อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุและอุปกรณ์

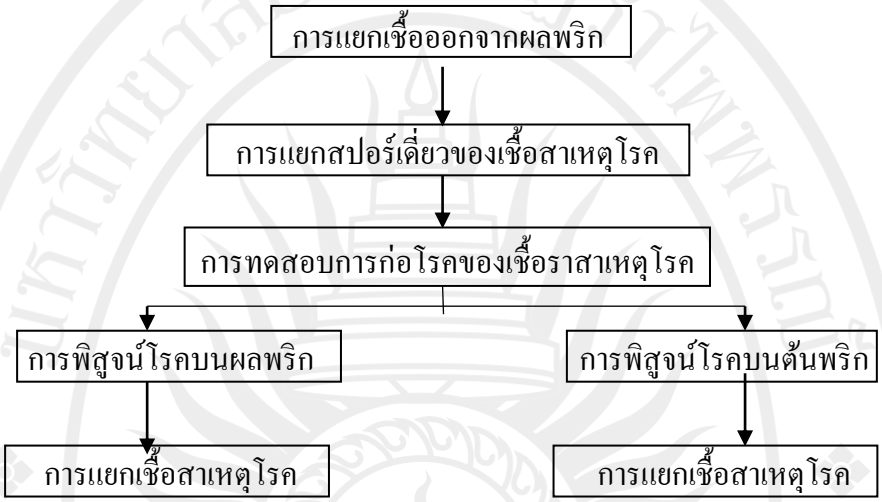
1. จานเพาะเชื้อ
2. เข็มเขี่ยเชื้อ ลูปเขี่ยเชื้อ
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ยี่ห้อ HIMEDIA
4. Slide และ Cover Slip
5. กล้องจุลทรรศน์ OLYMPUS CX23
6. มีดตัดเนื้อเยื่อ
7. Filter กรองสารขนาดรูกรอง 0.22 µm
8. หลอดพลาสติดขนาด 50 ml
9. Autopipett และ Tip ขนาดต่าง ๆ
10. กระบอกฉีดยา ขนาด 10 cc
11. บีกเกอร์
12. ขวดรูปชมพู่
13. กระบอกตวง
14. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ Autoclave Tomy ES-315
15. เครื่องชั่งสาร รุ่น FX-3000I AND
16. น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ
17. ปุ๋ยเคมี (สูตร 16-16-16)
18. น้ำหมักหมากแก่
19. น้ำหมักเปลือกมังคุด
20. สารเคมีป้องกันยับยั้งโรคพืช (Mancozeb)
21. เครื่องวัดค่า กรด-ด่าง pH Meter Benchtop รุ่น F20 FiveEasy

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

วิธีการ

1. การเตรียมเชื้อสาเหตุของโรค

การเตรียมเชื้อสาเหตุโรคมีขอบเขตการทดลองดังภาพประกอบ 1 มีรายละเอียดดังนี้



ภาพประกอบ 1 กรอบการวิจัยขั้นตอนการเตรียมเชื้อสาเหตุโรค

1.1 การแยกเชื้อออกจากผลพริก

นำตัวอย่างผลพริกจินดาที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสมาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธีการ Tissue Transplanting โดยการตัดส่วนผลพริกที่แสดงอาการให้มีขนาด 5×5 mm ฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที เท Clorox ทิ้งและล้างด้วยน้ำปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง เมื่อครบ 3 ครั้ง เทน้ำทิ้งนำส่วนของพริกที่ผ่านการฆ่าเชื้อและล้างเรียบร้อยแล้วมาบางในจานเลี้ยงเชื้อให้แห้ง นำตัวอย่างที่แห้งแล้วมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมไว้บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ตรวจสอบลักษณะโครงสร้างและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (วิทวัส แจ้งเอี่ยม และพรทิพย์ พลาดิศักเลิศ. 2560)

