

1350  
14654



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

เรื่อง

การคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อราในการควบคุมผักตบชวา

Selection of Fungal Species for Biological Control of Waterhyacinth

โดย

นางสาว เรือนแก้ว ประพฤติ

ได้พิจารณาเห็นชอบแล้ว  
ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

( รศ. ดร. เกษม สร้อยทอง )

วันที่... / ... เดือน... พ.ศ. 38



ภาควิชารับรองแล้ว

( อ. สำเร็จ คำทอง )

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 99096
วัน,เดือน,ปี..... 17 JUN 2022

13 ต.ค. 2565

ร.พ.

๖๘๖๓

๒๕๖๕

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มาไปใช้



ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

เรื่อง

การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราในการควบคุมผักตบชวา

Selection fo Fungal Species for Biological Control of Waterhyacinth

โดย

นางสาว เรือนแก้ว ประพฤติ

รศ. ดร. เกษม สร้อยทอง  
อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ( เกษตรศาสตร์ )

พ. ศ. 2538

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การคัดเลือกสายพันธุ์ในการควบคุมผักตบชวา

โดย : นางสาวเรือนแก้ว ประพฤติ

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตร์บัณฑิต ( เกษตรศาสตร์ )

ภาควิชา : เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

ประธานกรรมการที่ปรึกษา : 

( รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง )

วันที่ ...../..... เดือน ..... พ.ศ. ....

การแยกเชื้อจากใบผักตบชวาที่แสดงอาการของโรคโดยวิธี tissue transplanting สามารถจัดจำแนกได้ 5 Species ซึ่งเป็นสาเหตุโรคของผักตบชวาได้แก่ *Curvularia lunata* var. *aeria* No. 0102, *Alternaria raphani* No. 0201, *Alternaria cinerariae* No. 0202, *Alternaria tenuissina* No. 0203 และ *Rhizoctonia solani* No. 0301 และพบว่า *A. tenuissina* มีระดับการเกิดโรครุนแรงมากที่สุดและเมื่อนำเชื้อรา *A. tenuissina* ไปทดสอบกับพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ ถั่วฝักยาว , ถั่วเขียว , ถั่วลิสง , แตงกวา , ผักบุ้งจีน , พริกชี้ฟ้า , มะเขือเทศ , มะเขือเปราะ , ผักทอง, ข้าวโพด พบว่าเชื้อรา *A. tenuissina* ไม่สามารถทำให้เกิดโรคกับพืชทดสอบชนิดใดเลย สำหรับการทดสอบความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคกับผักตบชวา โดยการปลูกเชื้อปรากฏว่าเชื้อรา *A. tenuissina* มีความสามารถในการก่อโรครุนแรงที่สุด รองลงมาคือเชื้อรา *A. cinerariae* , *A. raphani* , *Rhizoctonia solani* และ *Curvularia lunata* var. *aeria* ตามลำดับ การเพิ่มปริมาณเชื้อราในอาหารแต่ละชนิดคือ PDA, OMA, CMA ที่ระดับอุณหภูมิ 8c , 28c , 30c ผลปรากฏว่า *A. tenuissina* สามารถเพิ่มจำนวนได้ดีในอาหาร PDA รองลงมาคือ OMA และ CMA ที่ระดับอุณหภูมิ 30c , 28c , และ 8c ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


## Abstract

Title : Selection of Fungal Species for Biological Control of Waterhyacinth.

By : Reankeaw Praphet

Degree : Bachelor of Science ( Agriculture )

Department : Plant Pest Management Technology

Advisor :   
( Assoc . Prof. Dr. Kasem soytong )

Fungal diseases of waterhyacinth were isolated by using tissue transplanting method. Five isolate were identified to 5 species as follows :- *Curvularia lunata* var. *aeria* No. 0102, *Alternaria raphani* No. 0201, *Alternaria cinerariae* No. 0202, *Alternaria tenuissima* No. 0203, *Rhizoctonia solani* No. 0301. These were tested for pathogenicity to waterhyacinth. Results showed that all tested isolates could cause symptom on the tested waterhyacinth. *Alternaria tenuissima* had the only highest disease level when compared with other isolates and followed by isolates No. 0202, 0201, 0301, and No. 0102. *Alternaria tenuissima* were tested for pathogenicity to several economics plants such as Yard long bean ( *Vigna sinensis* ( L. ) Savi ex Hassk . ) , Tomato ( *Solanum torvum* Swartz. , Mung bean ( *Vigna radiata* Wilzcek. ) , Ground nut ( *Arachis hypogaea* L. ) , Cucumber ( *Cucumis sativus* L. ) , Water conunlvulus ( *Impomoea aqtica* Fork ). Seur pepper ( *Capsicum frutescen* L. ) , Tomato ( *Lycopersical esculentum* ) , Pumpkin ( *Cucurbita moschata* ) and Corn ( *Zea mays* ). Results showed that *A. tenuissima* could not cause any symptom on the teted plants. The growth rate of *A. tenuissima* in PDA, OMA and CMA which incubated at 8c , 28c and 30c were compared that the fungus no PDA grew better than on OMA and CMA. The optimun temperature was 30 c and followed by 28c and 8c respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนิยม

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เกษม สร้อยทอง ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการ  
ศัตรูพิช คณะเทคโนโลยีการเกษตร ประชานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะ  
นำข้อบกพร่องต่างๆ ของปัญหาพิเศษเล่มนี้ จนกระทั่งสำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี และขอขอบคุณเจ้า  
หน้าที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช เจ้าหน้าที่ตึกเห็ดรา ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพิช  
คณะเทคโนโลยีการเกษตร ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจและทุนทรัพย์ในการทำ  
ปัญหาพิเศษเล่มนี้

เรณแก้ว ประพฤติ

เรณแก้ว ประพฤติ

31 พฤษภาคม 2538

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	( 2 )
สารบัญตารางผนวก	( 3 )
สารบัญภาพ	( 4 )
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลอง	14
วิจารณ์ผลการทดลอง	58
สรุปผลการทดลอง	60
เอกสารอ้างอิง	61
ภาคผนวก	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. เชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างใบผักตบชวา ใน Sub- division ต่างๆ	14
2. เปรียบเทียบระดับการเกิดโรค	29
3. แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา <i>A. tenuissima</i> No. 0203	36
4. แสดงน้ำหนักแห้งของเส้นใยเชื้อราที่เลี้ยงในอาหาร	37



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

( 3 )

### สารบัญตารางภาคผนวก

	หน้า
ตารางภาคผนวกที่	
1. แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าระดับการเกิดโรคของผักตบชวา	63
2. แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการเจริญเติบโตในอาหาร PDA, OMA, CMA ที่อุณหภูมิ 8c , 28c , 30c	64
3. แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติในการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว	65



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ฝั <i>Curvularia lunata</i> var. <i>aeria</i> ( Batista , Lima & Vasconcelas )	17
2. ฝั <i>Alternaria raphani</i> Groves & Skolko	18
3. ฝั <i>A. cinerariae</i> Hori & Enjoji	19
4. ฝั <i>A. tenuissina</i> ( Kunze ex Pers )	20
5. ฝั <i>Rhizoctonia solani</i> Kuehu	21
6. แสดงการปลูกผักตบชวาในกระถาง สำหรับใช้ในการทดลองปลูกเชื้อ	23
7. แสดงอาการโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>Curvularia lunata</i> var. <i>aeria</i> No. 0102	24
8. แสดงอาการโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>Alternaria raphani</i> No.0201	25
9. แสดงอาการโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>A. cinerariae</i> No.0202	26
10. แสดงอาการโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>A. tenuissina</i> No. 0203	27
11. แสดงอาการโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>Rhizoctonia solani</i> No.0301	28
12. แสดงอาการโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>Curvularia lunata</i> var. <i>aeria</i> No. 0102 หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน	29
13. แสดงอาการโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>Alternaria raphani</i> No.0201 หลังการปลูก เชื้อ 7 วัน	30
14. แสดงอาการ โรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>A. cinerariae</i> No.0202 หลังการปลูก เชื้อ 7 วัน	31
15. แสดงอาการ โรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>A. tenuissina</i> No. 0203 หลังการปลูก เชื้อ 7 วัน	32
16. แสดงอาการ โรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>Rhizoctonia solani</i> No.0301 หลังการปลูก เชื้อ 7 วัน	33
17. แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Alternaria tenuissina</i> No.0203 บนอาหาร	38

18. แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Alternaria tenuissima</i> No.0203 บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 28°c	39
19. แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Alternaria tenuissima</i> No.0203 บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30°c	40
20. แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Alternaria tenuissima</i> No.0203 บนอาหาร OMA ที่อุณหภูมิ 8°c	41
21. แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Alternaria tenuissima</i> No.0203 บนอาหาร OMA ที่อุณหภูมิ 28°c	42
22. แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Alternaria tenuissima</i> No.0203 บนอาหาร OMA ที่อุณหภูมิ 30°c	43
23. แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Alternaria tenuissima</i> No.0203 บนอาหาร CMA ที่อุณหภูมิ 8°c	44
24. แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Alternaria tenuissima</i> No.0203 บนอาหาร CMA ที่อุณหภูมิ 28°c	45
25. แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา <i>Alternaria tenuissima</i> No.0203 บนอาหาร CMA ที่อุณหภูมิ 30°c	46
26. แสดงต้นถั่วฝักยาวที่ไม่เกิดโรค	48
27. แสดงต้นมะเขือเปราะที่ไม่เกิดโรค	49
28. แสดงต้นถั่วเขียวที่ไม่เกิดโรค	50
29. แสดงต้นถั่วลันเตาที่ไม่เกิดโรค	51
30. แสดงต้นแตงกวาที่ไม่เกิดโรค	52
31. แสดงต้นผักบุ้งจีนที่ไม่เกิดโรค	53
32. แสดงต้นพริกชี้ฟ้าที่ไม่เกิดโรค	54
33. แสดงต้นมะเขือเทศที่ไม่เกิดโรค	55
34. แสดงต้นฟักทองที่ไม่เกิดโรค	56
35. แสดงต้นข้าวโพคที่ไม่เกิดโรค	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนำ

ผักตบชวา ( Water hyacinth ; *Eichhornia crassipes* ( Mart.) Solms.) เป็นวัชพืชน้ำที่เจริญเติบโตลอยอิสระบนผิวน้ำ ( Floating weed ) มีอายุอยู่ข้ามปี ( Perennial ) จัดอยู่ในตระกูล Pontederiaceae ลำต้นจะจมอยู่ในน้ำ โผล่เฉพาะส่วนของก้านใบ มีลักษณะพองโป่ง ภายในเนื้อฟามๆ คล้ายฟองน้ำ ทำหน้าที่พองให้ลำต้นลอยน้ำได้ ผักตบชวามีความสามารถในการขยายพันธุ์สูง เพราะสามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ โดยเฉพาะการแตกไหล ( Stolon ) จากต้นแม่สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้รากของผักตบชวามีความสามารถดูดแร่ธาตุอาหารได้ดี ผลิตเมือกได้จำนวนมาก ใบมีขนาดใหญ่สังเคราะห์ได้ดีและทนต่อสภาพน้ำเค็ม จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ผักตบชวาเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วจนทำให้เกิดปัญหา ด้านการเกษตร ชลประทาน ไฟฟ้า ประมง ปัญหาทางนิเวศวิทยา สาธารณะสุข อุตสาหกรรมการท่องเที่ยว คมนาคมทางน้ำ ในท้องที่ที่ผักตบชวาระบาด การกำจัดผักตบชวาทำได้โดย การกำจัดโดยวิธีกล เช่น การใช้เครื่องจักรกลตัด ชักลาก หรือการใช้สารเคมีซึ่งวิธีนี้จะสะดวกและให้ผลรวดเร็ว แต่เนื่องจากสารเคมีเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำ และยังมีผลตกค้างในสภาพแวดล้อมในระยะยาวอีกด้วย ในปัจจุบันนี้วิธีการที่กำลังได้รับความนิยมในการศึกษา คือการควบคุมผักตบชวาโดยชีววิธี

การควบคุมผักตบชวาโดยชีววิธี ( Biological control ) เป็นการนำเอาศัตรูธรรมชาติของผักตบชวา มาควบคุมการแพร่ระบาดของผักตบชวา ซึ่งศัตรูธรรมชาติซึ่งมีรายงานว่ามีการนำมาใช้ได้แก่แมลง ปลากินพืช เชื้อโรคที่ก่อให้เกิดโรคกับผักตบชวา การควบคุมโดยชีววิธีได้รับความนิยมในการศึกษา ค้นคว้า วิจัยกันอย่างแพร่หลาย เพื่อที่จะพัฒนางานในสาขานี้ให้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## วัตถุประสงค์การทดลอง

1. เพื่อศึกษาการแยกเชื้อและจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคกับผักตบชวา
2. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อโรคที่มีความรุนแรงต่อการเกิดโรคกับผักตบชวา
- 3 เพื่อศึกษาลักษณะความต้องการอาหารและการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคที่มีความรุนแรงที่สุด
4. เพื่อศึกษาการก่อให้เกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจ ในสภาพเรือนทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตรวจเอกสาร

ผักตบชวา ( Water hyacinth ; *Eichhornia crassipes* ( Mart .) Solms. เป็นวัชพืชลอยน้ำ ( Floating hydrophyte ) ประเภท ใบเลี้ยงเดี่ยวมีอายุข้ามปี ( Perennial ) อยู่ในวงศ์ Pontederiaceae มีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไปตามท้องถิ่น เช่น ผักสะวะ ผักปอด ผักตบ ผักบัวลอย ผักโป่ง

ผักตบชวามีแหล่งกำเนิดในทวีปแอฟริกาใต้แพร่กระจายไปทั่วทวีปยุโรป ในสมัยก่อนใช้เป็นไม้ประดับ เพราะมีสีสรรสวยงาม ต่อมาชาวคัทซ์ได้นำเข้ามาในประเทศอินโดนีเซีย ในปี พ.ศ. 2444 ในสวนพฤกษศาสตร์เมืองโบกอร์ ทำให้เกิดการแพร่กระจายไปตามแหล่งน้ำต่างๆ สำหรับประเทศไทย ได้มีผู้นำเข้ามาครั้งแรกจากประเทศอินโดนีเซียในปี พ.ศ. 2444 แล้วเริ่มเกิดการระบาดไปตามแหล่งแม่น้ำลำคลองอย่างรวดเร็วในปีพ.ศ.2451 ได้มีการตราพระราชบัญญัติสำหรับกำจัดผักตบชวาทันทีออกมบังคับใช้แต่ไม่ได้ผลจนทำให้ในปัจจุบันนี้ผักตบชวาเกิดการแพร่ระบาดมาก ก่อให้เกิดปัญหาหลายด้านเกี่ยวกับแหล่งน้ำ ( กองโครงการวิจัยและประสานงานวิจัย , 2529 )

สาเหตุที่ผักตบชวาเจริญเติบโตและแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วเนื่องมาจาก

1. ผักตบชวามีกาบหุ้มลำต้นให้ปลอดภัยต่ออากาศที่หนาวเย็น และสามารถมีชีวิตอยู่บนบกได้นาน 3 สัปดาห์ ลำต้นแตกไหลได้ดี
2. ผักตบชวามีรากที่ดูดธาตุอาหารได้ดี ผลิตเมล็ดได้มาก ใบมีขนาดใหญ่เรียงตัวเป็นระเบียบรับแสงได้ดี
3. สามารถทนต่อสภาพน้ำเค็มได้ดี

