

รหัสโครงการ SUT 3-302-46-36-16



## รายงานการวิจัย

# การจัดการโรคขององุ่นแบบผสมผสาน (Integrated Management of Grape Diseases)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



## รายงานการวิจัย

# การจัดการโรคขององุ่นแบบผสมผสาน (Integrated Management of Grape Diseases)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

อาจารย์ ดร.โสภณ วงศ์แก้ว  
สาขาวิชา เทคโนโลยีการผลิตพืช  
สำนักวิชา เทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมวิจัย

ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร. นันทกร บุญเกิด

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2546-2548

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

เมษายน พ.ศ. 2553



## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยวิจัยและพัฒนาเฉพาะทางด้านองุ่นและการสร้างมูลค่าและฟาร์ม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ช่วยสนับสนุนพื้นที่ และพันธุ์องุ่นที่ใช้ในการทดลอง ขอขอบคุณ คุณเอกวัฒน์ ธาราพฤกษ์พงศ์ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้พื้นที่ห้องทดลองกัญและโรคพืช วิทยา อาคารปฏิบัติการศูนย์เครื่องมือและวิทยาศาสตร์ คุณชนิษฐา มากรุง ผู้ช่วยวิจัยของโครงการ และนักศึกษาระดับปริญญาโท คุณณัฐธิญา เบือนสันเทียะ นักศึกษาระดับปริญญาโท คุณพรพรรณ อุสุวรรณ และคุณชัยธวัช จารุทรศน์ นักศึกษาระดับปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ในความมุ่งมั่นดำเนินการวิจัยจนเป็นผลสำเร็จดังที่ปรากฏ ขอขอบคุณ Mr. Pierre LAFITTE นักศึกษาจาก Institute National Polytechnique, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse ประเทศฝรั่งเศสที่ช่วยศึกษาเบื้องต้นในเรื่องการจัดการโรคโดยใช้สารเคมีและขอขอบคุณ คุณสุรทิน ใจดี ที่ช่วยจัดพิมพ์รายงานฉบับสมบูรณ์จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2546 ถึง 2548

## การจัดการโรคองุ่นแบบผสมผสาน

โสภณ วงศ์แก้ว และ นันทกร บุญเกิด

### บทคัดย่อ

โรคองุ่นนับเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การปลูกองุ่นในประเทศไทยล้มเหลว ข้อมูลทางด้านโรคขององุ่นในเขตร้อนยังค่อนข้างน้อย ข้อมูลที่ใช้ประกอบการจัดการโรคส่วนใหญ่เป็นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาองุ่นในเขตอบอุ่น การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจชนิดของโรค ศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อสาเหตุโรคองุ่นในประเทศไทย และการตอบสนองต่อสายพันธุ์องุ่นต่อเชื้อก่อโรคที่สำคัญ ช่วงเวลาของการเกิดโรคและพัฒนาการการแพร่ระบาด และทดสอบวิธีการจัดการโรคขององุ่น การสำรวจชนิดของโรคครอบคลุมแหล่งปลูกองุ่นที่สำคัญในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ ทำการศึกษาโดยการสัมภาษณ์เกษตรกร สำรวจองุ่นในพื้นที่ปลูกและเก็บตัวอย่างองุ่นที่เป็นโรคและตัวอย่างดินนำมาวิเคราะห์และศึกษารายละเอียดในห้องปฏิบัติการ การศึกษาช่วงเวลาของการเกิดโรค การแพร่ระบาด และการจัดการโรค ใช้พื้นที่สวนองุ่นของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ทำการศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือน ธันวาคม 2549 ผลของการสำรวจโรคและสาเหตุที่พบว่าโรคราน้ำค้างจากเชื้อ *Plasmopara viticola* และโรคสแคบหรือแอนแทรกโนสจากเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* เป็นโรคที่พบทำความเสียหายรุนแรงในทุกพื้นที่ปลูกโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝน ขณะที่โรคกิ่งแห้งเน่าขมจากเชื้อ *Greeneria uvicola* โรคใบแห้งจากเชื้อ *Alternaria alternata* โรคราแป้งจากเชื้อ *Oidium tuckeri* และโรคราสนิมจากเชื้อ *Physopella ampelopsidis* เฉพาะในบางพื้นที่และบางช่วงฤดูเท่านั้น ผลการสำรวจโรคพบอาการโรคคล้าย Pierce's disease ที่จังหวัดเชียงรายแต่ผลการด้วยเทคนิคทางเซรุ่มวิทยาให้ผลเป็นลบ การศึกษารายละเอียดคุณสมบัติวิทยาชีวเคมี และเซรุ่มวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคใบจุดเส้นใบไหม้ พบว่าเกิดจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* ไม่ใช่ *Xylophilus ampelinus* ตามที่รายงานในองุ่นเขตอบอุ่น การศึกษาองุ่นที่แสดงอาการใบด่าง ใบม้วน เส้นใบไหม้ หรือใบพัด พบว่าตัวอย่างที่แสดงอาการใบด่างส่วนใหญ่ให้ผลบวกกับแอนติเซรุ่มของเชื้อ tobacco ringspot nepovirus (TbRSV) ตัวอย่างส่วนน้อยที่เหลือให้ผลบวกกับแอนติเซรุ่มของเชื้อ tomato ringspot nepovirus (TmRSV), grape fanleaf nepovirus (GFV), grapevine closterovirus A (GAV) และ tobacco mosaic tobamovirus (TMV) เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี direct antigen coating indirect enzyme linked immunosorbent assay (DAC-indirect ELISA) การตรวจดินที่เก็บจากสวนองุ่นพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช *Helicotylenchus* sp. เป็นส่วนใหญ่ แต่ตรวจไม่พบ *Xiphinema* spp. ที่เป็นพาหะสำคัญของไวรัสองุ่นเลย การศึกษาความหลากหลาย



ของเชื้อ *S. ampelinum* ที่แยกได้จากองุ่นที่เป็นโรคสแคบที่เก็บจากแหล่งปลูกสำคัญทั่วประเทศ จำนวน 38 ไอโซเลต พบว่ามีความแตกต่างกันทางด้านลักษณะการเจริญเติบโตและสีของโคโลนี เมื่อเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar มีขนาดโคนิเดียแตกต่างกันเล็กน้อย และเมื่อนำแอนติเซรุ่ม ที่ผลิตได้จากเชื้อไอโซเลต Sa-TK1 ไปตรวจการทำปฏิกิริยาโดยวิธี DAC-indirect ELISA กับเชื้อ จำนวน 21 ไอโซเลต ที่ระดับความเข้มข้นของโคนิเดียที่เท่ากัน พบว่าเชื้อจำนวน 17 ไอโซเลต ให้ค่า A 405 ใกล้เคียงกัน ขณะที่ 9 ไอโซเลต ให้ค่า A 405 สูงกว่าเกือบสองเท่า การทดสอบความสามารถของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 12 ไอโซเลต ที่เป็นตัวแทนของกลุ่มจัดแบ่งตามลักษณะของโคโลนีบนองุ่น 6 พันธุ์ สามารถจัดแบ่งเชื้อได้เป็น 6 กลุ่ม ตามจำนวนของชนิดพันธุ์ ที่เชื้อสามารถเข้าทำลายได้และพบว่าองุ่นพันธุ์ Black queen เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อเชื้อทุกไอโซเลต ที่ทำการทดสอบ ขณะที่พันธุ์อื่นที่เหลืออ่อนแอต่อเฉพาะกับเชื้อบางไอโซเลต การศึกษาการเกิดโรคและการแพร่ระบาดโดยการเข้าสำรวจและให้ค่าคะแนนความรุนแรงของโรค พบว่าโรคราน้ำค้างและโรคสแคบมีค่าคะแนนสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับโรคอื่นๆ โดยพบการเข้าทำลายตลอดทั้งปี แต่จะทำความเสียหายรุนแรงเฉพาะในช่วงฤดูฝน โดยโรคสแคบจะเริ่มรุนแรงตั้งแต่เดือนพฤษภาคมและรุนแรงสูงสุดในช่วงเดือนสิงหาคม-กันยายน ขณะที่ราน้ำค้างจะเริ่มรุนแรงตั้งแต่เดือนมิถุนายน และรุนแรงสูงสุดในช่วงเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูฝน สำหรับโรคราสนิมพบเข้าทำลายตลอดทั้งปีเช่นกันแต่จะระบาดรุนแรงเฉพาะในช่วงฤดูแล้งเริ่มตั้งแต่เดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ ขณะที่โรคราแป้งจะพบเข้าทำลายเฉพาะในช่วงฤดูแล้ง เริ่มตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน ถึงเดือนเมษายน เมื่อเข้าสู่ฤดูฝนจะมีโอกาสพบน้อยมาก การศึกษาวิธีการจัดการโรคโดยใช้สารเคมีและชีวภัณฑ์กับองุ่นพันธุ์มาร์รู เซดเลส พบว่าในช่วงต้นฤดูฝนสารผสมระหว่างเบสิค คอปเปอร์ซัลเฟตหรือคอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์กับสารกลุ่มไดโซโอคาร์บาเมต คือมานับหรือแมนโคเซบมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราน้ำค้างและสแคบ ในขณะที่ในระหว่างฤดูฝนการฉีดพ่นสารผสมดังกล่าวสลับกับออกซีสโตรบินมีประสิทธิภาพดีที่สุด การทดลองใช้สารชีวภัณฑ์บาซิลลัส ซับทิลิส น้ำส้มควันไม้ หรือสารโคโตซาน(ไคแมกซ์) ไม่มีผลในการควบคุมโรค การทดสอบการใช้เชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากดินในสวนองุ่น และผ่านการทดสอบประสิทธิภาพในสภาพ dual culture กับเชื้อราก่อโรคพืชแล้วมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคราน้ำค้าง สแคบ และราสนิมกับองุ่นพันธุ์ไว้มะละกาในสภาพใบตัด พบเชื้อจำนวน 2 ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคราน้ำค้างคือ ไอโซเลต SHH 202 และ SSR 107 2 ไอโซเลต ลดการเกิดโรคสแคบคือ SHH 202 และ SYR 107 และ 2 ไอโซเลตลดการเกิดโรคราสนิมคือ SSH 216 และ SHH 211 การเปรียบเทียบการเกิดโรคและผลผลิตที่ได้ขององุ่นพันธุ์มาร์รู ซีดเลส ภายใต้สภาพคลุมหลังคาโปร่งใส และไม่คลุมหลังคา พบว่าองุ่นที่ได้รับการคลุมหลังคาเป็นโรคที่เกิดกับใบน้อยกว่า มีการเจริญเติบโตทางใบในช่วงหลังฤดูฝนดีกว่า และให้ผลผลิตดีในปริมาณที่มากกว่าองุ่นที่ไม่ได้รับการคลุมหลังคาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



# Integrated Management of Grape Diseases

Sopone Wongkeaw and Nantakorn Boonkerd

## Abstract

Diseases are one of the major factors contributing to the failure of grape production in Thailand. At present the information of grape diseases in the tropics is very limited, as a consequence the disease management has to rely on that of the available temperate grape diseases. This research has the objectives of surveying the grape diseases, studying the causal agent diversity and grape cultivar response to the important pathogens, monitoring the seasonal infection and epidemiological disease development, and assessing the methods of disease management. The disease surveys covered the major grape growing areas in the northeastern, central and northern parts of Thailand. Grape growers were interviewed during the surveys, disease and soil samples were collected and further studied in the laboratory at Suranaree University of Technology (SUT). Disease monitoring and experiments on disease management were conducted on grapes growing at SUT, Nakhon Ratchasima Province from October 2003 to December 2006. Results from disease surveys reveal that the downy mildew caused by *Plasmopara viticola* and scab or anthracnose caused by *Sphaceloma ampelinum* were the most serious diseases found in all growing areas especially during the rainy season, while the berry rot from *Greeneria uvicola*, leaf blight from *Alternaria alternata*, powdery mildew from *Oidium tuckeri* and rust from *Physopella ampelopsidis* were occasionally found in some areas. Symptoms similar to those caused by Pierce's disease were also found on grapes in one location in Chiangrai but the serological test using reference antiserum gave a negative result. Detailed studies on biochemical and serological properties of the bacterium isolated from grape samples with leaf spot and vein necrosis symptoms indicated that the causal pathogen was *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* not *Xylophilus ampelinus* as being reported in the temperate climate. By using the direct antigen coating indirect immunosorbent assay (DAC-indirect ELISA) employing the reference antisera, majority of the grape samples with mosaic or mottling combining with vein necrosis symptoms gave positive reactions with tobacco ringspot nepovirus (TbRSV) antiserum. The minority rest gave positive reactions with tomato ringspot nepovirus (TmRSV) grape fanleaf nepovirus (GFV), grape closterovirus A (GAV) and tobacco mosaic tobamovirus (TMV) antisera.



When soil samples collected from the orchards were examined for plant parasitic nematodes, only *Helicotylenchus* sp was found in high number in all samples but none of *Xiphinema* spp. were found. Biodiversity study of 38 isolates of *S. ampelinum* from grape indicated that the isolates were different in growth and colony morphology when cultured on potato dextrose agar (PDA) but the conidia size was only slightly different among the isolates. By using an antiserum against Sa-TK1 isolate and DAC-indirect ELISA on 26 *S. ampelinum* isolates, 17 isolates gave a similar A 405 value while 9 isolates gave twice higher the values from that of the rest. Pathogenicity test of 12 representative isolates based on colony morphology on 6 grape cultivars show that the isolates could be divided into 6 groups according to their reactions on the grape cultivars. Among the 6 cultivars tested, Black queen were susceptible to all tested isolates while other cultivars were susceptible only to some isolates. Results from disease monitoring by recording severity scores on white Malacca grapes at 15 days interval for 3 years, revealed that downy mildew and scab grape the highest severity scores compared to that of the others. Both diseases could be found all year round but were most severe only during the rainy season. Scab disease started to be prominent from May and became most severe during August to September while downy mildew started later in June and became most severe during September to November. Rust was also found all year round but became severe only during the day months starting from December to February. Powdery mildew was found only during the dry season starting from November to April but disappeared during the rainy season. Results from the assessment of chemicals and bioproducts for controlling grape disease on Marroo seedless grape indicated that during the early rainy season the mixture of basic copper sulfate or copper oxychloride with maneb or mancozeb was effective in controlling downy mildew and scab. Late in the rainy season the mixture should be alternated with azoxystrobin spray to be effective. All three bioproducts, *Bacillus subtilis*, wood vinegar, and chitosan were not effective in controlling the diseases in this experiment. By applying selected *Streptomyces* spp. isolated from grape orchard soil on detached leaves of white Malacca grape inoculated with downy mildew, scab or rust pathogens the SHH 202 and SSR 107 isolates were found to reduce the downy mildew incidence. The SHH 202 and SYR 107 isolates could reduce the incidence of scab while the SSH 216 and SSH 211 could reduce the incidence of rust. By comparing the disease incidence and berry yield of Marroo seedless grapes grown under transparent plastic roof with that of the grapes grown in the open, it was found that the grapes grown under the shade had lower disease incidence, had a better vegetative growth during the post-rainy season and had a significantly higher marketable berry yield.

สารบัญ

สารบัญ	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ญ
คำอธิบายคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	4
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	4
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
2.1 การสำรวจชนิดของโรคองุ่น	6
2.2 การวินิจฉัยสาเหตุของโรค	6
2.3 การศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อ	8
2.4 การศึกษาช่วงระยะการระบาดและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรคที่สำคัญ	9
2.5 การศึกษาวิธีการจัดการโรคองุ่น	9
2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	12
บทที่ 3 ผลการทดลอง	
3.1 การสำรวจชนิดของโรคองุ่น	13
3.2 การวินิจฉัยสาเหตุของโรค	13
3.3 การศึกษารายละเอียดของเชื้อ <i>Sphaceloma ampelinum</i>	46
3.4 พัฒนาการของโรคและช่วงเวลาของการแพร่ระบาด	60
3.5 การจัดการโรคองุ่น	63

## สารบัญ

สารบัญ	หน้า
บทที่ 4 บทสรุป	
4.1 การสำรวจและวินิจฉัยสาเหตุและพัฒนาการของโรคอ้วน	72
4.2 การศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคอ้วน	74
4.3 การจัดการโรคอ้วน	74
4.4 ความสำเร็จของโครงการ	76
เอกสารอ้างอิง	78
ภาคผนวก	81
ประวัติผู้วิจัย	83



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปรียบเทียบคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากองุ่นที่แสดงอาการโรคใบจุดเส้นใบใหม่ในประเทศไทย ไอโซเลต VN <sub>3</sub> กับเชื้อ <i>X. campestris</i> pv. <i>viticola</i> , <i>Xy. ampelinus</i> and <i>X. axonopodis</i> pv. <i>citri</i>	39
2	ค่า absorbance A405 ที่ได้จากการนำตัวอย่างใบองุ่นที่แสดงอาการคล้ายโรคที่เกิดจากไวรัสไปตรวจสอบด้วยวิธี direct antigen coating indirect ELISA โดยใช้ primary antisera จาก The American type culture collection 42	
3	แสดงขนาดของโคเน็คติวของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA จำนวน 38 ไอโซเลตที่เก็บจากแหล่งปลูกองุ่น	47
4	แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> จำนวน 27 ไอโซเลต โดยวิธี DAC indirect ELISA กับแอนติเซรุ่ม โดยการใช้ชิ้นส่วนของใบที่แสดงอาการแทน solid surface ของ plastic plate surface	52
5	แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> ความเข้มข้น $10^6$ โคเน็คติว/มิลลิลิตร โดยวิธี DAC indirect- ELISA	55
6	แสดงความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> แต่ละไอโซเลต บนใบ องุ่น 6 สายพันธุ์	57
7	แสดงวันแรกที่เชื้อในแต่ละไอโซเลตปรากฏแผลบนองุ่นพันธุ์ต่าง ๆ	58
8	แสดงขนาดของแผลที่เกิดจากเชื้อ <i>S. ampelinum</i> หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน บนใบองุ่น 6 สายพันธุ์	59
9	เปรียบเทียบคะแนนการเกิดโรคสแคบ และโรคใบจุดเส้นใบใหม่จากแบคทีเรียในองุ่น พันธุ์มารูซีดเลส ที่ได้รับการฉีดพ่นสารเคมีควบคุมโรค จำนวน 6 ครั้ง ระหว่างเดือน กรกฎาคม ถึงเดือนสิงหาคม 2547 . ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ. นครราชสีมา	64
10	เปรียบเทียบคะแนนการเกิดโรคสแคบ ราน้ำค้าง ราสนิม และโรคใบจุดเส้นใบใหม่จากแบคทีเรียในองุ่นพันธุ์มารูซีดเลส ที่ได้รับการฉีดพ่นสารเคมีควบคุมโรคหรือชีวภัณฑ์ จำนวน 7 ครั้ง ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกรกฎาคม 2548 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ. นครราชสีมา	65



สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
11	ผลของ cell suspension และ culture filtrate ของ <i>Streptomyces</i> spp. ไอโซเลตที่ผ่านการ คัดเลือกเบื้องต้น เมื่อนำมาทดสอบกับ โรคราน้ำค้าง บนองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ในสภาพใบตัด	67
12	ผลของ cell suspension และ culture filtrate ของ <i>Streptomyces</i> spp. ไอโซเลตที่ผ่านการคัดเลือกเบื้องต้น เมื่อนำมาทดสอบกับ โรคสแคบบน องุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ในสภาพใบตัด	68
13	ผลของ cell suspension และ culture filtrate ของ <i>Streptomyces</i> spp. ไอโซเลตที่ผ่านการ คัดเลือกเบื้องต้น เมื่อนำมาทดสอบกับ โรคราสนิมบน องุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ในสภาพใบตัด	69
14	เปรียบเทียบผลผลิตขององุ่นพันธุ์มารู ซีคเลส (กก./6 ตัน) ส่วนที่เป็น ผลดีและผลเสียในสภาพคลุมหลังคาพลาสติกและไม่คลุมหลังคาพลาสติก	70

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การเข้าสัมผัสภาพณ์เกษตรกร และสำรวจการระบาดของโรคองุ่น อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	14
2	การเข้าสัมผัสภาพณ์เกษตรกร และสำรวจการระบาดของโรคองุ่น ต.วังหมี อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	14
3	สวนองุ่นที่เข้าสำรวจการระบาดของโรค อ.เด่นชัย จ.อุตรดิตถ์	15
4	สวนองุ่นซิลเวอร์เลค ที่เข้าสำรวจการระบาดของโรค อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี	15
5	สภาพของสวนองุ่นที่มีการระบาดของโรคก่อนข้างรุนแรง อ.เมือง จ.ศรีสะเกษ	16
6	สภาพของสวนองุ่นที่มีการจัดการก่อนข้างดี อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	16
7	อาการเริ่มแรกของโรคสแคบหรือแอนแทรกโนส บนใบองุ่น	18
8	อาการแผลจุดทะลุ (shot hole) จากเชื้อ <i>Sphaceloma ampelinum</i> บนใบองุ่น	18
9	ลักษณะใบบิดเบี้ยวที่เกิดจากโรคสแคบ	19
10	ลักษณะแผลที่เกิดจากโรคสแคบบนก้านใบองุ่น	19
11	ลักษณะแผลที่เกิดจากโรคสแคบบนผลองุ่น	20
12	ลักษณะโคนิเดียมของเชื้อ <i>Sphaceloma ampelinum</i> ภาพขยาย 500 เท่า	20
13	ตัวอย่างลักษณะความเสียหายของโรคสแคบที่เกิดกับยอดอ่อน	21
14	ตัวอย่างลักษณะความเสียหายของโรคสแคบที่เกิดกับผล ทรายที่เห็นคือสารเคมีกำจัดเชื้อรา	21
15	ตัวอย่างลักษณะความเสียหายระดับความรุนแรงในสภาพไร่ของโรคสแคบ	22
16	ลักษณะอาการของโรคราน้ำค้างที่ปรากฏบนด้านหลังของใบองุ่น	22
17	ลักษณะส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างที่ปรากฏทางค้ำน้ำใต้ใบ	23
18	ลักษณะอาการของโรคราน้ำค้างบนผลองุ่น	23
19	ลักษณะก้านชูสปอร์และสปอแรงเจียของเชื้อ <i>Plasmopara viticola</i> ภาพขยาย 350 เท่า	25
20	ลักษณะแผลของโรคราสนิมบนใบองุ่นที่ปรากฏทางด้านหลังใบ	25
21	ลักษณะการตายของเนื้อเยื่อใบที่เกิดจากโรคราสนิมในองุ่น	26
22	ลักษณะแผลของโรคราสนิมในองุ่นพิจารณาจากค้ำน้ำใต้ใบ	26
23	ลักษณะ uredospores ของเชื้อ <i>Physopella ampelopsidis</i> สาเหตุโรคราสนิม ภาพขยาย 400 เท่า	27

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่		หน้า
24	ลักษณะแผลโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อ <i>Alternaria alternata</i>	27
25	ลักษณะโคนิเดียมของเชื้อ <i>Alternaria alternata</i> สาเหตุของโรคใบไหม้ในองุ่นภาพขยาย 350 เท่า	28
26	ลักษณะอาการโรคใบไหม้จากเชื้อ <i>Greeneria uvicola</i>	28
27	ลักษณะของการเกิดโรคใบไหม้จากเชื้อ <i>Greeneria uvicola</i> ระดับรุนแรง	29
28	ลักษณะ acervuli ของเชื้อ <i>Greeneria uvicola</i> บนเนื้อเยื่อใบองุ่น	29
29	ลักษณะโคนิเดียมของเชื้อ <i>Greeneria uvicola</i> ภาพขยาย 1000 เท่า	30
30	ลักษณะอาการผลเน่าจากเชื้อ <i>Greeneria uvicola</i> บนผลองุ่นพันธุ์แบล็คควิน	30
31	ลักษณะอาการโรคราแป้งบนใบองุ่นระยะเริ่มแรก	32
32	ลักษณะอาการโรคราแป้ง สังเกตเนื้อเยื่อตายบริเวณผิวใบที่เป็นโรค	32
33	ลักษณะโคนิเดียมของเชื้อ <i>Oidium tuckeri</i> สาเหตุโรคราแป้งในองุ่น ภาพขยาย 200 เท่า	33
34	ลักษณะอาการของโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา	33
35	ลักษณะอาการแผลแตกที่เกิดจากเชื้อ <i>Phomopsis viticola</i> บนกิ่งองุ่นจากโรคกิ่งแห้ง	34
36	ลักษณะอาการของโรคกิ่งแห้งในองุ่นจากเชื้อ <i>Phomopsis viticola</i>	34
37	อาการขอบใบแห้ง พบที่จังหวัดเชียงราย ลักษณะคล้ายอาการของโรค Pierce's disease	35
38	อาการแผ่นใบหลุด ลักษณะคล้ายอาการของโรค Pierce's disease	35
39	อาการโรคใบจุดเส้นใบไหม้ระยะเริ่มแรกจากเชื้อ <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i>	36
40	อาการใบจุดเส้นใบไหม้ที่เกิดบนเส้นใบ	36
41	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของเซลล์ของเชื้อ <i>Xanthomonas campestris viticola</i> สังเกต monotrichous flagella บริเวณส่วนปลายของเซลล์	38
42	องุ่นพันธุ์ Crimson seedless แสดงอาการใบซีดคันโทรม (mottling and decline) ที่เกิดจากเชื้อ tobacco ringspot nepovirus	38



## สารบัญญภาพ(ต่อ)

43	องุ่นพันธุ์ Marroo seedless แสดงอาการเส้นใบไหม้ (vine necrosis) ที่เกิดจากเชื้อ tobacco ringspot nepovirus	40
44	องุ่นพันธุ์ Marroo seedless แสดงอาการใบพัด (fan leaf) ที่เกิดจากเชื้อ grape fanleaf nepovirus	40
45	องุ่นพันธุ์ Pinot noir แสดงอาการใบค่าง (mosaic) จากการเข้าทำลายร่วมระหว่าง tobacco ringspot nepovirus และ tomato ringspot nepovirus	41
46	องุ่นพันธุ์ Flame แสดงอาการใบค่างกระ (mottling) จากการเข้าทำลายร่วมระหว่าง tobacco ringspot nepovirus	41
47	ไส้เดือนฝอย <i>Helicotylenchus</i> sp. ที่ตรวจพบในดินบริเวณรากองุ่น	44
48	ไส้เดือนฝอย <i>Tylenchorhynchus</i> sp. ที่ตรวจพบในดินบริเวณรากองุ่น	44
49	ไส้เดือนฝอย <i>Longidorus</i> sp. ที่ตรวจพบในดินบริเวณรากองุ่น	45
50	แสดงลักษณะการเจริญของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> อายุ 15 วัน บนอาหาร PDA เชื้อในแต่ละไอโซเลตจะมีลักษณะการเจริญบนอาหารที่แตกต่างกันทั้งในด้านขนาดและสีของโคโลนี	49
51	แสดงการเรืองแสงของเชื้อ <i>S. ampelinum</i> ที่ทำการทดสอบโดยวิธี immunofluorescence test	53
52	ระดับคะแนนการเกิดโรคราน้ำค้างในองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ระหว่างเดือนมกราคม 2547 ถึงเดือนธันวาคม 2549 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา	61
53	ระดับคะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ระหว่างเดือนมกราคม 2547 ถึงเดือนธันวาคม 2549 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา	61
54	ระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิมในองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ระหว่างเดือนมกราคม 2547 ถึงเดือนธันวาคม 2549 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา	62
55	ระดับคะแนนการเกิดโรคราแป้งในองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ระหว่างเดือนมกราคม 2547 ถึงเดือนธันวาคม 2549 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา	62
56	การคลุมหลังคาชนิดเปิด-ปิดได้	71
57	เปรียบเทียบองุ่นที่ไม่คลุมหลังคา กับที่คลุมหลังคา ในช่วงปลายฤดูฝน	71



## คำอธิบายคำย่อ

A	=	absorbance
Ab	=	antibody
Ag	=	antigen
As	=	antiserum
ATCC	=	American Type culture Collection
CMV	=	cucumber mosaic cucumovirus
CRD	=	completely randomized design
DAC	=	direct antigen coating
EC	=	emulsified concentrate
ELISA	=	enzyme-linked immunosorbent assay
FITC	=	fluorescein isothiocyanate
FL	=	flowable liquid
GAV	=	grape closterovirus A
GFE	=	grape fanleaf nepovirus
PBS	=	phosphate buffer saline
PBS-T	=	phosphate buffer saline tween
PDA	=	potato dextrose agar
PDB	=	potato dextrose broth
PStV	=	peanut stripe potyvirus
RCBD	=	randomized complete block design
TbRSV	=	tobacco ringspot nepovirus
TEM	=	transmission electron microscope
TmRSV	=	tomato ringspot nepovirus
TMV	=	tobacco mosaic tobamovirus
V/V	=	volume by volume
WA	=	water agar
WP	=	wettable powder

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

องุ่น (*Vitis spp.*) จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญมากที่สุดอย่างหนึ่งของมนุษยชาติ เนื่องจากเป็นพืชที่นิยมปลูกมานานตั้งแต่กว่า 5000 ปี ก่อนคริสตกาล โดยเฉพาะ *Vitis vinifera* ซึ่งมีถิ่นกำเนิดจากแถบเอเชียไมเนอร์และแพร่กระจายไปทั่วยุโรปและส่วนอื่นของเอเชียในเวลาต่อมา ปัจจุบันพื้นที่ปลูกองุ่นได้ขยายออกไปจนทั่วทุกมุมโลก โดยมีพื้นที่ปลูกกว่า 7.8 ล้านเฮกตาร์ คิดเป็นผลผลิตผลสดกว่า 7.7 ล้านตัน และไวน์กว่า 270 ล้านลิตร โดยยังไม่รวมผลผลิตที่เป็นลูกเถาและน้ำผลไม้เข้มข้น (CAB, 2000)