1.2 การแยกสปอร์เดี่ยวของเชื้อสาเหตุโรค

เตรียมสารละลายของเชื้อราสาเหตุโรคทำให้เจือจาง จากนั้นนำเกลี่ยบนอาหาร Water agar (WA) บ่มให้สปอร์งอกประมาณ 7 - 8 ชั่วโมง หรือบ่มเชื้อต่อไปจนเชื้อเจริญเป็นโคโลนีและใช้เข็ม เขี่ยสปอร์เดี่ยวที่กำลังงอกย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร PDA เมื่อเชื้อราเจริญเต็มที่จึงเก็บเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ส่วนหนึ่งไว้ในหลอดอาหารเอียง เพื่อเป็น Stock และอีกส่วนหนึ่งนำไปใช้ในการทดลองในขั้นตอนต่อไป

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

เตรียมสปอร์แขวนลอย โดยการเตรียมน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วผสม Tween 20 นำมาเทลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อ *Colletotrichum* sp. 14 วัน ขูดสปอร์ที่อยู่บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ นำมากรองผ่านผ้าขาวบางใส่ในหลอดทดลองแล้วจึงนำสารแขวนลอยโคโลนีไปตรวจนับสปอร์และปรับระดับความเข้มข้นของสปอร์ให้ได้ 1×10^5 ต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

1.3 การทดสอบการก่อโรคของเชื้อสาเหตุโรค

1.3.1 การพิสูจน์โรคบนผลพริก

เตรียมกระดาษทิชชูเปียกน้ำหมาด ๆ รองพื้นกล่องพลาสติกที่เตรียมไว้นำใบพริกและผลพริกมาฆ่าเชื้อที่ผิวใบ และผิวผลด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อวางทับบน ทิชชูเพื่อใช้ในขั้นต่อไป

ทดสอบการก่อโรคบนผลพริกขี้หนู โดยนำเชื้อสาเหตุโรคที่แยกไว้มาเลี้ยงบน อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ Cork Borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะวุ้นบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรค วางบนผลพริกที่ทำแผลเตรียมไว้ โดยเปรียบเทียบกับกล่องที่ปลูกเชื้อด้วยชิ้นวุ้นที่ปราศจากเชื้อสาเหตุโรค จากนั้นปิดกล่องบ่มเชื้อและทำการบันทึกผลการทดลองระยะเวลา 7 วัน บันทึกลักษณะอาการและความรุนแรงของโรค นำไปแยกเชื้อออกจากต้นพริก ตรวจสอบลักษณะโครงสร้างและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

1.3.2 การพิสูจน์โรคบนต้นพริก

ทดสอบความสามารถของเชื้อสาเหตุโรคในการการก่อให้เกิดโรคบนต้นพริกขี้หนู โดยใช้สารละลายของเชื้อสาเหตุโรคที่ความเข้มข้น 1×10^5 ต่อมิลลิลิตร นำไปฉีดพ่นบนต้นพริกอายุ 1 เดือน ในปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อต้น บ่มเชื้ออยู่ภายในถุงใส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกผลการก่อให้เกิดโรค นำไปแยกเชื้อออกจากต้นพริก ตรวจสอบลักษณะโครงสร้างและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ตามกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 คลุมด้วยถุงใสปกติ (Control และทำแผล)