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของผักตบชวา

ลำต้น ลำต้นเชื่อมติดกันโดยมีไหล ( Stolom ) ซึ่งมีความยาวตั้งแต่ 5-45 ซม. ทอดไปตามผิวน้ำ ในลำต้นหนึ่งๆ จะมีใบตั้งแต่ 2 ใบขึ้นไป ที่โคนก้านใบมีกาบใบ( Sheath ) สีขาวแกมเขียวอ่อน เมื่อมีอายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ราก** มีระบบรากฝอย ( Fibrous root system ) โดยแตกออกจากข้อบนไหล เมื่อมีอายุมากขึ้น ( Root hair ) ที่ปลายรากมีสีน้ำตาลหรือม่วงดำ ซึ่งเกิดจากสาร Anthocyanin ความยาวของรากจะแตกต่างกันไปตั้งแต่ 10-90 ซม. ระบบรากของผักตบมีประสิทธิภาพสูงในการดูดซึมแร่ธาตุที่ปะปนอยู่ในแหล่งน้ำ

**ใบ** เป็นใบเดี่ยว ( Single leaf ) ประกอบด้วยแผ่นใบ ( Blade ) และก้านใบ ( Petiole ) ออกเป็นช่อ ( Rosettes ) รอบต้น ตัวใบมีลักษณะกลมจนถึงรูปไข่ ปลายใบมน อาจมีขนาดใหญ่หรือเล็ก ก้านใบอาจจะยาวหรือสั้นแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสภาพความสมบูรณ์ของน้ำและแร่ธาตุอาหาร เส้นผ่าศูนย์กลางใบ 2.5-15 ซม. ส่วนกลางของก้านใบลงไปถึงโคนใบจะพองออก ภายในมีเนื้อฟ้ามๆ คล้ายฟองน้ำเป็นส่วนช่วยพยุงให้ต้นลอยน้ำได้ อาจมีขนาดยาวได้ถึง 30 ซม. ส่วนโคนใบมีหูใบ

**ดอก** เป็นช่อ ( Spike ) ออกตลอดปี ช่อหนึ่งมี 6-12 ดอก ก้านช่อดอกยาว 13-30 ซม. ดอกย่อยมีกลีบดอกและใบเลี้ยงสีม่วงติดที่ฐาน เป็นทรงกรวย ยาวประมาณ 5 ซม. ส่วนปลายแยกออกเป็น 6 กลีบ กลีบบนมีวงขนาดใหญ่ 1 วง สีน้ำเงินตรงกลางสีเหลือง มีเกสรตัวผู้ 6 อัน ยาว 3 อัน สั้น 3 อัน ติดกับกลีบดอก ก้านเกสรตัวเมีย 1 อันเป็นเส้นบางๆ ปลายเป็นตุ่มสีขาว รังไข่มีเมล็ดมาก เมื่อดอกบานเต็มที่และเริ่มโรย ก้านช่อดอกจะโค้งลงมา ทำให้ดอกที่โรยจมลงน้ำ

**ผล** มี 3 พู เมล็ดภายในมีจำนวนมากอาจมีถึง 50 เมล็ดต่อผล เมล็ดมีลักษณะกลม สีน้ำตาลเข้ม ขนาดประมาณ 0.5-1 มม.

**การขยายพันธุ์** สามารถขยายพันธุ์ได้ 2 วิธี โดยอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศต้องอาศัยเมล็ดที่เกิดจากการผสมเกสรแล้วของดอก เมื่อเมล็ดลอยออกจากกระเปาะ แล้วถูกกระแสน้ำพัดไปหรือจมอยู่ในโคลนใต้น้ำ จะมีชีวิตอยู่ในโคลนตมนาน 15 ปี หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็จะงอกทันที เมล็ดที่แขวนลอยอยู่บนผิวน้ำที่ระดับความลึก 2-3 ซม. เมื่องอกแล้วจะค่อยๆ ลอยขึ้นสู่ผิวน้ำภายในเวลา 5 สัปดาห์ การงอกของเมล็ดต้องอาศัยอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 22 องศา และอาศัยแสงสว่าง สำหรับการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจะอาศัยไหล ( Stolom ) ที่แตกออกจากต้นแม่ ทำ

ให้ได้ต้นใหม่ ผักตบชวา 10 ต้น สามารถแตกไหลได้ถึง 600,00 ต้น ภายใน 6 เดือน จึงนับได้ว่า การขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

จะเห็นได้ว่าผักตบชวาก่อให้เกิดความเสียหายในหลายๆด้าน นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดความสูญเสีย น้ำ ซึ่งเป็นทรัพยากรที่มีความสำคัญและถือเป็นปัจจัยพื้นฐานในกิจกรรมทุกแขนง Holm ( 1969 ) ได้รายงานประเมินความสูญเสียอันเนื่องมาจากวัชพืชน้ำ โดยเฉพาะผักตบชวา จากแหล่งน้ำที่เกิดความสูญเสียถึง 1,272,480 10 เเคอร์/ฟุต คิดเป็นมูลค่า 39 ล้านดอลลาร์ จาก 17 รัฐ ทางภาคตะวันตกของสหรัฐอเมริกาผลเสียหายที่เกิดจากการระบาดของผักตบชวาเป็นเหตุจูงใจให้ผู้ที่สนใจเข้ามศึกษาหาวิธีในการป้องกันกำจัดซึ่งการควบคุมโดยชีววิธีกำลังได้รับความสนใจในหมู่นักวิจัย

บรรพต ( 2527 ) รายงานว่า สามารถใช้ด้วงหมัด ( *Agasiles hygrophila* ) มาใช้ในการควบคุมวัชพืชน้ำพวกผักเป็ด ( *Althernanthera philoxcroides* ) ทางตอนใต้ของสหรัฐอเมริกาเป็นครั้งแรกในปี 2507 นอกจากนี้ Blackburn และคณะ รายงานว่า ปลาเงา ( *Ctenopharyngodon idella* ) ซึ่งเป็นปลาพื้นเมืองในบริเวณแม่น้ำอาบูร์ของประเทศจีนและรัสเซีย ได้มีการเพาะเลี้ยงปลาเงาในบ่อและปราบวัชพืชน้ำในประเทศจีน ฮังการี ญี่ปุ่น และมีแนวโน้มสำคัญมากขึ้น ปลาเงากินวัชพืชได้หลายชนิดทั้งใต้น้ำ ผิวน้ำ แต่จะชอบพวกที่มีเนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม อัตราการเจริญเติบโตของปลาเงาจะขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร นอกจากนี้ปลาเงายังมีความอดทนต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำได้ดี แต่ไม่สามารถแพร่พันธุ์ได้เองตามธรรมชาติ

Perkins ( 1974 ) ได้รายงานว่าตัวอ่อนของด้วงงวง *Neochetina eichoniae* ซึ่งจะชอบกินใบของผักตบชวา และต้องการรากของผักตบชวาในการเข้าดักแด้