สำหรับประเทศไทย องุ่นจัดเป็นพืชค่อนข้างใหม่ ทั้ง ๆ ที่ได้มีการนำเข้ามาปลูกตั้งแต่สมัยพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 5 และเริ่มมีผู้สนใจนำไปปลูกขยายพื้นที่ในสมัยพระบาทสมเด็จพระปกเกล้า รัชกาลที่ 7 แต่ก็ยังอยู่ในวงจำกัด จนกระทั่งประมาณปี 2506 อาจารย์ปวิณ ภูณศรี แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้นำองุ่นหลายสายพันธุ์เข้ามาจากยุโรป และนำมาปลูกทดลองพบว่าหลายสายพันธุ์สามารถปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อมของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุ์เอมเปอเรอ จึงได้มีการขยายการปลูกเพื่อการค้าอย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตาม หลังจากที่พันธุ์ไวท์มะละกาออกสู่ตลาดความนิยมในพันธุ์เอมเปอเรอได้ลดลงเนื่องจากพันธุ์ไวท์มะละกามีขนาดผลโตกว่าและมีความหวานสูงกว่า (นันทกร, 2543) ปัจจุบัน องุ่นได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นอย่างมาก เนื่องจากรสชาติและกำลังซื้อของคนไทยที่เปลี่ยนไป ประกอบกับองุ่นเป็นผลไม้ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในหลายลักษณะ นับตั้งแต่รับประทานผลสด ทำเป็นน้ำผลไม้ แยม ลูกเถา ไวน์ ไปจนถึง บรันดี ทำให้องุ่นมีลักษณะเป็นผลไม้อุตสาหกรรมที่มีตลาดรองรับในทุกระดับ จากเหตุผลดังกล่าวทำให้องุ่นได้รับการขยายพื้นที่ปลูกไปทั่วทุกภาคของประเทศ ยกเว้นภาคใต้ คิดเป็นพื้นที่ปลูกในปัจจุบันไม่ต่ำกว่า 20,000 ไร่ และเนื่องจากองุ่นเป็นผลไม้ที่ให้ผลผลิตต่อไร่สูงมาก (2,000 – 3,000 กิโลกรัม/ไร่) และสามารถเก็บเกี่ยวได้ในระยะเวลาอันสั้น อีกทั้งยังมีราคาค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับผลไม้ชนิดอื่น ความสนใจที่จะขยายพื้นที่ปลูกจึงมีอยู่อย่างไม่จำกัด อย่างไรก็ตามเนื่องจากองุ่นเป็นผลไม้ใหม่ที่ต้องการการจัดการต่างไปจากผลไม้ไทยชนิดอื่น ๆ การปลูกองุ่นปัจจุบันจึงจำกัดอยู่เฉพาะกับเจ้าของสวนบางกลุ่มที่มีความรู้และมีเงินในการลงทุนเพียงพอ จากข้อจำกัดดังกล่าว มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีจึงได้พัฒนาโครงการวิจัยองุ่นขึ้นมา เพื่อสร้างองค์ความรู้ที่สามารถนำไปปรับใช้ได้กับการปลูกองุ่นในประเทศไทย เพื่อใช้ส่งเสริมฝึกอบรมแก่เกษตรกรที่สนใจ เป็นการเปิดโอกาสและทางเลือกให้กับ



เกษตรกร โดยปัจจุบันมหาวิทยาลัยได้รวบรวมสายพันธุ์องุ่นจากทั่วโลกไว้มากกว่า 50 สายพันธุ์บนพื้นที่ปลูกกว่า 15 ไร่ สายพันธุ์องุ่นเหล่านี้นับเป็นทรัพยากรเพื่อการวิจัยที่สำคัญที่จะใช้สร้างองค์ความรู้ในทุก ๆ ด้าน เพื่อให้ประเทศไทยประสบความสำเร็จในการผลิตองุ่นให้เพียงพอับความต้องการใช้ในประเทศและส่งออกยังต่างประเทศในอนาคต

การผลิตองุ่น นอกจากความรู้ความเข้าใจในเรื่องการจัดการดูแลองุ่นแล้ว ผู้ปลูกจะต้องสามารถจัดการกับศัตรูขององุ่นได้จึงจะประสบความสำเร็จ ศัตรูขององุ่นมีมากมายหลายชนิด แต่ที่มีความสำคัญมากอันดับหนึ่งก็คือ โรคขององุ่น ประวัติความเสียหายจากโรคองุ่นจัดเป็นประวัติที่เกิดขึ้นพร้อม ๆ กับการแพร่กระจายขององุ่นไปยังแหล่งปลูกต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น การแพร่ระบาดของโรคราแป้ง และราน้ำค้าง ที่ระบาดจากอเมริกาสู่ยุโรป เนื่องจากการนำเข้าแหล่งพันธุ์องุ่นจากอเมริกา เฉพาะราแป้งอย่างเดียวทำความเสียหายให้กับอุตสาหกรรมองุ่นในฝรั่งเศสกว่า 80% ในปี ค.ศ. 1854 ขณะที่โรคราน้ำค้างแพร่กระจายทั่วยุโรป ก่อให้เกิดความเสียหายจนประมาณค่ามิได้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1878-1882 อย่างไรก็ตาม โรคราน้ำค้างมีส่วนสำคัญที่ช่วยผลักดันให้มีการค้นพบสารเคมีกำจัดเชื้อรา “Bordeaux Mixture” ในปี 1885 (Parris, 1968) ปัจจุบันพบว่าองุ่นอาจเป็นโรคได้ถึง 49 โรค ในจำนวนนี้ 29 ชนิด เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา 3 ชนิด เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย 8 ชนิด เกิดจากเชื้อไวรัส 3 ชนิด เกิดจากไฟโตพลาสมา และ 6 ชนิดเกิดจากไส้เดือนฝอย (Pearson and Goheen, 1994) ทั้งนี้ไม่รวมถึงความผิดปกติที่เกิดจากสาเหตุไร้ชีวิต (abiotic diseases) จากจำนวนโรคทั้งหมด 49 ชนิดนี้มีเพียง 3-4 โรคเท่านั้นที่พบว่ามีการรายงานความสำคัญในประเทศไทย ได้แก่ โรคราน้ำค้างจากเชื้อ *Plasmopara viticola* โรคแอนแทรกโนสหรือ สแคบจากเชื้อ *Elsinoe ampelina* โรคแอนแทรกโนสจากเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และโรคกิ่งแห้งหรือเน่าขมจากเชื้อ *Greeneria uvicola* (*Melanconium fuligineum*) (นิพนธ์, 2542; Visarathanonth, 1990) เหตุที่มีการรายงานถึงโรคองุ่นค่อนข้างน้อยนั้น อาจเนื่องมาจากองุ่นเป็นพืชที่ค่อนข้างใหม่ การพัฒนาสายพันธุ์หรือเทคโนโลยีการผลิตส่วนใหญ่ดำเนินการโดยภาคเอกชน จึงทำให้มีข้อมูลออกสู่สาธารณชนค่อนข้างน้อยมาก โดยเฉพาะในเรื่องโรคองุ่น เป็นที่คาดเดาได้ว่าเชื้อโรคที่แพร่ระบาดอยู่ในแหล่งปลูกทั่วประเทศจะต้องมีมากกว่าที่ได้รับรายงานอย่างแน่นอน โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ไฟโตพลาสมา *Xylella* และไส้เดือนฝอย จากทั้งหมดนี้โรคใน 3 กลุ่มแรกนับว่ามีอันตรายอย่างยิ่ง เนื่องจากสามารถแพร่กระจายไปได้กับส่วนขยายพันธุ์องุ่น คือ ตาและกิ่งพันธุ์ ซึ่งหากไม่มีการป้องกันอย่างถูกวิธีแล้ว การแพร่ระบาดจะขยายวงออกไปอย่างกว้างขวาง โดยติดไปกับหน่วยขยายพันธุ์ที่ติดเชื้อแล้ว และเนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มี การสำรวจโรคขององุ่นอย่างจริงจังและครอบคลุมทุกแหล่งปลูก จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการสำรวจและวินิจฉัยสาเหตุทางโรคองุ่นให้เป็นปัจจุบัน ข้อมูลดังกล่าวจะช่วยระบุถึงชนิดของโรคที่มีศักยภาพในการแพร่ระบาดและใช้ประกอบการจัดทำมาตรการป้องกันการแพร่ระบาดของโรคไป



ยังแหล่งปลูกใหม่ หรือยับยั้งการนำโรคใหม่เข้ามาในประเทศ นอกจากนี้ การศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อสาเหตุ ซึ่งจำเป็นต้องทำควบคู่กันไปกับการสำรวจชนิดของโรคจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสำหรับการปรับปรุงพันธุ์องุ่นในประเทศ

ในสถานการณ์ปัจจุบัน เกษตรกรส่วนใหญ่จัดการกับองุ่นโดยการใช้สารเคมีฉีดพ่น ซึ่งมีทั้งที่ได้ผลและไม่ได้ผล หรือใช้โดยไม่จำเป็น สาเหตุของการใช้ไม่ได้ผลส่วนใหญ่เกิดจากการที่เกษตรกรไม่รู้จักสาเหตุของโรคที่แท้จริง หรือไม่เข้าใจวงจรการแพร่ระบาดของโรค ทำให้เกิดความสับสนเปลืองค่าใช้จ่าย และอาจก่อให้เกิดปัญหาการื้อยาของเชื้อรวมถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และผู้บริโภค (McGrath, 2001; Nelson et al., 2001) เป็นที่ทราบกันดีว่าองุ่นผลสดที่มีจำหน่ายอยู่ในปัจจุบันส่วนใหญ่มีการปนเปื้อนของสารกำจัดเชื้อราสูงมากจนทำให้ผู้บริโภคจำนวนมากถึงเลที่จะบริโภคและมีจำนวนไม่น้อยที่เลิกบริโภค เนื่องจากกลัวอันตรายจากสารเคมี การใช้สารเคมีควบคุมการเกิดโรคยังมีความจำเป็นแต่อาจลดจำนวนครั้งในการใช้ลงได้ หากใช้หลักการจัดการในลักษณะผสมผสาน (integrated disease management) นับตั้งแต่การใช้หลักเขตกรรม พันธุ์ต้านทาน การพยากรณ์การแพร่ระบาด ร่วมกันกับการใช้สารเคมีในวาระที่จำเป็นจริง ตัวอย่างความสำเร็จดังกล่าวมีมากมาย เช่น ในมะม่วง (Arauz, 2000) พืชตระกูลส้ม (Schubert et al., 2001) และแตง (Cohen et al., 2000) เป็นต้น วิธีการผสมผสานนั้นนอกจากจะช่วยให้เกษตรกรประหยัดค่าใช้จ่ายในการฉีดพ่นสารเคมีแล้ว ยังช่วยลดปัญหาการื้อยาของศัตรูพืชและพืชค้ำของสารเคมีต่อสภาพแวดล้อมและผู้บริโภคได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามการใช้วิธีการนี้ให้ได้ผล จำเป็นจะต้องมีข้อมูลในเรื่องระบาดวิทยาของโรค แหล่งพันธุ์ต้านทาน ตลอดจนชีววิทยาของเชื้อสาเหตุในสภาพแวดล้อมของประเทศไทยมาใช้ประกอบในการกำหนดวิธีการควบคุมโรค

ในการแก้ปัญหาใด ๆ ก็ตาม การทราบสาเหตุของปัญหานั้นนับเป็นความสำเร็จขั้นแรกของการแก้ปัญหา เนื่องจากการจะใช้มาตรการต่อไปอย่างไรนั้นจะขึ้นอยู่กับสาเหตุของปัญหาเป็นสำคัญ การแก้ปัญหาทางด้านโรคพืชก็เช่นเดียวกัน ปัจจุบันข้อมูลในเรื่องชนิดของโรคองุ่นที่มีแพร่ระบาดและทำความเสียหายให้กับองุ่นที่ปลูกอยู่ในประเทศไทยมีค่อนข้างจำกัด และไม่ทันสมัยเท่าที่ควร เนื่องจากปัจจุบันได้มีการขยายพื้นที่ปลูกออกไปอย่างกว้างขวาง และมีการนำเข้าพันธุ์จากต่างประเทศจำนวนมาก โดยปราศจากการควบคุมอย่างเข้มงวด ลักษณะดังกล่าวย่อมก่อให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคชนิดใหม่ ๆ ได้โดยง่ายดังที่ได้เคยเกิดขึ้นแล้วในสหรัฐอเมริกาในเรื่องของ Pierce's Disease หรือการแพร่ระบาดของ โรคราน้ำค้าง และโรคราแป้งจากอเมริกาสู่ยุโรป ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายอย่างใหญ่หลวงแล้วในอดีต (Pearson and Goheen, 1994) การทราบข้อมูลในเรื่องชนิดของโรคที่มีระบาดอยู่ในพื้นที่จะช่วยให้อาจสามารถกำหนดมาตรการยับยั้งการแพร่ระบาดไปยังแหล่งอื่น ๆ และระงับการนำเข้าจากแหล่งอื่นเข้ามายังแหล่งปลูก นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูล



สำคัญในการกำหนดโรคเป้าหมายที่ประเทศควรจะให้ลำดับความสำคัญ ในการหามาตรการควบคุม สำหรับข้อมูลอื่น ๆ คือระบาดวิทยาและปัจจัยส่งเสริมการแพร่ระบาดของเชื้อ ความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อ ระดับความต้านทานต่อโรคของสายพันธุ์อู๋งุ่นที่มีในประเทศไทย และชีววิทยาของเชื้อที่สำคัญแต่ละชนิด เป็นข้อมูลที่จำเป็นต้องทราบเพื่อใช้ประกอบการกำหนดวิธีการควบคุมโรคแบบผสมผสาน (Arauz, 2000; Schubert et al, 2001, Cohen et al, 2000; Verreet et al, 2000) ข้อมูลเหล่านี้แม้ว่าบางส่วนจะมีผู้ที่ได้ทำการศึกษาไว้แล้ว แต่ก็ยังเป็นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในต่างประเทศที่มีสภาพแวดล้อมที่ต่างจากประเทศไทยอย่างมาก การที่พฤติกรรมและการเจริญเติบโตของอู๋งุ่นในประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศเขตร้อน แตกต่างไปจากพฤติกรรมที่เคยแสดงออกในประเทศเขตอบอุ่นที่อู๋งุ่นถูกนำเข้ามา นั้น ย่อมสะท้อนให้เห็นถึงพฤติกรรมเชื้อสาเหตุโรคอู๋งุ่นที่น่าจะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมเช่นเดียวกัน ดังนั้น จึงจำเป็นต้องอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาข้อมูลตามที่กล่าวข้างต้นเพิ่มเติม เพื่อใช้ประกอบการจัดการโรคอู๋งุ่นแบบผสมผสานในประเทศไทย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1.2.1 เพื่อสำรวจชนิดของโรคอู๋งุ่น และความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อสาเหตุโรคอู๋งุ่นที่สำคัญ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และบางแหล่งปลูกของประเทศ
- 1.2.2 เพื่อศึกษาช่วงระยะการระบาดและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรคที่สำคัญของอู๋งุ่น
- 1.2.3 เพื่อศึกษาการตอบสนองของสายพันธุ์อู๋งุ่นต่อการเกิดโรคที่สำคัญ
- 1.2.4 เพื่อพัฒนาวิธีการจัดการ โรคของอู๋งุ่นแบบผสมผสาน

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

การสำรวจโรคจะสำรวจเฉพาะในแหล่งปลูกสำคัญที่เป็นตัวแทนของจังหวัด โดยจะเน้นจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นหลัก การศึกษารายละเอียดในเรื่องการตอบสนองของสายพันธุ์อู๋งุ่นต่อการเกิดโรค จะใช้เฉพาะสายพันธุ์ที่มีเก็บรวบรวมอยู่ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีเท่านั้น

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่นำไปใช้ประโยชน์

- 1.4.1 ได้ทราบถึงชนิดของโรคอู๋งุ่นที่มีแพร่ระบาดอยู่ในประเทศที่เป็นปัจจุบัน ที่จะใช้เป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดและป้องกันการนำเข้าโรคใหม่จากต่างประเทศ

- 1.4.2 ได้ทราบถึงข้อมูลความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อสาเหตุโรคงู่นที่สำคัญ ที่จะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์งู่นที่ต้านทานโรค
- 1.4.3 ได้ทราบถึงข้อมูลปัจจัยสภาพแวดล้อมและฤดูกาลที่ส่งเสริมการแพร่ระบาดของโรคที่สำคัญ เพื่อใช้ประกอบการวางแผนมาตรการการจัดการโรคงู่น โดยวิธีผสมผสาน
- 1.4.4 ได้ทราบถึงระดับความต้านทานต่อโรคของสายพันธุ์งู่นที่มีปลูกอยู่ในแปลงรวบรวมสายพันธุ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งจะเป็นพื้นฐานสำคัญในการใช้ประกอบการปรับปรุงพันธุ์
- 1.4.5 ได้วิธีการควบคุมโรคงู่นแบบผสมผสานที่มีประสิทธิภาพ ที่จะใช้ในการฝึกอบรมและส่งเสริมการปลูกงู่น



## บทที่ 2

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 2.1 การสำรวจชนิดของโรคงู่น

ทำการสำรวจโรคงู่นในแหล่งปลูกที่สำคัญของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ จังหวัด นครราชสีมา อุบลราชธานี เลย บุรีรัมย์ และศรีสะเกษ ภาคกลาง คือ สระบุรี สมุทรสาคร และ ราชบุรี และภาคเหนือ คือ เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์ น่าน และเชียงราย ในระหว่างฤดูฝน คือ เดือน มิถุนายน – กันยายน และปลายฤดูฝน คือ เดือนตุลาคม – ธันวาคม พ.ศ. 2549 เก็บข้อมูลในเรื่อง พันธุ์ การดูแลรักษา การใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืช ความเสียหายที่เกิดจากโรค ตัวอย่างโรค และ เก็บตัวอย่างดินรอบทรงพุ่มขององุ่นเพื่อตรวจชนิดของไส้เดือนฝอย สวนละ 1 ตัวอย่าง ๆ ละ 1 กิโลกรัม ความเสียหายจากโรคทางใบประเมินเป็นค่าคะแนนการเกิดโรค 1-5 จาก 5-10% ของ จำนวนต้นองุ่นทั้งหมดในแต่ละสวน โดยใช้ค่าคะแนนการเป็นโรคดังนี้

- 1 = ไม่พบอาการของโรค
- 2 = เป็นโรคน้อย พื้นที่ใบหรือจำนวนใบที่แสดงอาการน้อยกว่า 25%
- 3 = เป็นโรคปานกลาง พื้นที่ใบหรือจำนวนใบที่แสดงอาการมากกว่า 25% แต่ไม่เกิน 50%
- 4 = เป็นโรคค่อนข้างรุนแรง พื้นที่ใบหรือจำนวนใบที่แสดงอาการมากกว่า 50% แต่ไม่เกิน 75%
- 5 = เป็นโรครุนแรงมาก พื้นที่ใบหรือจำนวนใบที่แสดงอาการมากกว่า 75%

สำหรับโรคที่เกิดจากไวรัสประเมินเป็นร้อยละของต้นที่แสดงอาการจากจำนวนต้นทั้งหมดที่สำรวจ

#### 2.2 การวินิจฉัยสาเหตุของโรค

ทันทีที่กลับจากการสำรวจในแต่ละครั้ง นำตัวอย่างองุ่นที่แสดงอาการผิดปกติมาตรวจ วินิจฉัย เพื่อระบุชนิดของเชื้อสาเหตุโดยใช้เทคนิคเฉพาะสำหรับแต่ละกลุ่มเชื้อ จากนั้นนำมาแยก เป็นเชื้อบริสุทธิ์เพื่อศึกษาคุณสมบัติโดยละเอียดต่อไป สำหรับตัวอย่างดินนำมาตรวจแยกไส้เดือน ฝอยโดยใช้วิธี Modified Baermann's funnel

##### 2.2.1 การระบุชนิดและแยกเชื้อราจากตัวอย่างองุ่น

นำตัวอย่างใบ ผล หรือกิ่ง มาตรวจหาชิ้นส่วนของเชื้อสาเหตุด้วยกล้องจุลทรรศน์ ระบุชนิดโดยตรวจดูลักษณะทางสัณฐานของส่วนขยายพันธุ์ เช่น โคนิเดีย สปอร์แรงเฉีย เปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง กรณีที่เป็นเชื้อในกลุ่ม non-obligate parasite นำมาแยกเชื้อโดยใช้ อาหาร potato dextrose agar (PDA) โดยใช้วิธีมาตรฐานในการแยกเชื้อรา (Tuite, 1969) สำหรับ โรคแอนแทรกโนส-สแคบ ที่เกิดจากเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* นำชิ้นส่วนใบที่เป็นโรคไปฆ่า เชื้อพื้นผิวด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1% จากนั้นกระตุ่นให้เชื้อสร้างโคนิเดียบน water agar (WA)

แล้วจึงนำไปเลี้ยงให้เจริญบน PDA ตามวิธีการของ กรรณิการ์ และคณะ (2545) กรณีที่เป็นเชื้อ obligate parasite เช่น ราสนิม และราน้ำค้าง ศึกษาเฉพาะลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ uredospores และ sporangia เนื่องจากไม่สามารถเลี้ยงบนอาหารได้ จำเป็นต้องเก็บรักษาไว้บนใบอ่อนที่มีชีวิต เชื้อเหล่านี้เก็บไว้ในรูปของ dried leaf culture ด้วย silica gel โดยเก็บแยกเป็นไอโซเลตจากแต่ละแหล่งเก็บ

### 2.2.2 การแยกเชื้อและระบุชนิดแบคทีเรียจากตัวอย่างอ่อน

กรณีที่สันนิษฐานว่าเชื้อสาเหตุจัดอยู่ในกลุ่ม necrotroph นำมาแยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยใช้อาหาร nutrient agar โดยวิธี Streak plate ตามวิธีของ Schaad (1980) เก็บเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยวนำไปพิสูจน์ความสามารถในการทำให้เกิดโรค โดยปลูกเชื้อกลับไปยังอ่อนในสภาพใบตัดหรือในสภาพไร่ จากนั้นนำเชื้อที่ได้รับการพิสูจน์แล้วไปศึกษาคุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่ การติดสีแกรม ปฏิกริยาชีวเคมี ลักษณะของ flagella ตามวิธีการของ Schaad (1980) และในกรณีที่สามารถจัดหาแอนติเซรัมของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคกับอ่อนได้ จะใช้แอนติเซรัมดังกล่าวตรวจสอบการทำปฏิกริยากับเชื้อที่แยกได้โดยวิธี direct antigen coating indirect enzyme linked immunosorbant assay (DAC-ELISA) ตามวิธีการของ โสภณ (2536) เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อสำหรับโรคที่มีอาการคล้ายกับ Pierce's disease ซึ่งเกิดจาก *Xylella fastidiosa* ซึ่งเป็นแบคทีเรียเลี้ยงยาก (fastidious bacteria) การวินิจฉัยสาเหตุจะใช้การตรวจสอบการทำปฏิกริยากับ reference antisera จากบริษัท LOEWE Biochemical GmbH โดยวิธี DAC-ELISA แต่เพียงอย่างเดียว

### 2.2.3 การระบุชนิดเชื้อไวรัสจากตัวอย่างอ่อน

นำตัวอย่างอ่อนที่แสดงอาการใบด่าง (mottling) ขอบใบม้วน (leaf roll) ใบพัด (fan leaf) หรืออาการที่สงสัยว่าน่าจะเกิดจากไวรัสมาเก็บแห้งใน silica gel ทิ้งที่ที่กลับถึงห้องปฏิบัติการ จากนั้นแบ่งตัวอย่างบางส่วนไปทดสอบปฏิกริยากับ type antisera ของเชื้อ tobacco ringspot nepovirus PVAS-157, Tomato ringspot nepovirus PVAS-174, grapevine fanleaf nepovirus PVAS-395 และ grapevine closterovirus A PVAS-580 จาก American Type Culture Collection (ATCC), USA และ Tospovirus group IV และ peanut stripe potyvirus จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น การทดสอบปฏิกริยาใช้วิธี DAC indirect ELISA ตามวิธีของ โสภณ (2536) นำตัวอย่างที่ทำปฏิกริยากับ Type antisera ไปทดสอบการทำให้เกิดอาการบนพืชบ่งชนิด (index hosts) ได้แก่ *Chenopodium amaranticolor*, *Vigna unguiculata*, *Cucumis sativus*, *Petunia hybrida*, *Phaseolus vulgaris* และ *Nicotiana tabacum* การทดสอบใช้วิธี mechanical inoculation โดยใช้ 0.05 M  $\text{PO}_4$  buffer ผสม 0.2% mercaptoethanol หรือ 1% nicotine หรือ 0.1% sodium sulfite ผสม 1% celite เป็น inoculation buffer การตรวจหาอนุภาคของไวรัสในตัวอย่างใช้วิธี leaf dip ลงบน



1% uranyl acetate แล้วนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope, TEM)

#### 2.2.4 การแยกไส้เดือนฝอยและระบุชนิดจากตัวอย่างดิน

ดินที่เก็บจากสวนองุ่นจะนำมาพักในที่ร่มโดยเปิดถุงและให้น้ำเพื่อรักษาความชื้น ขณะเก็บรักษาจนกว่าจะนำไปแยกไส้เดือนฝอย ซึ่งจะต้องทำให้เสร็จภายใน 1 สัปดาห์ การแยกไส้เดือนฝอยใช้วิธีผสมระหว่างการกรองผ่านตะแกรง (sieving method) และการใช้กรวยแยก (Baermann's funnel) การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยใช้ Pictorial Key ของ (Mai and Lyon, 1975) โดยจะจำแนกจนถึงระดับ genera เท่านั้น

### 2.3 การศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อ

เลือกศึกษาเฉพาะเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* เนื่องจากเป็นเชื้อที่ปัจจุบันมีข้อมูลในเรื่องความแตกต่างของสายพันธุ์ค่อนข้างน้อยมาก โดยนำเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างเนื้อเยื่อองุ่นมาแยกสไปร์เคียว โดยวิธี streak plate บนอาหาร PDA เก็บโคโลนีที่แยกตัวออกเป็นโคโลนีเดี่ยวไอโซเลตละ 1 โคโลนี เพื่อใช้เป็นตัวแทนของเชื้อแต่ละไอโซเลต นำมาศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ดังนี้

2.3.1 ลักษณะของโคโลนีบนอาหาร PDA บันทึกอัตราการเจริญเติบโต ลักษณะการเจริญของเส้นใย

2.3.2 รูปร่างและขนาดของโคโคนีเดีย ใช้กล้องจุลทรรศน์ตรวจดูรูปร่างและวัดขนาดของโคโคนีเดียที่สร้างบนอาหาร PDA จำนวน 100 โคโคนีเดียต่อไอโซเลต

2.3.3 ปฏิกริยาบนพันธุ์องุ่น ปลูกเชื้อที่อยู่ในสภาพ conidia suspension ความเข้มข้น  $1 \times 10^6$  conidia/ml บนใบองุ่นที่อยู่ในสภาพกิ่งตัดที่ชำให้ออกรากในน้ำบรรจุในขวดสีชา จำนวน 2 ใบต่อเชื้อแต่ละไอโซเลต ทดสอบกับองุ่น 6 พันธุ์ คือ Black queen, Crimson seedless, Marroo seedless, Delight, Centenial และ Shiraz ใช้แผนการทดสอบแบบ completely randomized design (CRD) บันทึกข้อมูล คือ พันธุ์ที่แสดงอาการ วันแรกที่ปรากฏอาการ และขนาดของแผล

2.3.4 ปฏิกริยาทางเซรุ่มวิทยา นำเส้นใยที่เลี้ยงในอาหาร PDB ของไอโซเลตที่เป็นตัวแทนไปแยก soluble antigen ตามวิธีการของ Sundaram และคณะ (1991) นำ antigen ที่ได้ไปเตรียมเป็น antiserum ในกระต่าย โดยฉีด antigen ผสม Freund's incomplete adjuvant เข้ากล้ามเนื้อบริเวณสะโพก (intramuscular) จำนวน 2 ครั้ง ห่างกัน 10 วัน ครั้งที่ 3 ซึ่งเป็นครั้งสุดท้ายฉีด antigen โดยไม่ผสม adjuvant เข้าในเส้นเลือด (intraveinal) บริเวณใบหู หลังจากนั้น 14 วัน เก็บเลือดเพื่อนำมาแยก antiserum นำไปทดสอบหา titer และตรวจสอบการทำปฏิกริยากับเชื้อ *S. ampelinum* แต่ละไอโซเลต โดยวิธี immunofluorescence และ DAC-indirect ELISA