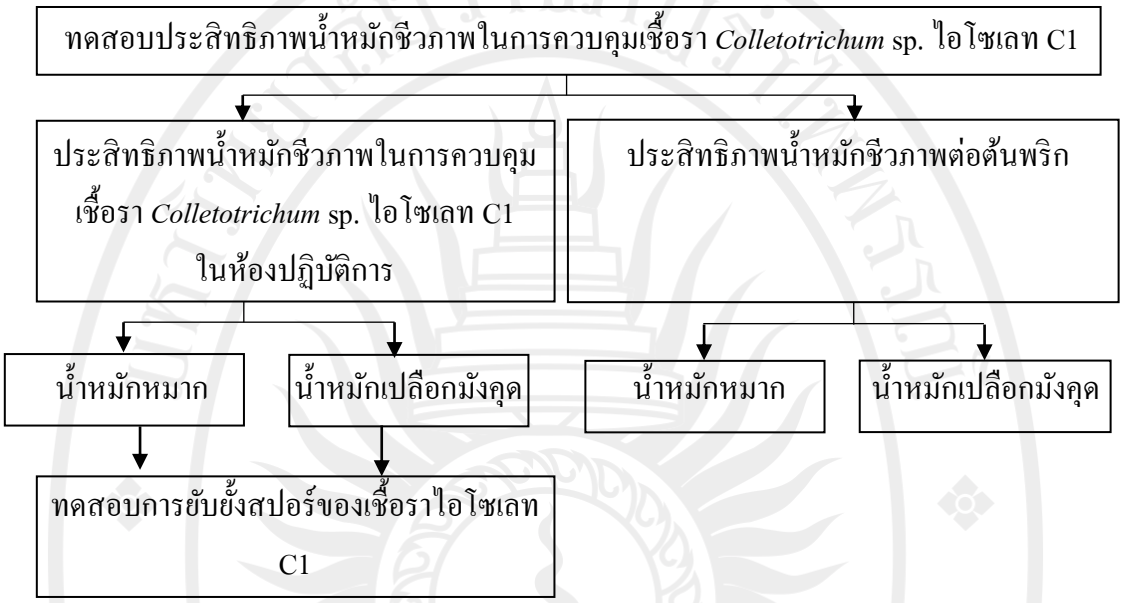
กรรมวิธีที่ 2 คลุมด้วยถุงดำ (Control และทำแผล)

กรรมวิธีที่ 3 ใส่กล่อง (Control และทำแผล)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

2. ประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท C1

น้ำหมักชีวภาพที่นำมาทดสอบ ได้แก่ น้ำหมักหมาก และน้ำหมักเปลือกมังคุด โดยมีขอบเขตการทดลองดังภาพประกอบ 2



ภาพประกอบ 2 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท C1

2.1 ประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท C1 ในห้องปฏิบัติการ

2.1.1 ประสิทธิภาพของน้ำหมักหมากในการควบคุมยับยั้งเชื้อราไอโซเลท C1

ด้วยวิธี Poisoned Food Technique เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลง อยู่ที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส นำน้ำหมักชีวภาพมากรองผ่านแผ่นกรอง 0.22 ไมครอน และนำไป เจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จนได้ระดับความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพ 5 ระดับ ได้แก่ 0, 15, 25, 35, 45, 55 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจาน เพาะเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้จนอาหารแข็ง นำเชื้อสาเหตุโรคที่ เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน ตัดด้วย Cork Borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดบริเวณขอบนอกของโคโลนีและนำชิ้นส่วนเชื้อราสาเหตุโรคที่ได้มาวางบนจุดกึ่งกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมน้ำหมักชีวภาพ เตรียมไว้

ความเข้มข้นต่าง ๆ ไว้แล้ว ส่วนชุดควบคุมใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อย่างเดียวโดยมีกรรมวิธีดังต่อไปนี้ แบ่งเป็น 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ดังต่อไปนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม

กรรมวิธีที่ 2 เตรียมอาหารผสมน้ำหมักหมากที่ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 3 เตรียมอาหารผสมน้ำหมักหมากที่ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 4 เตรียมอาหารผสมน้ำหมักหมากที่ความเข้มข้น 35 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 5 เตรียมอาหารผสมน้ำหมักหมากที่ความเข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 6 เตรียมอาหารผสมน้ำหมักหมากที่ความเข้มข้น 55 เปอร์เซ็นต์

บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 3, 5, 7, 9, 12 และ14 วัน บันทึกการเจริญของเชื้อราโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ

2.1.2 ประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพในการยับยั้งเชื้อไอโซเลท C1 ภายในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบด้วยวิธี Poisoned Food Technique เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ทิ้งไว้ให้ อุณหภูมิลดลงอยู่ที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส นำน้ำหมักชีวภาพทั้ง 2 ชนิด คือ น้ำหมักหมาก และน้ำหมักเปลือกมังคุดมากรองผ่านแผ่นกรอง 0.22 ไมครอน และนำไปเจือจาง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จนได้ระดับความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพ 5 ระดับ ได้แก่ 0, 5, 10, 15, 20, 25 เปอร์เซ็นต์ และ Mancozab จากนั้น เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้จนอาหารแข็ง นำเชื้อสาเหตุโรคที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน ตัดด้วย Cork Borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเลือกตัดบริเวณขอบ นอกของโคโลนีและนำชิ้นส่วนเชื้อราสาเหตุโรคที่ได้มาวางบนจุดกึ่งกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมน้ำหมักชีวภาพความเข้มข้นต่าง ๆไว้แล้ว ส่วนชุดควบคุมใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อย่างเดียว โดยทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกการเจริญของเชื้อรา โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ หลังบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 3, 5, 7, 9, 12 และ 14 วัน นำข้อมูลที่ได้คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรค

2.1.3 ประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพในการยับยั้งสปอร์ของเชื้อไอโซเลท C1

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

เตรียมจานเลี้ยงเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมน้ำหมักชีวภาพทั้ง 2 ชนิด คือ น้ำหมักหมาก และน้ำหมักเปลือกมังคุดมากรองผ่านแผ่นกรอง 0.22 ไมครอน และนำไปเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จนได้ระดับความเข้มข้นของ

น้ำหมักชีวภาพทั้ง 2 ชนิดที่ 5 ระดับ ได้แก่ 0, 0.1, 2.5, 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร รอให้อาหารแข็งตัวจึงนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรคที่ความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เกลี่ยบนผิวหน้าของอาหารที่เตรียมไว้ ให้สปอร์เกิดการกระจายตัวบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ตรวจลักษณะการงอกของสปอร์เชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกผลของการบ่มเชื้อที่ 18 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เตรียมน้ำหมักหมาก และน้ำหมักเปลือกมังคุด ที่มีความเข้มข้นตามกรรมวิธีต่าง ๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุมของน้ำหมักหมาก
กรรมวิธีที่ 2 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักหมาก 0.1 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักหมาก 1 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 4 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักหมาก 2.5 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 5 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักหมาก 5 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 6 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักหมาก 10 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 7 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักหมาก 15 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 8 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักหมาก 25 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 9 กรรมวิธีควบคุมของน้ำหมักเปลือกมังคุด
กรรมวิธีที่ 10 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักเปลือกมังคุด 0.1 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 11 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักเปลือกมังคุด 1 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 12 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักเปลือกมังคุด 2.5 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 13 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักเปลือกมังคุด 5 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 14 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักเปลือกมังคุด 10 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 15 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักเปลือกมังคุด 15 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 16 อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำหมักเปลือกมังคุด 25 เปอร์เซ็นต์

2.2 ประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพบนต้นพริก

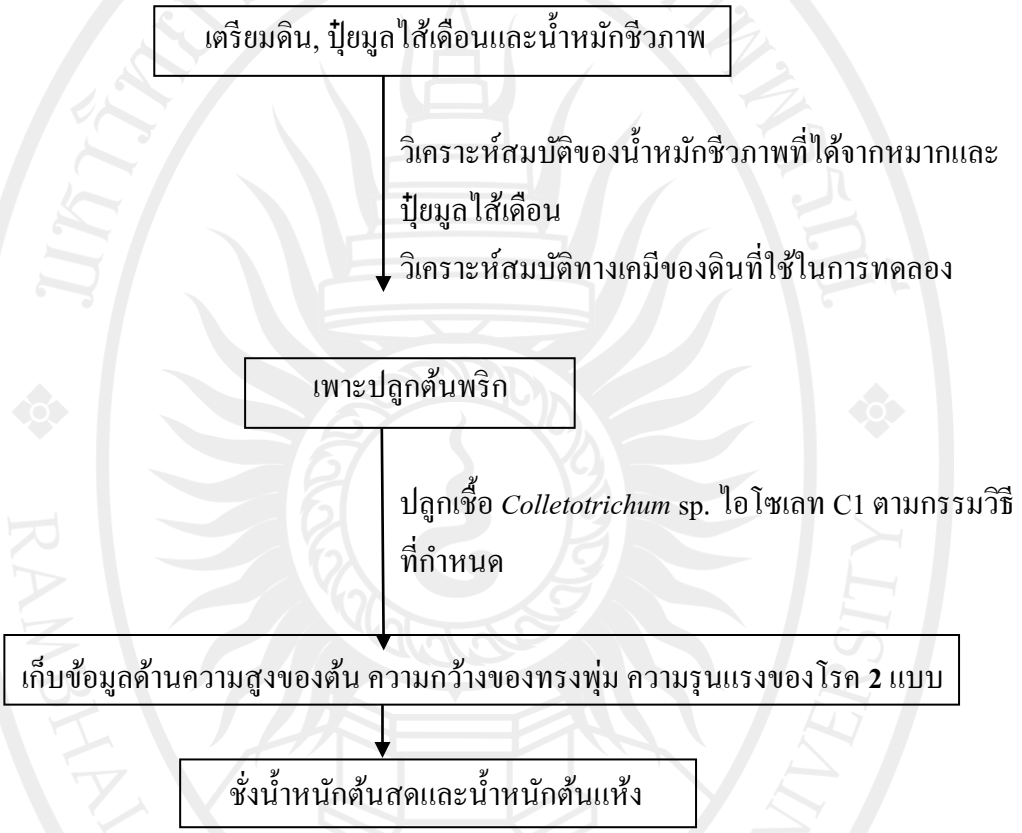
ทดสอบความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพในอัตราที่ต้นพริกสามารถทนได้