Bennett ( 1968 ) รายงานว่าด้วงแค่น *Cernops aquaticum* จะใช้ลำต้นของผักตบชวาในการวางไข่โดยที่ขนาดและความอ่อนแอของลำต้นผักตบชวามีความสำคัญต่อการวางไข่ของด้วงแค่นชนิดนี้ การควบคุมผักตบชวาโดยชีววิธียังมีการนำเชื้อโรคที่รุนแรงในผักตบชวาสำหรับประเทศไทยได้มีรายงานพบเชื้อ *Alternaria eichhorniae* , *Myrothecium roridum* , *Rhizoctonia solani* เชื้อ *Myrothecium roridum* ก่อให้เกิดโรครุนแรงแต่มีพืชอาศัยกว้างซึ่งไม่มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ควบคุม เชื้อ *Rhizoctonia solani* ก่อให้เกิดโรครุนแรงมากที่สุด แต่มีข้อจำกัดคือมีพืชอาศัยกว้าง เชื้อ *Alternaria eichhorniae* สามารถทำลายผักตบชวาได้อย่างรวดเร็วและรุนแรงพอสมควร และมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ควบคุม มีพืชอาศัยแคบและมีความเฉพาะเจาะจงต่อผักตบชวาเท่านั้น มีผลทำให้ผักตบชวาลดการเจริญเติบโต ทำให้อ่อนแอลง ยังมีการนำเชื้อราตัวอื่นมาใช้เช่น Rust และ Smut ทำให้ผักตบชวาเกิดจุดสีน้ำตาลปนแดงบนใบ ก้าน เกิดอาการเหลือง เหี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มยุรา ( 2527 ) ได้ทำการแยกเชื้อราจากผักตบชวาที่แสดงอาการเกิดโรคพบเชื้อโรคทั้งหมด 26 ชนิด แต่มีเพียง 7 ชนิดเท่านั้นที่ทำให้เกิดโรคกับผักตบชวาพวกที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคอย่างรุนแรงมี 4 ชนิด ได้แก่ รา *A. eichhorniae* Nag. & Ponnappa, *Myrothecium roridum* Tode ex Pr., *Rhizoctonia solani* Kuehn, *Sclerotium roffsii* Sacc. ส่วนพวกที่ทำให้เกิดโรคเพียงเล็กน้อยมี 3 ชนิด คือ รา *Curvularia eragrostidis* ( Hem )Meyer, *Curvularia pallescens* Baedja และ *C. prasadii* R.L.& B.L Mathur ในการทดสอบพืชอาศัยของรา *M. roridum*, *R. solani* และ *S. roffsii* สามารถทำให้เกิดโรคกับพืชทดสอบทั้งหมด 15 ชนิด คือ ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ถั่วฝักยาว ถั่วเขียว มะเขือเทศ มะเขือเปราะ พริก ฝ้าย กระเจียบเขียว ปอกระเจาฝักกลม มันสำปะหลัง ส่วน *A. eichhorniae* ไม่สามารถเกิดโรคกับพืชทดสอบ ในประเทศสาธารณรัฐโดมินิกันเกี่ยวกับโรค Rust และ Smut ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Uredo eichhorniae* Ciferri & Fragoso และ *Dassasnsia eichhorniae* Ciferri ตามลำดับ Acharkor และ Banerjee ( 1932 ) ประเทศอินเดียมีรายงานโรคของผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium roseum* Link emend Snyder & Hansen และ *F. equiseti* ( Cda. ) Sacc. จากการสำรวจในประเทศอินเดียในช่วงปี 1954-1967 พบโรคที่เกิดจากเชื้อ *Cercospora piaropi* Tharp emend Conway, *Myrothecium roridum* var. *eichhorniae* Ponnappa, *Helminthosporium bicolor* Mitra, *Curvularia clavata* Jain, *Marasmiellus inoderma* และ *Alternaria eichhorniae* Freeman และ Charudathan ( 1932 ) ได้รายงานการควบคุมผักตบชวาโดยชีววิธี ใช้เชื้อรา *Fusarium* sp. ซึ่งก่อโรคกับผักตบชวา นอกจากนี้ได้มีการศึกษาและวิจัย ในการค้นหาเชื้อโรคพืชที่สามารถเข้าทำลายวัชพืชอื่นซึ่งก่อให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับแหล่งน้ำ เพื่อทำการควบคุมวัชพืชอื่น 4 ชนิดคือ

*Eichornia crassipes* ( Mart. ) Solm. ผักตบชวา

*Hydrilla verticillata* สาหร่ายหางกระรอก

*Althermantrera philoxeroides* Mart. Griseb ผักเป็ด

*Myriophyllum spicatum* L.

และมีการนำเชื้อ *R. solani* จากประเทศอินเดีย ปานามา เปรูโดริโก้ ซึ่งทำให้ผักตบชวาเกิดใบจุด

( Lesions on leaves ) และเกิดใบไหม้ ( Blighting ) ผักตบชวาจะตายไปในที่สุด

Joyner ( 1979 ) ได้แยกเชื้อที่ทำให้เกิดโรครุนแรงจากประเทศปานามา ฟลอริดา จากการศึกษพบว่าความรุนแรงของเชื้อจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ในขณะที่เชื้อเข้าทำลายผักตบชวา ชนิดของพืช

อาศัย และความสามารถในการเข้าทำลายของเชื้อแต่ละชนิดด้วยและเขาได้พบว่า เชื้อรา *Rhizoctonia solani* ทำให้เกิดโรครากผกตบรุนแรงในเวอร์จิเนีย นอร์ชโคโลโลนา

Sawzda ( 1982 ) พบว่าเชื้อ *Cephalosporium zonatum* ทำให้เกิดโรคใบจุด ( Zonal leaf spot) กับผกตบชาในเปอร์โตริโก ฟลอริดา หลุยส์เซียน่า

Nag และ Pomappa ได้รายงานว่าเป็นเชื้อ *Althernaria eichhorniae* ทำให้เกิดโรคใบไหม้ ( Leaf blight ) ในประเทศอินเดีย จากการทดลองพบว่าเชื้อตัวนี้จะมีเฉพาะเจาะจงสูงมากต่อพืชอาศัย ( Highly host specific ) และได้ทำการทดสอบกับพืชอาศัย 19 วงศ์ ปรากฏว่า *A.eichhorniae* จะเข้าทำลายวัชพืชน้ำ *Monochoria uaginalis* Pers. ซึ่งเป็นวัชพืชน้ำจัดอยู่วงศ์เดียวกับผกตบชา การที่ *A. eichhorniae* สามารถเข้าทำลายผกตบชาได้อย่างรุนแรง เนื่องจากเชื้อตัวนี้สามารถสร้าง Pigment ซึ่งเป็น Toxin มีผลต่อการเจริญเติบโตของผกตบชา

Wilson ( 1969 ) รายงานว่า *Mycothecium roridum* ซึ่งนำมาจากประเทศอินเดีย นำมาควบคุมผกตบชาในฟลอริดา ปรากฏว่าเชื้อตัวนี้สามารถกำจัดผกตบชาอย่างค่อนข้างได้ผล แต่เชื้อตัวนี้มีพืชอาศัยกว้างสามารถเกิดโรครากกับพืชอื่นๆ โดยเฉพาะพืชอาศัยพวกไม้ดอกไม้ประดับนอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับเชื้อ *Drechslera* sp. ใช้ได้ผลในการควบคุมผกตบชาในสาธารณรัฐโดมินิกัน ผลการทดลองในขั้นต้นพบว่าเชื้อ *Drechslera* sp. มีความสามารถในการเกิดโรคเท่ากับเชื้อ *R. solani*

Tharp ( 1917 ) รายงานว่าเชื้อ *Cercospora piaropi* เกิดโรครากกับต้น *Piaropus crassipes* ในเทกซัสแต่เชื้อตัวนี้มีพืชอาศัยกว้าง

สำหรับเชื้อโรคนั้นเชื้อราจะมีความสำคัญมากกว่าเชื้อโรครชนิดอื่นๆเพราะทำให้เกิดโรครากและรุนแรง หลักการใช้เชื้อราในการควบคุมวัชพืชน้ำนั้น Templeton ( 1976 ) ได้เสนอไว้ 2 วิธี คือ Classic tactic หมายถึง การนำเชื้อที่ก่อให้เกิดโรครากกับวัชพืชในแหล่งนั้นไปขยายและปล่อยในแหล่งที่มีวัชพืชระบาดแต่ไม่มีเชื้อราดังกล่าวนั้นอยู่ โดยมีจุดประสงค์ให้เชื้อราคงอยู่ได้นานและแพร่กระจายตามธรรมชาติได้และ Bioherbicide tactic หมายถึง การใช้ Metabolite ของเชื้อรา โดยเชื้อราบางชนิดสามารถผลิตสารอย่าง ( Mycoherbicide ) ออกมาทำลาย หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชได้ ตัวอย่างเช่น รา *Ceratocystis fagacearum* ( Bretz ) Hunt., *Cephalosporium diospyri* Ceandall , *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. , *Phytophthora* sp. *Helminthosporium* sp. , *Althernaria* sp. , *Phoma* sp. และ *Fusarium* sp., เป็นต้น พวกที่ใช้ได้ผลดีได้แก่รา *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *aeschynomene* (Penz Sacc. ) ใช้ในการควบคุมโสน ( Northern jointvetch) รา *Phytophthora* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ควบคุม Strangler vine ในสวนส้ม เชื้อราที่นำมาใช้ควบคุมวัชพืชโดยชีววิธีที่ให้ผลดีจะต้องสามารถนำมาผลิต Inoculum และทนทานใน Artificial culture มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมที่สม่ำเสมอ มีความจำเพาะเจาะจงต่อพืชอาศัยสามารถเข้าทำลายวัชพืชในสภาพต่างๆ ได้อย่างกว้างขวางและมีประสิทธิภาพ รวมทั้งต้องมีพืชอาศัยแคบและโรคสามารถแพร่ระบาดได้เองตามธรรมชาติโดยไม่ทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจสำคัญอื่นๆ นอกจากนี้ต้องคำนึงถึงสภาพทางนิเวศวิทยาอีกด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการราวิทยาเบื้องต้น ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช  
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง  
ระยะเวลาในการทำการทดลอง 19 ตุลาคม 2537 ถึง 30 พฤษภาคม 2538