## 2.4 การศึกษาช่วงระยะการระบาดและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรคที่สำคัญ

จัดแบ่งแถวอุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา อายุประมาณ 6 ปี ที่ปลูกอยู่ในพื้นที่ฟาร์มมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จำนวน 2 แถว ๆ ละ 4 ต้น ทำการดูแลรักษา คือ ให้น้ำ กำจัดวัชพืช และฉีดสารป้องกันกำจัดแมลง เช่นเดียวกับอุ่นพันธุ์อื่น ๆ ในฟาร์มมหาวิทยาลัย ยกเว้นไม่ฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคตั้งแต่เริ่มการทดลองไปจนถึงสิ้นสุดการทดลองนานติดต่อกันเป็นเวลา 12 เดือน บันทึกค่าคะแนนความรุนแรงของโรคทุกโรคที่ปรากฏ โดยใช้ระดับคะแนน 1-5 ทุกสัปดาห์ ในช่วงเวลาเดียวกันบันทึกข้อมูลทางอุตุนิยมวิทยา ได้แก่ ปริมาณน้ำฝน และอุณหภูมิเฉลี่ยของแต่ละเดือน

## 2.5 การศึกษาวิธีการจัดการโรคอุ่น

### 2.5.1 การจัดการโรคด้วยสารเคมี

ข้อมูลจากการสำรวจวิธีการจัดการสวนอุ่นเบื้องต้น พบว่าชาวสวนส่วนใหญ่ยังใช้สารเคมีไม่ถูกต้อง ทำให้การป้องกันกำจัดไม่ได้ผล และมักเกิดปัญหาการื้อยาตามมา ชาวสวนส่วนใหญ่ยังมีความเชื่อว่าสารเคมีประเภทดูดซึมที่มีราคาแพงจะช่วยแก้ปัญหาได้ จึงละลายที่จะใช้สารเคมีประเภทป้องกัน การทดลองในเรื่องนี้จัดทำขึ้นเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของสารเคมีที่มีคำแนะนำให้ใช้ได้กับสวนอุ่น โดยทำการทดลอง 2 ครั้ง

#### 2.5.1.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมโรคอุ่น

ทดลองกับอุ่นพันธุ์มารูซีดเลส ในฟาร์มมหาวิทยาลัย ระหว่างวันที่ 4 กรกฎาคม – 13 สิงหาคม 2547 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD มี 4 ซ้ำแต่ละซ้ำใช้อุ่น 2 ต้น ประกอบด้วย 9 ดำรับการทดลอง (treatment) ดังนี้

1. Mancozeb 80% WP (แมนโคเซบ®) อัตรา 2.5 กรัมต่อลิตร
2. Basic cupric sulphate 48% ผสม maneb 30% รวมสารออกฤทธิ์ 78% WP (บอร์โค-เอ็ม®) อัตรา 1.5 กรัมต่อลิตร
3. Chlorothalonil 75% WP (คาโคลนัล®) อัตรา 1.5 กรัมต่อลิตร
4. Difenconazol 25% EC (สกออร์®) อัตรา 2.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ผสม Dimetomorph 50% WP (ฟอร์ม®) อัตรา 0.5 กรัมต่อลิตร
5. Dimetomorph 50% WP อัตรา 0.5 กรัมต่อลิตร ผสม myclobutanil (ซิสเทน®) อัตรา 0.4 มิลลิลิตรต่อลิตร
6. Carbendazim 50% FL (บาวิสติน®) อัตรา 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ผสม mancozeb 80% WP อัตรา 2.5 กรัมต่อลิตร



7. Mancozeb 56% ผสม Oxadixyl 10% รวมสารออกฤทธิ์ 66% WP (แซนโคแฟนเอ็ม®) อัตรา 2 กรัมต่อลิตร
8. Mancozeb ผสม copper oxychloride 85% WP (ไทรแมนโซน®) อัตรา 2 กรัมต่อลิตร
9. ดำรับควบคุม (Control) ไม่ฉีดพ่นสารกำจัดโรค

ขณะฉีดพ่นองุ่นมีอายุประมาณ 2 ปี ตัดแต่งครั้งสุดท้ายวันที่ 15 พฤษภาคม 2547 ฉีดพ่นสารเคมีแต่ละดำรับทุกสัปดาห์ติดต่อกัน 5 สัปดาห์ หลังจากฉีดพ่นครั้งสุดท้าย 3 วัน ประเมินคะแนนการเกิดโรคแต่ละชนิดโดยใช้ระดับคะแนน 1-5 ระหว่างการทดลองฉีดพ่นสาร คลอไพริฟอสผสมไซเปอร์เมทิล สลับกับการับาริตทุก 15 วัน เพื่อควบคุมแมลง

#### 2.5.1.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีเปรียบเทียบกับสารชีวภาพในการควบคุมโรค

##### องุ่น

ทดลองกับองุ่นพันธุ์มาร์ชชีดเลส ระหว่างวันที่ 28 พฤษภาคม – 30 กรกฎาคม 2548 เริ่มตั้งแต่องุ่นเริ่มแตกใบอ่อน วางแผนการทดลองแบบ RCBD มี 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำ ใช้องุ่น 2 ต้น ประกอบด้วย 10 ดำรับการทดลอง ดังนี้

1. *Bacillus subtilis*  $1 \times 10^9$  CFU ต่อกรัม (ลาร์มินาร์®) อัตรา 3 กรัมต่อลิตร
2. น้ำส้มควันไม้ ผสมน้ำอัตรา 1: 200
3. Chitosan (ไคแมกซ์®) อัตรา 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร
4. Basic cupric sulphate 48% ผสม maneb 30% รวมสารออกฤทธิ์ 78% WP (บอร์โค-เอ็ม) อัตรา 2.5 กรัมต่อลิตร
5. บอร์โค-เอ็ม อัตรา 2.5 กรัมต่อลิตร สลับกับ iprovalicarb 5.5% ผสม propineb 61.3% สารออกฤทธิ์ 66.8% WP (อินเวนโต้®) อัตรา 1 กรัมต่อลิตร
6. บอร์โค-เอ็ม อัตรา 2.5 กรัมต่อลิตร สลับกับ trifumizole 30% WP (ทริฟมีน®) อัตรา 0.3 กรัมต่อลิตร
7. บอร์โค-เอ็ม อัตรา 2.5 กรัมต่อลิตร สลับกับ azoxystrobin 25% EC (อมิสตา®) อัตรา 0.25 มิลลิลิตรต่อลิตร
8. บอร์โค-เอ็ม อัตรา 2.5 กรัมต่อลิตร สลับกับ triadimefon 25% WP (ไตรดีมีฟอน®) อัตรา 0.5 กรัมต่อลิตร
9. Chlorothalonil 75% WP (คาโคนิล®) อัตรา 1.5 กรัมต่อลิตร
10. ดำรับควบคุม (Control) ไม่ฉีดพ่นสารกำจัดโรค

ฉีดพ่นสารเคมีติดต่อกันรวม 7 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 10 วัน หลังจากฉีดครั้งสุดท้าย 3 วัน ประเมินการเกิดโรค โดยใช้ระดับคะแนน 1-5 ระหว่างการทดลองฉีดพ่นสารคลอไพริฟอสผสม ไชเปอร์เมทิล สลับกับคาร์บาริล ทุก 15 วัน เพื่อควบคุมแมลง

### 2.5.2 การจัดการโรคโดยชีววิธี

การทดลองในส่วนนี้เป็นส่วนที่ปรับแผนงานวิจัย เพื่อรองรับผลงานวิจัยจาก โครงการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เพื่อใช้ควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่น โดยนำเชื้อ *Streptomyces* ที่ผ่านการทดสอบในสภาพ dual culture กับเชื้อราสาเหตุโรคพืช 3 ชนิด คือ *Pythium aphanidermatum*, *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Sclerotium rolfsii* มาทดสอบกับ โรคราเน่าค้ำง สแคบ และราสนิมในสภาพใบตัด โดยเตรียม cell suspension ของเชื้อ *Streptomyces* ไอโซเลตที่ผ่านการคัดเลือก 5 ไอโซเลต ความเข้มข้น  $1 \times 10^9$  เซลล์/มิลลิลิตร นำไป ฉีดพ่นบนใบองุ่นพันธุ์ไวท์มัสละกาในสภาพใบตัด หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง จึงใช้ micropipette หยด spore suspension ของเชื้อ *Plasmopara viticola*, *Sphaceloma ampelinum* และ *Physopella ampelopsidis* ความเข้มข้น  $1 \times 10^4$  สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 10 หยด/ใบ ปริมาตร 2 ไมโครลิตรต่อ หยด วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design จำนวน 4 ซ้ำ ทำการทดลองซ้ำใน ลักษณะเดียวกันแต่ใช้ culture filtrate ที่ได้หลังจากแยกเซลล์ของ *Streptomyces* ออกจากอาหาร เหลวที่ใช้เลี้ยงแทนการใช้ cell suspension ใช้ culture filtrate ที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 8 เท่า ก่อน นำไปฉีดพ่นลงบนใบองุ่น โดยใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* ที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์ Larminar เป็น ตัวอย่างเปรียบเทียบ และใบที่ได้รับเฉพาะเชื้อโรค เป็นตัวควบคุม (control) นำใบที่ได้รับการปลูก เชื้อแล้วไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-21 วัน ทำการนับจำนวนแผล เมื่อ วิธีการควบคุมแสดงอาการของโรค วัดขนาดแผล และนับจำนวนสปอร์ของเชื้อก่อโรค

### 2.5.3 การจัดการโรคโดยวิธีคลุมหลังคา

การทดลองในส่วนนี้เป็นส่วนที่ปรับแผนงานวิจัย หลังจากที่ได้รับทราบข้อมูลจาก การทดลองที่ 4 ในเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมกับการเกิดโรคแล้วว่าการจัดการ โดย การตัดแต่งองุ่นให้ผลสุกแก่เฉพาะในช่วงเดือนธันวาคม – มกราคม ซึ่งเป็นช่วงปลอดฝนนั้น ไม่ สามารถหลีกเลี่ยงความเสียหายจากโรคได้เสมอไป เพราะมีโอกาสที่จะพบฝนหลงฤดู การ แก้ปัญหาควรกระทำโดยสร้างหลังคาคลุมองุ่น ซึ่งจะช่วยให้สามารถผลิตองุ่นในช่วงฤดูฝนได้ด้วย ทดลองโดยเลือกองุ่นพันธุ์มาร์ชชีดเลส จำนวน 2 แถว ๆ ละ 24 ต้น แบ่งองุ่นเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก สร้างโครงหลังคาพลาสติกโปร่งใสคลุม จำนวน 4 หลัง เพื่อคลุมองุ่น จำนวน 6 ต้น/หลัง กลุ่มที่ 2 ไม่คลุมหลังคาเพื่อใช้เปรียบเทียบ ทำการทดลองในช่วงเดือนกันยายน 2549 – กุมภาพันธ์ 2550 ตัด แต่งกิ่งเพื่อบังคับให้อองุ่นออกดอก ประมาณวันที่ 18 ตุลาคม ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูฝน แต่เริ่มคลุม หลังคาหลังจากองุ่นแตกใบ เฉพาะวันที่มีฝนตก ตั้งแต่เดือนตุลาคมไปจนถึงเดือนกุมภาพันธ์ ฉีด



พ่นสารกำจัดเชื้อรา แมนโคเซบ และไคเมทโทมอฟ เพื่อป้องกันโรคจากเชื้อรา และสารกำจัดแมลง คาร์บาริด และไซเปอร์เมทิล ตามความจำเป็น เก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 16 กุมภาพันธ์ 2549 ชั่งน้ำหนักผลรวม ผลดี และผลเสียที่ต้องคัดทิ้งจากองุ่นจำนวน 6 ต้น (1 ซ้ำ)

## 2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลของแต่ละการทดลอง โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS for Windows version 13.0 เปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละดำรับการทดลองโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

## บทที่ 3

### ผลการทดลอง

#### 3.1 การสำรวจชนิดของโรคองุ่น

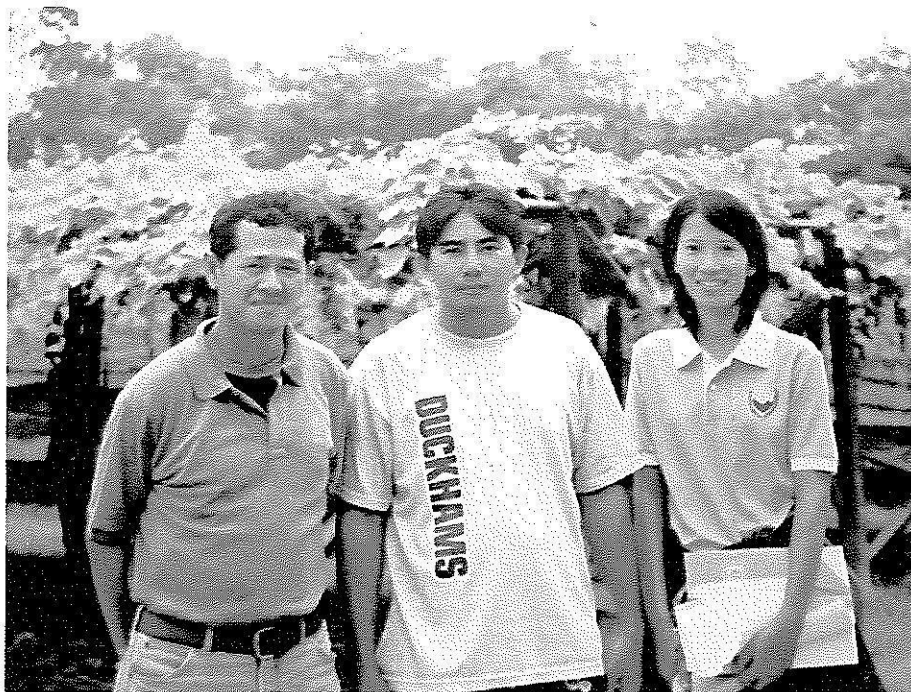
จากการสำรวจโรคขององุ่นในแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ รวมทั้งสิ้น 54 สวน พบว่าเกษตรกรเกือบทั้งหมด (50 ราย) ปลูกองุ่นประเภทรับประทานผลสด (Table grapes) มีเพียง 4 รายที่ปลูกองุ่นทั้งประเภทรับประทานผลสด และประเภทใช้ทำไวน์ องุ่นประเภทรับประทานผลสดมีทั้งพันธุ์ที่มีเมล็ดและไร้เมล็ด (seedless grapes) ขนาดพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ขนาดเล็ก 1-20 ไร่ มีเพียง 7 ราย ที่ปลูกในพื้นที่ขนาดใหญ่กว่า 50 ไร่ เกษตรกรบางส่วนเคยเข้ารับการฝึกอบรมระยะสั้นในเรื่องการปลูกองุ่น แต่ส่วนใหญ่ยังคงขาดความรู้ในเรื่องการจัดการธาตุอาหาร การตัดแต่ง ระบบการให้น้ำ การจัดการโรคองุ่น และการแปรรูปองุ่น สำหรับโรคที่สำรวจพบในช่วงเดือนมิถุนายน-กันยายน เรียงตามลำดับความรุนแรง และจำนวนต้นที่แสดงอาการ ได้แก่ โรคสแคบ หรือแอนแทรคโนสจากเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* de Bary โรคราน้ำค้างจากเชื้อ *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt.) Berl. & de Toni ซึ่งพบในระดับคะแนน 2-4 ในทุกพื้นที่การปลูก รองลงมาได้แก่ ราสนิมจากเชื้อ *Physopella ampelopsidis* (Diet. & Syd.) Cumm. & Ramchar. ใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. ใบไหม้กิ่งแห้งจาก *Greeneria uvicola* (Berk. & Curt.) Punithalingam ใบจุดเส้นใบไหม้จาก *Xanthomonas viticola* ซึ่งพบในพื้นที่ปลูก 42 ราย ในระดับคะแนนเฉลี่ย 2-2.5 ในช่วงเดือนตุลาคม - ธันวาคม 2549 โรคที่พบยังคงเหมือนเดิม แต่โรคสแคบลดความรุนแรงลงในช่วงเดือนพฤศจิกายน - ธันวาคม ขณะที่โรคราน้ำค้างและราสนิมมีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังตรวจพบโรคราแป้งจากเชื้อ *Oidium tuckeri* Berk. ระดับ 2 ในองุ่นพันธุ์ Shiraz ใน 2 สวน บริเวณอำเภอปากช่อง และองุ่นไวน์หลายพันธุ์ในฟาร์มมหาวิทยาลัย ในช่วงปลายเดือนธันวาคม อาการใบไหม้ ต้นโทรม คล้ายอาการของโรค Pierce's disease กับองุ่นพันธุ์ Kyoho ที่อำเภอเวียงป่าเป้า จ. เชียงราย และอาการใบลาย ต้นแคระแกรน อาการใบหงิก คล้ายอาการของโรคที่เกิดจากไวรัสสปรอยในองุ่นปลูกในฟาร์มมหาวิทยาลัย และในสวนองุ่นของบริษัท คลังปลาซ่า อ. เมือง จ. นครราชสีมา (ภาพที่ 1-6 แสดงตัวอย่างของสวนองุ่นที่ได้เข้าทำการสำรวจและสัมภาษณ์เจ้าของสวน)

#### 3.2 การวินิจฉัยสาเหตุของโรค

จากการบันทึกภาพของตัวอย่างโรคที่สำรวจพบ และนำตัวอย่างของโรคและดินที่เก็บจากพื้นที่ปลูกมาตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ สรุปชนิดของโรค ลักษณะอาการ ลักษณะของเชื้อสาเหตุ เรียงลำดับความสำคัญ ได้ดังนี้







ภาพที่ 1 การเข้าสัมภาษณ์เกษตรกร และสำรวจการระบาดของโรคองุ่น อ.มวกเหล็ก  
จ.สระบุรี



ภาพที่ 2 การเข้าสัมภาษณ์เกษตรกร และสำรวจการระบาดของโรคองุ่น ต.วังหมี่  
อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา



ภาพที่ 3 สวนอ่งุ่นที่เข้าสำรวจการระบาดของโรค อ.เด่นชัย จ.อุตรดิตถ์



ภาพที่ 4 สวนอ่งุ่นซิลเวอร์เลค ที่เข้าสำรวจการระบาดของโรค อ.สัณฑ์ป จ.ชลบุรี





ภาพที่ 5 สภาพของสวนองุ่นที่มีการระบาดของโรคค่อนข้างรุนแรง อ.เมือง จ. ศรีสะเกษ



ภาพที่ 6 สภาพของสวนองุ่นที่มีการจัดการค่อนข้างดี อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา

### 3.2.1 โรคที่เกิดจากเชื้อรา

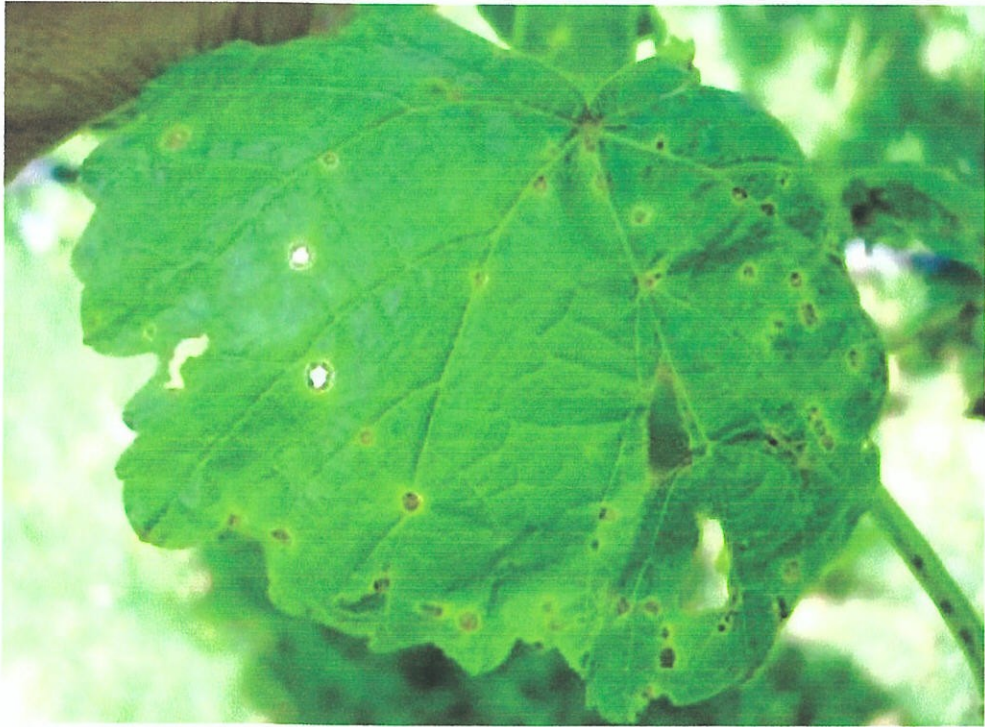
#### 3.2.1.1 โรครสแคบ (scab) หรือแอนแทรกโนส (anthracnose)

พบทั้งในช่วงต้นฝนและปลายฤดูฝน อาการเริ่มจากเป็นแผลจุดตายบนใบอ่อน กิ่งอ่อน มือจับ (tendrill) หรือผลอ่อน แผลที่เกิดบนใบมีรูปร่างกลมขนาดประมาณ 1-5 มิลลิเมตร สีน้ำตาลอ่อนขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม แผลมักขยายขนาดและกลายเป็นแผลจุดทะลุ (shot hole) ในเวลาต่อมา (ภาพที่ 7 และ 8) กรณีที่เกิดหลายแผลบริเวณพื้นที่ใบใกล้กันจะทำให้เกิดอาการใบไหม้ เมื่อใบมีลักษณะบิดเบี้ยว ผิดรูปร่าง (ภาพที่ 9) แผลที่เกิดบริเวณก้านใบหรือกิ่งอ่อน เป็นสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ ขอบแผลนูน ทำให้แผลมีลักษณะเป็นแอ่งยุบตัวลง (ภาพที่ 10) ลักษณะคล้ายกันกับอาการที่เกิดบนผลอ่อน (ภาพที่ 11) เมื่อนำแผลไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำพบ acervuli ของเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* ปกคลุมอยู่ทั่วไปบนเนื้อเยื่อส่วนที่ตายแล้ว เมื่อนำเนื้อเยื่อดังกล่าวไปวางลงบน water agar แล้วบ่มทิ้งไว้ประมาณ 2-3 วัน พบ conidia จำนวนมากมายใน acervuli conidia มีลักษณะเป็นรูปไข่ ขนาด 2.5-3.2 x 5.2-6.3 ไมครอน ใสไม่มีสี (hyaline) (ภาพที่ 12) การตรวจตัวอย่างใบที่เป็นโรคจากทุกแหล่งปลูกในทั้ง 2 ช่วง ของการสำรวจยังไม่พบ teleomorph ซึ่งใช้ชื่อ *Elsinoe ampelina* (de Bary) Shear ของเชื้อชนิดนี้ ภาพที่ 13-15 แสดงลักษณะของความเสียหายที่สำรวจพบในสภาพสวนของเกษตรกร เกษตรส่วนใหญ่ของภาคกลางจะเรียกโรคนี้อันว่าโรคอินบุง นักวิชาการไทยนิยมใช้ชื่อ โรครสแคบ เนื่องจากเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Sphaceloma* เพื่อไม่ให้สับสนกับโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจาก *Colletotrichum gloeosporioides* อย่างไรก็ตาม นักโรคพืชอเมริกันส่วนใหญ่จะเรียกชื่อโรคนี้อันว่า anthracnose หรือ bird's eye spot

#### 3.2.1.2 โรคราน้ำค้าง (Downy mildew)

พบทั้งสองช่วงของการสำรวจ แต่จะมีความรุนแรงมากกว่าโรครสแคบในช่วงปลายฤดูฝน อาการเริ่มจากเป็นแผลสีซีดบนใบ ซึ่งจะขยายเป็นแผลขนาดใหญ่รูปร่างกลมหรือเหลี่ยมกรณีที่ถูกเส้นใบจำกัดการขยายขนาด แผลอาจมีสีแตกต่างกัน เช่น เหลืองซีด เหลือง น้ำตาล หรือน้ำตาลแดง (ภาพที่ 16) ขึ้นอยู่กับอายุของใบ อายุของแผลและพันธุ์องุ่น เมื่อพลิกดูแผลทางด้านใต้ใบจะพบกลุ่มก้านชูสปอแรงเจีย (sporangiophores) และ สปอแรงเจีย (sporangia) ของเชื้อ ลักษณะคล้ายปุยฝ้ายหรือใยสำลี ขึ้นปกคลุมอยู่เห็นได้ชัด (ภาพที่ 17) ใบที่ถูกเข้าทำลายอย่างรุนแรงมักหลุดร่วงก่อนวัยอันควร ทำให้มีผลกระทบต่อผลผลิตและคุณภาพขององุ่น นอกจากใบแล้วเชื้อยังสามารถเข้าทำลายกิ่งอ่อน มือจับ ดอก และผลอ่อนได้ด้วย โดยทั่วไปผลที่เริ่มแก่แล้วมักจะทนทานต่อการเข้าทำลายจากราน้ำค้าง แต่เชื้ออาจเข้าทำลายบริเวณก้านผลทำให้ผลที่เริ่มแก่ แสดงอาการผลเน่าเป็นสีน้ำตาล สีเทา หรือชมพู แต่จะไม่พบกลุ่มของสปอแรงเจียบนผลที่เน่า (ภาพที่ 18) เมื่อนำใบที่เป็นโรคมารวตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบกลุ่มก้านชูสปอแรงเจียและสปอแรงเจียดังแสดงในภาพที่ 19 ก้านชูสปอแรงเจียยาว 100-200 ไมครอน โผล่ออกมาจากเนื้อเยื่อใบบริเวณปากใบ (stomata) มีลักษณะแตกกิ่งก้านคล้ายคันพิช ตรงปลายสุดของก้านชูแตกเป็นกิ่งย่อย 3 กิ่ง



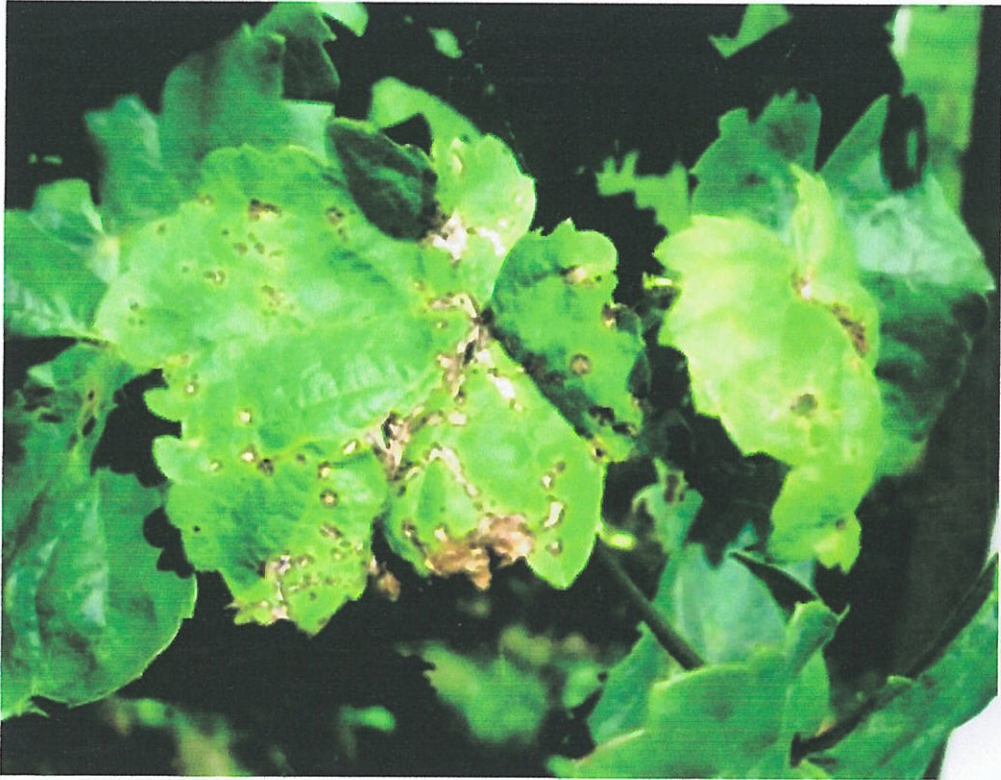


ภาพที่ 7 อาการเริ่มแรกของโรคสแคบหรือแอนแทรกโนส บนใบองุ่น



ภาพที่ 8 อาการแผลจุดทะลุ (shot hole) จากเชื้อ *Sphaceloma ampelimum* บนใบองุ่น





ภาพที่ 9 ลักษณะ ใบบดเขียวที่เกิดจาก โรคสแคบ

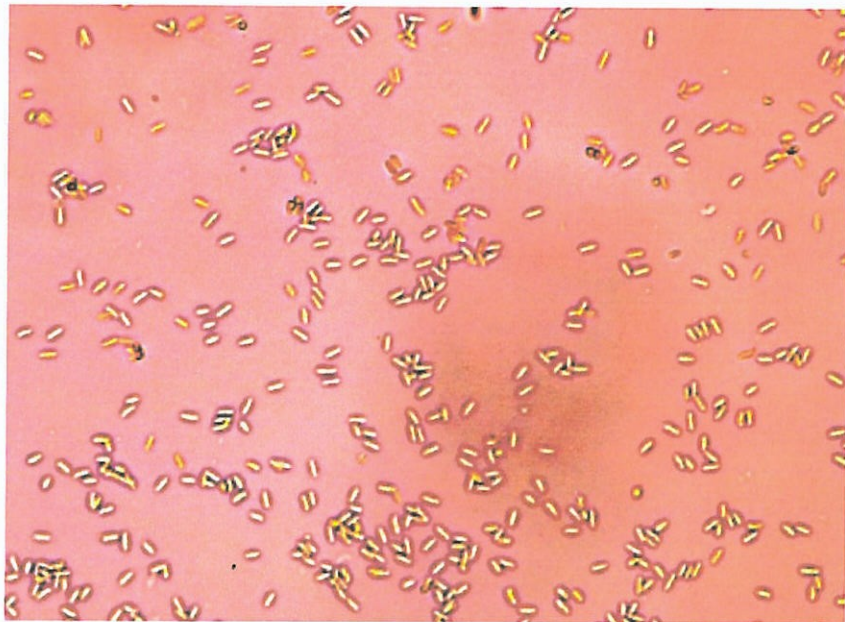


ภาพที่ 10 ลักษณะแผลที่เกิดจาก โรคสแคบบนก้านใบอ่อน





ภาพที่ 11 ลักษณะแผลที่เกิดจาก โรคสแคบบนผลองุ่น



ภาพที่ 12 ลักษณะ โคนิเดียมของเชื้อ *Sphaceloma ampelimum* ภาพขยาย 500 เท่า





ภาพที่ 13 ตัวอย่างลักษณะความเสียหายของ โรคสแคบที่เกิดกับยอดอ่อน



ภาพที่ 14 ตัวอย่างลักษณะความเสียหายของ โรคสแคบที่เกิดกับผล คราบที่เห็นคือสารเคมี  
กำจัดเชื้อรา



