เรื่อง การอนุรักษ์และปรับปรุงพันธุ์วานิลาสายพันธุ์ป่าในประเทศไทย

คณะผู้ดำเนินการวิจัยและงานที่รับผิดชอบ

องค์ประธานที่ปรึกษาโครงการ

สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี

ผศ. ดร. วัฒนชัย พงษ์นาค ประธานโครงการ

รศ. ดร. เกษม สร้อยทอง รองประธานโครงการ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นายทัศนารถ กระจ่างวุฒิ ผู้ร่วมโครงการ

พระตำหนักสวนปทุม จ.ปทุมธานี

รศ. ดร. สมเดช กนกเมธากุล และผศ. ดร. ขวัญใจ กนกเมธากุล ผู้ร่วมโครงการ

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

นางสาวกัญชลิกา รัตนเชิดฉาย ผู้ร่วมโครงการ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สถานที่วิจัย

1. พระตำหนักสวนปทุม จ.ปทุมธานี
2. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
3. มหาวิทยาลัยขอนแก่น

b 11981094

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การให้ผลผลิตทั้งปริมาณและคุณภาพ ตลอดจนการนำไปสู่การสกัดสารวานิลาใช้เอง ภายในประเทศต่อไป

เป้าหมายของโครงการ

1. เพื่อศึกษาลักษณะทางพฤษศาสตร์ของวานิลาสายพันธุ์ป่าที่พบ ตลอดจนการเพาะเลี้ยง การเจริญเติบโต การให้ดอกและฝัก ในสภาพภูมิอากาศและระบบนิเวศน์ต่างๆ การให้สารวานิลาของแต่ละสายพันธุ์
2. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมวานิลาสายพันธุ์ใหม่ให้ได้ตามลักษณะที่ต้องการและการขึ้นทะเบียนสายพันธุ์ใหม่ ตลอดจนการศึกษาสารพันธุกรรม (gene) ในวานิลาสายพันธุ์ป่าที่พบ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ใหม่
3. เพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยง การขยายพันธุ์ การตอบสนองต่อปุ๋ย การป้องกันกำจัดโรคแมลงเพื่อให้ได้ผลผลิตสูง
4. เพื่อศึกษาการสกัดสารวานิลาและสารประกอบทางเคมีอื่นๆ

ระยะเวลาของโครงการ 1 ปี (โครงการต่อเนื่อง 5 ปี)
งบประมาณที่ได้รับ 200,000 บาท

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

วานิลา (Vanilla) เป็นพืชที่จัดอยู่ในตระกูลกล้วยไม้ (Orchidaceae) เป็นพืชเครื่องเทศที่มีการใช้ประโยชน์โดยการนำเอาฝักมาหมักและบ่มให้เกิดกลิ่น จากนั้นนำไปสกัดให้ได้สารที่ทำให้เกิดกลิ่นหอมและรสชาติ มาใช้ในการปรุงแต่งกลิ่นไอศกรีม ช็อคโกแลต ขนม ลูกกวาด นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมยาและน้ำหอมอีกด้วย (วราวุธ ชูธรรมธัช. 2536) กลิ่นหอมของวานิลานั้นเกิดจากสารองค์ประกอบต่างๆ ในระหว่างการหมักและบ่มฝักของวานิลา ซึ่งมีสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นมากกว่า 250 ชนิด แต่สารวานิลิน (vanillin) 4-hydroxy-3-methoxybenzaldahyde เป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นที่สำคัญที่สุดของวานิลา (Havkin-Frenkel *et al.* 1996) การนำไปใช้ประโยชน์ของวานิลานั้นมีหลายรูปแบบ เช่นสารสกัดวานิลา (vanilla extract) วานิลาทิงเจอร์ (vanilla tincture) หรือวานิลาผง สารวานิลินที่สกัดได้จากวานิลาจะมีกลิ่นหอมที่เกิดจากธรรมชาติ ซึ่งมีคุณภาพดีกว่าสารวานิลินสังเคราะห์ ซึ่งสังเคราะห์จากของเสียของโรงงานทำกระดาษ และ eugenol จากน้ำมันกานพลู ที่มีราคาถูกกว่าวานิลินที่สกัดได้จากธรรมชาติ (วราวุธ ชูธรรมธัช และ อรุณ เลียววสุต. 2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วานิลาเป็นพืชที่เกิดขึ้นในป่าพื้นเมืองตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเม็กซิโก กัวเตมาลา และบางส่วนของประเทศแถบอเมริกากลาง ปัจจุบันมีการปลูกกระจายอยู่ทั่วไปโดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น เช่น มาดากัสการ์ หมู่เกาะรียูเนียน อินโดนีเซีย (Heywood. 1985) ประเทศที่ผลิตและส่งออกเป็นรายใหญ่ที่สุดในโลกคือประเทศมาดากัสการ์ รองลงมาคือ ประเทศอินโดนีเซีย วานิลาถือเป็นพืชทองของอินโดนีเซีย ทางรัฐบาลอินโดนีเซียกำลังส่งเสริมและพัฒนาพืชนี้เป็นพืชเศรษฐกิจ ที่สำคัญพืชหนึ่ง ทำรายได้ให้แก่เกษตรกรค่อนข้างสูง โดยจำหน่ายราคาฝักสดกิโลกรัมละ 125 บาท ฝักที่แห้งแล้วหลังจากหมักบ่มแล้วราคากิโลกรัมละ 700-1,000 บาท ขึ้นอยู่กับการคัดเกรด (ประยูร สมฤทธิ์. 2544) แต่การปลูกวานิลาก็มักจะมีปัญหาจากการทำลายของโรคอยู่เสมอ เช่นโรคเน่าดำ (Black rot) ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* (แสงมณี ชิงดวง และคณะ. 2536) นอกจากนี้ยังมีโรค Phytophthora rot เชื้อสาเหตุคือ *Phytophthora meadii* (Bhai and Thomas. 2000) โรคลำต้นเน่า (Stem rot) ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae* (George. 1973) และโรคแอนแทรคโนส เชื้อสาเหตุคือ *Glomerella vanillae* (George. 1973)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวานิลาวานิลาเป็นพืชเถาเลื้อย พบขึ้นในป่าดิบชื้น มีอายุการให้ผลหลายปี (perennial) ลำต้นสีเขียว อวบน้ำ ยาวได้หลายเมตร ค่อนข้างกลมหรือแบนเล็กน้อย ผิวเรียบหรือเป็นร่องตามยาว มีรากอากาศสำหรับยึดติดบนต้นไม้อื่นหรือไม้หลัก ใบมีลักษณะเรียวยาวรูปไข่ ใบหนาและอวบน้ำ บางสายพันธุ์ใบได้ลดรูปไปมีลักษณะเป็นเกล็ดมองดูคล้ายไม่มีใบ ช่อดอกสั้น เกิดตามข้อ ดอกค่อนข้างโต ดอกมีสีเหลืองอมเขียวหรือสีเขียวปนขาว กลีบดอกขนาดใกล้เคียงกัน โคนกลีบปากด้านข้างเชื่อมกับเส้าเกสร ส่วนปลายกางออกและมีขนครุยตรงกลางหรือแนวกลางกลีบ ฝักยาว 7-22 เซนติเมตร ภายในฝักมีเมล็ดขนาดเล็กละเอียดสีดำจำนวนมาก (อบฉันท์ ไทยทอง. 2543 : Ames and Correll. 1985)

วราวุธ ชูธรรมธัช (2536) กล่าวไว้ว่าสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของวนิลาได้แก่ ฝนและอุณหภูมิ โดยวนิลาสามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนชื้น ในแหล่งปลูกวนิลาควรมีปริมาณฝนระหว่าง 850-2000 มิลลิเมตร ต่อปี วนิลาต้องการการกระจายของฝนที่สม่ำเสมอประมาณ 9-10 เดือน เพื่อให้เถาและฝักที่ติดมีการเจริญเติบโตดี ต้องการช่วงแล้งอย่างน้อย 2 เดือนสำหรับการออกดอก แต่ไม่ควรมีช่วงแล้งนานเกินไป อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของวนิลาอยู่ระหว่าง 21-23 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 60-80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแสงที่พอเหมาะมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของวนิลา นอกจากนี้ยังมีผลต่อน้ำหนักและกลิ่นของฝักวนิลาด้วย วนิลาต้องการแสงเพียงเล็กน้อย โดยวนิลาจะมีการเจริญเติบโตทางด้านเถาและรากดีเมื่อได้รับแสงเพียง 30-50 เปอร์เซ็นต์

เมื่อวานิลาออกดอกจำเป็นต้องช่วยผสมเกสรมิฉะนั้นจะไม่ติดฝัก ช่วงเวลาที่เหมาะสมคือช่วงเช้า ในต้นเดียวกันควรผสมไม่เกิน 10-12 ช่อ เด็ดตาดอกที่เหลือทิ้งเพื่อไม่ให้แย่งอาหาร วิธีผสมเกสรโดยใช้ไม้ไผ่ปลายแหลม หรือไม้จิ้มฟันด้านแหลมเขี่ยแผ่นบาง ๆ ที่กั้นระหว่างเกสร ตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้กับตัวเมียออกและใช้นิ้วหัวแม่มือบีบเกสรตัวเมียให้ติดกับเกสรตัวผู้ เกลี่ยละอองเกสรให้ทั่ว วานิลาจะให้ผลผลิตเมื่ออายุ 2-3 ปี และให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นจนอายุ 7-8 ปี ฝักวานิลานับแต่ได้รับการผสมเกสรจนถึงเจริญเต็มที่ใช้เวลาประมาณ 10 เดือน ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวคือ ฝักเริ่มมีสีเหลืองที่ปลายฝัก หากปล่อยให้ฝักเหลืองจะเริ่มปริแตก (กลุ่มพืชสมุนไพรและ เครื่องเทศ. 2543)