### ขั้นตอนที่ 1 การแยกเชื้อบริสุทธิ์ การจัดจำแนก และการเก็บรักษา

ทำการแยกเชื้อราจากใบ ลำต้นของผักตบชวาที่แสดงอาการเกิดโรค โดยทำการตัดส่วน  
ของใบเป็นชิ้นเล็กๆขนาด 3x5 มม. ชิ้นส่วนนั้นให้มีส่วนคาบเกี่ยวระหว่างส่วนที่ปกติและส่วนที่  
แสดงอาการของโรค นำชิ้นส่วนที่ได้มาทำการฆ่าเชื้อภายนอก ( Surface disinfection ) ด้วย  
Chlorox 10% นาน 2-3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ซับด้วยกระดาษกรอง หลังจากนั้นนำไป  
ไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ( Potato dextrose agar ) ซึ่งสามารถเตรียมได้จากสูตร ดังนี้

มันฝรั่ง 200 กรัม

วุ้น 17 กรัม

Dextrose 20 กรัม

น้ำกลั่น 1000 CC

นำจานเลี้ยงเชื้อบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเส้นใยของเชื้อราเจริญเต็มที่แล้วใช้เข็มเย็บ ( needle ) ตัด  
ชิ้นวุ้นบริเวณส่วนปลายของกลุ่มโคโลนีของเชื้อรานำไปเลี้ยงไว้บนอาหาร PDA อีกครั้งหนึ่ง เมื่อ  
เส้นใยเจริญเต็มที่ย้ายไปเลี้ยงในอาหาร PDA เอียง ( Agar slant ) เพื่อทำการเลี้ยงให้เป็นเชื้อ  
บริสุทธิ์ ( Pure culture ) เมื่อเส้นใยเจริญจนเต็มผิวหน้าอาหารใน Agar slant แล้วนำไปทำ  
Slide เพื่อศึกษาการจัดจำแนกหมวดหมู่ หลังจากนั้นเก็บเชื้อราบริสุทธิ์แต่ละ Isolate ไว้ใน Mineral  
oil ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว มาทดลองใน Agar slant ปิดจุกด้วยสำลี ในแต่ละขั้นตอนของการย้าย  
เชื้อต้องทำด้วยวิธี Aseptic technique

### การบันทึกผลการทดลอง

1. บันทึกสี ลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อรา

2. จัดจำแนกเชื้อรา โดยจำแนกเป็น Sub-division, Class, Order, Family, Genus และ  
Species  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนักศึกษาเห็นว่าประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. ถ่ายภาพลักษณะสำคัญของเชื้อราแต่ละ Species ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

#### ขั้นตอนที่ 2 การพิสูจน์การเกิดโรคตามวิธีของ Koch

นำเชื้อราที่แยกได้ทุก Isolates ในอาหาร PDA จากตอนที่ 1 มาทำการเตรียมสปอร์แขวนลอย (Spore suspension) และนับปริมาณสปอร์/มล. โดยใช้เครื่องนับปริมาณสปอร์ (Haematocytometer) โดยใช้เข็มเย็บหรือแผ่นสไลด์ขูดเอาเส้นใยของเชื้อราบริเวณผิวหน้าของอาหารผสมลงในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วตีส่วนของเส้นใยให้แตกกระจายโดยใช้เครื่องปั่นช่วยจะใช้เวลาในการปั่นประมาณ 5 นาทีหลังจากนั้นให้ลดความเร็วลงมาเรื่อยๆจากนั้นนำน้ำสปอร์แขวนลอยที่ได้มาตรวจนับจำนวนสปอร์ให้ได้ความเข้มข้นของสปอร์เท่ากับ 20 สปอร์/มล. เมื่อได้ความเข้มข้นตามต้องการแล้วเติมสารจับใบลงไปโดยใช้ในอัตราส่วน 10 มล./สปอร์แขวนลอย 1000 มล. คนให้ผสมเข้ากันได้ หลังจากนั้นนำไปปลูกเชื้อ (Inoculate) ลงบนผักตบชวาที่ปลูกไว้ในกระถาง โดยที่ผักตบต้องไม่แสดงอาการผิดปกติคือไม่มีอาการของโรคหรือบาดแผลที่เกิดจากการเข้าทำลายของแมลงปากกัด ทำการปลูกเชื้อโดยการ Spray สปอร์แขวนลอยลงบน ลำต้น และใบของผักตบชวา หลังจากนั้นใช้ถุงพลาสติกคลุมกระถางไว้ประมาณ 24 ชม. เพื่อรักษาความชื้นให้เหมาะสมต่อการเกิดโรค การปลูกเชื้อทำในช่วงเวลาเย็นเวลา 18.00 น. เพราะเมื่อถึงเวลาช่วงกลางวันจะมีความชื้นมากเชื้อเจริญได้ดี เมื่อทำการปลูกเชื้อแล้วหลังจากนั้นประมาณ 2 อาทิตย์ให้สังเกตอาการที่ปรากฏบนต้นผักตบชวาอย่างใกล้ชิด เมื่อพบอาการอย่างชัดเจนแล้ว ทำการแยกเชื้อราให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งนำมาใส่สไลด์ ตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบลักษณะต่างๆว่าเป็นเชื้อราตัวเดียวกับเชื้อราที่ใช้ทำสปอร์แขวนลอยหรือไม่ ทั้งนี้เพื่อเป็นการยืนยันว่า เป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับผักตบชวาแน่นอน

#### บันทึกผลการทดลอง

1. ถ่ายภาพ ต้นผักตบชวาที่แสดงอาการโรค
2. ตรวจเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคผักตบชวา ด้วยกล้องจุลทรรศน์ว่าเป็นเชื้อราชนิดเดียวกับเชื้อตัวที่ก่อนจะนำมาปลูกบนต้นผักตบชวาปกติ

### ขั้นตอนที่ 3 การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อโรคที่มีความรุนแรงต่อการเกิดโรค

นำเชื้อสาเหตุโรคทุก Isolate ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้องเมื่อ Culture มีอายุได้ 7-10 วัน ใช้ Cork borer ตัดชิ้นรูนบริเวณขอบของโคโลนีเชื้อรา ให้เป็นชิ้นรูนกลม วัดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 ซม. ใช้เข็มเขี่ยย้ายชิ้นรูนมาวางลงบนใบผักตบชวาในภาชนะพลาสติกใสที่มีฝาปิดแบบ Moist chamber โดยทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design ( CRD ) จำนวน 4 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 7 วัน

#### บันทึกผลการทดลอง

โดยวัดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค เปรียบเทียบกับระดับคะแนนการเกิดโรค ดังต่อไปนี้

- ระดับ 1 = ไม่พบอาการเกิดโรคเลย ( 0 % )
- ระดับ 2 = พบอาการเกิดโรคเพียงเล็กน้อย ( 1-25 % )
- ระดับ 3 = พบอาการเกิดโรคปานกลาง ( 26-50 % )
- ระดับ 4 = พบอาการเกิดโรคค่อนข้างรุนแรง ( 51-75 % )
- ระดับ 5 = พบอาการเกิดโรครุนแรง ( 76-100 % )