ทดสอบฉีดพ่นน้ำหมักหมากและน้ำหมักเปลือกมังคุดใส่ต้นกล้าพริกขี้หนู ในอัตรา 0.1, 2.5, 5, 15, 25, 35, 40, 45 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีควบคุม เพื่อทดสอบอัตราความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพทั้ง 2 ชนิด ที่จะไม่ส่งผลกระทบต่อต้นพริกในการนำไปศึกษาในขั้นต่อไป ทำการบันทึกผลทุก 7 วัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3. การทดสอบประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพร่วมกับปุ๋ยมูลไส้เดือนในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท C1

การทดสอบประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพร่วมกับปุ๋ยมูลไส้เดือนในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท C1 โดยมีขอบเขตการทดลองดังภาพประกอบ 3 ดังนี้



ภาพประกอบ 3 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพร่วมกับปุ๋ยมูลไส้เดือนในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท C1

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3.1 การวางแผนทดลอง

ทดสอบผลของปุ๋ยมูลไส้เดือนต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกขี้หนู ประกอบด้วยกรรมวิธี 11 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 3 ปุ๋ยมูลไส้เดือนอัตรา 96 กรัมต่อกระถาง

กรรมวิธีที่ 4 ปุ๋ยมูลไส้เดือนอัตรา 96 กรัมต่อกระถาง ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 5 น้ำหมักหมากความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 6 น้ำหมักหมากความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 7 น้ำหมักหมากความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมปุ๋ยมูลไส้เดือนอัตรา 96 กรัมต่อกระถาง ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 8 น้ำหมักหมากความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับปุ๋ยมูลไส้เดือนอัตรา 96 กรัมต่อกระถาง ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 9 น้ำหมักเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 10 น้ำหมักเปลือกมังคุดความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

กรรมวิธีที่ 11 สารเคมีป้องกัน กำจัดเชื้อรา ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

3.2 การเพาะปลูกต้นกล้า

ทำการเพาะเมล็ดพริกใส่ถาดหลุม โดยใช้พีทมอสในการเริ่มปลูกรดน้ำดูแลจนต้นกล้าพริกมีอายุได้ 1 เดือน ทำการย้ายเปลี่ยนลงในกระถางขนาด 10 นิ้ว โดยใช้ดินที่เตรียมไว้ในการเพาะเลี้ยง จนครบอายุการนำไปทดลอง