สายพันธุ์ของวานิลา วานิลาสายพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้า *Vanilla planifolia* Andrews (Hawkes.1965) ลำต้นสีเขียวเข้ม ผิวต้นเกลี้ยง กลมหรือแบนเล็กน้อย รากออกที่ข้อ ใบมีก้านสั้น ใบหนาอวบน้ำ รูปไข่ยาวรี ขนาดกว้าง 3 นิ้ว ยาว 9 นิ้ว ดอกออกตามข้อ ช่อดอกยาวประมาณ 3 นิ้ว แต่ละช่อมีดอกมากถึง 20 ดอก ขนาดดอกประมาณ 2.5 นิ้ว มีสีเหลืองอมเขียว วานิลาสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย (อบฉันท์ ไทยทอง. 2543 : Seidenfaden and Smitinand. 1958 : Comber. 1990 : Seidenfaden and Wood. 1992) ได้แก่ *V. aphylla* Rolfe (เถางูเขียว เครืองูเขียว คดนกกูด) ลำต้นเป็นลำเกือบกลมหรือแบนเล็กน้อย ผิวต้นเกลี้ยง สีเขียวเข้ม ปล้องยาวได้ถึง 50 เซนติเมตร กว้าง 0.5 - 1 เซนติเมตร รากออกที่ข้อ ใบลดรูปไปมีลักษณะเป็นเกล็ดมองดูคล้ายไม่มีใบ ดอกออกตามข้อเป็นช่อสั้น ช่อละ 2-3 ดอก ขนาดดอกประมาณ 3-4 เซนติเมตร ฤดูออกดอก ออกตลอดปี แหล่งที่พบ เกือบทุกภาคตามป่าดิบแล้ง *V. siamensis* Rolfe ex Downie (พลูช้าง) ลำต้นสีเขียวเข้ม ผิวต้นเกลี้ยง กลม ปล้องยาว 20 - 50 เซนติเมตร กว้าง 1 - 1.5 เซนติเมตร รากออกที่ข้อ ใบรูปรี มีขนาดใหญ่ ขนาด 10 - 30 x 6 - 12 เซนติเมตร แผ่นใบเรียบ หนา อวบน้ำ ปลายแหลมหรือปลายมน สีเขียวเข้ม ดอกออกตามข้อเป็นช่อสั้น ๆ ดอกในช่อทยอยบานเป็นเวลานาน ขนาดดอก 4 - 5 เซนติเมตร กลีบค่อนข้างอวบน้ำ ฤดูออกดอก เมษายน-มิถุนายน แหล่งที่พบ ภาคเหนือ (ดอยสุเทพ ดอยเชียงดาว) ภาคตะวันออก (เขาสอยดาว) *V. pilifera* Holttum (งด สามร้อยต่อใหญ่) ลำต้นปล้องยาว 7 - 10 เซนติเมตร สีเขียวเข้ม รากออกที่ข้อ ใบมีขนาด 10 - 16 x 4 - 8 เซนติเมตร ใบบางปลายแหลม ดอกสีขาวปนเขียว ออกตามข้อเป็นช่อสั้น ๆ ขนาดดอก 2 - 3 เซนติเมตร แหล่งที่พบ ตรัง ประจวบคีรีขันธ์ *V. albida* Bl., Bijdr. ลำต้นปล้องยาว สีเขียวเข้ม รากออกที่ข้อ ใบแคบ ขนาด 12 - 14 x 3.5 - 5 เซนติเมตร ดอกช่อดอกสั้น ยาว 1 - 3 เซนติเมตร ช่อละ 6 - 12 ดอก ดอกมีสีขาวปนเขียว ข้างในมีสีม่วง

โรคที่สำคัญของวานิลา ได้แก่ โรคแอนแทรคโนส เกิดจากเชื้อรา *Glomerella vanillae* (Zimm.) Petch & Ragun เชื้อเข้าทำลายบริเวณลำต้นและใบ บริเวณที่เป็นโรคเห็นเป็นรอยบุ๋มลงเป็นรูปไข่หรือวงรี อาการเริ่มแรกเห็นเป็นจุดฉ่ำน้ำก่อนแล้วจึงเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและแผลเริ่มแห้ง หลังจากนั้นสีของแผลจะเริ่มเข้มขึ้น ทำให้เถาเหี่ยวและฝักร่วงได้ (George. 1973) โรคลำต้นเน่า (Stem rot) เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* ระยะแรกบริเวณรากจะเริ่มมีสีน้ำตาลและเริ่มตาย โดยเริ่มสังเกตเห็นบริเวณผิวดิน ต่อมารากก็จะตายและจะมีผลต่อการสร้างรากใหม่ ส่วนปลายยอดก็จะตาย ส่วนลำต้นและใบเริ่มเป็นสีเหลือง จนในที่สุดก็อาจถึงตายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(George. 1973) โรคลำต้นเน่านี้เป็นโรคที่สำคัญและมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางของพื้นที่ปลูกในประเทศอินโดนีเซีย ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจทุกปี โดยจะมีการแพร่ระบาดรุนแรงบริเวณ ชวา บาหลี และสุมาตราเหนือ (Tombe *et al.* 1991) โรค Phytophthora rot เกิดจากเชื้อ *Phytophthora meadii* เชื้อจะเข้าทำลายทำให้เกิดอาการบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่เหนือดินและทำให้เกิดอาการรากเน่า Bhai and Thomas (2000) รายงานว่าที่ประเทศอินเดีย โรคนี้ทำให้เกิดอาการเน่าที่ฝัก ใบ และลำต้นของวานิลา ซึ่งเป็นรายงานครั้งแรกที่พบโรคที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* spp. เป็นครั้งแรกในอินเดียอีกด้วย และโรคเน่าดำ (Black rot) เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ซึ่งแสงมณี ชิงดวงและคณะ (2536) รายงานว่า จากการทดลองปลูกวานิลาของสถาบันวิจัยพืชสวนจังหวัดเชียงใหม่ ได้ประสบปัญหาการเกิดโรคของวานิลา โดยจะระบาดรุนแรงมากขึ้นเมื่อมีความชื้นของอากาศสูง อาการเริ่มแรก คือใบหรือลำต้นเป็นสีเหลือง โดยเชื้อจะเข้าทำลายที่บริเวณรากอ่อน แล้วลุกลามขึ้นโคนต้นและจากลำต้นไปสู่ใบและยอด ส่วนที่ถูกทำลายจะเหลือง จากนั้นใบ ลำต้น ท่อน้ำและท่ออาหารจะถูกทำลาย เกิดอาการเน่าเป็นสีดำ และแห้งตายไปในที่สุด ส่วนใบและยอดมีอาการเน่าและเป็นสีดำและเหี่ยวย่น

สำหรับในประเทศไทยได้มีการค้นคว้าวิจัยถึงเทคนิคและวิธีการปลูกวานิลาในแหล่งต่าง ๆ ทางภาคเหนือ ภาคใต้ ภาคตะวันออกของประเทศ เพื่อให้ได้ผลผลิตสูง จึงควรจะสนับสนุนการศึกษาวานิลาสายพันธุ์ป่าที่พบในประเทศไทยและศึกษาการปรับปรุงสายพันธุ์ลูกผสมที่ให้ผลผลิตสูงทั้งทางด้านปริมาณและคุณภาพ ซึ่งจะเป็นการสามารถลดการนำเข้าของน้ำมันหอมระเหยจากต่างประเทศได้

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตแต่ละสายพันธุ์

ทำการเก็บตัวอย่างและรวบรวมพันธุ์ ศึกษาลักษณะทางพฤษศาสตร์ และศึกษาการศึกษาการออกดอกของวนิลาแต่ละสายพันธุ์ ทำการศึกษาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การขยายพันธุ์ และการออกดอกและฝักของวนิลาแต่ละสายพันธุ์ โดยศึกษาทางด้านอุณหภูมิและความชื้นในอากาศที่เหมาะสม ตลอดจนทำการศึกษาด้านการเกิดโรคและแมลงศัตรูของวนิลา โดยทำการวัดอุณหภูมิและความชื้นเปรียบเทียบ วนิลาแต่ละสายพันธุ์ที่ปลูกในโรงเรือน และภายนอกโรงเรือน และการดูแล การให้ปุ๋ย การกำจัดแมลง การควบคุมโรคโดยชีววิธี ในวนิลาสายพันธุ์ต่างๆ คือ *Vanilla planifolia, V. siamensis, V. pilifera* , *V. albida* สังเกตการเจริญเติบโต จำนวนสายพันธุ์ละ ประมาณ 100 ต้น การขยายพันธุ์และการออกดอกตามธรรมชาติ

ทำการการสำรวจโรค การแยกเชื้อสาเหตุ และจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคและ การทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถของการเกิดโรค (Pathogenicity tests) ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* กับใบวนิลา โดยวิธีการ detached leaf การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonists) ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคจาก isolate ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคสูงสุดในสภาพห้องปฏิบัติการ (bi-culture tests) การศึกษากลไกของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของวนิลา ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides* การทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ (bioproducts) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของวนิลา

การศึกษาวิธีการสกัดและหาปริมาณของสารวานิลินจากฝักวานิลาแต่ละชนิด

ศึกษาวิธีการสกัดสารวานิลินจากฝักวานิลาแต่ละชนิดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ปริมาณสารวานิลินในปริมาณสูงสุด ทำการแยกสารวานิลินจากส่วนสกัดโดยวิธีทางโครมาโทรกราฟฟีและวิธีการสกัดแยก หรือวิธีการตกผลึก พิสูจน์ยืนยันโครงสร้างทางสเปกโตรสโคปี และการหาปริมาณสารวานิล เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการได้สารสกัดจากขั้นตอนการสกัดแล้ว นำสารสกัดดังกล่าวไปหาปริมาณสารวนิลินโดยใช้เครื่อง HPLC และโดยศึกษาวิธีและพัฒนาการสกัดแยกสารวานิลินที่เหมาะสมในการแยกในปริมาณมาก

ผลการวิจัย

การเก็บตัวอย่างและรวบรวมพันธุ์ ศึกษาลักษณะทางพฤษศาสตร์

จากการเก็บรวบรวมวนิลาสายพันธุ์ป่าที่พบในประเทศไทยและลักษณะทางพฤษศาสตร์จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Vanilla albida, Vanilla aphylla, Vanilla piliferae, Vanilla siamensis* เปรียบเทียบกับ *Vanilla planifolia* (สายพันธุ์จากประเทศฝรั่งเศส) พบว่ามีลักษณะการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ซึ่งแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะดังนี้

จากการศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของวนิลาที่ปลูกในพระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี จำนวน 4 สายพันธุ์ได้แก่ *V. planifolia, V. siamensis, V. pilifera* และ *V. albida* ปรากฏว่าวนิลาแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะ ขนาดรูปร่างของใบ และลำต้นที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 1 และภาพที่ 1-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบลักษณะของวนิลา

พันธุ์	ลักษณะ	
V. planifolia	ลำต้น	เป็นเถายาวทรงกระบอกสีเขียว อวบน้ำ ขนาดของลำต้นขึ้นกับความสมบูรณ์ของเถา เถาเมื่อโค้งงอจะหักง่าย มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 - 2 เซนติเมตร ปล้องยาว 5 - 1 5 เซนติเมตร
	ใบ	มีลักษณะแบน อวบน้ำ ใบกว้าง ปลายใบเรียว ก้านใบสั้น
	ระบบราก	รากอากาศมีสีขาว ค่อนข้างยาว รากแตกออกตรงข้ามกับใบ รากบริเวณโคนจะแตกออกเป็นแขนง
	ฤดูออกดอก	ยังไม่เคยออกดอก
V. siamensis	ลำต้น	มีลักษณะเช่นเดียวกับวนิลาสายพันธุ์อื่น แต่จะมีขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเถาประมาณ 1 - 2 เซนติเมตร ปล้องยาว 2 0 - 5 0 เซนติเมตร
	ใบ	ใบมีขนาดใหญ่กว่าวนิลาสายพันธุ์อื่น ๆ ใบรูปรี ขนาดกว้าง 6-12 เซนติเมตร ยาว 10-20 เซนติเมตร แผ่นใบหนา แบนเรียบ อวบน้ำ ปลายแหลมหรือปลายมน สีเขียวเข้ม
	ระบบราก	มีระบบรากเช่นเดียวกันกับสายพันธุ์อื่น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ) การเปรียบเทียบลักษณะของวนิลา