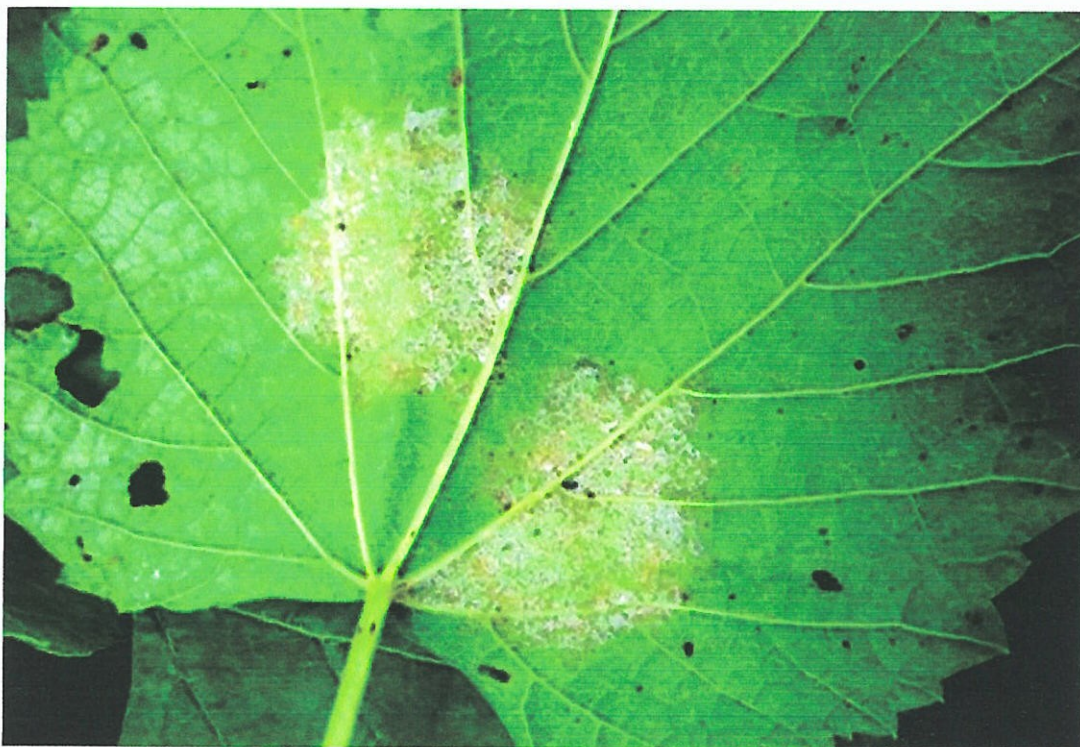


ภาพที่ 15 ตัวอย่างลักษณะความเสียหายระดับรุนแรงในสภาพไร่ของโรคสแคบ



ภาพที่ 16 ลักษณะอาการของโรคน้ำค้างที่ปรากฏบนด้านหลังของใบองุ่น





ภาพที่ 17 ลักษณะส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุ โรคราน้ำค้างที่ปรากฏทางค้ำนใต้ใบ



ภาพที่ 18 ลักษณะอาการของโรคราน้ำค้างบนผลองุ่น



ซึ่งเป็นบริเวณที่สร้างสปอแรงเจียรูปไข่ ใสไม่มีสี ขนาดประมาณ  $14 \times 10$  ไมครอน (ภาพที่ 19) ลักษณะของก้านชูสปอแรงเจียเหมือนกันกับเชื้อ *Plasmopara viticola* (Pearson and Goheen, 1994)

### 3.2.1.3 โรคราสนิม (Rust)

พบประปรายตลอดฤดูฝน มีความรุนแรงในบางสวนที่ใช้สารเคมีควบคุม โรคราน้ำค้าง และโรคสแคบค่อนข้างดี หรือบนองุ่นที่ใช้เป็นต้นตอ อาการเริ่มจากเป็นจุดสีเหลืองซีดบนใบที่อยู่ตอนล่างของกิ่ง ขนาดของแผลประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร แผลอาจเกิดหนาแน่นทำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อใบเป็นบริเวณกว้าง (ภาพที่ 20 และ 21) แผลที่พิจารณาจากทางด้านใต้ใบ มีลักษณะเป็นตุ่มแผลแตก (pustules) ภายในมี uredospores ของเชื้อลักษณะคล้ายผงสนิมบรรจุอยู่เต็ม (ภาพที่ 22) เพื่อนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ uredospores รูปร่างกลมรี หรือรูปไข่ สีน้ำตาลอ่อนหรือเหลือง ขนาดประมาณ  $15-25 \times 10-16$  ไมครอน ที่ผิวเปลือกมีลักษณะเป็นหนามเล็ก ๆ ปกคลุม (ภาพที่ 23) ปัจจุบันยังตรวจไม่พบ teliospores ของเชื้อ แต่เมื่อพิจารณาจากลักษณะของแผลและ uredospores แล้วพบว่ามียักษณะใกล้เคียงกับเชื้อ *Physopella ampelopsidis* (Clayton and Ridings, 1970)

### 3.2.1.4 โรคใบไหม้จากเชื้ออาลเธอนาเรีย

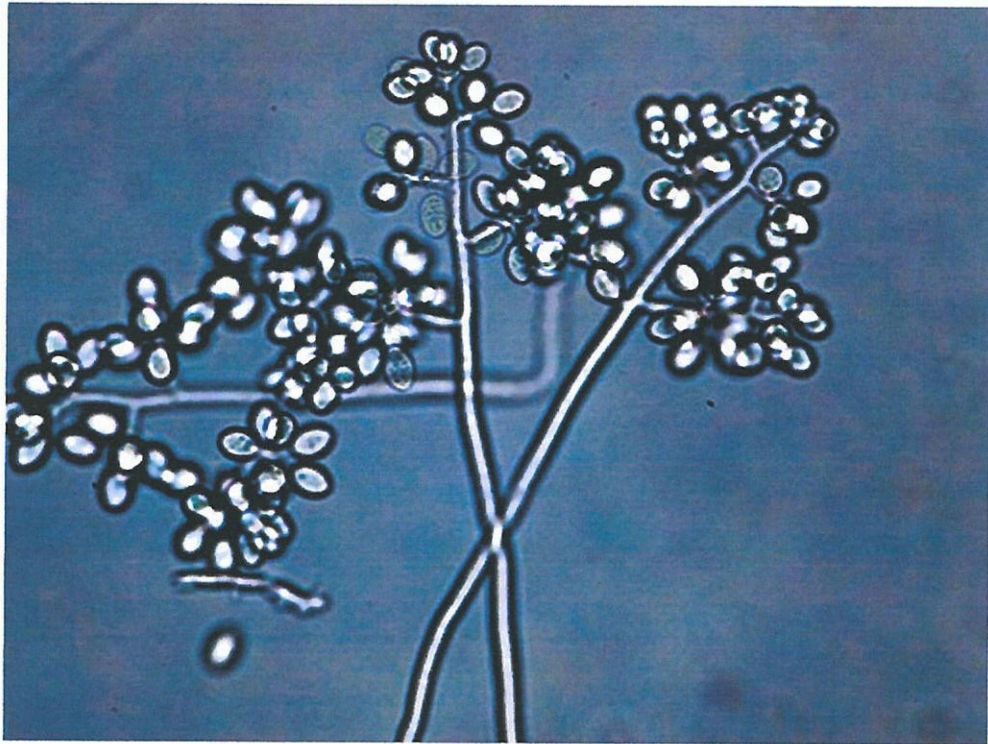
พบประปรายตลอดทั้งปีในเกือบทุกสวนที่สำรวจ อาการเริ่มแรกจะเกิดบริเวณขอบใบเป็นแผลชำรุดเขียวเข้ม ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล หรือน้ำตาลแดง ล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อสีเหลือง การตายจะลามไปตามแนวเส้นใบทำให้แผลมีลักษณะเป็นรูปตัววี (ภาพที่ 24) หากพิจารณาแผลโดยละเอียดจะพบกลุ่มสปอร์สีดำขึ้นปกคลุมอยู่เต็ม ลักษณะดังแสดงในภาพที่ 25 ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อ *Alternaria alternata*

### 3.2.1.5 โรคใบไหม้จากเชื้อกรีนเนอเรีย

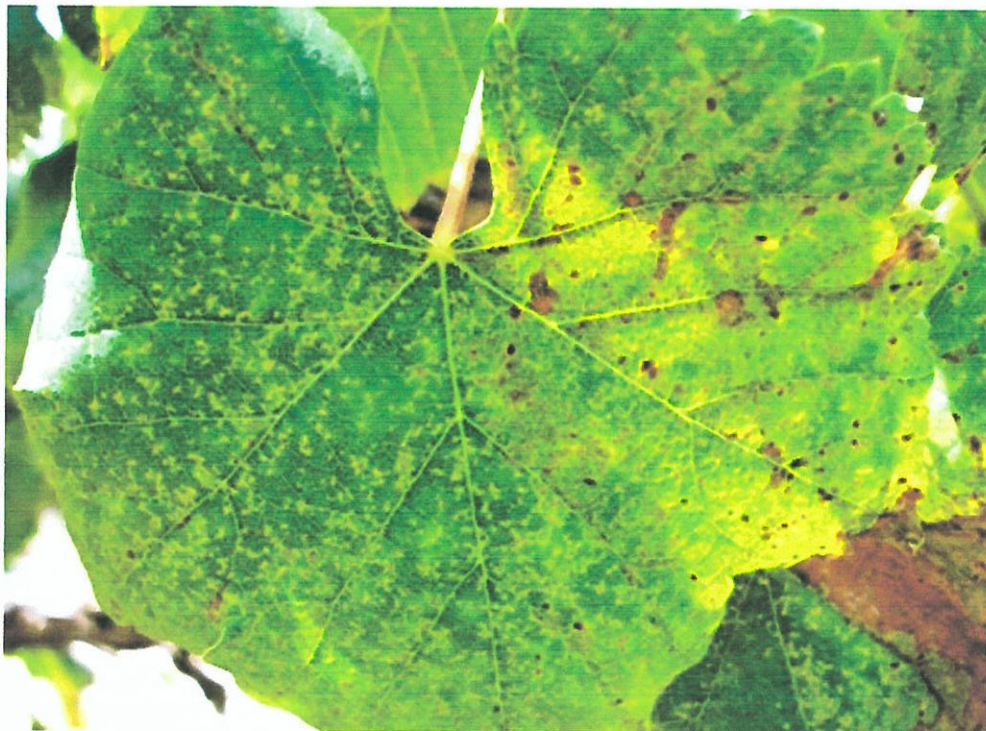
พบประปรายในฤดูฝน ลักษณะอาการโดยทั่วไปจะคล้ายกับโรคใบไหม้จากอาลเธอนาเรีย แต่แผลจะมีสีน้ำตาลอ่อนกว่า และมีลักษณะเป็นวงซ้อนกัน มักพบเป็นกับองุ่นในช่วงหลังเก็บผลเท่านั้น (ภาพที่ 26 และ 27) การวินิจฉัยโรคนี้จำเป็นต้องตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งจะพบกลุ่มของ acervuli ดังแสดงในภาพที่ 28 สปอร์ของเชื้อชนิดนี้มีขนาดค่อนข้างใหญ่ เมื่อเทียบกับสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum* และมีสีเข้มกว่า ขนาดของสปอร์ที่วัดได้ คือ  $7-10 \times 3-4$  ไมครอน รูปไข่ ผนังบาง มีเซลล์เดียว (ภาพที่ 29) ซึ่งตรงกับลักษณะของเชื้อ *Greeneria uvicola* หรือ *Melanconium fuligineum* (นิพนธ์, 2542) นอกจากอาการที่ใบแล้ว ยังพบว่าเชื้อสามารถทำให้ผลเน่าด้วย โดยเฉพาะกับองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา และพันธุ์แบล็คควีน (ภาพที่ 30)

### 3.2.1.6 โรคราแป้ง (Powdery mildew)

พบครั้งแรกเฉพาะในบางพื้นที่กับองุ่นที่ใช้ทำไวน์พันธุ์ชिरาซ ในช่วงฤดูหนาวประมาณเดือนธันวาคม ปี 2549 ในพื้นที่อำเภอปากช่อง จ. นครราชสีมา และ อำเภอสตึกหีบ จ. ชลบุรี ปัจจุบัน (ปี 2551) พบระบาดในทุกแหล่งปลูกในหลายพันธุ์ อาการเริ่มที่ใบตอนล่าง ลักษณะเป็น



ภาพที่ 19 ลักษณะก้านชูสปอร์และสปอแรงเจียของเชื้อ *Plasmopara viticola* ภาพขยาย 350 เท่า



ภาพที่ 20 ลักษณะแผลของ โรคราสนิมบนใบองุ่นที่ปรากฏทางด้านหลังใบ



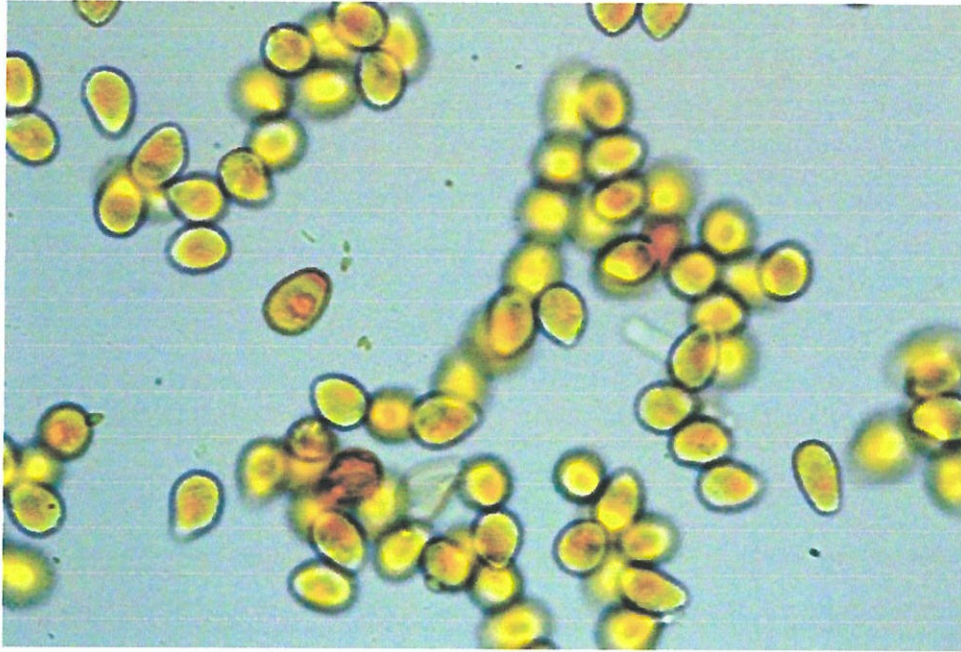


ภาพที่ 21 ลักษณะการตายของเนื้อเยื่อใบที่เกิดจากโรคราสนิมในองุ่น



ภาพที่ 22 ลักษณะแผลของโรคราสนิมในองุ่นพิจารณาจากด้านใต้ใบ



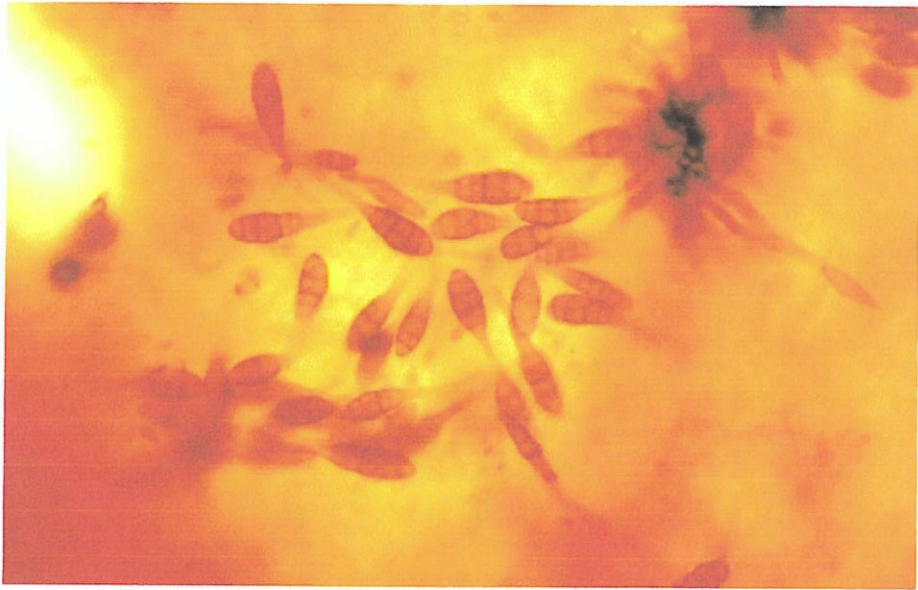


ภาพที่ 23 ลักษณะ uredospores ของเชื้อ *Physopella ampelopsidis* สาเหตุโรคราสนิม ภาพขยาย 400 เท่า



ภาพที่ 24 ลักษณะแผลโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria alternata*





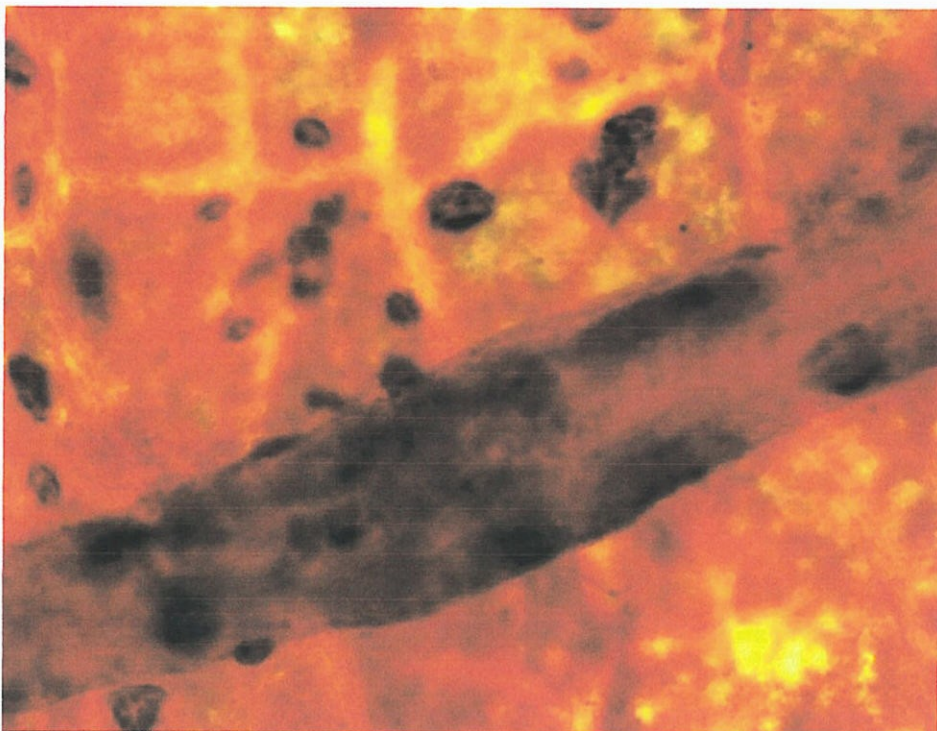
ภาพที่ 25 ลักษณะ โคนิเดียมของเชื้อ *Alternaria alternata* สาเหตุของโรคใบไหม้ในองุ่นภาพขยาย 350 เท่า



ภาพที่ 26 ลักษณะอาการโรคใบไหม้จากเชื้อ *Greeneria uvicola*

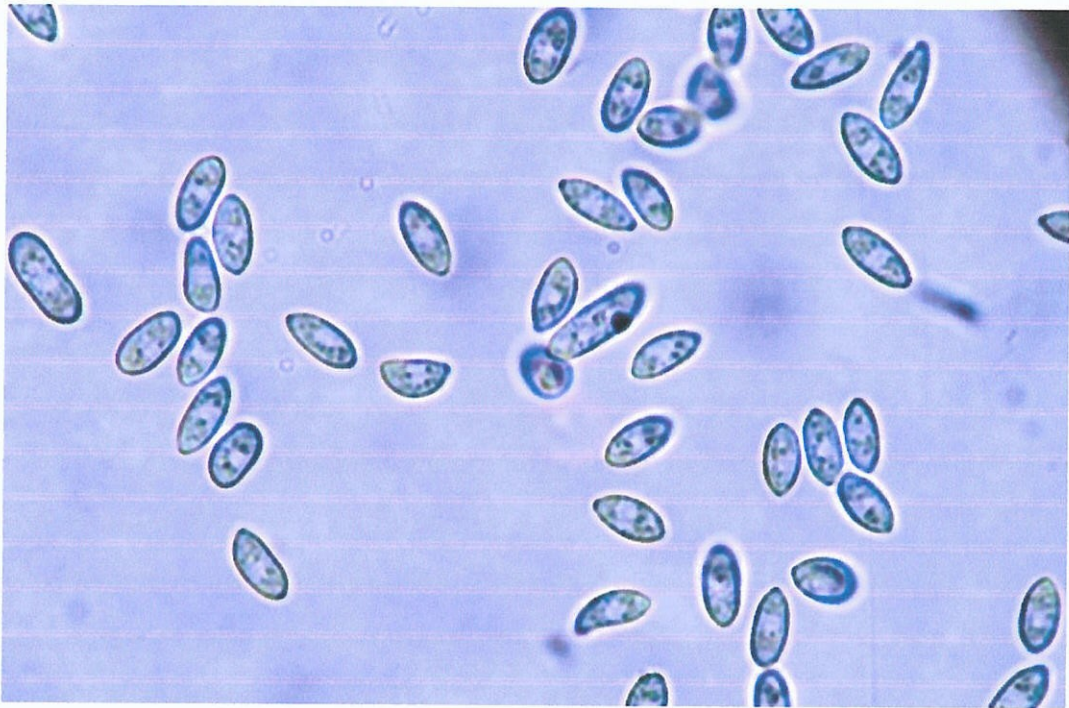


ภาพที่ 27 ลักษณะของการเกิดโรคใบไหม้จากเชื้อ *Greeneria uvicola* ระดับรุนแรง



ภาพที่ 28 ลักษณะ acervuli ของเชื้อ *Greeneria uvicola* บนเนื้อเยื่อใบอ่อน





ภาพที่ 29 ลักษณะ โคนิเดียของเชื้อ *Greeneria uvicola* ภาพขยาย 1000 เท่า



ภาพที่ 30 ลักษณะอาการผลเน่าจากเชื้อ *Greeneria uvicola* บนผลองุ่นพันธุ์แบล็คคเวิน

กลุ่มเส้นใยสีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมอยู่บริเวณด้านหลังใบ (ภาพที่ 31 และ 32) กรณีที่มีอาการรุนแรง เชื้อสามารถเข้าทำลายช่อดอกอ่อน กิ่งก้าน มือจับ และผลอ่อนได้ด้วย โดยทำให้ผลเกิดตำหนิเป็นลายคล้ายคลุมด้วยตาข่าย และมักแคระแกรน การตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบ โคนิเดียของเชื้อมีลักษณะเป็นท่อนห้วนมนท้ายตัดเซลล์เดี่ยว ใสไม่มีสี ขนาด 25-40 x 15-20 ไมครอน ซึ่งอาจเรียงตัวต่อกันบนก้านชูเป็นสายยาว (ภาพที่ 33) ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อ *Oidium tuckeri* (Kapoor, 1967) การตรวจตัวอย่างจนถึงปัจจุบันยังไม่พบระยะของเชื้อที่สร้าง Cleistothecia (*Uncinula necator* (Schw.) Burt.)

### 3.2.1.7 โรคผลเน่า (Berry rot หรือ Bunch rot)

พบในทุกแหล่งปลูก โดยเฉพาะกับผลองุ่นที่สุกแก่ในช่วงฤดูฝน หรือช่อองุ่นถูกฝนหลงฤดู อาการที่พบค่อนข้างหลากหลายขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อสาเหตุที่เข้าทำลาย (ภาพที่ 34) ตัวอย่างของเชื้อที่ตรวจพบบนผลที่เน่าและน่าจะเป็นสาเหตุเริ่มแรกของการเน่าได้แก่ เชื้อ *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc, *Botrytis cinerea* Pers., *Greeneria unicola* และ *Phyllosticta ampellicida* (Engelman) Van der Aa

### 3.2.1.8 โรคกิ่งแห้ง (Dead arm)

พบในทุกแหล่งปลูก อาการเป็นจุดตาย แผลแตกบนกิ่ง (ภาพที่ 35) ซึ่งมักจะลุกลามทำให้กิ่งส่วนที่อยู่ตอนบนแห่งตายทั้งกิ่ง (ภาพที่ 36) การตรวจบริเวณแผลตายพบ pycnidia ของเชื้อ *Phomopsis viticola* ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุของโรคดังกล่าว

### 3.2.2 การระบุสาเหตุของโรคองุ่นที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

จากการสำรวจโรคพบองุ่นที่แสดงอาการคล้ายโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย จำนวน 2 ชนิด คือ โรคขอบใบแห้งซึ่งแสดงอาการคล้ายโรค Pierce's disease ที่เกิดจากเชื้อ *Xylella fastidiosa* Wells. คือ องุ่นแสดงอาการขอบใบแห้ง (ภาพที่ 37) และแผ่นใบ (leaf blade) หลุดออกจากก้านใบ (petiole) (ภาพที่ 38) เมื่อถูกลมแรงซึ่งเป็นลักษณะพิเศษของโรคดังกล่าว (Hopkins and Purcell, 2002) แต่เมื่อนำตัวอย่างใบไปตรวจหาเชื้อโดยวิธี DAC-indirect ELISA กับ *X. fastidiosa* antiserum ทุกตัวอย่างให้ผลลบ ยกเว้นตัวอย่างใบที่เป็น positive control ของชุดตรวจตัวอย่างจึงสรุปได้ว่าอาการขอบใบแห้งที่พบ น่าจะเกิดจากสาเหตุอื่นไม่ใช่โรค Pierce's disease

สำหรับโรคที่สองที่ผลการตรวจเบื้องต้นพบว่าน่าจะเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย คือ โรคใบจุดเส้นใบไหม้ ซึ่งแสดงอาการเป็นแผลจุดตาย รูปเหลี่ยมขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร กระจายทั่วแผ่นใบ (ภาพที่ 39) แผลที่เกิดบนเส้นใบมีลักษณะเป็นแผลแตก ผิวขรุขระ ซึ่งมักลุกลามไปตามแนวเส้นใบ ทำให้เนื้อเยื่อใบส่วนที่อยู่ถัดไปแห้งตาย (ภาพที่ 40) ในเบื้องต้นสันนิษฐานว่าเกิดจากเชื้อ *Xylophilus ampelinus* เนื่องจากแสดงอาการเหมือนกันกับเชื้อดังกล่าว (Bradbury, 1991) แต่เมื่อนำ



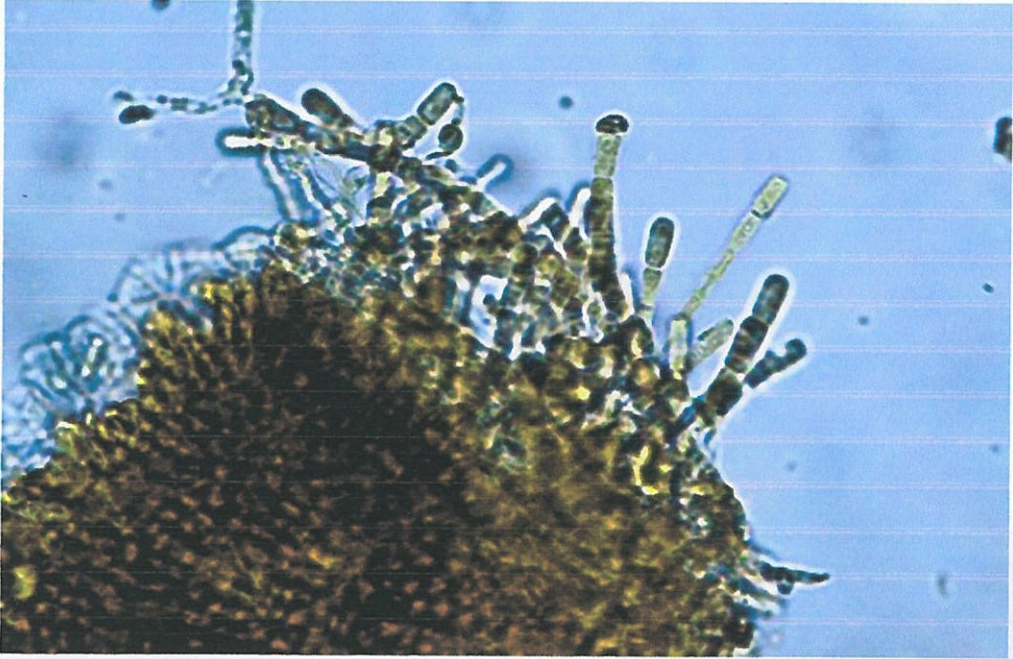


ภาพที่ 31 ลักษณะอาการ โรคราแป้งบนใบองุ่นระยะเริ่มแรก



ภาพที่ 32 ลักษณะอาการ โรคราแป้ง สังเกตเนื้อเยื่อตายบริเวณผิวใบที่เป็นโรค





ภาพที่ 33 ลักษณะ โคนิเดียมของเชื้อ *Oidium tuckeri* สาเหตุโรคราแป้งในองุ่น ภาพขยาย 200 เท่า