### ขั้นตอนที่ 4 การศึกษาลักษณะความต้องการอาหาร อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคที่รุนแรงที่สุด

#### 4.1 การเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อก่อโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ทำการย้ายเชื้อราที่มีศักยภาพในการเกิดโรคกับผักตบชวามากที่สุดมาเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar ( PDA ) , Corn Meal Agar ( CMA ) , Oat Meal Agar ( OMA ) หลังจากนั้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิระดับต่างๆคือ 8° 28° และ 30° ตามลำดับ โดยทำการทดลองแบบ Factorial experiment design จำนวน 4 ซ้ำ

ส่วนประกอบของอาหาร CMA

ประกอบด้วยอาหาร CMA 72.5 กรัม / น้ำ 1,000 CC

ส่วนประกอบของอาหาร OMA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกอบด้วยอาหาร OMA 17 กรัม / น้ำ 1,000 CC

นำอาหารแต่ละชนิดมาละลายในน้ำกลั่นเติมน้ำให้ได้ปริมาตร 1,000 CC.

จากนั้นนำไปอุ่นประมาณ 10 นาที คนให้เข้ากัน จากนั้นนำอาหารแต่ละชนิดไปหนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว ใช้เวลา 15 นาที เมื่ออาหารเย็นแล้วนำไปเทลงจานเลี้ยงเชื้อที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม.

#### บันทึกผลการทดลอง

โดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารแต่ละชนิด ( OMA, PDA, CMA ) แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย ( ชม. ) ความเป็นอาหารแต่ละชนิดที่อุณหภูมิใดจะเหมาะสมให้เชื้อเจริญเติบโตและสามารถเพิ่มปริมาณได้มากที่สุด โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา

#### 4.2 เลี้ยงเชื้อสาเหตุของโรคที่มีความรุนแรงมากที่สุดบนอาหารเหลว ( PDB ) บนเครื่องเขย่า ( Shaker )

ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 4 ซ้ำ โดยเลี้ยงเชื้อราสาเหตุที่มีความรุนแรงต่อการเกิดโรคของผักตบชวามากที่สุดนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว PDB ที่มีความเป็นกรด ต่าง ในระดับต่าง ๆ กัน pH 4, pH 5, pH 6, pH 7 และ pH 8 โดยเลี้ยงเชื้อราที่มีความสามารถในการเกิดโรคต่อผักตบชวามากที่สุด ใส่ลงในอาหาร PDB ที่มีปริมาตร 100 ml ในแต่ละ Flask นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30°C บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และชั่งน้ำหนักสด ( กรัม ) และน้ำหนักแห้งของเส้นใย ( กรัม )

#### ขั้นตอนที่ 5 การทดสอบกับผักตบชวาและพืชเศรษฐกิจในสภาพเรือนทดลอง

##### 5.1 การทดสอบกับผักตบชวา

นำเชื้อราที่ทำให้เกิดโรครุนแรงกับผักตบชวาที่รุนแรงที่สุดจำนวน 1 Isolate มาทดสอบกับผักตบชวาและพืชเศรษฐกิจ พืชเศรษฐกิจที่ใช้ในการทดสอบมีดังนี้คือ

1. ถั่วฝักยาว ( Yard long bean ) : *Vigna sinensis* ( L.) Savi ex Hassk

2. ถั่วเหลือง ( Soybean ) : *Glycine max* ( L. ) Merr

3. ถั่วเขียว ( Mung bean ) : *Vigna radiata* Wilczek

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ถั่วลิสง ( Ground nut ) : *Arachis hypogaea* L.
5. แดงกวา ( Cucumber ) : *Cucumis sativas* L.
6. ผักบุ้งจีน ( Water convulvulus ) : *Impomoea aquatica* Forsk
7. พริกชี้ฟ้า ( Seur pepper ) : *Capsicum frutescen* L.
8. มะเขือเทศ : *Lycopersicon esculentum* Mill
9. มะเขือพวง: *Solanum torvum* Swartz
10. ข้าวโพด : *Zea mays* L.

ทำการเพาะเมล็ดพืชในกระถางพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 ซม. เมื่อต้นกล้ามีอายุได้ 15 วัน นำเชื้อที่มีความสามารถในการเกิดโรคกับผักตบชวามากที่สุดมาทำสปอร์แขวนลอย โดยการชูดเอาเส้นใยของเชื้อราบริเวณผิวหน้าอาหาร มาทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นเพื่อให้เส้นใยของเชื้อราแตกออก จากนั้นใช้เครื่องนับสปอร์นับจำนวนสปอร์ให้ได้ความเข้มข้นของสปอร์เท่ากับ 20 สปอร์ / มล. เติมสารจับใบลงไปในอัตราส่วน 10 มล./ สปอร์แขวนลอย 1000 มล. คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไป Spray ลงบนลำต้นและใบของพืชทดสอบ เสร็จแล้วใช้พลาสติกคลุมไว้เพื่อรักษาความชื้นให้เหมาะสมต่อการเกิดโรค

## ผลการทดลอง

## 1. การแยกเชื้อราบริสุทธิ์ และการจำแนกหมวดหมู่

จากการแยกราจากตัวอย่างใบผักตบชวาที่เป็นโรคจำนวน 5 ตัวอย่างด้วยวิธี tissue transplanting ปรากฏว่า สามารถแยกได้ใน Sub-division Deuteromycotina ได้ 5 Isolates จัดอยู่ใน 2 Class 1 Order 1 Family 3 Genera 5 Species ( ตารางที่ 1 ) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

ตารางที่ 1 เชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างใบผักตบชวาใน Sub-division ต่างๆ

เชื้อรา	ลำดับที่ของแหล่งตัวอย่างหมายเลขรหัสของ Isolate และจำนวน Isolate ที่แยกได้ 1/
Sub-division Deuteromycotina	
Class Hyphomycetes	
Order Hyphales	
Family Dematiaceae	
1. <i>Curvularia lunata</i> var. <i>aeria</i>	01 ( 0102 ) =1
2. <i>Alternaria raphani</i>	02 ( 0201 ) =1
3. <i>Alternaria cinerariae</i>	02 ( 0202 ) =1
4. <i>Alternaria tenuissina</i>	02 ( 0203 ) =1
Class Agonomycetes	
1. <i>Rhizoctonia solani</i>	03 ( 0301 ) =1

1/ ตัวเลขตัวแรกแสดงชนิดและแหล่งที่เก็บ, ตัวเลขในวงเล็บคือ รหัสของ Isolate ที่แยกได้ และตัวเลขหลังเครื่องหมายเท่ากับคือ จำนวน Isolate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในทางเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Curvularia lunata* var. *aeria* (Batista, Lima & Vasconcelas)

ลักษณะของ Culture ที่เจริญบนอาหาร PDA โคลนีที่มีอายุ 3-4 วัน จะมีสีเทาเกือบดำ เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีดำ โคลนีมีอัตราการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ย 9.9 มม./วัน โคลนีที่เจริญบนอาหาร PDA สีของโคลนีจะแบ่งออกเป็นขอบเขตชัดเจน เส้นใยมีผนังกันตามขวางผนังเรียบ เส้นใยมีสีน้ำตาลเข้ม Conidia เกิดเดี่ยวๆบน Conidiophores และ Conidia มีสีน้ำตาลเข้ม ผนังเรียบ รูปร่างแบบ Obclavate มี Septum ตามขวาง 3 Septum ขนาดของ Conidia เฉลี่ย  $8.33 \times 21.32 \mu$  ดังแสดงในภาพที่ 1 แหล่งที่พบ 0102 เขตลาดกระบัง กทม.

*Alternaria raphani* Groves & Skolko

ลักษณะของ Culture ที่เจริญบนอาหาร PDA โคลนีในระยะแรกมีสีขาวหรือสีเทาอ่อน เมื่อแก่แล้วจะมีสีเทา ขอบของโคลนีจะเรียบ มีอัตราการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ย 7.0 มม./วัน เส้นใยมีสีน้ำตาลเข้ม มีผนังกันตามขวาง ผนังเรียบ Conidia เกิดบน Conidiophore อาจเกิดเดี่ยวๆหรือเกิดเป็นลูกโซ่ต่อกัน 2-3 Conidia มีสีน้ำตาลเข้ม ผนังเรียบ รูปร่างเป็นแบบ obclavate และ ovoid Conidia จะมี Beak สั้นๆ Conidia มี Septate ทั้งตามยาวและตามขวาง จำนวน Septate เฉลี่ยทั้งตามยาวและตามขวางเท่ากับ 2 และ 3 ตามลำดับ ขนาดของ Conidia เฉลี่ยประมาณ  $10.05 \times 24.99 \mu$  มีการสร้าง Chlamydo-spores ต่อกันเป็นสายยาว โดยที่ Cell แรก จะมีลักษณะกลม และ Cell ถัดมาจะมีรูปร่างที่ไม่แน่นอน มีสีน้ำตาลอ่อน ซึ่ง Chlamydo-spore จะพัฒนาต่อไปเป็น Conidiophore ดังแสดงในภาพที่ 2 แหล่งที่พบ 0201 เขตประเวศ กทม.

*Alternaria cinerariae* Hori & Enjoji

ลักษณะของ Culture บนอาหาร PDA ในระยะแรกโคโลนีจะมีสีเทาอมแดงต่อมาเมื่อมีอายุมากขึ้น โคโลนีจะเปลี่ยนเป็นสีเทา กลุ่มของโคโลนีจะฟู โคโลนีมีอัตราการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ย 6.7 มม. / วัน เส้นใยมีผนังกันตามขวาง ผนังเรียบมีสีน้ำตาลอ่อน Conidia เกิดบน Conidiophore อาจเกิดเดี่ยวๆหรือต่อกันเป็นลูกโซ่สายสั้นๆ มีรูปร่างแบบ obclavate และ obpyriform มีสีน้ำตาล ผนังเรียบ Conidia เป็นแบบไม่มี Beak มีผนังกันตามยาวและตามขวาง จำนวน Septate เฉลี่ยตามยาวและตามขวางเท่ากับ 5 และ 3 ตามลำดับ ขนาดของ Conidia 10.78 x 36.99  $\mu$  ดังแสดงในรูปที่ 3

แหล่งที่พบ 0202 เขตประเวศ กทม.

*Alternaria tenuissina* (Kunze ex Pers)

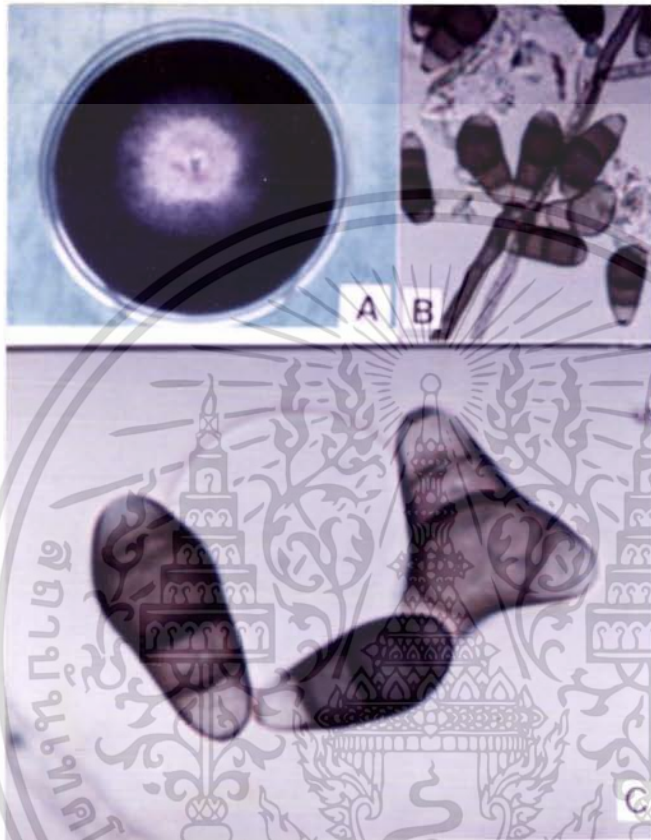
ลักษณะของ Culture ที่เจริญบนอาหาร PDA โคโลนีจะมีสีแดงลักษณะโคโลนีจะเจริญแบบคืดผิวหน้าอาหาร ขอบของโคโลนีไม่เรียบ แต่เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหาร OA ลักษณะของ Culture โคโลนีในระยะแรกจะมีสีเทาอ่อน เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเทา โคโลนีเมื่อเลี้ยงในอาหาร PDA มีอัตราการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ย 6.0 มม. / วัน Conidiophore มีอยู่เดี่ยวๆหรืออยู่เป็นกลุ่มแตกแขนง เป็นรูปทรงกระบอกตั้งตรง มีผนังกัน มีจุดแผลเป็นสีน้ำตาล conidia มีทั้งแบบมี Beak และ ไม่มี Beak Conidia จะต่อกันเป็นสายสั้นๆ มีรูปร่างแบบ obclavate มีขนาด 14.7X 44.1  $\mu$  ดังแสดงในภาพที่ 4

แหล่งที่พบ 0203 เขตประเวศ กทม.

*Rhizoctonia solani* Kuehn

ลักษณะของโคโลนีที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ระยะแรกโคโลนีมีสีขาว ต่อมาเมื่อมีอายุมากขึ้นโคโลนีจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล มีการสร้างเม็ด Sclerotium ในระยะแรกเม็ด Sclerotium จะมีสีเทาอ่อนๆ ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม มีขนาดประมาณ 0.1- 0.3 มม. โคโลนีมีอัตราการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ยประมาณ 7.3 มม. / วัน เส้นใยจะมีสีเข้ม มีผนังกันตามขวาง ผนังเรียบ การแตกแขนงของเส้นใย จะมีการแตกออกเป็นมุมฉาก ดังแสดงในภาพที่ 5

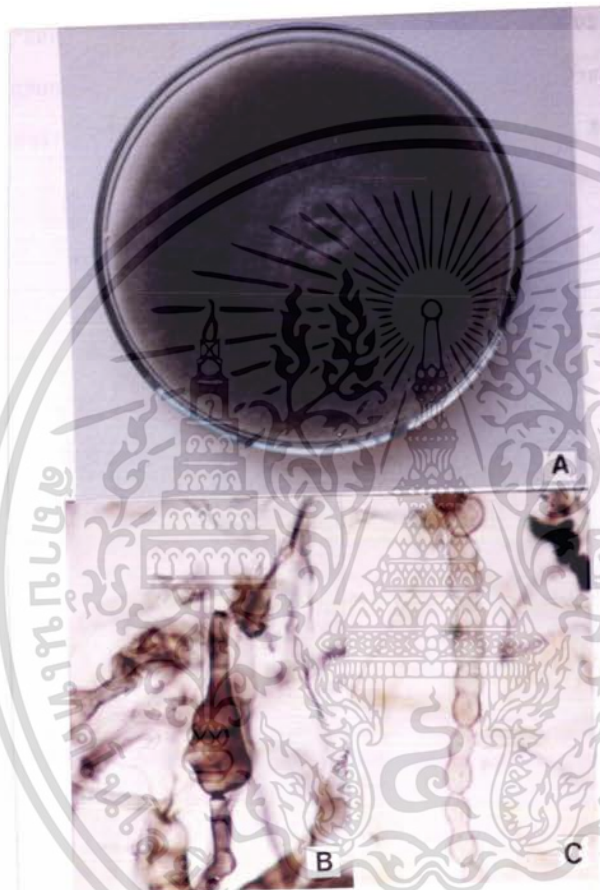
แหล่งที่พบ 0301 อ. พันธ์นิคม จ. ชลบุรี



ภาพที่ 1 รา *Curvularia lunata* var. *aeria* ( Batista , Lima & Vasconcelas )