พันธุ์	ลักษณะ	
V. siamensis	ฤดูออกดอก	ยังไม่เคยออกดอก
V. pilifera	ลำต้น	ลำต้นมีขนาดเล็กกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ มีสีเขียวเข้ม
	ใบ	ใบมีขนาดเล็ก กว้างประมาณ 3-4 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร มีสีเขียวเข้ม ใบมีขนาดเล็กและแบนบางกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ
	ระบบราก	มีระบบรากเช่นเดียวกับสายพันธุ์อื่น ๆ
	ฤดูออกดอก	ยังไม่เคยออกดอก
V. albida	ลำต้น	เป็นเถายาวทรงกระบอก สีเขียว มีลักษณะอวบน้ำ เมื่อโค้งงอจะหักง่าย เส้นผ่านศูนย์กลางเถาประมาณ 1-2 เซนติเมตร ปล้องมีความยาว 5 - 15 เซนติเมตร
	ใบ	สีเขียวมีลักษณะแบน อวบน้ำ ลักษณะใบแบบ oblong-elliptic จนถึง lanceolate ใบมีขนาด กว้าง 3.5-5 เซนติเมตร ยาว 12-14 เซนติเมตร ใบออกสลับกัน (alternate) มีก้านใบสั้น
	ระบบราก	วนิลามีระบบราก 2 ประเภท คือ รากอากาศ มีสีขาวถึงเขียวอ่อน เป็นรากเดี่ยว มีลักษณะอวบน้ำ จะเจริญออกจากเถาบริเวณข้อตรงข้ามใบ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 มิลลิเมตร ทำหน้าที่ยึดเกาะ ส่วนรากบริเวณโคนจะแตกออกเป็นแขนงบริเวณผิวดิน ทำหน้าที่ดูดซับธาตุอาหารและน้ำในดิน
	ช่อดอก	ช่อดอกเกิดจากตาตรงซอกใบเป็นช่อแต่ไม่มีก้านช่อดอกย่อยแตกออกไป ช่อดอกยาวประมาณ 3 เซนติเมตร มีจำนวนประมาณ 5-6 ดอก ดอกจะบานจากโคนช่อดอกไปยังปลายช่อดอก ดอกจะบานครั้งละ 1 - 2 ดอก
	ดอก	ดอกวนิลามีสีขาวออกเหลือง กลีบดอกหนา ก้านดอกสั้น กลีบเลี้ยงมี 3 กลีบ รูปร่างยาวรี ขนาดยาวประมาณ 5 เนติเมตร กว้าง 10 มิลลิเมตร ส่วนกลีบดอกก็มี 3 กลีบเช่นเดียวกันแต่มีขนาดเล็กกว่า สองกลีบด้านบนของดอกมีลักษณะคล้ายกลีบเลี้ยง ส่วนอีกกลีบเปลี่ยนรูปไปเป็นรูปปากแตร จะมีขนาดสั้นกว่ากลีบดอกอื่น ส่วนด้านในฐานของปากแตรมีสีม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ) การเปรียบเทียบลักษณะของวนิลา

พันธุ์		ลักษณะ		
V. albida	ผล	เป็นประเภท capsule ปกติเรียกว่าฝัก (pod) มีลักษณะคล้ายทรงกระบอกแคบมี 3 มุม ยาวประมาณ 8-12 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 10-15 มิลลิเมตร เมื่อฝักแห้งจะมีกลิ่นหอม มีเมล็ดเล็กสีดำมากมาย		
	ฤดูออกดอก	มกราคม	–	มีนาคม

ภาพที่ 1 ลักษณะของ *Vanlla planifolia*

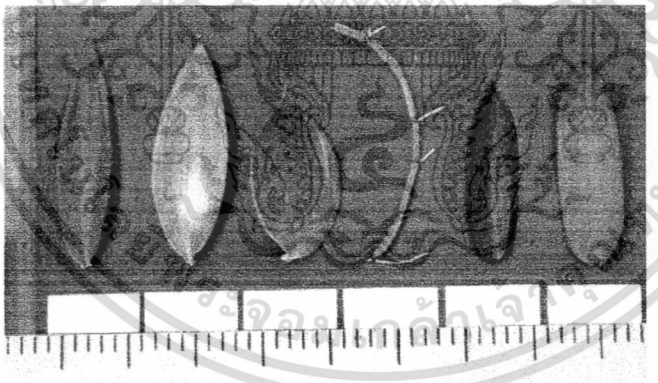
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2 ลักษณะของ *Vanlla siamensis*

ภาพที่ 3 ลักษณะของ *Vanlla pilifera*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 ลักษณะของ *Vanlla albida*

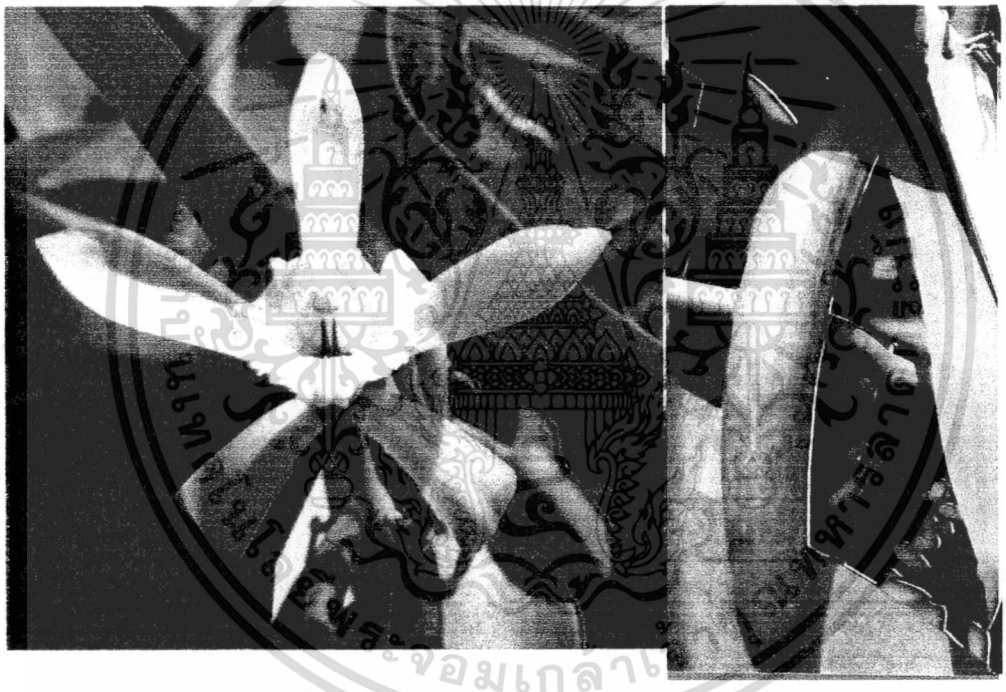


ภาพที่ 5 การเปรียบเทียบขนาด และลักษณะของใบวนิลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

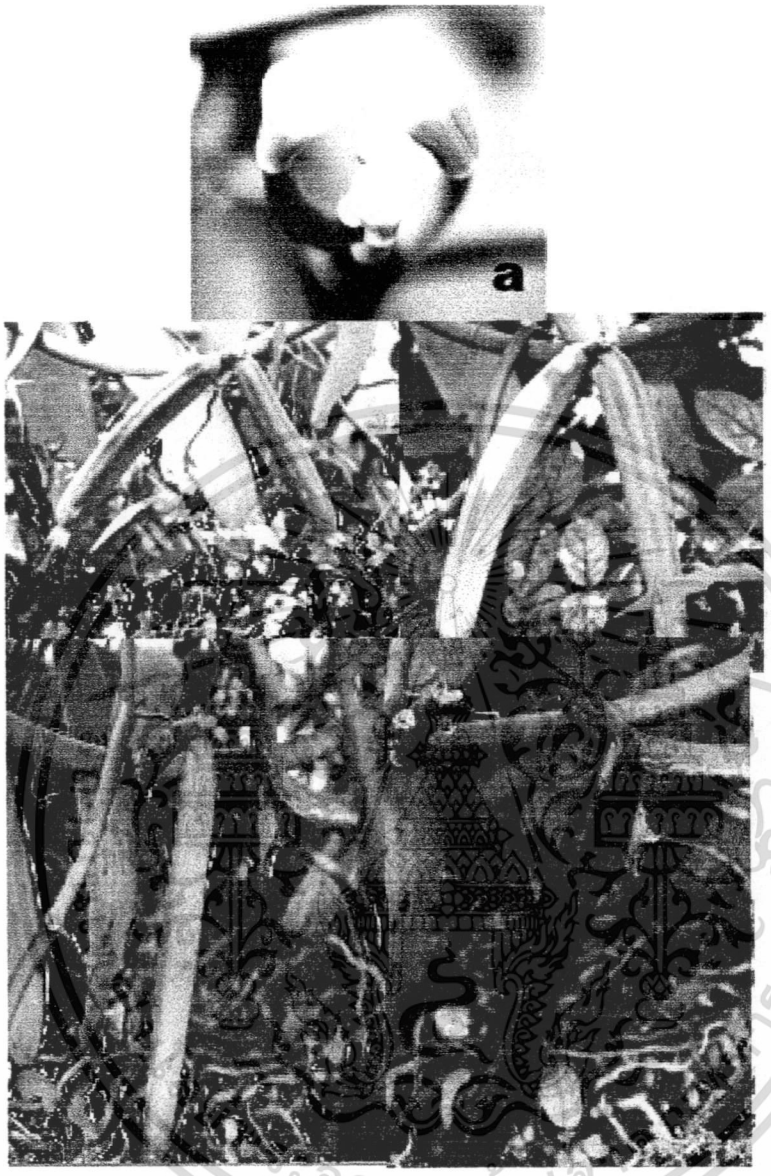
การศึกษาการออกดอกของวนิลาแต่ละสายพันธุ์

จากการสำรวจ เก็บข้อมูลช่วงระยะเวลาในการออกดอก ของวนิลาทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่า *Vanilla albida* สายพันธุ์เดียวที่ออกดอก (ภาพที่ 6) ในขณะที่อีก 3 สายพันธุ์ คือ *V. planifolia, V .siamensis,* และ *V. pilifera* ไม่การออกดอกเลย ซึ่ง *V. albida* สามารถออกดอกได้ในระหว่างเดือน ธันวาคม-กุมภาพันธ์ โดยออกดอกปีละหนึ่งครั้ง แต่ส่วนใหญ่ออกดอกในเดือนมกราคม และพัฒนาเป็นฝักแก่ในเดือนพฤศจิกายน ใช้เวลาในการพัฒนาจากดอกจนกระทั่งเป็นฝักที่เก็บเกี่ยวได้ประมาณ 10 เดือน (ภาพที่ 7) ส่วนเดือนมกราคมพบการออกดอกของ *V.albida* แต่ไม่พบการติดฝัก



ภาพที่ 6 ลักษณะของดอกและฝัก *Vanilla albida*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 การเจริญพัฒนาของฝัก *Vanilla albida*

a. ลักษณะช่อดอก

b. ลักษณะของฝัก อายุ 5 เดือน

c. ลักษณะของฝัก อายุ 9 เดือน

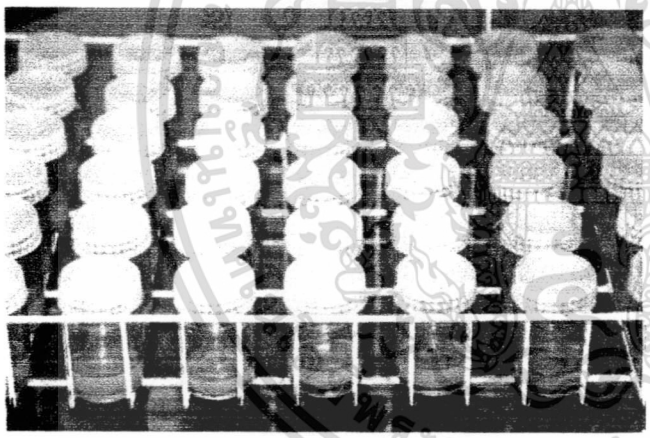
d. ลักษณะของฝัก อายุ 10 เดือน

e. ลักษณะของฝักสุก อายุ 11 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบเบื้องต้นในการขยายพันธุ์วานิลาด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

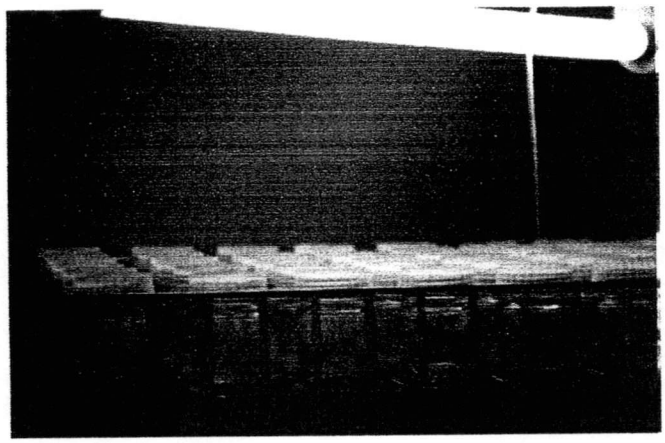
ทำการทดสอบเบื้องต้นในการขยายพันธุ์วนิลาจากเมล็ดในฝักวานิลา ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงใช้สูตร Vacin & Went (1949) ซึ่งมี ส่วนประกอบดังนี้ (มิลลิกรัม/ลิตร) คือ $Ca_3(PO_4)_2$ 200 มิลลิกรัม/ลิตร, KNO_3 525มิลลิกรัม/ลิตร, KH_2PO_4 250 มิลลิกรัม/ลิตร, $MgSO_4.7H_2O$ 250 มิลลิกรัม/ลิตร, $(NH_4)_2SO_4$ 500มิลลิกรัม/ลิตร, $FeSO_4.7H_2O$ 28 มิลลิกรัม/ลิตร, $MnSO_4.4H_2O$ 7.5 มิลลิกรัม/ลิตร, Na_2-EDTA 73 มิลลิกรัม/ลิตร, Sucrose 20,000 มิลลิกรัม/ลิตร, Agar 8000 มิลลิกรัม/ลิตร, น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร/ลิตร, Auxin - NAA (alfa-napthalene acetic acid) และ Cytokinin - BA (benzyladenine) จากการนำฝักวนิลา มาฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวด้วย sodium hypovhlorite 10 % แล้วใช้มีดลนไฟฆ่าเชื้อผ่าฝัก นำเอาส่วนเมล็ดมาเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้น บ่มไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-27 องศาเซลเซียส บนชั้น มีแสงที่มีความเข้มประมาณ 2,000 ลักซ์ เปิดไฟ 12-16 ชั่วโมง/วัน ปรากฏว่าเมล็ดไม่สามารถเจริญงอกออกมาเป็นต้นอ่อนได้ ดังแสดงในรูปที่ 7 -9



รูปที่ 7 ลักษณะการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้เมล็ดจากฝัก *Vanilla aphylla*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



รูปที่ 8 แสดงลักษณะการให้แสงสว่างในการเพาะเลี้ยงเมล็ดวานิลา

รูปที 9 เมล็ดของวานิลาที่เพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารสูตร Vacin & Went

จากการทดลองให้ข้อสังเกตว่า เมล็ดของวานิลายังไม่มีการงอก หรือเจริญพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ ซึ่งอาจจะมีสาเหตุมาจากอายุของฝักที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเป็นฝักที่ยังไม่แก่จัด การทดลองครั้งต่อไปจะทำการทดลองเปรียบเทียบอายุของฝักวนิลาที่จะนำมาใช้ขยายพันธุ์ และ การปรับปริมาณของฮอร์โมนที่ใช้ในการกระตุ้นการเจริญพัฒนาของเมล็ดวนิลาและอาหารยังไม่เหมาะสม

83911

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสำรวจโรค การแยกเชื้อสาเหตุ และจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรค

วนิลาที่ปลูกในพระตำหนักสวนปทุม เกิดการระบาดของโรค โดยแสดงอาการแผลไหม้ที่ส่วนของใบ ลำต้นและฝัก วานิลา จากการแยกเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค ของวนิลาสายพันธุ์ ได้แก่ *Vanilla planifolia V. siamensis V. pilifera* และ *V. albida* พบว่าเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนส โดยแยกได้จาก *V. planifolia* จำนวน 6 isolates ดังนี้จากลำต้น 1 isolate คือ PNT01 และจากใบ 5 isolates คือ PNL01, PNL02 (ภาพที่ 10) PNL03, PNL04 และ PNL05 (ตารางที่ 2 และตารางที่ 3) แยกจาก *V. siamensis* ได้ 1 isolate (จากลำต้น) คือ SMT01 และแยกจากใบได้ 5 isolates คือ SML01, SML02, SML03 (ภาพที่ 11) SML04 และ SML05 ดังแสดงในตารางที่ 2 และ ตารางที่ 4 ส่วน *V. pilifera* สามารถแยกจากลำต้นได้ 3 isolates คือ PFT01, PFT02 และ FT03 จากใบแยกได้ 3 isolates คือ PFL01, PFL02 และ PFL03 ดังแสดงในตารางที่ 2 และตารางที่ 5 (ภาพที่ 1/) และสายพันธุ์ *V. albida* พบว่าสามารถแยกได้เชื้อจากส่วนของใบที่เป็นโรค 6 isolates คือ ABL01, ABL02, ABL03, ABL04, ABL05 และ ABL06 ดังแสดงในตารางที่ 2 และตารางที่ 6 (ภาพที่ 13)

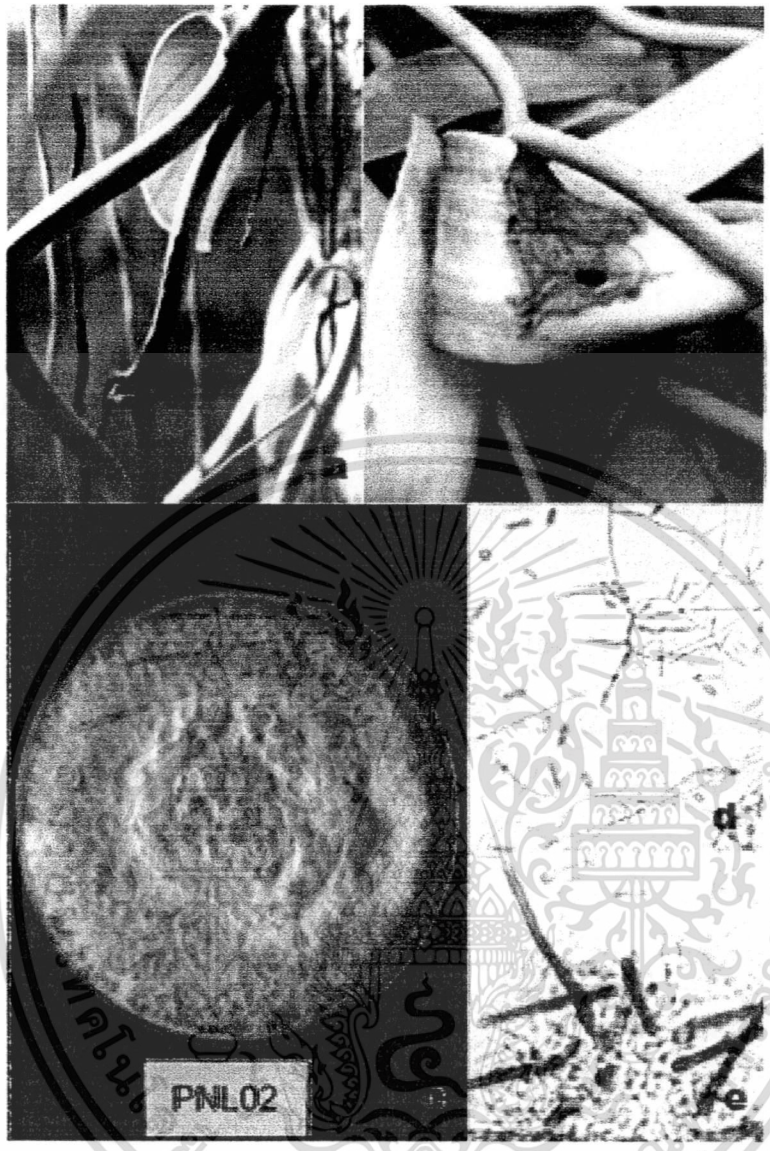
ตารางที่ 2 เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสที่แยกได้จากวนิลา

พันธุ์	จำนวน isolate ที่แยกได้		Isolates
	ลำต้น	ใบ	
Vanilla planifolia	1	5	PNT01, PNL01, PNL02, PNL03, PNL04, PNL05
Vanilla siamensis	1	5	SMT01, SML01, SML02, SML03, SML04, SML05
Vanilla pilifera	3	3	PFT01, PFT02, PFT03, PFL01, PFL02, PFL03
Vanilla albida	-	6	ABL01, ABL02, ABL03, ABL04, ABL05, ABL06

การศึกษาศึกษาความแตกต่างของ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของวนิลาที่แยกได้จากวนิลาสายพันธุ์ต่างๆ

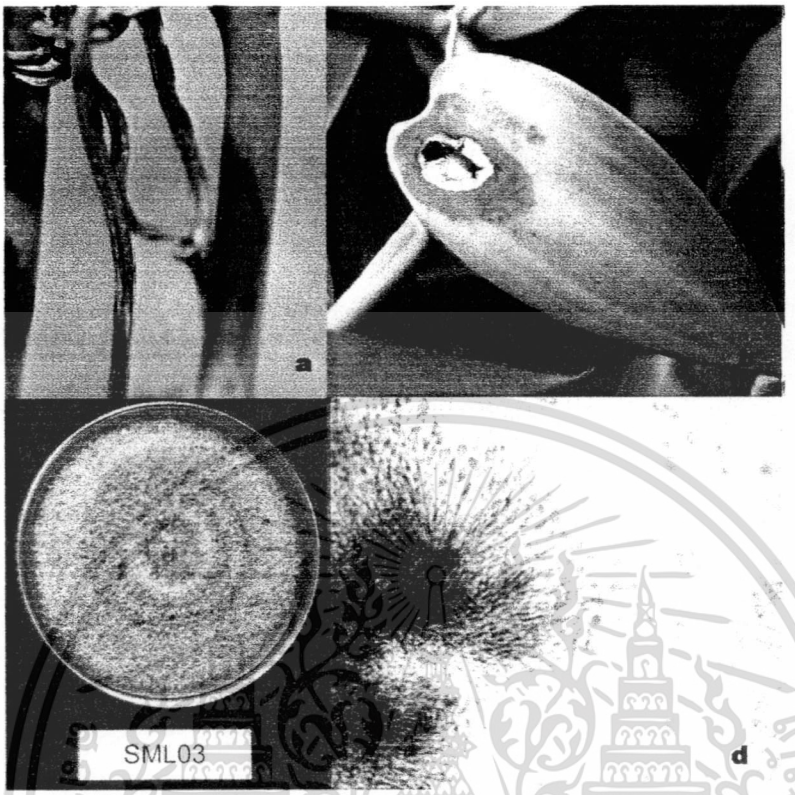
พบว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology)ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 24 isolates ที่แยกไดดังกล่าว มีความแตกต่างกัน ในลักษณะเจริญเติบโตของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ขนาดและรูปร่างของโครงสร้างต่างๆของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 อาการโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla planifolia* ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* isolate PNL02 a.ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสที่ลำต้นวนิลา b. ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสที่ใบวนิลา c. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน d. ลักษณะ conidia และเส้นใย ที่กำลังขยาย 400 เท่า e. ลักษณะ setae ที่กำลังขยาย 400 เท่า

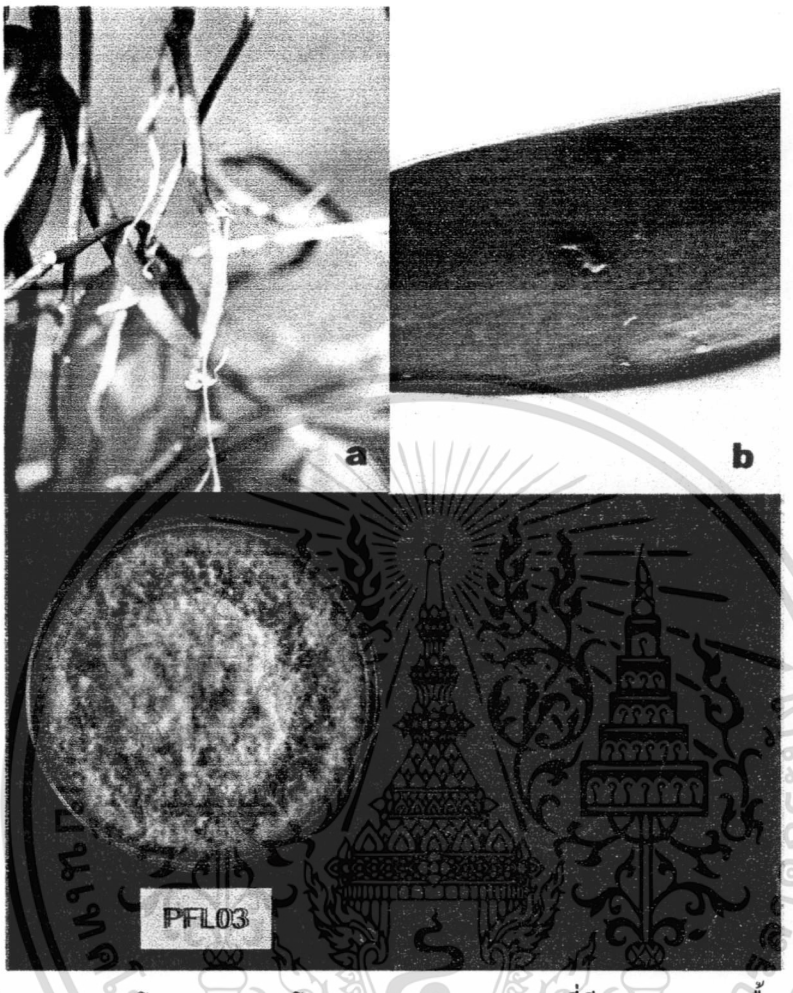
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 อาการโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla siamensis* ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* isolate SML03

a. ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสที่ลำต้นวนิลา
b. ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสที่ใบวนิลา
c. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน
d. ลักษณะ conidia และเส้นใย ที่กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 11 ลักษณะอาการโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla pilifera* ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* isolate PFL03

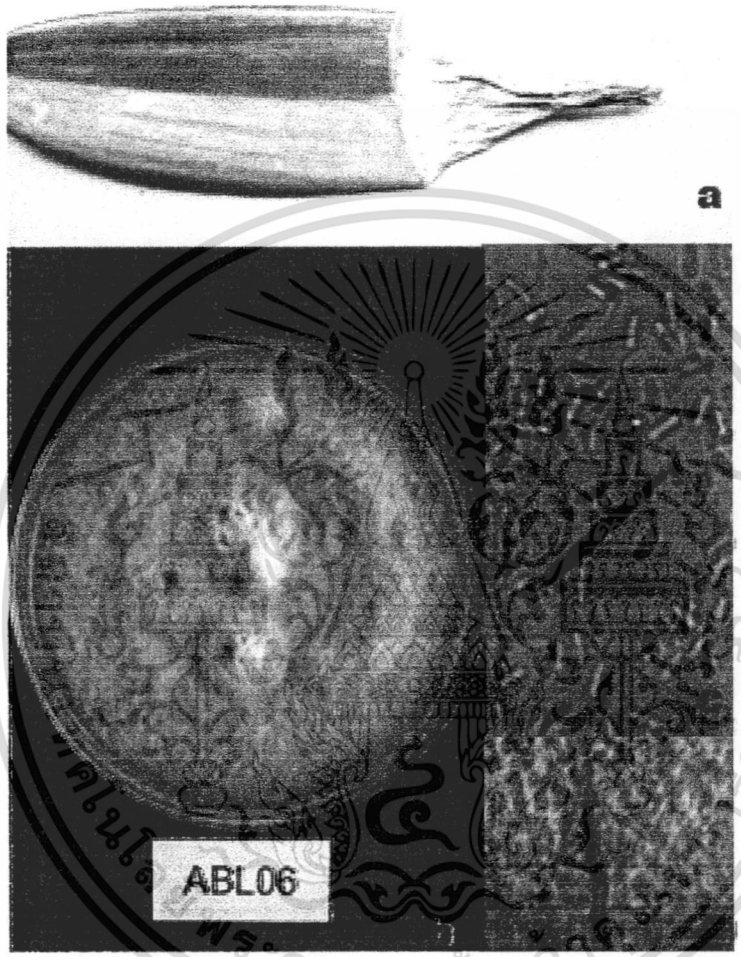
a. ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสที่ลำต้นวนิลา

b. ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสที่ใบวนิลา

c. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน

d. ลักษณะ conidia และเส้นใย ที่กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 ลักษณะอาการโรคแอนแทรคโนสของ *Vanilla albida* ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* isolate ABL06

a. ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสที่ใบวนิลา
b. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน
c. ลักษณะ conidia และเส้นใย ที่กำลังขยาย 400 เท่า
d. ลักษณะ setae ที่กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความสามารถของการเกิดโรค (Pathogenicity tests) ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* กับใบวนิลา โดยวิธีการ detached leaf

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสของเชื้อ *C. gloeosporioides* ที่แยกได้จากวนิลาแต่ละพันธุ์ เพื่อทดสอบกับวนิลาพันธุ์นั้นๆ โดยหลังจากปลูกเชื้อบนใบวนิลาที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุด และบ่มเชื้อในสภาพ moist chamber เป็นเวลา 10 วัน เมื่อทดสอบการเกิดโรคของเชื้อ *C. gloeosporioides* isolates PNT01, PNL01, PNL02, PNL03, PNL04 และ PNL05 บนใบ *Vanilla planifolia* พบว่าเชื้อราทั้ง 6 isolates ที่แยกได้มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

จากการทดลองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรค *Colletotrichum gloeosporioides* 4 isolates ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดบนใบวนิลาแต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ isolates PNL02, SML03, PFL03 และ ABL06 จึงนำเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 4 isolates นี้ไปใช้ในการทดลองต่างๆ

การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonists) ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคจาก isolate ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคสูงสุดในสภาพห้องปฏิบัติการ (bi-culture tests)

การเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA ระหว่างจุลินทรีย์ต่อต้านกับเชื้อรา *C. gloeosporioides* isolate PNL02, SML03, PFL03 และ ABL06 พบว่า *Trichoderma harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 4 isolates ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *T. hamatum* PC02, *Penicillium chrysogenum, Chaetomium cupreum* CC และ *Ch. globosum* CG การศึกษากลไกของจุลินทรีย์ต่อต้าน ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค *C. gloeosporioides* isolate PNL02, SML03, PFL03 และ ABL06 พบว่าเส้นใยของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *P. chrysogenum* เจริญเข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 4 isolates ซึ่งเรียกกลไกดังกล่าวว่า hyphal interference ดังแสดงในรูปที่ 13 ตารางที่ 3-4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การทดสอบจุลินทรีย์ต่อต้านในการยับยั้งโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของวนิลา ที่อายุ 10 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี *C. gloeosporioides* (ซม.)		C.V. (%)	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต(GI)[2/]
	Control	Bi-culture		
Ch. cupreum CC	9.00a[1/]	6.50b	0.64	27.78
Ch. globosum CG	9.00a	6.19b	0.44	31.22
T. harzianum PC01	9.00a	2.59b	4.18	71.22
T. hamatum PC02	9.00a	3.45b	1.47	61.67
P. chrysogenum	9.00a	4.79b	10.80	46.78

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

[2/] เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต (GI) = (R1 – R2 / R1) x 100; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของ *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของ *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

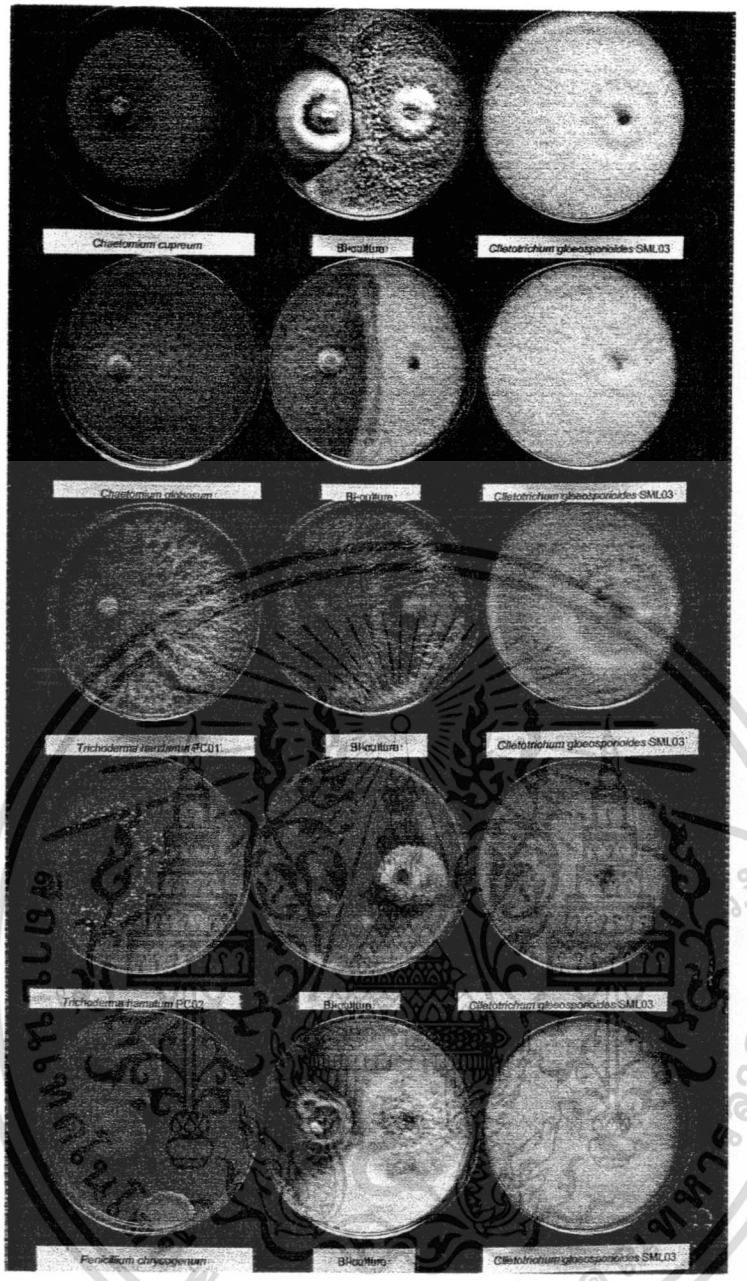
ตารางที่ 4 จุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยวิธี bi-culture ที่อายุ 10 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	จำนวนสปอร์ของ *C. gloeosporioides* ($x10^6$spore/ml)		C.V. (%)	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์(GI)[2/]
	Control	Bi-culture		
Ch. cupreum CC	54.38a[1/]	5.62b	19.17	89.66
Ch. globosum CG	52.50a	7.50b	37.62	85.71
T. harzianum PC01	54.38a	2.19b	25.17	95.97
T. hamatum PC02	56.64a	4.22b	22.78	92.55
P. chrysogenum	48.75a	13.75b	27.52	71.79

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันตามแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

[2/] เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์ (GI) = (R1 – R2 / R1) x 100; R1 = จำนวนสปอร์ของ *C. gloeosporioides* ใน control, R2 = จำนวนสปอร์ของ *C. gloeosporioides* ใน bi-culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



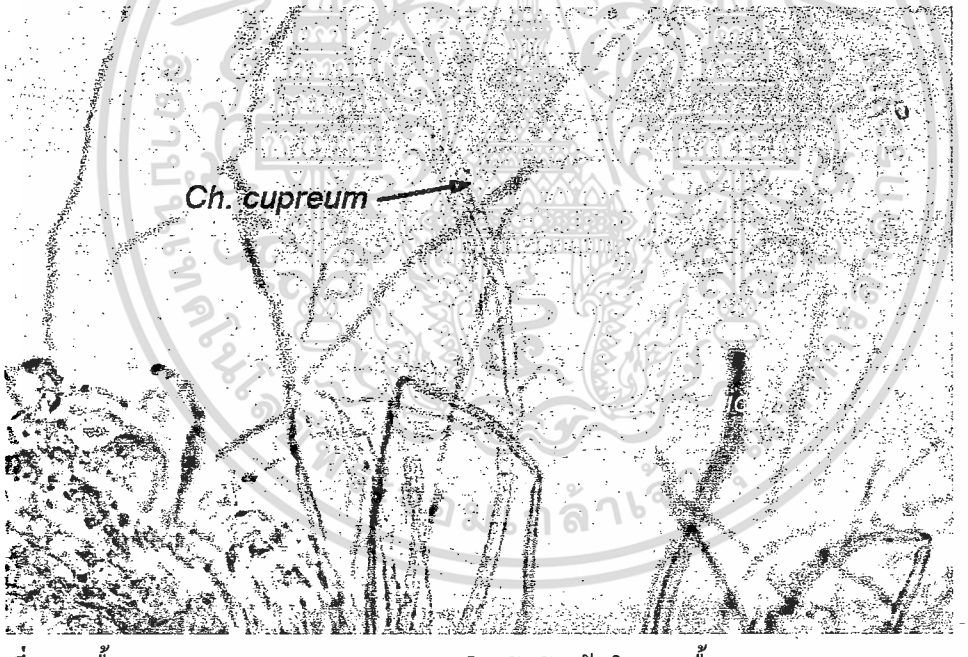
ภาพที่ 13 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้านร่วมกับเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (bi-culture test) ที่อายุ 10 วัน

a. *Chaetomium cupreum* CC
b. *Chaetomium globosum* CG
c. *Trichoderma harzianum* PC01
d. *Trichoderma hamatum* PC02
e. *Penicillium chrysogenum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

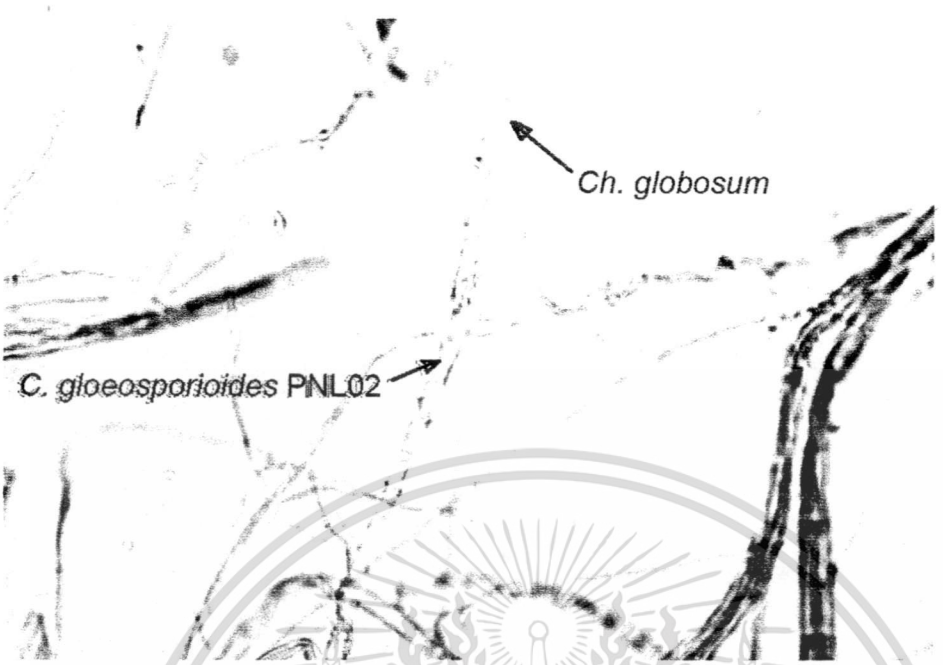
การศึกษากลไกของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของวนิลา ได้แก่ *Colletotrichum gloeosporioides*

จากการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ *Chaetomium cupreum* CC, *C. globosum* CG, *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* กับเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของวนิลา 4 สายพันธุ์ ได้แก่ isolate PNL02, SML03, PFL03 และ ABL06 โดยตรวจดูลักษณะของเส้นใยของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านจากบริเวณที่เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านเจริญเข้าปกคลุมโคโลนีของเชื้อ *C. gloeosporioides* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (bi-culture plate) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านทั้ง 5 ชนิด สามารถเจริญเข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ทั้ง 4 isolates ดังกล่าวได้ (ภาพที่ 14-18)

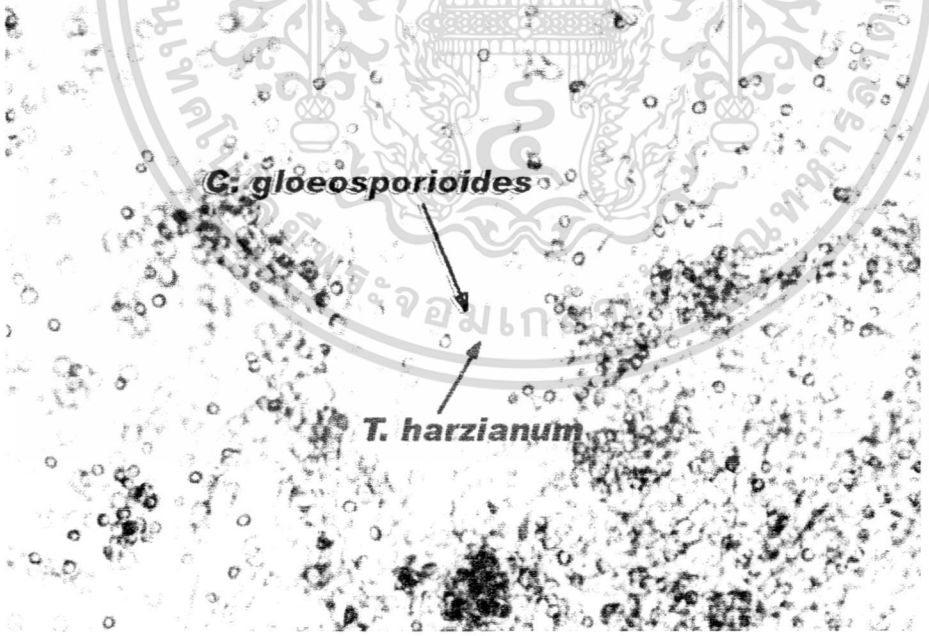


ภาพที่ 14 เชื้อรา *Chaetomium cupreum* CC เจริญพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* PNL02 (กำลังขยาย 400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

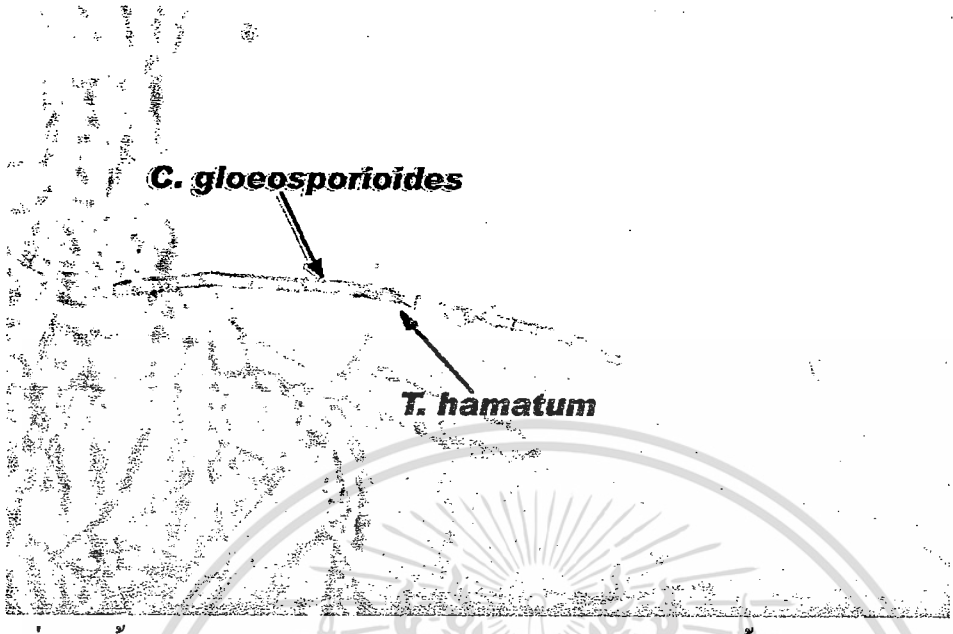


ภาพที่ 15 เชื้อรา *Chaetomium globosum* CG เจริญพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* PNL02 (กำลังขยาย 400 เท่า)

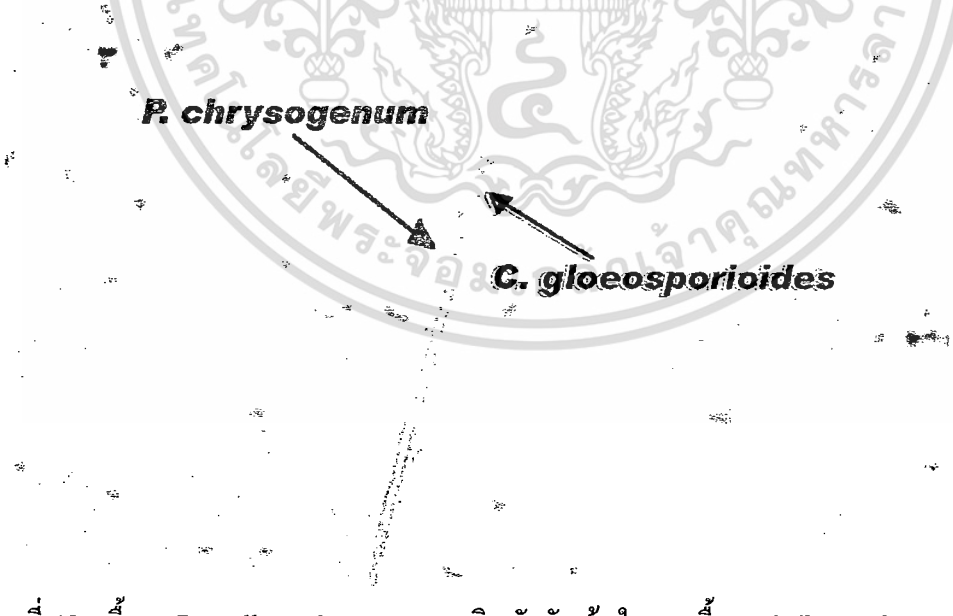


ภาพที่ 16 เชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 เจริญพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* PNL02 (กำลังขยาย 400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 17 เชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 เจริญพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* PNL02 (กำลังขยาย 400 เท่า)



ภาพที่ 18 เชื้อรา *Penicillium chrysogenum* เจริญพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* PNL02 (กำลังขยาย 400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษากลไกของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

สารสกัดหยาบ (crude extract) ของ *Ch. cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *P. chrysogenum* ที่สกัดโดยใช้ ethanol และนำสารสกัดหยาบมารวมกันเป็นสารสกัดรวม พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate PNL02, SML03, PFL03 และ ABL06 ได้ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สารสกัดรวมจากจุลินทรีย์ต่อต้าน ที่มีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* PNL02 ที่อายุ 5 วัน

ระดับความเข้มข้น ppm.	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ปริมาณการสร้างสปอร์ ($x10^6$)	% ยับยั้งการเจริญเติบโต[1/]	% ยับยั้งการสร้างสปอร์[1/]
0	5.00a[2/]	20.38a		
10	4.60ab	10.47b	9.00 b	48.62b
50	4.32 b	4.31c	13.50 b	80.07a
100	4.12bc	3.47c	17.50ab	82.98a
500	3.68 c	1.81c	26.50 a	91.11a
C.V. (%)	4.87	26.55	27.66	7.53

[1/] % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการสร้างสปอร์ของเชื้อ = (เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบน control plate – เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบน Treated plate / เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อราบน control plate) x 100

[2/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment meam แบบ Duncan's Multiple Range Test

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ (bioproducts) ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของวนิลา

การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดผง ได้แก่ คีโตเมี่ยม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลี่ยม และมิกซ์เจอร์ ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของวนิลา 4 สายพันธุ์ ในกระถางทดลอง พบว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์คีโตเมี่ยม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลี่ยม และมิกซ์เจอร์ชนิดผง มีระดับการเกิดโรคลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบ (ไม่ใช้วิธีการใด) โดยวิธีการที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์ทุกชนิดมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง 33-60 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองในสภาพแปลงปลูกที่พระตำหนักปทุมธานี พบว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดผงของดีโตเมี่ยม ไตรโคเดอร์มา เพนนิซิลเลี่ยม และมิกซ์เจอร์ ในอัตรา 5 กรัมต่อต้น โรยรอบโคนต้นทุก 4 เดือน และใช้ฉีดพ่นที่ส่วนบนโดยใช้อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ร่วมกับสารสกัดรวมของจุลินทรีย์ต่อต้าน ในอัตรา 50 มิลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทุก 15 วัน เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าชีวผลิตภัณฑ์ทุกชนิดที่ทดลองสามารถลดการเกิดโรคแอนแทรกโนสได้ 31-50 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 6 เดือน ดังแสดงในตารางที่ 6 - 9

ตารางที่ 6 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนต้นวนิลาสายพันธุ์ *Vanilla planifolia* ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 6 เดือน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค[1/]				เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค[2/]		
	ก่อนการทดลอง	3 เดือน	6 เดือน	เฉลี่ย	3 เดือน	6 เดือน	เฉลี่ย
Control	4.50a[3/]	4.50a	3.75a	4.25	-	-	-
ดีโตเมี่ยม	3.25a	2.50b	2.25b	2.67	44.44	40.00	42.22
ไตรโคเดอร์มา	4.00a	2.75b	2.50b	3.08	38.89	33.33	36.11
เพนนิซิลเลี่ยม	4.50a	4.25a	3.50a	4.08	5.56	6.67	6.12
มิกซ์เจอร์	3.25a	2.50b	2.25b	2.67	44.44	40.00	42.22
C.V. (%)	16.38	18.14	16.02				

[1/] ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส (Disease Index, DI) ดังนี้ ระดับ1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น ระดับ2 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 1-20 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ3 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 21-40 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ4 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 41-60 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ5 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 61-80 เปอร์เซ็นต์ของเถา และระดับ6 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของเถา

[2/] เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ – ระดับการเกิดโรคในแต่ละ วิธีการ) / ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ x 100

[3/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนต้นวนิลาสายพันธุ์ *Vanilla siamensis* ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 6 เดือน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค[1/]				เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค[2/]		
	ก่อนการทดลอง	3 เดือน	6 เดือน	เฉลี่ย	3 เดือน	6 เดือน	เฉลี่ย
Control	5.25a[3/]	5.25a	5.50a	5.33			
คีโตเมี่ยม	4.50a	4.25a	3.50b	4.08	19.05	36.36	27.70
ไตรโคเดอร์มา	5.25a	5.00a	4.25ab	4.83	4.76	22.73	13.74
เพนนิซิลเลี่ยม	4.75a	4.50a	4.50ab	4.8	14.28	18.18	16.23
มิกซ์เจอร์	4.75a	4.50a	3.75b	4.33	14.28	31.81	23.04
C.V. (%)	8.74	10.46	13.92				

[1/] ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส (Disease Index, DI) ดังนี้ ระดับ1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น ระดับ2 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 1-20 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ3 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 21-40 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ4 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 41-60 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ5 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 61-80 เปอร์เซ็นต์ของเถา และระดับ6 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของเถา

[2/] เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ – ระดับการเกิดโรคในแต่ละ วิธีการ) / ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ x 100

[3/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนต้นวนิลาสายพันธุ์ *Vanilla pilifera* ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 6 เดือน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค[1/]				เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค[2/]		
	ก่อนการทดลอง	3 เดือน	6 เดือน	เฉลี่ย	3 เดือน	6 เดือน	เฉลี่ย
Control	4.25a[3/]	5.00a	4.50a	4.58			
คีโตเมี่ยม	3.50a	3.50b	2.50b	3.17	30.00	44.44	37.22
ไตรโคเดอร์มา	4.00a	3.25b	2.50b	3.25	35.00	44.44	37.22
เพนนิซิลเลี่ยม	4.00a	4.00ab	3.00ab	3.67	20.00	33.33	26.66
มิกซ์เจอร์	3.50a	3.50b	2.25b	3.08	30.00	50.00	40.00
C.V. (%)	10.06	15.37	24.76				

[1/] ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส (Disease Index, DI) ดังนี้ ระดับ1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น ระดับ2 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 1-20 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ3 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 21-40 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ4 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 41-60 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ5 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 61-80 เปอร์เซ็นต์ของเถา และระดับ6 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของเถา

[2/] เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ – ระดับการเกิดโรคในแต่ละ วิธีการ) / ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ x 100

[3/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนต้นวนิลาสายพันธุ์ *Vanilla albida* ก่อนและหลังการทดลองในสภาพแปลงปลูก ที่ระยะเวลา 6 เดือน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค[1/]				เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค[2/]		
	ก่อนการทดลอง	3 เดือน	6 เดือน	เฉลี่ย	3 เดือน	6 เดือน	เฉลี่ย
Control	3.75a[3/]	4.00a	3.75a	3.83			
คีโตเมี่ยม	2.50b	2.50b	2.25b	2.42	37.50	40.00	38.75
ไตรโคเดอร์มา	2.25b	2.25b	2.75ab	2.42	43.75	26.67	35.21
เพนนิซิลเลี่ยม	2.50b	2.75b	2.25b	2.50	31.25	40.00	35.62
มิกซ์เจอร์	2.00b	2.25b	2.50b	2.25	43.75	33.33	38.54
C.V. (%)	20.77	17.25	17.24				

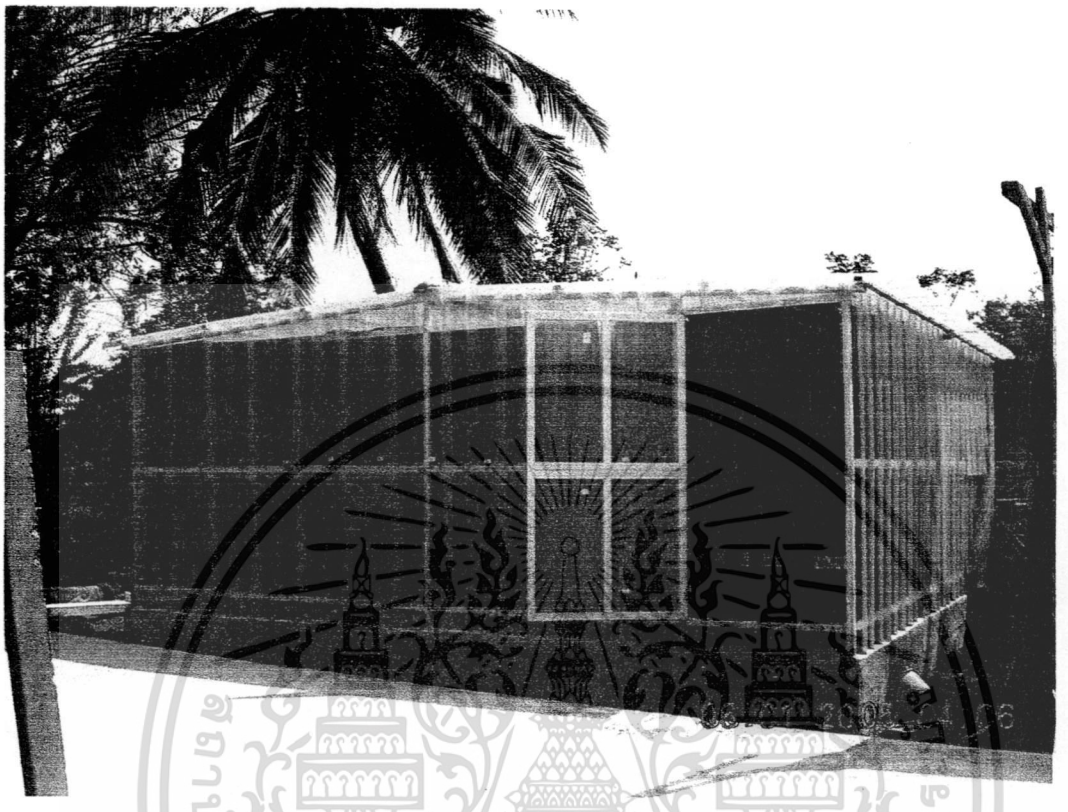
[1/] ระดับการเกิดโรคแอนแทรคโนส (Disease Index, DI) ดังนี้ ระดับ1 = ไม่พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น ระดับ2 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 1-20 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ3 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 21-40 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ4 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 41-60 เปอร์เซ็นต์ของเถา ระดับ5 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น 61-80 เปอร์เซ็นต์ของเถา และระดับ6 = พบอาการของโรคที่ส่วนใบหรือลำต้น มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของเถา

[2/] เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ – ระดับการเกิดโรคในแต่ละ วิธีการ) / ระดับการเกิดโรคของการทดลองเปรียบเทียบ x 100

[3/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะโรงเรือนวนิลา



วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาวนิลา 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Vanilla planifolia, V. siamensis, V. pilifera* และ *V. albida* ที่ปลูกในบริเวณพระตำหนักสวนปทุม จังหวัดปทุมธานี ปรากฏว่า *V. albida* มีการออกดอกในช่วงเดือนธันวาคม ถึงกุมภาพันธ์ ปีละครั้ง ซึ่งพบว่า *V. albida* ออกดอกถึงฝักแก่ ใช้เวลาประมาณ 10 เดือน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร โดย วราวุธ ชูธรรมธัช (2536) กล่าวว่าวนิลาที่ปลูกแซมในสวนมะพร้าวที่ศูนย์วิจัยฯ มีการออกดอกปีละครั้ง ในระหว่างเดือน มกราคม- เมษายน นอกจากนี้ในช่วงระยะเวลาวิจัย วนิลาอีกสามสายพันธุ์ยังไม่มีการออกดอก *V. albida* มีการออกดอก แต่ไม่ติดฝัก ทั้งนี้มีรายงานสนับสนุนจาก กลุ่มพืชสมุนไพร และเครื่องเทศ (2543)ว่า ดอกของวนิลาจำเป็นต้องช่วยผสมเกสร มิฉะนั้นจะไม่ติดฝัก ซึ่งโดยช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผสมเกสรคือ ช่วงเช้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิจัยปรากฏว่าพบการระบาดของโรคแอนแทรคโนสที่ส่วนใบและลำต้น ของวนิลาทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Vanilla planifolia, V. siamensis, V. pilifera* และ *V. albida* ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่ง George (1973) รายงานเช่นเดียวกันว่าแอนเทรคโนสเป็นโรคที่สำคัญของวนิลา มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Glomerella vanillae* (Zimm.) Petch & Ragun ซึ่งเป็น Telemorph ของเชื้อรา *Colletotrichum sp.* ในขณะที่ Sasikumar (1992) รายงานว่าพบโรคแอนแทรคโนส ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Calosporn vanillae* ในประเทศอินเดีย จากการวิจัยนี้ปรากฏว่ายังไม่เคยมีรายงานมาก่อนว่าพบอาการแอนแทรกโนสของวนิลา ที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides*

จากการการเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA ระหว่าง *T. harzianum* PC01 กับเชื้อรา *C. gloeosporioides* isolates PNL02, SML03, PFL03 และ ABL06 จะเห็นว่า *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางด้านโคโลนีและการสร้างสปอร์ได้ทุก isolates ที่ทำการทดสอบ สำหรับการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า เชื้อจุลินทรีย์ ต่อต้านที่นำมาทดลอง ได้แก่ *Ch. cupreum CC, Ch. cupreum CG, T. harzianum PC01, T. hamatum PC02* และ *P. chrysogenumKMITL 44* มีกลไกการควบคุม (control mechanism) ที่เรียกว่า hyphal interference กล่าวคือเส้นใยจุลินทรีย์ต่อต้านที่ใช้ทดสอบสามารถเจริญพันรัดเส้น ใยเชื้อสาเหตุโรค ทำให้เชื้อสาเหตุโรคมีการเจริญผิดปกติ ในขณะที่แสงมณี ชิงดวง และคณะ (2540) รายงานว่า เชื้อรา *T. harzianum* สร้างเส้นใยพันเป็นวงรัดรอบเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรค *P. parasitica* และ *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำของวนิลา โดยเจาะเข้าไปแย่งอาหารภายใน ทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคถูกทำลาย อย่างไรก็ตาม Dos Santos (2001) รายงานว่า เส้นใยของเชื้อ *Trichoderma* spp. เจริญเข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรค *C. acutatum* เช่นเดียวกับ De Melo, I.S. (2000) พบว่า เส้นใยของ *T. harzianum* สามารถเจริญพันรอบเส้นใยของ *R. solani* และแทงทะลุเส้นใยทำให้เส้นใยถูกทำลายอีกด้วย นอกจากนี้ยังทำให้เซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคถูกทำลายเสียรูปร่างไปอีกด้วย นอกจากนี้ Sodsaart and Soytong (1999) รายงานว่า เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. cupreum* และ *Ch. globosum* สามารถสร้างเส้นใยเจริญไปพันรัดเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าพริกไทย(*P palmivora)* จนไม่สามารถเจริญต่อไปได้ และสร้างสารพิษออกมาย่อยสลายเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคอีกด้วย

จากผลการทดลองปรากฏว่าการใสารสกัดรวม (Crude Extract's Mixture, CEM) จาก*Ch. cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *P. chrysogenum* KMITL 44 สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* ทั้ง 4 isolates ได้ โดยมีค่าการยับยั้งการสร้างสปอร์ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED_{50}) ของ *C. gloeosporioides* PNL02, SML03, PFL03 และ ABL06 เท่ากับ 8.56, 2.03, 6.57 และ 5.85 ppm. ตามลำดับ ซึ่งเคยมีรายงานของ Meepeung and Soytong (2004) รายงานว่า ในการใช้สารสกัดรวม (CEM) จาก *Ch. cupreum* CC, *Ch. globosum* CG, *Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และ *Penicillium chrysogenum* KMITL 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา 6 เดือน ปรากฏว่า ชีวผลิตภัณฑ์ทุกชนิดที่ใช้ทดสอบในแปลงปลูก *V. planifolia, V. siamensis, V. pilifea, V. albida* สามารถป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสได้

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มพืชสมุนไพรและเครื่องเทศ. 2543. **คู่มือสมุนไพรและเครื่องเทศ ชุดที่4 เครื่องเทศ.** กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร.

ประยูร สมฤทธิ์. 2544. "การปลูกวนิลา." **เอกสารประกอบการฝึกอบรมอาจารย์จากกองวิทยาลัยเกษตรกรรมและกองการศึกษาอาชีพ กรมอาชีวศึกษา.** กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วราวุธ ชูธรรมธัช. 2536. **วนิลา.** ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร กรมวิชาการเกษตร.

วราวุธ ชูธรรมธัช และ อรุณ เลียววสุต. 2535. "วนิลา." **กสิกร** 65(3). 297 - 300.

แสงมณี ชิงดวง, เอี่ยน ศิลาย้อย, ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช, สมถวิล ศศิผลิน และ เสริมศักดิ์ รักธรรม. 2536. "โรคเน่าดำของวนิลา." **เคหการเกษตร** 17(5) : 170 - 172.

อบฉันท์ ไทยทอง. 2543. **กล้วยไม้เมืองไทย.** บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.

Ames, O. and Correll, D. S. 1985. **Orchids of Guatemala and Belize.** Dover publications, New York.

Bhai, R. S. and Thomas, J. 2000. "Phytophthora rot a New Disease of Vanilla (*Vanilla planifolia* Andr.) in India." **Journal of Spices and Aromatic Crops** 9(1) : 73 - 75.

Comber, J. B. 1990. **Orchids of Java.** Charoen Silp Press, Bangkok.

George, F. N. 1973. **Bacterial and Fungi Disease of Plants in the Tropics.** University of Florida Press, U.S.A.

Havkin-Frenkel, D., Podstolski, A. and Knorr, D. 1996. "Effect of Light on Vanillin Precursors Formation by *In Vitro* Cultures of *Vanilla planifolia*." **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 45(-) : 133 - 136.

Hawkes, A. D. 1965. **Encyclopaedia of Cultivated Orchids.** Faber and Faber Limited, London.

Heywood, V. H. 1985. **Flowering Plants of the World.** Croom Helm Publishers, London.

Seidenfaden, G. and Smitinand, T. 1958. **The Orchids of Thailand.** The Siam Society, Bangkok.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้