3.3 การปลูกเชื้อสาเหตุโรคบนต้นพริก

ปลูกเชื้อสาเหตุ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท C1 โดยใช้ต้นกล้าพริกอายุ 2 เดือน โดยการทำแผลที่โคนต้นพริก เหนือดินเล็กน้อย แล้วใช้สารละลายของเชื้อสาเหตุโรคฉีดพ่นที่ความเข้มข้น 1×10^5 แล้วคลุมด้วยถุงพลาสติกนาน 48 ชั่วโมง หลังจากฉีดพ่นเชื้อราสาเหตุโรคบนต้นพริกเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ตรวจสอบการก่อให้เกิดโรคประเมินความรุนแรง และการเจริญของต้นกล้า

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3.4 การปฏิบัติระหว่างการทดลอง

เมื่อต้นกล้าพริกอายุ 1 เดือน ทำการย้ายปลูกพร้อมใส่ปุ๋ยเคมี สูตร 16-16-16 ในอัตรา 1.41 กรัมต่อต้น และใส่ปุ๋ยมูลไส้เดือน อัตรา 32 กรัมต่อต้น

ใส่ปุ๋ยมูลไส้เดือน ครั้งที่ 2 ในอัตรา 32 กรัมต่อต้น หลังจากย้ายปลูก 20 วัน

ใส่ปุ๋ยเคมี สูตร 16-16-16 ครั้งที่ 2 ในอัตรา 2.34 กรัมต่อต้น หลังจากย้ายปลูก 30 วัน

ใส่ปุ๋ยมูลไส้เดือน ครั้งที่ 3 ในอัตรา 32 กรัมต่อต้น หลังจากย้ายปลูก 40 วัน

ทำการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้ว 1 สัปดาห์ และทำการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพหลังจากนั้นทุก ๆ 7 วัน

3.5 การบันทึกผล

3.5.1 บันทึกข้อมูลของความสูง (เซนติเมตร) วัดความสูงจากโคนต้นระดับดินจนถึงปลายยอด และความกว้างของทรงพุ่มต้นพริก เมื่ออายุ 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 62, 69, 76, 83, 90, 97, 104, 111 และ 118 วัน หลังจากย้ายปลูก

3.5.2 บันทึกลักษณะอาการและประเมินความรุนแรงของการยับยั้งโรคบนต้นพริก ก่อนการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพทุกครั้ง บันทึกความรุนแรงของโรค ทุก 7 วัน ทั้งหมด 11 สัปดาห์ ทำการประเมินความรุนแรงโดยการประเมินระดับความรุนแรงของ โรคบนพื้นที่ใบ ดัดแปลงจากมาตรฐานของ โลซาโน และเซเกยรา (Lozano and Sequeira. 1974) และระดับความรุนแรงของโรคที่แสดงบนต้นพริก (สมศิริ แสงโชติ และรัตติรส เชียงสิน. 2554) ตามตาราง 4 และ 5

ตาราง 4 การประเมิน 5 ระดับ ความรุนแรงของโรคบนพื้นที่ใบ

ระดับ	ความรุนแรงของพื้นที่ใบ
ระดับ 0	ไม่พบลักษณะของโรค
ระดับ1	พื้นที่ใบที่เสียหายจากโรค 1 - 10%
ระดับ 2	พื้นที่ใบที่เสียหายจากโรค 11 - 30%
ระดับ 3	พื้นที่ใบที่เสียหายจากโรค 31 - 50%
ระดับ 4	พื้นที่ใบที่เสียหายจากโรค >50%

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตาราง 5 การประเมิน 5 ระดับ ความรุนแรงของโรคบนต้นพริก

ระดับ	ความรุนแรงของโรคที่แสดงบนต้นพริก
ระดับ 1	ไม่แสดงอาการของโรค
ระดับ 2	ใบเหี่ยว แต่ยังใบเขียวอยู่
ระดับ 3	ใบเหี่ยว ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และร่วงหล่น
ระดับ 4	ยอดมีอาการเหี่ยวช้ำเป็นสีน้ำตาล
ระดับ 5	ยอดเหี่ยวแห้งตาย

3.5.4 บันทึกข้อมูลน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นพริก เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

5. สถานที่ทดลอง

5.1 ดำเนินการทดลองในพื้นที่หมู่ 1 ตำบลเขาบายศรี อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

5.2 ห้องปฏิบัติการ โรคพืช มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี