อยกว่า 10 มิลลิเมตร ใช้เวลา 45 ชั่วโมงในการงอกของ zoospores encyst และเจาะผ่าน stomates sporangia สำหรับการงอกหลังจากอยู่ข้ามฤดู sporangiophores sporangia ต้องการความชื้นสัมพัทธ์ 95 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงแพร่ระบาดสู่เซลล์ข้างเคียง และระบาดไปพร้อมกับลม และฝน ระยะพักตัว (เวลาจากการติดเชื้อการปรากฏตัวของ

อาการใหม่) แตกต่างกันจาก 5 ถึง 21 วันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ระยะพักตัวจะสั้นที่สุดในเวลา 5 วันที่อุณหภูมิเฉลี่ย 20-25 องศาเซลเซียส (Ash, 2000)



ภาพที่ 2.3 วงจรการเกิดโรคราน้ำค้างขององุ่น ที่เกิดจากเชื้อรา *P. viticola* (Ash, 2000)

2.2.2 โรคน้ำค้าง (Scab)

2.2.2.1 ความสำคัญและประวัติการระบาด

สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Elsinoe ampelina* (ในระยะ teleomorph) แต่ในประเทศไทยพบ *Sphaceloma ampelinum* de Bary ซึ่งเป็นระยะ anamorph (Pearson and Goheen, 1998) มีรายงานพบการระบาดของโรคน้ำค้างครั้งแรกในปี ค.ศ. 1839 ในประเทศฝรั่งเศส (Shear, 1929 ;มธุกร สมพงษ์, 2553; อินชญา ประคองคำ, 2555) เดิมถูกเรียกว่า charbon ซึ่งเป็นคำที่ใช้เรียก smut ของธัญพืช (Jenkins, 1925 อ้างถึงใน กานต์ คำทรัพย์, 2546) ในประเทศไทย เป็นโรคที่สร้างความเสียหายรองจากโรคราน้ำค้าง ตรวจพบครั้งแรก ในปี พ.ศ. 2533 จากผลองุ่นเป็นโรคน้ำค้าง ซึ่งชาวสวนองุ่นรู้จักในชื่อโรค อีบุบ (กรรมจักร์ เพ็ญภักตร์, 2536) มีการแพร่ระบาดรุนแรงในฤดูฝน ลักษณะอาการเมื่อเชื้อเข้าทำลายที่ยอดหรือช่อดอก และช่อผล ลักษณะอาการใบองุ่นเป็นจุดสีน้ำตาลดำ ขอบแผล สีเข้ม เกิดกระจุกกระจายบนใบทำให้ใบอ่อนหงิกงอเนื่องจากเนื้อเยื่อตาย การเจริญที่ผิวใบไม่สม่ำเสมอ ที่ใบแก่มีจุดกลางจุด ทำให้เนื้อเยื่อที่แห้งขาดยุบ เกิดบริเวณกลางจุดเป็นรู จุดดำอาจเชื่อมกันทำให้ลักษณะใบไหม้แห้งตาย เชื้อราเข้าทำลายยอดอ่อนองุ่นทำให้ยอดถูกปกคลุมด้วยจุดสีดำอย่างรุนแรงและเป็นแผลแตกเกิดกระจายทั่วไป (นิพนธ์ วิสารทนนท์, 2542) กรรมจักร์ เพ็ญภักตร์ และคณะ (2545) รายงานว่า การเข้าทำลายของแอนแทรกโนสคล้ายกับสแคบมาก แต่มีข้อแตกต่าง

ต่างกันคือโรค สแคบมีลักษณะแห้ง แข็งทำให้เห็นบริเวณขอบแผลชัดเจน แต่โรคแอนแทรคโนส แผลยุบตัวลักษณะน้ำน้ำ ขอบแผลไม่จำกัดขอบเขตอย่างเด่นชัด อาการเน่าที่ผลเป็นจุดขยายออกกว้างอย่างรวดเร็วทำให้แผลมีลักษณะคล้ายดวงตานก (bird's eye spot) (ขนิษฐา มากรุง, 2548; มธุกร สมพงษ์, 2553)



ภาพที่ 2.4 ลักษณะอาการของสแคบ สาเหตุจากเชื้อรา *S. ampelinum* (A) ลักษณะอาการใบจุดทะเลูด ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม (B) ลักษณะอาการบนก้านใบ และเถาองุ่น (C) ลักษณะอาการที่แสดงบนผลอ่อน (Carisse and Lefebvre, 2011)

2.2.2.2 ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา *S. ampelinum* de Bary สาเหตุโรคสแคบขององุ่น

เชื้อรา *S. ampelinum* เป็นระยะ anamorph ของเชื้อ *E. ampelina* มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (กรรณิกา เพ็ชรนภักดิ์, 2545) ซึ่งจัดอยู่ในสกุล *Sphaceloma* ซึ่งมีข้อมูลการจัดจำแนกทางวิทยาศาสตร์ ดังนี้ (ไพโรจน์ จิวงพานิช, 2525; กานต์ คำทรัพย์, 2546; Alexopoulos, 1962; Sutton, 1973)

Scientific classification

Division : Eumycota

Anamorph, Subdivision : Deuteromycotina

Class : Deuteromycetes

Order : Melanconiales

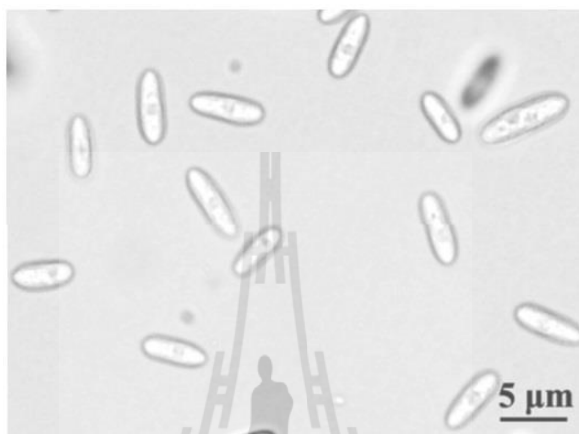
Family : Melanconiaceae

Genus : *Sphaceloma*

Species : depend on host

ลักษณะลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า เชื้อมีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างโคนิเดียขึ้นบริเวณปลายของก้านชูที่เรียกว่า conidiophores และถ้ามีสภาพแวดล้อมเหมาะสม เชื้อจะ

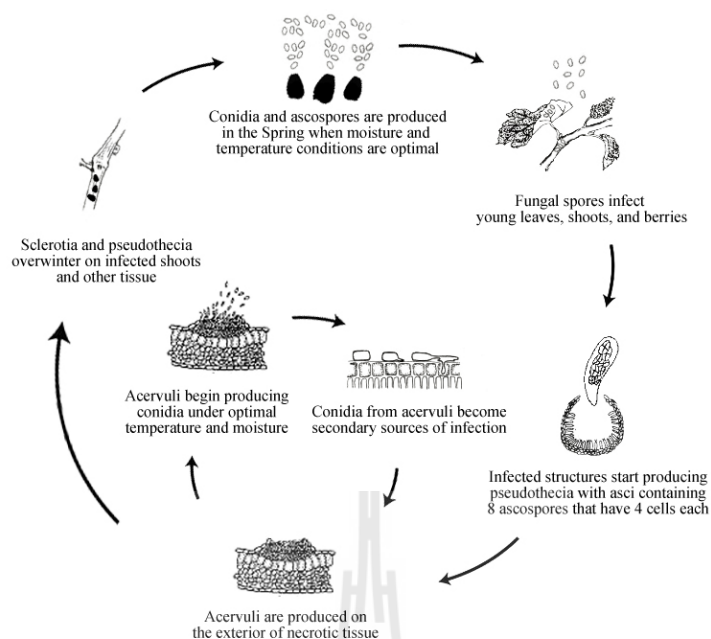
สามารถสร้างโคนิเดียได้อย่างรวดเร็ว (ประสาทพร สะมิตะมาน, 2534; ขนิษฐา มากรุง, 2548; มธุกร สมพงษ์, 2553) โดยลักษณะของโคนิเดีย มีลักษณะใส ทรงกระบอก หัวท้ายมน เมื่อแก่จะเห็นวงกลมใส ด้านหัวและท้ายเซลล์ ผนังเซลล์ด้านนอกมีลักษณะคล้ายวุ้นใสและเหนียวหุ้ม (mucilaginous walls) โดยมีความหนาประมาณ $3-6 \times 2-8$ ไมโครเมตร และสปอร์มีขนาด $6.37-8.75 \times 2.61-4.77$ ไมโครเมตร (Pearson and Goheen, 1988)



ภาพที่ 2.5 ลักษณะสปอร์ของเชื้อ *S. ampelinum* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X (อ้อยทิพย์ พูลสวัสดิ์, 2553)

2.2.2.3 วงจรการเกิดโรค

ในฤดูฝนเชื้อ *S. ampelinum* สามารถอยู่ข้ามฤดูและแพร่ระบาดในฤดูหนาวได้โดยการสร้างโคนิเดียจำนวนมากขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง หรือมากกว่า ที่อุณหภูมิสูงกว่า 2 องศาเซลเซียส และแพร่กระจายไปตามลม และน้ำฝนหรือน้ำค้าง ไปสู่บริเวณที่มีสีเขียวและอบน้ำ เมื่อมีอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 24-26 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนไม่น้อยกว่า 2 มิลลิเมตร อย่างน้อย 12 ชั่วโมง โคนิเดียจะงอก ระยะเวลาในการงอกแตกต่างกันตามอุณหภูมิคืออาจใช้เวลาในการงอก 13 วันที่อุณหภูมิสูงกว่า 2 องศาเซลเซียส หรือ 4 วันที่ อุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส นอกจากนี้หากเกิดสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเช่น เกิดฝนตกหนักในฤดูร้อน จะทำให้การระบาดของโรครุนแรงมากขึ้น (Brook, 1973; Mirică and Mirică , 1981; Pearson and Goheen, 1988)

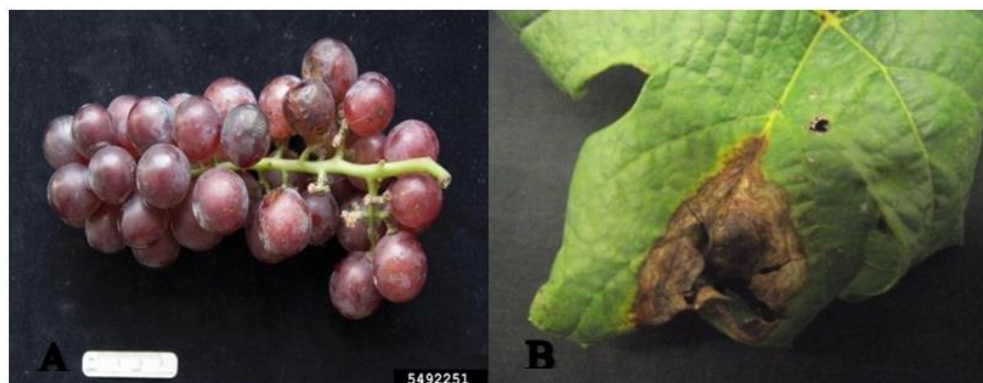


ภาพที่ 2.6 วงจรการเกิดโรคสแคบขององุ่น ที่เกิดจากเชื้อรา *S. ampelimum* (Shear, 1929)

2.2.3 โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose)

2.2.3.1 ความสำคัญและประวัติการระบาด

โรคแอนแทรคโนสหรือโรคผลสุกเน่า มีสาเหตุจากเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz. & Sacc., ในระยะ teleomorph *Glomerella cingulate* (Stonem) Spaul. & Schrenk (นิพนธ์ วิจารณ์, 2542) มีรายงานการแพร่ระบาด หลายประเทศ ทั้งในประเทศอังกฤษ อเมริกา ไต้หวัน อินเดีย ฮังการี ตาฮิติ เป็นต้น (Duan and Hsieh, 1990; Varga and Fischl, 2007; Smith, 2012; Baroncelli, et al., 2014; Gautam, 2014) ทำความเสียหายให้กับองุ่นในระยะผลสุกระยะเก็บเกี่ยว และหลังเก็บเกี่ยวอย่างมาก สามารถเข้าทำลายองุ่นได้ทุกสายพันธุ์ ลักษณะอาการบนผลระยะเก็บเกี่ยวเกิดจุดเน่าสีน้ำตาลดำขยายตัว เนื้อเยื่อเป็นแอ่งบุ่มตรงกลางและมีกลุ่มโคนิเดียสีส้มปรากฏชัดเจน ระยะหลังเก็บเกี่ยว จะแสดงจุดช้ำสีน้ำตาลแดงขยายตัวลุกลามและสร้างกลุ่ม acervulus สีน้ำตาลแกมแดง เรียงกันเป็นวงกลม มีเมือกสีส้มไหลเยิ้มคลุมบริเวณที่เป็น โรคต่อมผลองุ่นจะแห้งฝ่อมีโคนิเดีย สีส้มแห้งจับที่ผิว (นิพนธ์ วิจารณ์, 2542) อาการบนใบมีอาการไหม้เริ่มจากขอบใบ แผลแห้งสีน้ำตาล มีกลุ่ม acervulus สีน้ำตาลดำ เรียงกันเป็นวงกลมชัดเจนคล้ายอาการใบจุดเชื้อรา *Phomopsis viticola*



ภาพที่ 2.7 ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนส สาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* (A) ลักษณะอาการจุดช้ำสีน้ำตาลแดงบนผลองุ่น (Shen, 2013) (B) ลักษณะอาการใบไหม้บนใบองุ่นขอบแผลมี acervulus เรียงกันเป็นวงกลมชัดเจน

2.2.3.2 ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสองุ่น

เชื้อรา *C. gloeosporioides* อยู่ในชั้นของ sordariomycetes ซึ่ง *C. gloeosporioides* เป็นระยะ anamorph ของเชื้อรา *G. cingulate* โดยมีข้อมูลการจัดจำแนกทางวิทยาศาสตร์ ดังนี้ (Rodriguez and Redman, 2008; Gautam, 2014)

Scientific classification

Kingdom : Fungi

Phylum : Ascomycota

Class : Sordariomycetes

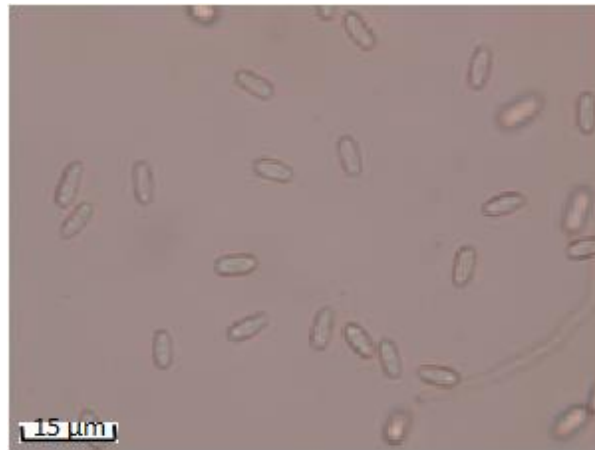
Order : Glomerellales

Family : Glomerellaceae

Genus : *Colletotrichum*

Species : *C. gloeosporioides*

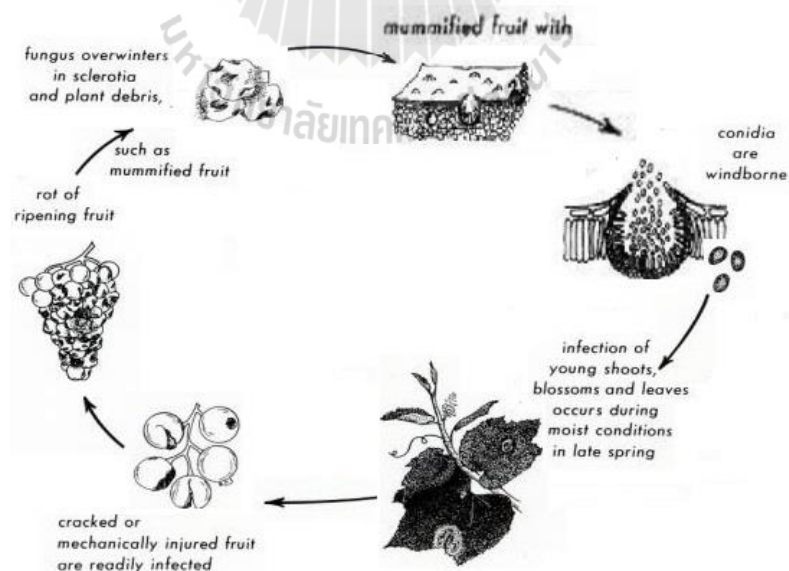
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า โคนิเดียเกิดได้โดยที่ผนังชั้นในของ conidiogenous cell ดันทะลุผนังชั้นนอกออกมาคล้ายลูกโป่ง (enteroblastic) โดยลักษณะของโคนิเดีย มีลักษณะใสทรงกระบอก หัวท้ายมน มีขนาด 5-7×11-15 ไมโครเมตร บริเวณแผลที่มีการติดเชื้อจะพบ acervulus ไม่พบการสร้าง setae (Gautam, 2014)



ภาพที่ 2.8 ลักษณะสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X

2.2.3.3 วงจรการเกิดโรค

เชื้อราสามารถอยู่ข้ามฤดูในสภาพเส้นใยตกค้างบนกิ่ง สปอร์ของเชื้อราแพร่ระบาดทางลมและฝนจากใบลงสู่ผลอ่อนทางก้านผลในสภาพอากาศร้อนชื้น มีการพักตัวแบบ latent infection ที่ผลอ่อน รอจนผลเริ่มสุกจึงเริ่มลูกกลมและสร้างเมือก โคนิเดียมสีส้ม (นิพนธ์ วิจารณ์, 2542) สามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับแสง 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่ pH 6-7 อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส (Gautam, 2014; Hubballia et al., 2011)



ภาพที่ 2.9 วงจรการเกิดโรคแอนแทรกโนส ขององุ่น ที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* (ดัดแปลงจาก Ellis and Nita., 2008)

2.2.4 โรคราสนิม (Rust)

2.2.4.1 ความสำคัญและประวัติการระบาด

โรคราสนิมขององุ่นมีแหล่งกำเนิดในเขตร้อน ทำความเสียหายให้กับองุ่นในเขตร้อนและกึ่งร้อนของเอเชียมากกว่าในเขตอบอุ่น โรคนี้พบแพร่ระบาดเป็นประจำในเอเชีย จากประเทศศรีลังกา อินเดีย จาवा สู่ทางตอนเหนือของ เกาหลีและญี่ปุ่น และอเมริกากลาง(CMI, 1985; Kuro and Kaneko, 1978; พรพรรณ อุสุวรรณ, 2550) สาเหตุจากเชื้อ *Physopella ampelopsidis* หรือ *Phakopsora ampelopsidis* (ไพโรจน์ จ้วงพานิช, 2525 สามารถเข้าทำลายองุ่นได้ทุกสายพันธุ์ เกิดได้ดีในเขตที่มีความชื้นสูง (พรพรรณ อุสุวรรณ, 2550) ในระยะ uredia stage มีลักษณะเป็นจุดเล็ก ๆ สีเหลืองด้านบนใบ จุดเกิดเป็นกลุ่มๆหรือกระจัดกระจายทั่วไป ด้านใต้ใบจะมีกลุ่มเชื้อราสีเหลืองส้มมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.1-0.5 มิลลิเมตรเมื่อแตะดูจะติดมือง่าย โดยส่วนมากมักจะสร้างความเสียหายกับใบแก่ ทำให้ใบเหลืองแห้ง และร่วงหล่น บางครั้งพบบนก้านใบ ยอดอ่อน และช่อดอกทำให้การเจริญในช่วงฤดูถัดไปลดลง (นิพนธ์ วิสารทานนท์, 2542)



ภาพที่ 2.10 ลักษณะอาการของโรคราสนิมบนใบองุ่น สาเหตุจากเชื้อรา

P. ampelopsidis (Tessmann et al., 2004)

2.2.4.2 ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา *P. ampelopsidis* สาเหตุโรคราสนิมองุ่น

ชื่อ *P. ampelopsidis* หรือ *P. ampelopsidis* โดยมีข้อมูลการจัดจำแนกทางวิทยาศาสตร์ ดังนี้

(Cummins and Ramachar, 1958)

Scientific classification

Kingdom : Fungi

Phylum : Basidiomycota

Class : Urediniomycetes

Order : Uredinales

Family : Phakopsoraceae

Genus : *Physopella*

Species : *P. ampelopsidis*



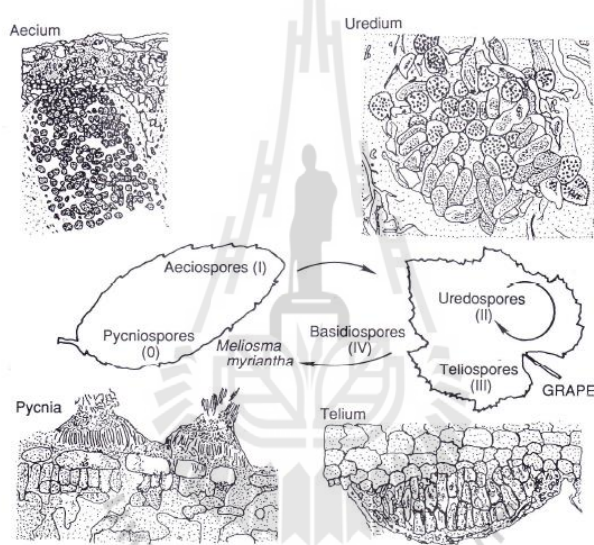
ภาพที่ 2.11 แสดงลักษณะ สปอร์ของเชื้อราสนิมองุ่น (A) telium (t) และ uredium (u), (B) ลักษณะของ urediniospores (Tessmann et al., 2004)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า ภายใน uredia มีการสร้าง uredospore รูปไข่ถึงรี ขนาด $18-29 \times 10-18$ ไมโครเมตร สีเหลืองใส ผนังเซลล์มีลักษณะคล้ายหนามหนา 1.5 ไมโครเมตร เรียงต่อกันเป็นทรงกระบอกขนาด $30-70 \times 6-11$ ไมโครเมตร telia มีลักษณะกลม ขนาด $0.1-0.2$ มิลลิเมตร ภายในมี teliospore รูปวงรี ผนังเรียบขนาด $10-35 \times 9-15$ ไมโครเมตร สีเหลืองใน จนถึงใสไม่มีสี (พรพรรณ อุสุวรรณ, 2550; Pearson and Goheen, 1998)

2.2.4.3 วงจรการเกิดโรค

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอก uredospore คือ 24 องศาเซลเซียส ช่วงอุณหภูมิต่ำสุดคือ 8 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดคือ 32 องศาเซลเซียส หากมีความชื้นสูงจะพบการสร้าง

appressoria ภายใน 6 ชั่วโมงหลังจากปลุกเชื้อ จากนั้นภายในเวลา 12 ชั่วโมง เชื้อเริ่มเข้าสู่พืชทางปากใบ และหลังจากการเข้าทำลาย 5 วัน จะเริ่มแสดงอาการบนพื้นที่ใบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 200-300 ไมโครเมตร จากนั้นจึงสร้าง uredospore ภายใน 7 วัน ระยะเวลาการปรากฏของ uredia ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ โดยใช้ระยะเวลา 5-6 วัน ที่อุณหภูมิ 16-30 องศาเซลเซียส หรือ 15-20 วัน ที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส uredospore จะไม่เข้าทำลายใบที่ยังอ่อน เนื่องจากปากใบยังมีการพัฒนาไม่เต็มที่ และ teliospore สามารถออกได้ที่อุณหภูมิ 10-30 องศาเซลเซียส ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 15-25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้าง basidiospore อยู่ระหว่าง 15-20 องศาเซลเซียส โดยสามารถออกได้ที่อุณหภูมิ 5-30 องศาเซลเซียส แต่ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 20-25 องศาเซลเซียส (Pearson and Goheen, 1998)



ภาพที่ 2.12 วงจรการเกิดโรคราสนิมองุ่น ที่เกิดจากเชื้อรา *P. ampelopsidis*

(Kuro and Kaneko, 1978)

2.2.5 การควบคุมโรครองุ่นที่เกิดจากเชื้อรา

มีรายงานเกี่ยวกับการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่น ดังต่อไปนี้

2.2.5.1 การควบคุมโรคโดยวิธีเขตกรรม (cultural practices)

วัดนา สวรรยาธิบดี (2531) แนะนำให้ทำความสะอาดสวน ทำลายผลองุ่นทิ้งสดและแห้งที่อยู่ใต้ต้น โดยวิธีเผาหรือฝัง เพื่อลดแหล่งแพร่เชื้อ ควรตัดแต่งและจัดกิ่งให้โปร่ง เพื่อให้อากาศภายในทรงพุ่มถ่ายเทได้สะดวก สามารถลดความชื้นสะสมในช่วงที่โรคระบาดได้ ทั้งนี้ในปี 2553 วรรณิการ์ เพ็ญนัฏภัทร์และคณะ พบว่า การหลีกเลี่ยงการปลุกองุ่นในพื้นที่ที่มีประวัติการระบาดของ

มาก่อน และในช่วงที่มีอากาศร้อนชื้น หรือช่วงฤดูฝน สามารถลดการแพร่ระบาดของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ ยังมี การแนะนำ ให้ใช้ปุ๋ย nitrate of soda lime หรือ potash ประมาณ 3 สัปดาห์ก่อนทาบกิ่งหรือตอนกิ่งจะช่วยให้ส่วนขยายพันธุ์ของงู่นสมบูรณ์และแข็งแรง นอกจากนี้ ควรให้น้ำโดยระบบน้ำหยด และหลีกเลี่ยงการให้น้ำระบบพ่นฝอยเหนือทรงพุ่ม (overhead sprinkler irrigation) โดยเฉพาะช่วงที่งู่นอ่อนแอ (Douglas, 2003)

2.2.5.2 การควบคุมโรคโดยใช้สารเคมี (chemical control)

สารเคมีชนิดแรกที่นำมาใช้ในการควบคุมโรคองุ่น คือ บอร์โดมิกซ์เจอร์ ซึ่งค้นพบโดยบังเอิญที่ประเทศฝรั่งเศสในปี ค.ศ. 1882 โดยใช้ปูนสอผสมกับปูนขาว แต่เนื่องจากการพ่นด้วยบอร์โดมิกซ์เจอร์ ทำให้เกิดคราบสีขาวติดบนผลองุ่นเป็นจำนวนมาก ทำให้ผลองุ่นแลดูสกปรกไม่น่ารับประทาน เกษตรกรจึงเลิกใช้ไปในที่สุด (ธรรมศักดิ์ สมมาตย์, 2543) ปี 2003 Douglas ได้รายงานการใช้สารเคมีในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่นในแต่ละระยะเวลาการเจริญเติบโตขององุ่น โดยการใช้ fenarimol ควบคุมราแป้งในระยะเจริญของยอด และใช้ metalaxyl สลับกับ mancozeb และ ziram เพื่อควบคุมราน้ำค้างและโรคเน่าดำในระยะดอกบาน ไปจนถึงเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ยังมีการใช้ captan, copper และ sulfur ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา Botrytis อีกด้วย (Wilcox, 2013) สำหรับประเทศไทยมีการใช้สารเคมีควบคุมโรคองุ่นหลายประเภท ซึ่งแตกต่างกันไปตามผู้ใช้ ทั้งนี้ นิพนธ์ วิสารทานนท์ (2542) ได้แนะนำการใช้สารเคมีควบคุมโรคองุ่นไว้ ดังนี้ ใช้คาร์เบนดาซิม, เมทาเลกซิล + แมนโคเซ็บ 72% คับบลิวพี อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, โฟซีทิล อะลูมิเนียม 80% คับบลิวพี อัตรา 25 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, ไซโมซานิล + แมนโคเซ็บ 7.5% คับบลิวพี 20 กรัมต่อน้ำ 20 ฟ่นก่อนงู่นออกดอก หรือเมื่องู่นแสดงอาการหรือสภาวะเหมาะสมต่อการเกิดโรค

2.2.5.3 การควบคุมโรคโดยชีววิธี (biological control)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณเชื้อก่อโรค หรือการลดกิจกรรมการก่อโรคของเชื้อสาเหตุโรคพืช หรือปรสิตที่อยู่ในระยะเจริญเติบโตหรือระยะพักตัว โดยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่ามาช่วยในการป้องกันกำจัด ร่วมกับการจัดการสิ่งแวดล้อมพืชอาศัยและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. *Pseudomonas* sp. เชื้อรา *Trichoderma* sp. การใช้พืชที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และอาจรวมถึงการใช้สารพันธุกรรม (gene หรือ gene product) จากสิ่งมีชีวิตนั้นด้วย (เกษม ทองสร้อย, 2532; พรทิพย์ วงศ์แก้ว, 2532; จิรเดช แจ่มสว่าง, 2555) โดยในปี 2550 ฌฐธิญา เบือนสันเทียะ และคณะ รายงานว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* สามารถควบคุมโรคใบจุดบนเถาเถียงสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* ได้โดยชักนำให้เถาเถียงเกิดความต้านทาน โสภา จอมอินและคณะ (2552) รายงานว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp สามารถควบคุมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ได้ อย่างมีประสิทธิภาพ ต่อมาในปี 2557 นาดยา มนตรี และคณะ รายงานว่าผลของสารสกัดขยายจาก

ต้นหนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook. f.) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย เชื้อรา *Pythium deliense*, *Phytophthora parasitica*, และ *Fusarium oxysporum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.2.5.4 การควบคุมโรคโดยวิธีชักนำให้เกิดความต้านทาน (induced resistance)

การชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อต้านการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรค สามารถทำได้โดยได้รับการกระตุ้นที่เหมาะสม เช่น การใช้สิ่งกระตุ้นที่มีชีวิต (biotic elicitors) ได้แก่ การปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่มีความรุนแรงน้อย หรือเชื้อต่างสายพันธุ์หรือเชื้อที่ไม่ใช่สาเหตุโรคของพืชชนิดนั้น การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสกุล *Bacillus*, *Pseudomonas* และ *Trichoderma* นอกจากนี้ ยังอาจใช้สิ่งกระตุ้นที่ไม่มีชีวิต (abiotic elicitors) ได้แก่ สารเคมีบางประเภทที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เชื้อ สารสกัดจากจุลินทรีย์ หรือสารอินทรีย์และอนินทรีย์บางชนิด กระตุ้นให้พืชต้านทานโรคพืชเพิ่มขึ้น กลไกที่พืชสามารถต้านทานโรคได้ อาจเนื่องมาจากการกระตุ้นการสร้างและสะสม phytoalexin ซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อโรคต่าง ๆ ขึ้นในตำแหน่งที่เชื้อเข้าทำลาย หรือการสร้างสารชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อและส่งผ่านไปตลอดลำต้นพืช ทำให้สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อได้อย่างทั่วถึง (พรทิพย์ วงศ์แก้ว, 2532)

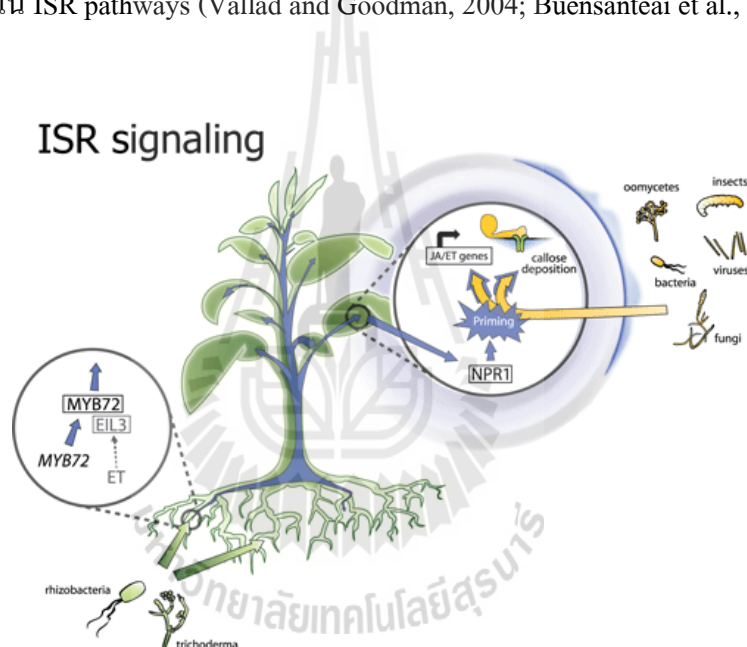
2.3 การชักนำความต้านทานพืช (Induced resistance)

การชักนำความต้านทานพืชสามารถแบ่งได้ ตามสิ่งกระตุ้นและวิธีการชักนำ เช่น

2.3.1 Induced systemic resistance: ISR

การชักนำความต้านทานพืช induced systemic resistance: ISR เป็นกลไกที่พืชสร้างความต้านทานเมื่อถูกกระตุ้น โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ หรือเชื้อไม่ก่อโรค (non-pathogenic bacteria/fungi) ไปกระตุ้นการแสดงออกของ PR gene ที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานโรคในพืช การเกิด ISR ในครั้งแรกจะเกิดแผลตาย (necrotic lesions) เนื่องจากเกิด hypersensitive response (HR) ทำให้การเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคหลายชนิดในครั้งต่อมาลดความรุนแรงลง กระบวนการ ISR เกิดขึ้นเมื่อพืชนำตัวกระตุ้น เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. เชื้อรา *Trichoderma* sp. ลงบนส่วนต่าง ๆ ของพืช ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิซึมของโปรตีน เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ oxidative enzyme และ สาร phytoalexins เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการต่อต้านการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรค อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงนี้จะเกิดขึ้นเพียงช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น (พรทิพย์ วงศ์แก้ว, 2533) ซึ่งสอดคล้องกับกัญชวลี เจตยานนท์ (2550) พบว่าพืชที่กระตุ้นด้วยเชื้อแบคทีเรียผสม 2 ชนิด ได้แก่ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ IN937a และ IN937b (plant growth promoting rhizobacteria :PGPR mixtures IN937a+b) มีกิจกรรมของเอนไซม์ปกป้องตนเองภายในต้นพืช อาทิ total peroxidase และ total superoxide dismutase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญภายหลังการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุ สอดคล้องกับงานของ Pieterse และคณะในปี 2014 ซึ่งได้ศึกษาการใช้ เชื้อจุลินทรีย์

ชนิด Rhizobacteria และ *Trichoderma* ด้วยวิธีคลุกเมล็ดและราดดิน พบว่าสิ่งกระตุ้นสองชนิดดังกล่าวสามารถชักนำให้เกิดความต้านทาน (ISR) ใน *arabidopsis* โดยพบว่า มีความไวในการผลิตสาร jasmonate (JA), ethylene (ET) และการแสดงออกของ genes *NPR1* ซึ่งสารและยีนเหล่านี้เป็น biochemical marker ในกระบวนการเตรียมพร้อม (priming) ของเซลล์พืชที่ทำให้มีการส่งสัญญาณความต้านทานแบบกระจายทั่วทั้งต้น (ISR signaling) เพื่อให้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราแบคทีเรีย ไวรัส และแมลงศัตรูพืช (ภาพที่ 2.13) ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Buensanteai และคณะในปี 2009 ที่ได้ใช้เชื้อจุลินทรีย์ PGPR *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KPS46 ชักนำถั่วเหลืองให้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *glycines* สาเหตุโรคใบจุดนูน ซึ่งกระตุ้นการสร้าง phytohormones jasmonate และ salicylate พร้อมทั้งเหนี่ยวนำให้เกิดการ SAR และการส่งสัญญาณใน ISR pathways (Vallad and Goodman, 2004; Buensanteai et al., 2009)



ภาพที่ 2.13 กระบวนการเกิดกลไกการปกป้องตนเองของพืช (Induced Systemic Resistance: ISR)

(Pieterse et al., 2014)

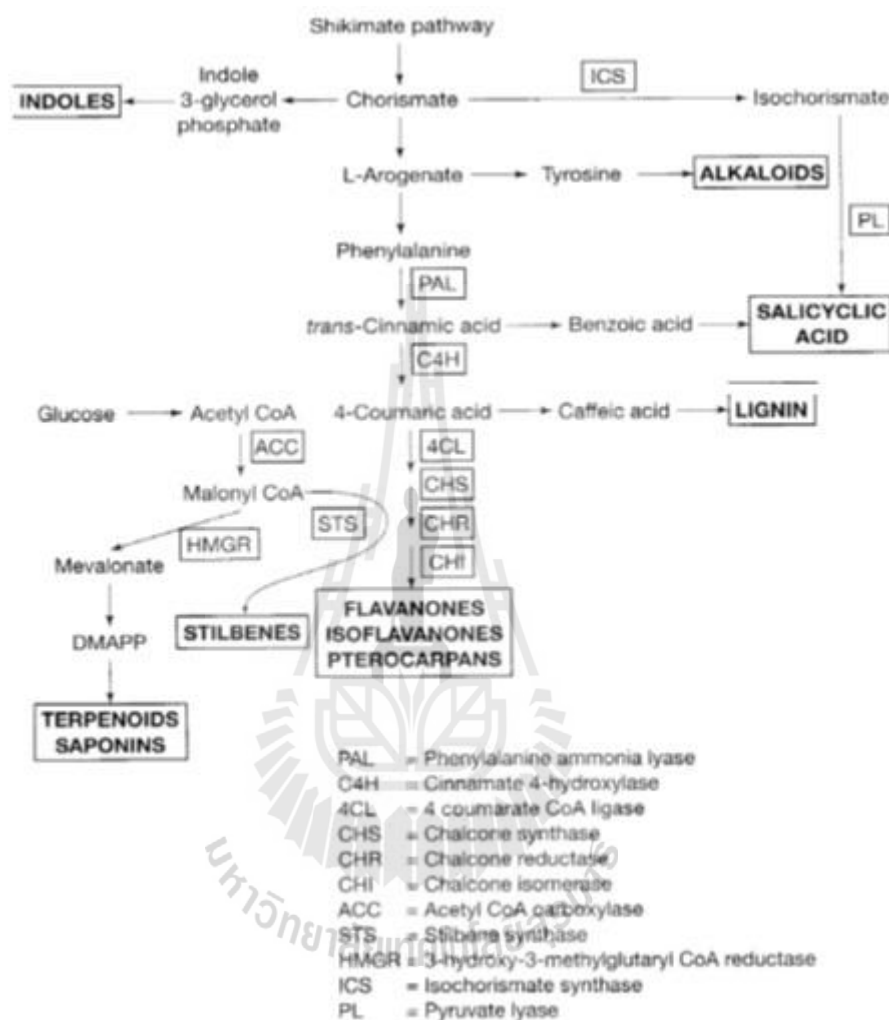
2.3.2 Systemic acquired resistance: SAR

การชักนำความต้านทานพืช systemic acquired resistance : SAR เป็นกลไกที่พืชสร้างขึ้น หลังจากเกิด HR หรืออาการของโรคที่จุดใดจุดหนึ่ง จะมีการส่งสัญญาณที่เป็นชีวเคมีไปยังส่วนต่างๆ เพื่อไปกระตุ้นการแสดงออกของ PR gene ที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานโรคในพืช (Hunt and Ryals, 1996; Neuenschwander et al., 1996) โดยมีสาร SA ทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณในการบวนการนี้ (Ryals et al., 1996) นอกจากนี้เชื้อสาเหตุโรคแล้ว สารกระตุ้น (eliciter) เช่น สารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ วิตามิน ฮอร์โมน และสารเคมีสังเคราะห์สามารถชักนำให้เกิดความต้านทานแบบ SAR ได้เช่นกัน ดังรายงานของ Amborabé และคณะ (2008) ที่กล่าวว่า ไคโตซานสามารถชักนำให้เกิดการต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อราในพืชได้ สารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่เชื้อจุลินทรีย์ ผลิต สามารถนำมาใช้ควบคุมโรคพืชได้ ดังรายงานของ Intana และคณะ (2003) พบว่าสารกรอง (culture filtrate) ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราไตรโคเดอร์มา (*T. hazianum*) ในอาหารเหลว สามารถกระตุ้นให้ต้นแตงกวามีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium irregulare* สาเหตุโรคเน่าระดับดินได้ เป็นต้น

นอกจากนี้ กลไกการต้านทานโรคของพืช สาร phytoalexin และเอนไซม์ปกป้องตนเอง (defense enzyme) เป็นสารประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ พืชอาจมีอยู่ก่อนแล้วในพืชชนิดหนึ่ง แต่อาจถูกเหนี่ยวนำให้สร้างขึ้นภายหลังในพืชอีกชนิดหนึ่งได้ ในบางกรณีสารดังกล่าวอาจสร้างในส่วนอื่นของพืชหรือมีปริมาณน้อยมาก และยังไม่แสดงฤทธิ์จนกว่าจะถูกเหนี่ยวนำโดยเชื้อโรคที่เข้าทำลายพืช (จิตรา กิตติโมรากุล และคณะ, 2557) ประกอบด้วยสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำได้แก่ อนุพันธ์ของ terpene (เช่น sesquiterpene), aliphatic acid, saponin สารประกอบ phenolic และ phenylpropanoid (เช่น isoflavonoid) สารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบ (เช่น alkaloid) และสารประกอบที่มีหมู่ซัลเฟอร์ เป็นต้น สารประกอบเหล่านี้ ส่วนใหญ่สังเคราะห์ขึ้นจากวิถีของ isoprenoid, phenylpropanoid, alkaloid หรือ polyketide (ภาพที่ 2.14)

พืชในวงศ์เดียวกันมักสังเคราะห์ phytoalexin ที่มีโครงสร้างเหมือนกันเพื่อใช้ในการป้องกันเชื้อโรค เช่น สารประกอบ sesquiterpene ซึ่งสังเคราะห์จากพืชในวงศ์ solanaceae ตัวอย่างของ phytoalexin ที่มีบทบาทในการทำลายเชื้อโรคได้แก่ avenacin และ α -tomatine ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของ saponin สารเหล่านี้ ทำลายเชื้อโรค ได้โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติการยอมให้สารผ่านเข้าออก (permeability) ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อโรค เป็นผลให้เกิดการรั่วของสารออกจากเซลล์ เป็นต้น กลไกที่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติไปกระตุ้นให้ต้นพืชสร้างกลไกหรือสร้างสารต่าง ๆ ที่มีผลในการต่อต้านหรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช กลไกดังกล่าวอาจเกิดจากสปอร์หรือเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติโดยตรง หรืออาจเกิดจากผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติ ตัวอย่างเช่น เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ CHAO สามารถกระตุ้นให้มะเขือเทศผลิต

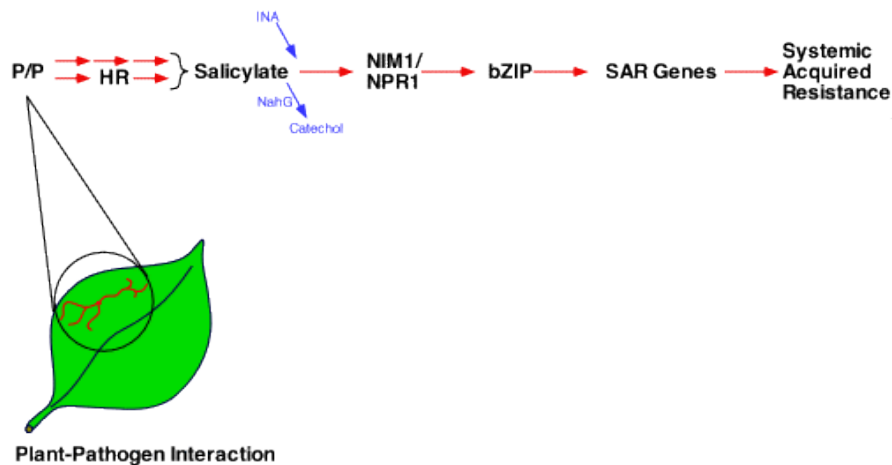
salicylic acid (SA) ซึ่งเป็นสารที่สำคัญต่อกระบวนการชักนำให้เกิดความต้านทานในพืช จนพืชสามารถต้านทานการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica* ทำให้ตัวอ่อนตาย และปริมาณไส้เดือนฝอยลดลงจนไม่ทำให้เกิดโรค (Siddiqui and Shaukat, 2004)



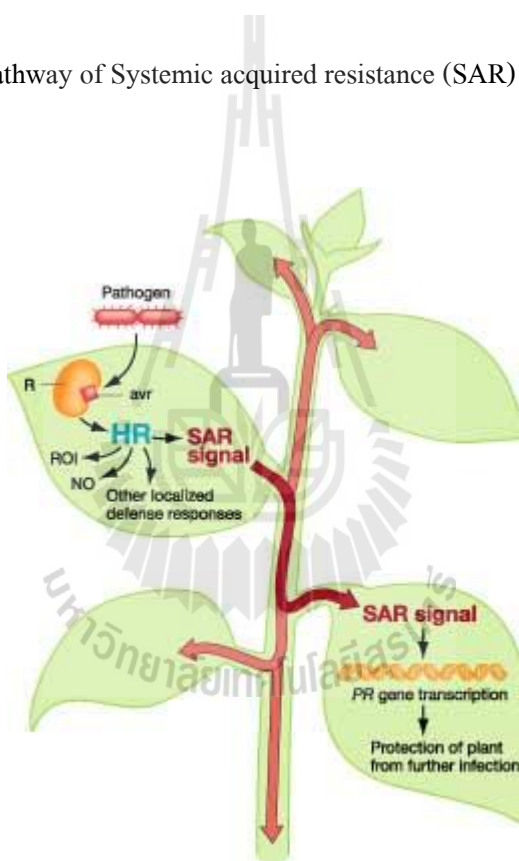
ภาพที่ 2.14 วิธีสังเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในพืช ตัวหนาคือกลุ่มของสาร phytoalexin ส่วนตัวย่อในกรอบสี่เหลี่ยมคือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในวิธีสังเคราะห์ (จิตรา กิตติโมรากุล และคณะ, 2557)

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ที่มีรายงานเกี่ยวกับความสามารถในการชักนำให้พืชต้านทานโรคมามากที่สุด คือ เชื้อรา *Trichoderma spp.* โดยพบว่าสามารถกระตุ้นการผลิตสาร phytoalexin ในพืชหรือผลิตสารเพื่อต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อโรคพืชหลายชนิด เช่น เชื้อรา *R. solani*, *B. cinerea*, *A. solani*, *C. graminicola* และ *Magnaporthe grisea* เชื้อแบคทีเรีย *X. campestris pv. phaseoli* และ

เชื้อไวรัส Green-mottle mosaic virus เป็นต้น (Harman et al., 2004) นอกเหนือจากการใช้สปอร์หรือเซลล์ของจุลินทรีย์ปฏิบัติกับพืชโดยตรงแล้ว ได้มีความพยายามที่จะใช้ประโยชน์จากสารพันธุกรรมหรือ gene ของเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้วิธีการทางเทคนิคโมเลกุลมาช่วยปรับปรุงตัวเชื้อจุลินทรีย์เอง และ พันธุ์พืชให้สามารถต้านทานต่อโรคพืชได้ โดยเฉพาะเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่สามารถผลิต lytic enzyme หลายชนิดประกอบด้วย chitinase, β -1,3-glucanase และ protease เอนไซม์เหล่านี้ สามารถย่อยสลายผนังเซลล์และยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรค (ศุวิตา แสไพศาล และคณะ, 2554) พืชหลายชนิด จากประโยชน์ของเอนไซม์ดังกล่าว จึงได้มีการพัฒนาเทคนิควิธีการต่าง ๆ เพื่อนำไปสู่การตัดต่อยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ไปสู่พืชเพื่อชักนำให้พืชต้านทานโรค หรือนำไปสู่การพัฒนาจุลินทรีย์ปฏิบัติที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิต lytic enzyme เพื่อให้สามารถทำลายหรือยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ดียิ่งขึ้นต่อไป (Markovich and Kononova, 2003) ดังนั้น การสกัดสารทุติยภูมิจากจุลินทรีย์ปฏิบัติเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคพืช จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่ง (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2555) ในปี 2008 Buensanteai และคณะ ได้ศึกษาการผลของการเจริญเติบโตและชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคใบจุดบนถั่วเหลือง โดยใช้ extracellular proteome จาก *B. amyloliquefaciens* KPS46 เป็นตัวกระตุ้น และในปีถัดมา ได้ทำการศึกษาการเตรียมความพร้อมของถั่วเหลือง รวมถึงกลไกที่กระตุ้นให้เกิดความต้านทาน โดยใช้ *B. amyloliquefaciens* KPS46 เป็นตัวกระตุ้น (Buensanteai et al., 2009) หรือการชักนำโดยการใช้ตัวกระตุ้นต่าง ๆ ดังการทดลองของ ยุรฉัตร ยอดโยธี (2554) ที่ทำการใช้ตัวกระตุ้น เช่น SA ปุ๋ย N-P-K (สูตร 25-7-7) และไคโตซาน นิคพ่นใบยางพารา เพื่อกระตุ้นการแสดงออกของยีน PR-1 ซึ่งมีความสำคัญในการต้านทานต่อการทำลายของเชื้อ *Phytophthora palmivora* ในยางพารา



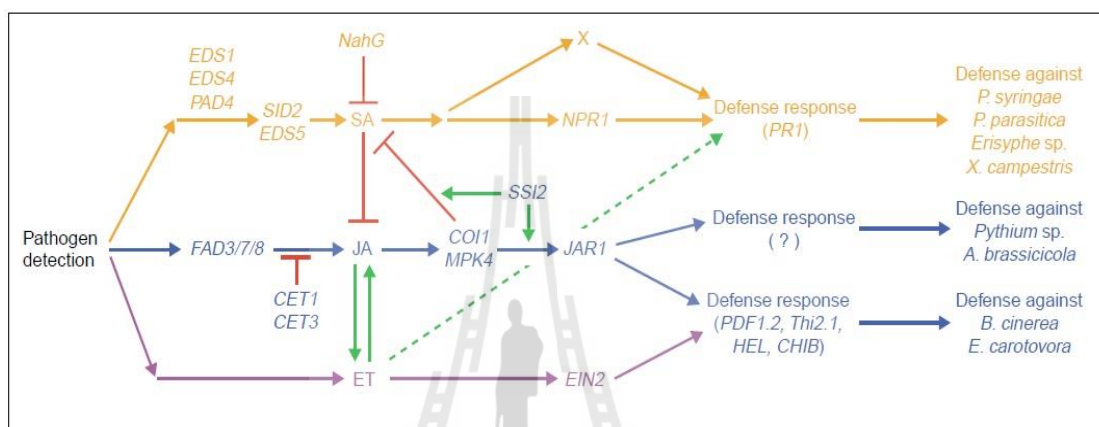
ภาพที่ 2.15 Pathway of Systemic acquired resistance (SAR) (Prentice Hall, 2003)



ภาพ 2.16 กระบวนการเกิด Systemic acquired resistance (SAR) (Prentice Hall,2003)

อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบัน พบว่ากระบวนการชักนำความต้านทานในพืช มีการส่งสัญญาณร่วมกันของฮอร์โมนมากกว่า 1 ชนิด ทั้ง SA, JA, ET, ABA, brassinosteroids และ auxin เป็นต้น (Nakashita et al., 2003; Pozo et al., 2004; Howe, 2004; Lorenzo and Solano, 2005; Mauch-Mani and Mauch, 2005; Grant and Lamb, 2006; Van Loon et al., 2006; Von Dahl and Baldwin, 2007;

Wang et al., 2007; Koornneef and Pieterse, 2008) Kunkel and Brooks (2002) กล่าววว่า ฮอร์โมนพืชแต่ละชนิด มีความสามารถในการชักนำโปรตีนที่แตกต่างกัน เช่น SA มีความสามารถในการชักนำให้พืชสร้าง *NPR1*, JA ชักนำให้พืชสร้าง *JAR1* และ ET ชักนำให้พืชสร้าง *EIN2* (ภาพที่ 2.17) ซึ่งโปรตีนเหล่านี้มีความสำคัญในการชักนำความต้านทานของพืชต่อการเข้าทำลายของ เชื้อสาเหตุโรคต่าง ๆ และสามารถชักนำให้พืชทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้อีกด้วย จึงเรียกรวมกระบวนการเหล่านี้ว่า การชักนำความต้านทานพืช หรือ induced resistance



ภาพที่ 2.17 รูปแบบการส่งสัญญาณของ SA, JA และ ET ในกระบวนการชักนำความต้านทานพืชต่อการเข้าทำลายต่อเชื้อสาเหตุโรคชนิดต่างๆ (Kunkel and Brooks, 2002)

2.3.3 การชักนำความต้านทานโรคในองุ่น

การชักนำให้อองุ่นเกิดความต้านทานต่อโรค เนื่องจากสามารถการใช้สารเคมี ในการป้องกันกำจัดโรคที่สำคัญได้ ซึ่งตัวกระตุ้นให้เกิดการชักนำมีทั้งการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์ ในการชักนำ เช่น มีการใช้ *Pseudomonas* sp. กระตุ้นความต้านทานในองุ่นต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *Botrytis cinerea* (Verhagen et al., 2010) และในปีต่อมา มีรายงานการใช้ จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการชักนำให้เกิด oxidative burst และกระตุ้นการสร้างสาร phytoalexin สามารถต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อ *B. cinerea* ได้เช่นกัน (Verhagen et al., 2011) นอกจากนี้การใช้สารเคมีสังเคราะห์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับนิยมนิยม เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถหาได้ง่าย ทั่วไป เช่น การใช้ Thiamine ในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *P. viticola* ซึ่งวิธีการนี้จะไปชักนำให้เกิด HR หลังจากมีการเข้าทำลายของเชื้อ *P. viticola* (Boubakri et al., 2012) การใช้ β -aminobutyric acid ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *P. viticola* ในองุ่น (Cohen, 2002) และพบว่าการใช้ laminarin สามารถชักนำให้อองุ่นเกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *B. cinerea* และ *P. viticola* ได้

(Aziz et al., 2003) และการใช้สารโคโตซานสามารถกระตุ้นการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคสแคบ ในองุ่นได้ (อินชญา ประคองคำ, 2555)

2.4 สิ่งกระตุ้นที่มีรายงานความสามารถ ชักนำให้เกิดความต้านทาน (elicitors)

การชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรค สามารถทำได้โดยได้รับการกระตุ้น (elicitors) ที่เหมาะสม เช่น การใช้สิ่งกระตุ้นที่มีชีวิต (biotic elicitors) ได้แก่ การปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่มีความรุนแรงน้อย หรือเชื้อต่างสายพันธุ์หรือเชื้อที่ไม่ใช่สาเหตุโรคของพืชชนิดนั้น การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสกุล *Bacillus*, *Pseudomonas* และ *Trichoderma* นอกจากนี้ยังอาจใช้สิ่งกระตุ้นที่ไม่มีชีวิต (abiotic elicitors) ได้แก่ สารเคมีบางประเภทที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เชื้อ สารสกัดจากจุลินทรีย์ หรือสารอินทรีย์ และ อนินทรีย์บางชนิดกระตุ้นให้พืชต้านทานโรคพืช ซึ่งกลไกที่เกิดขึ้นทำให้พืชมีความสามารถในการต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ ทั้งนี้สิ่งกระตุ้นที่มีรายงานว่ามีความสามารถ ชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคได้แก่

2.4.1 เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโต (plant growth promoting rhizobacteria : PGPR)

plant growth promoting rhizobacteria หรือ PGPR เป็นกลุ่มของแบคทีเรียหลากหลาย species และหลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งกลุ่มของ PGPR ส่วนใหญ่จะอยู่ในสกุล *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Gluconacetobacter* และ *Serratia* เป็นต้น โดย PGPR ส่วนใหญ่จะพบอยู่ใกล้ ๆ บริเวณรากพืช แบคทีเรียเหล่านี้ จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ช่วยให้ผลผลิตของพืชสูงขึ้น กระบวนการในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชมีได้ 2 ทาง คือ โดยทางตรง และทางอ้อม ดังนี้กระบวนการในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดยทางตรง ได้แก่ ช่วยย่อยธาตุฟอสฟอรัสในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ทำให้พืชสามารถนำไปใช้ได้มากขึ้น สร้างปุ๋ยไนโตรเจนให้กับพืชผลิตสาร phytohormones เช่น auxin, cytokinin, gibberelin เป็นต้น ช่วยลดความเข้มข้นของ ET ในพืช สามารถผลิตซิเดอโรฟอรัส (siderophores) ช่วยนำธาตุเหล็กไปให้พืชใช้ประโยชน์ได้ง่ายขึ้น และกระบวนการในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชและสร้างภูมิต้านทานโดยทางอ้อม ได้แก่ ช่วยในการควบคุมโรคพืช ทั้งโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคพืชและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่ใช้ในการควบคุมโรคพืชได้ ผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ ผลิตสาร antifungal metabolites สามารถจำกัดปริมาณธาตุเหล็กที่เป็นประโยชน์ของเชื้อโรคพืช ทำให้สามารถป้องกันการแพร่พันธุ์ และการขยายจำนวนของเชื้อโรคพืชได้ โดยการผลิตซิเดอโรฟอรัส (siderophores) (หนึ่ง, 2555) แบคทีเรียเหล่านี้ส่งเสริมให้ราก ลำต้น และยอดพืชเจริญขยายอย่างรวดเร็ว (เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนพืช) ขนาดและ

สีส่วนต่าง ๆ ของพืช ขยายใหญ่และเข้มข้นตามลำดับ (เกี่ยวข้องกับธาตุอาหาร/ปุ๋ย) ตลอดจนฆ่าและยับยั้งเชื้อโรคพืชหลายชนิด (เกี่ยวกับสาร secondary metabolites และการเจริญแข่งขันกับเชื้อโรค) วิธีการใช้เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวสามารถประยุกต์ได้หลายรูปแบบ ได้แก่ ใช้คลุกเมล็ด การคลุกเมล็ดร่วมกับการราดดิน ใช้ผสมในดินหรือวัสดุปลูก และการพ่นด้วย cell suspension รวมทั้งการพ่นด้วยสารเหลวที่กรองเอาเซลล์แบคทีเรียออก (cell free culture filtrate) (สุดฤดี ประเทืองวงศ์ และคณะ, 2554; Buensanteai et al., 2009)

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่าง PGPR ที่ช่วยในการชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช

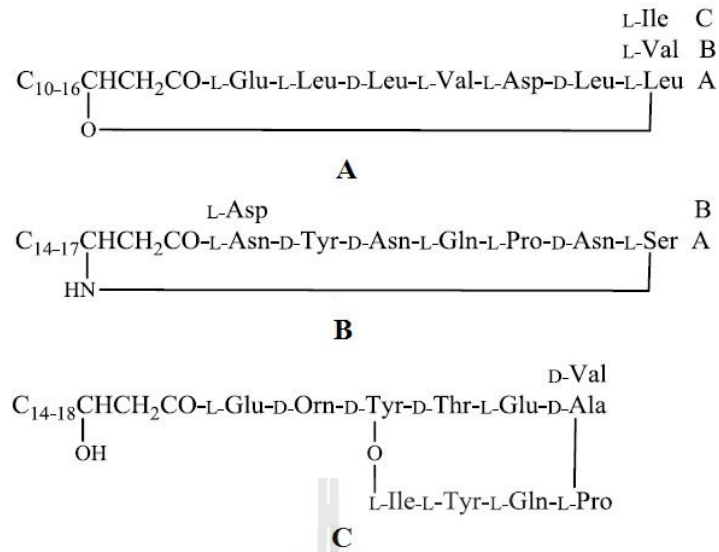
PGPR	เชื้อราสาเหตุโรคพืช	ชนิดพืช
<i>B.subtilis</i> BACT-D	<i>Pythium aphanidermatum</i>	มะเขือเทศ
<i>Burkholderia cepacia</i> PHQM 100	<i>Phythium</i> spp.	ข้าวโพด
<i>Pseudomonas chloroaphis</i> MA342	<i>Ustilago avenae</i>	ข้าวโอ๊ต
<i>P. chloroaphis</i> PCL 1391	<i>Fusarium oxysporum</i> sp. <i>radicis-lycopersici</i>	มะเขือเทศ

(Glick et al.,1999)

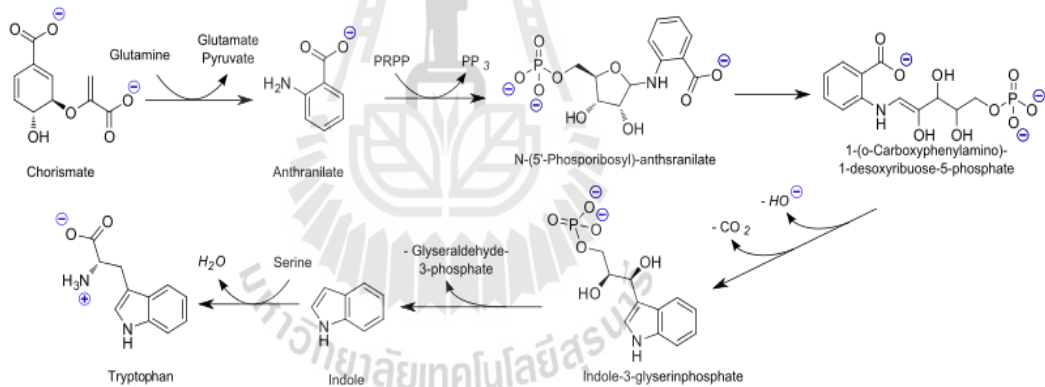
2.4.2 สารทุติยภูมิ (Secondary metabolites)

สารทุติยภูมิ หรือสารกรอง คือ สารที่จุลินทรีย์เริ่มสร้างเมื่อเข้าสู่ระยะ stationary และปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ (พิชญ์นรี สุวรรณสุข โข, 2549) ในรูปของสารประกอบ ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่มของ *Bacillus* sp. จะผลิตสารในกลุ่มลิโปเปปไทด์ โดยมีไขมันจับอยู่กับสายเปปไทด์ เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูง และมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์สารในกลุ่ม cyclic lipopeptides ที่สามารถสังเคราะห์ได้โดยเชื้อ *Bacillus* sp. ได้แก่ surfactin, iturin และ fengycin ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไมโคพลาสมา (Besson et al., 1992; Lang, 2002) ดังการรายงานของ Intana และคณะ (2003) พบว่าสารกรอง (culture filtrate) ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อรา *T. hazianum* ในอาหารเหลว สามารถกระตุ้นให้ต้นแตงกวามีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium irregulare* สาเหตุโรคน่าระดับดินได้ ปี 2010 Pyoung-II และคณะ รายงานว่า สารทุติยภูมิในกลุ่มกลุ่มลิโปเปปไทด์ ได้แก่ iturin A fengycin และ

surfactin จากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ CMB32 สามารถควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ นอกจากนี้ สารลิโปเปปไทด์ จากเชื้อ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ KPS46 สามารถควบคุมการเกิดโรคใบจุดบนถั่วเหลือง สาเหตุจากเชื้อ *X. axonopodis* pv. *glycines* ได้ (Preecha et al., 2010) เช่นเดียวกับ Gong และคณะ (2015) ที่รายงานว่า สาร iturin A จากเชื้อ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ S76-3 จากข้าวสาลี สามารถยับยั้งเชื้อรา *F. graminearum* ได้ นอกจากนี้สารในกลุ่มลิโปเปปไทด์แล้ว สารทุติยภูมิยังประกอบไปด้วยฮอร์โมนต่างๆ เช่น IAA โดยจุลินทรีย์สามารถสังเคราะห์ tryptophan จาก shikimic acid หรือ anthranilate (ภาพที่ 4) ซึ่งเป็นที่ทราบโดยทั่วไปว่า tryptophan เป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการผลิตออกซิน (indole-3-acetic acid : IAA) บทบาทที่สำคัญของ IAA ต่อการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ กระตุ้นการแบ่งเซลล์ เร่งการขยายขนาดเซลล์ ควบคุมการแตกราก ยับยั้งการเจริญของตาข้าง ป้องกันการร่วงของใบ กิ่งและผล ดั่ง ในแบคทีเรียจะเปลี่ยน tryptophan ไปเป็น indoleethanol แล้วพืชจะเปลี่ยนสารนี้เป็น IAA อีกที นอกจากนี้แบคทีเรียที่มีบางชนิดสามารถสร้างฮอร์โมนพืช IAA และกระตุ้นให้พืชมีการเจริญเติบโตได้ดี เช่น สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon fontinalis* (Ag.) Botnet มีผลต่อการดูดซึมแอมโมเนียมในพืช (อินทรา ขูดแก้ว และคณะ, 2551) และสามารถส่งเสริมการเจริญของยอดและราก และควมมีชีวิตของเซลล์ ปลายรากของข้าวโพดและไมยราบยักษ์ได้ (สันติ สาระพล และคณะ, 2553) นอกจากนี้ tryptophan ยังสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย ซึ่งปริมาณที่เพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้สารทุติยภูมิที่ผลิตได้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ การใช้สารทุติยภูมิที่จากเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากความสามารถในการชักนำให้เกิดความต้านทานแล้ว ยังสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชปลูกได้เช่นเดียวกับการใช้ เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์โดยตรง การเก็บรักษาหรือความคงตัวของสารทุติยภูมินี้มีระยะเวลาสั้นกว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์โดยตรง



ภาพที่ 2.18 โครงสร้างทั่วไปของ surfactin (A); iturin (B) และ fengycin (C) (Mondol et al., 2013)

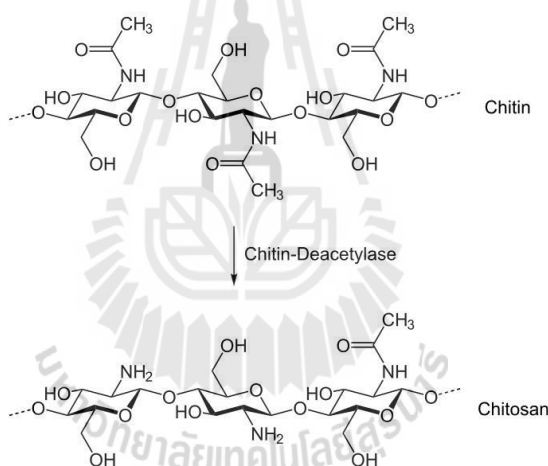


ภาพที่ 2.19 ขั้นตอนการเปลี่ยนสาร chorismate เป็น tryptophan ของเชื้อจุลินทรีย์ (Shakiestone , 2011)

2.4.3. ไคโตซาน (chitosan)

ไคโตซาน เป็นโพลิเมอร์ธรรมชาติ สายยาวที่ประกอบ ขึ้นจากน้ำตาลหน่วยย่อย คือ N-acetyl-D-glucosamine มาเรียงต่อกันเป็นสายลักษณะ เป็นของแข็งรูป ละลายได้ในกรดอินทรีย์ (อัญชญา ประคองคำ, 2555)โดยพบเป็นองค์ประกอบของเปลือกแข็งที่หุ้มเซลล์ของรา ยีสต์ และ จุลินทรีย์หลายชนิด เนื่องจากไคตินมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ไนโตรเจน จะถูกปลดปล่อยออก

จากโมเลกุลอย่างซ้ำ ๆ รวมทั้งช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศและดิน จึงใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช และกระตุ้นการนำแร่ธาตุไปใช้ (ประภัสสร สุรพัฒน์วารณ, 2554) Zhang และคณะ (2002) รายงานว่า chitin ที่ได้จากผนังเซลล์ของเชื้อรา สามารถกระตุ้นให้พืชหลายสปีชีส์เกิดความต้านทานได้แก่ ข้าวบาร์เลย์ ข้าว ถั่วเหลือง มะเขือเทศ และข้าวสาลี ในปี 2010 Iriti และคณะ รายงานว่า การดูดซึมไคโตซาน ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคติน เข้าทางปากใบ สามารถกระตุ้นระบบป้องกันตนเองในพืช โดยทำให้เกิดการสะสมของแคลโลสเพิ่มขึ้น Sathiyabama และคณะ (1998) พบว่า เมื่อพ่นไคโตซานที่ความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถกระตุ้นการสร้าง SA และเพิ่มกิจกรรมของ chitinase และ β -1,3-glucanase ทำให้ลดการเกิดโรคราสนิมในถั่วลิสงได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ อัญชญา ประคองคำ ในปี 2555 ที่รายงานว่า สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1,000 ppm สามารถเพิ่มกิจกรรมของ chitinase และ β -1,3-glucanase ทำให้อองุ่นสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบได้อย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 2.20 แสดงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากไคติน เป็นไคโตซาน (พรศิริ เพชรศรีช่วง, 2014)

จากการชักนำดังกล่าว ทำให้พืชสร้างกลไกในการปกป้องตนเองขึ้นทั้งกลไกทางโครงสร้างของพืช (structural defense mechanism) และกลไกทางชีวเคมี (biochemical defense mechanism)

2.5 กลไกการป้องกันการรุกรานจากเชื้อก่อโรค (plant defense mechanisms)

พืชมีกระบวนการป้องกันตัวจากการเข้ารุกรานของเชื้อทั้งในเชิงกลไกทางโครงสร้างและกลไกทางชีวเคมี ในปัจจุบันได้ให้ความสนใจในเรื่องดังกล่าวจึงนำมาพัฒนาเป็นวิธีการควบคุมโรคเพื่อเป็นแนวทางเลือกหนึ่งในการป้องกันโรคพืช โดยอาศัยกลไกความต้านทานของพืช ซึ่งถูกชักนำ

จากสารกระตุ้นให้เกิดกลไกการปกป้องตนเอง โดยทั่วไปพืชจะมีกลไกการป้องกันและยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค 2 ทาง ได้แก่ กลไกทางโครงสร้างของพืช (structural defense mechanism) และกลไกทางชีวเคมี (biochemical defense mechanism) ซึ่งเกิดขึ้นได้โดยไม่เฉพาะเจาะจงกับพืชและเชื้อโรค

2.5.1 กลไกทางโครงสร้างของพืช (structural defenses)

พืชจะสร้างโครงสร้างพิเศษทางธรรมชาติ สามารถเกิดได้ทั้งก่อนและหลังการเข้ารุกรานจากเชื้อ ช่วยป้องกันไม่ให้เชื้อโรคเข้าทำลายพืชได้ง่าย

2.5.1.1 โครงสร้างของพืชก่อนเชื้อเข้าทำลาย (pre-existing structural defenses)

ได้แก่ การสร้างสารเคลือบผิวใบ (wax) ให้หนาขึ้น เพื่อป้องกันการเกาะติดของน้ำการที่ชั้น cuticle หนาขึ้นช่วยให้พืชทนทานต่อการแทงทะลุผ่านของเชื้อ นอกจากนี้ ตำแหน่งและรูปร่างของปากใบมีความสำคัญต่อเชื้อที่เข้าทำลายทางปากใบ รวมทั้งความหนาของผนังเซลล์จะช่วยป้องกันการงอกของสปอร์เชื้อราให้ยากมากขึ้น (ยุรฉัตร ยอดโยธี, 2554)

2.5.1.2 โครงสร้างที่พืชสร้างขึ้นหลังถูกรุกราน (induced structural defenses) จะ

เกิดขึ้นหลังจากที่เชื้อก่อโรคเริ่มเข้าทำลาย เนื่องจากเชื้อหลายชนิดปล่อยสารเคมีออกมาสู่พืช เช่น การผลิตสารพิษ สาร glycoprotein และเอนไซม์ของจุลินทรีย์ ได้แก่ cutinase, cellulase และ hemicellulase เป็นต้น เพื่อย่อยส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช พืชจะจดจำสารเหล่านั้นและสร้างโครงสร้างพิเศษเพื่อป้องกันตัวขึ้น ได้แก่ การสร้างผนังเซลล์ให้มี cellulose และ hemicelluloses เพิ่มขึ้น ทำให้พืชมีความทนทานต่อการทะลุผ่านมากขึ้น การสร้างเนื้อเยื่อพิเศษ (cork layers) เพื่อปกคลุมและจำกัดขอบเขตแพร่กระจายของเชื้อไปยังส่วนอื่นๆ การสะสมยางเหนียว (gums) จะยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อโรคบางชนิด และการสร้าง abscission layer เพื่อป้องกันแพร่กระจายของเชื้อ (Agrios, 1997) มีรายงานของ Shetty และคณะ (2009) ศึกษาการใช้ β -1,3-glucan ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเชื้อรา *Septoria tritici* สาเหตุโรคใบจุดในข้าวสาลี พบว่ามีการสะสม callose ในผนังเซลล์และเอนไซม์ β -1,3-glucanase เพิ่มขึ้น มีผลโดยตรงในการยับยั้งเอนไซม์และสารพิษของเชื้อก่อโรค

2.5.2 กลไกทางชีวเคมี (biochemical defenses)

นอกจากพืชจะป้องกันเชื้อโรคเข้าทำลายจากกลไกทางโครงสร้างได้แล้ว พืชยังสร้างสารป้องกันทางชีวเคมี โดยการผลิตสารเคมีที่เป็นพิษต่อเชื้อโดยตรงเพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อลุกลามกระจายไปทั่วต้นพืช ซึ่งการสร้างสารชีวเคมีสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งก่อนและหลังการเข้าทำลายของเชื้อ (Agrios, 1997)

2.5.2.1 สารชีวเคมีที่พืชผลิตขึ้นก่อนการถูกเข้าทำลาย (pre-existing biochemical defense) โดยทั่วไปพืชจะสร้างสารเคมีเพื่อยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อโรค ได้แก่ ในธรรมชาติพืชจะปลดปล่อยสารที่เป็นพิษกับเชื้อโดยตรง (fungitoxic exudates) เช่น ในบีทรูทและมะเขือเทศ จะ

ปล่อยสารที่เป็นพิษต่อเชื้อราสามารถยับยั้งการงอกของ zoospore ของเชื้อโรคได้ การผลิตสารพวก phenolic compound และในพืชบางชนิดยังสร้างสาร phytoanticipins ก่อนถูกเข้าทำลาย นอกจากนี้พืชยังสร้างพวก hydrolytic enzymes เช่น chitinase และ glucanase ช่วยยับยั้งเชื้อโรค

2.5.2.2 สารชีวเคมีที่พืชสร้างขึ้นหลังจากการถูกเข้าทำลาย (induced biochemical defense) เมื่อเชื้อโรคเข้ารุกรานพืช พืชจะเริ่มส่งสัญญาณโมเลกุลจากบริเวณเชื้อหุ้มเซลล์และจับกับสารบางอย่างของเชื้อ (elicitor) เช่น glycoprotein, fatty acid, carbohydrates และ peptides เป็นต้น จากนั้นจะสร้างสารชีวเคมีและเกิดปฏิกิริยาขึ้น เพื่อหยุดการพัฒนาและทำลายเชื้อโรค เกิดกระบวนการต้านทานของพืช ปฏิกิริยาดังกล่าวได้แก่ 1.) HR คือ เกิดการตาย ณ ตำแหน่งของเซลล์ที่เชื้อเข้าทำลายอย่างรวดเร็ว เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรค 2.) SA เป็นสัญญาณโมเลกุลที่เกิดจาก HR เพื่อไปกระตุ้นการแสดงออกของ PR protein 3.) การสร้าง ROS ซึ่งเป็นการตอบสนองแรกของพืช เกิดขึ้นไม่เกิน 5 นาที จะพบสารพวก superoxide (O_2^-) และ hydrogen peroxide (H_2O_2) ซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อโรคโดยตรง และทำให้ผนังเซลล์มีความแข็งแรงขึ้น (Thordal-Christensen et al., 1997; Shetty et al., 2009; อินชญา ประคองคำ (2555) 4.) การสร้าง nitric oxide (NO) ทำให้เกิดการตายของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นโดย ROS และ 5.) การสร้าง PR proteins ประกอบด้วยโปรตีนและเอนไซม์ที่ทำหน้าที่หลากหลายในกระบวนการต้านทานของพืช (Van Loon, 1997)

2.6 เทคนิคในการศึกษาการกลไกการป้องกันตนเองและองค์ประกอบของเซลล์พืช

2.6.1 การศึกษาการกลไกการป้องกันตนเองของพืชด้วยวิธีทางชีวเคมีพื้นฐาน

วิธีทางชีวเคมี เป็นการวิเคราะห์เพื่อให้ทราบชนิดและหน้าที่ของกลุ่มสารชีวเคมีภายในเซลล์พืช (functional group) หรือสารประกอบอินทรีย์ (organic compound) ในตัวอย่าง ปริมาณมากน้อยเพียงใด อาศัยเทคนิคต่างๆการศึกษาการกลไกการป้องกันตนเองของพืชด้วยวิธีทางชีวเคมี ด้วยเทคนิคพื้นฐาน เช่น การชั่ง การตวง การไทเทรต การใช้สารเร่งการตกตะกอน หรือการวิเคราะห์ที่อาศัยหลักทางเคมีฟิสิกส์มาช่วยในการวิเคราะห์ เช่น การใช้หลักทางแสง (spectrophotometry) ได้แก่ enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) และเทคนิค UV –VIS spectroscopy เป็นต้น เช่นการศึกษาปริมาณ สารประกอบฟีนอลิก ในผักแต้ว โดยวิธีการดูดกลืนแสง (วิไลพร ปองเพียร, 2551) การหาปริมาณฟีนอลรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผลไม้แปรรูปด้วยวิธีการดูดกลืนแสง (รวินิภา ศรีมูล และคณะ, ม.ม.ป.) การเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผลไม้ด้วยวิธีการดูดกลืนแสง (ปฎิวิทย์ ลอยพิมาย และคณะ, 2554) การวิเคราะห์หาปริมาณสาร SA ในกระบวนการชักนำให้คะแนด้านทานโรคขอบใบทอง ด้วยวิธีการดูดกลืนแสง (นลินา เหมสนิท และคณะ, 2552) การวิเคราะห์หาปริมาณสาร SA ในกระบวนการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคสแคบในองุ่น ด้วยวิธีการดูดกลืนแสง (อินชญา ประคองคำ, 2555)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในใบข้าวโพด ด้วยวิธีการดูดกลืนแสง (รังสีมา วิเศษศรี และคณะ, 2555)

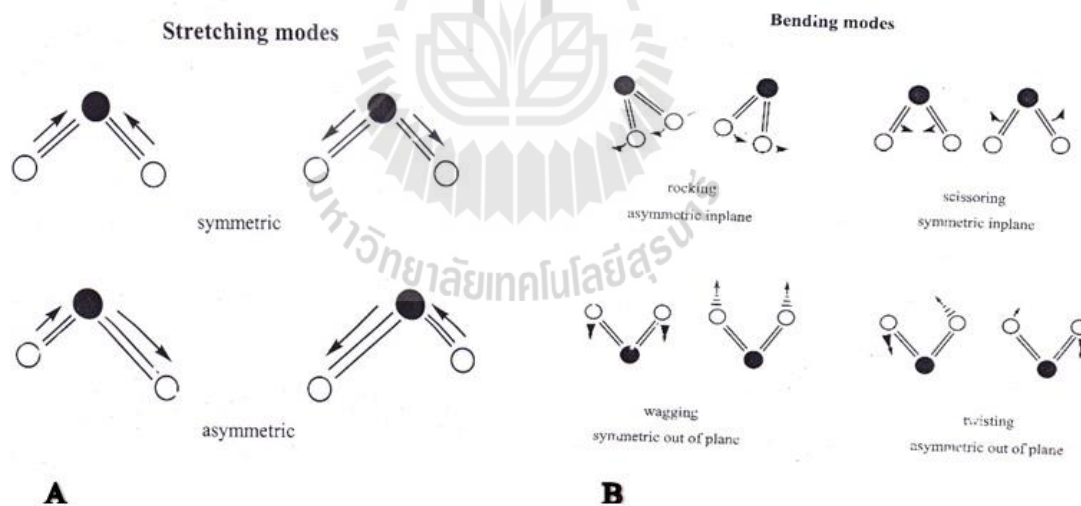
2.6.2 การศึกษาการกลไกการป้องกันตนเองของพืชด้วยวิธีทางชีวเคมีด้วยเทคนิค infrared (IR) spectroscopy

เทคนิค infrared spectroscopy เป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ ตรวจสอบเกี่ยวกับโมเลกุลของสาร ซึ่งประกอบด้วยอะตอมที่ยึดเกาะกันด้วยพันธะเคมี ซึ่งปกติแล้วอะตอมเหล่านี้จะมีการเคลื่อนไหวหรือสั่น (vibration) อยู่ตลอดเวลา การสั่นแบบพื้นฐานของพันธะเคมีมีอยู่ 2 แบบ คือ การยืด (stretching) และการงอ (bending) (ภาพที่ 2.21) โดยใช้แสงอินฟราเรดช่วงกลาง 2.5-25 นาโนเมตร หรือ 4000-670 เซนติเมตร-1 (สมเดช กนกเมธากุล, 2547; นิพนธ์ และคณะ, 2547) ทำให้โมเลกุลเกิดการดูดกลืนแสงแล้ว วัสดุที่ส่งผ่านออกมาแสดงผลเป็นความสัมพันธ์ของความถี่หรือ Wave Number กับค่าการส่งผ่านของแสง เรียกว่า IR Spectrum ลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติเฉพาะ ทำให้สามารถสร้างเป็น molecular fingerprint ขององค์ประกอบสารชีวเคมีในตัวอย่างเซลล์ หรือเนื้อเยื่อได้ซึ่งลักษณะสเปกตรัมที่ได้จากตัวอย่างทางด้านชีวภาพจะบ่งบอกถึงลักษณะสารประกอบของสารชีวเคมีภายในเซลล์หรือเนื้อเยื่อเช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน ฟอสโฟลิปิด (ภาพที่ 2.22) สามารถแบ่งกลุ่มของการดูดกลืนแสงอินฟราเรดออกเป็น 6 กลุ่มดังนี้

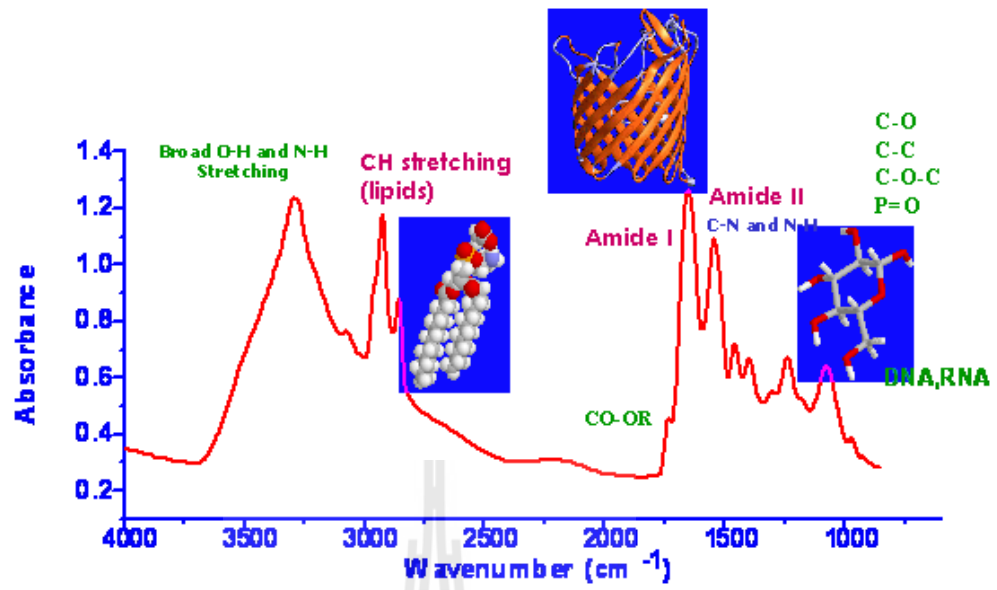
1. ช่วง 4000-3100 cm^{-1} ส่วนใหญ่เกิดจากการดูดกลืนแสงของ OH (3400 cm^{-1}) และ NH Stretching mode (Amide A $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$ และ Amide B $\sim 3030 \text{ cm}^{-1}$)
2. ช่วง 3100-2800 cm^{-1} การดูดกลืนแสงของ C-H Stretching vibration ของ CH_3 CH_2 ซึ่งเกิดจากการดูดกลืนแสงของกลุ่มไขมัน
3. ช่วง 1800-1500 cm^{-1} การดูดกลืนแสงของ Amide I และ Amide II ของกลุ่มโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถบอกถึง secondary structure ของโปรตีน เช่น alpha-helix , beta-sheet, turn รวมไปถึงหมู่ C=O จาก ester group ของไขมัน
4. ช่วง 1300-1500 cm^{-1} การดูดกลืนแสงของ C-H bending vibration ของ CH_3 CH_2 ซึ่งเกิดจากการดูดกลืนแสงของกลุ่มไขมัน รวมไปถึง Stretching vibration COO^- จาก Amino acid side chains
5. ช่วง 1230 cm^{-1} เกิดจากการดูดกลืนแสงของ P=O asymmetric stretching vibrations ของ phosphodiester, free phosphate และ monoester phosphate ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากการดูดกลืนแสงของ DNA/RNA Polysaccharide backbone structures
6. ช่วง 1200-900 cm^{-1} เกิดจากการดูดกลืนแสงของ PO_4^{2-} จาก nucleic acid และ พวก C-O-C C-O-P Stretching vibrations ของพวก oligo-polysaccharide การนำแสงซินโครตรอนย่านพลังงาน

อินฟราเรดมาใช้กับเทคนิค IR Spectroscopy ร่วมกับการใช้กล้องจุลทรรศน์ หรือที่เรียกว่า Synchrotron Radiation-based IR Spectro-microscopy เป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเทคนิค IR Spectroscopy ให้มีความสามารถนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีขนาดเล็ก หรือสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำ (กาญจนา ธรรมนู, 2010)

ในปี 2010 Sutapun และคณะ ได้ทำการศึกษาเส้นใยหญ้าแฝกใช้เทคนิค FTIR (ATR) พบว่าหญ้าแฝกองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน หลังการทำอัลตราไลน์ เซชัน พบว่าหญ้าแฝกมีปริมาณเซลลูโลสมีสูงขึ้น เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ถูกกำจัดออกไป ในขั้นตอนการทำอัลตราไลน์ เซชัน นอกจากนี้ ปี 2555 ธนรัตน์ ศรีรุ่งเรือง และคณะ ได้ใช้เทคนิค FTIR ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันของข้าวหอมมะลิและข้าวปทุมธานี 1 พบว่าระหว่างช่วงความยาวคลื่น $850\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ พบว่าสเปกตรัมของผลตอบสนองตลอดความยาวคลื่นมีความแตกต่างกันระหว่างข้าวสองสายพันธุ์ในช่วงความยาวคลื่น $3000\text{--}3050\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งช่วงค่าดังกล่าวแสดงโครงสร้างทางเคมีในกลุ่มอะโรมาติก และ C-H ซึ่งในกรณีนี้อาจบ่งชี้ถึง 2-acetyl-1-pyrroline ซึ่งเป็นสารระเหยที่ให้กลิ่นหอมในข้าวหอมมะลิ ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้าวสองสายพันธุ์ด้วยย่านสเปกตรัมนี้ ยืนยันความถูกต้องโดยใช้เทคนิค Cluster Analysis



ภาพที่ 2.21 การสั่นแบบพื้นฐานของพันธะเคมีมี (A) การสั่นแบบยืดของสารในหมู่ XY_2 (B) การสั่นแบบงอของสารที่มีสูตร XY_2 (เย็นหทัย เน้นหนา, 2549)



ภาพที่ 2.22 แสดงลักษณะสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงอินฟราเรดในช่วงกลางอินฟราเรดของสารชีวโมเลกุล (กาญจนา ธรรมนู, 2010)

ตารางที่ 2.3 แสดงช่วงของการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารชีวโมเลกุล

Wavenumber (cm ⁻¹)	Assignment
~ 3307	N-H and O-H stretching vibration : polysaccharides, protein
~2959	CH ₃ asymmetric stretch :mainly lipids
~2927	CH ₂ asymmetric stretch: mainly lipids, with the little contribution from proteins, carbohydrates, nucleic acids
~2876	CH ₃ symmetric stretch: mainly proteins, with the little contribution from lipids, carbohydrates, nucleic acids
~2857	CH ₂ symmetric stretch: mainly lipids, with the little contribution from proteins, carbohydrates, nucleic acids
~1739-1744	Ester C=O stretch: lipid, triglycerides
~ 1700-1600	Mainly γ (C=O) associated with protein as the amide I band
~1631	β -sheet protein secondary structure
~1653	α -helix protein secondary structure
~1682	Turn
~1541	Amide II (protein N-H bend, C-N stretch)
~1452	CH ₂ Bending: lipids
~ 1391	COO ⁻ symmetric stretch: amino acid side chains, fatty acids
~1236	Asymmetric stretching: mainly nucleic acids with the little contribution from phospholipids
~1152	CO-O-C asymmetric stretching: glycogen and nucleic acids
~1080	PO ₂ ⁻ symmetric stretching: nucleic acids and phospholipids

ปัจจุบันเทคนิคนี้ สามารถประยุกต์ใช้ในงาน ด้านวัสดุศาสตร์ เช่น พอลิเมอร์ช่วยในการจำแนกชนิดของพอลิเมอร์ ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ และวิทยาศาสตร์ชีวภาพ เช่น การตรวจสอบ สอบ โครงสร้างของเนื้อเยื่อ เส้นผม ผิวหนัง กระดูก เนื่องจากเครื่องมือนี้มีค่าใช้จ่ายไม่แพง มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไม่ยุ่งยาก ใช้ตัวอย่างน้อย และมีความแม่นยำสูง และสามารถวิเคราะห์ได้เกือบทุกชนิด (กาญจนา ธรรมนุ, 2555) โดยในปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคนี้มาประยุกต์ใช้ในด้านการเกษตร เนื่องจากสามารถตรวจวัดตัวอย่างที่มีปริมาณน้อย ๆ และสามารถนำมาศึกษาองค์ประกอบของการเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลจากตัวอย่างเนื้อเยื่อที่สนใจ โดยสามารถตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีของตัวอย่างใบพืช โดยคุณลักษณะสเปกตรัมจะให้ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันนอล เช่น Amide I, Amide II, Lipid และ Carbohydrate ที่เป็นลักษณะสเปกตรัมของการดูดกลืนแสงอินฟราเรดในสารแต่ละชนิด การใช้เทคนิคนี้สามารถนำมาใช้ในการศึกษาการสะสมของสารในกระบวนการชีวเคมีของพืชที่เกี่ยวข้องกับกลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโต การสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานในพืช และกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช และในปัจจุบัน เริ่มมีการนำเทคนิคนี้มาใช้ในตรวจดูความแตกต่างของจุลินทรีย์แต่ละชนิดและยังสามารถใช้เทคนิคนี้มาช่วยในการระบุชนิดของเชื้อสาเหตุโรคพืช เนื่องจากมีความแม่นยำไม่ยุ่งยากและมีค่าใช้จ่ายไม่แพง (ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ และคณะ, 2555)



บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

การศึกษาผลของการใช้สารทุติยภูมิจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 (secondary metabolite of *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007: SecCaSUT007) และโคโคซานในการชักนำองุ่นให้ต้านทานโรคที่เกิดจากเชื้อรา ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของการผลิตองุ่นในประเทศไทย การทดลองครั้งนี้ทำการทดสอบในองุ่นรับประทานผลสดสายพันธุ์มารูซีดเลส โดยศึกษาประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการควบคุมโรคและกลไกความต้านทานในองุ่นที่เกิดขึ้น โดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ induced resistance ในสภาพเรือนทดลอง จากนั้นทำการศึกษาประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นทั้งสองชนิดในการควบคุมโรคองุ่นที่เกิดจากเชื้อราในสภาพไร่องุ่น (vineyard) โดยมีระเบียบวิธีการวิจัยดังนี้

3.1. การผลิตสารทุติยภูมิจากเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007

ทำการผลิตสารทุติยภูมิของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 โดยเตรียมเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 ความเข้มข้น 1×10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient glucose broth (NGB) ปริมาตร 1 ลิตรที่ เขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 rpm อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นปั่นเหวี่ยงตกตะกอนเซลล์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 10,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที นำของเหลวที่ได้มาปรับค่า pH เท่ากับ 2.8 ด้วย 5N HCL ทิ้งไว้ข้ามคืนที่ 4 องศาเซลเซียส ปั่นเหวี่ยงตกตะกอนครั้ง เพื่อตกตะกอนสาร ทุติยภูมิ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 10,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที แฉะแห้งสารทุติยภูมิ ที่ได้ในอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บรักษาสารทุติยภูมิ ที่ได้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป ประยุกต์จากวิธีการของ Buensanteai et al. (2008), Buensanteai et al. (2009), รัชฎาวรรณ เดชมณี และคณะ (2548), วรรณนิภา มธุรส และคณะ (2555)

3.1.1 ทำการทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารทุติยภูมิ

นำสาร SecCaSUT007 ที่สกัดได้ในข้อ 3.1.1 มาทดสอบกลไกโดยตรง (direct mode of action) ในการยับยั้งการงอกของเส้นใยและจำนวนการสร้างสปอร์ของเชื้อ *P. viticola* ในองุ่น โดยการประยุกต์วิธีการของ ธงชัย ประจงใจ (2555) ตัดใบองุ่นที่ไม่พบการเข้าทำลายของโรคและ

แมลง มาล้างด้วยน้ำสบู่ 1 ครั้งและน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 2 ครั้ง จากนั้นล้างด้วยสารละลาย โซเดียมไฮโปคลอไรต์ 0.088% (w/w) เป็นเวลา 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้ออีก 2 ครั้ง ซับด้วย กระดาษทิชชูหนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วจึงนำไปวางในจานเพาะเชื้อ (petridish) ที่มีอาหาร water agar ความเข้มข้น 1% (w/v) โดยมีกระดาษกรองวางทับด้านบนอาหาร จากนั้น ทำการพ่นสาร SecCaSUT007 ที่ปรับความเข้มข้นสุดท้ายที่ความเข้มข้น 500, 1,000, และ 1500 ppm ลงบนใบองุ่นปกติ หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ทำการพ่นสารแขวนลอย ของเชื้อ *P. viticola* ความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร บริเวณใต้ใบ นำไปบ่มไว้ในที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส นาน 7 วันตรวจ นับจำนวนสปอร์ของเชื้อ *P. viticola* และประเมินการเกิดโรคโดยให้คะแนนพื้นที่ใบเสียหาย 1-5 ดังนี้ ระดับคะแนน 0 ไม่ปรากฏอาการ, 0.1-2 ความเสียหายน้อยกว่า 25%, 2.1-3 ความเสียหาย 26-50%, 3.1-4 ความเสียหาย 51-75% และ 4.1-5 ความเสียหายมากกว่า 75% ตามลำดับโดยดัดแปลง จากอิณชญา ประคองคำ (2555) นำความเข้มข้นน้อยที่สุดที่มีปริมาณการเกิดความเสียหายของพื้นที่ ใบน้อยที่สุดไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.1.2 การทดสอบประสิทธิภาพสิ่งกระตุ้น (elicitors) ในการควบคุมโรคสแคบ และราน้ำค้าง ในสภาพโรงเรือนทดลอง

3.1.2.1 การเตรียมสารแขวนลอย สำหรับเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้าง

เก็บตัวอย่างใบองุ่นที่มีอาการเป็น โรคราน้ำค้างมานำบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส ข้ามคืนจากนั้นนำใบองุ่นมาเจียน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อให้สปอร์หลุดออกจากใบ และตรวจ นับจำนวนสปอร์ด้วย haemocytometer ปรับระดับความเข้มข้นของสปอร์เป็น 1×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป (ชงชัย ประจงใจ, 2555)

3.1.2.2 การเตรียมสารแขวนลอย สำหรับเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ

โดยได้รับความอนุเคราะห์จาก ห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์พืช อาคารเครื่องมือ 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นำมาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) จากนั้น เตรียมเชื้อ *S. ampelinum* ในรูปของสารแขวนลอยสปอร์ในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ ตรวจระดับความเข้มข้นโดยการ นับจำนวนสปอร์ด้วย haemocytometer ปรับระดับความเข้มข้นให้ได้ 1×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร (อิณชญา ประคองคำ, 2555)

3.1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้น เพื่อชักนำองุ่นให้ต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้าง และสแคบในสภาพโรงเรือนทดลอง

นำสาร SecCaSUT007 ความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคในระดับห้องปฏิบัติการ จากข้อ 3.1.2 มาทดสอบประสิทธิภาพการชักนำองุ่นให้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุ โรคราน้ำค้างและ โรคสแคบในสภาพเรือนทดลอง โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุดทดลอง ชุดแรก ทดสอบการควบคุมโรคราน้ำค้าง และชุดที่สองทดสอบการควบคุมโรคสแคบ

วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) จำนวน 5 กรรมวิธีการทดลอง การทดลองละ 4 ซ้ำ ในกิ่งชำอายุ 2 เดือน เปรียบเทียบกับกรรมวิธี positive control ได้แก่ การฉีดพ่นด้วยสารเคมี แคปแทน อัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สำหรับการควบคุมโรคน้ำค้างและสารเคมีคาร์เบนดาซิม อัตราส่วน 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สำหรับการควบคุมโรคสแคบ และ negative control ได้แก่ การฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีควบคุม) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 กรรมวิธีการทดลองและความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธีการทดลอง	ความเข้มข้น
SecCaSUT007	1,000 ppm
Chitosan	1,000 ppm
สารเคมี ¹ (positive control)	ตามอัตราแนะนำ
น้ำกลั่น (negative control)	-

¹ ใช้สารเคมี แคปแทน สำหรับการควบคุม โรคน้ำค้าง และสารเคมีคาร์เบนดาซิม สำหรับการควบคุมโรคสแคบ

ทำการพ่นสิ่งกระตุ้นทั้งหมด 7 ครั้ง โดยเว้นระยะห่างกัน 7 วัน หลังจากนั้น พ่นด้วยสารแขวนลอยของเชื้อราสาเหตุโรคแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ หลังการพ่นด้วยสิ่งกระตุ้นกรรมวิธีต่างๆเป็นเวลา 24 ชั่วโมงทำการประเมินความรุนแรงของโรคทุกวัน เป็นเวลา 10 วัน โดยให้ระดับคะแนนการเกิดโรสดังข้อ 3.1.2 จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การลดโรค (disease reduction) โดยตัดแปลงจากวิธีการของ ปัทมวรรณ มณีสุวรรณ และคณะ (2556) โดยมีสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{Percent reduction of diseases symptom} = \frac{(\text{Negative control} - \text{Treatment}) \times 100}{\text{Negative control}}$$

จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างใบอ่อนในแต่ละกรรมวิธีหลังจากพ่นสารแขวนลอยเชื้อราสาเหตุโรค เป็นเวลา 0, 24, 72, 120 และ 240 ชั่วโมงตามลำดับ เพื่อนำมาวิเคราะห์หลักโภชนาการที่เพิ่มขึ้นในระยะเวลาต่าง ๆ ประกอบด้วย การวิเคราะห์ปริมาณ salicylic acid (SA), phenolic compound, lignin และนำใบอ่อนบางส่วนไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบชีวเคมีภายในเซลล์ใบอ่อนด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy ต่อไป

3.1.4 ศึกษากลไกการปกป้องตนเองขององุ่น

3.1.4.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางองค์ประกอบของเซลล์องุ่น ด้วยเทคนิค UV-VIS spectroscopy

3.1.4.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณ salicylic acid (SA)

ทำการทดลองโดยประยุกต์วิธีการของ Raskin et al. (1989) และอิญชญา ประคองคำ (2555) โดยบดใบองุ่นใน โกร่งซึ่งทำให้เย็นจัดด้วยไนโตรเจนเหลว เดิม 90% (v/v) methanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตรต่อ ตัวอย่าง 0.5 กรัม นำมา บั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ 12,000 g เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนที่เป็น supernatant จากนั้นนำส่วนที่เป็น pellet ที่ได้จากการบั่นเหวี่ยงตกตะกอน มาเติม 100% (v/v) methanol บั่นเหวี่ยงตกตะกอนอีกครั้ง ที่ 12,000 g เป็นเวลา 15 นาที คูดสารละลายที่สกัดได้ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงบนบนไมโครเพลทชนิด 96 หลุม เติม 0.02 M Ferric ammonium sulfate ปริมาตร 200 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณสาร salicylic acid ($\mu\text{g g}^{-1}$ fresh weight) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3.1.4.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณ phenolic compound

การทดลองโดยประยุกต์วิธีการของ Miliauskas et.al. (2004), Tsai et al. (2005) และ Onanong et al. (2011) โดย นำสารสกัดตัวอย่างที่เหลือจากการทดลองที่ 3.1.4.1 ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ผสมกับ สารละลาย 10% folin-ciocalteu reagent ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และ 7% sodium carbonate (Na_2CO_3) ปริมาตร 160 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันบนไมโครเพลทชนิด 96 หลุมบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm คำนวณหาปริมาณ total phenolic compound ($\mu\text{g/ml}$) จากกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน Gallic acid

3.1.4.1.3 การวิเคราะห์ ปริมาณ lignin

ทำการทดลองโดยประยุกต์วิธีการของ Bruce et al. (1989), ริกาญจน์ ฉัตร สุกุลวิไล (ม.ม.ป.) และ ธนาภรณ์ ศรีศิริพันธุ์ (2551) ทำการสกัดลิกนิน โดยบดใบองุ่น กับ 98% methanol อัตราส่วน 1 : 50 ที่อุณหภูมิห้อง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 นำตะกอนที่ได้อบที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น นำตะกอนปริมาตร 5 มิลลิกรัม เติม สารละลาย 98% thioglycolic acid ปริมาตร 0.5 มิลลิตร และ 2 N HCl ปริมาตร 5 มิลลิตร บ่มใน อ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า ที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 ชั่วโมง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเย็น จากนั้นบั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 18,000 g อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิตร จากนั้นเติม 0.5 N NaOH ปริมาตร 5 มิลลิตร เขย่า ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เหวี่ยงตกตะกอนอีกครั้งที่ความเร็วรอบ 18,000 g อุณหภูมิ 0

องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที นำของเหลวใสที่ได้ (supernatant) เดิมสารละลาย HCl เข้มข้น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเหวี่ยงตกตะกอนที่ ความเร็วรอบ 10,000 g อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำตะกอนที่ได้ละลายด้วย 0.5 N NaOH ปริมาตร 10 มิลลิลิตร วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

3.1.4.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางองค์ประกอบของเซลล์อ่อน ด้วยเทคนิค Infrared (IR) Spectrometer

3.1.4.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำใบอ่อนที่เหลือจากการทดลองที่ผ่านแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จากนั้นทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Christ รุ่น ALPHA 2-4 LSC) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ -95 องศาเซลเซียส ความดันบรรยากาศ 132 Pa และ 132 mPa ตามลำดับ บดใบอ่อนให้ละเอียดอีกครั้ง ด้วยโกร่งนึ่งฆ่าเชื้อ นำใบอ่อนที่บดละเอียดเก็บในตู้ดูดความชื้นเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำ ตัวอย่างแห้งที่ปราศจากความชื้นไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางองค์ประกอบของเซลล์อ่อนด้วย เทคนิค Infrared (IR) Spectrometer ต่อไป (ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ และคณะ, 2555; กาญจนา ธรรมนุ, 2010; Buensanteai et al., 1012)

3.1.4.2.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Infrared (IR) Spectrometer

นำตัวอย่างใบอ่อนในทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 3.1) ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างใน ข้อ 3.1.5.2 มาทำการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค FTIR spectroscopy ที่สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน) ด้วยเครื่อง fourier transform infrared spectroscopy : FT-IR (Tensor 27, Bruker optic) ชนิด attenuated total reflectance (ATR) ที่มีระบบตรวจวัดแบบ mercury cadmium telluride (MCT) วัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ช่วง 600-4000 cm^{-1} . วัดที่ค่า Resolution 6 cm^{-1} จำนวน scan 32 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลและแบ่งกลุ่ม สารชีวเคมีในเซลล์ใบอ่อนด้วย วิธีการ average พื้นที่ใต้กราฟ โดยใช้โปรแกรม OPUS 7.2 (Bruker optic, German) (ชนรัตน์ ศรีรุ่งเรือง และคณะ, 2555; ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ และคณะ, 2555; Buensanteai et al., 1012)

3.1.5 การทดสอบประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการชักนำอ่อนให้ต้านทานโรคที่เกิดจาก เชื้อราในสภาพแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ split plot in RCBD จำนวน 9 กรรมวิธีการทดลอง การทดลองละ 5 ซ้ำ ทำการวิจัยโดยใช้แปลงอ่อนภายในฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยมีระยะปลูก 2 x 2.5 เมตรตัดแต่งอ่อนให้แตกกิ่งใหม่ จัดทรงพุ่มให้โปร่ง ทุกกิ่งสามารถได้รับแสงเต็มที่ จนมีใบประมาณ 10-20 ใบ หรือมีอายุประมาณ 45 วันหลังการตัดแต่ง (สุรทิน ใจดี, 2553) ทำการพ่นกรรมวิธีการทดลองต่าง ๆ ทุก 7 วัน (ตารางที่ 3.1) โดยทำการฉีดพ่นในช่วงระยะแตกใบอ่อนติดผลอ่อน จนถึง ระยะสุกแก่ ประเมินความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อราที่สำคัญ ได้แก่ โรคราน้ำค้าง โรคสแคบ

โรคแอนแทรกซ์โนส และโรคราสนิม ทุก 14 วัน โดยทำการประเมินความเสียหายทั้งต้น มีระดับคะแนนการเกิดโรคแบ่งเป็น 5 ช่วงชั้น ระดับคะแนนดังนี้ 0 ไม่ปรากฏอาการ, ระดับคะแนน 0.1-2 ความเสียหายน้อยกว่า 25%, ระดับคะแนน 2.1-3 ความเสียหาย 26-50%, ระดับคะแนน 3.1-4 ความเสียหาย 51-75% และ ระดับคะแนน 4.1-5 ความเสียหายมากกว่า 75% ตามลำดับ โดยคัดแปลงจาก อิงชญา ประคองคำ (2555) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การลดโรค (disease reduction) เช่นเดียวกับการประเมินความรุนแรงในสภาพโรงเรือนทดลอง ทำการทดสอบซ้ำอีกครั้งในการตัดแต่งช่วงฤดูหนาว

3.2 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS for Windows Version 14.0 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกรรมวิธี โดยวิธีการของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคราน้ำค้าง องุ่นสภาพใบตัดในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารชีวภัณฑ์ที่สกัดจาก culture filtrate ของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 (Secondary metabolism of *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007: SecCaSUT007) ในการยับยั้งการเกิดโรคราน้ำค้างและจำนวนการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างในองุ่นสายพันธุ์มาร์ชชีสเลตส ในสภาพใบตัด เมื่อทำการประเมินระดับความรุนแรงของโรคหลังการปลูกเชื้อรา *P. viticola* เป็นเวลา 7 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคสูงที่สุด รองลงมาคือเข้มข้น 1500 ppm และ 500 ppm โดยมีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 2.00 ± 0.00 , 2.50 ± 0.58 และ 3.20 ± 0.84 ตามลำดับ จำนวนแผลโดยเฉลี่ยคือ 3.00 ± 1.00 , 4.00 ± 1.41 และ 5.00 ± 2.24 แผล ตามลำดับ ขนาดแผลเฉลี่ย 1.60 ± 0.80 , 1.50 ± 0.73 และ 5.00 ± 2.24 เซนติเมตร จำนวนสปอร์เฉลี่ย 17.67 ± 2.52 , 16.50 ± 3.42 และ 29.60 ± 12.03 สปอร์ต่อพื้นที่ใบ 25 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ โดยที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มีระดับความรุนแรงของโรคและจำนวนการสร้างสปอร์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้ น้ำกลั่นหนึ่งขวด ซึ่ง มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 3.40 ± 0.55 ซึ่งคิดเป็นความเสียหาย 51-75% ของพื้นที่ใบทั้งหมด จำนวนแผลโดยเฉลี่ย 5.00 ± 2.24 แผล ขนาดแผลเฉลี่ย 1.48 ± 0.75 เซนติเมตร จำนวนสปอร์เฉลี่ย 29.60 ± 12.03 สปอร์ (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ผลของความเข้มข้นของสาร SecCaSUT007 ต่อการควบคุมเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคน้ำค้างในสภาพใบตัด ที่เวลา 7 วันหลังการปลูกเชื้อ

ระดับความเข้มข้น	การเกิดโรค			
	ระดับความรุนแรงของโรค ^{1/}	จำนวนแผล	ขนาดแผล (ซม.) ^{2/}	จำนวนสปอร์ ^{3/}
500 ppm	3.20±0.84 b ^{4/}	5.00±2.24	1.48±0.75 a	29.60±12.03 ab
1000 ppm	2.00±0.00 a	3.00±1.00	1.60±0.80 a	17.67±2.52 a
1500 ppm	2.50±0.58 ab	4.00±1.41	1.50±0.73 a	16.50±3.42 a
น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ (control)	3.40±0.55 b	5.00±2.24	3.06±0.68 b	67.00± 14.04 b
F-test ^{5/}	*	ns	*	*
%CV	5.07	10.25	8.70	8.92

^{1/} คะแนนระดับความรุนแรงของโรค พื้นที่ใบเสียหาย 1-5 ดังนี้ ระดับคะแนน 0 ไม่ปรากฏอาการ, 0.1 -2 ความเสียหายน้อยกว่า 25%, 2.1-3 ความเสียหาย 26-50%, 3.1-4 ความเสียหาย 51-75% และ 4.1- 5 ความเสียหายมากกว่า 75%

^{2/} ขนาดแผลเฉลี่ยต่อจำนวนแผล

^{3/} จำนวนสปอร์เฉลี่ยต่อพื้นที่ใบ 25 ตารางเซนติเมตร

^{4/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{5/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

จากการทดลองนี้ พบว่าสาร SecCaSUT007 ที่ความเข้มข้น 1000 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่มีความสามารถในการควบคุมโรคที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. viticola* ในองุ่นได้ จึงนำสาร SecCaSUT007 ความเข้มข้นดังกล่าวมาใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพในการชักนำความต้านทาน และศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคน้ำค้าง และเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ เป็นต้นแบบในการทดลองเนื่องจาก เชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดก่อให้เกิดความเสียหายเป็นจำนวนมากต่อการผลิตองุ่นในประเทศไทย

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และ ไคโตซาน ในการชักนำความต้านทานและการศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นในสภาพเรือนทดลอง

4.2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และ ไคโตซาน ในการชักนำความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง

จากการประเมินประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 ความเข้มข้น 1000 ppm และ ไคโตซาน ความเข้มข้น 1000 ppm เปรียบเทียบกับ สารเคมีแคปแทน ในการควบคุมโรคราน้ำค้างในองุ่น ทำการพ่นสิ่งกระตุ้นบนองุ่นสายพันธุ์มารูชีสเลส ทั้งหมด 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน หลังจากนั้นทำการปลูกเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้าง ประเมินความรุนแรงของโรค เปอร์เซ็นต์การลดโรค และวันแรกที่องุ่นแสดงอาการของโรค หลังจากปลูกเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้าง เป็นเวลา 10 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน มีระดับความรุนแรงของโรค 1.50 ± 0.58 และ 2.00 ± 0.82 ตามลำดับ สามารถลดการเกิดโรคได้ 40% และ 20% ตามลำดับ เริ่มแสดงอาการของโรคในวันที่ 4 และ 3 หลังการปลูกเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้าง ทั้งนี้กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีแคปแทน มีระดับความรุนแรงของโรค 1.50 ± 0.58 ซึ่งสามารถลดการเกิดโรคได้ 40% โดยเริ่มแสดงอาการของโรค ในวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค อย่างไรก็ตามกรรมวิธีการทดลองทั้งหมดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 2.50 ± 0.58 และเริ่มแสดงอาการของโรคในวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไคโตซานในการชักนำให้อองุ่นต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคราน้ำค้างในองุ่นพันธุ์มูร์ซูชีสเลส หลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีการทดลอง	การเกิดโรคราน้ำค้าง		
	ระดับความรุนแรงของโรค ^{2/}	เปอร์เซ็นต์การลดโรค (%) ^{3/}	ระยะเวลาที่โรคแสดงอาการ (วัน)
SecCaSUT007	1.50±0.58 a ^{4/}	40	4
Chitosan	2.00±0.82 ab	20	3
สารเคมี ^{1/} (positive control)	1.50±0.58 a	40	3
น้ำกลั่น (negative control)	2.50±0.58 b	-	2
F-test ^{5/}	*		
%CV	6.23		

^{1/} สารเคมี แคลแทน อัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

^{2/} คะแนนระดับความรุนแรงของโรคทั้งต้น พื้นที่ใบเสียหาย 1-5 ดังนี้ ระดับคะแนน 0 ไม่ปรากฏอาการ, 0.1-2 ความเสียหายน้อยกว่า 25%, 2.1-3 ความเสียหาย 26-50%, 3.1-4 ความเสียหาย 51-75% และ 4.1-5 ความเสียหายมากกว่า 75%

^{3/} Percent reduction of diseases (%) = $\frac{(\text{Negative control} - \text{Treatment}) \times 100}{\text{Negative control}}$

^{4/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความน่าจะเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{5/} ** = แยกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แยกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

4.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไคโตซาน ในการชักนำความต้านทานต่อโรคสแคบ

จากการประเมินประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 ความเข้มข้น 1000 ppm และไคโตซาน ความเข้มข้น 1000 ppm เปรียบเทียบสารเคมีคาร์เบนดาซิม ในการควบคุมโรคสแคบ ทำการพ่นสิ่งกระตุ้นบนองุ่นสายพันธุ์มูร์ซูชีสเลส ทั้งหมด 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน หลังจากนั้นทำการปลูกเชื้อรา *S. ampelimum* สาเหตุโรคสแคบ ประเมินความรุนแรงของโรค เปอร์เซ็นต์การลดโรค และวันแรกที่อองุ่นแสดงอาการของโรค หลังจากปลูกเชื้อรา *S. ampelimum* สาเหตุโรคสแคบ เป็นเวลา 10 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ ไคโตซาน และ กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 1.75±0.50 และ 2.00±0.00 ตามลำดับ สามารถลดการเกิดโรคได้ 30% และ 20% ตามลำดับ โดยเริ่มแสดงอาการของโรคในวันที่ 5 และ 4 หลังการปลูกเชื้อรา *S. ampelimum* ตามลำดับ ทั้งนี้กรรมวิธีที่ใช้ สารเคมีคาร์เบนดาซิม มีระดับความรุนแรงของโรค 1.50±0.58 ซึ่งสามารถลดการเกิดโรคได้ 40% และ แสดงอาการของโรคในวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากรรมวิธีใช้สาร SecCaSUT007 และไคโตซาน มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม

อย่างไรก็ตามโดยกรรมวิธีการทดลองทั้งหมดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้กากถั่วเหลืองซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรค 2.50 ± 0.58 และเริ่มแสดงอาการของโรคในวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไคโตซานในการชักนำให้อุณหภูมิต้นทานต่อการเข้าทำลายของโรคสแคบในอุ้งน้พันธุ์มารูชีสเลส หลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 10 วัน

กรรมวิธีการทดลอง	การเกิดโรคสแคบ		
	ระดับความรุนแรงของโรค ^{2/}	เปอร์เซ็นต์การลดโรค(%) ^{3/}	ระยะเวลาที่โรคแสดงอาการ (วัน)
SecCaSUT007 1000 ppm	2.00 ± 0.00 ab ^{4/}	20	4
Chitosan 1000 ppm	1.75 ± 0.50 ab	30	5
สารเคมี ^{1/} (positive control)	1.50 ± 0.58 a	40	4
น้ำกลั่น (negative control)	2.50 ± 0.58 b	-	3
F-test ^{5/}	*		
%CV	6.17		

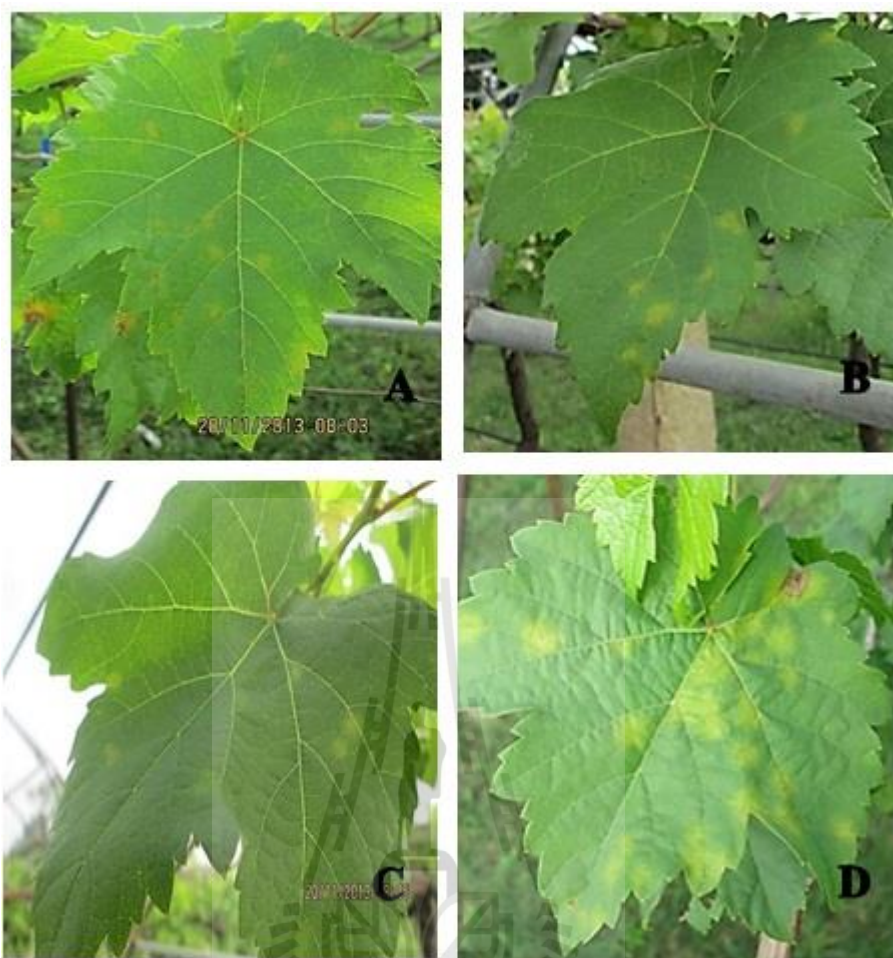
^{1/} ใช้สารเคมี คาร์เบนดาซิม อัตราส่วน 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

^{2/} คะแนนระดับความรุนแรงของโรคทั้งต้น พื้นที่ใบเสียหาย 1-5 ดังนี้ ระดับคะแนน 0 ไม่ปรากฏอาการ, 0.1-2 ความเสียหายน้อยกว่า 25%, 2.1-3 ความเสียหาย 26-50%, 3.1-4 ความเสียหาย 51-75% และ 4.1-5 ความเสียหายมากกว่า 75%

^{3/} Percent reduction of diseases (%) = $\frac{(\text{Negative control} - \text{Treatment}) \times 100}{\text{Negative control}}$

^{4/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย \pm S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{5/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 4.1 ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการลดความรุนแรงของโรคน้ำค้างที่เกิดจากเชื้อรา *P. viticola* บนองุ่นสายพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 10 วันหลังการปลูกเชื้อ (A) สาร SecCaSUT007 ความเข้มข้น 1000 ppm, (B) ไคโตซาน ความเข้มข้น 1000 ppm, (C) สารเคมีแคปแทน อัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, (D) น้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ



ภาพที่ 4.2 ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการลดความรุนแรงของโรคสแคบที่เกิดจากเชื้อรา *S. ampelinum* บนองุ่นสายพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 10 วันหลังการปลูกเชื้อ (A) สาร SecCaSUT007 ความเข้มข้น 1000 ppm, (B) ไคโตซาน ความเข้มข้น 1000 ppm, (C) สารเคมีคาร์เบนดาซิม อัตราส่วน 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร, (D) น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

4.2.3 การศึกษาสารชีวเคมีที่เปลี่ยนแปลงไปในกลไกปกป้องตนเองขององุ่น ด้วยเทคนิค

UV-VIS Spectroscopy

4.2.3.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลไกปกป้องตนเองขององุ่น ในการชักนำความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง

จากการศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นสายพันธุ์มารูซีสเลส ที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างในองุ่น โดยใช้สิ่งกระตุ้น ได้แก่ สาร SecCaSUT007 ความเข้มข้น 1000 ppm, โคลโตซานความเข้มข้น 1000 ppm เปรียบเทียบกับสารเคมีแคปแทน อัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทำการพ่นสิ่งกระตุ้น บนองุ่น จำนวน 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน หลังจากนั้นทำการปลูกเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้าง ทำการประเมินความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์การลดโรคในแต่ละกรรมวิธี (การทดลองที่ 4.2.1) จากนั้นเก็บตัวอย่างใบองุ่นเพื่อวัดความเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร salicylic acid (SA) phenolic compound และ lignin ภายในเซลล์ของใบองุ่นเป็นเวลา 0, 24, 72, 120 และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อรา *P. viticola* ซึ่งมีผลการศึกษาดังนี้

4.2.3.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณ salicylic acid (SA)

ผลการศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างพบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 กรรมวิธีที่ใช้โคลโตซาน และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีแคปแทน มีปริมาณ SA เท่ากับ 113.28 ± 0.94 , 115.83 ± 0.55 และ $130.17 \pm 1.18 \mu\text{g g}^{-1}$ fresh weight ตามลำดับซึ่งความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ กรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ที่มีปริมาณ SA เท่ากับ $126.23 \pm 1.26 \mu\text{g g}^{-1}$ fresh weight หลังจากนั้นที่เวลา 72 ชั่วโมง ทุกกรรมวิธีจะมีปริมาณสาร SA ลดลง ดังตารางที่ 4.4

จากการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าหลังจากการพ่น SecCaSUT007 และ โคลโตซานทั้งหมด 7 ครั้ง (ที่เวลา 0 ชั่วโมง) เกิดการชักนำให้องุ่นสร้างสารชีวเคมีที่สำคัญในการปกป้องตนเอง เพื่อรับมือกับการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคโดยการใช้ SA เป็นสารสำคัญในการส่งสัญญาณ ในการสร้างสารชีวเคมีอื่น ๆ และหลังจากทำการพ่นเชื้อราสาเหตุโรค 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 กรรมวิธีที่ใช้โคลโตซาน มีปริมาณ SA ลดลงเล็กน้อย ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี และ กรรมวิธีควบคุม เริ่มมีการส่งสัญญาณที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค จึงทำให้ที่ช่วงเวลาดังกล่าว มีปริมาณ SA เพิ่มขึ้นอย่างมาก ซึ่ง ปริมาณสาร SA ที่ช่วงเวลา 0 และ 24 ชั่วโมง หลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค เปอร์เซ็นต์การลดโรค และระยะเวลาในการแสดงออกของโรคราน้ำค้างหลังจากพ่นด้วยกรรมวิธีการทดลองต่างๆ (ตารางที่ 4.2) และจากการทดลองนี้พบว่า สารเคมีแคปแทนสามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้

โดยตรง แต่ไม่มีคุณสมบัติในการชักนำความต้านทานสังเกตได้จากปริมาณ SA ที่ลดลงอย่างต่อเนื่อง หลังจากทำการปลูกเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้าง

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสาร SA ในใบองุ่นพันธุ์มาร์ชชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *P. viticola*

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณ salicylic acid ($\mu\text{g g}^{-1}$ fresh weight)				
	ช่วงเวลา (ชั่วโมง) ^{2/}				
	0	24	72	120	240
SecCaSUT007	106.99±0.38b ^{3/}	113.28±0.94a	105.48±3.41a	110.66±1.09b	109.93±0.39b
Chitosan	110.12±0.46c	115.83±0.55b	111.83±0.78c	108.40±1.18a	108.66±1.31a
สารเคมี ^{1/} (positive control)	106.21±0.47ab	130.17±1.18c	112.66±1.37c	112.18±2.09c	111.21±0.94c
น้ำกลั่น (negative control)	105.43±1.31a	126.23±1.26d	108.48±2.19b	113.91±0.76d	111.85±0.32c
F-test ^{4/}	*	**	*	*	*
%CV	0.79	0.88	1.25	0.78	0.56

^{1/} สารเคมี แคลแพแทน อัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

^{2/} ช่วงเวลาที่วัดปริมาณ salicylic acid ที่ 0, 24, 72, 120 และ 240 ชั่วโมง หลังปลูกเชื้อรา *P. viticola*

^{3/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความน่าจะเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{4/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

4.2.3.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณ phenolic compound

จากการศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างในองุ่นพบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน และ กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีแคลแพแทน มีปริมาณ phenolic เท่ากับ 9.28±0.02, 9.29±0.04 และ 9.28±0.01 $\mu\text{g GAE g}^{-1}$ fresh weight ตามลำดับซึ่งน้อยกว่า กรรมวิธีควบคุมที่มี phenolic เท่ากับ 9.33±0.02 $\mu\text{g GAE g}^{-1}$ fresh weight ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4.5

ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหลังจากการพ่น SecCaSUT007 และไคโตซานทั้งหมด 7 ครั้ง (ที่เวลา 0 ชั่วโมง) เกิดการชักนำให้องุ่นสร้างสารชีวเคมีที่สำคัญในการปกป้องตนเองเพื่อรับมือกับการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์พืช และหลังจากทำการพ่นเชื้อราสาเหตุโรค 24 ชั่วโมง ทุกกรรมวิธี มีปริมาณ phenolic ลดลง ซึ่งปริมาณสารในช่วงเวลา

ดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค เเปอร์เซ็นต์การลดโรค และระยะเวลาในการแสดงออกของโรคราน้ำค้างหลังจากพ่นด้วยกรรมวิธีการทดลองต่างๆ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสาร phenolic compound ในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้น และปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *P. viticola*

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณ phenolic compound ($\mu\text{g GAE g}^{-1}$ fresh weight)				
	ช่วงเวลา (ชั่วโมง) ^{2/}				
	0	24	72	120	240
SecCaSUT007	9.88 \pm 0.02b ^{3/}	9.28 \pm 0.02a	9.22 \pm 0.01a	9.28 \pm 0.02a	9.20 \pm 0.00ab
Chitosan	9.64 \pm 0.03a	9.29 \pm 0.04a	9.26 \pm 0.02b	9.33 \pm 0.01b	9.20 \pm 0.01a
สารเคมี ^{1/} (positive control)	9.79 \pm 0.13b	9.28 \pm 0.01a	9.27 \pm 0.01c	9.37 \pm 0.02c	9.21 \pm 0.01b
น้ำกลั่น (negative control)	9.75 \pm 0.12ab	9.33 \pm 0.02b	9.31 \pm 0.01d	9.37 \pm 0.01c	9.20 \pm 0.01a
F-test ^{4/}	*	**	**	**	*
%CV	0.79	0.00	0.00	0.00	0.09