ภาพที่ 34 ลักษณะอาการของ โรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา





ภาพที่ 35 ลักษณะอาการแผลแตกที่เกิดจากเชื้อ *Phomopsis viticola* บนกิ่งอ่อนจาก โรคกิ่งแห้ง



ภาพที่ 36 ลักษณะอาการของ โรคกิ่งแห้งในอ่อนจากเชื้อ *Phomopsis viticola*





ภาพที่ 37 อาการขอบใบแห้ง พบที่จังหวัดเชียงราย ลักษณะคล้ายอาการของ โรค Pierce's disease



ภาพที่ 38 อาการแผ่นใบหลุด ลักษณะคล้ายอาการของ โรค Pierce's disease





ภาพที่ 39 อาการ โรคใบจุดเส้นใบใหม่ระยะเริ่มแรกจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*



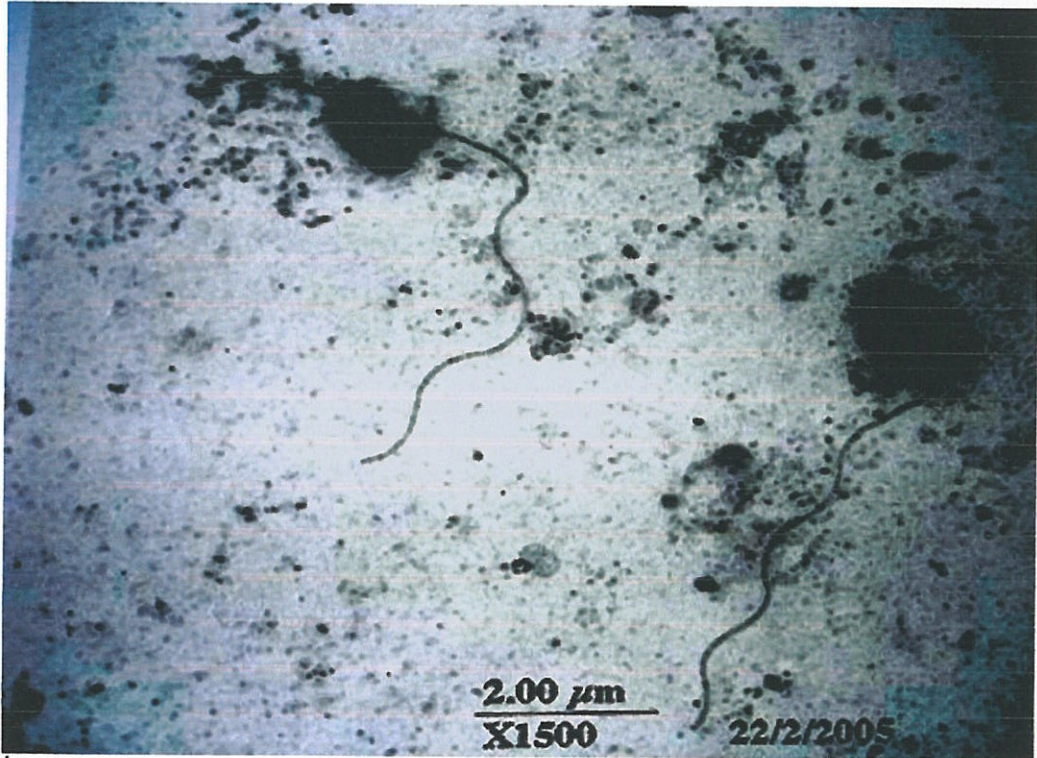
ภาพที่ 40 อาการใบจุดเส้นใบใหม่ที่เกิดบนเส้นใบ

เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ไปตรวจสอบการทำปฏิกิริยากับ antiserum ของเชื้อ *Xy. ampelinus* จากบริษัท LOEWE Biochemical โดยวิธี DAC-indirect ELISA พบว่าให้ผลเป็นลบ จึงได้ทำการศึกษาคูณสมบัติของเชื้อที่แยกได้โดยละเอียด พบว่าเชื้อที่แยกได้ซึ่งผ่านการพิสูจน์คุณสมบัติในการทำให้เกิดโรคแล้ว มีคุณสมบัติทางด้านชีวเคมี ลักษณะของโคโลนี ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ขนาดของเซลล์ การติดสีแกรม และชนิดของ Flagellum รวมทั้งการสร้าง Xanthomonadins เหมือนกันกับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (ตารางที่ 1) ซึ่งพบในประเทศอินเดียและบราซิล (Lima, 2001) ภาพที่ 41 แสดงลักษณะ monotrichous flagella ของเชื้อที่แยกได้จากองุ่นที่แสดงอาการใบจุดเส้นใบใหม่ การนำเอาตัวอย่างใบองุ่นที่แสดงอาการใบจุดเส้นใบใหม่ จำนวน 68 ตัวอย่าง จากสวนองุ่นในจังหวัดนครราชสีมา พิจิตร ระยอง สุรินทร์ และสระบุรี มาตรวจสอบการติดเชื้อโดยวิธี DAC-indirect ELISA โดยใช้ antiserum ที่เตรียมจากเชื้อ VN3 ไอโซเลตที่เก็บจากองุ่นพันธุ์ Perlette อ. ปากช่อง และ antiserum ของเชื้อ *Xy. ampelinus* พบว่าทุกตัวอย่างให้ค่า A405 ระหว่าง 0.425 – 0.516 กับ antiserum ของเชื้อ VN3 isolate แต่ให้ค่า A405 เพียง 0.074 – 0.082 กับ antiserum ของเชื้อ *Xy. ampelinus* แสดงว่าเชื้อที่ทำให้เกิดโรคใบจุดเส้นใบใหม่ในประเทศไทยน่าจะเป็นเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* ไม่ใช่ *Xy. ampelinus*

### 3.2.3 การวินิจฉัยสาเหตุของโรคองุ่นที่เกิดจากเชื้อไวรัส

จากการนำเอาตัวอย่างใบองุ่นที่แสดงอาการคล้ายอาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อไวรัส จำนวน 82 ตัวอย่าง ที่เก็บจากแหล่งปลูก จำนวน 52 สวน พบว่ามีเพียง 13 ตัวอย่างที่มีอาการตามแสดงในภาพที่ 42-46 ที่เก็บจากแปลงปลูกของฟาร์มมหาวิทยาลัย บริษัทคลังปลาซ่า อ. เมือง และสวนรัตนธงชัย อ. ปักธงชัย จ. นครราชสีมา เท่านั้น ที่ให้ผลบวกกับ antiserum ของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืช ดังแสดงในตารางที่ 2 สำหรับการนำตัวอย่างใบไปทำเป็นน้ำคั้นปลูกลงบนพืชทดสอบนั้นพืชทดสอบไม่แสดงอาการของโรค





ภาพที่ 41 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของเซลล์ของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* สังเกต monotrichous flagella บริเวณส่วนปลายของเซลล์



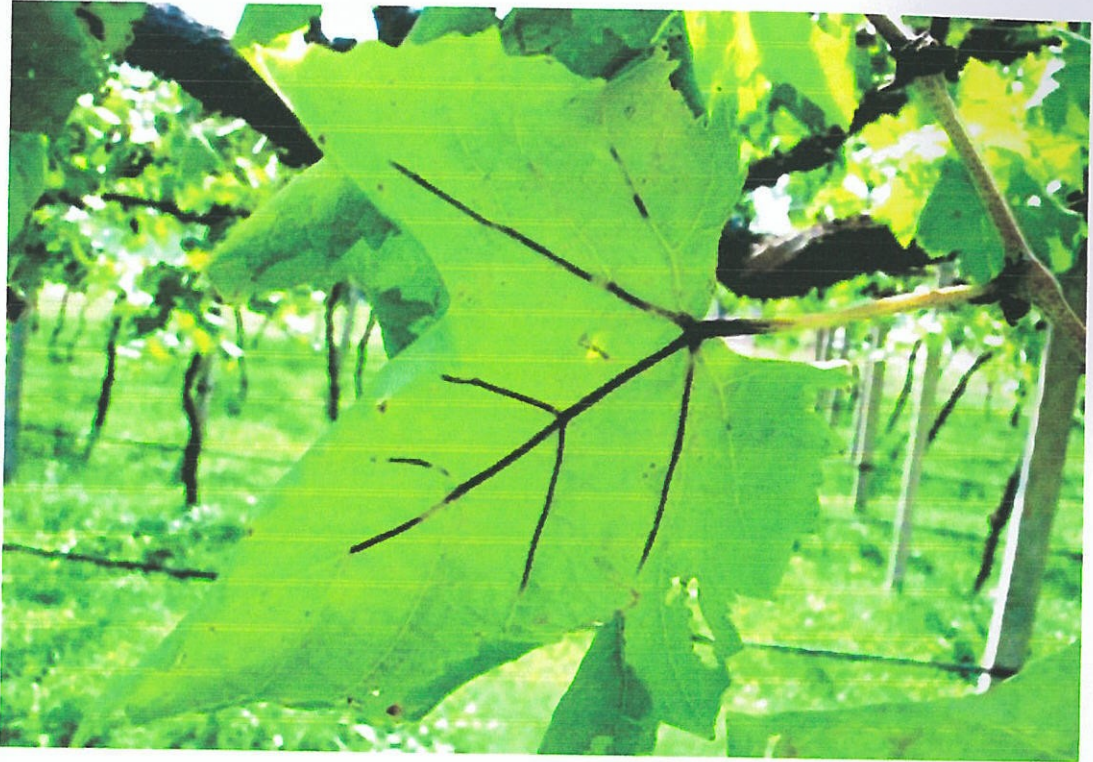
ภาพที่ 42 องุ่นพันธุ์ Crimson seedless แสดงอาการใบซีดต้นโทรม(mottling and decline)ที่เกิดจากเชื้อ tobacco ringspot nepovirus

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากอุนที่แสดงอาการโรคใบจุด  
เส้นใบไหม้ในประเทศไทย ไอโซเลต VN<sub>3</sub> กับเชื้อ *X. campestris* pv. *viticola*  
(Nayudu, 1972 อ้างถึงใน Lima., 2001), *Xy. ampelinus* และ *X. axonopodis* pv.  
*citri* (อ้างอิงจาก Holt et al., 1994)

คุณสมบัติที่ตรวจสอบ	ผลของการตรวจสอบ			
	ไอโซเลต VN <sub>3</sub>	<i>X. campestris</i> pv.	<i>X. axonopodis</i> pv.	<i>Xy. ampelinus</i>
		<i>viticola</i>	<i>citri</i>	
Gram negative reaction	+	+	+	+
Monotrichous flagella	+	+	+	+
Mucoid on NA + 5% Glu	+	+	-	-
Starch hydrolysis	+	NI	+	-
Gelatin liquefaction	+	V	-	-
Lipolytic activity	+	NI	+	-
Catalase production	+	NI	+	+
Urease activity	-	NI	-	+
Denitrification (N <sub>2</sub> )	-	-	-	+
Citrate Utilization	+	NI	+	+
Maximum NaCl tolerance %	5.0	5.0	1.0	1.0
Growth on glutamine	-	NI	-	+
Growth on calcium lactate	+	NI	+	-
Maximum growth temp, °C	37	37	37	33
Acid production from carbohydrate				
Glucose	+	+	+	-
Galactose	+	+	-	+
Arabinose	+	+	-	+
Maltose	+	NI	NI	NI
Mannose	+	+	-	-
Sucrose	+	NI	+	-
Ribose	-	NI	NI	NI
Lactose	-	-	NI	NI
Fructose	+	+	-	-
Cellobiose	+	+	-	-

Note : + = Positive; - = Negative; V = variable +, -; NI = No information





ภาพที่ 43 องุ่นพันธุ์ Marroo seedless แสดงอาการเส้นใบไหม้ (vine necrosis) ที่เกิดจากเชื้อ tobacco ringspot nepovirus

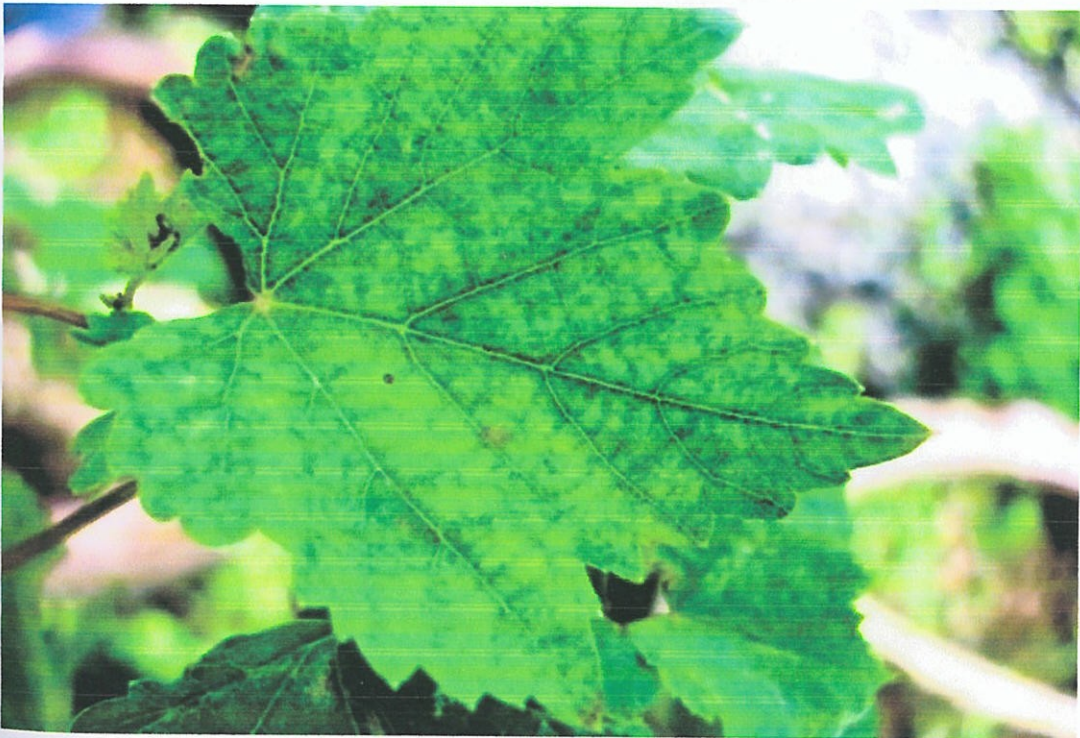


ภาพที่ 44 องุ่นพันธุ์ Marroo seedless แสดงอาการใบพัด (fan leaf) ที่เกิดจากเชื้อ grape fanleaf nepovirus





ภาพที่ 45 องุ่นพันธุ์ Pinot noir แสดงอาการใบด่าง (mosaic) จากการเข้าทำลายร่วมระหว่าง tobacco ringspot nepovirus และ tomato ringspot nepovirus



ภาพที่ 46 องุ่นพันธุ์ Flame แสดงอาการใบด่างกระ (mottling) จากเชื้อ tobacco ringspot nepovirus



ตารางที่ 2 ค่า absorbance A405 ที่ได้จากการนำตัวอย่างใบอ่อนที่แสดงอาการคล้ายโรคที่เกิดจากไวรัสไปตรวจสอบด้วยวิธี direct antigen coating indirect ELISA โดยใช้ primary antisera จาก The American Type Culture Collection <sup>1-1</sup>

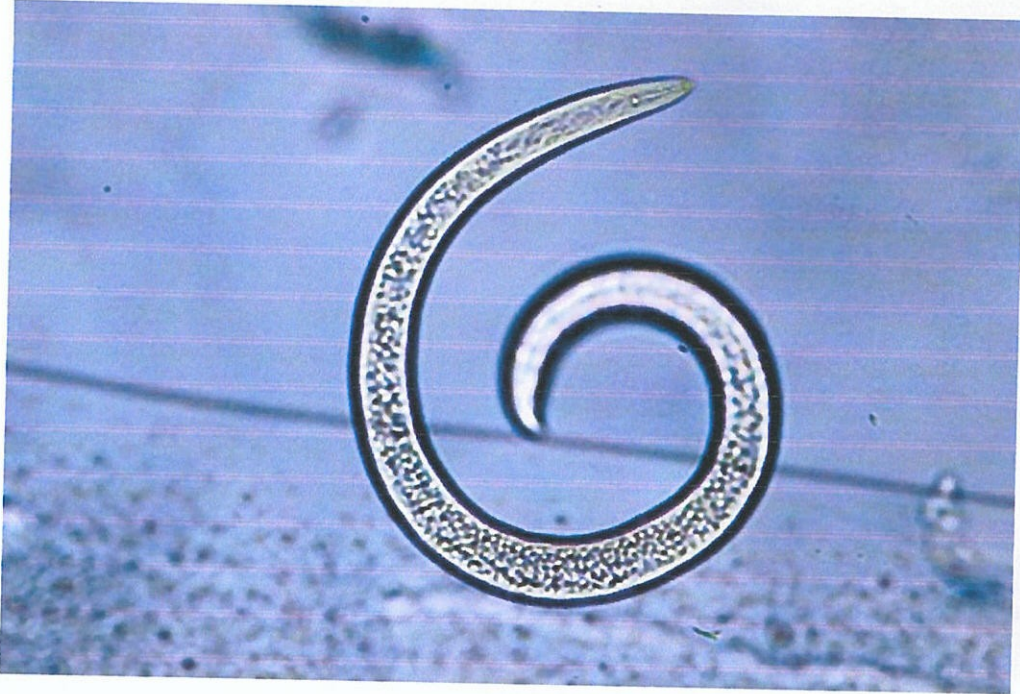
พันธุ์/จำนวนตัวอย่าง	แหล่งเก็บ	อาการ	Primary antiserum	A405 ใบเป็นโรค/ใบปกติ
Crimson Seedless/2	มทส.	Mottling/decline	TbRSV	0.523±0.014 / 0.108±0.012 0.482±0.011
Crimson Seedless/2	มทส.	Golden mottling	TbRSV	0.432±0.013 / 0.108±0.012 0.511±0.021
Kyoho/1	มทส.	Mottling/	TbRSV	0.421±0.016 / 0.108±0.012
Penot noir/1	มทส.	mosaic	TbRSV	0.454±0.012 / 0.108±0.012
			TmRSV	0.253±0.011 / 0.096±0.011
Flame/1	รัตนรงค์ชัย	mottling	TbRSV	0.516±0.019 / 0.108±0.012
Marroo Seedless/1	รัตนรงค์ชัย	mottling/fan leaf	GFV	0.465±0.021 / 0.204±0.021
Crimson Seedless/2	รัตนรงค์ชัย	mottling	GFV	0.586±0.037 / 0.204±0.021
			GAV	0.574±0.028 / 0.129±0.034
Marroo Seedless/1	มทส.	vein necrosis	TbRSV	0.619±0.016 / 0.108±0.012
Marroo Seedless/1	มทส.	Interveinal necrosis	TbRSV	0.475±0.017 / 0.108±0.012
Crimson Seedless/1	มทส.	mottling	TMV	0.211±0.00 / 0.078±0.001

<sup>1-1</sup>เป็นตารางสรุปจากการวิเคราะห์ จำนวน 82 ตัวอย่าง โดยใช้ Primary antisera ของไวรัสพืช จำนวน 8 ชนิดคือ tobacco mosaic tobamovirus (TMV), cucumber mosaic cucumovirus (CMV), tobacco ringspot nepo virus (TbRSV), tomato ringspot nepo virus (TmRSV), tospovirus group IV, Peanut stripe potyvirus (PStV), grapevine fanleaf nepovirus (GFV), และ grapevine closterovirus A (GAV) วิเคราะห์ 2 ซ้ำต่อตัวอย่าง

### 3.2.4 ไล่เดือนฝอยศัตรูพืชจากดินในสวนองุ่น

เนื่องจากการประเมินประชากรไล่เดือนฝอยเชิงปริมาณทำได้ค่อนข้างยากและต้องใช้เวลามาก จึงทำการประเมินเฉพาะในเชิงคุณภาพคือตรวจพบหรือไม่พบไล่เดือนฝอยศัตรูพืชเท่านั้น จากตัวอย่างดินจำนวน 120 ตัวอย่าง มีตัวอย่างดินที่เก็บจาก 30 สวน ตรวจพบไล่เดือนฝอยศัตรูพืชสกุล *Helicotylenchus* sp. จำนวนค่อนข้างมากในทุกสวน (ภาพที่ 47) พบสกุล *Tylenchorhynchus* sp (ภาพที่ 48) กระจายในสวนส่วนใหญ่ พบ *Pratylenchus* sp. และ *Criconebella* sp. ใน 5 สวนจาก 30 สวน และพบ *Longidorus* sp. (ภาพที่ 49) จำนวนเล็กน้อยในสวนภัทธา อ.ปากช่อง นครราชสีมา





ภาพที่ 47 ไข่เดือนฝอย *Helicotylenchus* sp. ที่ตรวจพบในดินบริเวณรากองุ่น



ภาพที่ 48 ไข่เดือนฝอย *Tylenchorhynchus* sp. ที่ตรวจพบในดินบริเวณรากองุ่น



ภาพที่ 49 ไม้เดือนฝอย *Longidorus* sp. ที่ตรวจพบในดินบริเวณรากองุ่น



### 3.3 การศึกษารายละเอียดของเชื้อ *Sphaceloma ampelinum*

#### 3.3.1 การแยกเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* จากตัวอย่างองุ่นที่เป็นโรค

จากการเก็บตัวอย่างองุ่นที่แสดงอาการของโรคสแคบ ในพื้นที่ปลูกอำเภอปรางค์กู่ อำเภอวังน้ำเขียว อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา สระบุรี ระยอง ราชบุรี พิจิตร เพชรบูรณ์ สมุทรสาครและจังหวัดเลย สามารถแยกเชื้อได้สำเร็จประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุที่ทำให้ไม่สามารถแยกเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์จากตัวอย่างทั้งหมด เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อราอื่นๆ บนผลเดียวกันเพราะไม่ได้ทำการแยกเชื้อทันทีหลังจากเก็บตัวอย่าง

#### 3.3.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

3.3.2.1 ลักษณะของโคนิเดีย ผลของการวัดขนาดโคนิเดียของเชื้อ ที่แยกได้จากตัวอย่างที่เป็นโรคจากแหล่งปลูกต่างๆ จำนวน 38 ไอโซเลต พบว่า เชื้อแต่ละไอโซเลตมีขนาดของโคนิเดียเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.17-3.35 x 5.24-6.83 ไมครอน ดังแสดงในตารางที่ 3 โคนิเดียมีขนาดเล็ก กลมรี หัวท้ายมน คล้ายรูปไข่ ไม่มีสี มีลักษณะใส เซลล์เดียว มี vacuole กลมใสภายใน

3.3.2.2 ลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า เชื้อในแต่ละไอโซเลตมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน ขยายขนาดของโคโลนีค่อนข้างช้า คือ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเพียง 0.5-2 เซนติเมตร หลังจาก 10 วัน และขยายขนาดขึ้นเป็น 2.5 เซนติเมตร เมื่อเชื้อมีอายุ 1-2 เดือน ซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อหยุดการขยายขนาดโคโลนี สำหรับสีของโคโลนี พบว่าแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ สีเหลืองอ่อน สีเหลืองเข้มถึงส้ม และสีแดง ลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA แสดงในภาพที่ 50

ตารางที่ 3 แสดงขนาดของ โคนีเดียของเชื้อ *S. ampelinum* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA จำนวน 38 ไอโซเลต  
เก็บจากแหล่งปลูกองุ่น

ไอโซเลต	ขนาดโคนีเดีย(ไมครอน)*	
	ความยาวเฉลี่ย	ความกว้างเฉลี่ย
Sa_1	6.20±0.66	3.35±0.36
Sa_2	5.74±0.69	2.41±0.58
Sa_3	5.89±0.52	2.61±0.30
Sa_4	6.14±0.60	2.55±0.36
Sa_5	5.93±0.70	2.61±0.48
Sa_6	6.35±0.64	2.67±0.30
Sa_7	5.91±0.77	2.47±0.36
Sa_8	6.23±0.69	2.58±0.30
Sa_9	6.21±0.64	2.26±0.35
Sa_10	6.16±0.67	2.34±0.35
Sa_11	6.25±0.67	2.50±0.33
Sa_12	5.24±0.63	2.17±0.33
Sa_13	5.47±0.77	2.36±0.31
Sa_14	5.80±0.65	2.60±0.31
Sa_15	5.68±0.65	2.54±0.32
Sa_16	5.93±0.76	2.59±0.44
Sa_17	5.43±0.77	2.32±0.27
Sa_18	5.29±0.57	2.49±0.32
Sa_19	6.29±0.69	2.59±0.43
Sa_20	5.78±0.69	2.48±0.27

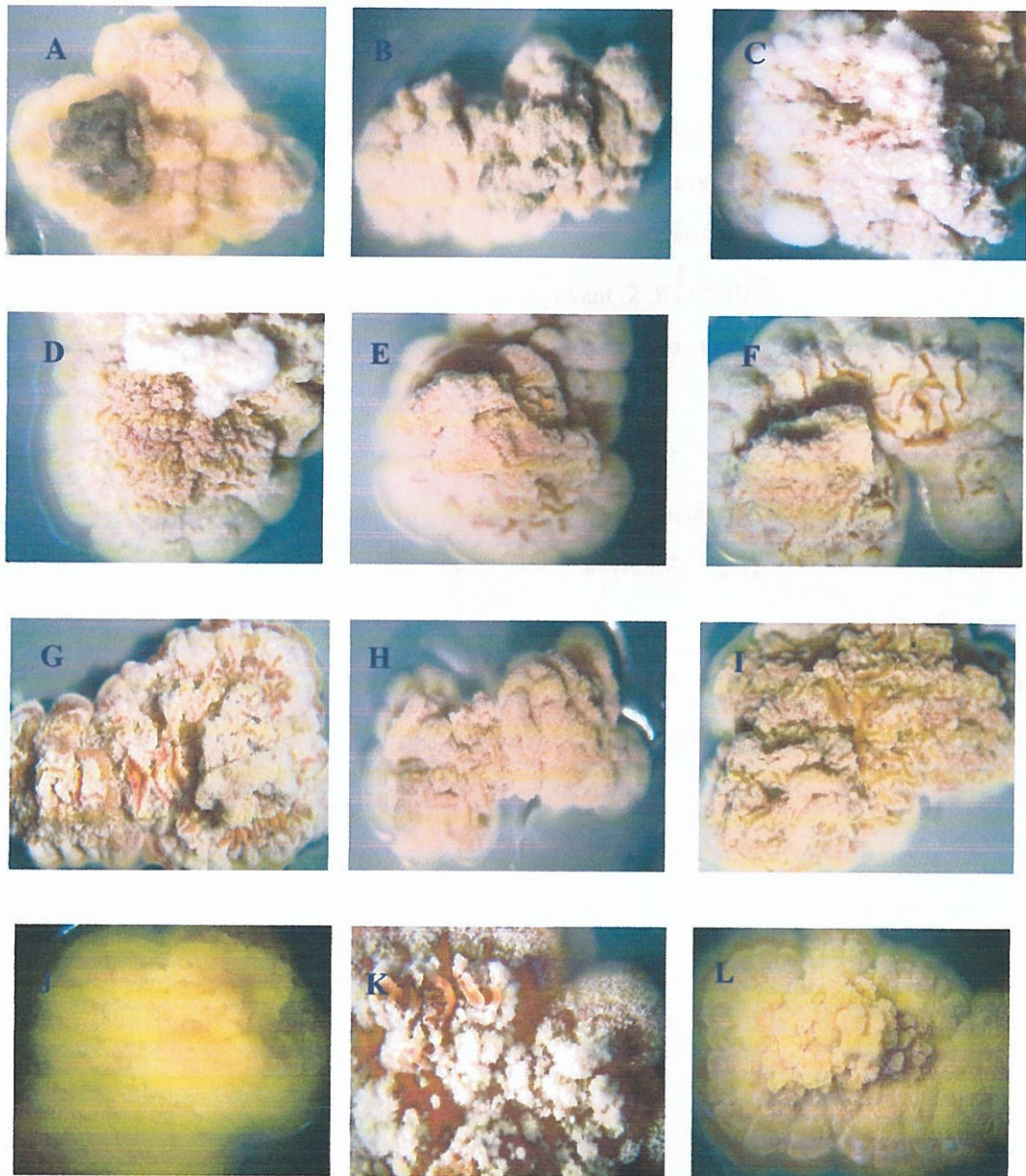
\* ค่าเฉลี่ยจาก 100 โคนีเดียต่อไอโซเลต



ตารางที่ 3 แสดงขนาดของโคนิเดียมของเชื้อ *S. ampelinum* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA จำนวน 38 ไอโซเลต เก็บจากแหล่งปลูกองุ่น (ต่อ)

ไอโซเลต	ขนาดโคนิเดียม(ไมครอน)*	
	ความยาวเฉลี่ย	ความกว้างเฉลี่ย
Sa_21	5.80±0.79	2.55±0.25
Sa_22	5.98±0.44	2.46±0.25
Sa_23	6.04±0.71	2.66±0.32
Sa_24	6.08±0.71	2.66±0.46
Sa_25	6.48±0.65	3.10±0.42
Sa_26	6.81±0.83	3.17±0.35
Sa_27	6.69±0.60	3.17±0.41
Sa_28	6.26±0.62	2.74±0.31
Sa_29	5.91±0.72	2.56±0.33
Sa_30	6.83±0.80	3.08±0.47
Sa_31	6.80±0.65	2.99±0.39
Sa_32	5.72±0.60	2.81±0.34
Sa_33	6.69±0.64	3.26±0.46
Sa_34	6.68±0.60	3.02±0.35
Sa_35	6.36±0.50	3.03±0.32
Sa_36	6.52±0.38	3.19±0.50
Sa_37	6.39±0.61	2.91±0.45

\* ค่าเฉลี่ยจาก 100 โคนิเดียมต่อไอโซเลต



ภาพที่ 50 แสดงลักษณะการเจริญของเชื้อ *S. ampelinum* อายุ 15 วัน บนอาหาร PDA เชื้อในแต่ละไอโซเลต จะมีลักษณะการเจริญบนอาหารที่แตกต่างกันทั้งในด้านขนาดและสีของโคโลนี

- |                   |                   |
|-------------------|-------------------|
| (A) ไอโซเลต Sa_1  | (B) ไอโซเลต Sa_2  |
| (C) ไอโซเลต Sa_3  | (D) ไอโซเลต Sa_4  |
| (E) ไอโซเลต Sa_5  | (F) ไอโซเลต Sa_6  |
| (G) ไอโซเลต Sa_7  | (H) ไอโซเลต Sa_8  |
| (I) ไอโซเลต Sa_9  | (J) ไอโซเลต Sa_10 |
| (K) ไอโซเลต Sa_11 | (L) ไอโซเลต Sa_12 |



### 3.3.3 การผลิตแอนติเซรุ่มของเชื้อ *S. ampelinum*

การผลิตแอนติเซรุ่ม โดยใช้โคเน็เดียของเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นแอนติเจนฉีดเข้ากระต่ายโดยตรงไม่สามารถกระตุ้นให้กระต่ายสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะเจาะจงได้ แต่การใช้ของเหลวที่ได้จากการบดเส้นใยและโคเน็เดียซึ่งมีปริมาณโปรตีน 0.75 ไมโครกรัม ต่อการฉีด 1 ครั้ง ฉีดเข้ากระต่ายในลักษณะฉีดเข้ากล้ามเนื้อ โดยผสม Freund's incomplete adjuvant 2 ครั้ง ร่วมกับการฉีดเข้าเส้นเลือดโดยมีปริมาณโปรตีน 1.5 ไมโครกรัม โดยไม่ผสม Freund's adjuvant 2 ครั้ง พบว่า สามารถกระตุ้นให้กระต่ายสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะเจาะจงกับเชื้อ *S. ampelinum* ได้

#### 3.3.3.1 การตรวจสอบความเจือจางต่ำสุดที่ยังทำปฏิกิริยากับแอนติเจนได้ (titer)

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของแอนติเซรุ่มที่ผลิตได้ โดยนำมาประเมินหาค่าระดับความเข้มข้นต่ำสุดของแอนติเซรุ่มที่สามารถทำปฏิกิริยากับแอนติเจนเป้าหมาย และศึกษาความไว ของแอนติเซรุ่มที่ระดับต่าง ๆ ด้วยวิธี DAC indirect – ELISA พบว่าแอนติเซรุ่มที่ทุกระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบสามารถทำปฏิกิริยากับแอนติเจนได้ โดยผลการตรวจระดับความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบตั้งแต่ 1:16 ถึง 1:2048 (v/v) พบว่า ที่ความเข้มข้นของแอนติเจน  $1 \times 10^6$  โคเน็เดีย/มิลลิลิตร แอนติเซรุ่มยังให้ปฏิกิริยาบวกที่ความเข้มข้น 1: 1,024 และที่ความเข้มข้น 1: 512 ยังให้ปฏิกิริยาบวกเมื่อแอนติเจนมีความเข้มข้นเพียง 10 โคเน็เดีย/มิลลิลิตร

#### 3.3.3.2 การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (specificity) ของแอนติเซรุ่ม

จากผลการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของแอนติเซรุ่ม พบว่า normal serum ที่นำมาใช้ในการทดสอบเปรียบเทียบกับแอนติเซรุ่มไม่ทำปฏิกิริยากับเชื้อ *S. ampelinum* และ แบคทีเรียที่นำมาทดสอบ ส่วนแอนติเซรุ่มที่ผลิตได้ให้ค่า A405 สูงเมื่อทำปฏิกิริยากับ *S. ampelinum* และ *Colletotrichum* จากอองุ่น ให้ค่าปานกลางเมื่อทำปฏิกิริยากับเชื้อ *Fusarium spp.*, *Curvularia lunata*, *Helminthosporium spp.*, *Colletotrichum gloeosporioides* และเชื้อไอโซเลต Sa\_5 แต่ให้ค่าต่ำมากกับเชื้อแบคทีเรีย *Enterobacter aerogenes*, *Azotobacter sp.*, *Bacillus cereus*, *Xanthomonas campestris* แสดงว่าสามารถทำปฏิกิริยาก่อนข้างจำเพาะเจาะจงกับ *S. ampelinum* มี cross reaction กับ *Colletotrichum* จากอองุ่น มีปฏิกิริยาบ้างกับ *Fusarium spp.*, *Curvularia lunata*, *Helminthosporium spp.*, *Collectotrichum gloeosporioides* ซึ่งน่าจะหมดไปหากทำแอนติเซรุ่มให้เจือจางลง

### 3.3.4 การพัฒนาวิธีการตรวจสอบ Latent infection โดยวิธีทาง serology

#### 3.3.4.1 วิธี ELISA

การดัดแปลงรูปแบบของวิธี ELISA โดยใช้ชิ้นส่วนของไบบริเวนท์ที่แสดงอาการของโรค สแคบ เป็น solid surface แทนพื้นที่ผิวของหลุมพลาสติก (plastic plate surface) เมื่อนำชิ้นส่วนของไบมาทดสอบ ด้วยวิธี ELISA ทุก 2 วัน พบว่า ค่าดูดกลืนแสงของทุกตัวอย่างไม่แตกต่างจาก control ทั้งนี้ที่สุ่มตรวจ หลังจากปลูกเชื้อ (0 วัน) แต่ทุกไอโซเลตให้ผลบวก (ค่า A 405 สูงกว่า negative control เกิน 2 เท่า) หลังจาก ปลูกเชื้อ 2 วัน ยกเว้น ไอโซเลต Sa\_1, Sa\_2 และ Sa\_3 (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตามค่าความแตกต่างของ A 405 ระหว่างตัวอย่างที่ได้รับการปลูกเชื้อ กับ control มีน้อยลงหลังจากเริ่มปรากฏอาการของโรคในวันที่ 4 แต่ ยังคงสูงกว่า control ในทุกตัวอย่าง

#### 3.3.4.2 วิธี immunofluorescence microscopy

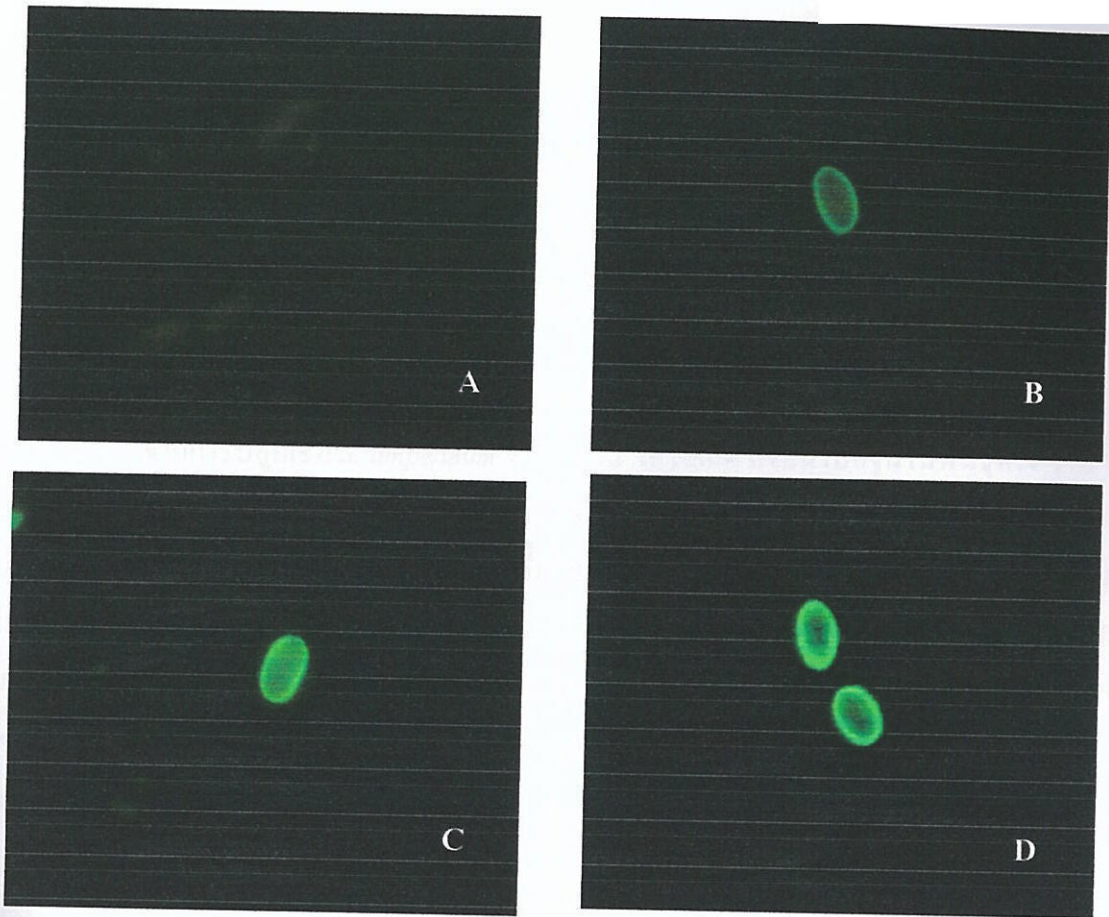
จากการใช้ชิ้นส่วนของไบที่ปลูกเชื้อ *S. ampelinum* นำมาทำปฏิกิริยากับ primary antiserum และ secondary antiserum ที่ติดฉลากกับสาร fluorescein isothiocyanate (FITC) แล้วนำไปตรวจดูการเรืองแสง ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงเรือง พบว่า โคนีเดียของเชื้อในแต่ละไอโซเลตมีลักษณะการเรืองแสงที่แตกต่างกัน แบ่งออกเป็นได้ 4 ระดับ ได้แก่ ไม่เรืองแสง เรืองแสงน้อย ปานกลาง และมากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 51



ตารางที่ 4 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ของเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 27 ไอโซเลต โดยวิธี DAC indirec ELISA กับแอนติเซรัม โดยการใช้ชิ้นส่วนของใบที่แสดงอาการแทน solid surface ของ plastic plate surface

ไอโซเลต	ค่าดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร*		
	จำนวนวันหลังปลูกเชื้อ (วัน)		
	0	2	4
Sa_1	0.160±0.001	0.092±0.001	0.210±0.031
Sa_2	0.153±0.001	0.092±0.001	0.269±0.043
Sa_3	0.173±0.007	0.090±0.002	0.311±0.074
Sa_4	0.153±0.005	0.190±0.002	0.228±0.019
Sa_5	0.154±0.014	0.199±0.011	0.246±0.050
Sa_6	0.148±0.007	0.216±0.007	0.241±0.006
Sa_7	0.152±0.001	0.222±0.009	0.237±0.036
Sa_8	0.164±0.009	0.223±0.003	0.229±0.116
Sa_9	0.159±0.001	0.152±0.082	0.201±0.027
Sa_10	0.161±0.009	0.147±0.067	0.262±0.053
Sa_11	0.165±0.003	0.142±0.072	0.337±0.038
Sa_12	0.159±0.010	0.189±0.003	0.239±0.003
Sa_13	0.149±0.007	0.186±0.012	0.246±0.058
Sa_14	0.150±0.009	0.202±0.009	0.254±0.024
Sa_15	0.148±0.004	0.221±0.001	0.218±0.009
Sa_16	0.157±0.019	0.204±0.008	0.279±0.046
Sa_17	0.159±0.002	0.199±0.007	0.229±0.010
Sa_18	0.160±0.011	0.189±0.001	0.231±0.009
Sa_19	0.171±0.010	0.192±0.002	0.284±0.036
Sa_20	0.163±0.008	0.189±0.001	0.226±0.015
Sa_21	0.160±0.007	0.185±0.003	0.210±0.000
Sa_22	0.155±0.002	0.198±0.005	0.259±0.018
Sa_23	0.149±0.005	0.223±0.008	0.243±0.026
Sa_24	0.150±0.009	0.194±0.002	0.231±0.000
Negative Control	0.159±0.019	0.091±0.000	0.196±0.070

หมายเหตุ \* = ค่าเฉลี่ยการอ่านค่าจาก 2 ซ้ำ/ตัวอย่าง



ภาพที่ 51 แสดงการเรืองแสงของเชื้อ *S. ampelimum* ที่ทำการทดสอบโดยวิธี immunofluorescence test

- (A) โคนิเดียของเชื้อที่ไม่เรืองแสงเมื่อทดสอบด้วย normal serum (-)
- (B) โคนิเดียของเชื้อที่แสดงการเรืองแสงได้น้อย (+)
- (C) โคนิเดียของเชื้อที่แสดงการเรืองแสงได้ปานกลาง (++)
- (D) โคนิเดียของเชื้อที่แสดงการเรืองแสงมากที่สุด (+++)



### 3.3.5 การศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อ *S. ampelinum* โดยเทคนิค serology

เมื่อนำเชื้อ *S. ampelinum* ที่เก็บจากแหล่งปลูกต่าง ๆ ตรวจสอบ ปฏิบัติทางเซรุ่มวิทยา โดยใช้วิธี ELISA เปรียบเทียบค่าที่วัดได้จาก เครื่อง spectrophotometer โดยเชื้อที่ใช้มีความเข้มข้นของสปอร์ในแต่ละไอโซเลตเท่ากัน พบว่า เชื้อในแต่ละไอโซเลตมีค่าดูดกลืนแสงใกล้เคียงกัน มีเฉพาะไอโซเลต Sa\_7, Sa\_14, Sa\_23, Sa\_26, Sa\_27, Sa\_29, Sa\_35, Sa\_36 และ Sa\_37 เท่านั้นที่มีค่าดูดกลืนแสงสูงกว่าไอโซเลตอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 5

### 3.3.6 การศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อ *S. ampelinum* จากปฏิกริยาบนพันธุ์องุ่น

จากการปลูกเชื้อ *S. ampelinum* จำนวน 12 ไอโซเลต ลงบนใบองุ่นในพันธุ์ต่าง ๆ 6 พันธุ์ พบว่า สามารถจัดกลุ่มตามลักษณะของการเกิดโรคได้ 6 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เชื้อสามารถทำให้เกิดโรคในองุ่นได้ทั้งหมด ทุกพันธุ์ที่นำมาทดสอบ กลุ่มที่ 2 เชื้อไม่สามารถทำให้เกิดโรคได้ ในพันธุ์ Shiraz กลุ่มที่ 3 เชื้อไม่สามารถทำให้เกิดโรคได้ในพันธุ์ Centennial และ Delight กลุ่มที่ 4 เชื้อไม่สามารถทำให้เกิดโรคได้ในทุกพันธุ์ยกเว้นพันธุ์ Crimson seedless และ Centennial กลุ่มที่ 5 เชื้อสามารถทำให้เกิดโรคได้ในพันธุ์ Marroo seedless และ Delight กลุ่มที่ 6 เชื้อสามารถทำให้เกิดโรคได้เฉพาะในพันธุ์ Black queen และ Crimson seedless เท่านั้น ดังแสดงในตารางที่ 6

พันธุ์องุ่นที่เกิดโรคน้อยที่สุดได้แก่ พันธุ์ Delight, Centennial, Shiraz, Marroo seedless, Crimson seedless และ Black queen เป็นพันธุ์ที่มีจำนวนไอโซเลตที่ทำให้เกิดโรคได้ คือ 6/12, 7/12, 8/12, 9/12, 10/12 และ 12/12 ไอโซเลต ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6 นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อไอโซเลต Sa\_8, Sa\_1 และ Sa\_6 สามารถทำให้อองุ่นพันธุ์ Black queen และ Crimson seedless เกิดโรคได้ภายใน 4 วัน ส่วนในไอโซเลตอื่น ๆ จะเกิดโรคกับองุ่นหลังวันที่ 5 ของการปลูกเชื้อ ส่วนเชื้อไอโซเลต Sa\_4 และ Sa\_7 ทำให้อองุ่นพันธุ์ Shiraz และ Delight เกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อ 8 วัน ดังแสดงในตารางที่ 7

จากการวัดขนาดของแผล หลังจากการปลูกเชื้อ 7 วัน พบว่า เชื้อไอโซเลต Sa\_24 สามารถทำให้เกิดแผลขนาดใหญ่ที่สุดในองุ่นพันธุ์ Black queen ขนาดเท่ากับ 2.282 มิลลิเมตร ไอโซเลต Sa\_12 สามารถทำให้เกิดแผลขนาดใหญ่ที่สุดในองุ่นพันธุ์ Crimson seedless ขนาดเท่ากับ 2.336 ไอโซเลต Sa\_1 สามารถทำให้เกิดแผลขนาดใหญ่ที่สุดในองุ่นพันธุ์ Marroo seedless ขนาดเท่ากับ 2.180 มิลลิเมตร ไอโซเลต Sa\_3 สามารถทำให้เกิดแผลขนาดใหญ่ที่สุดในองุ่นพันธุ์ Centennial ขนาดเท่ากับ 1.836 มิลลิเมตร ไอโซเลต Sa\_9 สามารถทำให้เกิดแผลขนาดใหญ่ที่สุดในองุ่นพันธุ์ Delight ขนาดเท่ากับ 1.900 มิลลิเมตร และไอโซเลต Sa\_5 สามารถทำให้เกิดแผลขนาดใหญ่ที่สุดในองุ่นพันธุ์ Shiraz ขนาดเท่ากับ 1.680 มิลลิเมตร ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 5 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ของเชื้อ *S. ampelinum* ความเข้มข้น  $1 \times 10^6$  โคโคนี้เดีย มีกลิตติกร โดยวิธี DAC indirect-ELISA

ไอโซเลต	ค่าดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร*
Sa_1	0.209±0.009
Sa_2	0.236±0.009
Sa_3	0.228±0.012
Sa_4	0.216±0.009
Sa_5	0.209±0.002
Sa_6	0.196±0.009
<b>Sa_7</b>	<b>0.450±0.023</b>
Sa_8	0.200±0.008
Sa_9	0.205±0.005
Sa_10	0.222±0.007
Sa_11	0.239±0.007
Sa_12	0.206±0.004
Sa_13	0.199±0.004
<b>Sa_14</b>	<b>0.401±0.013</b>
Sa_15	0.199±0.003
Sa_16	0.183±0.009
Sa_17	0.188±0.001
Sa_18	0.209±0.011
Sa_19	0.216±0.015
Sa_20	0.255±0.013
Sa_21	0.207±0.010
Sa_22	0.205±0.004
<b>Sa_23</b>	<b>0.314±0.034</b>
Sa_24	0.190±0.008
Sa_25	0.209±0.004
<b>Sa_26</b>	<b>0.476±0.002</b>

หมายเหตุ \* ค่าเฉลี่ยผลการอ่านค่าจาก 4 ซ้ำต่อตัวอย่าง



ตารางที่ 5 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ของเชื้อ *S. ampelinum* ความเข้มข้น  $1 \times 10^6$  โคนีเดีย/มิลลิลิตร โดยวิธี DAC indirect- ELISA (ต่อ)

ไอโซเลต	ค่าดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร
Sa_27	$0.334 \pm 0.011$
Sa_28	$0.217 \pm 0.004$
Sa_29	$0.431 \pm 0.003$
Sa_30	$0.265 \pm 0.010$
Sa_31	$0.295 \pm 0.007$
Sa_32	$0.274 \pm 0.004$
Sa_33	$0.312 \pm 0.012$
Sa_34	$0.234 \pm 0.020$
Sa_35	$0.410 \pm 0.008$
Sa_36	$0.313 \pm 0.003$
Sa_37	$0.301 \pm 0.006$
RSa_2	$0.269 \pm 0.005$
RSa_3	$0.221 \pm 0.008$
RSa_4	$0.223 \pm 0.005$
RSa_5	$0.211 \pm 0.018$
RSa_6	$0.246 \pm 0.013$
RSa_7	$0.296 \pm 0.016$
RSa_8	$0.278 \pm 0.004$
RSa_9	$0.274 \pm 0.016$
RSa_10	$0.270 \pm 0.004$
RSa_11	$0.275 \pm 0.008$
RSa_12	$0.246 \pm 0.007$

หมายเหตุ

\* ค่าเฉลี่ยผลการอ่านค่าจาก 4 ซ้ำต่อตัวอย่าง

ตารางที่ 6 แสดงความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *S. ampelinum* แต่ละไอโซเลต บนใบ องุ่น 6 สายพันธุ์

ไอโซเลต	ความสามารถในการทำให้เกิดโรค*					
	BQ	CS	MS	C	D	SR
Sa_3	+	+	+	+	+	+
Sa_5	+	+	+	+	+	+
Sa_6	+	+	+	+	+	-
Sa_9	+	+	+	+	+	-
Sa_24	+	+	+	-	-	+
Sa_7	+	-	+	-	+	+
Sa_11	+	-	+	-	-	-
Sa_1	+	+	+	+	-	+
Sa_12	+	+	-	+	-	+
Sa_4	+	+	-	+	+	+
Sa_8	+	+	-	-	-	-

\*หมายเหตุ

+ = เชื้อทำให้อองุ่นเกิดโรค

- = เชื้อไม่ทำให้อองุ่นเกิดโรค

BQ = Black queen

CS = Crimson seedless

MS = Marroo seedless

C = Centennial

D = Delight

SR = Shiraz



ตารางที่ 7 แสดงวันแรกที่เชื่อในแต่ละไอโซเลตปรากฏผลบนอุณหภูมิต่างๆ

ไอโซเลต	BQ	CS	MS	C	D	SR
Sa_1	4	5	5	6	-	6
Sa_2	5	5	5	-	-	6
Sa_3	5	6	5	5	7	7
Sa_4	5	5	-	7	7	8
Sa_5	5	5	5	6	8	6
Sa_6	4	5	6	5	7	-
Sa_7	5	-	6	-	8	6
Sa_8	6	4	-	-	-	-
Sa_9	6	6	7	7	5	-
Sa_11	5	-	5	-	-	-
Sa_12	5	5	-	7	-	6
Sa_24	4	6	5	-	-	6

= เชื้อไม่ทำให้เกิดอาการผิดปกติ

ตารางที่ 8 แสดงขนาดของแผลที่เกิดจากเชื้อ *S. ampelinum* หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน บนใบองุ่น 6 สายพันธุ์

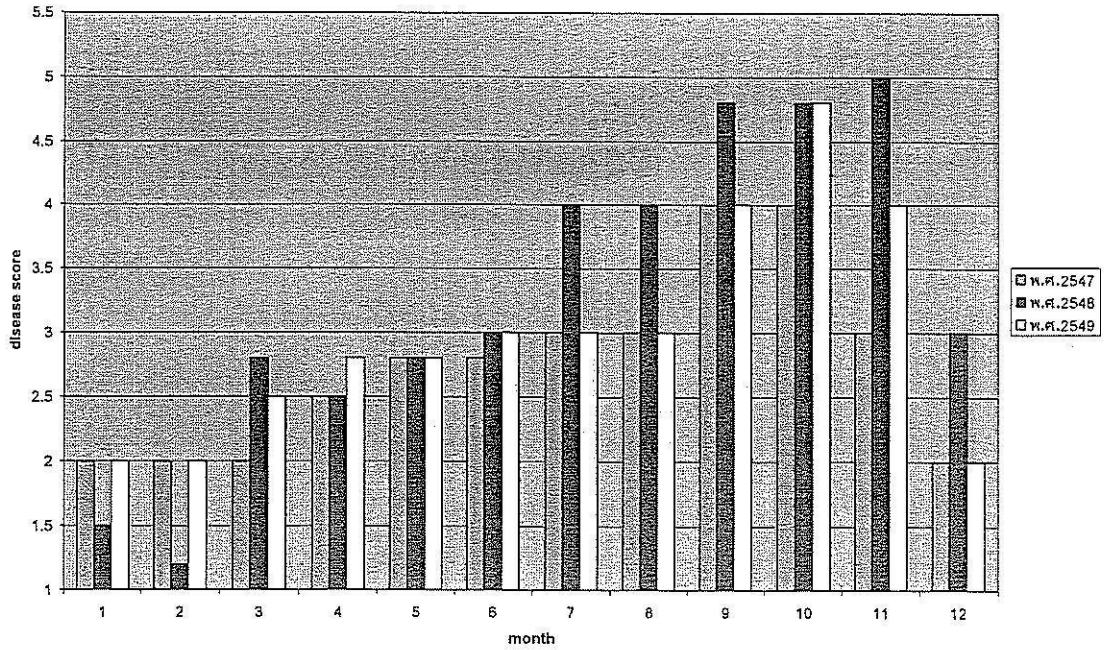
ไอโซเลต	ขนาดของแผล (มิลลิเมตร) <sup>1,2</sup>					
	BQ	CS	MS	C	D	SR
Sa_1	1.820c	1.092f	<b>2.180a</b>	1.440c	0.000f	1.190c
Sa_2	1.480d	1.300e	2.100ab	0.000e	0.000f	0.680e
Sa_3	0.860g	1.680d	2.100ab	<b>1.836a</b>	0.650e	0.900d
Sa_4	1.700c	1.956c	0.000e	1.300d	1.280c	1.400b
Sa_5	1.466d	1.790d	1.816c	1.680b	1.680b	<b>1.680a</b>
Sa_6	2.104b	2.020c	1.760c	1.026d	0.960d	0.000f
Sa_7	2.100b	0.000g	1.100d	0.000e	1.660b	1.400b
Sa_8	2.000b	2.160b	0.000e	0.000e	0.000f	0.000f
Sa_9	1.025f	1.040f	0.956d	1.500c	<b>1.900a</b>	0.000f
Sa_11	1.320e	0.000g	1.200d	0.000e	0.000f	0.000f
Sa_12	2.070b	<b>2.336a</b>	0.000e	1.800ab	0.000f	1.150c
Sa_24	<b>2.282a</b>	2.192b	2.000b	0.000e	0.000f	1.148c

<sup>1,2</sup> ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ( $p \geq 0.05$ ) โดยวิธี DMRT

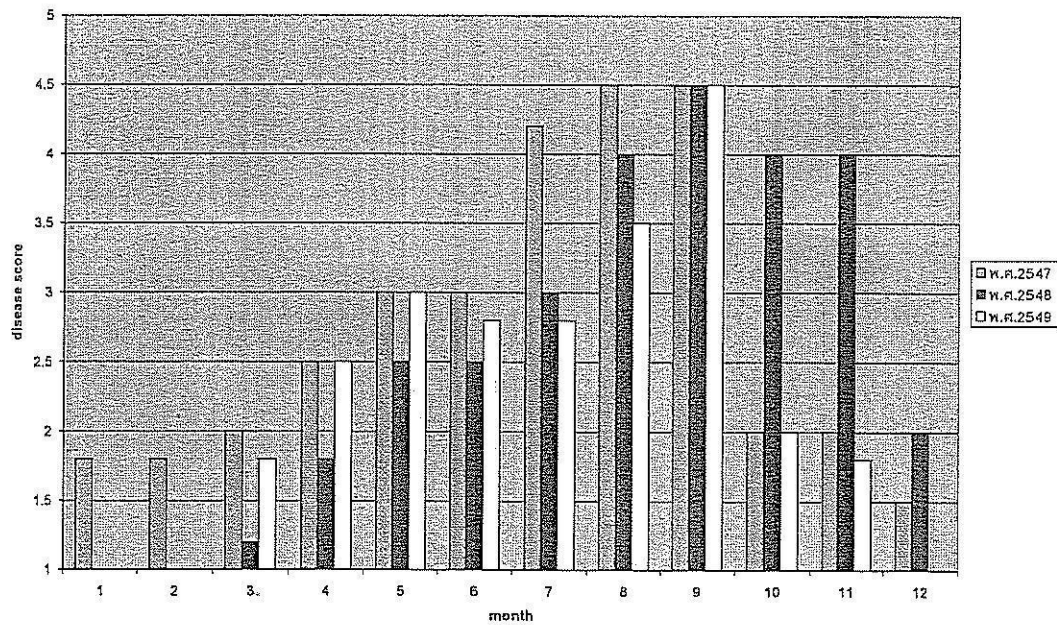


### 3.4 พัฒนาการของโรคและช่วงเวลาของการแพร่ระบาด

จากการติดตามพัฒนาการของโรคที่สำคัญของงูในพันธุ์นี้ตลอดระยะเวลา 3 ปี จาก พ.ศ. 2547 ถึง 2549 พบว่าโรคราน้ำค้างมีการเข้าทำลายตลอดทั้งปี และมีระดับค่าคะแนนของการเกิดโรคโดยเฉลี่ยสูงกว่าโรคอื่น การเกิดโรคมีระดับความรุนแรงในเดือนเดียวกันแตกต่างกันในแต่ละปี โดยมีความรุนแรงสูงมากในปี พ.ศ. 2548 (คะแนน 4-5) ในระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนพฤศจิกายน จากนั้นจึงลดระดับความรุนแรงลงในเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ (ระดับคะแนน 0.5-2) และเริ่มมีความสำคัญเพิ่มขึ้นอีกครั้ง ตั้งแต่เดือนมีนาคม (ภาพที่ 52) การเกิดโรคสแคบมีพัฒนาการคล้ายกับการเกิดโรคราน้ำค้าง แต่มีค่าคะแนนการเกิดโรคสูงสุดต่ำกว่าโรคราน้ำค้าง(คะแนน 4.5) และโรคจะเกิดรุนแรงมากเฉพาะในช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนกันยายน ยกเว้นในปี 2548 ที่โรคมีความรุนแรงไปจนถึงเดือนพฤศจิกายน (ภาพที่ 53) สำหรับโรคราสนิมพบการเข้าทำลายตลอดทั้งปี แต่ค่าคะแนนการเกิดโรคค่อนข้างต่ำ (ระดับคะแนน 0.5-2) โดยเฉพาะในช่วงที่มีการระบาดของโรคราน้ำค้างและโรคสแคบรุนแรง ค่าคะแนนโรคราสนิมมีค่าสูงสุดในช่วงที่สอง โรคดังกล่าวเริ่มลดความรุนแรงลง คือตั้งแต่เดือนธันวาคมไปจนถึงเดือนกุมภาพันธ์ (ภาพที่ 54) สำหรับโรคราแป้งซึ่งเป็นโรคที่สำคัญในยุโรปและอเมริกา เริ่มพบครั้งแรกในฟาร์มมหาวิทยาลัยในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2547 จากนั้นจึงพบรุนแรงเพิ่มมากขึ้น(ระดับคะแนน 1.2-2) ในระหว่างเดือนธันวาคมไปจนถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2548 การระบาดในปี 2549 มีลักษณะคล้ายกับปี 2548 แต่ตรวจไม่พบการเข้าทำลายในช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน หลังจากเดือนเมษายนไปจนถึงเดือนตุลาคมตรวจไม่พบโรคราแป้งในงูในทั้งสองปี (ภาพที่ 55) สำหรับโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้ออัลเทอริเรีย และโรคกิ่งแห้งใบไหม้จากเชื้อกรีนนาเรีย พบทำความเสียหายรุนแรงเฉพาะในช่วงผลสุกแก่ ถึงระยะหลังเก็บผลระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคม ซึ่งเป็นระยะที่งดการฉีดพ่นสารเคมี

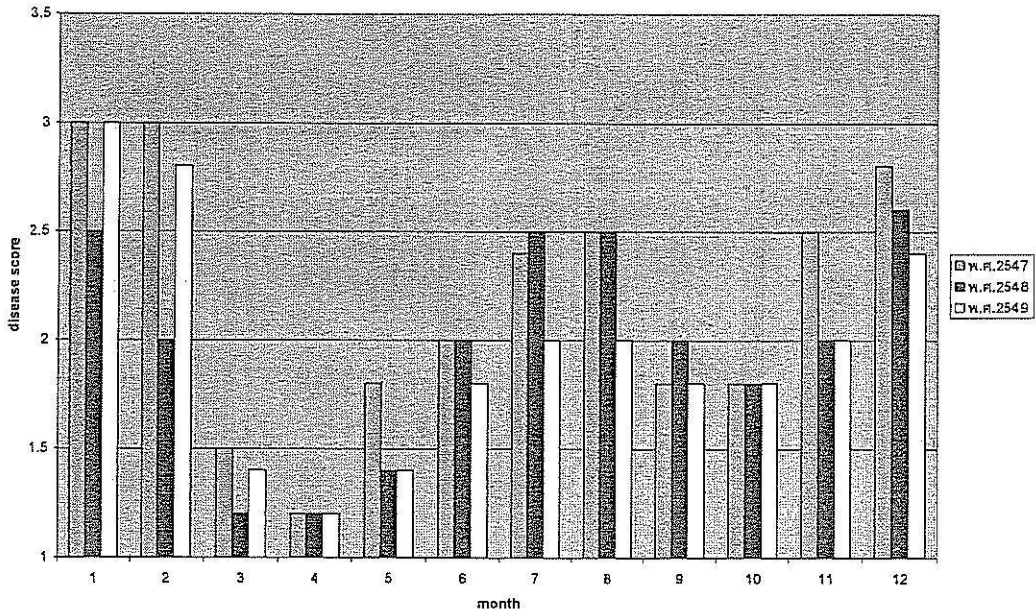


ภาพที่ 52 ระดับคะแนนการเกิดโรคราน้ำค้างในองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ระหว่างเดือนมกราคม 2547 ถึงเดือนธันวาคม 2549 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา (คะแนน 1 = ไม่แสดงอาการ 5= อาการรุนแรงสูงสุด)

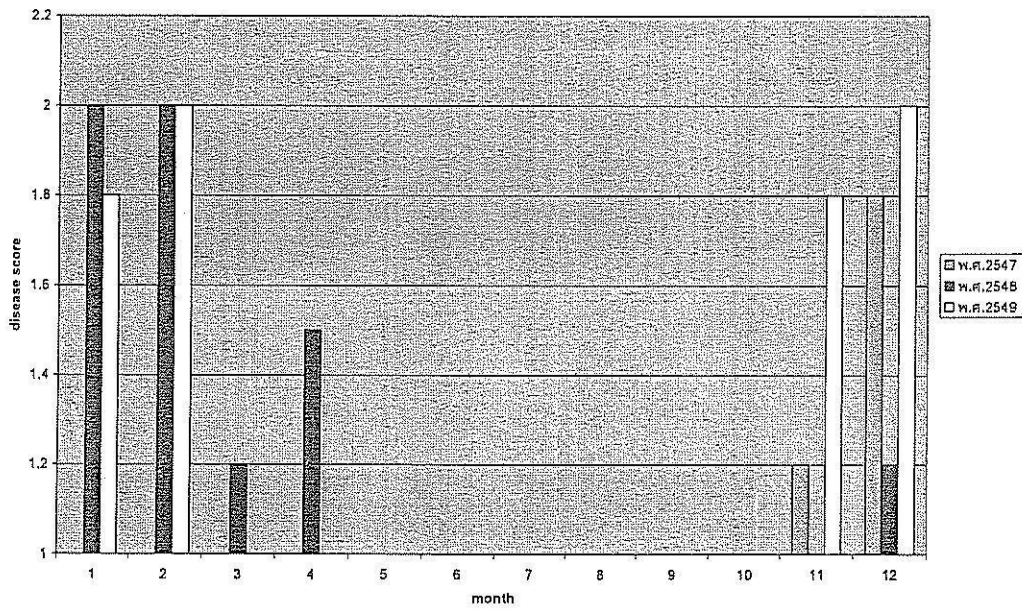


ภาพที่ 53 ระดับคะแนนการเกิดโรคสแคบในองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ระหว่างเดือนมกราคม 2547 ถึงเดือนธันวาคม 2549 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา (คะแนน 1 = ไม่แสดงอาการ 5= อาการรุนแรงสูงสุด)





ภาพที่ 54 ระดับคะแนนการเกิดโรคราสนิมในอุ้งนฟันรู้ไวท่มะละกา ระหว่างเดือนมกราคม 2547 ถึงเดือนธันวาคม 2549 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา (คะแนน 1 = ไม่แสดงอาการ 5= อาการรุนแรงสูงสุด)



ภาพที่ 55 ระดับคะแนนการเกิดโรคราเป็งในอุ้งนฟันรู้ไวท่มะละกา ระหว่างเดือนมกราคม 2547 ถึงเดือนธันวาคม 2549 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา (คะแนน 1 = ไม่แสดงอาการ 5= อาการรุนแรงสูงสุด)

### 3.5 การจัดการโรคของงุ่น

#### 3.5.1 การจัดการโรคด้วยสารเคมี

ผลการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมโรคของงุ่นดำเนินการ 2 ครั้ง ครั้งแรกทดลองระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนสิงหาคม 2547 ซึ่งพบเฉพาะการเข้าทำลายของโรคสแคบและโรคใบจุดเส้นใบไหม้ ผลการทดลองพบว่าแมนโคเซบผสมคอปเปอร์ออกไซด์(ไตรแมนโซล) มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดการเกิดโรคสแคบและโรคใบจุดเส้นใบไหม้ รองลงมาคือ บอร์โดมิกเจอร์ผสมมานเนบ (บอร์โดเอ็ม) ขณะที่สารเคมีชนิดอื่นๆ ที่ทดสอบมีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำในการควบคุมโรคสองชนิดดังกล่าว(ตารางที่ 9) การทดลองครั้งที่ 2 ดำเนินการระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกรกฎาคม 2548 ได้เลือกสารเคมีบางชนิดออกและเพิ่มสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมโรคพืชแทน ผลการทดลองพบว่า การฉีดพ่นสารบอร์โดมิกเจอร์ผสมมานเนบ(บอร์โด-เอ็ม) สลับกับสาร azoxystrobin (อะมิสตา) มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคสแคบและโรคราน้ำค้างซึ่งเป็นโรคสำคัญ ขณะที่สารบอร์โด-เอ็ม สลับกับไดมีฟอนและคาโคนิล มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคราสนิม (ตารางที่ 10) การใช้สารชีวภัณฑ์ (ถารมินาร์ หรือน้ำส้มควันไม้หรือโคแมกซ์) ในการทดลองครั้งนี้พบว่าไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค



ตารางที่ 9 เปรียบเทียบคะแนนการเกิดโรคสแคบ และโรคใบจุดเส้นใบใหม่จากแบคทีเรียในองุ่น พันธุ์มารูซีคเลส ที่ได้รับการฉีดพ่นสารเคมีควบคุมโรค จำนวน 6 ครั้ง ระหว่างเดือน กรกฎาคม ถึงเดือนสิงหาคม 2547 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ. นครราชสีมา

ตำรับทดลอง	คะแนนการเกิดโรค <sup>1</sup>	
	สแคบ	ใบจุดจากแบคทีเรีย
1. แมนโคเซบ	2.41 ab	1.67 cd
2. บอร์โดมิกเจอร์	2.00 ab	1.13 ab
3. คลอโรธาโลนิล	3.25 c	1.28 abc
4. ไดฟีโนโคลนาโซลผสมไดเมโทมอฟ	2.44 ab	1.09 ab
5. ไดเมโทมอฟผสมไมโคลบิวทรานิล	3.31 c	1.36 abc
6. คาร์เบนดาซิมผสม เมตาแลคซิล	2.31 ab	1.56 bc
7. แมนโคเซบผสมเมตาแลคซิล	2.56 b	1.47 abc
8. แมนโคเซบผสมคอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์	1.81 a	1.00 a
9. ไม่ฉีดพ่น (control)	3.73 c	2.16 d
CV (%)	28.0	23.7

<sup>1</sup> คะแนนการเกิดโรค 1 = ไม่พบโรค 2 = เป็นโรคเล็กน้อย 3 = เป็นโรคปานกลาง 4 = เป็นโรคค่อนข้างรุนแรง 5 = เป็นโรครุนแรงมาก  
ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ( $p \geq 0.05$ )  
โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบคะแนนการเกิดโรคสแคบ ราน้ำค้าง ราสนิม และโรคใบจุดเส้นใบใหม่จาก  
แบคทีเรียในอุณหภูมิรัฐมาริชิตเลส ที่ได้รับการฉีดพ่นสารเคมีควบคุมโรคหรือชีวภัณฑ์จำนวน 7  
ครั้ง ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกรกฎาคม 2548 ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี  
จ. นครราชสีมา

ค่ารับทดลอง <sup>1</sup>	คะแนนการเกิดโรค <sup>2</sup>			
	สแคบ	ราน้ำค้าง	ราสนิม	ใบจุดจากแบคทีเรีย
1. ลาร์มินาร์R	3.50 c	2.75 c	1.88 d	2.00 c
2. น้ำส้มควันไม้	3.62 c	2.75 c	1.63 bcd	1.50 b
3. ไคแมกซ์	3.50 c	2.75 c	1.88 d	2.00 c
4. บอร์โค-เอ็ม	2.50 b	1.75 a	1.38 abc	1.13 a
5. บอร์โค-เอ็ม สลับ อินเวนโต้	2.63 b	1.38 a	1.88 d	1.63 bc
6. บอร์โค-เอ็ม สลับ ทริฟีน	1.75 a	2.38 bc	1.75 cd	1.63 bc
7. บอร์โค-เอ็ม สลับ อะมิस्ता	1.50 a	1.38 a	1.75 cd	1.63 bc
8. บอร์โค-เอ็ม สลับ ไคมีฟอน	2.50 b	2.63 bc	1.13 a	1.75 bc
9. คาโคนิล	2.75 b	2.25 b	1.25 a	1.75 bc
10. ไม้ฉีดพ่น(control)	4.00 c	2.75 c	2.00 d	1.88 bc
CV (%)	12.66	12.04	15.09	14.27

<sup>1</sup> ใช้ชื่อการค้าของสารเคมีเนื่องจากชื่อสามัญยาวและเป็นสารผสมส่วนใหญ่ ชื่อสามัญให้ดูจากวิธีการทดลอง

<sup>2</sup> คะแนนการเกิดโรค 1 = ไม่พบโรค 2 = เป็นโรคน้อย 3 = เป็นโรคปานกลาง 4 = เป็นโรคค่อนข้างรุนแรง 5 = เป็นโรครุนแรงมาก

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ( $p \geq 0.05$ ) โดยวิธี DMRT



### 3.5.2 การจัดการโรคด้วยชีววิธี

การทดสอบเชื้อ *Streptomyces* spp ในการยับยั้งโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่นจากการนำเชื้อ *Streptomyces* ที่แยกได้จากดินบริเวณสวนองุ่นที่ผ่านการคัดเลือกความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*, *Colletotrichum ampelinum* และ *Sclerotium rolfsii* มาทดสอบ ความสามารถในการยับยั้งโรคราน้ำค้าง สแคบ และ ราสนิม ในองุ่นในสภาพใบตัด (detached leaf) พบว่าเชื้อ ไอโซเลต SHH 202 ในรูปของ cell suspension ในระยะ log phase และ ไอโซเลต SSR 107 ในรูปของ culture filtrate ในระยะ stationary phase สามารถลดการเกิดโรคราน้ำค้างได้มากที่สุด เมื่อประเมินจากจำนวนแผล ขนาดแผล และปริมาณการสร้าง สปอร์ (ตารางที่ 11) การทดสอบกับโรค สแคบพบว่า เชื้อไอโซเลต SHH 202 ในรูปของ cell suspension ยังคงมีประสิทธิภาพสูงในการลดการเกิดโรค ขณะที่ในรูปของ culture filtrate เชื้อไอโซเลต SYR 107 กลับมีประสิทธิภาพสูงสุด (ตารางที่ 12) ในกรณีของโรคราสนิมพบว่า ไอโซเลต SSH 216 ในรูปของ cell suspension และ ไอโซเลต SSH 211 ในรูปของ culture filtrate สามารถลดการเกิดโรคได้ดีที่สุด (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 11 ผลของ cell suspension และ culture filtrate ของ *Streptomyces* spp. ไอโซเลตที่ผ่านการคัดเลือกเบื้องต้น เมื่อนำมาทดสอบกับโรคราน้ำค้างบนองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ในสภาพใบตัด

รูปแบบ/ระยะการเจริญ/ไอโซเลต	ผลกระทบต่อโรคราน้ำค้าง <sup>1</sup>		
	จำนวนแผลต่อใบ	ขนาดแผล (ซม.)	จำนวนสปอร์ ( $\times 10^3$ สปอร์/ใบ)
Cell suspension from log phase			
SSR 107	7.00bc	0.19ab	25.87a
SHH 202	2.75a	0.14a	10.62a
SHR 103	4.62ab	0.12a	22.75a
SYR 205	9.37cd	0.29bc	41.00ab
SYR 107	6.50bc	0.24abc	52.37ab
Distilled water (control)	10.00d	0.33c	81.37b
F-test	**	**	*
CV (%)	38.27	54.20	78.17
Culture filtrate from stationary phase			
SSR 107	3.93a	0.18a	23.00a
SHH 202	6.68bcd	0.24abc	25.62a
SHR 103	5.50ab	0.23ab	33.00a
SYR 205	6.06abc	0.25abc	42.81a
SYR 107	6.18bc	0.21a	52.50a
Potato dextrose broth (control)	7.81cd	0.33c	107.00b
Distilled water (control)	8.75d	0.32bc	169.56c
F-test	**	**	**
CV (%)	45.51	45.35	79.38

<sup>1</sup>\*\* แตกต่างกันทางสถิติ ( $P \leq 0.01$ )

\* แตกต่างกันทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ( $p \geq 0.05$ ) โดยวิธี DMRT



ตารางที่ 12 ผลของ cell suspension และ culture filtrate ของ *Streptomyces* spp. ไอโซเลตที่ผ่านการคัดเลือกเบื้องต้น เมื่อนำมาทดสอบกับโรคสแคบบนองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ในสภาพใบตัด

รูปแบบ/ระยะการเจริญ/ไอโซเลต	ผลกระทบต่อโรคราน้ำค้าง <sup>1</sup>	
	จำนวนแผลต่อใบ	ขนาดแผล (ซม.)
Cell suspension from log phase		
SSR 203	8.25bc	0.17b
SSH 213	8.00bc	0.16b
SYR 107	6.25b	0.18b
SHH 202	1.50a	0.50a
SHR 106	5.75b	0.18b
Distilled water (control)	10.00c	0.22b
F-test	**	**
CV (%)	26.92	33.81
Culture filtrate from stationary phase		
SSR 203	5.75ab	0.30abc
SSH 213	2.50a	0.08ab
SYR 107	2.50a	0.07d
SHH 202	5.25ab	0.22abc
SHR 106	2.25a	0.19abc
Potato dextrose broth (control)	10.00b	0.32bc
Distilled water (control)	10.00b	0.40d
F-test	*	*
CV (%)	64.91	68.64

<sup>1</sup>\*\* แสดงความแตกต่างทางสถิติ ( $P \leq 0.01$ )

\* แสดงความแตกต่างทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ( $p \geq 0.05$ ) โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 13 ผลของ cell suspension และ culture filtrate ของ *Streptomyces* spp. ไอโซเลตที่ผ่านการคัดเลือกเบื้องต้น เมื่อนำมาทดสอบกับ โรคราสนิมบนองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ในสภาพใบตัด

รูปแบบ/ระยะการเจริญ/ไอโซเลต	ผลกระทบต่อโรคราน้ำค้าง <sup>1</sup>		
	จำนวนแผลต่อใบ	ขนาดแผล (ซม.)	จำนวนสปอร์ (x10 <sup>3</sup> สปอร์/ใบ)
Cell suspension from log phase			
SSH 209	7.50ab	0.22d	56.00ab
SSH 211	6.00a	0.25a	39.00ab
SSH 213	10.00b	0.32b	115.25b
SSH 216	5.25d	0.24d	27.50a
SYR 205	10.00b	0.37b	203.00c
Distilled water (control)	10.00b	0.39b	224.75c
F-test	**	**	*
CV (%)	27.78	14.99	44.95
Culture filtrate from stationary phase			
SSH 209	8.25ab	0.30ab	55.25ab
SSH 211	6.00a	0.14a	22.00 <sup>a</sup>
SSH 213	9.75b	0.37bc	111.50abc
SSH 216	10.00b	0.48cd	151.51bc
SYR 205	8.25ab	0.38bcd	114.00abc
Potato dextrose broth (control)	10.00b	0.51cd	167.75bc
Distilled water (control)	10.00b	0.55d	198.75c
F-test	*	**	*
CV (%)	20.86	28.08	63.29

<sup>1</sup>\*\* แตกต่างกันทางสถิติ ( $P \leq 0.01$ )

\* แตกต่างกันทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ( $p \geq 0.05$ ) โดยวิธี DMRT



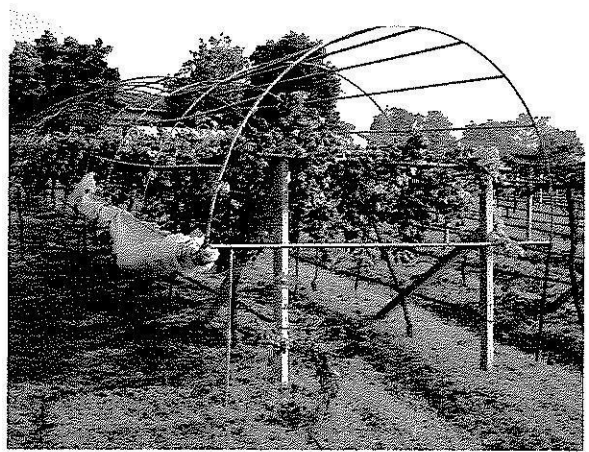
### 3.5.3 การจัดการโรคโดยวิธีคลุมหลังคา

สภาพของการคลุมหลังคาชนิดเปิด-ปิด ได้มีลักษณะแสดงในภาพที่ 56 ค่าวัสดุและแรงงานในการสร้างเฉลี่ย 3210 บาท ต่อ โครงหลังคา คลุมองุ่นจำนวน 6 ต้น/ โครงหลังคา ผลการเปรียบเทียบการเจริญเติบโต อัตราการเกิดโรคและผลผลิต พบว่าการเจริญเติบโตทางใบมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด กล่าวคือหลังจากผ่านฤดูฝนครั้งแรก ounge ที่คลุมด้วยหลังคาในช่วงฤดูฝนมีอัตราการเกิดโรคน้อยมาก ทำให้มีใบที่คงสภาพสมบูรณ์มากกว่า 80% ขณะที่องุ่นที่ไม่ได้คลุมหลังคามีใบที่สมบูรณ์เหลืออยู่ไม่ถึง 10% (ภาพที่ 57) และเมื่อเปรียบเทียบผลผลิตดี พบว่าองุ่นที่คลุมหลังคาให้ผลผลิตดีเฉลี่ย 16.9 กก./ 6 ต้น ขณะที่องุ่นที่ไม่ได้คลุมหลังคาให้ผลผลิตดีเฉลี่ยเพียง 8.1 กก./ 6 ต้น และมีผลที่เน่าเสียสูงถึง 14.1 กก./ 6 ต้น ขณะที่องุ่นที่คลุมหลังคามีผลผลิตที่เน่าเสียเพียง 5.7 กก./ 6 ต้น

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบผลผลิตขององุ่นพันธุ์มาร์ช ชิคเลส (กก./6 ต้น) ส่วนที่เป็นผลดีและผลเสียในสภาพคลุมหลังคาพลาสติกและไม่คลุมหลังคาพลาสติก

ตัวรับทดลอง	น้ำหนักผลดี <sup>1)</sup>	น้ำหนักผลเสีย <sup>1)</sup>
คลุมหลังคา	16.9 b	5.7 a
ไม่คลุมหลังคา	8.1 a	14.1 b
CV(%)	7.74	15.09

<sup>1)</sup> ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ ( $p \geq 0.05$ ) โดยวิธี DMRT



ภาพที่ 56 การคลุมหลังคาชนิดเปิด-ปิดได้



ภาพที่ 57 เปรียบเทียบของุ่นที่ไม่คลุมหลังคา (ซ้าย) กับที่คลุมหลังคา (ขวา) ในช่วงปลายฤดูฝน



## บทที่ 4

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 การสำรวจและวินิจฉัยสาเหตุและพัฒนาการของโรคองุ่น

ผลของการสำรวจโรคและการสัมภาษณ์เกษตรกรผู้ปลูกองุ่นให้ข้อสรุปที่ชัดเจนว่าโรคองุ่นเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้การปลูกองุ่นในหลายพื้นที่ล้มเหลว ตัวอย่างเช่นสวนองุ่นที่จังหวัดน่าน ที่เคยมีชื่อเสียงในการผลิตองุ่นรับประทานผลสดพันธุ์น่านฟ้า (Kyoho) ปัจจุบันเกษตรกรเลิกปลูกแล้ว เนื่องจากไม่สามารถจัดการกับโรคได้ แม้แต่ศูนย์วิจัยพืชสวนจังหวัดศรีสะเกษ ซึ่งเคยเป็นแหล่งรวบรวมพันธุ์และศึกษาทางด้านการจัดการองุ่น ก็ประสบปัญหาเช่นเดียวกัน เหตุผลหลักที่ทำให้การปลูกองุ่นล้มเหลวน่าจะมาจากหลายปัจจัย นับตั้งแต่พันธุ์ที่ใช้ไม่เหมาะสมกับภูมิประเทศในเขตร้อนชื้น การขาดความรู้ทางด้านการคัดเลือกและการดูแลองุ่น ชนิดของโรคและการจัดการกับโรค ตลอดจนไปถึงสภาพดินฟ้าอากาศที่แปรปรวน เช่นฝนนอกฤดูที่ทำให้ความเสียหายให้กับผลผลิตอย่างมาก ในปี 2547 เนื่องจากบังเอิญมีฝนตกหนักในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ซึ่งเป็นช่วงที่องุ่นเริ่มสุกแก่ นอกจากนั้นยังพบว่าเจ้าของสวนองุ่นจำนวนมากไม่มีความรู้เกี่ยวกับองุ่นเลย เจ้าของสวนองุ่นเหล่านี้ปลูกองุ่นเพราะเห็นว่าเป็นพืชที่สวยงาม น่าจะดูแลได้ง่าย และให้ผลผลิตสูง จึงจ้างผู้รับจ้างสร้างสวนองุ่นให้จัดสร้างให้ จากนั้นจึงจ้างคนงานทั่วไปให้ดูแลสวน สวนองุ่นเหล่านี้ส่วนใหญ่มีอายุไม่เกิน 3 ปี ก็ต้องล้มเลิกกิจการ

ผลของการสำรวจและวินิจฉัยโรคขององุ่น พบว่าลำดับของโรคที่สำคัญขององุ่นในประเทศไทยค่อนข้างแตกต่างจากที่มีลำดับไว้ใน *Compendium of Grape Diseases* (Pearson and Goheen, 1994) ซึ่งให้ความสำคัญกับโรคราแป้งไว้เป็นอันดับแรก รองลงมาคือโรคราน้ำค้าง และจัดโรคทางใบที่เกิดจากเชื้อราชนิดอื่นๆ ไว้ในลำดับโรคที่มีความสำคัญน้อย ผลของการสำรวจและติดตามพัฒนาการของโรคองุ่นในประเทศไทย พบว่าโรคราน้ำค้างและโรคสแคบจัดเป็นโรคที่มีความสำคัญสูงสุด พบเข้าทำลายองุ่นเกือบตลอดทั้งปี และทำความเสียหายอย่างรุนแรงในช่วงฤดูฝน ทำให้องุ่นขาดอาหารสะสมที่จะใช้สร้างผลผลิตในช่วงปลายฤดูฝน ซึ่งเป็นช่วงของการตัดแต่งองุ่นเพื่อให้ออกดอก นอกจากนั้นยังพบโรคราสนิมก็มีความสำคัญมากเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะในสวนที่มีการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา โรคสแคบและโรคราน้ำค้างอย่างพร่ำเพรื่อ เนื่องจากสารเคมีที่ใช้กำจัดโรคทั้งสองดังกล่าวบางชนิดเป็นสารเคมีที่ควบคุมเชื้อราหลายชนิดแต่ไม่ควบคุมโรคราสนิม ทำให้เชื้อโรคราสนิมมีโอกาสที่จะเข้าทำลายได้มากขึ้น เนื่องจากไม่มีการแก่งแย่งพื้นที่จากเชื้อราชนิดอื่นๆ สำหรับโรคทางใบอื่นๆ เช่นโรคใบไหม้จากเชื้อ *Alternaria* และโรคกิ่งแห้งเน่าขม จากเชื้อ *Greeneria* ที่พบทำความเสียหายค่อนข้างรุนแรงในฤดูแล้ง น่าจะเกิดจากสภาพความเครียดที่เกิดจากการขาดน้ำ ทำให้สองโรคดังกล่าวในเขตอบอุ่นจัดเป็นโรคที่มีสำคัญน้อย เพราะองุ่นจะทิ้ง

ใบเมื่อถึงฤดูใบไม้ร่วง ทำให้ไม่มีโอกาสที่โรคทั้งสองจะเข้าทำลาย สำหรับโรคราแป้งพบค่อนข้างน้อยมากในช่วงปีแรกของการศึกษาซึ่งพบเฉพาะในองุ่นพันธุ์ Shiraz ที่อำเภอปากช่อง ในปีถัดมาเริ่มพบการระบาดมากขึ้น ในเกือบทุกพื้นที่และพบในหลายพันธุ์แต่จะจำกัดอยู่เฉพาะในช่วงต้นฤดูแล้ว เริ่มจากเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม และจะเริ่มหายไปเมื่อเข้าสู่ฤดูฝน การระบาดที่พบรุนแรงมากที่สุดในช่วงปลายปี 2547 น่าจะเนื่องมาจากสภาพอากาศที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยในช่วงเดือนธันวาคม-มกราคม ต่ำกว่าในปีอื่นๆ คือ อุณหภูมิเฉลี่ย 14 °C ขณะที่ปีอื่นๆจะมีอุณหภูมิเฉลี่ย 16-17 °C ณ ปัจจุบัน (ปี 2553) พบว่าโรคราแป้งมีความรุนแรงมากขึ้นและพบได้ในทุกพื้นที่ จึงเป็นโรคที่ควรให้การเฝ้าระวังเป็นพิเศษ

การศึกษาของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียสรุปได้ว่ายังไม่พบโรค Pierce's disease ที่เกิดจากเชื้อ *Xylella fastidiosa* แม้จะพบว่าองุ่นที่แสดงอาการของใบไหม้ แผ่นใบหลุดที่คล้ายกับอาการของโรค Pierce's disease ก็ตาม อาการดังกล่าวน่าจะเกิดจากเชื้อราเข้าทำลายท่อน้ำเลี้ยง สำหรับอาการใบจุดเส้นใบไหม้ จากผลการศึกษาสามารถยืนยันได้แน่นอนว่าไม่ได้เกิดจากเชื้อ *Xylophilus ampelinus* แต่เกิดจาก *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* ซึ่งเป็นเชื้อที่ระบาดอยู่ในประเทศอินเดียและบราซิล (Lima, 2001) ซึ่งจัดเป็นประเทศที่มีภูมิอากาศใกล้เคียงประเทศไทย การศึกษาเบื้องต้นพบว่า เชื้อดังกล่าวสามารถทำให้เกิดโรคกับมะม่วงหิมพานต์ได้ด้วย จึงเป็นไปได้ว่าเชื้อดังกล่าวเป็นเชื้อที่มีอยู่ในเขตร้อนชื้นแต่มีความสามารถปรับตัวและเข้าทำลายพืชนำเข้าใหม่เช่นองุ่นได้ด้วย ผลการศึกษาค้นคว้าให้เห็นว่ามีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาโรคขององุ่นในเขตร้อนชื้นเพิ่มเติมเพราะข้อมูลทางด้านโรคองุ่นในปัจจุบันเป็นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในเขตอบอุ่น (Temperate grapes)

ผลการศึกษาด้านโรคไวรัส พบองุ่นมีการเกิดโรคไวรัส 5 ชนิด คือ tobacco ringspot nepovirus (TbRSV), tomato ringspot nepovirus (TmRSV), grape fanleaf nepovirus (GFV), grapevine closterovirus A (GAV) และ tobacco mosaic tobamovirus (TMV) โดยเชื้อที่พบส่วนใหญ่เป็นเชื้อ TbRSV อย่างไรก็ตามจำนวนต้นที่เป็นโรคนี้น้อยมาก คือคิดเป็น 10% ของตัวอย่างที่ตรวจ และพบต้นที่แสดงอาการจำนวนมาก เฉพาะในสวนขนาดใหญ่ เช่น ที่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งเป็นแหล่งรวบรวมพันธุ์ เนื่องจากเชื้อไวรัส 4 ชนิด คือ TbRSV, TmRSV, GFV และ GAV ยังไม่เคยมีรายงานพบในประเทศไทย จึงเป็นไปได้ว่าเชื้อเหล่านี้แพร่ระบาดโดยติดมากับกิ่งพันธุ์ หรือส่วนขยายพันธุ์อื่นๆ เช่น ยอดอ่อน, ตา ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ เชื้อเหล่านี้เป็นเชื้อที่มีการระบาดแพร่หลายในยุโรป และอเมริกา (Pearson and Goheen, 1994) สามารถแพร่ระบาดไปได้อย่างกว้างขวางและรวดเร็วโดยติดไปกับส่วนขยายพันธุ์ เช่น กิ่งตอน ตา ซึ่งเป็นวิธีการหลักของการขยายพันธุ์องุ่น ดังนั้นควรมีการกำหนดมาตรการในการนำเข้าและการกระจายส่วนขยายพันธุ์องุ่น คือ ให้นำเข้าและจำหน่ายหรือกระจายได้เฉพาะส่วนขยายพันธุ์ที่ได้รับการรับรอง



ความปลอดภัยแล้วเท่านั้น ทั้งนี้เพื่อจำกัดขอบเขตของการระบาด เชื้อสาเหตุของโรคอู่นบางชนิด เช่น TbRSV, TmRSV และ TMV เป็นเชื้อที่มีขอบเขตที่อาศัยกว้างขวาง (Matthews, 1991) หากไม่ควบคุมอาจแพร่ระบาดจนทำความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจอื่นๆ ได้ด้วย การที่การปลูกเชื้อกลับไปยังพืชทดสอบในการทดลองครั้งนี้ยังไม่ประสบความสำเร็จน่าจะเป็นเพราะสารยับยั้งไวรัส (inhibitor) ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่ออู่นที่ผู้วิจัยทางด้านนี้มักต้องประสบอยู่เสมอ (Credi, 1997; Bashir, et al, 2007)

การศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูอู่น พบไส้เดือนฝอยชนิดเดียวกับที่มีรายงานไว้ในเขตอู่นที่ถูกจัดไว้ในกลุ่มสำคัญน้อย จำนวนค่อนข้างมาก อาทิเช่น *Heliocotylenchus* sp. และ *Tylenchorhynchus* sp. แต่กลับไม่พบไส้เดือนฝอยที่ทำความเสียหายรุนแรงในเขตอู่น เช่น *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* spp. หรือ *Xiphenema* spp. (Raski, 1994) ไส้เดือนฝอย *Xiphenema* spp. จัดเป็นพาหะสำคัญในการนำเชื้อ TbRSV, TmRSV และ GFV การตรวจไม่พบไส้เดือนฝอยชนิดนี้ในอู่น ณ ปัจจุบัน จะช่วยให้การควบคุมการแพร่ระบาดของโรคอู่นที่เกิดจากเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้ทำได้ง่ายขึ้น โดยการเลือกใช้เฉพาะหน่วยขยายพันธุ์ที่ปลอดเชื้อไวรัส

#### 4.2 การศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคอู่น

เนื่องจากผลของการสำรวจโรคมีข้อบ่งชี้ชัดเจนว่าโรคสแคบมีศักยภาพในการทำให้เกิดความเสียหายรุนแรง พบแพร่ระบาดอยู่เกือบตลอดทั้งปีและพบในทุกแหล่งปลูก ประกอบกับข้อมูลในเรื่องความหลากหลายของเชื้อ *Sphaceloma ampelinum* ยังมีค่อนข้างน้อยมาก เมื่อเทียบกับโรคราแป้งหรือราน้ำค้าง เนื่องจากเชื้อ *S. ampelinum* มีความสำคัญไม่มากนักในเขตอู่น การศึกษาครั้งนี้จึงเน้นการศึกษารายละเอียดทางด้านความหลากหลายเฉพาะในเชื้อ *S. ampelinum* ซึ่งจากงานศึกษาเบื้องต้นของ กรรณิการ์และอุบล(2537) พบว่าเชื้อที่แยกได้จากอู่นมีความหลากหลายทางลักษณะ โคลนีและขนาดของโคนีเดีย ตามข้อสังเกตของกรรณิการ์และอุบล(2537) แล้ว ยังพบว่าเชื้อ *S. ampelinum* ที่แยกได้จากอู่นมีความแตกต่างกันทางด้านเซรุ่มวิทยาและความสามารถในการเข้าทำลายสายพันธุ์อู่นด้วย โดยพบว่าอู่นพันธุ์ Black queen มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อทุกไอโซเลต ที่เลือกมาใช้เป็นตัวแทนของการศึกษา ขณะที่อู่นสายพันธุ์อื่นๆ ที่ใช้ทดสอบมีปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน คือ อ่อนแอต่อเชื้อเฉพาะบางไอโซเลต ข้อมูลดังกล่าวนี้ชี้ให้เห็นถึงความแตกต่างในระดับสายพันธุ์ (race) ของเชื้อ ดังนั้น การพัฒนาสายพันธุ์อู่นเพื่อให้ต้านทานต่อโรคสแคบจึงควรต้องพิจารณาถึงความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อที่มีอยู่ในประเทศไทยด้วย

#### 4.3 การจัดการโรคของอู่น

ผลของการศึกษาการควบคุมโรคของงุ่นโดยใช้สารเคมีและสารเชื้อถัณฑ์ พบว่าในช่วงต้นฤดูกาลระบาดคือระยะต้นฤดูฝน การใช้สารเคมีประเภทป้องกันชนิดออกฤทธิ์กว้าง เช่น สารผสมระหว่างแมนโคเซบและคอปเปอร์ออกไซด์คลอไรด์ (ไตรแมนโซล) หรือสารผสมระหว่างเบสิด คิวปริกซ์เฟต (Bordeaux mixture) กับมานเนบ (บอร์โดเอม) ยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคสแคบและโรคใบจุดเส้นใบใหม่จากเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด คือพบว่าคะแนนการเกิดโรคมีย่ำต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีประเภทดูดซึมที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดเชื้อ สารเคมีกลุ่มดังกล่าวเป็นสารเคมีที่นิยมใช้แพร่หลายในเขตตอนบนมาตั้งแต่อดีตกาลจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากเป็นสารที่มีความเป็นพิษต่อคนและสัตว์เลี้ยงต่ำ มีราคาถูก และเชื้อสาเหตุมีโอกาสเกิดความต้านทานได้ยาก แต่จากการสำรวจการใช้ในประเทศไทย ปรากฏว่าส่วนใหญ่เกษตรกรมักไม่นิยมใช้ โดยให้เหตุผลว่าต้องฉีดพ่นให้สารกระจายอยู่บนทุกส่วนของงุ่น ซึ่งทำได้ยาก เนื่องจากงุ่นมีทรงพุ่มทึบและใบसानอยู่เหนือศีรษะ นอกจากนี้สารเคมีกลุ่มนี้เป็นชนิดผงละลายน้ำ (WP) หากฉีดพ่นที่ผลจะทำให้เกิดคราบสารเคมีจับอยู่บนผิวของผลทำให้ไม่นำมารับประทาน หรือทำให้ผู้บริโภคไม่กล้ารับประทาน ผลของการทดลองครั้งที่สองที่ดำเนินการในช่วงกลางฤดูฝน ให้ผลใกล้เคียงกับที่ได้ในครั้งแรก คือในโปรแกรมที่มีการสลับการใช้สารที่ออกฤทธิ์กว้างไม่ดูดซึมบอร์โดเอมกับอะซอกซีโตรบินซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ค่อนข้างกว้างประเภทดูดซึม สามารถควบคุมโรคราน้ำค้างและสแคบได้ดีที่สุด ซึ่งหากใช้ร่วมกับ ไคมีฟอน หรือคลอโรธาโลนิลก็น่าจะควบคุมโรคราสนิมได้ด้วย เหตุผลที่ทำให้สารเคมีประเภทดูดซึมสลับกับประเภทไม่ดูดซึมให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีที่สุดน่าจะเนื่องมาจาก ในช่วงที่ฝนตกชุก หากฉีดพ่นเฉพาะสารประเภทไม่ดูดซึมแต่เพียงอย่างเดียว สารดังกล่าวจะถูกชะล้างออกจากใบ หลังจากฝนตก ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลงหรือหมดไป หากไม่มีการฉีดพ่นซ้ำ ดังนั้นในช่วงฤดูฝนควรแนะนำให้เกษตรกรใช้สารทั้งสองประเภทในการควบคุมโรค โดยใช้สลับกันคือฉีดด้วยสารดูดซึมในช่วงที่มีโอกาสเสี่ยงที่ฝนจะตก และใช้สารไม่ดูดซึมในโอกาสที่ในทั้งช่วง สำหรับสารชีวถัณฑ์ควบคุมโรคที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ ไม่พบชนิดใดที่สามารถควบคุมโรคของงุ่นได้ การทดลองควบคุมโรคของงุ่นที่เกิดจากเชื้อราโดยใช้เชื้อ *Streptomyces* ที่แยกได้จากดิน พบว่าการใช้เชื้อราก่อโรคที่สามารถเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ คือ *Pythium*, *Colletotrichum* และ *Sclerotium* เป็นเชื้อทดสอบศักยภาพในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อ *Streptomyces* ต่อเชื้อโรคราน้ำค้าง สแคบและราสนิม เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ คือเชื้อที่คัดได้ 5 ไอโซเลต ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในสภาพ dual culture ยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคราน้ำค้าง สแคบและราสนิม เมื่อนำมาทดสอบกับงุ่นในสภาพใบตัด เนื่องจากวิธีการ dual culture ในอาหารเลี้ยงเชื้อทำได้ง่ายกว่าการทดลองในสภาพใบตัด จึงเหมาะที่จะนำไปใช้ทดสอบเพื่อพิจารณาศักยภาพของความเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อจำนวนมาก เพื่อคัดเลือกไอโซเลตที่มีศักยภาพสูงจริงสำหรับการทดสอบในสภาพใบตัดหรือในสภาพไร่ต่อไป แม้ว่าเชื้อ



*Streptomyces* ที่คัดได้ 5 ไอโซเลต คือ SHH202, SHR103, SYR107, SSH216, และ SSH211 จะมีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรคทั้ง 3 ชนิด แต่เชื้อแต่ละไอโซเลตยังคงมีประสิทธิภาพค่อนข้างจะจางกับเชื้อแต่ละชนิดด้วย คือ SHH202 และ SHR103 มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อราน้ำค้าง SHH202 และ SHR107 มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อราสแคบ ขณะที่ไอโซเลต SSH216 และ SSH211 มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อโรค ราสนิม อย่างไรก็ตามเนื่องจากการทดลองในครั้งนี้ทำในห้องปฏิบัติการ การจะพิจารณาเลือกใช้เชื้อไอโซเลตใดนั้น คงต้องพิจารณาจากผลการทดลองในสภาพไร่ด้วย ในต่างประเทศเชื้อ *Streptomyces* ได้รับการพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบพร้อมนำไปใช้แล้วหลายชนิด (Brian and Deborah, 2002) รูปแบบดังกล่าวจึงน่าจะนำมาปรับใช้ได้ในประเทศไทยเช่นกัน

ผลการศึกษาในเรื่องการคลุมหลังคาเพื่อจัดการกับโรคขององุ่นให้ข้อมูลชัดเจนว่าองุ่นที่ปลูกภายใต้หลังคามีการเจริญเติบโตดีกว่า เนื่องจากมีพื้นที่ใบที่ไม่ถูกเชื้อเข้าทำลายปริมาณมากกว่า ในช่วงฤดูฝน และในช่วงให้ผลผลิตสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้สูงถึง 75% ขณะที่องุ่นที่ไม่ได้คลุมหลังคาให้ผลผลิตเพียง 37% เหตุผลหลักที่ทำให้องุ่นได้รับผลกระทบจากโรคที่เกิดจากเชื้อราน้อยลงนั้นน่าจะเนื่องมาจาก หลังคาชนิดโปร่งใสช่วยลดความชื้นบนผิวใบและทรงพุ่มในช่วงฤดูฝน ลดแรงกระแทกของหยดฝนที่เกิดกับใบและผล ทำให้ลดโอกาสการเข้าทำลายของเชื้อราซึ่งเป็นเชื้อที่ต้องการความชื้นในการงอกของสปอร์ การพัฒนาอาการ และการแพร่ระบาดโดยที่หากพืชเกิดแผลซ้ำจะทำให้การเข้าทำลายของเชื้อทำได้ง่ายขึ้น นอกจากนั้นการปลูกองุ่นภายใต้หลังคายังช่วยให้การใช้สารเคมีทำได้ง่ายขึ้นและยังคงประสิทธิภาพในช่วงฤดูฝนแม้ว่าจะเป็นสารเคมีในกลุ่มที่ไม่ดูดซึมก็ตาม เพราะหลังคาสามารถป้องกันสารเคมีไม่ให้ถูกชะล้างออกจากใบในช่วงที่มีฝน อย่างไรก็ตามหลังคาที่ใช้ควรเป็นประเภทที่ควบคุมการเปิด-ปิดได้ เพื่อให้สามารถเปิดให้อองุ่นได้รับแสงเต็มที่และเพิ่มการระบายอากาศระหว่างทรงพุ่มในช่วงที่ไม่มีฝน การใช้หลังคาประเภทปิดแบบถาวรจะทำให้องุ่นมีการยืดตัวของข้อปล้องมากกว่าปกติ ทำให้การเข้าสู่ของผลไม่สมบูรณ์ ส่งเสริมการแพร่ระบาดของไรแดง เพลี้ยไฟและโรคราแป้ง นอกจากนั้นยังทำให้อายุของการใช้หลังคาล้นลง เนื่องจากได้รับแสงอาทิตย์และลมตลอดเวลาทำให้พลาสติกเสื่อมคุณภาพเร็วขึ้น การคำนวณต้นทุนค่าใช้จ่ายในการจัดทำหลังคาเทียบกับรายได้ที่เพิ่มขึ้นจากผลผลิตที่มีมากกว่าองุ่นที่ไม่ได้คลุมหลังคา พบว่าการลงทุนสร้างหลังคาสามารถคืนทุนได้หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตครั้งที่สาม คือระยะประมาณ 2 ปี หลังจากสร้าง ทั้งนี้ยังไม่คิดรวมถึงผลดีอื่นๆที่ได้จากการคลุมหลังคา เช่นการลดจำนวนครั้งในการฉีดพ่นสารเคมี การลดพื้นที่ใบที่เสียหายในช่วงฤดูฝนทำให้อองุ่นสะสมอาหารได้ดีขึ้น ณ ปัจจุบัน โครงหลังคาที่สร้างขึ้นในปี 2548 ยังคงสภาพการใช้งานได้ดีทั้งๆที่มีอายุการใช้งานนานถึง 5 ปีแล้วก็ตาม จากการตรวจเอกสารยังไม่พบรายงานวิจัย ในเรื่องการใช้โครงหลังคาเพื่อควบคุมความเสียหายจากโรคองุ่น งานวิจัยครั้งนี้จึงถือเป็นผลงานชิ้นแรกที่มีการศึกษารายละเอียดในเรื่องดังกล่าว

#### 4.4 ความสำเร็จของโครงการ

นอกจากข้อมูลทางด้านชนิดของเชื้อสาเหตุที่พบ เชื้อชนิดใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานไว้ในประเทศไทยหลายชนิด อาทิเช่น *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* เชื้อ TbRSV, ToRSV, GFV และ GAV รวมทั้งข้อมูลทางด้านความหลากหลายของเชื้อ *S. ampelinum* ก็นับเป็นข้อมูลใหม่ที่สำคัญเช่นเดียวกัน งานวิจัยครั้งนี้ได้พิสูจน์ให้เห็นด้วยว่าสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมโรคองุ่นที่ใช้มาตั้งแต่ดั้งเดิมยังคงประสิทธิภาพหากมีการใช้อย่างถูกวิธี และเป็นไปได้ที่จะนำวิธีการทางชีวภาพมาใช้ในการควบคุมโรคในอนาคต แต่วิธีที่น่าจะนำมาใช้แก้ปัญหาเฉพาะหน้าได้ทันทีก็คือ การสร้างโครงหลังคาคลุมต้นองุ่น โดยไม่จำเป็นต้องสร้างโรงเรือน ซึ่งนอกจากจะช่วยลดโอกาสการเกิดโรคแล้วยังช่วยลดการใช้สารเคมี ทำให้ได้ผลผลิตองุ่นที่ปลอดภัยจากสารเคมีได้อีกด้วย โครงการวิจัยนี้ นอกจากจะช่วยผลิตข้อมูลทางด้านโรคขององุ่นแล้ว ยังช่วยสนับสนุนการผลิตบัณฑิตในสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชระดับปริญญาโทจำนวน 2 คน และระดับปริญญาเอกจำนวน 2 คน ผลงานวิทยานิพนธ์ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของงานโครงการวิจัยของนักศึกษาดังกล่าว ได้รับการนำเสนอในที่ประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 5 จำนวน 2 เรื่อง ระหว่างวันที่ 26-29 เมษายน 2548 นำเสนอในที่ประชุมการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 1 เรื่อง ระหว่างวันที่ 14 ตุลาคม 2549 และตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการแก่นเกษตรจำนวน 1 เรื่อง นอกจากนั้น โครงการยังได้สนับสนุนงานทดลองปัญหาพิเศษของนักศึกษาจำนวนทั้งสิ้น 8 คน ผลงานวิจัยใช้เป็นข้อมูลที่ใช้ในการเรียนการสอนวิชา Viticulture technology ในระดับปริญญาตรี และเป็นข้อมูลที่ใช้ในการฝึกอบรมการจัดการและดูแลสวนองุ่นแก่เกษตรกรทั่วประเทศจำนวน 12 ครั้ง มีเกษตรกรฝึกอบรมรวมทั้งสิ้น 342 คน



## เอกสารอ้างอิง

- กรรณิการ์ เพ็ญแพ็คตร์ และ อุบล คีอประโคน. (2537). โรคสแคบขององุ่นในประเทศไทย ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32 (หน้า 180-189). กรุงเทพฯ ๑: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กรรณิการ์ เพ็ญแพ็คตร์ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และ ธนิตย์ ป่ด่องบรรจง. (2545). การแยกเชื้อราสาเหตุ โรคสแคบของพืชต่างๆในประเทศไทย. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 12 : 14-20.
- นันทกร บุญเกิด. (2542). คู่มือการสร้างสวนองุ่น. เทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 122 หน้า
- นิพนธ์ วิจารณ์านนท์. (2542). โรคไม้ผลเขตกิ่งร้อน. เจฟิล์มโฟรเซส. 144 หน้า
- โสภณ วงศ์แก้ว. (2536). โรคไวรัสอ้วลิสงในประเทศไทย. กลุ่มพืชน้ำมัน กองส่งเสริมไร่นา กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- Arauz, L.F. (2000). Mango anthracnose : Economic impact and current options for integrated management. **Plant Disease** 84:600-609.
- Bashir, N.S., Zarghami, S.N. and Hejazi, M.S. (2007). Diversity of grapevine fanleaf virus isolates from Iran. **Virus Research** 128: 144-148.
- Bradbury, J. F. (1991). *Xylophilus ampelinus*. IMI Description of Fungi and Bacteria no. 1050. **Mycopathologia** 115: 63-64.
- Brian, B.M.G. and Deborah, R.F. (2002). **Biological Control of Plant Pathogens: Reseach, Commercialization and Application in the USA**. [On-Line]. Available: <http://www.Apsnet.org/online/feature/biocontrol/links.html>.
- CAB International. (2000). **Crop Protection Compendium Global Module 2<sup>nd</sup> Edition**. CAB International
- Clayton, C. N. and Riding, W.H. ( 1970). Grape rust, *Physopella ampelopsidis*, on *Vitis rotundifolia* in North Carolina. **Phytopathology** 60 : 1022-1023.
- Cohen, R., Burger, Y. and Edelstien, M. (2000). Toward integrated management of Monosporascus wilt of melons in Israel. **Plant Disease** 84: 496-505.
- Credi, R. (1997). Characterization of grapevine rugose wood disease sources from Italy. **Plant Disease** 81: 1288-1292.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath. P. A. H., Staley, J. T. and Willium, S. T. (1994). **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9<sup>th</sup> Edition**. CRC press. London
- Hopkins, D. L. and Purcell, A. H. (2002). *Xyllela fastidiosa* : Cause of Pierce's disease of

- grapevine and other emergence diseases. **Plant Disease** 86: 1056-1066.
- Kapoor, J. N. (1967). *Uncinula necator*. **Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria**, No. 160. CMI, Kew, Surrey, England.
- Lima, M. F. (2001). Cancro bacteriano da videira, causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* [on line] [www. Cpatsa. Embrapa. Br/artigos/cancro.html](http://www.Cpatsa.Embrapa.Br/artigos/cancro.html).
- Mai, W. F. and Lyon, H. H. (1975). **Pictorial Key to Genera of Plant-Parasitic Nematodes** 4<sup>th</sup> Edition. Cornell University Press. U.S.A. 211 pp
- Matthews, R.E.F. (1991). **Plant Virology** 3<sup>rd</sup> Edition. A.P., USA 835 pp
- McGrath, M. T. (2001). Fungicide resistance in cucurbit downy mildew : Experiences and challenge. **Plant Disease** 85:236-243
- Nelson, R. Orrego R., Ortiz, O., Tenorio, J. and Vien N. G. (2001). Working with resources-poor farmers to manage plant diseases. **Plant Disease** 85: 648-695
- Parris, G. K. (1968). **A Chronology of Plant Pathology**. Johnson and Sons, Starkville, MS. 167 pp
- Pearson, R. C. and Goheen, A. C. (1994). **Compendium of Grape Diseases**. APS, USA. 93 pp
- Pool, R. M., Kasimatis, A. N. and Christensen, L. P. (1994). Effects of cultural practices on diseases. pages 72-73. *In Compendium of Grape Diseases*. Pearson, R. C and Goheen, A. C. eds. APS, USA. 93 pp
- Raski, D. J. (1994). Nematode parasites of grapes. Pages 55-59. *In Compendium of Grape Disease*. Pearson,R.C and Goheen,A.C. eds.APS,USA.93 pp
- Schaad, N. W. (1980). **Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria**. APS., St. Paul, USA.
- Schubert, T.S., Rizvi, S.A., Sun, X., Gottwald, T. R., Graham, J.H. and Dixon, W. N. (2001). Meeting the challenge of eradicating citrus canker in Florida-again. **Plant Disease** 85: 340-354
- Sundarum, S., Plasencia, J. and Banttari, E.E. (1991). Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Verticillium* spp. using antisera produced to *V. dahliae* from potato. **Phytopathology** 81: 1485-1489
- Tuite, J. C. (1969). **Plant Pathology Methods**. Burgess Publ.,Minn. USA.
- Verreet, J.A., Klink, H. and Hoffmann, G.M. (2000). Regional monitoring for disease prediction

and optimization of plant protection measures : The IPM wheat model. **Plant Disease**  
84: 819-826

Visarathanonth, N. (1990). A survey of some temperate fruit diseases in Thailand. pp. 609-618.  
In Third International Workshop on Temperate Zone Fruits in the Tropics and  
Subtropics. **Acta Horticulturae** No 279



ภาคผนวก

## ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ข้อมูลอุณหภูมิและปริมาณน้ำฝน ณ สถานีตรวจอากาศห้วยยาง จ.นครราชสีมา ปี พ.ศ.  
2547-2549

เดือน	2547		2548		2549	
	mean temp (°C)	mean rainfall (mm)	mean temp (°C)	mean rainfall (mm)	mean temp (°C)	mean rainfall (mm)
1	16.8	6.8	16.1	0	15.8	0
2	17.4	38.9	20.1	0	19.5	1.5
3	25.4	1.3	21	78.2	21.7	51.6
4	23.2	116.4	23.6	7.5	23.3	90.9
5	23.7	124	24.8	102.3	23.3	120.8
6	23.5	187.7	24.6	53.7	23.9	91
7	23.3	165.4	24	200.3	24.2	67.2
8	23.7	67.8	23.8	114.8	23.7	56.6
9	22.6	214.9	23.1	246.5	23	206.3
10	19.9	0.8	22.2	118.1	22.2	253.8
11	18.7	19.5	20.5	84.6	20.3	0
12	14	0	17.3	0.4	16.5	0

### ประวัตินักวิจัย

นายโสภณ วงศ์แก้ว เกิดวันที่ 28 กรกฎาคม พ.ศ. 2493 จังหวัดพระนครศรีอยุธยา สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิตเกียรตินิยม สาขาวิชาโรคพืชวิทยา จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปีพ.ศ. 2514 จากนั้นได้รับทุนพัฒนาอาจารย์จากทบวงมหาวิทยาลัย ศึกษาต่อในสาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำเร็จการศึกษาระดับมหาบัณฑิตในปีพ.ศ. 2516 เข้ารับราชการตำแหน่งอาจารย์ ภาควิชาอารักขาพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในปีเดียวกัน จากนั้นได้รับทุนจาก International Development Research Center ไปศึกษาระดับดุษฎีบัณฑิตในปี พ.ศ. 2520 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาเอก สาขา Plant Virology จาก McGill University ประเทศแคนาดาในปีพ.ศ. 2524 กลับเข้ารับราชการในภาควิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น จนถึงปี พ.ศ. 2544 ระหว่างรับราชการที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้ดำรงตำแหน่งหัวหน้าสาขาวิชา 2 สมัย ตำแหน่งสุดท้ายคือรองคณบดีฝ่ายวิชาการ จากนั้นได้ลาออกจากราชการและสมัครเข้ามาเป็นพนักงานของรัฐ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

จนถึงปัจจุบันนายโสภณ วงศ์แก้ว ได้ทำการศึกษาและวิจัยทางด้านโรคพืชวิทยา ในตำแหน่งหัวหน้าโครงการ จำนวนหลายโครงการ อาทิเช่น โครงการ Peanut Pathology ซึ่งเป็นโครงการระยะยาวที่สนับสนุนโดย USAID และ IDRC โครงการ Control of soil-borne Plant disease ที่ได้รับการสนับสนุนจาก International Peanut Stripe virus working Group ให้เป็นผู้ทำการวิจัยเปรียบเทียบความแตกต่างของ peanut stripe virus ในประเทศฝรั่งเศส มีผลงานวิจัยตีพิมพ์แล้วมากกว่า 80 เรื่อง เรียบเรียงเอกสารวิชาการทางด้านโรคพืชเพื่อเผยแพร่แล้ว จำนวน 6 เรื่อง