^{1/} สารเคมี แคลแทน อัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

^{2/} ช่วงเวลาที่วัดปริมาณ phenolic compound ที่ 0, 24, 72, 120 และ 240 ชั่วโมง หลังปลูกเชื้อรา *P. viticola*

^{3/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย \pm S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความน่าจะเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{4/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

4.2.3.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณ lignin

จากการศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างในองุ่นพบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 กรรมวิธีที่ใช้โคโตซาน และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีแคลแทน มีปริมาณ lignin เท่ากับ 79.31 \pm 0.56, 78.32 \pm 1.46 และ 80.11 \pm 0.82 $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับ กรรมวิธีควบคุมที่ใช้ น้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ ที่มีปริมาณ lignin เท่ากับ 78.03 \pm 0.79 $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight ดังตารางที่ 4.6

จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่า หลังจากพ่นสิ่งกระตุ้น 7 ครั้งและปลูกเชื้อราเหตุโรค 24 ชั่วโมง ทุกกรรมวิธีมีปริมาณ lignin เพิ่มขึ้นมากกว่ากรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ปริมาณของ lignin ยังมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นและลดลงตามปริมาณของ SA อีกด้วย ซึ่ง

ปริมาณสารในช่วงเวลาดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค เเปอร์เซ็นต์การลดโรค และระยะเวลาในการแสดงออกของโรคราน้ำค้าง ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.6 ปริมาณสาร lignin ในใบองุ่นพันธุ์ มารูซีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *P. viticola*

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณ lignin ($\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight)				
	ช่วงเวลา (ชั่วโมง) ^{2/}				
	0	24	72	120	240
SecCaSUT007	77.48±0.01d ^{3/}	79.31±0.56ab	80.01±0.48	79.45±0.20a	80.14±0.19c
Chitosan 1000	77.22±0.03c	78.32±1.46a	80.33±0.60	80.03±0.23b	80.93±0.44d
สารเคมี ^{1/} (positive control)	77.31±0.01b	80.11±0.82b	79.81±0.08	80.58±0.17c	79.19±0.13a
น้ำกลั่น (negative control)	76.86±0.01a	78.03±0.79a	80.18±0.76	80.12±0.21b	79.63±0.07b
F-test ^{4/}	**	*	ns	**	**
%CV	0.00	1.19	0.65	0.27	0.34

^{1/} สารเคมี แคลแทน อัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

^{2/} ช่วงเวลาที่วัดปริมาณ phenolic compound ที่ 0, 24, 72, 120, และ 240 ชั่วโมง หลังปลูกเชื้อรา *P. viticola*

^{3/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความน่าจะเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{4/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

4.2.3.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงกลไกปกป้องตนเองขององุ่น ในการชักนำความต้านทานต่อโรคสแคบ

จากการศึกษาการปกป้องตนเองขององุ่นสายพันธุ์มารูซีสเลส ที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ โดยใช้สิ่งกระตุ้น ได้แก่ สาร SecCaSUT007 ความเข้มข้น 1000 ppm, โคลโตซานความเข้มข้น 1000 ppm เปรียบเทียบกับสารเคมี คาร์เบนดาซิม อัตราส่วน 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ทำการพ่นสิ่งกระตุ้นบนองุ่น จำนวน 7 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน หลังจากนั้นทำการปลูกเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ ทำการประเมินความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์การลดโรคในแต่ละกรรมวิธี (การทดลองที่ 4.2.1) จากนั้นเก็บตัวอย่างใบองุ่นเพื่อวัดความเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร SA phenolic compound และ lignin ภายในเซลล์ของใบองุ่นเป็นเวลา 0, 24, 72, 120 และ 240 ชั่วโมง หลังการปลูกเชื้อรา *S. ampelinum* ซึ่งมีผลการศึกษาดังนี้

4.2.3.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณ SA

ผลการศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ พบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 มีปริมาณ SA เท่ากับ 107.69 ± 1.41 ซึ่งน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีแคปแทน มีปริมาณ SA เท่ากับ 108.09 ± 0.57 และ $108.91 \pm 4.04 \mu\text{g g}^{-1}$ fresh weight ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ กรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ที่มีปริมาณ SA เท่ากับ $108.43 \pm 0.50 \mu\text{g g}^{-1}$ fresh weight (ตารางที่ 4.7)

จากการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าหลังจากการพ่น SecCaSUT007 และไคโตซานทั้งหมด 7 ครั้ง (ที่เวลา 0 ชั่วโมง) และหลังจากทำการพ่นเชื้อราสาเหตุโรค 24 ชั่วโมง ทุกกรรมวิธีมีปริมาณ SA ลดลงเล็กน้อย ซึ่งช่วงเวลาดังกล่าว มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค เปอร์เซ็นต์การลดโรค และระยะเวลาในการแสดงออกของโรคสแคบ หลังจากพ่นด้วยกรรมวิธีการทดลองต่าง ๆ (ตารางที่ 4.3) นอกจากนี้ยังพบว่า สารเคมีคาร์เบนดาซิม สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้โดยตรง แต่ไม่มีคุณสมบัติในการชักนำความต้านทานเช่นเดียวกับสารเคมีแคปแทน

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสาร SA ในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *S. ampelinum*

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณ salicylic acid ($\mu\text{g g}^{-1}$ fresh weight) ^{1/}				
	ช่วงเวลา (ชั่วโมง) ^{2/}				
	0	24	72	120	240
SecCaSUT007	111.68±2.02	107.69±1.41	108.51±1.69b ^{3/}	105.23±6.24ab	106.56±4.64
Chitosan	111.50±4.44	108.09±0.57	105.96±4.27a	101.22±4.50a	105.17±4.78
สารเคมี ^{1/} (positive control)	110.55±3.09	108.91±4.04	105.64±2.25a	107.10±2.18ab	108.64±2.41
น้ำกลั่น (negative control)	112.94±2.41	108.43±0.50	106.59±1.59ab	109.05±0.84b	110.20±2.95
F-test ^{4/}	ns	ns	*	*	ns
%CV	2.93	2.16	1.26	3.44	3.90

^{1/} สารเคมี คาร์เบนดาซิม อัตราส่วน 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

^{2/} ช่วงเวลาที่วัดปริมาณ phenolic compound ที่ 0, 24, 72, 120 และ 240 ชั่วโมง หลังปลูกเชื้อรา *S. ampelinum*

^{3/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความน่าจะเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{4/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

4.2.3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณ phenolic compound

จากการศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบในองุ่นพบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม มีปริมาณ phenolic compound เท่ากับ 9.25 ± 0.01 , 9.26 ± 0.00 และ 9.26 ± 0.01 $\mu\text{g GAE g}^{-1}$ fresh weight โดยมีความปริมาณสาร phenolic มากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ ที่มีปริมาณ phenolic เท่ากับ 9.24 ± 0.01 $\mu\text{g GAE g}^{-1}$ fresh weight ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่าทุกกรรมวิธีการทดลองมีปริมาณสาร phenolic ลดลง ดังตารางที่ 4.8

จากการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าหลังจากการพ่น SecCaSUT007 และไคโตซานทั้งหมด 7 ครั้ง (ที่เวลา 0 ชั่วโมง) และหลังจากทำการพ่นเชื้อราสาเหตุโรค 24 ชั่วโมง ทุกกรรมวิธีมีปริมาณ phenolic compound เพิ่มขึ้น และลดลงอีกครั้งที่เวลา 120 ชั่วโมง ซึ่งช่วงเวลาดังกล่าว มีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค เเปอร์เซ็นต์การลดโรค และระยะเวลาในการแสดงออกของโรคสแคบ หลังจากพ่นด้วยกรรมวิธีการทดลองต่าง ๆ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.8 ปริมาณสาร phenolic compound ในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *S. ampelinum*

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณ phenolic compound ($\mu\text{g GAE g}^{-1}$ fresh weight) ^{1/}				
	ช่วงเวลา (ชั่วโมง) ^{2/}				
	0	24	72	120	240
SecCaSUT007	$9.19 \pm 0.00\text{a}^{3/}$	$9.25 \pm 0.01\text{ab}$	$9.17 \pm 0.00\text{b}$	$9.33 \pm 0.07\text{ab}$	$9.29 \pm 0.03\text{b}$
Chitosan	$9.21 \pm 0.01\text{b}$	$9.26 \pm 0.00\text{c}$	$9.20 \pm 0.00\text{c}$	$9.38 \pm 0.09\text{b}$	$9.23 \pm 0.00\text{a}$
สารเคมี ^{1/} (positive control)	$9.19 \pm 0.00\text{a}$	$9.26 \pm 0.01\text{bc}$	$9.15 \pm 0.01\text{a}$	$9.25 \pm 0.01\text{a}$	$9.27 \pm 0.01\text{b}$
น้ำกลั่น (negative control)	$9.21 \pm 0.01\text{b}$	$9.24 \pm 0.01\text{a}$	$9.16 \pm 0.00\text{b}$	$9.25 \pm 0.02\text{a}$	$9.29 \pm 0.02\text{b}$
F-test ^{4/}	**	*	**	*	**
%CV	0.06	0.10	0.04	0.59	0.00

^{1/} สารเคมี คาร์เบนดาซิม อัตราส่วน 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

^{2/} ช่วงเวลาที่วัดปริมาณ phenolic compound ที่ 0, 24, 72, 120 และ 240 ชั่วโมง หลังปลูกเชื้อรา *S. ampelinum*

^{3/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย \pm S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความน่าจะเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{4/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

4.2.2.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณ lignin

จากการศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบในองุ่นพบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน มีปริมาณ lignin เท่ากับ 82.12 ± 0.98 และ $82.81 \pm 0.44 \mu\text{g g}^{-1}$ dry weight ตามลำดับซึ่งมากกว่าชุดควบคุม ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม มีปริมาณ lignin เท่ากับ $81.61 \pm 1.12 \mu\text{g g}^{-1}$ dry weight ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีปริมาณ lignin เท่ากับ $81.64 \pm 0.99 \mu\text{g g}^{-1}$ dry weight และที่เวลา 72 ชั่วโมง หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ทุกกรรมวิธีมีปริมาณสาร lignin ลดลง (ตารางที่ 4.9)

จากการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าหลังจากการพ่น SecCaSUT007 และไคโตซานทั้งหมด 7 ครั้ง (ที่เวลา 0 ชั่วโมง) และหลังจากทำการพ่นเชื้อราสาเหตุโรค 24 ชั่วโมง ทุกกรรมวิธีมีปริมาณ lignin สูงขึ้น และจะลดลงอีกครั้งที่เวลา 72 ชั่วโมง นอกจากนี้ปริมาณของ lignin ยังมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นและลดลงตามปริมาณของ SA เช่นเดียวกับการชักนำความต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคราน้ำค้าง อีกด้วย ซึ่ง ปริมาณสารในช่วงเวลาดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของโรค เปอร์เซ็นต์การลดโรค และระยะเวลาในการแสดงออกของโรคราน้ำค้าง หลังจากพ่นด้วยกรรมวิธีการทดลองต่าง ๆ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.9 ปริมาณสาร lignin ใน ใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *S. ampelinum*

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณ lignin ($\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight)				
	ช่วงเวลา (ชั่วโมง) ^{2/}				
	0	24	72	120	240
SecCaSUT007	77.37 \pm 0.14	82.12 \pm 0.98	78.55 \pm 0.36b ^{3/}	80.26 \pm 0.60a	80.85 \pm 0.45a
Chitosan	77.44 \pm 0.22	82.81 \pm 0.44	77.51 \pm 0.13a	81.62 \pm 0.47b	81.38 \pm 0.64a
สารเคมี ^{1/} (positive control)	77.48 \pm 0.14	81.61 \pm 1.12	79.30 \pm 0.39c	81.56 \pm 0.25b	82.65 \pm 0.51b
น้ำกลั่น (negative control)	77.30 \pm 0.32	81.64 \pm 0.99	77.43 \pm 0.21a	80.52 \pm 0.92a	82.26 \pm 0.47b
F-test ^{4/}	ns	ns	**	*	*
%CV	0.27	1.12	0.40	0.69	0.57

^{1/} สารเคมี คาร์เบนดาซิม อัตราส่วน 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

^{2/} ช่วงเวลาที่วัดปริมาณ phenolic compound ที่ 0, 24, 72, 120 และ 240 ชั่วโมง หลังปลูกเชื้อรา *S. ampelinum*

^{3/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย \pm S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{4/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

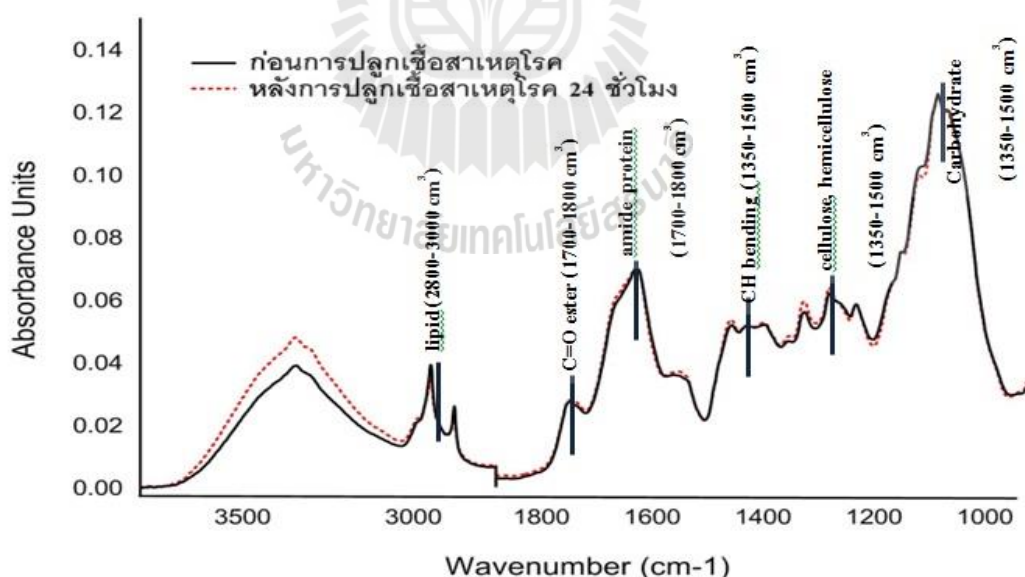
4.2.4 การศึกษาสารชีวเคมีที่เปลี่ยนแปลงไปในกลไกปกป้องตนเองขององุ่นด้วยเทคนิค

Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

สำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมี ด้วยเทคนิค FT-IR นั้นได้ทำการศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่นต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบเพียงชนิดเดียว

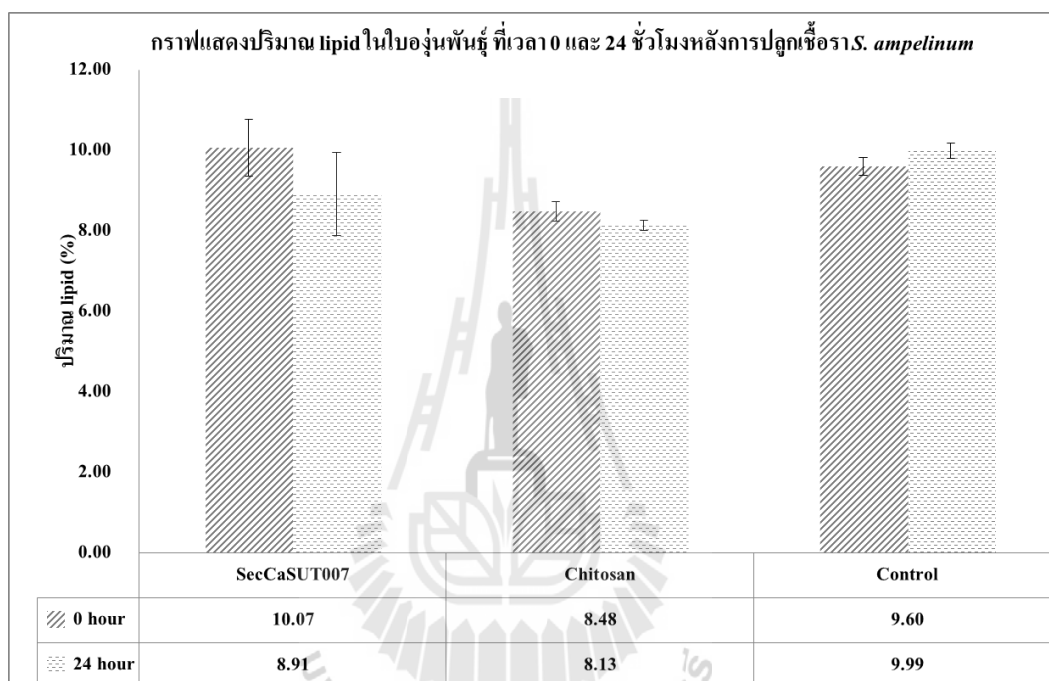
4.2.4.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Infrared (IR) Spectrometer

ทำการศึกษากการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีในใบองุ่นหลังจากการพ่น SecCaSUT007 และโคโตซานทั้งหมด 7 ครั้ง (ที่เวลา 0 ชั่วโมง) เทียบกับ ที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $600-4000\text{ cm}^{-1}$ โดยแบ่งกลุ่มสารชีวเคมีออกเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่ม lipid (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $2800-3000\text{ cm}^{-1}$) กลุ่ม C=O ester (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $1700-1800\text{ cm}^{-1}$) กลุ่ม amide protein (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $1500-1700\text{ cm}^{-1}$) กลุ่ม CH bending (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $1350-1500\text{ cm}^{-1}$) cellulose, hemicellulose (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $1200-1350\text{ cm}^{-1}$) และกลุ่ม carbohydrate (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $900-1200\text{ cm}^{-1}$) (ภาพที่ 4.3)



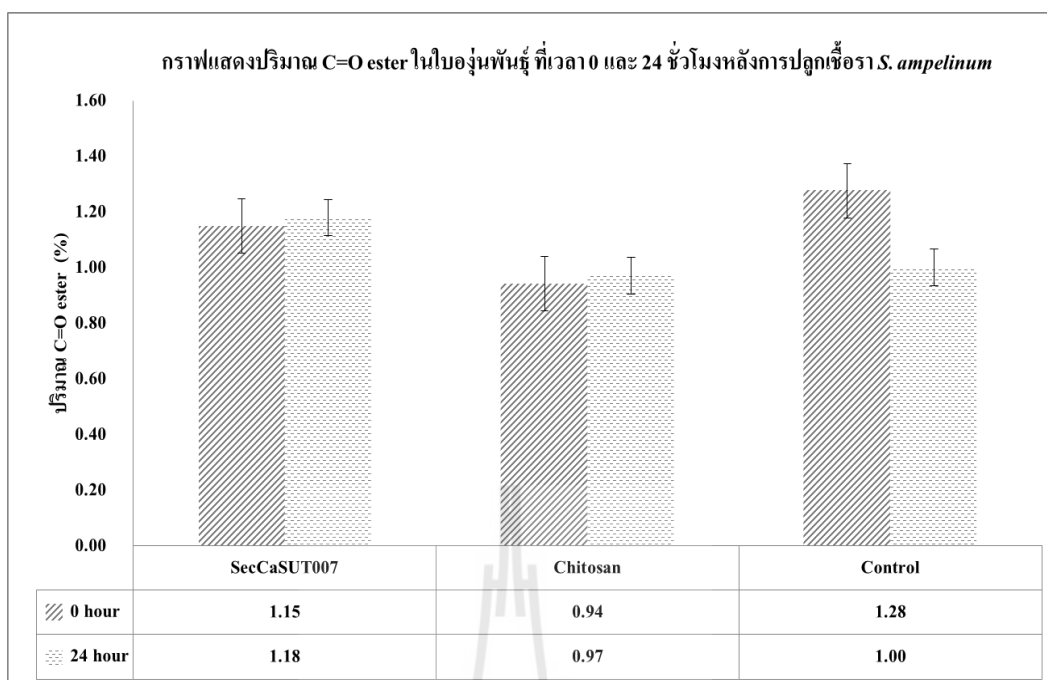
ภาพที่ 4.3 Spectra แสดงช่วงของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $600-4000\text{ cm}^{-1}$ ของสารชีวเคมีกลุ่มต่างๆ

จากการศึกษากลไกป้องกันเอง ด้วยเทคนิค FT-IR พบว่า หลังจากการพ่น SecCaSUT007 และ ไคโตซานทั้งหมด 7 ครั้ง (ที่เวลา 0 ชั่วโมง) เทียบกับที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังปลูกเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่มีความสำคัญในกระบวนการชักนำให้เกิดความต้านทานพบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 และไคโตซาน มีปริมาณ lipid (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ $2800-3000\text{ cm}^{-1}$) ลดลงเท่ากับ 8.91 และ 8.13% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีปริมาณ lipid เพิ่มขึ้น เท่ากับ 9.99% (ภาพที่ 4.4)



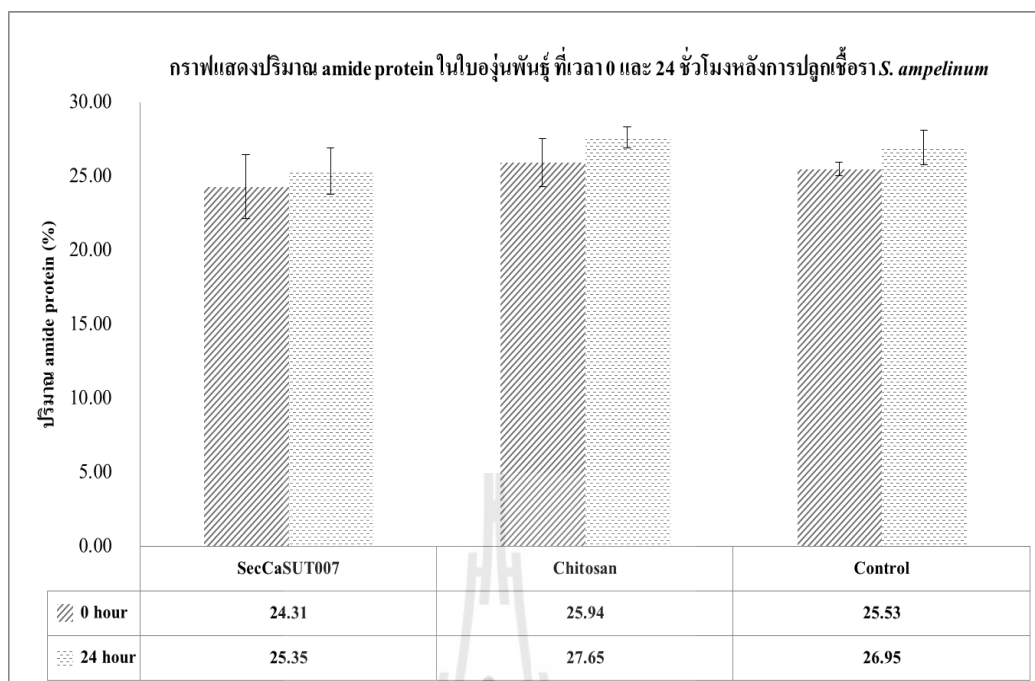
ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ lipid ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ

ถัดมา พบว่ากรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 และไคโตซานมีปริมาณสารในกลุ่ม C=O ester (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $1700-1800\text{ cm}^{-1}$) เพิ่มขึ้นเท่ากับ 1.18 และ 0.97% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีปริมาณสารในกลุ่ม C=O ester ลดลง เท่ากับ 1.00% (ภาพที่ 4.5)



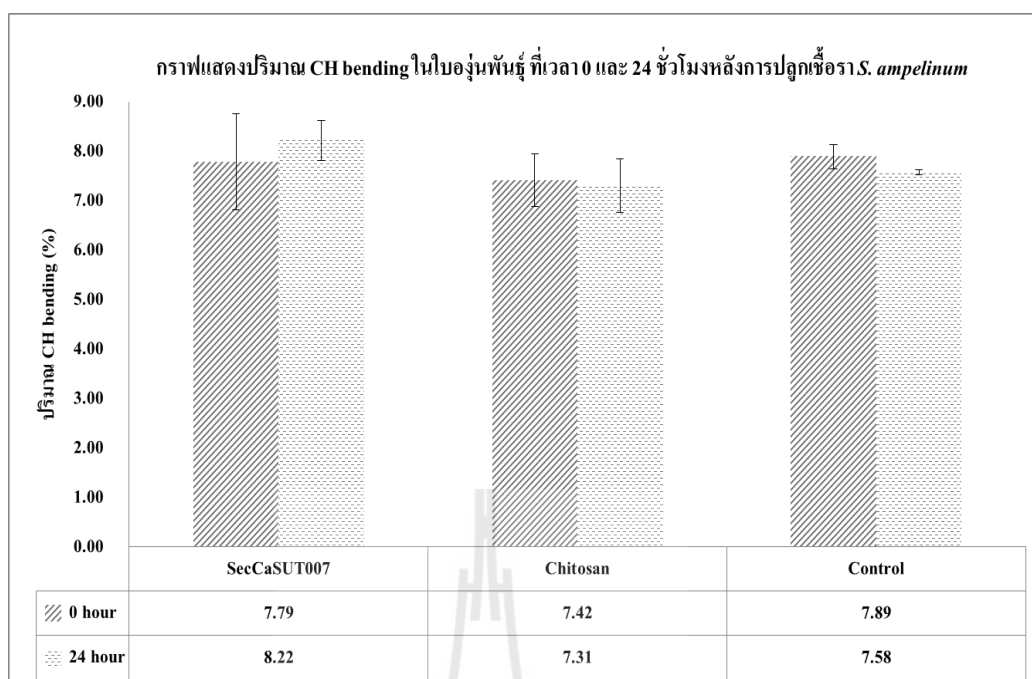
ภาพที่ 4.5 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ C=O ester ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูซีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ

สารในกลุ่มของ amide protein (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $1500-1700\text{ cm}^{-1}$) พบว่า ทุกกรรมวิธีมีปริมาณของสารเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ ที่เวลา 0 ชั่วโมง โดยกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน มีปริมาณ สารมากที่สุดเท่ากับ 25.35% รองลงมาคือกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 เท่ากับ 26.95 และ 25.35% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6)



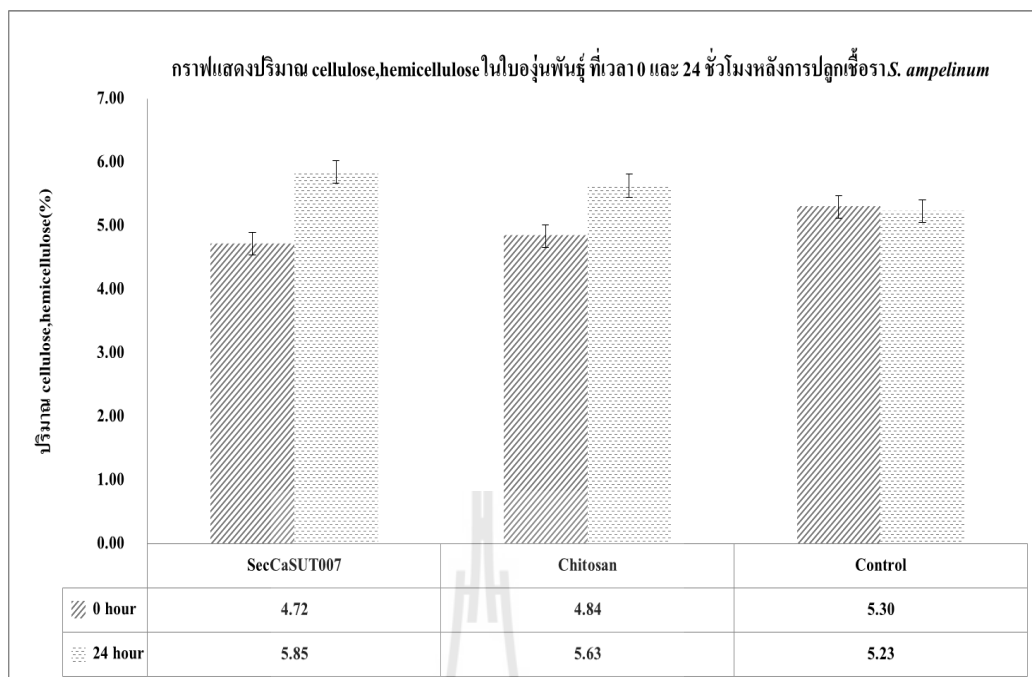
ภาพที่ 4.6 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ amide protein ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารู้ชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ

ขณะเดียวกัน พบว่าหลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 24 ชั่วโมง ปริมาณสารในกลุ่ม CH bending (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น $1350-1500\text{ cm}^{-1}$) ของกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 มีปริมาณสารเพิ่มขึ้นเท่ากับ 8.22% ในขณะที่ กรรมวิธีใช้ไคโตซานและกรรมวิธีควบคุม มีปริมาณสารในกลุ่มลดลงเท่ากับ 7.31 และ 7.58% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7)



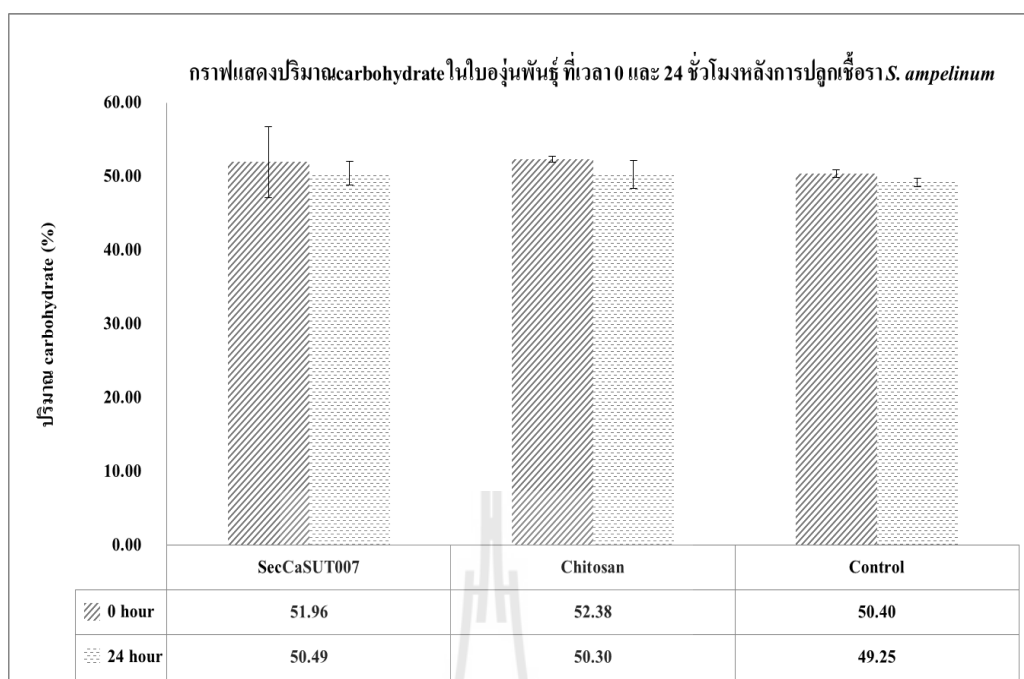
ภาพที่ 4.7 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ CH bending ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบอ่อนพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ

ถัดมาสารในกลุ่ม cellulose, hemicellulose (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ $1200-1350\text{ cm}^{-1}$) พบว่าหลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ 24 ชั่วโมง กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 และ ไคโตซาน มีปริมาณสารในกลุ่มนี้เพิ่มขึ้น เท่ากับ 5.85 และ 5.63% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีปริมาณ cellulose, hemicellulose ลดลง เท่ากับ 5.23% (ภาพที่ 4.8)



ภาพที่ 4.8 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ cellulose, hemicellulose ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ

และสารในกลุ่ม carbohydrate (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ $900-1200\text{ cm}^{-1}$) พบว่าทุกกรรมวิธีการทดลองมีปริมาณสารในกลุ่มนี้ลดลงเมื่อเทียบกับช่วงเวลาที่ 0 ชั่วโมง โดยกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน และกรรมวิธีควบคุม มีปริมาณสารในกลุ่ม carbohydrate เท่ากับ 50.49, 50.30 และ 49.25% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.9)



ภาพที่ 4.9 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ carbohydrate ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบอ่อนงุ่นพันธุ์ มารูซีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ และอิลิซิเตอร์ชนิด ไคโตซาน ในการชักนำความต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคที่เกิดจากเชื้อรา ในสภาพแปลงทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไคโตซานในการชักนำความต้านทานในสภาพแปลงทดลอง โดยเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีแคบแทน อัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร สลับกับ สารเคมีคาร์เบนดาซิม อัตราส่วน 6 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร โคนทำการพ่นสัปดาห์ละ 7 วัน โดยทำการฉีดพ่นในช่วงระยะแตกใบอ่อนติดผลอ่อน จนถึงระยะสุกแก่ ทำการทดสอบ 2 ฤดูกาล ตัดแต่ง ได้แก่ฤดูฝนและฤดูหนาว โดยประเมินความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อราที่สำคัญ ได้แก่ โรคราน้ำค้าง โรคสแคบ โรคแอนแทรคโนส และโรคราสนิมทุก ๆ 14 วัน โดยทำการประเมินความเสียหายทั้งต้นโดยผลการทดสอบในฤดูการตัดแต่งที่ 1 ช่วงฤดูฝน ระยะแตกใบอ่อนติดผลอ่อน พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน มีความรุนแรงของโรคสแคบน้อยที่สุดที่ระดับ 2.30 ± 0.22 รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี และ กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 ซึ่งมีความรุนแรง 2.37 ± 0.25 และ 2.96 ± 0.07 ตามลำดับ ถัดมาพบว่า กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 มีความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส น้อยที่สุดที่ 1.65 ± 0.23 รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี และไคโตซานความรุนแรง 1.70 ± 0.18 และ 1.83 ± 0.00 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม กรรมวิธีดังกล่าวมีความแตกต่าง

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติยิ่ง เมื่อเทียบกับชุดความคุมที่ใช้ น้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อซึ่งมีความรุนแรงของโรคสแคบและแอนแทรกโนส 3.13 ± 0.22 และ 2.30 ± 0.18 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.10)

ในระยะสุกแก่ พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี ไม่พบการเกิดโรคราน้ำค้าง ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน มีความรุนแรงเทียบเท่ากับชุดควบคุมที่ 0.13 ± 0.29 ถัดมาพบว่า สารเคมีมีความรุนแรงของโรคราสนิมน้อยที่สุด เท่ากับ 1.91 ± 0.50 รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซานและกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 มีความรุนแรงเท่ากับ 1.87 ± 0.96 และ 2.58 ± 0.74 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ที่มีความรุนแรงเท่ากับ 2.80 ± 0.44 ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซานมีระดับความรุนแรงน้อยที่สุดที่ 2.18 ± 0.62 รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี และกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 ที่มีความรุนแรงเท่ากับ 2.27 ± 0.19 และ 2.29 ± 0.32 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีความรุนแรงเท่ากับ 3.00 ± 0.57 และสำหรับ โรคแอนแทรกโนส พบว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีมีความรุนแรงของโรคน้อยที่สุด 2.24 ± 0.19 รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน เท่ากับ 3.58 ± 0.42 และ 3.82 ± 0.46 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีความรุนแรงเท่ากับ 3.98 ± 0.30 (ตารางที่ 4.11)

สำหรับผลการทดสอบ ในฤดูการตัดแต่งที่ 2 ช่วงฤดูหนาว ระยะแตกใบอ่อนติดผลอ่อน พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีมีระดับความรุนแรงของโรคราน้ำค้างน้อยที่สุดเท่ากับ 1.00 ± 0.26 รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน เท่ากับ 2.00 ± 0.44 และ 2.23 ± 0.60 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีความรุนแรงเท่ากับ 2.33 ± 0.33 ถัดมาความรุนแรงของโรคราสนิมพบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีมีระดับความรุนแรงน้อยที่สุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และ กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน มีระดับความรุนแรง เท่ากับ 0.22 ± 0.30 , 0.59 ± 0.06 และ 0.66 ± 0.24 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีความรุนแรงเท่ากับ 0.69 ± 0.24 ขณะที่ความรุนแรงของโรคสแคบ พบว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมี มีระดับความรุนแรงน้อยที่สุด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน และกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 โดยมีระดับความรุนแรงที่ 0.80 ± 0.14 , 1.22 ± 0.45 และ 1.52 ± 0.64 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีความรุนแรงเท่ากับ 2.31 ± 0.42 ถัดมาความรุนแรงของแอนแทรกโนส พบว่าสารเคมีมีระดับความรุนแรงน้อยที่สุด เท่ากับ 0.41 ± 0.37 รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน โดยมีระดับความรุนแรงที่ 0.78 ± 0.18 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และชุดความคุมซึ่งมีความรุนแรงของโรคที่ 1.09 ± 0.59 และ 1.09 ± 0.55 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.12)

ถัดมาระยะสุกแก่ พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี มีระดับความรุนแรงของโรคราน้ำค้างน้อยที่สุด เท่ากับ 1.24 ± 0.32 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม รองลงมาคือ

กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน โดยมีระดับความรุนแรงเท่ากับ 2.96 ± 0.86 และ 3.00 ± 0.64 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ที่มีความรุนแรงเท่ากับ 3.21 ± 0.86 นอกจากนี้ พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี มีความรุนแรงของโรคราสนิมน้อยที่สุด เท่ากับ 0.33 ± 0.39 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน โดยมีระดับความรุนแรงเท่ากับ 1.54 ± 0.57 และ 1.58 ± 0.57 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ที่มีความรุนแรงเท่ากับ 1.67 ± 0.86 ขณะที่ระดับความรุนแรงของโรคสแคบพบที่ กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี มีระดับความรุนแรงน้อยที่สุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน โดยมีระดับความรุนแรงที่ 0.79 ± 0.15 และ 1.42 ± 0.40 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 1.75 ± 0.77 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ที่มีความรุนแรงเท่ากับ 1.83 ± 0.65 และสำหรับระดับความรุนแรงของแอนแทรกโนส พบว่ากรรมวิธีที่ใช้สารเคมีมีระดับความรุนแรงน้อยที่สุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน โดยมีระดับความรุนแรงที่ 0.92 ± 0.32 , 1.38 ± 0.99 และ 1.50 ± 0.57 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ที่มีความรุนแรงเท่ากับ 2.04 ± 0.95 (ตารางที่ 4.13)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในทั้ง 2 ฤดูกาลตัดแต่ง สาร SecCaSUT007 สามารถควบคุมโรคน้ำค้างได้อย่างมีประสิทธิภาพ ขณะที่กรรมวิธีที่ไคโตซาน สามารถควบคุมโรคสแคบได้อย่างมีประสิทธิภาพ ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมี แคปแทน และคาร์เบนดาซิม ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องและเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองในสภาพเรือนทดลอง และนอกจากสาร SecCaSUT007 และไคโตซาน สามารถชักนำให้อองุ่นมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. ampelopsidis* สาเหตุโรคราสนิมอองุ่นและ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคใบจุดและผลเน่าในอองุ่นได้ อย่างไรก็ตามระดับความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อราในอองุ่น และความสามารถในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราในสภาพแปลงทดลองนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝนและความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละช่วงฤดูกาลตัดแต่งด้วย

ตารางที่ 4.10 ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราในสภาพแปลงทดลองช่วงฤดูฝน ระยะติดแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน

กรรมวิธีการทดลอง	ระยะติดแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน ^{1/}				เปอร์เซ็นต์ การลดโรค (%) ^{2/}			
	รำน้าค้าง	ราสนิม	สแคบ	แอนแทรคโนส	รำน้าค้าง	ราสนิม	สแคบ	แอนแทรคโนส
SecCaSUT007 1,000 ppm	-	-	2.96±0.07 b 3/	1.65±0.23 a	-	-	5	30
Chitosan 1,000 ppm	-	-	2.30±0.22 a	1.83±0.00 a	-	-	27	20
สารเคมี (control +)	-	-	2.37±0.25 a	1.70±0.18 a	-	-	24	26
น้ำกลั่น ชุดควบคุม (control -)	-	-	3.13±0.22 b	2.30±0.18 b	-	-	-	-
F-test ^{4/}	-	-	**	**	-	-	-	-
CV%	-	-	7.89	8.46	-	-	-	-

^{1/} คะแนนระดับความรุนแรงของโรคทั้งต้น พื้นที่ใบเสียหาย 1-5 ดังนี้ ระดับคะแนน 0 ไม่ปรากฏอาการ, 0.1-2 ความเสียหายน้อยกว่า 25%, 2.1-3 ความเสียหาย 26-50%, 3.1-4 ความเสียหาย 51-75% และ 4.1-5 ความเสียหายมากกว่า 75%

^{2/} Percent reduction of diseases (%) = $\frac{(\text{Negative control} - \text{Treatment}) \times 100}{\text{Negative control}}$

^{3/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{4/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 4.11 ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราในสภาพแปลงทดลองช่วงฤดูฝน ระยะสุกแก่

กรรมวิธีการทดลอง	ระยะติดต่อกับอ่อนถึงติดผลอ่อน ^{1/}				เปอร์เซ็นต์ การลดโรค (%) ^{2/}			
	รำน้ำค้าง	ราสนิม	สแคบ	แอนแทรคโนส	รำน้ำค้าง	ราสนิม	สแคบ	แอนแทรคโนส
SecCaSUT007 1,000 ppm	-	2.58±0.74	2.29±0.32	3.58±0.42 b ^{3/}	-	8	24	10
Chitosan 1,000 ppm	0.13±0.29	1.87±0.69	2.18±0.62	3.82±0.46 b	0	33	27	4
สารเคมี (control +)	-	1.91±0.51	2.27±0.19	2.24±0.34 a	-	32	24	44
น้ำกลั่น ชุดควบคุม (control -)	0.13±0.29	2.80±0.44	3.00±0.57	3.98±0.30 b				
F-test ^{3/}	ns	ns	ns	**				
CV%	21.68	29.55	25.70	11.09				

^{1/} คะแนนระดับความรุนแรงของโรคทั้งต้น พื้นที่ใบเสียหาย 1-5 ดังนี้ ระดับคะแนน 0 ไม่ปรากฏอาการ, 0.1-2 ความเสียหายน้อยกว่า 25%, 2.1-3 ความเสียหาย 26-50%, 3.1-4 ความเสียหาย 51-75% และ 4.1-5 ความเสียหายมากกว่า 75%

$$^2/ \text{Percent reduction of diseases (\%)} = \frac{(\text{Negative control} - \text{Treatment}) \times 100}{\text{Negative control}}$$

^{3/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{4/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 4.12 ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราในสภาพแปลงทดลองช่วงฤดูหนาว ระยะติดแตกใบอ่อน ถึงติดผลอ่อน

กรรมวิธีการทดลอง	ระยะติดแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน ^{1/}				เปอร์เซ็นต์ การลดโรค (%) ^{2/}			
	รำน้าค้าง	ราสนิม	สแคบ	แอนแทรคโนส	รำน้าค้าง	ราสนิม	สแคบ	แอนแทรคโนส
SecCaSUT007 1,000 ppm	2.20±0.44 b ^{3/}	0.59±0.06 b	1.52±0.64 b	1.09±0.59 b	6	14	34	0
Chitosan 1,000 ppm	2.23±0.60 b	0.66±0.24 b	1.22±0.45 ab	0.78±0.18 ab	4	4	47	28
สารเคมี (control +)	1.00±0.26 a	0.22±0.30 a	0.80±0.14 a	0.41±0.37 a	57	68	65	62
น้ำกลั่น ชุดควบคุม (control -)	2.33±0.33 b	0.69±0.24 b	2.31±0.42 c	1.09±0.55 b				
F-test ^{3/}	**	*	*	*				
CV%	21.13	34.64	21.22	43.9				

^{1/} คะแนนระดับความรุนแรงของโรคทั้งต้น พื้นที่ใบเสียหาย 1-5 ดังนี้ ระดับคะแนน 0 ไม่ปรากฏอาการ, 0.1-2 ความเสียหายน้อยกว่า 25%, 2.1-3 ความเสียหาย 26-50%, 3.1-4 ความเสียหาย 51-75% และ 4.1-5 ความเสียหายมากกว่า 75%

$$^2/ \text{Percent reduction of diseases (\%)} = \frac{(\text{Negative control} - \text{Treatment}) \times 100}{\text{Negative control}}$$

^{3/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{4/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 4.13 ประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราในสภาพแปลงทดลองช่วงฤดูหนาว ระยะสุกแก่

กรรมวิธีการทดลอง	ระยะติดแต่ไบบอ่อนถึงติดผลอ่อน ^{1/}				เปอร์เซ็นต์ การลดโรค (%) ^{2/}			
	ราน้ำค้าง	ราสนิม	สแคบ	แอนแทรคโนส	ราน้ำค้าง	ราสนิม	สแคบ	แอนแทรคโนส
SecCaSUT007 1,000 ppm	2.96±0.86 b ^{3/}	1.54±0.57 b	1.75±0.77 b	1.38±0.99	8	8	4	32
Chitosan 1,000 ppm	3.00±0.64 b	1.58±0.57 b	1.42±0.57 ab	1.50±0.57	7	5	22	26
สารเคมี (control +)	1.42±0.32 a	0.33±0.39 a	0.79±0.15 a	0.92±0.32	61	80	57	55
น้ำกลั่น ชุดควบคุม (control -)	3.21±0.86 b	1.67±0.00 b	1.83±0.65 b	2.04±0.95				
F-test ^{3/}	*	**	*	ns				
CV%	25.03	37.35	35.10	41.72				

^{1/} คะแนนระดับความรุนแรงของโรคทั้งต้น พื้นที่ใบเสียหาย 1-5 ดังนี้ ระดับคะแนน 0 ไม่ปรากฏอาการ, 0.1-2 ความเสียหายน้อยกว่า 25%, 2.1-3 ความเสียหาย 26-50%, 3.1-4 ความเสียหาย 51-75% และ 4.1-5 ความเสียหายมากกว่า 75%

^{2/} Percent reduction of diseases (%) = $\frac{(\text{Negative control} - \text{Treatment}) \times 100}{\text{Negative control}}$

^{3/} ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ที่ 0.05 โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test

^{4/} ** = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.01, * = แตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

บทที่ 5

สรุปผลและวิจารณ์การทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 ที่สกัดจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และไคโตซาน ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่น พบว่า

5.1 ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาร SecCaSUT007 ในการควบคุมโรคราน้ำค้าง องุ่นสภาพใบตัด

ภายในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm เป็นความเข้มข้นน้อยที่สุด ที่สามารถลดความรุนแรงของโรคและจำนวนการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างได้ดีที่สุด ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 ความเข้มข้น 1500 ppm ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่นำมาใช้ในการทดลอง อย่างไรก็ตามจากการวัดความรุนแรงของโรค และจำนวนแผลของในกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 ที่ความเข้มข้น 1500 ppm มีค่าเฉลี่ยมากกว่าเนื่องจากกรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 ที่ความเข้มข้น 1000 ppm เนื่องจากลักษณะของแผลมีการกระจายตัวออกเป็นจุดเล็กๆ ทั่วพื้นที่ใบ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมที่มีลักษณะของแผลที่มีการกระจายตัวน้อย แต่มีพื้นที่ความเสียหายของใบค่อนข้างมาก

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไคโตซานในการชักนำความต้านทาน

พบว่า สิ่งกระตุ้นทั้ง 2 ชนิด มีความสามารถในการชักนำความต้านทานแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อสาเหตุโรคที่เข้าทำลายองุ่น

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้นทั้ง 2 ชนิดในการชักนำความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง พบว่า หลังจากฉีดพ่นสิ่งกระตุ้นจำนวน 7 ครั้ง แต่ละครึ่งห่างกัน 7 วัน และทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค จากนั้นประเมินระดับความรุนแรงของโรคที่เวลา 10 วันหลังการปลูกเชื้อ กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 1.50 ± 0.58 สามารถลดการเกิดโรคได้ 40% ซึ่งเทียบเท่ากับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีแคปแทน อัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อย่างไรก็ตาม เมื่อเทียบกับระยะเวลาที่โรคเริ่มแสดงอาการพบว่า กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 มีการแสดงออกของโรคในวันที่ 4 หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีแคปแทน มีการแสดงออกของ

โรคในวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้โคโตซาน มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 2.00 ± 0.82 สามารถลดการเกิดโรคได้ 20% และเริ่มแสดงอาการของโรคในวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค

สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพของสิ่งกระตุ้น ในการชักนำความต้านทานต่อโรคสแคบ พบว่า กรรมวิธีที่ใช้โคโตซาน มีระดับความรุนแรงเท่ากับ 1.75 ± 0.50 สามารถลดการเกิดโรคได้ 30% ซึ่งมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีคาร์เบนดาซิม อัตราส่วน 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ระดับความรุนแรงเท่ากับ 1.50 ± 0.58 สามารถลดการเกิดโรคได้ 40% แต่เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่โรคเริ่มแสดงอาการ พบว่า กรรมวิธีที่ใช้โคโตซาน เริ่มมีการแสดงออกของโรคในวันที่ 5 หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี เริ่มมีการแสดงออกของโรคในวันที่ 4 หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค นอกจากนี้ กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.00 ± 0.00 สามารถลดการเกิดโรคได้ 20% โดยพบอาการของโรคแสดงออกในวันที่ 4 หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งผลการทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 ในการกระตุ้นความต้านทานต่อเชื้อราทั้ง 2 ชนิดในครั้งนี้ สอดคล้องกับ Pyoung-II และคณะในปี (2010) ที่รายงานว่า สารลิโปเปปไทด์ ในกลุ่มของ iturin A, fengycin และ surfactin A ที่สกัดจากเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในสกุล *Bacillus* สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้หลายชนิด ได้แก่ *F. solani* สายพันธุ์ KCTC 6438, *Botrytis cinerea* สายพันธุ์ KACC 40573, *F. oxysporum* KACC 40037, *R. solani* สายพันธุ์ KACC 40151 และ *Phytophthora capsici* สายพันธุ์ KACC 40157 ได้ เมื่อทดสอบด้วยวิธี pairing cultures บนอาหาร PDA ถัดมาในปี 2010 Hassan และคณะ ได้กล่าวว่า ลิโปเปปไทด์ ที่สกัดจากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ NH-100, *B. subtilis* สายพันธุ์ NH-160 และ *Bacillus sp.* สายพันธุ์ NH-217 สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. falcatum* สาเหตุโรคเน่าแดงในอ้อยได้ ในปีเดียวกัน Mageshwaran และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารลิโปเปปไทด์ ที่สกัดจากเชื้อ *Paenibacillus polymyxa* สายพันธุ์ HKA-15 ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *phaseoli* สายพันธุ์ M-5 พบว่า สารลิโปเปปไทด์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. bataticola*, *Macrophomina phaseolina* and *F. udum* นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *phaseoli* สายพันธุ์ M-5, *X. campestris* pv. *phaseoli* สายพันธุ์ CP-1-1, *X. oryzae*, *Ralstonia solanacearum* และ *Micrococcus luteus* ได้ ต่อมา Yuan และคณะในปี 2012 ที่ใช้สารสกัดจากเชื้อ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ NJN-6 ซึ่งประกอบด้วยสารในกลุ่มของ iturin และ fengycin ในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* พบว่าสารสกัดปริมาณ 20 มิลลิกรัมสามารถยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ ผลการทดสอบประสิทธิภาพของกรรมวิธีที่ใช้โคโตซาน ในการกระตุ้นความต้านทานโรคราน้ำค้างมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราน้ำค้างได้และมีระยะเวลาการแสดงออกของโรคเทียบเท่ากับสารเคมี เนื่องจาก โคโตซานสามารถชักนำให้พืชผลิตเอนไซม์

chitinase ซึ่งเป็น สารเคมีปฏิภูมิที่พืชสร้างขึ้น เพื่อทำหน้าที่ในการย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (ธัญชนก พูนศิลป์ และคณะ, 2556) แต่เชื้อรา *P. viticola* สาเหตุโรคน้ำค้างในองุ่น เป็นเชื้อราในไฟลัม Oomycota ซึ่งมีส่วนประกอบของผนังเซลล์ประกอบด้วย กลูแคนและเซลลูโลส (ไพโรจน์ จ้วงพานิช, 2525; นุกูล อินทรระสังขา, 2551) จึงเป็นสาเหตุให้ เชื้อรา *P. viticola* เข้าทำลายองุ่นได้ค่อนข้างเร็ว เนื่องจากเอนไซม์ chitinase ไม่สามารถย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราชนิดนี้ได้ (ไพโรจน์ จ้วงพานิช, 2525) ในขณะที่เชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรค สแคบในองุ่น เป็นเชื้อราในไฟลัม Eumycota ซึ่งมีไคตินเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ (ไพโรจน์ จ้วงพานิช, 2525; นุกูล อินทรระสังขา, 2551) จึงทำให้เซลล์ของเชื้อรา *S. ampelinum* ถูกทำลายเอนไซม์ chitinase ซึ่งเป็นสาเหตุให้ กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน มีการแสดงออกของโรคช้ากว่ากรรมวิธีอื่น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Sathiyabama และคณะ (1988) ที่พบว่า เมื่อพ่นไคโตซานที่ความเข้มข้น 1000 ppm สามารถกระตุ้นการสร้างสาร SA และเพิ่มกิจกรรมของ chitinase และ β -1,3-glucanase ภายในเซลล์พืชทำให้ลดการเกิดโรคราสนิมในถั่วลิสงได้ และในปี 2555 อัญชญา ประคองคำ รายงานว่า สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1000 ppm สามารถเพิ่มกิจกรรมของ chitinase และ β -1,3-glucanase ภายในเซลล์องุ่น ส่งผลให้องุ่นสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบได้ 20%

จากการทดลองพบว่า กรรมวิธีที่ใช้สารเคมีในการป้องกัน โรคน้ำค้างและโรคสแคบได้แก่ แคปแทน อัตราส่วน 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และคาร์เบนดาซิม อัตราส่วน 6 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคที่ 1.50 ± 0.58 ซึ่งเป็นระดับความรุนแรงที่น้อยที่สุด แต่ระยะเวลาในการแสดงออกของโรคพบว่า มีการแสดงออกของโรค 3 และ 4 วันตามลำดับซึ่งเร็วกว่ากรรมวิธีที่ใช้ สาร SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซานความเข้มข้น 1000 ppm แสดงให้เห็นว่า สารเคมีมีคุณสมบัติในการยับยั้งการงอกของเชื้อราสาเหตุโรค แต่ไม่มีคุณสมบัติในการชักนำให้เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคในองุ่น

5.3 การศึกษากลไกปกป้องตนเอง

พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซานมีกลไกปกป้องตนเองแตกต่างกันตามชนิดเชื้อสาเหตุโรคที่เข้าทำลาย โดยการตอบสนองต่อกลไกดังกล่าว สามารถบ่งบอกได้จากปริมาณ SA, phenolic compound และ lignin ที่มีผลิตภายในเซลล์พืชซึ่งแสดงออกในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน โดยผลการแสดงออกของสาร SA ที่เพิ่มขึ้นในระยะแรกและลดลง ช่วงเวลาใกล้เคียงกัน โดยช่วงเวลาที่มีความสำคัญที่สุดคือ ช่วงเวลา 24 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค แสดงให้เห็นว่าใบองุ่นเมื่อมีการชักนำให้เกิดความต้านทาน จะมีการสังเคราะห์และสร้างสารชีวเคมีอื่น ๆ ในการปกป้องตนเองและ SA จะเริ่มลดลงเมื่อ องุ่นเริ่มแสดงอาการของโรค ซึ่ง

สอดคล้องกับการทดลองของ Mayers และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาผลของ SA ภายในเซลล์พืชที่มีผลต่อระดับความต้านทานโรคพืชที่เกิดจากเชื้อ cucumber mosaic virus (CMV) ใน squash และ *Arabidopsis thaliana* พบว่า เมื่อทำพ่นสารละลาย 1 mM SA หรือ 50 μ M antimycin A เป็นเวลา 5 วันก่อนปลูกเชื้อไวรัส CMV จะสามารถชักนำให้ squash และ arabidopsis ต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อ CMV นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า 0.2 mM SA สามารถลดการติดเชื้อรา *R. solani* สาเหตุโรคโคนเน่าในมันฝรั่งได้ 73% (Hadi et al., 2010) ต่อมาในปี 2013 Gao และคณะรายงานว่าสาร SA เข้มข้น 0.2 mM สามารถชักนำให้แพร์สร้างเอนไซม์ปกป้องตนเอง อาทิ superoxide dismutase (POD), phenylalanine ammonia lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO), β -1,3-glucanase และ chitinase และ PR-proteins ทำให้แพร์สามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของ โรค Pear Ring Rot จากเชื้อสาเหตุ *Physalospora piricola* ซึ่งสอดคล้องกับ Campos และคณะ (2014) รายงานว่า SA และ gentisic acid (GA) มีผลต่อการชักนำให้มะเขือเทศ มีการแสดงออกของ gene *AtDCL1*, *AtDCL2*, *AtDCL4*, *AtRDR1*, *AtRDR2* และ *AtRDR6* ซึ่งเป็น gene ที่มีความต้านทานต่อ tomato mosaic virus (ToMV), citrus exocortis viroid (CEVd) และเชื้อรา *Gynura aurantiaca* ในมะเขือเทศ

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ phenolic ในกระบวนการปกป้องตนเองต่อเชื้อสาเหตุโรคพบว่ากรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้โคโคซาน ปริมาณ phenolic ที่เปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ทั้งนี้มีรายงานว่า การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ phenolic compound ในใบองุ่น มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ PR protein และเอนไซม์ที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการปกป้องตนเองซึ่งในปี 2002 Joubert และคณะ รายงานว่าปริมาณ phenolic compounds มีผลต่อปริมาณ gene *VirA* ซึ่งเป็น gene ต้านทานใน ยาสูบ และปริมาณ phenolic compounds ยังมีความสัมพันธ์กับ กิจกรรมของ เอนไซม์ PPO, Peroxidase (POX), catalase (CAT) และ IAA oxidase (IAAO), amino acids และ proline มีผลทำให้ pearl millet ต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคราน้ำค้าง จากเชื้อรา *Sclerospora graminicola* (Arun et al., 2010) ในปี 2014 Sanzani และคณะ รายงานว่าการพ่นสาร phenolic บนผลส้ม หลังจากนั้น 6 วัน ทำการพ่นเชื้อรา *Penicillium digitatum* สาเหตุโรค green mould ประเมินผลการทดลอง ที่ 2 และ 4 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค และ และเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 69%–40% และ 85%–70% ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ lignin ในกระบวนการปกป้องตนเองต่อเชื้อสาเหตุโรคพบว่ากรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้โคโคซาน มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ lignin ขึ้นลงตามปริมาณของสาร SA ภายในเซลล์พืช จึงกล่าวได้ว่า ปริมาณ lignin มีความสัมพันธ์กับการเกิด HR, ROS และเอนไซม์ที่สำคัญอื่นๆ (Belinky et al., 2003) สอดคล้องกับ Xu และคณะ (2011) รายงานหลังจากถูกปลูกเชื้อ *Verticillium dahlia* สาเหตุโรคเหี่ยว ในฝ้ายสายพันธุ์อ่อนแอ และสาย

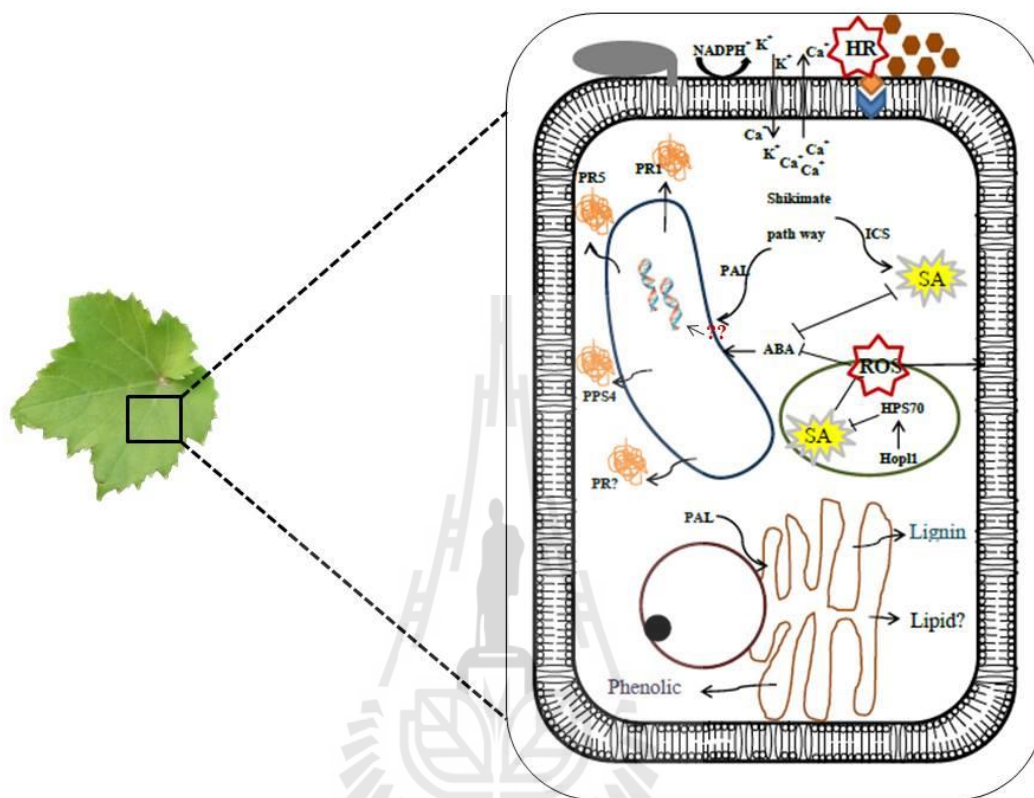
พันธุ์ต้านทาน พบว่ามี lignin เพิ่มขึ้น 5.71 และ 9.92% ตามลำดับ โดยปริมาณ lignin มีความสัมพันธ์กับปริมาณ เอนไซม์ PAL และ POD

เมื่อนำตัวอย่างดังกล่าวมาการประเมินการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารชีวเคมีภายในเซลล์พืชเพื่อศึกษากลไกปกป้องตนเองด้วยเทคนิค FT-IR พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 และกรรมวิธีที่ใช้ไคโตซานการเปลี่ยนแปลงไปของสารในกลุ่ม lipid (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ 2800-3000 cm^{-1}), C=O ester (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ 1700-1800 cm^{-1}), amide protein (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ 1500-1700 cm^{-1}), CH bending (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ 1350-1500 cm^{-1}), cellulose, hemicellulose (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ 1200-1350 cm^{-1}) และ carbohydrate (ช่วงการดูดกลืนแสงที่ 900-1200 cm^{-1}) มีความแตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธีการทดลอง และเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาหลังการปลูกเชื้อรา *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ โดยการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ lipid นี้มีความเกี่ยวข้องกับ cell membrane ของใบองุ่น โดยมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ K^+ ซึ่งเป็นสารสำคัญในกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนภายในเซลล์พืช โดยที่พืชจะมีปริมาณไขมันที่ cell membrane เพิ่มขึ้น เมื่อ K^+ ลดลง (Uemura et al., 1994; Tjellström et al., 2010; Welti et al., 2002) ในขณะที่สารในกลุ่ม C=O ester ไม่มีความเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละช่วงเวลา เนื่องจากสารในกลุ่ม C=O ester มีความสอดคล้องกับฮอร์โมนความเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืช (Nowacki et al., 1980; Sitbon et al., 1993; Jensenz et al., 1994) ถัดมาการแสดงออกของสารในกลุ่ม amide protein ในแต่ละช่วงเวลา มีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของ ปริมาณ phenolic compound PR protein และเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการชักนำให้พืชต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค เช่น hydroxyl cinnamoyl-CoA: tyramine N-transferase hydroxycinnamoyl (THT) เป็นเอนไซม์สำคัญในการสังเคราะห์ HCAA ในมะเขือเทศ ทำให้มีปริมาณ SA และมีการแสดงออกของ gene ใน THT เพิ่มขึ้น ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันของมะเขือเทศต่อการติดเชื้อ *P. syringae* (Campos et al., 2014) เช่นเดียวกับ Yogendra และคณะ (2014) ที่รายงานว่า hydroxycinnamic acid amides ชักนำให้มันฝรั่ง สร้างสารในกลุ่ม phenylpropanoid, flavonoid, fatty acid, และ alkaloid มากขึ้น เพื่อต้านทานต่อโรคใบไหม้ ขณะที่การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารในกลุ่ม CH bending เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง หลังจากถูกปลูกเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งสารในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วย ethylene ที่มีความเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืช และกระบวนการสังเคราะห์ของ isoprene ในกระบวนการ ISR และเป็นส่วนประกอบของ ขางไม้ กรดไขมัน ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของ cell membranes ทำให้พืชมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคมมากขึ้น (Sweeting, 1996; Monson et al., 2013; Eggert et al., 2014) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า terpenes มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการเกิด ROS ในเซลล์พืช (Vickers et al., 2009; Loreto et al., 2001) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า cellulose, hemicellulose ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ มีการ

เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งปริมาณ cellulose และ hemicellulose (secondary cell wall) ที่เพิ่มขึ้นสามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้ (Hernández-Blanco et al., 2007; Eggert et al., 2014; Nafisi et al., 2014) และการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ cellulose และ hemicellulose มีความสัมพันธ์กับการเกิด ROS และ phytohormones ในพืชด้วย (Vickers et al., 2009; Loreto et al., 2001) และการเปลี่ยนแปลงไปของปริมาณสารในกลุ่ม carbohydrate Henry และคณะ (2012) กล่าวว่าในกระบวนการป้องกันตนเองของพืช สารในกลุ่ม carbohydrate เป็นแหล่งพลังงานสำคัญในการเกิด pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), microbe-associated molecular patterns (MAMPs), damage-associated molecular pattern (DAMPs) ในกระบวนการ SAR นอกจากนี้ carbohydrate ยังใช้เป็นแหล่งพลังงานในการสร้าง ROS และ PR protein ซึ่งนำไปสู่การเกิด HR ในพืช (Gómez et al., 2008; Rojas et al., 2014; Morkunas et al., 2014) เมื่อพืชมีการแสดงออกของ Amino acid และ PR protein มากขึ้น ปริมาณ carbohydrate จะลดลง (Shoresh et al., 2008; Conrath, 2009; Trouvelot et al., 2014)

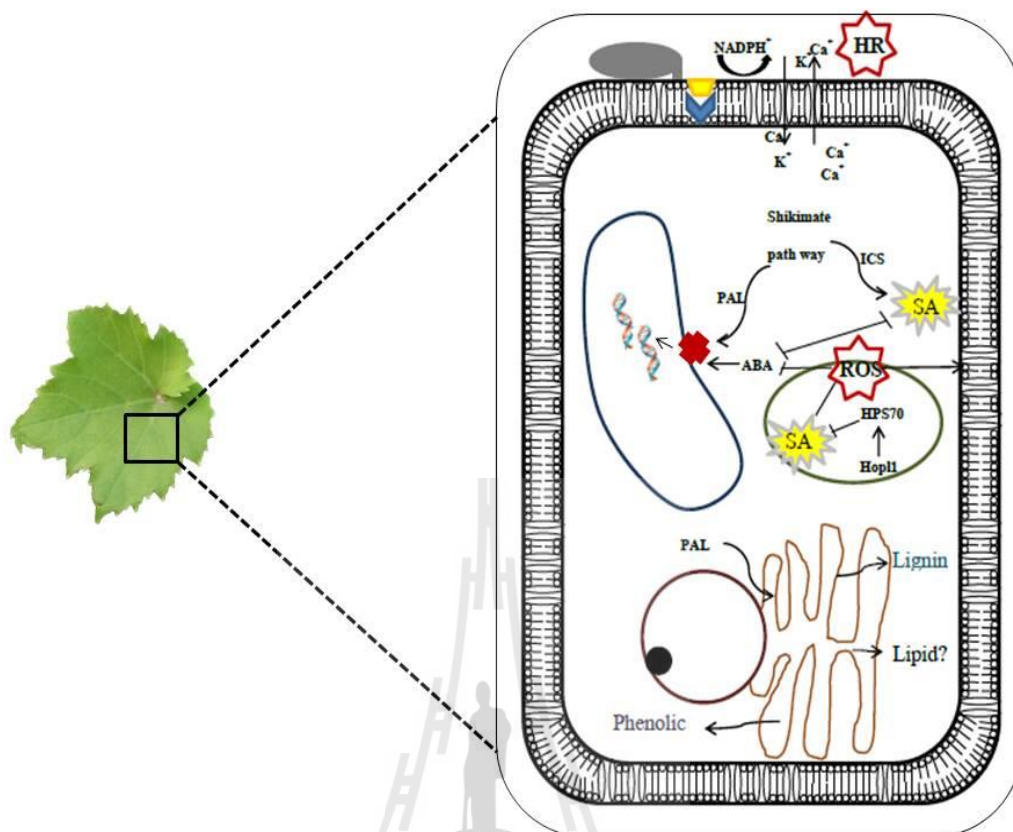
การศึกษากลไกปกป้องตนเองขององุ่น หลังทำพ่นสิ่งกระตุ้นด้วยกรรมวิธีการทดลองต่าง ๆ เพื่อชักนำให้อองุ่นเกิดความต้าน และปลูกเชื้อสาเหตุโรค พบว่า กรรมวิธีที่สามารถชักนำให้อองุ่นเกิดความต้านทานได้ มีกลไกภายในเซลล์ให้อองุ่นเกิดขึ้นดังนี้ หลังจากพ่นสิ่งกระตุ้น (eliciter) ที่มีความสามารถในการชักนำความต้านทาน ภายในเซลล์ให้อองุ่น จะเกิด ion flux ในบริเวณ plasma membrane (Thakur et al., 2013) ขณะเดียวกัน ก็มีการสร้าง SA เป็นสารประกอบ phenolic compound ขนาดเล็กที่มีหน้าที่ส่งสัญญาณ resistance ส่งเคราะห์จาก isochorismate pathway ในคลอโรพลาสต์ มี ICS1 เป็นเอนไซม์ที่สำคัญ แคลเซียมส่งสัญญาณควบคุม (Seyfferth et al., 2014) และส่งออกมาภายนอกคลอโรพลาสต์ เพื่อส่งสัญญาณไปยัง ไมโทคอนเดรีย เพื่อกระตุ้นให้มีการสร้าง PR protein โดยมีการผลิตเอนไซม์ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase (NADPH) ที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ superoxide anion (O_2^-), hydroxyl radical (OH^\cdot), และ hydrogen peroxide (H_2O_2) เป็นจำนวนมาก ทำให้ความเข้มข้นภายในเซลล์สูง ทำให้เกิด ROS ขึ้น (Shapiguzov et al., 2012; Thakur et al., 2013) จากรายงานของ Ashhab และคณะ ในปี 2011 กล่าวว่า ในอองุ่นประกอบไปด้วย gene ด้านทาน 4 ชนิด ได้แก่ *PR1*, *PR5*, *NPR1* และ *PRS4* อย่างไรก็ตาม นอกจาก SA จะส่งสัญญาณไปยัง ไมโทคอนเดรียแล้ว ยังส่งสัญญาณไปยัง นิวเคลียส เพื่อให้สร้างสารชีวเคมี ที่เป็น induced biochemical defense เช่น glycoprotein, fatty acid, carbohydrates peptides และ phytohormones ซึ่งมีความสัมพันธ์กับ โครงสร้างพืชที่เป็น induced structural defenses เช่น cutinase cellulose hemicellulose lignin และ เอนไซม์ต่าง ๆ เช่น β -1,3-glucanase, chitinase, PPO, PAL และ POD เป็นต้น (Vickers et al., 2009; Loreto et al., 2001; Belinky et al., 2003; Miedes et al., 2014; Trouvelot et al., 2014) (ภาพที่ 5.1) อย่างไรก็ตาม การเกิดโรคในอองุ่น จะ

มีการส่งสัญญาณภายในเซลล์เช่นกัน แตกต่างกันในระยะเวลาในการส่งสัญญาณที่นานกว่า และไม่มีกระบวนการสร้าง PR protein ภายในเซลล์ ทำให้อุ่น ไม่เกิดความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค (ภาพที่ 5.2)



(ดัดแปลงจาก Shapiguzov et al., 2012; Denancé et al., 2013; Jones et al., 2013; Seyfferth, et al., 2014; Rojas et al., 2014;)

ภาพที่ 5.1 กลไกการชักนำความต้านทาน (induced resistance) ภายในเซลล์ใบอ่อนหลังการถูกชักนำให้เกิดความต้านทานด้วย SecCaSUT007 และโคโตซาน ซึ่งเมื่อมีการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จะเกิด ion flux ในบริเวณ plasma membrane ขณะเดียวกันภายใน คลอโรพลาสต์จะสร้าง SA และส่งออกมาภายนอกคลอโรพลาสต์ เพื่อส่งสัญญาณไปยัง ไมโทคอนเดรีย เพื่อกระตุ้นให้มีเกิดการสร้าง PR protein ได้แก่ PR1, PR5, NPR1 และ PRS4 ซึ่งในกระบวนการนี้ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระเป็นจำนวนมาก ทำให้เกิด ROS และ HR ขึ้น นอกจากนี้ SA ยังส่งสัญญาณไปยัง นิวเคลียส เพื่อให้สร้างสารชีวเคมี ที่เป็น induced biochemical defense เช่น phenolic compound และโครงสร้างพืชที่เป็น induced structural defenses เช่น lignin lipid หรือ wax ต่างๆ เอนไซม์ต่างๆ เช่น β -1,3-glucan, chitinase, PPO, PAL และ POD เป็นต้น



(ดัดแปลงจาก Shapiguzov et al., 2012; Denancé et al., 2013; Jones et al., 2013; Seyfferth, et al., 2014; Rojas et al., 2014;)

ภาพที่ 5.2 กลไกการเกิดรน้ำค้าง และสแคบ (diseased) ภายในเซลล์ใบอ่อนเมื่อถูกเข้าทำลายด้วยเชื้อราสาเหตุโรค เกิด ion flux ในบริเวณ plasma membrane ขณะเดียวกันภายใน คลอโรพลาสต์จะสร้าง SA และส่งออกมาภายนอกคลอโรพลาสต์ ไปยัง นิวเคลียส เพื่อให้สร้างสารชีวเคมี ที่เป็น induced biochemical defense เช่น phenolic compound และโครงสร้างพืชที่เป็น induced structural defenses เช่น lignin lipid หรือ wax ต่างๆ เอนไซม์ต่างๆ เช่น β -1,3-glucan, chitinase, PPO, PAL และ POD เป็นต้น

5.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสาร SecCaSUT007 และไคโตซานในสภาพแปลงทดลอง

พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 และไคโตซานสามารถลดความรุนแรงของโรคแตกต่างกันไปตามการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคแต่ละชนิด และช่วงฤดูการตัดแต่งที่แตกต่างกัน ดังนี้

ฤดูฝน ในระยะแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 ความรุนแรงของโรค สแคบ และแอนแทรคโนส ได้ 5 และ 30% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซานลดความรุนแรงของโรค สแคบ และแอนแทรคโนส ได้ 27 และ 20% ตามลำดับ ถัดมาในระยะสุกแก่พบว่า กรรมวิธีที่ใช้สาร SecCaSUT007 ไม่พบการเข้าทำลายของโรคราน้ำค้างและสามารถลดความรุนแรงของโรคราสนิม สแคบ และแอนแทรคโนส ได้ 8, 24 และ 10% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ไคโตซาน พบความรุนแรงของโรคราน้ำค้างเทียบเท่ากับชุดควบคุม และสามารถลดความรุนแรงของโรคราสนิม สแคบ และแอนแทรคโนส ได้ 33, 27 และ 4% ตามลำดับ

ฤดูหนาว ในระยะแตกใบอ่อนถึงติดผลอ่อน พบว่า กรรมวิธีที่ใช้ SecCaSUT007 สามารถลดความรุนแรงของโรคราน้ำค้าง โรคราสนิม สแคบ ได้ 6, 14 และ 31% ตามลำดับและมีความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนส เทียบเท่ากับชุดควบคุม ในขณะที่ไคโตซานมีความรุนแรงของโรคราน้ำค้างเท่ากับชุดควบคุม และสามารถลดความรุนแรงของโรคราสนิม สแคบ และแอนแทรคโนส ได้ 4, 46 และ 28% ตามลำดับ ถัดมาในระยะสุกแก่ พบว่า SecCaSUT007 สามารถลดความรุนแรงของโรคราน้ำค้าง โรคราสนิม สแคบ และแอนแทรคโนส ได้ 8, 8, 4 และ 32% ตามลำดับ ในขณะที่ไคโตซานสามารถลดความรุนแรงของโรคราน้ำค้าง โรคราสนิม สแคบ และแอนแทรคโนส ได้ 7, 5, 22 และ 26% ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองนี้คล้อยกับการทดลองในสภาพเรือนทดลอง และสอดคล้องกับ รายงานของ อัญญา ประคองคำ ในปี 2555 รายงานว่า สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1000 ppm สามารถ ทำให้อองุ่นสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *S. ampelinum* สาเหตุโรคสแคบได้อย่างมีประสิทธิภาพ และ Magnin-Robert และคณะ ในปี 2013 ที่รายงานว่าการใช้แบคทีเรียที่มีประโยชน์หลายชนิดร่วมกัน สามารถชักนำให้อองุ่นต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *B. cinerea* ในสภาพแปลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.5 การทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าสาร SecCaSUT007 ที่สกัดจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 ความเข้มข้น 1000 ppm และไคโตซานความเข้มข้น 1000 ppm

สามารถลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่น ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงทดลอง ในขณะที่สารเคมีไม่สามารถลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่นได้ 100% ส่งผลให้เกษตรกร ผู้ปลูกองุ่นในประเทศไทยจำเป็นต้องใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่อง และเพิ่มมากขึ้นในทุกๆปี ดังนั้นการใช้สาร SecCaSUT007 ความเข้มข้น 1000 ppm หรือไคโตซานความเข้มข้น 1000 ppm นีคพ่นสลับกับการใช้สารเคมี ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตขององุ่นอย่างเหมาะสม จึงเป็นวิธีที่น่าสนใจเพื่อลดการใช้สารเคมีในการผลิตองุ่นได้ในอนาคต



รายการอ้างอิง

- กานต์ คำทรัพย์. (2546). ชีววิทยา ความสามารถในการก่อให้เกิดโรค และการควบคุมโดยใช้สารเคมีของเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* de Bary สาเหตุโรคสแคบขององุ่น. **วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**. 134 หน้า.
- กรรณิการ์ เพ็ญนภักดิ์, วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. (2533). โรคเชื้อราขององุ่นที่พบใหม่. **หนังสือพิมพ์กสิกร**. 66(5): 444-447.
- กรรณิการ์ เพ็ญนภักดิ์, วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. (2536). โรคสแคบขององุ่น (*Sphaceloma ampelinum* de Bary). **วารสารวิชาการเกษตร**. 11(2).
- กรรณิการ์ เพ็ญนภักดิ์, อภิรัชน์ สมฤกษ์ และ ธนิตย์ ปล่อยบรจง. (2545). การแยกเชื้อราโรคสแคบจากพืชต่าง ๆ ในประเทศไทย. **ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา**. 12(1): 14-20.
- กัญชลี เจดียนนท์. (2550). ประสิทธิภาพของการใช้ plant growth promoting rhizobacteria ร่วมกันสำหรับกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรคพืชหลายชนิดในพื้นที่ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางด้านภูมิศาสตร์. **มหาวิทยาลัยนเรศวร**.
- กาญจนา ธรรมนุ. (2010). การใช้แสงซินโครตรอนกับเทคนิค FT-IR spectroscopy และ microscope ในงานวิเคราะห์และวิจัยด้านต่างๆ [ออนไลน์] ได้จาก: <http://www.technologymedia.co.th/article/detail.asp?arid=6072&pid=467>
- กรมส่งเสริมการเกษตร. (2548). **สถิติแสดงแหล่งเพาะปลูกปี 2543-2547**. ฝ่ายข้อมูลสำหรับการเกษตร กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- เกษม สร้อยทอง. (2532). **การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี**. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 326 หน้า.
- ขนิษฐา มากรุง. (2548). การพัฒนาวิธีการตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* de Bary สาเหตุโรคสแคบในองุ่นและความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อ. **วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี**. 77 หน้า
- จิตรา กิตติโมรากุล, อนุรักษ์ สันป่าเป้า, นริศ ท้าวจันทร์ และ ชนินันท์ พรสุริยา. (2557). ฤทธิ์ของไฟโตเล็กซินกับการป้องกันโรคพืชที่เกิดจากรา. **แก่นเกษตร**. 42(1): 129-138.
- จิรเดช แจ่มสว่าง. (2555). การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี บนเส้นทางของการเกษตรยุคใหม่. [ออนไลน์] ได้จาก : <http://www.thaigreenagro.com/Article.aspx?id=1768&keyword=hydroponic>

- ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, กาญจนา ชรรมนุ, คุณิต อธิณัฐวัฒน์ และ ขนิษฐา ภูโบริราม. (2555). การส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นระบบความต้านทานของมันสำปะหลังให้ต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคแอนแทรกคโนสด้วยเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ *Bacillus amyloliquefaciens* สายพันธุ์ CaSUT007. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, คุณิต อธิณัฐวัฒน์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2550). *Bacillus amyloliquefaciens* ชักนำความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* สาเหตุโรคใบจุดนูนถั่วเหลืองด้วยการเพิ่มสารประกอบฟีนอลและเอนไซม์ฟีนิลอลานีนแอมโมเนียไลเอส. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45
- ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, มธุกร สมพงษ์, รุ่งทิพย์ สังข์เผือก, ธัญมน พิฆทอง, ชานนท์ แสงจันทร์, กาญจนา ชรรมนุ และ วราภรณ์ ตันตานุช. (2555). การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในการควบคุมการเกิดโรคใบไหม้มันสำปะหลังด้วยเทคนิค IR. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- ธงชัย ประจงใจ. (2555). การเจริญเติบโต คุณภาพผล และความต้านทานโรคราน้ำค้างขององุ่นลูกผสม และการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับยืนต้านทานโรคราน้ำค้าง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 242 หน้า
- ธนรัตน์ ศรีรุ่งเรือง และ วีระศักดิ์ เลิศศิริโยธิน. (2555). การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันของข้าวหอมมะลิและข้าวปทุมธานี 1 โดยใช้เทคนิคสเปกโตรสโคปี. การประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13
- ธนาภรณ์ ศรีศิริพันธุ์. (2551). ผลของการเคลือบผิวด้วยไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างการเก็บรักษาผลพริกหวาน (*Capsicum annuum* L.). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 116 หน้า
- ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2543. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช. กรุงเทพฯ: ไร่เขียว
- นลินา เหมสนิท และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. (2552). *Pseudomonas fluorescens* SP007s กระตุ้นให้คะแนสร้าง salicylic acid เพื่อต้านทานการเกิดโรคขอบใบทอง. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47
- นันทกร บุญเกิด. (2546). คู่มือการสร้างสวนองุ่น. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- นุกูล อินทระสังขา. (2551). วิทยาเชื้อรา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ. 245 หน้า
- นิพนธ์ วิสารทานนท์. (2542). โรคไม้ผลเขตร้อน เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตรหมอพืช-ไม้ผล ฉบับที่ 2. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 144 หน้า

- นิพนธ์ วิสารทานนท์. (2542). โรคองุ่น. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตรหมอฟืช-ไม้ผล ฉบับที่ 5. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 45 หน้า
- นิพนธ์ ตังคนานุรักษ์ และ คณิตา ตังคนานุรักษ์. (2547). สเปกโทรสโกปีด้านการวิเคราะห์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 305-344
- ปฎิวิทย์ ลอยพิมาย, ทิพวรรณ ผาสกุล และ ราตรี มงคลไทย. (2554). เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผลไม้. *วิทยาศาสตร์เกษตร*. 42(2) (พิเศษ): 385-388
- ประสาทพร สมิตะมาน. (2537). *โรคพืชวิทยา*. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ประภัสสร สุรวฒนาวรรณ. (2554). ไคติน – ไคโคซาน [ออนไลน์] ได้จาก : <http://www.gpo.or.th/rdi/html/chitin.html>
- ปัทมวรรณ มณีสุวรรณ และ พิศาล ศิริธร. (2556). การใช้เซลล์แขวนลอยและสารสกัดหยาบของแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* BFP011 ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก. *แก่นเกษตร*. 41(1) พิเศษ
- พิชญ์นรี สุวรรณสุขโข. (2549). การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและการประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Bacillus subtilis* MUV4. *วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์*. 109 หน้า
- พรพรรณ อุสุวรรณ. (2550). การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมโรคเชื้อราในองุ่น. *วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี*. 172 หน้า
- พรทิพย์ วงศ์แก้ว. (2532). การชักนำให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันโรค. *วารสารวิชาการเกษตร*. กรมวิชาการเกษตร. ปีที่ 7 ฉบับที่ 1
- พรทิพย์ วงศ์แก้ว. (2533). *โรคพืชวิทยาขั้นสูง*. ภาควิชาโรคพืชวิทยา. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 141-223.
- พรศิริ เพชรศรีช่วง และ มณฑารพ ยมาภย์. (2557). การใช้ไคติน ไคโคซาน และไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร. [ออนไลน์] ได้จาก: <http://iat.sut.ac.th/2013/biotech/research/detail/53>
- ไพโรจน์ จีวงพานิช. (2525). *หลักวิชาโรคพืช*. บริษัทสารมวลชน จำกัด. กรุงเทพฯ.
- มรุกร สมพงษ์. (2553). ความแตกต่างระหว่างเชื้อ *Spahceloma* spp. สาเหตุโรคสแคบองุ่นกับพืชชนิดอื่น. *วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี*. 71 หน้า

- ัญชนก พูนศิลป์, เกษม อัสวตรีรัตนกุล และ พรรณี อัสวตรีรัตนกุล. (2556). ผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตและกลไกการป้องกันตนเองในข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ. 16(3).
- นาคยา มนตรี, ชนิกานต์ ขวัญช่วย และ พรประพา คงตระกูล. (2557). ผลของสารสกัดหยาบจากหนอนตายหยากต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคฟิชบางชนิด. แก่นเกษตร. 42(3).
- บุรฉัตร ยอดโยธี. (2554). การชักนำการต้านทานโรคและการแสดงออกของ ยีน PR – 1 ในยางพาราโดยใช้ตัวกระตุ้นชนิดต่าง ๆ. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- เย็น หทัย แน่นหนา. (2549). สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 94-95.
- รวินิภา ศรีมูล และ ศิริจันทร์ ตาใจ. (ม.ม.ป.). ปริมาณฟีนอลรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผลไม้แปรรูปในจังหวัดจันทบุรี. คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี
- รัชฎาวรรณ เดชมณี, สุดฤดี ประเทืองวงศ์, วิชัย โฆสิตรัตน และ สมชัย พรบันลือลาภ. (2548). แถบ Thin - layer Chromatography ของสารทุติยภูมิที่ผลิตโดย *Bacillus firmus* และการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. การประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43
- รังสิมา วิเศษศรี และ วัฒนา พัฒนากุล. (2555). อิทธิพลของกรดซาลิไซลิกต่อการเจริญเติบโตและเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ของข้าวโพดข้าวเหนียวในสภาวะขาดน้ำ. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 13. มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- ริกาญจน์ ฉัตรสกุลวิล. (ม.ม.ป.). ดิกนิน. กรมโรงงานอุตสาหกรรม. [ออนไลน์] ได้จาก: www2.diw.go.th/research/เอกสารเผยแพร่/ดิกนิน.pdf
- วัฒนา สวรรยาธิปิติ. (2531). การปลูกองุ่น. โครงการคู่มือประกอบอาชีพสำหรับประชาชน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 42 หน้า
- วันณรงค์ เหล่าประดิษฐ์. (2542). องุ่น = Grapes. ส่งเสริมการเกษตร. 29(139): 16-18
- วิไลพร ปองเพียร. (2551). การศึกษาคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในผักแม้ว. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
- วรรณนิภา มธุรส, พัฒน ทวีโชค, จุฬากรณ์ กำเนิดเพชร, อุดมศักดิ์ เลิศสุชาตวนิช และ รัตนนุช จันทร์เพ็ญ. (2555). การใช้สารทุติยภูมิของเชื้อ *Bacillus subtilis* B01 เพื่อยับยั้งการเจริญของ *Curvularia eragrostidis* สาเหตุโรคดอกจูดสนิมของกล้วยไม้. การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9.

- สมเดช กนกเมธากุล. (2547). **สเปกโทรสโกปีในการพิสูจน์โครงสร้างสารอินทรีย์**. ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 17-22
- สันติ สาระพล, ณัฐฐา เสนีवास, ลิลลี่ กาวีตะ, ศรีสม สุวรรณวงศ์. (2553). ผลของสารสกัดหยาบจาก ไชยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon* sp. ต่อการเจริญเติบโตและความมีชีวิตของเซลล์ปลายรากในพืชบางชนิด. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48**
- สุดฤดี ประเทืองวงศ์, ชัยสิทธิ์ ปรีชา, สุพจน์ กาเซ็ม และ จารุวัฒน์ เกษธรรมพิทักษ์. (2554). แบคทีเรียจากพืชเพื่อพืช ที่มีคุณสมบัติเป็นปุ๋ย ฮอร์โมนพืช และฆ่าเชื้อโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- สุรทิน ใจดี. (2553). ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อผลผลิตและคุณภาพขององุ่นรับประทานผลสดในเขตร้อนชื้น. **วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี**. 61 หน้า
- สุวิตา แสไพศาล, วีระศักดิ์ สักคิศิริรัตน์ และ พัฒนา ศรีฟ้า สุนเนอร์. (2554). การโคลนยีนไคตินเนสจากเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นความต้านทานโรคใบจุดเป่ากระสุนในมะเขือเทศ. ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร, ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- โสภา จอมอิน, อังคณา อัครพิศาล, ชาตรี สิทธิกุล และ ชาญนรงค์ ดวงสะอาด. (2552). ประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอ์มาที่รวบรวมได้จากจังหวัดเชียงใหม่ ในการควบคุมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. **วารสารเกษตร**. 25(1): 21-29
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2558). ระบบแสดงข้อมูลด้านสถิติ. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. [ออนไลน์] ได้จาก: http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php
- หนึ่ง เตียอำรุง. (2555). **Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)**. [ออนไลน์] ได้จาก: <http://csu.sut.ac.th/doc/PGPR.pdf>
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และทวิ เก่าศิริ. (2551). โรคราน้ำค้างและโรคราแป้ง. [ออนไลน์] ได้จาก: <http://www.thaigreenagro.com/aticle.aspx?id=4349>
- อภิชาติ ศรีสะอาด. (2543). **องุ่นเงินล้าน คู่มือการทำสวนองุ่นอย่างมืออาชีพ**. บริษัทนาเคอินเตอร์มีเดียจำกัด, กรุงเทพฯ. หน้า 6.
- อินทรา ชูดแก้ว, ศรีสม สุวรรณวงศ์, ลิลลี่ กาวีตะ. (2551). ผลของสารสกัดจากไชยาโนแบคทีเรีย *Hapalosiphon fontinalis* (Ag.) Botnet ต่อกระบวนการ ammonia assimilation ในพืชบางชนิด. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46**.

- อินชญา ประคองคำ. (2555). การควบคุมโรคสแคบในองุ่น ที่เกิดจากเชื้อรา *Sphaceloma ampelinum* de Bary โดยใช้ความต้านทานที่เกิดจากการกระตุ้น. **วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี**. 55 หน้า
- อ้อยทิพย์ พูลสวัสดิ์. (2553). ความหลากหลายของเชื้อ ความต้านทาน และการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลสำหรับยีนต้านทานเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* สาเหตุโรคสแคบ (แอนแทรคโนส) ในองุ่น. **วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี**. 191 หน้า
- Agrios, G. N. (1997). **Plant Pathology 4th ed.** Academic Press New York. 635 pp.
- Alexopoulos, C. J. (1962). **Introductory Mycology**. New York: John Wiley & Sons.
- Amborabé, B. E., Bonmort, J., Fleurat-Lessard, P. and Roblin, G. (2008). Early events induced by chitosan on plant cells. **Experimental Botany**. 59(9): 2317–2324.
- Ash, G. (2000). Downy mildew of grape. The Plant Health Instructor. [online]. Available: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Oomycetes/Pages/DownyMildewGrape.aspx>
- Ashhab, Y., Wazwaz, A. and Shneawer, M. (2011). Cataloging Computationally Putative Resistance Genes in Grape and Their Corresponding Pathogenicity Genes. [online]. Available: <http://www.slideshare.net/AmerWazwaz/cataloging-computationally-putative-resistance-genes-in-grape-and>
- Arun, K., Mali, P. C. and Manga, V. K. (2010). Changes of some phenolic compounds and enzyme activities on infected pearl millet caused by *Sclerospora graminicola*. **International Journal of Plant Physiology and Biochemistry**. 2(1): 6-10
- Aziz, A., Poinssot, B., Daire, X., Adrian, M., Be'zier, A., Lambert, B., Joubert, J. M. and Pugin, A. (2003). Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 16: 1118-1128.
- Baroncelli, R., Sreenivasaprasad, S., Lane, C. R., Thon, M. R. and Sukno, S. A. (2014). First report of *Colletotrichum acutatum* sensu lato (*Colletotrichum godetiae*) causing anthracnose on grapevine (*Vitis vinifera*) in the United Kingdom. **New Disease Reports**. 29: 26
- Belinky, P. A., Flikstein, N., Lechenko, S., Gepstein, S. and Dosoretz, C. G. (2003). Reactive

- Oxygen Species and Induction of Lignin Peroxidase in *Phanerochaete chrysosporium*. **Applied and Environmental Microbiology**. 69(11): 6500-6506.
- Besson, F., Tenoux, I., Hourdou, L. M. and Michel, G. (1992). Synthesis of β -hydroxy fatty acids and β -amino fatty acids by the strains of *Bacillus subtilis* producing iturinic antibiotics. **Biochem. Biochimica et Biophysica Acta**. 1123: 51-58
- Brook, P. J. (1973). Epidermiology of grapevine anthracnose, caused by *Elsinoë ampelina*. N.Z.J. **Agricultural Research**. 16: 332-342
- Boubakri, H., Mohamed, A. W., Julie, C., Christophe, B., Ahmed, M., and Isabelle, S. G. (2012). Thiamine induced resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine and elicited host defense responses, including HR like-cell death. **Plant Physiology and Biochemistry** 57: 120-133
- Bradley, D. J., Kjellbom, P. and Lamb, C. J. (1992). Elicitor and wound-induced oxidative cross-linking of a protein-rich plant cell wall protein: a novel, rapid defense response. **Cell**. 70: 21-30.
- Bruce, R. J. and West, C. A. (1989). Elicitation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragments in suspension cultures of castor bean. **Plant physiology**. 91: 889-897.
- Buensanteai, N., Dusit, A., Tiyaikhon, C., Gary, Y. Y. and Sutruedee, P. (2008). Extracellular proteome of *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 and its effect on enhanced growth promotion and induced resistance against bacterial pustule on soybean plant. **Kasetsart journal. (Nat. Sci.)** 42: 13-26
- Buensanteai, N., Gary, Y. Y. and Sutruedee, P. (2009). Priming, signaling, and protein production associated with induced resistance by *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46. **World J Microbiol Biotechnol**. 25: 1275-1286
- Buensanteai, N., Kanjana, T., Mathukorn S., Dusit A. and Sutruedee P. (2012). The FTIR spectroscopy investigation of the cellular components of cassava after sensitization with plant growth promoting rhizobacteria, *Bacillus subtilis* CaSUT007. **African Journal of Microbiology Research**. 6(3): 603-610
- Campos, L., Granell, P., Tárraga, S., López-Gresa, P., Conejero, V., Bellés, J. M., Rodrigo, I and Lisón, P. (2014). Salicylic acid and gentisic acid induce RNA silencing-related genes and plant resistance to RNA pathogens. **Plant Physiology and Biochemistry**. 77: 35-43

- Campos, L., Lisón, P., López-Gresa, M. P., Rodrigo, I., Zacarés, L., Conejero, V., and Bellés, J. M. (2014). Transgenic tomato plants overexpressing tyramine N-hydroxy cinnamoyltransferase exhibit elevated hydroxycinnamic acid amide levels and enhanced resistance to *Pseudomonas syringae*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**. (10): 1159-69.
- Carisse, O. and Lefebvre, A. (2011). Evaluation of northern grape hybrid cultivars for their susceptibility to anthracnose caused by *Elsinoe ampelina*. **Plant Management Network**. 10: 1094
- Chadha, K. L. and Shikhamany, S. D. (1999). The Grape: Improvement, production and post harvest management. Molhotra Publishing House. **New Delhi**. India.
- CMI. (1985). *Physopella ampelopsidis* (Dietel & Sydow) Cumm & Ramachar. 4th ed. Distribution maps of plant diseases, No. 87. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Cohen, R. Y. (2002). β -aminobutyric acid-induced resistance against plant pathogens. **The American Phytopathological Society**. 86(5)
- Conrath, U. (2009). Priming of induced plant defense responses. **Advances in Botanical Research**. 73: 1-376
- Cuisset, C., Boursiquot, J. M. and This, P. (1995). Genetic diversity in grapevine (*Vitis inifera*) assessed by microsatellite markers. P44. **Plant Genome IV Conference**. San Diego, CA.
- Cummins, G. B. and Ramachar, P. (1958). The genus *Physopella* (Uredinales) replaces *Angiospora*. *Mycologia*, 50(5) 741- 744
- Denancé, N., Sánchez-Vallet, A., Goffner, D. and Molina, A. (2013). Disease resistance or growth: the role of plant hormones in balancing immune responses and fitness costs. **Front Plant Sci**. 4: 155
- Douglas, S. M. (2003). **Disease control for home grape plantings**. Department of Plant Pathology and Ecology The Connecticut Agricultural Experiment Station.
- Duan, C. H. and Hsieh, W. H. (1900). Pathogenicity of *Glomerella cingulata* on Kyoho grape. **Journal of Agricultural Research of China**. 39(2): 113-120
- Eggert, D., Naumann, M., Reimer, R. and Voigt, C. A. (2004). Nanoscale glucan polymer network causes pathogen resistance. **Scientific Reports**. 4: 4159

- Ellis, M. A. and Nita, M. (2008). Integrated Management of Grape Diseases. Department of Plant Pathology at the Ohio State University.
- Tessmann, M. A. and Nita, M. (2008). Integrated management of grape diseases.organic small fruit disease management guidelines. [online]. Available: http://www.oardc.ohio-state.edu/fruit_pathology/.
- Gao, L. and Zhang, Y. (2013). Effect of salicylic acid on pear leaf induced resistance to pear ring rot. **World Applied Sciences Journal**. 22(11): 1534
- Gautam, A. K. (2014). *Colletotrichum gloeosporioides*: Biology, pathogenicity and management in India. *Plant Physiology & Pathology*. 2:2
- Gómez, S., Onoda, Y., Ossipov, V. and Stuefer, J. F. (2008). Systemic induced resistance: a risk-spreading strategy in clonal plant networks?. **New Phytologist**. 179: 1142–1153
- Gong, A-D., Li, H-P., Yuan Q-S., Song, X-S., Yao, W., He, W-J., Zhang, J-B. and Liao, Y-C. (2015). Antagonistic Mechanism of Iturin A and Plipastatin A from *Bacillus amyloliquefaciens* S76-3 from Wheat Spikes against *Fusarium graminearum*. **PLOS ONE**. 10(2).
- Glick, B. R., Patten, C. L., Holguin, G. and Penrose, D. M. (1999). Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. Imperial College Press. London
- Grant, M. and Lamb, C. (2006). Systemic immunity. **Current Opinion in Plant Biology**. 9: 414–420
- Hadi, M. R. and Balali, G. R. (2010). The effect of salicylic acid on the reduction of rizoctonia solani damage in the tubers of marfona potato cultivar. **American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci**. 7(4): 492-496
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M.. (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews/Microbiology*. 2: 43-55
- Hassan, M. N., Osborn, A. M. and Hafeez, F. Y. (2010). Molecular and biochemical characterization of surfactin producing *Bacillus* species antagonistic to *Colletotrichum falcatum* went causing sugarcane red rot. **African Journal of Microbiology Research**. 4(20): 2137-2142.
- Henry, G., Thonart, P. and Ongena, M. (2012). PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ**.16 (2): 257-268

- Hernández-Blanco, C., Feng, D. X., Hu, J., Sánchez-Vallet, A., Deslandes, L., Llorente F., Berrocal-Lobo, M., Keller, H., Barlet, X., Sánchez-Rodríguez, C., Anderson, L. K., Somerville, S., Marco, Y. and Molina, A. (2007). Impairment of cellulose synthases required for arabidopsis secondary cell wall formation enhances disease resistance. **The Plant Cell**. 19(3): 890–903.
- Howe, G. A. (2004). Jasmonates as signals in the wound response. **Journal of Plant Growth Regulation**. 23: 223–237
- Hubballia, M., Nakkeerana, S., Raguchandera, .T, Ananda, T. and Renukadevi, P. (2011) Physiological characterisation of *Colletotrichum gloeosporioides*, the incitant of anthracnose disease of noni in India. **Arch Phytopathology Plant Protect**. 44: 1105-1114.
- Hunt, M. and Ryals, J. (1996). Systemic acquired resistance signal transduction. **Crit. Rev. Plant Sci**. 15: 583-606.
- Intana, W., Chamswarng , C., Intanoo, W., Hongprayoon, C. and Sivasithamparam, K.. (2003). Use of mutant strains for improved efficacy of *Trichoderma harzianum* for controlling cucumber damping-off. **Thai Journal of Agricultural Science**. 36(4): 429-439.
- Iriti, M., Castorina, G., Vitalini, S., Mignani, I., Soave, C., G. and Fic, G. and Faoro, F. (2010). Chitosan induced ethylene-independent resistancs does not reduce crop yield in bean. **Biological Control**. 55: 241-247
- Jenkins, A. E. (1925). The citrus scab fungus. **Phytopathology**. 15: 99-103.
- Jensenz, P. J. and Bandurski, R. S. (1994). Metabolism and synthesis of indole-3-acetic acid (IAA) in *Zea mays*. **Plant Physiology**. 106: 343-351
- Jones, A. M. E., Monaghan, J. and Ntoukakis, V. (2013). Editorial: mechanisms regulating immunity in plants. **Frontiers in Plant Science**. 4:64
- Joubert, P., Beaupe`re, D., Lelie`vre, P., Wadouachi, A., Sangwan, R. S. and Sangwan-Norreel, B. S. (2002). Effects of phenolic compounds on *Agrobacterium vir* genes and gene transfer induction – a plausible molecular mechanism of phenol binding protein activation. **Plant Science**. 162: 733-743.
- Kennelly, M. M., Gadoury, D. M., Wilcox, W. F., Magarey, P. A. and Seem R.C., (2005). Seasonal development of ontogenic resistance to downy mildew in grape berries and rachises. **Phytopathology** 95: 1445-1452.

- Koornneef, A. and Pieterse, C. M. J. (2008). Cross talk in defense signaling. **Plant Physiology**. 146.
- Kunkel, B. N. and Brooks, D. M. (2002). Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. **Current Opinion in Plant Biology**. 5: 325-331.
- Kuro, A and Kaneko, S. (1978). Heteroecious nature of grape rust fungi. (Abstr.) **Ann. Phytopathol.** 44: 375.
- Lang, S. (2002). Biological amphiphiles (microbial biosurfactants). **Curr. Opin. Colloid. Int. Sci.** 7: 12-20.
- Lorenzo, O. and Solano, R. (2005). Molecular players regulating the jasmonate signalling network. **Current Opinion in Plant Biology**. 8: 532-540
- Loreto, F., Mannozi, M., Maris, C., Nascetti, P., Ferranti, F. and Pasqualini, S. (2001). Ozone quenching properties of isoprene and its antioxidant role in leaves. **Plant Physiology**. 126(3): 993-1000.
- Mageshwaran, V. Walia, S. and Annapurna, K. (2010). Isolation and partial characterization of antibacterial lipopeptide produced by *Paenibacillus polymyxa* HKA-15 against phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* M-5. **World J Microbiol Biotechnol** 28: 909-917
- Magnin-Robert, M., Quantinet, D., Couderchet, M., Aziz, A. and Trotel-Aziz, P. (2014). Differential induction of grapevine resistance and defense reactions against *Botrytis cinerea* by bacterial mixtures in vineyards. **Bio Control**. 58: 117-131
- Markovich, N. A. and Kononova, G. L. (2003). Lytic enzymes of *Trichoderma* and their role in plant defense from fungal disease: a review. **Applied Biochemistry and Microbiology** 39(4): 341-351.
- Mauch-Mani, B. and Mauch, F. (2005). The role of abscisic acid in plant-pathogen interactions. **Current Opinion in Plant Biology**. 8: 409-414
- Mayers, N. C., Lee, K. C., Moore, C. A., Wong, S. M. and Carr, J. P. (2005). Salicylic acid-induced resistance to cucumber mosaic virus in squash and *Arabidopsis thaliana*: contrasting mechanisms of induction and antiviral action. **Molecular Plant-Microbe Interactions**. 18(5): 428-434.
- Miedes, E., Vanholme, R., Boerjan, W. and Molina, A. (2014). The role of the secondary cell wall in plant resistance to pathogens. **Front Plant Sci**. 5: 358

- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal plants and aromatic plant extract. **Food Chem.** 85: 231-237.
- Miricã, I. and Miricã, A. (1981). Antracnoza vitei de vie si combaterea ei, studiu monographic. Editura Ceres, Bucharest. 162 pp.
- Mondol, M. A. M., Shin, H. J. and Islam, M. T. (2013). Diversity of secondary metabolites from marine *Bacillus* species: chemistry and biological activity. **Mar. Drugs.** 11: 2846-2872
- Monson, R. K., Jones, R. T., Rosenstiel, T. N. and Schnitzler, J. P. (2013). Why only some plants emit isoprene. **Plant, Cell and Environment.** 36: 503-516
- Morkunas, I. and Ratajczak, L. (2014). The role of sugar signaling in plant defense responses against fungal pathogens. **Acta Physiologiae Plantarum.** 36: 1607-1619
- Nafisi, M., Fimognari, L. and Sakuragi, Y. (2014). Interplays between the cell wall and phyto hormones in interaction between plants and necrotrophic pathogens. **Phytochemistry.** 112: 63-71
- Nakashita, H., Yasuda, M., Nitta, T., Asami, T., Fujioka, S., Arai, Y., Sekimata, K., Takatsuto, S., Yamaguchi, I. and Yoshida, S. (2003). Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice. **Plant journal.** 33: 887-898
- Neuenschwander, U., Lawton, K. and Ryals, J. (1996). Systemic acquired resistance. **In Plant-Microbe Interactions.** 1: 81-106.
- Nowacki, J. and Bandurski, S. R. (1980). Myo-inositol esters of indole-3-acetic acid as seed auxin precursors of *Zea mays* L. **Plant Physiology.** 65: 422-427
- Onanong, K., Sirithon, S., Natthida, W. and Naret, M. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. **Journal of functional foods** 3: 88-99
- Pearson, R. C., and Goheen, A. C. (1998). Compendium of grape disease. USA: **The American Phytopathological Society.**
- Pozo, M. J., Van Loon, L. C. and Pieterse, C. M. J. (2004). Jasmonates-signals in plant microbe interactions. **J Plant Growth Regul.** 23: 211-222
- Pieterse, C., Bakker, P. and Wees, S. (2014). Induced systemic resistance (ISR). **Phytopathology.** **Plant-Microbe Interactions.** [online]. Available: <http://web.science.uu.nl/pmi/>
- Preecha, C, Michael, J. S and Sutruedee, P. (2010). Lipopeptide surfactin produced by *Bacillus*

- amyloliquefaciens* KPS46 is required for biocontrol efficacy against *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 44: 84-99
- Prentice Hall, Inc. (2003). Chapter 37: Plant Defense Systems. [online]. Available: http://wps.prenhall.com/esm_freeman_biosci_1/7/1955/050007.cw/index.html
- Prentice Hall, Inc. (2003). Features of systemic acquired resistance (SAR). [online]. Available: http://www.uvm.edu/~tpdelane/lab/images/DELANEY_SAR_Plant.html
- Pyoung-II, K., Ryu, J., Kim, Y. H. and ChI, Y-T. (2010). Production of biosurfactant lipopeptides iturin a, fengycin, and surfactina from *Bacillus subtilis* CMB32 for control of *Colletotrichum gloeosporioides*. **J. Microbiol. Biotechnol.** 20(1): 138-145
- Raja, P. and Saravanan, R. (2008). Bordeaux mixture preparation and their uses in citrus orchards. **College of Horticulture & Forestry Center Agricultural University.**
- Raskin, I., Turner, M. I. and Melander, R. W. (1989). Regulation of heat protection in the inflorescences of an arum lily by endogenous salicylic acid. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 86: 2214-2218.
- Raskin, I. (1992). Role of salicylic acid in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.** 43: 439-463.
- Rodriguez, R. and Redman, R. (2008). More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. **Journal of Experimental Botany.** 59(5): 1109-14.
- Rojas, C. M., Senthil-Kumar, M., Tzin, V. and Mysore, K. S. (2014). Regulation of primary plant metabolism during plant-pathogen interactions and its contribution to plant defense. **Front. Plant Sci.** 5: 17.
- Ryals, J. A., Neuenschwander, U. H., Willits, M. G., Molina, A., Steiner, H. Y. and Hunt, M. D. (1996). Systemic Acquired Resistance. **The Plant Cell.** 8: 1809-1819
- Smith, B. J. (2012). Muscadine Grape Diseases and Their Control. Mississippi Grape Growers Field Day. August 16
- Sanzani, S. M., Schena, L. and Ippolito, A. (2014). Effectiveness of Phenolic Compounds against Citrus Green Mould. **Molecules.** 19 p.
- Sathiyabama, M. and Balasubramanian, R. (1998). Chitosan induces resistance component in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection,** 17(4): 307-313.

- Seyfferth, C. and Tsuda, K. (2014). Salicylic acid signal transduction: the initiation of biosynthesis, perception and transcriptional reprogramming. **Frontiers in Plant Science**. 5(2): 697
- Shakiestone, (2011). File:Tryptophan biosynthesis (en).svg. [online]. Available: http://en.Wikipedia.org/wiki/File:Tryptophan_biosynthesis_%28en%29.svg
- Shapiguzov, A., Vainonen, J. P., Wrzaczek, M. and Kangasjärvi, J. (2010). ROS-talk—how the apoplast, the chloroplast, and the nucleus get the message through. **Plant Physiology**. 3: 129
- Shear, C. L. (1929). The life history of *Sphaceloma ampelinum* de Bary. **Phytopathology**. 19: 673-679.
- Shen, Y. M. (2013). bitter rot and anthracnose *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. [online]. Available: <http://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5492251#sthash.WAg2FPcR.dpuf>
- Shetty, P. N., Jensen, D. J., Knudsen, A., Finine, C., Naomi, G., Blennow, A., Collinge, B. D., and Jorgensen, L. J. H. (2009). Effect of β -1,3-glucan from *Septoria tritici* on structural defence responses in wheat. **Journal of Experimental Botany** 60(15): 4287-4300
- Shoresh, M. and Harman, G. E. (2008). The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: a proteomic approach. **Plant Physiology**. 147: 2147-2163
- Siddiqui, I. A. and Shaukat, S. S. (2004) *Trichoderma harzianum* enhances the production of nematicidal compounds in vitro and improves biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Pseudomonas Fluorescens* in tomato. **Letters in Applied Microbiology**. 38(2): 169-175.
- Sitbon, F., Ostin, A., Sundberg, B., Olsson, O. and Sandberg, G. (1993). Conjugation of indole-3-acetic acid (iaa) in wild-type and iaa-overproducing transgenic tobacco plants, and identification of the main conjugates by frit-fast atom bombardment liquid chromatography-mass spectrometry. **Plant physiology**. 101: 313-320
- Sutapun, W., Suppakarn, N. and Ruksakulpiwat, Y. (2010). Study of characteristic of vetiver fiber before and after alkaline treatment. **3rd International Conference on Multi-Functional Materials and Structures**.
- Sutton, B. C. and Pollack, F. G. (1973). *Gloeosporium cercocarpi* and *Sphaceloma cercocarpi*. **Mycology**. 65: 1125-1134.

- Sweeting, L. M. (1996) . Isoprene, terpenes and natural alkenes and alkynes. [online].
<http://pages.towson.edu/ladon/enrich/terpene.pdf>.
- Taylor, A. (2015) . Downy mildew of grapevines. [online]. Available: <https://www.agric.wa.gov.au/table-grapes/downy-mildew-grapevines>
- Tessmann, D. J., Dianese, J. C., Genta W., Vida, J. B., Louise L. and Mio, M. (2004). Grape rust caused by *Phakopsora euvitis*, a new disease for Brazil. **Fitopatol. Bras.** 29(3)
- Thakur, M. and Singh Sohal, B. (2013). Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: A Review. **ISRN Biochemistry**.
- Thordal-Christensen, H., Zhang, Z., Wei, Y., and Collinge, D. B. (1997). Subcellular localization of H₂O₂ in plant. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powder mildew interaction. **The Plant Journal**. 11: 1187-1194.
- Tjellström, H, Hellgren, L. I., Wieslander, Å. and Sandelius, A. S. (2010). Lipid asymmetry in plant plasma membranes: phosphate deficiency-induced phospholipid replacement is restricted to the cytosolic leaflet. **The FASEB Journal**. 24 (4): 1128-1138
- Trouvelot, S., Héloir, M. C., Poinssot, B., Gauthier, A., Paris, F., Guillier C., Combier, M., Trdá, L., Daire, X. and Adrian, M. (2014) . Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. **Frontiers in Plant Science**. 5(592): 2
- Tsai., T. H., Tsai, P. J. and Ho, S. C. (2005). Antioxidant and anti – inflammatory activities of several commonly species. **Food Science**. 70(1): 93-97
- Uemura, M. and Steponkus, P. L. (1994). A contrast of the plasma membrane lipid composition of oat and rye leaves in relation to freezing tolerance. **Plant physiology**. 104(2): 479-496.
- Van Loon, L. C. (1997). Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**. 103: 753-765
- Van Loon, L. C., Geraats, B. P. J. and Linthorst, H. J. M. (2006). Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. **Trends Plant Science**. 11: 184-191
- Vallad, G. E. and Goodman, R. M. (2004). Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. **Crop science**. 44: 1920-1934
- Varga, Z. and Fischl, G. (2007) . Anthracnose disease of rose grape caused by *Glomerella cingulata* observed in Hungary. **Növényvédelem**. 43(1): 19-23

- Verhagen, B., W. M., Patricia, T. A., Michel, C., Monica, Hfte and Aziz, A. (2010). *Pseudomonas* spp.-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* is associated with induction and priming of defence responses in grapevine. **Journal of Experimental Botany**. 61(1): 249-260
- Verhagen, B., Patricia, T. A., Phinlippe, J., Fabienne, B. and Aziz A. (2011). Improved resistance against *Botrytis cinerea* by grapevine-associated bacteria that induce a prime oxidative burst and phytoalexin. **Biochemistry and Cell Biology**. 101(7): 768-77
- Vickers, C. E., Possell, M., Cojocariu, C. I., Velikova, V. B., Laothawornkitkul, J., Ryan, A., Mullineaux, P. M. and Hewitt, C. N. (2009). Isoprene synthesis protects transgenic tobacco plants from oxidative stress. **Plant, Cell & Environment**. 32(5): 520-531
- Von Dahl, C. C and Baldwin, I. T. (2007). Deciphering the role of ethylene in lantherbivore interactions. **J Plant Growth Regul**. 26: 201-209
- Wang, D., Pajeroska-Mukhtar, K., Hendrickson, C. A. and Dong, X. (2007). Salicylic acid inhibits pathogen growth in plants through repression of the auxin signaling pathway. **Current Biology**. 17: 1784-1790
- Welti, R., Li, W., Li, M., Sang, Y., Biesiada, H., Zhou, H. E., Rajashekar, C. B., Williams, T. D. and Wang, X. (2002). Profiling membrane lipids in plant stress responses: role of phospholipase d α in freezing-induced lipid changes in arabidopsis. **The Journal of Biological Chemistry**. 277 (35)
- Westover, F. (2014). Frost or Fungi? How will your grape leaves meet their post-harvest fate?. [online]. Available: <http://www.vineyardadvising.com/wp-content/uploads/2013/09/DM-up-down.png>
- Wilcox, W. F. (2013). **Grape disease control**. Department of Plant Pathology, Cornell University.
- Winkler, A. J., Cook, J. A., Kliewer, W. M., and Lider, L. A. (1974). **General Viticulture**. University of California Press, Berkeley, CA.
- Xu, L., Zhu, L., Tu, L., Liu, L., Yuan, D., Jin, L., Long, L. and Zhang, X. (2011). Lignin metabolism has a central role in the resistance of cotton to the wilt fungus *Verticillium dahliae* as revealed by RNA-Seq-dependent transcriptional analysis and histochemistry. **Journal of Experimental Botany**. 62(15): 5607

- Yogendra, K. N., Pushpa, D., Mosa, K. A., Kushalappa, A. C., Murphy, A. and Mosquera, T. (2014). Quantitative resistance in potato leaves to late blight associated with induced hydroxycinnamic acid amides. **Functional & Integrative Genomics**. 14: 285-298
- Yuan, J., Li, B., Zhang, N., Waseem, R., Shen, Q. and Huang, Q. (2012). Production of bacillomycin- and macrolactin-type antibiotics by *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 for suppressing soilborne plant pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 60: 2976-2981
- Zhang, B., Ramonell, K., Somerville, S. and Stacey, G. (2002). Characterization of early, chitin-induced gene expression in *Arabidopsis*. **Molecular Plant-Microbe Interaction** 15: 963-970





1. อาหารเลี้ยงเชื้อรา

1.1 อาหาร water agar ความเข้มข้น 1% (w/v) (1%WA)

วุ้นผง (Agar)	10 กรัม
น้ำกลั่นหรือน้ำกรอง	1,000 มิลลิลิตร

ผสมวุ้นผงกับน้ำกลั่น หรือน้ำกรอง นำไปต้มจนรวมเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ภาชนะ เพื่อนำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว หรืออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15-20 นาที

1.2 Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง	200 กรัม
น้ำตาล Dextrose หรือ Glucose	20 กรัม
วุ้นผง (Agar)	18 กรัม
น้ำกลั่นหรือน้ำกรอง	1,000 มิลลิลิตร

หั่นมันฝรั่งที่ปอกเปลือกแล้วเป็นชิ้นขนาดประมาณ 1 ลบ. ซม. ต้มกับน้ำ 500 มิลลิลิตร จนนิ่ม กรองเอาเฉพาะน้ำสกัดผสม dextrose ทั้งหมดลงในน้ำสกัด นำไปผสมกับวุ้นผงที่ต้มจนละลายแล้วด้วยน้ำส่วนที่เหลือ คนให้เข้ากัน เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร แบ่งใส่ภาชนะเพื่อนำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว หรืออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15-20 นาที

2. อาหารเลี้ยงแบคทีเรีย

2.1 Nutrient glucose broth (NGB)

น้ำตาล Dextrose หรือ Glucose	3 กรัม
peptone	9 กรัม
yeast extract	3 กรัม
น้ำกลั่นหรือน้ำกรอง	1,000 มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำ คนจนละลายรวมเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่ภาชนะเพื่อนำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว หรืออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15-20 นาที

3. วิธีการเตรียม SecCaSUT007 ความเข้มข้น 500 ppm, 1000 ppm และ 1500 ppm

ชั่ง SecCaSUT007 0.5, 1 และ 1.5 กรัมตามลำดับ ละลายด้วย 1% acetic acid และปรับปริมาตรเท่า 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

4. วิธีการเตรียม ไคโตซานความเข้มข้น 1000 ppm

ซึ่ง โคโคซาน 1 กรัมตามลำดับ ละลายด้วย 1% acetic acid และปรับปริมาตรเท่า 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ

5. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ Salicylic acid, Phenolic compound และ Lignin

3.1 0.02 M Ferric ammonium sulfate

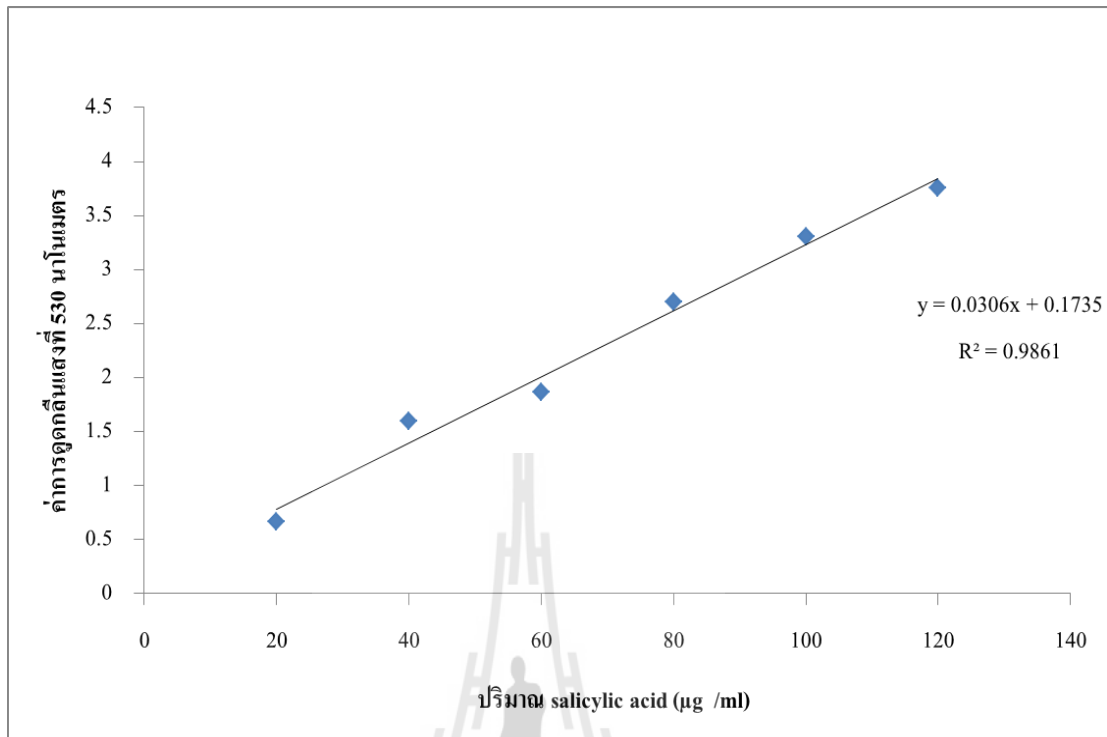
Ferric ammonium sulfate	4.82 กรัม
น้ำกลั่น	500 มิลลิลิตร

3.2 10% folin-ciocalteu reagent

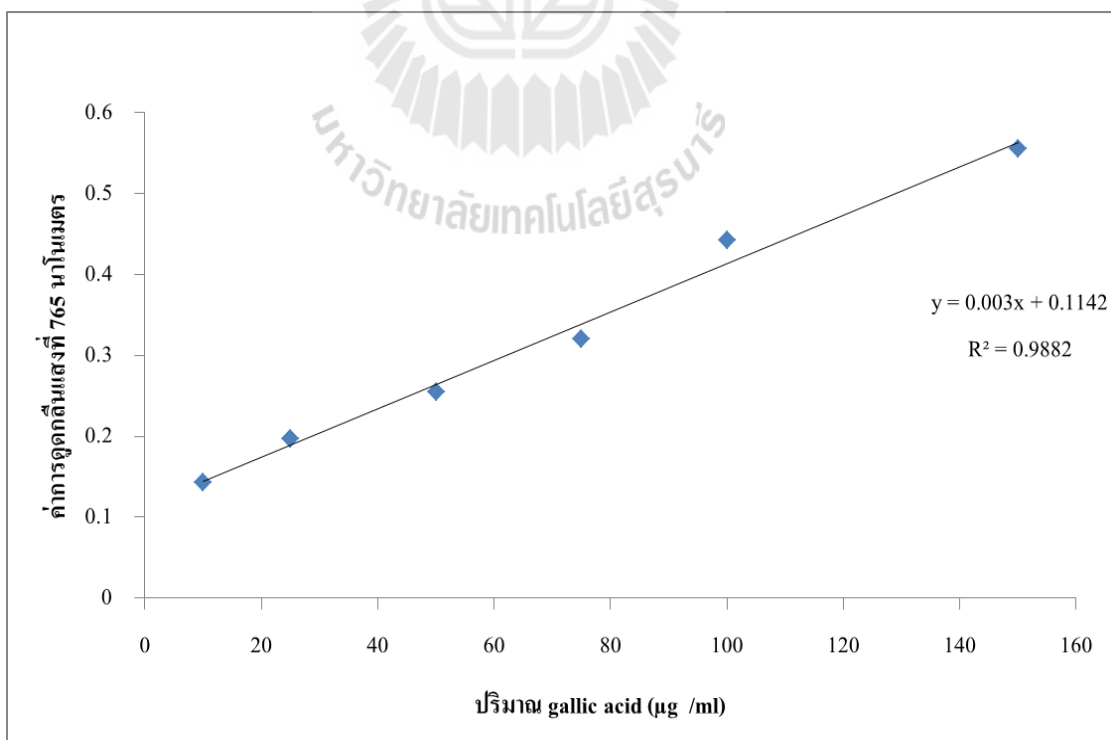
Folin-ciocalteu reagent	10 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

3.3 7% sodium carbonate (Na_2CO_3)

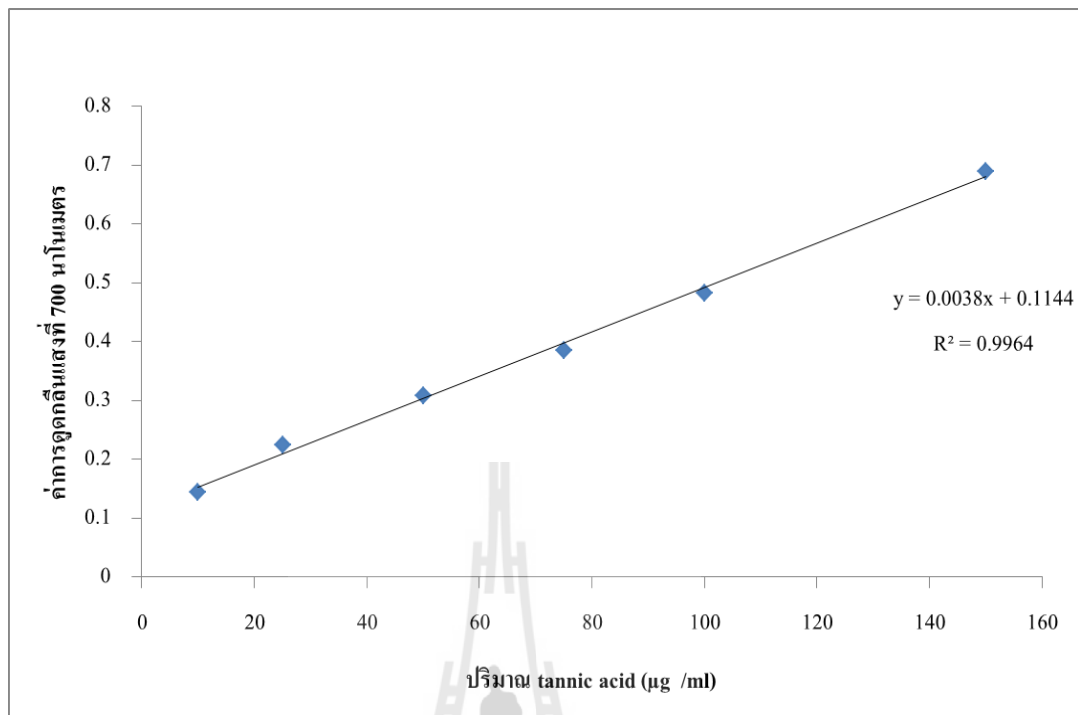
Sodium carbonate (Na_2CO_3)	0.7 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร



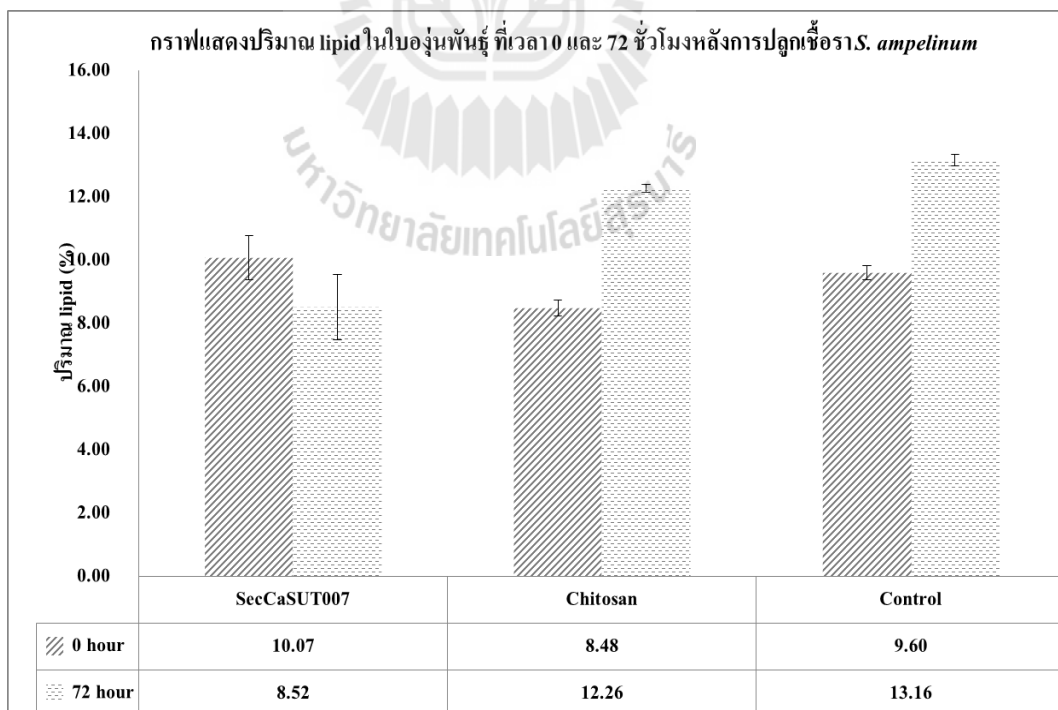
ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตรกับปริมาณ salicylic acid



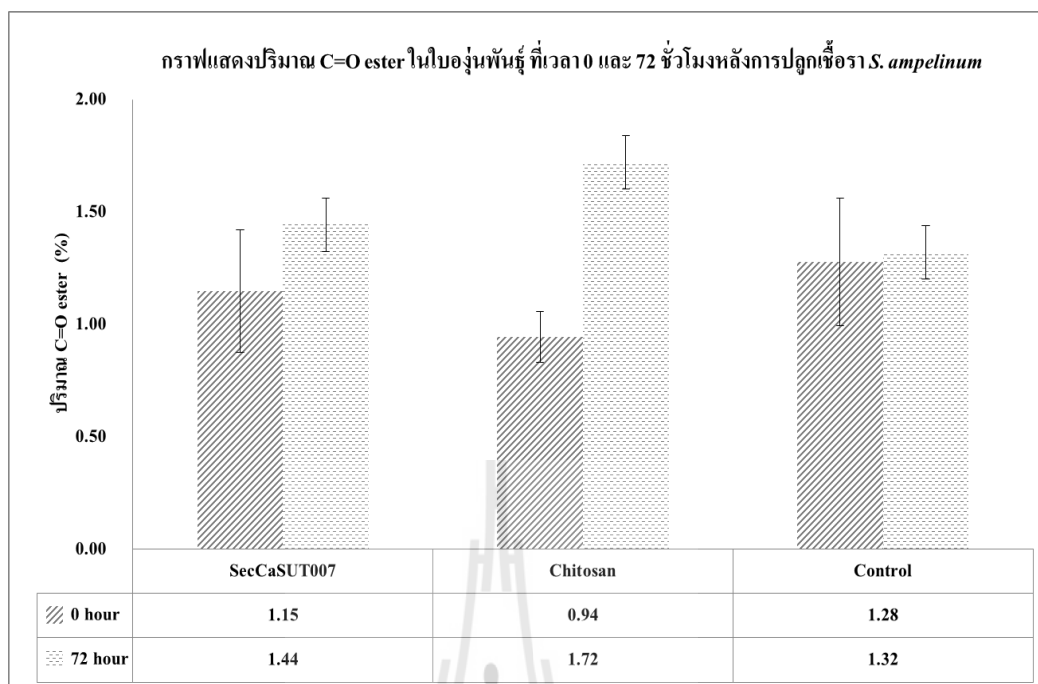
ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตรกับปริมาณ gallic acid



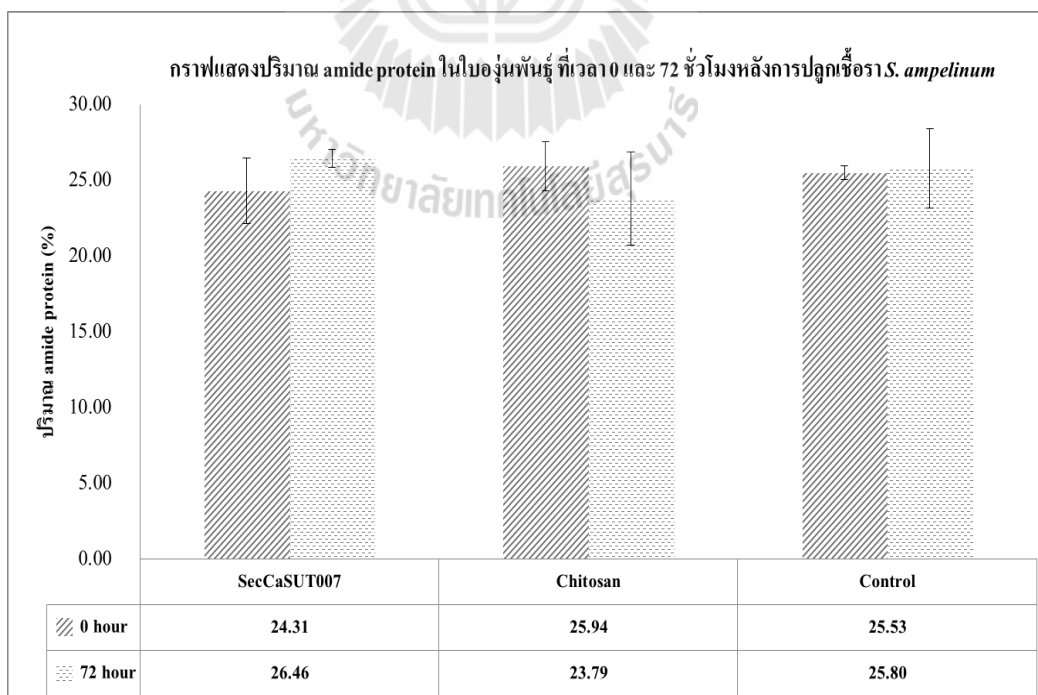
ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตรกับปริมาณ tannic acid



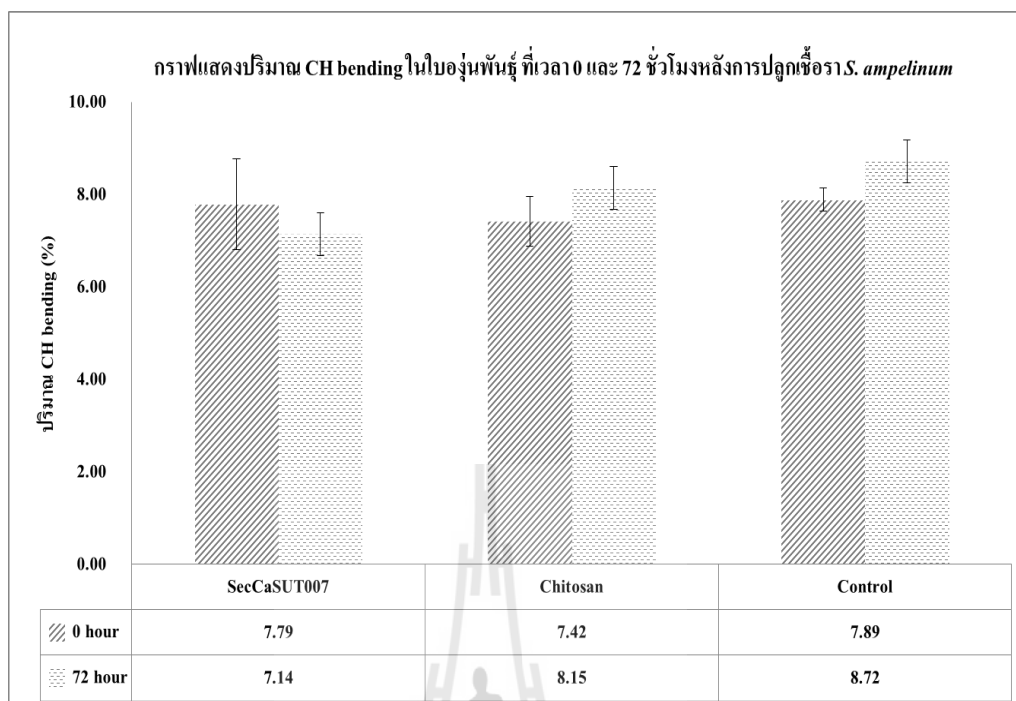
ภาพที่ 4 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ lipid ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีสเลสที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคสแคบ



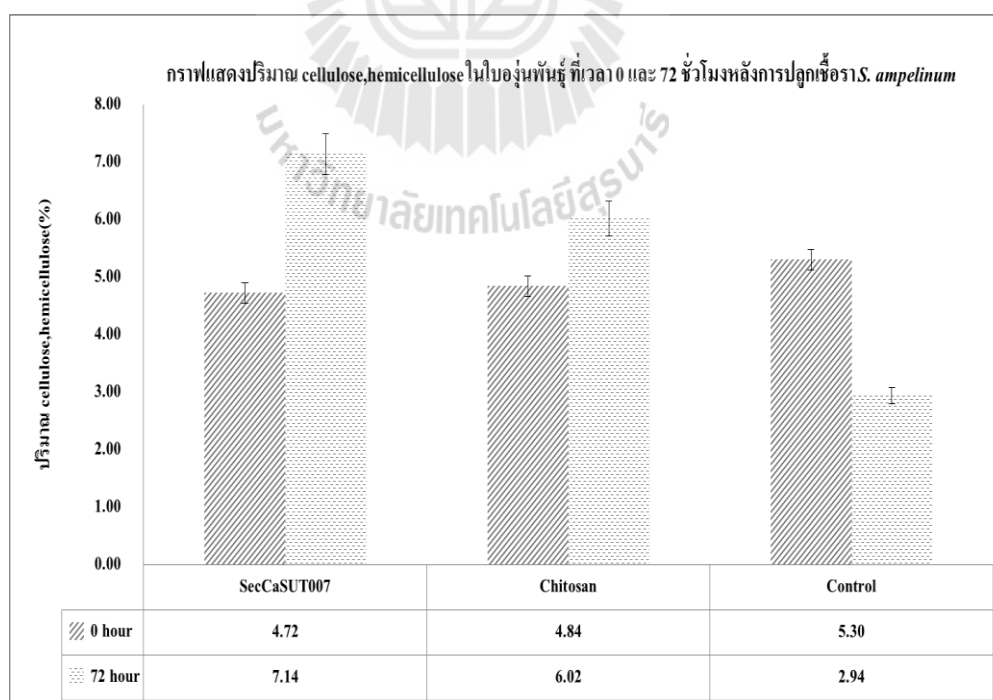
ภาพที่ 5 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ C=O ester ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีส-เลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



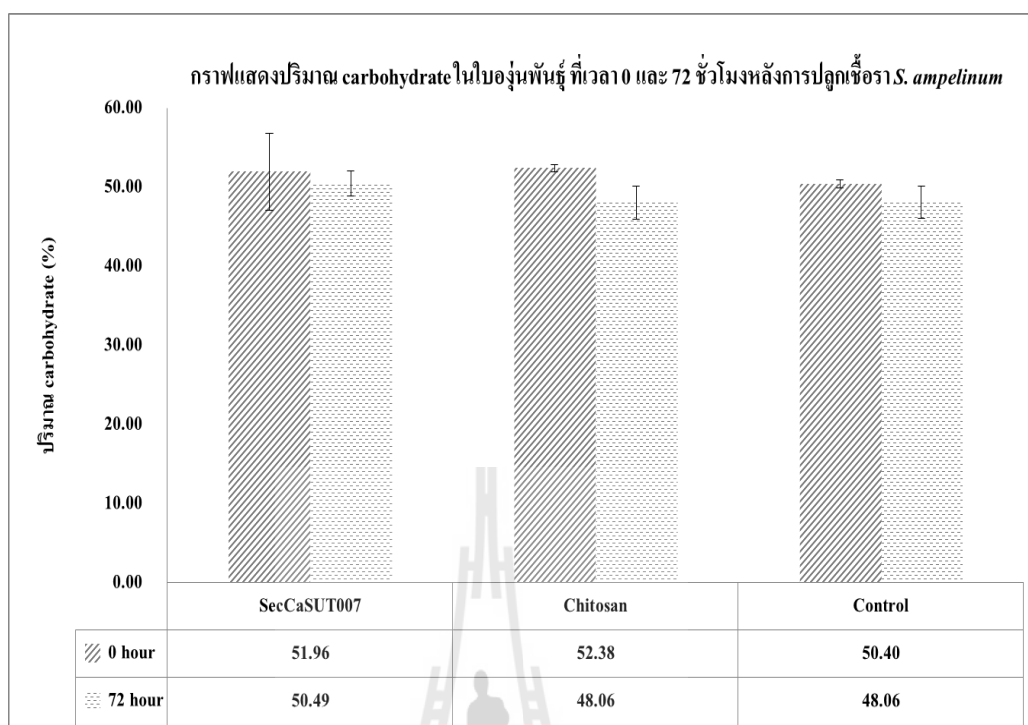
ภาพที่ 6 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ amide protein ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีสเลสที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



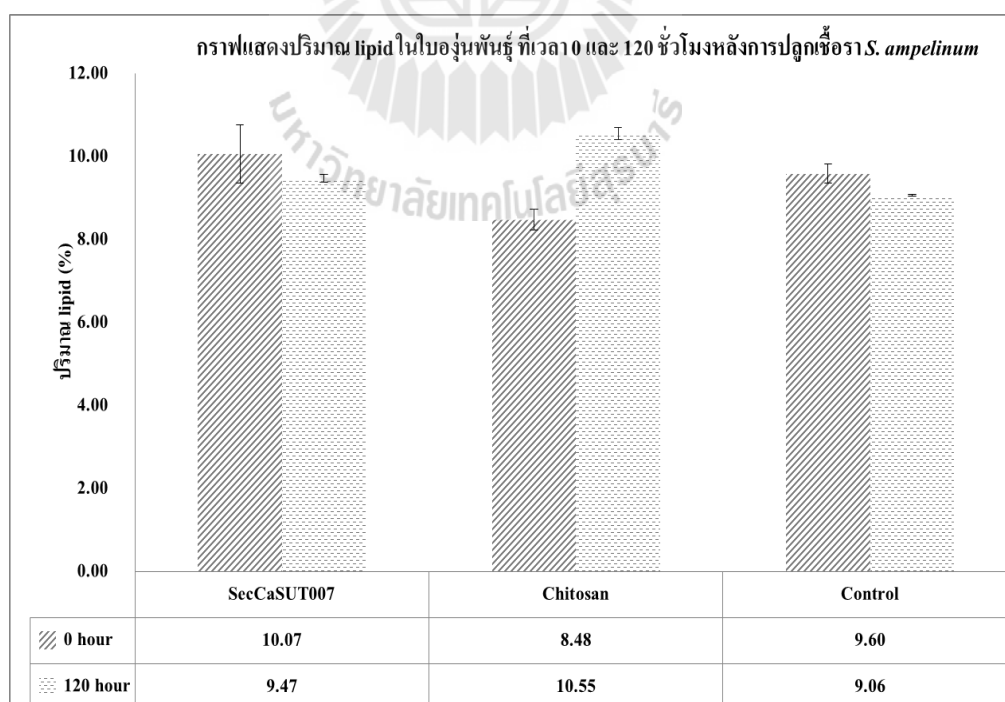
ภาพที่ 7 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ CH bending ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



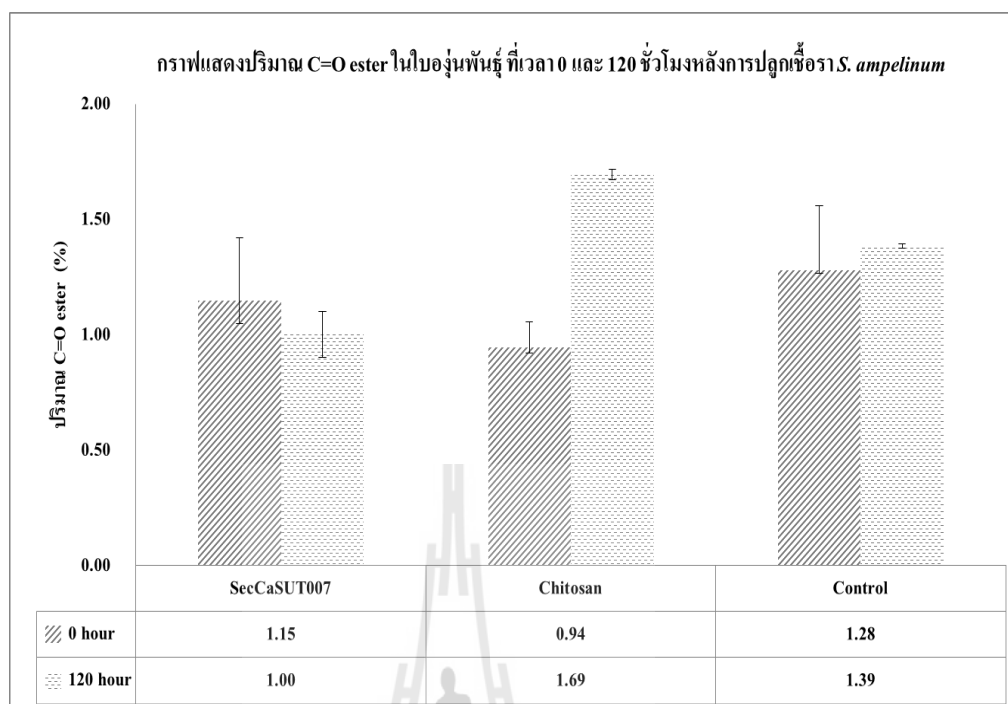
ภาพที่ 8 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ cellulose, hemicellulose ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



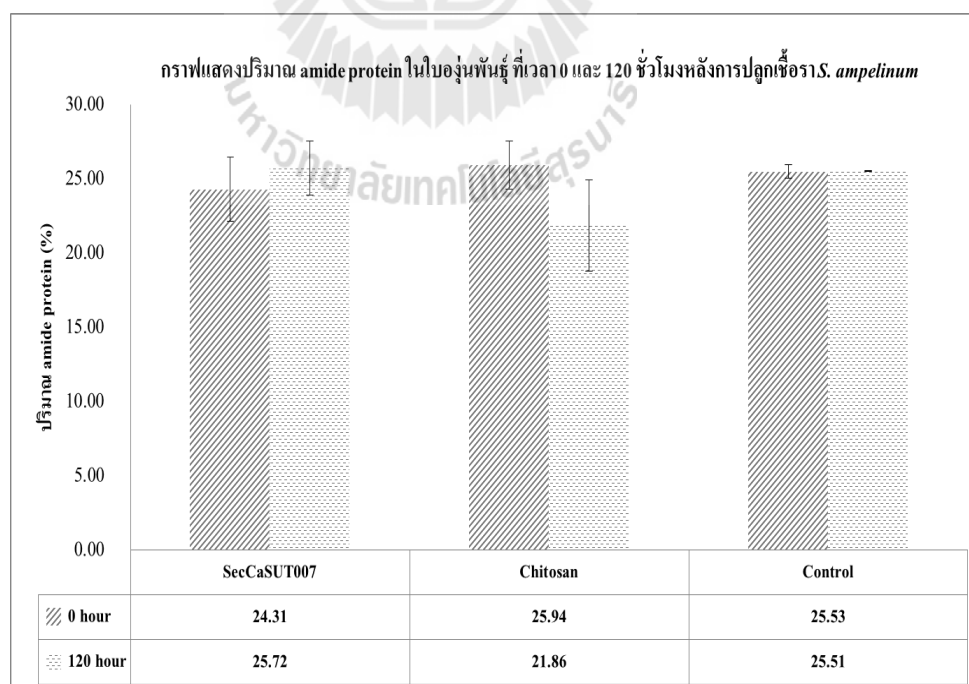
ภาพที่ 9 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ carbohydrate ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



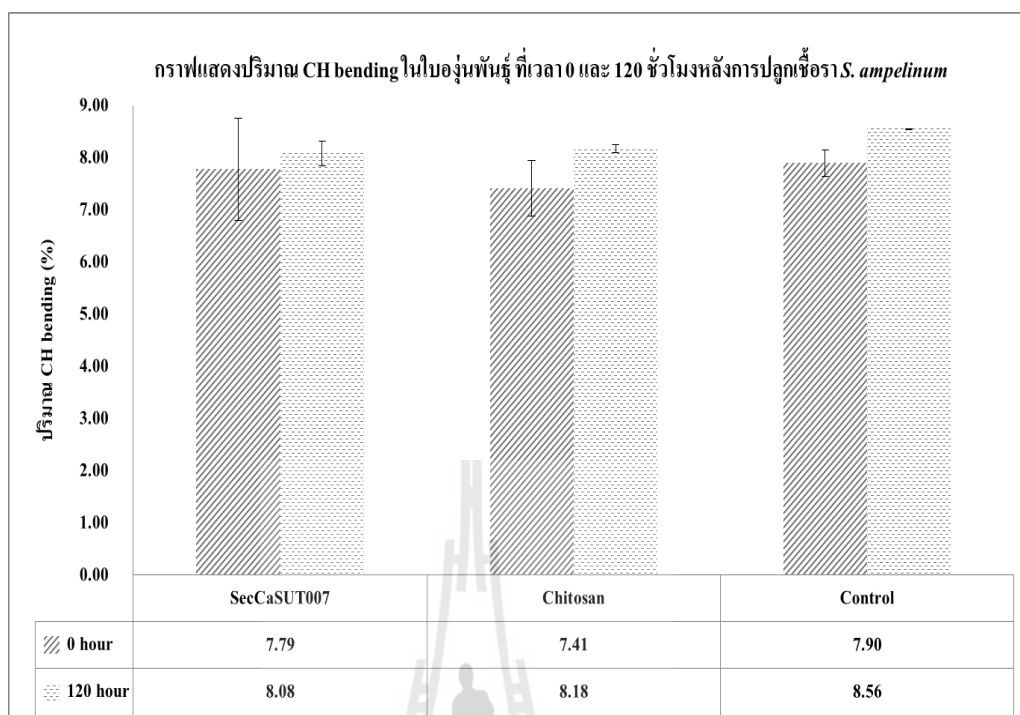
ภาพที่ 10 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ lipid ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



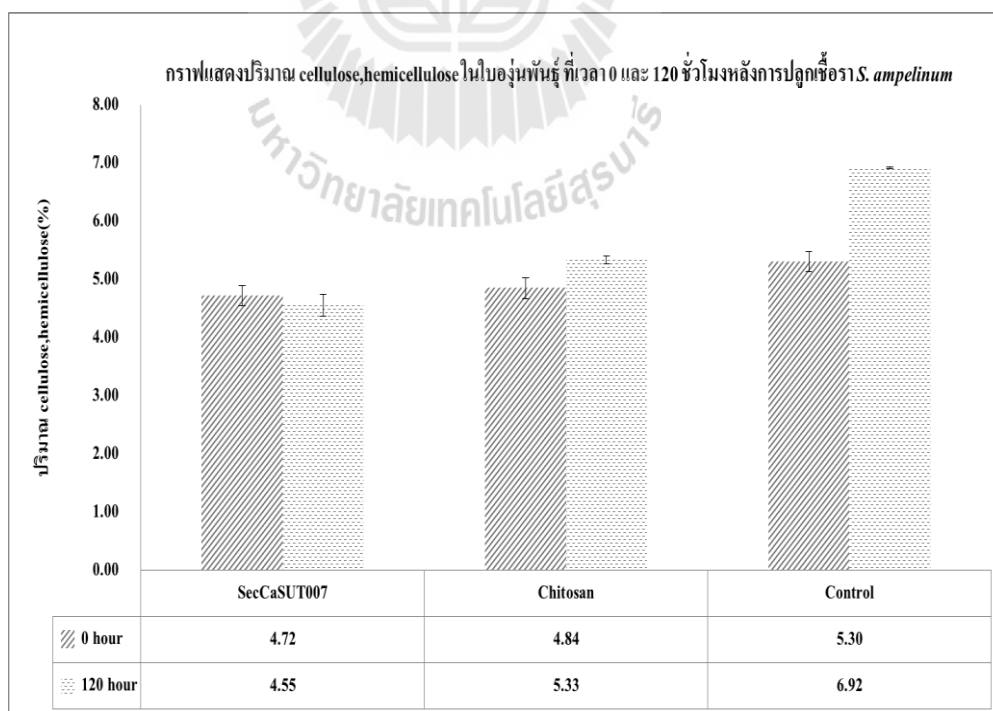
ภาพที่ 11 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ C=O ester ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูซีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



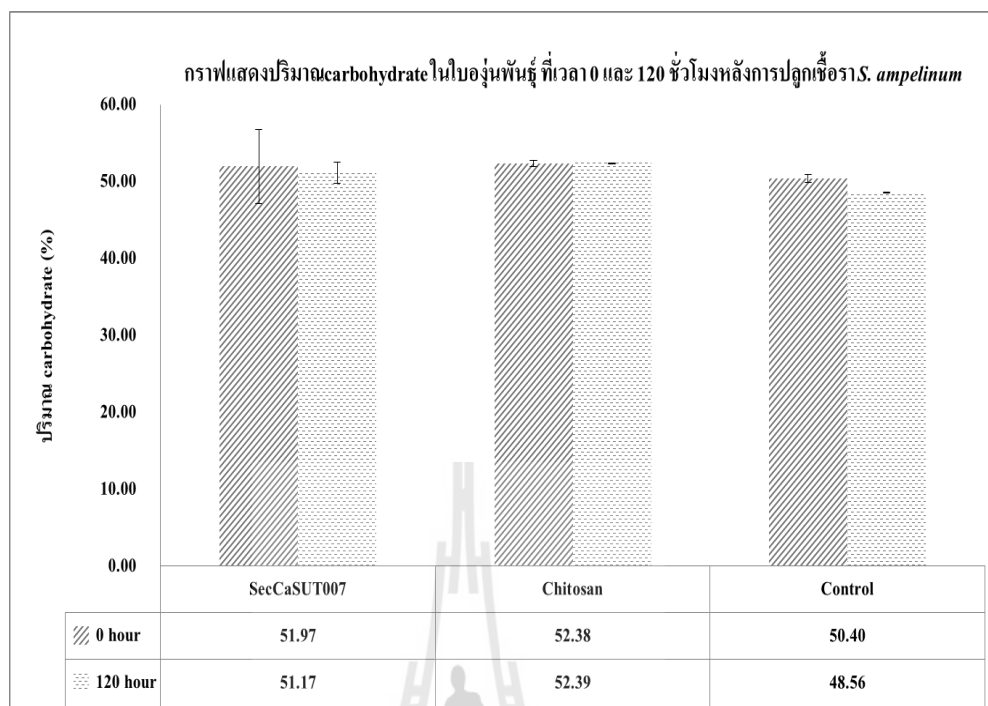
ภาพที่ 12 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ amide protein ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูซีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



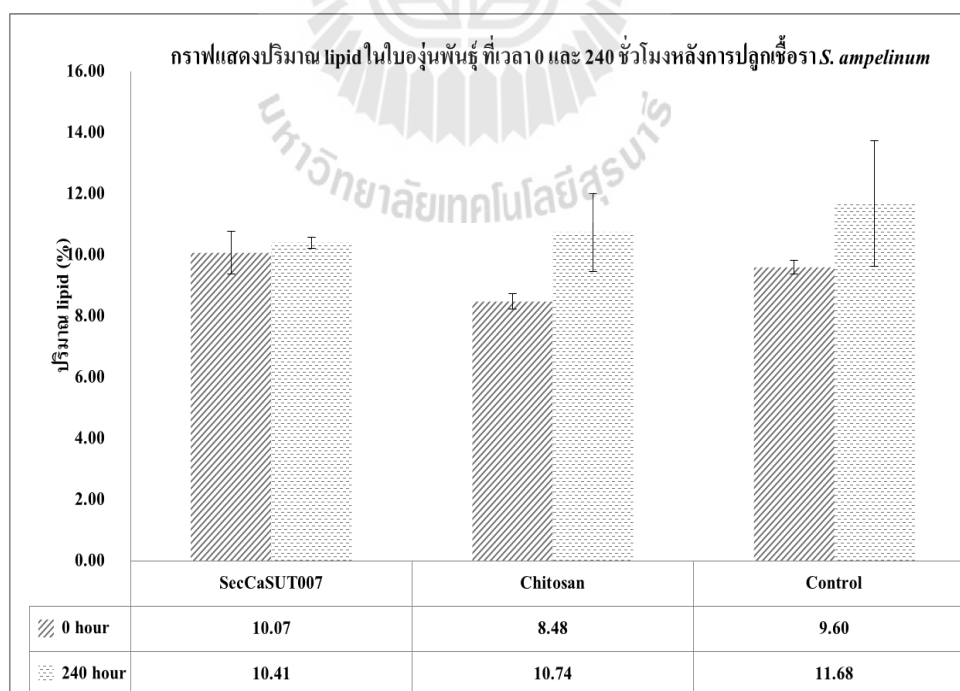
ภาพที่ 13 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ CH bending ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบอ่อนพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



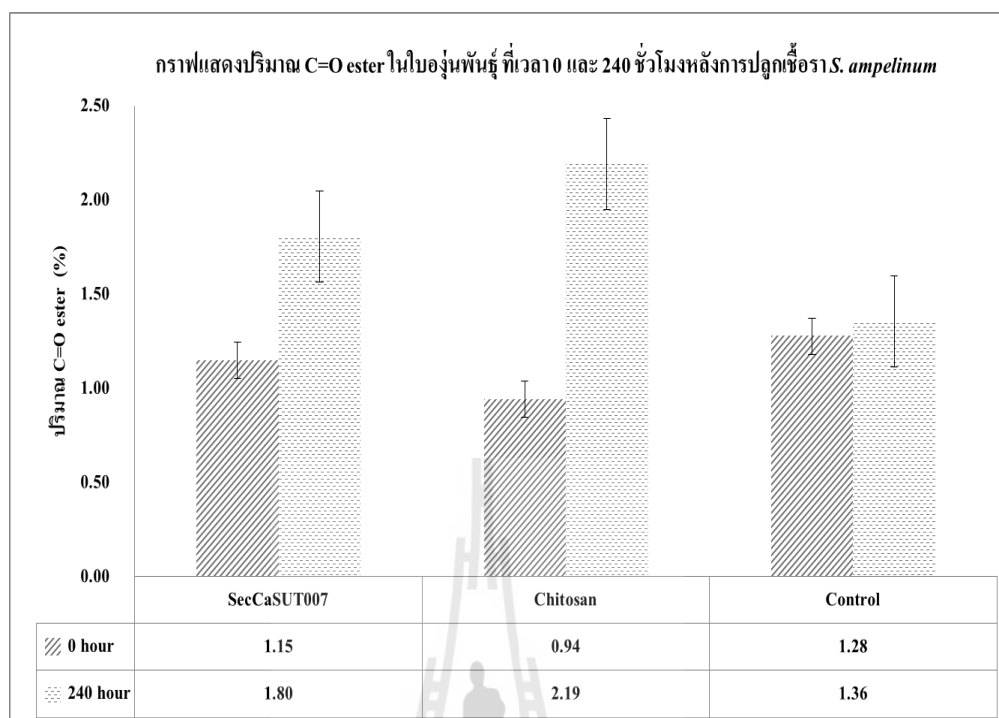
ภาพที่ 14 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ cellulose, hemicellulose ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบอ่อนพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



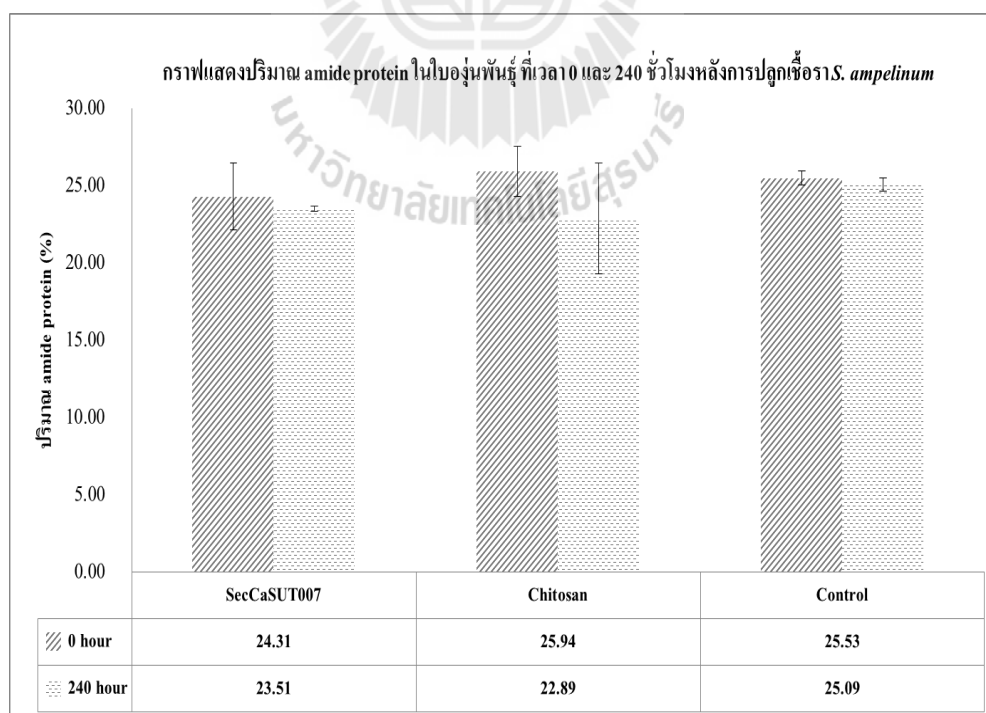
ภาพที่ 15 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ carbohydrate ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



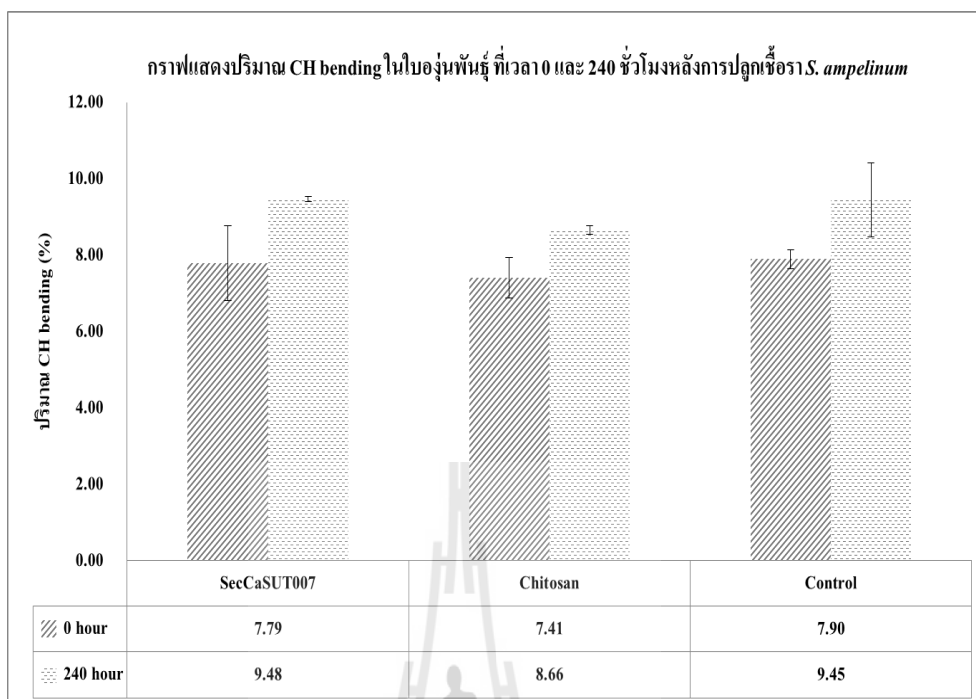
ภาพที่ 16 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ lipid ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



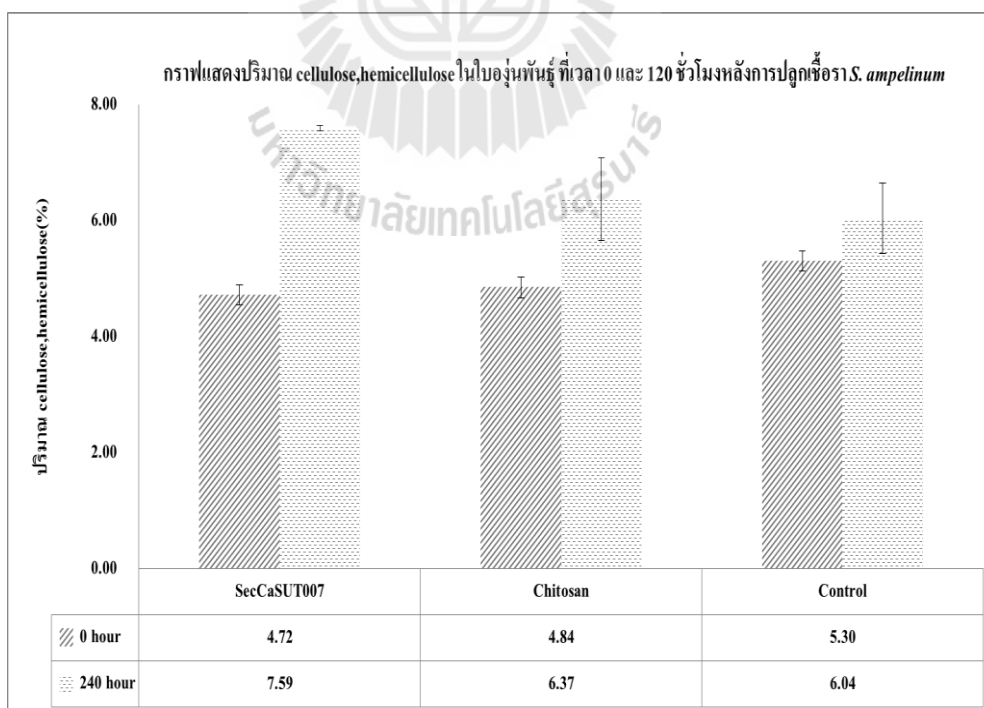
ภาพที่ 17 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ C=O ester ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



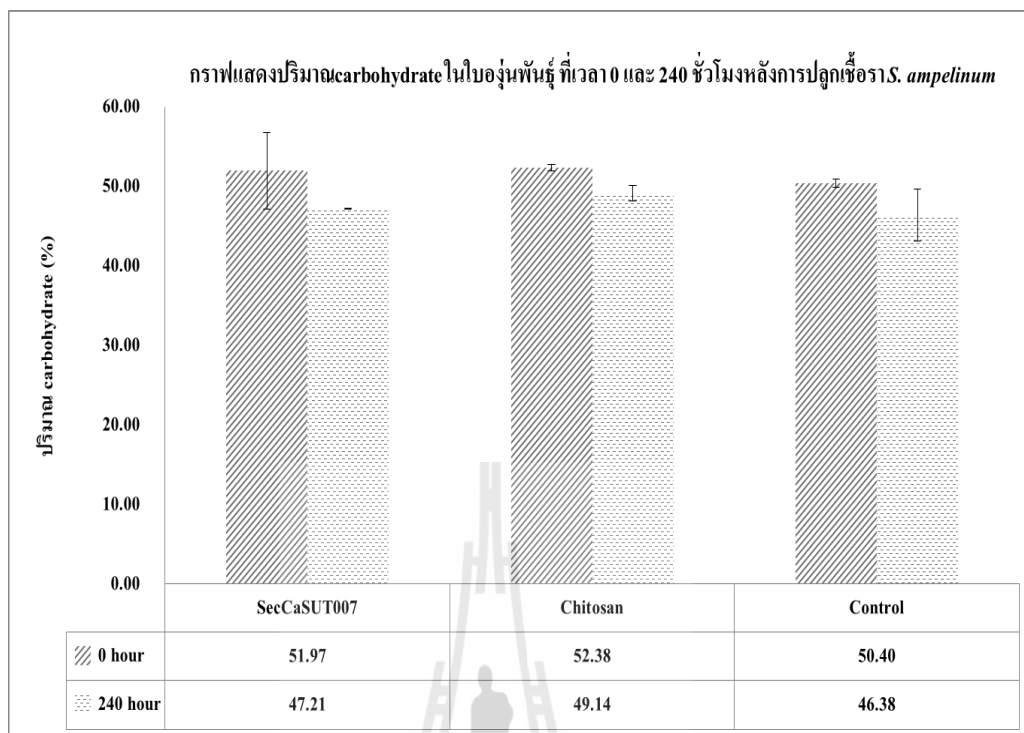
ภาพที่ 18 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ amide protein ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



ภาพที่ 19 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ CH bending ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารู้ชีสเลต ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



ภาพที่ 20 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ cellulose, hemicellulose ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารู้ชีสเลต ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ



ภาพที่ 21 กราฟแสดงปริมาณสารในกลุ่มของ carbohydrate ที่เปลี่ยนแปลงไปในใบองุ่นพันธุ์ มารูชีสเลส ที่เวลา 0 ชั่วโมง และ 240 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสแคบ

ตารางที่ 1 สภาพภูมิอากาศประจำเดือน พฤษภาคม 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา

Huybanyang May 2013 (2556)		Huybanyang Meteorological Data, Latitude 16° 56' 34", Longitude 102° 00' 09", Altitude 210.00 m Irrigation Water Management Research Station 3														
Date	Rainfall (mm)	Evaporation (mm)	Wind (km/day)			Radiation (Cal./cm ² /day)	Sunshine (hr./day)	Temperature (°C)			Humidity (%)			Pressure (+900 mb)		
			Day	Night	All			Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean
1	—	7.90	42.04	3.62	45.66	298.32	10.47	38.60	25.00	31.80	41.00	20.00	30.50			0.00
2	—	7.50	38.59	1.19	39.78	271.20	10.23	39.60	24.90	32.25	40.00	20.00	30.00			0.00
3	—	7.10	22.50	7.21	29.71	226.00	9.00	37.00	24.60	30.80	39.00	20.00	29.50			0.00
4	8.30	8.10	24.03	8.73	32.76	140.12	5.06	35.60	23.40	29.50	58.00	20.00	39.00			0.00
5	15.50	4.00	20.07	0.10	20.17	135.60	4.59	29.90	22.30	26.10	85.00	28.00	56.50			0.00
6	—	6.60	15.84	5.33	21.17	237.30	10.29	35.30	24.50	29.90	85.00	20.00	52.50			0.00
7	16.90	6.50	29.92	12.16	42.08	223.74	6.00	35.30	22.40	28.85	84.00	20.00	52.00			0.00
8	—	6.00	22.92	1.39	24.31	226.00	9.11	34.80	24.80	29.80	67.00	23.00	45.00			0.00
9	—	5.60	28.74	0.20	28.94	250.86	7.88	35.90	25.00	30.45	63.00	20.00	41.50			0.00
10	—	6.00	21.81	1.58	23.39	271.20	9.06	36.30	25.00	30.65	62.00	20.00	41.00			0.00
11	—	5.40	21.14	0.30	21.44	266.68	8.94	36.00	26.00	31.00	57.00	20.00	38.50			0.00
12	—	6.00	17.71	1.17	18.88	235.04	6.94	37.00	25.30	31.15	60.00	20.00	40.00			0.00
13	—	6.00	36.90	2.99	39.89	228.26	9.11	37.00	26.00	31.50	40.00	20.00	30.00			0.00
14	—	7.00	37.30	4.82	42.12	214.70	9.00	38.50	27.00	32.75	37.00	20.00	28.50			0.00
15	—	7.00	44.93	2.08	47.01	298.32	9.70	38.50	26.60	32.55	37.00	20.00	28.50			0.00
16	3.20	8.30	38.40	1.86	40.26	305.10	8.29	39.30	25.60	32.45	66.00	20.00	43.00			0.00
17	—	6.00	33.59	0.16	33.75	316.40	6.76	37.80	26.20	32.00	66.00	20.00	43.00			0.00
18	—	3.50	18.26	0.52	18.78	185.32	0.00	33.10	24.30	28.70	66.00	27.00	46.50			0.00
19	20.70	7.50	16.11	0.12	16.23	273.46	3.12	34.60	24.70	29.65	82.00	20.00	51.00			0.00
20	—	5.80	26.38	6.62	33.00	343.52	8.17	35.50	25.50	30.50	73.00	20.00	46.50			0.00
21	7.00	7.50	28.08	5.30	33.38	334.48	9.11	35.30	25.10	30.20	62.00	20.00	41.00			0.00
22	6.30	4.20	17.75	1.42	19.17	273.46	8.35	35.20	25.20	30.20	82.00	20.00	51.00			0.00
23	—	4.50	18.38	2.09	20.47	207.92	2.82	33.80	25.00	29.40	70.00	20.00	45.00			0.00
24	2.20	5.10	21.64	0.22	21.86	203.40	4.88	36.20	24.60	30.40	68.00	20.00	44.00			0.00
25	—	5.50	36.66	3.68	40.34	185.32	6.82	34.40	24.80	29.60	62.00	20.00	41.00			0.00
26	0.70	4.20	25.03	1.02	26.05	203.40	5.12	36.10	24.50	30.30	59.00	20.00	39.50			0.00
27	1.20	6.70	42.29	0.34	42.63	339.00	9.64	36.70	25.00	30.85	57.00	20.00	38.50			0.00
28	—	7.60	36.70	3.62	40.32	354.82	10.35	37.00	25.20	31.10	55.00	20.00	37.50			0.00
29	5.60	6.20	22.15	3.18	25.33	92.66	6.70	36.10	25.00	30.55	61.00	20.00	40.50			0.00
30	10.70	4.70	22.48	1.40	23.88	221.48	2.41	33.60	24.20	28.90	87.00	21.00	54.00			0.00
31	—	4.80	24.67	3.06	27.73	250.86	6.64	33.50	23.90	28.70	87.00	25.00	56.00			0.00
Total	98.30	188.80	853.01	87.48	940.49	7613.94	224.56	1113.50	771.60	942.55	1958.00	644.00	1301.00	0.00	0.00	0.00
Average		6.09	27.52	2.82	30.34	245.61	7.24	35.92	24.89	30.40	63.16	20.77	41.97	#DIV/0!	#DIV/0!	0.00

ตารางที่ 2 สภาพภูมิอากาศประจำเดือน มิถุนายน 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา

Huybanyang June 2013(2556)			Huybanyang Meteorological Data, Latitude 16° 56' 34", Longitude 102° 00' 09", Altitude 210.00 m Irrigation Water Management Research Station 3													
Date	Rainfall std. (mm)	Evaporation (mm)	Wind (km/day)			Radiation (Cal./cm ² /day)	Sunshine (hr./day)	Temperature (°C)			Humidity (%)			Pressure (+900 mb)		
			Day	Night	All			Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean
1	—	5.60	24.20	2.66	26.86	271.20	8.23	35.00	24.10	29.55	80.00	20.00	50.00			0.00
2	—	2.80	17.63	0.02	17.65	162.72	2.94	32.80	23.30	28.05	80.00	21.00	50.50			0.00
3	—	5.00	22.66	2.94	25.60	296.06	6.94	34.20	24.10	29.15	81.00	20.00	50.50			0.00
4	3.20	6.20	26.64	0.14	26.78	334.48	5.94	35.20	24.20	29.70	74.00	20.00	47.00			0.00
5	—	4.10	21.34	1.59	22.93	205.66	3.06	33.30	24.00	28.65	75.00	22.00	48.50			0.00
6	0.50	4.50	21.63	0.11	21.74	275.72	6.47	34.40	24.60	29.50	78.00	20.00	49.00			0.00
7	0.40	5.20	27.14	0.32	27.46	248.60	6.53	35.60	23.80	29.70	78.00	20.00	49.00			0.00
8	—	7.00	50.24	3.93	54.17	327.70	10.29	36.00	25.10	30.55	75.00	20.00	47.50			0.00
9	—	8.20	51.98	15.21	67.19	343.52	10.76	37.00	25.50	31.25	41.00	20.00	30.50			0.00
10	—	6.90	52.06	12.14	64.20	339.00	10.11	35.80	25.80	30.80	41.00	20.00	30.50			0.00
11	93.40	น้ำล้นถาด	20.46	10.10	30.56	226.00	1.29	34.10	24.00	29.05	81.00	20.00	50.50			0.00
12	—	3.50	18.96	0.39	19.35	221.48	2.76	29.70	24.40	27.05	83.00	30.00	56.50			0.00
13	—	2.60	15.43	1.23	16.66	226.00	0.53	29.00	24.60	26.80	68.00	38.00	53.00			0.00
14	—	3.90	24.85	0.71	25.56	248.60	3.94	32.30	24.70	28.50	71.00	22.00	46.50			0.00
15	—	5.80	16.56	0.06	16.62	275.72	9.76	35.20	23.70	29.45	71.00	20.00	45.50			0.00
16	—	5.10	19.03	1.21	20.24	250.86	7.88	34.30	24.40	29.35	71.00	20.00	45.50			0.00
17	—	5.40	18.77	3.24	22.01	350.30	7.00	35.00	24.40	29.70	65.00	20.00	42.50			0.00
18	6.50	6.30	23.14	3.64	26.78	235.04	6.12	32.10	25.10	28.60	71.00	26.00	48.50			0.00
19	11.90	2.90	15.88	9.64	25.52	203.40	4.53	31.20	24.50	27.85	72.00	33.00	52.50			0.00
20	—	6.10	42.90	8.04	50.94	298.32	7.06	33.20	24.70	28.95	56.00	20.00	38.00			0.00
21	—	6.00	51.55	8.32	59.87	289.28	6.12	33.80	25.60	29.70	49.00	20.00	34.50			0.00
22	—	4.50	47.97	6.72	54.69	185.32	0.82	31.60	25.30	28.45	46.00	25.00	35.50			0.00
23	—	2.10	28.27	4.34	32.61	124.30	0.00	29.90	24.50	27.20	47.00	29.00	38.00			0.00
24	1.40	4.50	24.69	4.65	29.34	237.30	2.29	33.50	25.00	29.25	64.00	20.00	42.00			0.00
25	2.30	2.50	13.30	0.23	13.53	167.24	0.76	31.90	24.70	28.30	73.00	28.00	50.50			0.00
26	0.60	2.10	10.33	2.01	12.34	149.16	1.18	30.20	24.20	27.20	76.00	29.00	52.50			0.00
27	—	4.80	41.58	3.44	45.02	296.06	6.06	33.20	23.70	28.45	55.00	20.00	37.50			0.00
28	—	7.00	55.37	5.85	61.22	361.60	10.47	34.40	23.50	28.95	49.00	20.00	34.50			0.00
29	—	7.50	56.91	2.49	59.40	341.26	10.17	34.40	23.60	29.00	46.00	20.00	33.00			0.00
30	—	6.00	48.21	7.16	55.37	334.48	9.88	34.70	23.70	29.20	45.00	20.00	32.50			0.00
Total	—	-	909.68	122.53	1032.21	7826.38	0.00	1003.00	732.80	867.90	1962.00	683.00	1322.50	0.00	0.00	0.00
Average	—	4.97	30.32	4.08	34.41	260.88	5.66	33.43	24.43	28.93	65.40	22.77	44.08	#DIV/0!	#DIV/0!	0.00

ตารางที่ 3 สภาพภูมิอากาศประจำเดือน กรกฎาคม 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา

Huybanyang July 2013 (2556)		Huybanyang Meteorological Data, Latitude 16° 56' 34", Longitude 102° 00' 09", Altitude 210.00 m Irrigation Water Management Research Station 3														
Date	Rainfall (mm)	Evaporation (mm)	Wind (km/day)			Radiation (Cal./cm ² /day)	Sunshine (hr./day)	Temperature (°C)			Humidity (%)			Pressure (+900 mb)		
			Day	Night	All			Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean
1	—	7.50	63.90	1.74	65.64	363.86	10.88	35.50	24.50	30.00	44.00	20.00	32.00			0.00
2	—	7.50	49.23	6.54	55.77	372.90	8.94	35.80	24.50	30.15	46.00	20.00	33.00			0.00
3	—	6.10	29.43	2.98	32.41	282.50	7.41	35.30	24.80	30.05	46.00	20.00	33.00			0.00
4	4.20	6.20	17.27	0.24	17.51	169.50	1.47	32.40	24.20	28.30	83.00	23.00	53.00			0.00
5	0.60	3.90	15.59	0.30	15.89	250.86	5.35	33.70	24.60	29.15	64.00	20.00	42.00			0.00
6	5.00	5.00	23.61	5.98	29.59	271.20	6.82	35.40	23.60	29.50	84.00	20.00	52.00			0.00
7	1.00	4.00	16.64	0.25	16.89	169.50	5.94	31.80	23.90	27.85	84.00	26.00	55.00			0.00
8	7.60	7.20	11.47	0.47	11.94	155.94	1.65	30.70	23.80	27.25	80.00	28.00	54.00			0.00
9	2.70	3.70	20.71	5.86	26.57	180.80	0.82	30.00	23.50	26.75	70.00	30.00	50.00			0.00
10	—	3.50	20.33	0.31	20.64	149.16	0.24	29.70	24.20	26.95	61.00	27.00	44.00			0.00
11	—	5.00	29.49	4.18	33.67	293.80	4.59	33.00	23.60	28.30	56.00	20.00	38.00			0.00
12	—	6.80	35.91	6.27	42.18	275.72	6.47	32.60	23.60	28.10	56.00	20.00	38.00			0.00
13	—	7.00	44.16	14.15	58.31	296.06	10.35	35.20	24.40	29.80	53.00	20.00	36.50			0.00
14	—	6.00	42.90	4.90	47.80	273.46	5.12	34.30	24.20	29.25	49.00	20.00	34.50			0.00
15	0.10	4.60	25.90	1.72	27.62	180.80	4.17	34.00	24.40	29.20	53.00	20.00	36.50			0.00
16	—	4.80	36.34	25.27	61.61	180.80	0.76	32.50	24.80	28.65	51.00	20.00	35.50			0.00
17	—	3.80	38.98	9.01	47.99	196.62	1.12	32.40	23.50	27.95	45.00	20.00	32.50			0.00
18	3.20	8.50	44.58	9.23	53.81	305.10	9.47	35.20	23.90	29.55	57.00	20.00	38.50			0.00
19	—	7.00	57.93	30.21	88.14	237.30	6.70	33.90	25.00	29.45	52.00	20.00	36.00			0.00
20	1.60	3.40	35.11	2.87	37.98	137.86	0.53	31.80	24.10	27.95	71.00	20.00	45.50			0.00
21	—	5.50	39.93	5.54	45.47	264.42	3.88	33.50	25.10	29.30	53.00	20.00	36.50			0.00
22	41.20	3.20	30.20	6.18	36.38	205.66	1.94	33.90	23.40	28.65	85.00	20.00	52.50			0.00
23	44.70	2.80	21.71	7.30	29.01	198.88	2.94	30.60	22.90	26.75	90.00	34.00	62.00			0.00
24	10.60	1.10	19.97	13.47	33.44	110.74	0.00	27.30	23.90	25.60	71.00	48.00	59.50			0.00
25	1.00	2.80	21.84	1.78	23.62	176.28	1.29	28.90	24.00	26.45	57.00	35.00	46.00			0.00
26	—	4.50	36.87	4.18	41.05	248.60	5.47	31.90	24.80	28.35	55.00	26.00	40.50			0.00
27	0.20	4.20	36.09	8.03	44.12	214.70	0.00	32.20	24.50	28.35	51.00	25.00	38.00			0.00
28	1.80	1.50	18.23	11.62	29.85	70.06	0.00	28.80	24.10	26.45	51.00	41.00	46.00			0.00
29	1.50	4.60	32.37	5.07	37.44	180.80	2.76	32.00	23.70	27.85	64.00	23.00	43.50			0.00
30	—	4.00	25.97	4.05	30.02	192.10	5.29	31.60	23.70	27.65	65.00	27.00	46.00			0.00
31	20.30	2.30	16.53	4.37	20.90	160.46	5.29	32.00	24.20	28.10	63.00	24.00	43.50			0.00
Total	147.30	148.00	959.19	204.07	1163.26	6766.44	127.65	1007.90	747.40	877.65	1910.00	757.00	1333.50	0.00	0.00	0.00
Average		4.77	30.94	6.58	37.52	218.27	4.12	32.51	24.11	28.31	61.61	24.42	43.02	#DIV/0!	#DIV/0!	0.00

ตารางที่ 4 สภาพภูมิอากาศประจำเดือน สิงหาคม 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา

Huybanyang August 2013 (2556)		Huybanyang Meteorological Data, Latitude 16° 56' 34", Longitude 102° 00' 09", Altitude 210.00 m Irrigation Water Management Research Station 3														
Date	Rainfall (mm)	Evaporation (mm)	Wind (km/day)			Radiation (Cal./cm ² /day)	Sunshine (hr./day)	Temperature (°C)			Humidity (%)			Pressure (+900 mb)		
			Day	Night	All			Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean
1	-	5.70	32.10	11.15	43.25	262.16	7.29	33.00	2.40	17.70	54.00	21.00	37.50			0.00
2	-	4.10	24.60	6.15	30.75	192.10	0.88	32.00	23.80	27.90	55.00	24.00	39.50			0.00
3	22.50	2.50	19.91	0.30	20.21	203.40	6.00	31.70	23.50	27.60	69.00	23.00	46.00			0.00
4	20.60	1.60	12.32	0.42	12.74	223.74	1.53	32.90	23.60	28.25	89.00	26.00	57.50			0.00
5	10.50	4.30	8.95	0.69	9.64	244.08	8.00	32.10	24.40	28.25	89.00	29.00	59.00			0.00
6	-	6.00	29.36	1.81	31.17	282.50	9.23	33.90	25.20	29.55	59.00	20.00	39.50			0.00
7	3.10	3.10	19.60	8.73	28.33	151.42	0.00	29.90	23.40	26.65	67.00	33.00	50.00			0.00
8	0.70	4.70	19.63	0.59	20.22	250.86	1.94	32.70	23.60	28.15	70.00	21.00	45.50			0.00
9	19.80	4.30	15.87	0.11	15.98	223.74	4.29	32.50	24.00	28.25	88.00	26.00	57.00			0.00
10	0.80	4.90	15.92	1.18	17.10	196.62	4.70	32.50	24.40	28.45	88.00	26.00	57.00			0.00
11	-	3.10	12.07	0.16	12.23	192.10	1.12	31.50	23.90	27.70	84.00	29.00	56.50			0.00
12	-	4.00	14.54	1.66	16.20	228.26	4.53	32.30	24.40	28.35	84.00	26.00	55.00			0.00
13	23.30	5.80	23.09	2.31	25.40	226.00	4.06	33.20	24.50	28.85	88.00	28.00	58.00			0.00
14	0.50	3.50	13.80	2.16	15.96	221.48	1.76	30.60	24.10	27.35	88.00	32.00	60.00			0.00
15	-	5.50	45.03	4.69	49.72	316.40	5.76	32.30	24.60	28.45	60.00	22.00	41.00			0.00
16	-	6.10	55.84	18.09	73.93	291.54	5.94	31.80	24.90	28.35	46.00	20.00	33.00			0.00
17	-	6.00	47.78	12.16	59.94	316.40	1.23	32.80	24.90	28.85	37.00	20.00	28.50			0.00
18	-	5.10	12.95	55.98	68.93	255.38	6.76	32.20	24.80	28.50	37.00	20.00	28.50			0.00
19	-	6.50	40.05	31.91	71.96	271.20	4.23	32.90	25.00	28.95	37.00	20.00	28.50			0.00
20	-	5.50	48.30	16.16	64.46	158.20	0.00	31.50	24.40	27.95	38.00	20.00	29.00			0.00
21	0.50	4.20	40.63	16.48	57.11	203.40	1.53	30.00	23.50	26.75	45.00	26.00	35.50			0.00
22	5.00	2.50	24.22	17.00	41.22	149.16	0.00	27.90	22.30	25.10	69.00	34.00	51.50			0.00
23	-	4.60	39.60	10.80	50.40	201.14	3.53	30.80	22.90	26.85	69.00	24.00	46.50			0.00
24	-	4.00	37.83	13.97	51.80	203.40	1.59	31.20	24.50	27.85	43.00	24.00	33.50			0.00
25	-	6.50	38.63	21.24	59.87	282.50	6.64	32.50	24.10	28.30	47.00	20.00	33.50			0.00
26	-	5.30	32.88	3.87	36.75	291.54	4.59	33.70	24.80	29.25	47.00	20.00	33.50			0.00
27	0.70	3.70	11.62	7.57	19.19	153.68	0.00	33.70	21.60	27.65	48.00	20.00	34.00			0.00
28	-	6.00	34.99	0.54	35.53	230.52	9.35	35.60	23.60	29.60	60.00	20.00	40.00			0.00
29	-	5.20	44.53	1.48	46.01	298.32	9.17	34.60	14.20	24.40	62.00	20.00	41.00			0.00
30	17.80	5.90	29.42	3.59	33.01	266.68	3.70	34.50	23.80	29.15	72.00	20.00	46.00			0.00
31	2.00	3.00	10.43	0.00	10.43	180.80	1.94	32.20	23.50	27.85	87.00	27.00	57.00			0.00
Total	127.80	143.20	856.49	272.95	1129.44	7168.72	121.31	1001.00	712.60	856.80	1976.00	741.00	1358.50	0.00	0.00	0.00
Average		4.62	27.63	8.80	36.43	231.25	3.91	32.29	22.99	27.64	63.74	23.90	43.82	#DIV/0!	#DIV/0!	0.00

ตารางที่ 5 สภาพภูมิอากาศประจำเดือน ตุลาคม 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา

Huybanyang October 2013 (2556)		Huybanyang Meteorological Data, Latitude 16° 56' 34", Longitude 102° 00' 09", Altitude 210.00 m Irrigation Water Management Research Station 3														
Date	Rainfall (mm)	Evaporation (mm)	Wind (km/day)			Radiation (Cal./cm ² /day)	Sunshine (hr./day)	Temperature (°C)			Humidity (%)			Pressure (+900 mb)		
			Day	Night	All			Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean
1	30.50	5.00	8.82	0.77	9.59	196.62	4.57	30.80	22.80	26.80	83.00	27.00	55.00			0.00
2	34.60	3.60	7.80	0.50	8.30	169.50	3.14	30.40	23.20	26.80	84.00	31.00	57.50			0.00
3	10.40	3.90	8.22	0.22	8.44	203.40	2.46	29.80	23.40	26.60	90.00	36.00	63.00			0.00
4	-	4.70	21.02	1.29	22.31	239.56	7.14	29.80	24.30	27.05	73.00	24.00	48.50			0.00
5	-	5.00	22.19	2.29	24.48	291.54	9.02	30.00	24.40	27.20	55.00	25.00	40.00			0.00
6	-	4.10	21.59	14.45	36.04	198.88	4.28	28.80	24.50	26.65	46.00	32.00	39.00			0.00
7	42.80	3.80	14.56	1.37	15.93	140.12	2.68	28.80	21.90	25.35	79.00	30.00	54.50			0.00
8	-	5.10	25.57	0.00	25.57	241.82	9.36	30.90	20.50	25.70	81.00	20.00	50.50			0.00
9	-	5.40	22.00	0.02	22.02	282.50	9.71	31.20	21.40	26.30	71.00	20.00	45.50			0.00
10	-	3.00	11.98	0.00	11.98	271.20	7.25	31.00	21.90	26.45	76.00	20.00	48.00			0.00
11	-	5.00	20.47	0.00	20.47	334.48	9.59	31.00	21.90	26.45	83.00	20.00	51.50			0.00
12	-	3.50	21.87	0.33	22.20	151.42	6.57	30.50	22.60	26.55	80.00	25.00	52.50			0.00
13	-	4.50	19.86	0.23	20.09	219.22	8.68	32.10	23.60	27.85	83.00	20.00	51.50			0.00
14	-	4.00	15.44	1.57	17.01	146.90	4.11	33.00	23.00	28.00	75.00	20.00	47.50			0.00
15	47.00	3.80	10.73	6.57	17.30	162.72	1.35	30.50	23.00	26.75	79.00	27.00	53.00			0.00
16	41.00	0.50	11.10	2.99	14.09	22.60	0.00	23.70	22.50	23.10	92.00	76.00	84.00			0.00
17	27.50	3.00	9.91	0.28	10.19	232.78	2.59	29.80	23.20	26.50	92.00	37.00	64.50			0.00
18	70.80	9.80	10.79	4.09	14.88	45.20	0.47	28.20	22.40	25.30	92.00	49.00	70.50			0.00
19	0.50	1.50	16.53	0.30	16.83	113.00	0.59	26.40	23.00	24.70	92.00	53.00	72.50			0.00
20	-	2.50	23.21	1.62	24.83	153.68	3.35	28.60	21.20	24.90	66.00	31.00	48.50			0.00
21	-	3.00	25.96	2.00	27.96	178.54	5.53	28.70	21.90	25.30	66.00	31.00	48.50			0.00
22	-	3.50	26.08	2.21	28.29	223.74	6.76	29.50	22.10	25.80	60.00	28.00	44.00			0.00
23	-	2.80	22.05	0.24	22.29	160.46	5.35	28.90	21.30	25.10	73.00	29.00	51.00			0.00
24	-	5.00	27.17	2.64	29.81	259.90	9.76	29.40	21.70	25.55	73.00	21.00	47.00			0.00
25	-	3.90	30.26	5.66	35.92	135.60	3.82	27.30	21.00	24.15	57.00	28.00	42.50			0.00
26	-	5.00	28.32	0.69	29.01	282.50	8.17	27.40	19.70	23.55	69.00	20.00	44.50			0.00
27	-	4.80	25.89	0.82	26.71	273.46	6.94	28.60	20.60	24.60	61.00	20.00	40.50			0.00
28	-	3.90	18.09	0.59	18.68	192.10	2.47	29.40	21.00	25.20	62.00	22.00	42.00			0.00
29	-	4.80	20.54	0.41	20.95	235.04	8.11	30.10	20.70	25.40	64.00	20.00	42.00			0.00
30	-	4.30	25.44	0.18	25.62	248.60	9.35	30.60	21.40	26.00	67.00	20.00	43.50			0.00
31	-	4.00	22.14	0.00	22.14	253.12	6.47	31.30	22.30	26.80	71.00	23.00	47.00			0.00
Total	305.10	126.70	595.60	54.33	649.93	6260.20	169.65	916.50	688.40	802.45	2295.00	885.00	1590.00	0.00	0.00	0.00
Average		4.09	19.21	1.75	20.97	201.94	5.47	29.56	22.21	25.89	74.03	28.55	51.29	#DIV/0!	#DIV/0!	0.00

ตารางที่ 6 สภาพภูมิอากาศประจำเดือน พฤศจิกายน 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา

Huybanyang November 2013 (2556)			Huybanyang Meteorological Data, Latitude 16° 56' 34", Longitude 102° 00' 09", Altitude 210.00 m Irrigation Water Management Research Station 3													
Date	Rainfall std. (mm)	Evaporation (mm)	Wind (km/day)			Radiation (Cal./cm ² /day)	Sunshine (hr./day)	Temperature (°C)			Humidity (%)			Pressure (+900 mb)		
			Day	Night	All			Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean
1	—	4.20	27.31	0.00	27.31	257.64	9.58	31.20	20.80	26.00	75.00	20.00	47.50			0.00
2	—	5.20	34.34	0.11	34.45	316.40	9.35	31.10	19.70	25.40	69.00	20.00	44.50			0.00
3	—	5.40	33.06	0.76	33.82	271.20	9.41	30.40	18.30	24.35	69.00	20.00	44.50			0.00
4	—	5.00	36.79	0.01	36.80	273.46	9.53	29.30	19.00	24.15	63.00	20.00	41.50			0.00
5	2.60	4.80	33.46	0.39	33.85	221.48	8.41	30.20	20.20	25.20	60.00	20.00	40.00			0.00
6	—	4.20	37.62	8.26	45.88	178.54	6.12	30.10	22.60	26.35	51.00	21.00	36.00			0.00
7	—	2.90	30.98	0.68	31.66	131.08	0.88	30.10	22.60	26.35	51.00	21.00	36.00			0.00
8	—	4.80	48.47	0.71	49.18	180.80	2.35	29.80	22.30	26.05	83.00	27.00	55.00			0.00
9	—	4.00	21.47	0.04	21.51	180.80	7.35	29.60	20.70	25.15	84.00	21.00	52.50			0.00
10	—	3.50	12.27	1.10	13.37	192.10	5.41	30.90	20.70	25.80	76.00	20.00	48.00			0.00
11	—	4.20	11.44	0.06	11.50	259.90	9.06	33.80	21.30	27.55	68.00	20.00	44.00			0.00
12	—	3.30	7.58	0.18	7.76	183.06	8.70	33.50	22.90	28.20	66.00	20.00	43.00			0.00
13	—	3.90	8.68	1.91	10.59	158.20	2.65	29.80	23.40	26.60	79.00	34.00	56.50			0.00
14	—	3.00	20.55	2.65	23.20	214.70	7.23	29.10	22.00	25.55	66.00	31.00	48.50			0.00
15	—	3.80	44.91	19.36	64.27	146.90	5.23	29.00	21.40	25.20	54.00	22.00	38.00			0.00
16	—	2.20	23.69	0.18	23.87	124.30	1.71	26.60	21.80	24.20	57.00	31.00	44.00			0.00
17	—	3.00	24.16	0.04	24.20	124.30	0.76	27.60	20.40	24.00	67.00	28.00	47.50			0.00
18	—	4.20	27.15	7.76	34.91	212.44	7.35	29.50	20.10	24.80	64.00	20.00	42.00			0.00
19	—	3.50	21.64	5.58	27.22	214.70	5.17	28.90	19.40	24.15	55.00	21.00	38.00			0.00
20	—	3.40	19.12	0.03	19.15	237.30	8.58	28.20	19.90	24.05	56.00	22.00	39.00			0.00
21	—	3.50	21.42	0.04	21.46	226.00	8.17	28.60	20.00	24.30	60.00	22.00	41.00			0.00
22	—	3.80	20.92	0.07	20.99	221.48	7.82	29.70	20.00	24.85	60.00	20.00	40.00			0.00
23	—	3.50	15.50	0.02	15.52	230.52	5.06	29.60	22.30	25.95	71.00	23.00	47.00			0.00
24	—	4.00	10.96	0.64	11.60	194.36	5.00	31.90	22.70	27.30	71.00	20.00	45.50			0.00
25	—	2.50	8.79	2.22	11.01	131.08	2.47	30.00	21.30	25.65	61.00	23.00	42.00			0.00
26	—	3.00	10.43	0.04	10.47	176.28	5.06	29.40	21.50	25.45	77.00	27.00	52.00			0.00
27	—	4.00	11.76	0.57	12.33	198.88	7.76	31.70	22.00	26.85	83.00	20.00	51.50			0.00
28	—	5.00	27.41	34.55	61.96	246.34	8.23	30.60	19.90	25.25	56.00	20.00	38.00			0.00
29	—	3.80	40.69	1.85	42.54	237.30	7.29	27.00	17.30	22.15	53.00	20.00	36.50			0.00
30	—	3.90	29.91	6.57	36.48	212.44	8.11	27.20	18.10	22.65	48.00	20.00	34.00			0.00
Total	2.60	115.50	722.48	96.38	818.86	6153.98	189.81	894.40	624.60	759.50	1953.00	674.00	1313.50	0.00	0.00	0.00
Average		3.85	24.08	3.21	27.30	205.13	6.33	29.81	20.82	25.32	65.10	22.47	43.78	#DIV/0!	#DIV/0!	0.00

ตารางที่ 7 สภาพภูมิอากาศประจำเดือน ธันวาคม 2556 อ.เมือง จ.นครราชสีมา

Huybanyang December 2013 (2556)		Huybanyang Meteorological Data, Latitude 16° 56' 34", Longitude 102° 00' 09", Altitude 210.00 m Irrigation Water Management Research Station 3														
Date	Rainfall (mm)	Evaporation (mm)	Wind (km/day)			Radiation (Cal./cm ² /day)	Sunshine (hr./day)	Temperature (°C)			Humidity (%)			Pressure (+900 mb)		
			Day	Night	All			Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean
1	-	4.10	44.59	19.32	63.91	169.50	7.06	17.40	16.40	16.90	40.00	20.00	30.00			0.00
2	-	4.50	43.72	0.01	43.73	259.90	9.23	15.60	13.70	14.65	57.00	20.00	38.50			0.00
3	-	4.20	29.62	0.08	29.70	255.38	8.70	26.60	13.80	20.20	60.00	20.00	40.00			0.00
4	-	4.00	34.61	0.07	34.68	259.90	8.82	27.60	15.20	21.40	61.00	20.00	40.50			0.00
5	-	3.50	24.01	3.49	27.50	226.00	7.70	27.90	17.00	22.45	62.00	20.00	41.00			0.00
6	-	4.00	32.23	15.04	47.27	189.84	7.23	27.80	14.60	21.20	53.00	20.00	36.50			0.00
7	-	4.10	28.92	0.15	29.07	235.04	8.88	26.70	14.50	20.60	60.00	20.00	40.00			0.00
8	-	3.50	18.01	0.00	18.01	192.10	8.53	27.30	14.80	21.05	60.00	20.00	40.00			0.00
9	-	3.60	16.53	0.01	16.54	239.56	8.29	29.00	15.00	22.00	62.00	20.00	41.00			0.00
10	-	3.90	20.41	0.07	20.48	237.30	8.47	28.10	15.60	21.85	60.00	20.00	40.00			0.00
11	-	3.60	20.15	0.29	20.44	235.04	8.47	28.90	16.00	22.45	63.00	20.00	41.50			0.00
12	-	3.50	14.24	0.12	14.36	241.82	7.88	29.00	16.80	22.90	61.00	20.00	40.50			0.00
13	-	3.20	14.15	0.62	14.77	205.66	7.35	29.90	17.60	23.75	63.00	20.00	41.50			0.00
14	-	3.30	16.26	0.04	16.30	162.72	7.82	30.30	19.30	24.80	66.00	20.00	43.00			0.00
15	-	3.00	14.63	0.30	14.93	126.56	6.06	30.30	20.50	25.40	68.00	21.00	44.50			0.00
16	-	2.60	28.61	10.59	39.20	108.48	2.23	28.40	15.80	22.10	55.00	23.00	39.00			0.00
17	-	2.10	50.87	0.79	51.66	131.08	1.53	21.90	13.00	17.45	74.00	33.00	53.50			0.00
18	-	4.00	32.94	9.33	42.27	250.86	9.17	22.20	13.10	17.65	58.00	20.00	39.00			0.00
19	-	3.50	35.09	2.05	37.14	296.06	8.41	23.30	13.90	18.60	39.00	20.00	29.50			0.00
20	-	3.50	27.69	4.24	31.93	237.30	8.58	24.20	12.70	18.45	41.00	20.00	30.50			0.00
21	-	4.00	33.20	5.88	39.08	214.70	8.17	23.90	12.60	18.25	41.00	20.00	30.50			0.00
22	-	4.10	32.21	0.20	32.41	194.36	6.41	23.40	12.30	17.85	56.00	20.00	38.00			0.00
23	-	3.30	25.13	0.00	25.13	266.68	8.47	25.40	12.80	19.10	58.00	20.00	39.00			0.00
24	-	3.30	28.54	0.00	28.54	223.74	8.47	25.80	13.50	19.65	60.00	20.00	40.00			0.00
25	-	4.00	29.03	0.01	29.04	235.04	8.23	24.30	10.10	17.20	54.00	20.00	37.00			0.00
26	-	5.00	28.79	0.02	28.81	266.68	8.47	24.90	10.10	17.50	58.00	20.00	39.00			0.00
27	-	3.80	41.10	3.29	44.39	259.90	8.29	24.00	10.40	17.20	54.00	20.00	37.00			0.00
28	-	3.80	30.94	0.12	31.06	228.26	8.35	23.60	11.10	17.35	51.00	20.00	35.50			0.00
29	-	3.10	28.34	0.92	29.26	189.84	8.17	24.10	13.90	19.00	51.00	20.00	35.50			0.00
30	-	3.50	27.04	0.65	27.69	216.96	5.82	24.30	12.60	18.45	50.00	20.00	35.00			0.00
31	-	3.60	29.44	0.72	30.16	180.80	8.64	25.00	12.20	18.60	54.00	20.00	37.00			0.00
Total	0.00	113.20	881.04	78.42	959.46	6737.06	237.90	791.10	440.90	616.00	1750.00	637.00	1193.50	0.00	0.00	0.00
Average		3.65	28.42	2.53	30.95	217.32	7.67	25.52	14.22	19.87	56.45	20.55	38.50	#DIV/0!	#DIV/0!	0.00

ตารางที่ 8 สภาพภูมิอากาศประจำเดือน มกราคม 2557 อ.เมือง จ.นครราชสีมา

Huybanyang January 2014 (2557)		Huybanyang Meteorological Data, Latitude 16° 56' 34", Longitude 102° 00' 09", Altitude 210.00 m Irrigation Water Management Research Station 3														
Date	Rainfall (mm)	stdEvaporation (mm)	Wind (km/day)			Radiation (Cal./cm ² /day)	Sunshine (hr./day)	Temperature (°C)			Humidity (%)			Pressure (+900 mb)		
			Day	Night	All			Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean
1	-	3.30	17.87	0.00	17.87	192.10	8.53	25.00	12.20	0.00	57.00	20.00	38.50			0.00
2	-	4.00	10.88	0.20	11.08	273.46	8.88	25.90	10.90	18.40	61.00	20.00	40.50			0.00
3	-	3.40	8.98	0.12	9.10	257.64	9.11	33.00	12.70	22.85	58.00	20.00	39.00			0.00
4	-	3.80	18.18	6.06	24.24	226.00	8.53	29.60	14.90	22.25	54.00	20.00	37.00			0.00
5	-	4.00	18.59	0.01	18.60	244.08	8.41	28.10	15.00	21.55	56.00	20.00	38.00			0.00
6	-	3.90	11.34	0.46	11.80	246.34	8.64	31.40	14.90	23.15	61.00	20.00	40.50			0.00
7	-	3.00	13.08	0.02	13.10	214.70	7.59	33.40	16.40	24.90	60.00	20.00	40.00			0.00
8	-	4.00	11.84	0.18	12.02	237.30	8.70	33.00	17.60	25.30	57.00	20.00	38.50			0.00
9	-	4.00	28.66	1.16	29.82	237.30	8.88	29.40	15.70	22.55	54.00	20.00	37.00			0.00
10	-	4.50	23.54	0.18	23.72	275.72	8.35	28.40	15.60	22.00	56.00	20.00	38.00			0.00
11	-	4.50	26.24	0.10	26.34	280.24	9.35	29.10	15.50	22.30	60.00	20.00	40.00			0.00
12	-	4.50	32.46	4.63	37.09	237.30	9.23	28.80	15.20	22.00	52.00	20.00	36.00			0.00
13	-	4.90	32.94	22.46	55.40	284.76	9.06	27.30	13.20	20.25	52.00	20.00	36.00			0.00
14	-	4.50	37.83	3.32	41.15	271.20	9.35	25.10	11.50	18.30	42.00	20.00	31.00			0.00
15	-	4.00	34.29	0.01	34.30	271.20	8.64	24.40	9.80	17.10	46.00	20.00	33.00			0.00
16	-	3.60	24.89	27.14	52.03	273.46	8.88	25.10	10.00	17.55	48.00	20.00	34.00			0.00
17	-	4.60	27.09	19.76	46.85	241.82	9.17	26.80	11.50	19.15	47.00	20.00	33.50			0.00
18	-	5.00	44.54	23.58	68.12	253.12	8.17	25.10	11.60	18.35	38.00	20.00	29.00			0.00
19	-	3.10	25.88	0.06	25.94	194.36	8.64	24.50	10.80	17.65	46.00	20.00	33.00			0.00
20	-	4.50	31.01	24.51	55.52	248.60	8.64	25.50	11.00	18.25	50.00	20.00	35.00			0.00
21	-	4.90	42.76	12.38	55.14	268.94	9.17	24.70	10.20	17.45	35.00	20.00	27.50			0.00
22	-	4.50	45.30	3.68	48.98	266.68	8.82	23.10	8.50	15.80	44.00	20.00	32.00			0.00
23	-	3.80	24.22	0.14	24.36	293.80	9.23	24.40	8.70	16.55	48.00	20.00	34.00			0.00
24	-	3.90	16.76	0.33	17.09	305.10	9.11	27.40	8.80	18.10	52.00	20.00	36.00			0.00
25	-	4.00	14.71	0.27	14.98	284.76	9.23	29.20	11.00	20.10	50.00	20.00	35.00			0.00
26	-	4.00	20.95	0.17	21.12	268.94	9.11	28.80	13.40	21.10	50.00	20.00	35.00			0.00
27	-	4.10	21.59	0.00	21.59	268.94	9.29	28.60	13.50	21.05	54.00	20.00	37.00			0.00
28	-	4.50	19.17	1.01	20.18	275.72	9.64	29.80	13.80	21.80	56.00	20.00	38.00			0.00
29	-	4.50	21.47	0.04	21.51	293.80	9.53	30.40	14.70	22.55	56.00	20.00	38.00			0.00
30	-	4.90	24.06	0.04	24.10	275.72	9.41	29.70	13.80	21.75	50.00	20.00	35.00			0.00
31	-	4.80	21.99	0.31	22.30	259.90	9.47	29.80	13.80	21.80	50.00	20.00	35.00			0.00
Total	0.00	129.00	753.11	152.33	905.44	8023.00	276.77	864.80	396.20	611.90	50.00	20.00	1110.00	0.00	0.00	0.00
Average		4.16	24.29	4.91	29.21	258.81	8.93	27.90	12.78	19.74	51.61	20.00	35.81	#DIV/0!	#DIV/0!	0.00

ประวัติผู้เขียน

นางสาวชญมน พิวทอง เกิดเมื่อวันที่ 19 ธันวาคม 2531 ที่ อำเภอ ศรีราชา จังหวัด ชลบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการผลิตพืช) เมื่อปี พ.ศ. 2554

ในปี 2554 ได้เข้าศึกษาต่อ ระดับปริญญาโท สาขาวิชาพืชศาสตร์ สำนักวิชา เทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยระหว่างศึกษาได้รับทุนผู้ช่วยสอนและผู้ช่วยวิจัย และทุนวิจัยจากแหล่งทุนภายนอก