- A. โคลนบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน
- B. ลักษณะของ Conidia ที่เกิดอยู่บน Conidiophore ( 400X )
- C. ลักษณะของ Conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



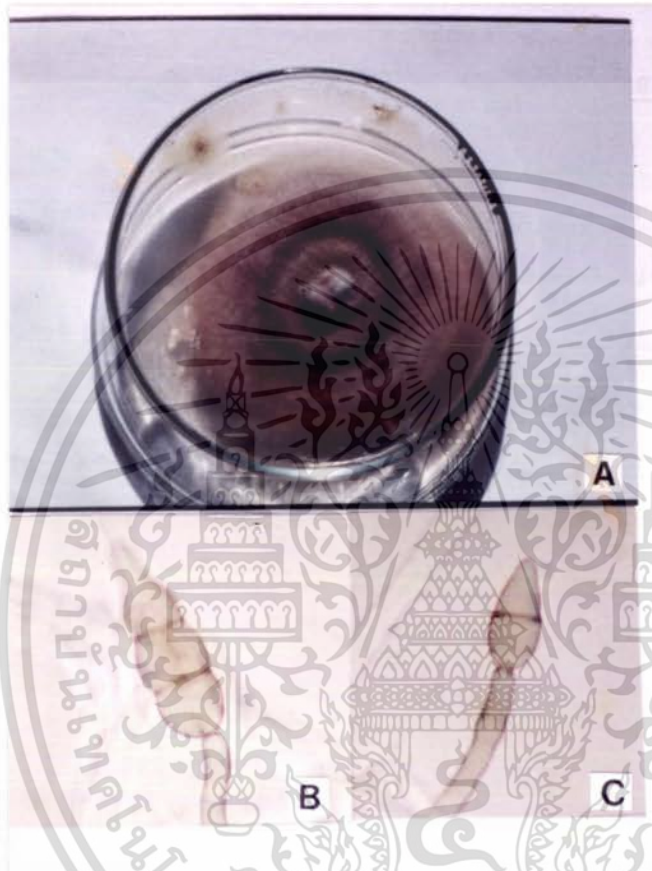
ภาพที่ 2 วั Alternaria raphani Groves & Skolko

A. โคลนินบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

B. ลักษณะของ Conidia (400X)

C. ลักษณะของ Chlamydospore (400X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ราว *Alternaria cinerariae* Hori & Enjoji

A. โคลนีสบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

B, C ลักษณะของ Conidiophores และ Conidia ( 400X )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

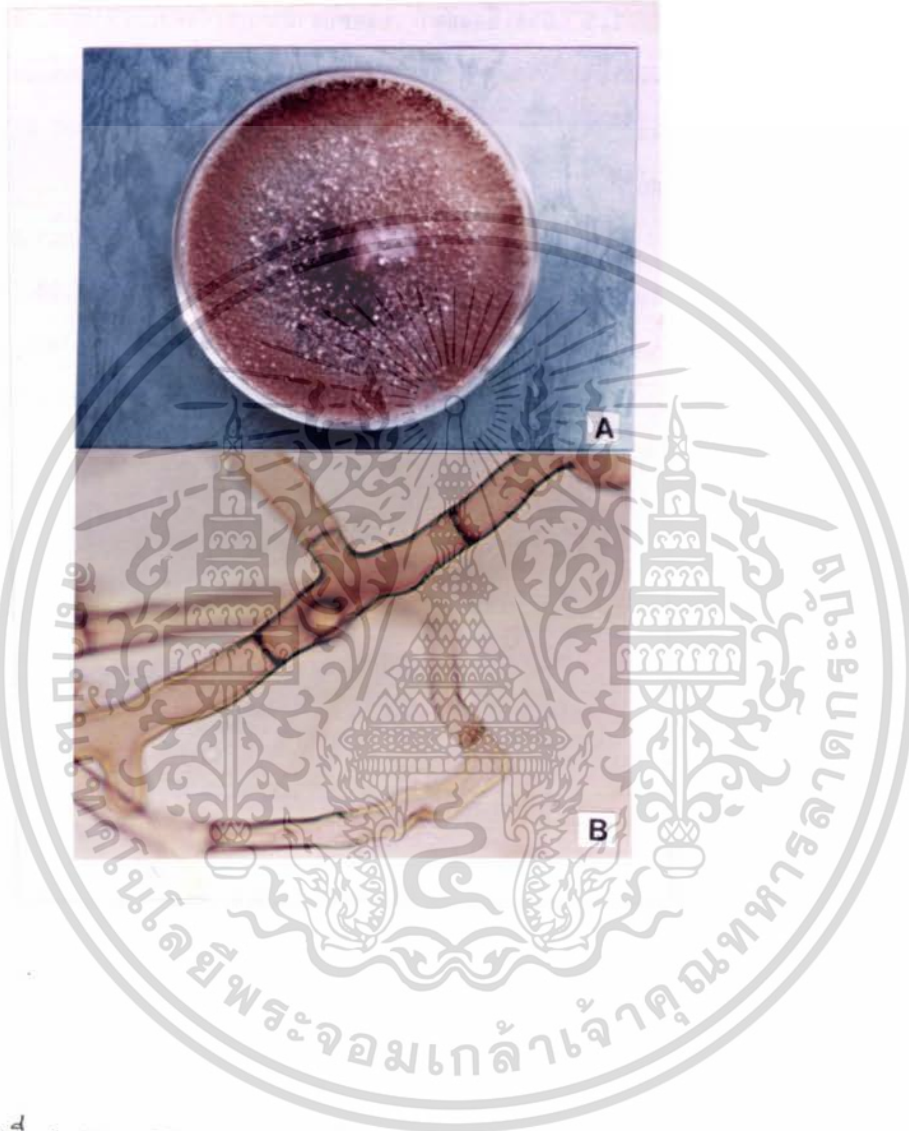


ภาพที่ 4 ราว *Alternaria tenuissima* (Kunze ex Pers)

A. โคลนีนบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

B. , C ลักษณะของ Conidiophores และ Conidia (400X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 รา *Rhizoctonia solani* Kuehn

A. โคลนบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

B. แสดงลักษณะการแตกแขนงแบบพัดจากของเส้นใย ( 400X )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า  
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

## 2. การพิสูจน์การเกิดโรคตามวิธีของ Koch

เมื่อนำเชื้อราที่แยกได้ทั้ง 5 Isolates คือ *Curvularia lunata* var. *aeria* (Batista, Lima & Vasconcelas) No. 0102, *Alternaria raphani* Groves & Skolko No. 0201, *Alternaria cinerariae* Hori & Enjoji No. 0202, *Alternaria tenuissima* (Kunze ex Pers) No. 0203, *Rhizoctonia solani* No. 0301 ไปปลูกเชื้อบนต้นผักตบชวาปกติ โดยในแต่ละ Isolates ทำสปอร์แขวนลอย ในปริมาณ 20 สปอร์/ มล. พบว่าสามารถทำให้ต้นผักตบชวาเกิดโรคได้ และเมื่อทำการแยกเชื้อใหม่และปลูกเชื้อซ้ำบนผักตบชวาอีกครั้ง ปรากฏว่า การเกิดโรคเหมือนกับการปลูกเชื้อครั้งแรก ดังนั้นเชื้อราทั้ง 5 Isolate เป็นสาเหตุของโรคผักตบชวา ลักษณะอาการของแผลบนต้นและใบของผักตบชวาหลังจากการปลูกเชื้อ *Curvularia lunata* var. *aeria* No. 0102 ได้ 7 วันคือ อาการจะเกิดมากกับใบอ่อนที่แตกออกมาใหม่ อาการเริ่มแรกคือใบอ่อนจะเกิดรอยแผลเป็นขีดๆ ต่อมาแผลรอยขีดจะแผ่ขยายมาเชื่อมต่อกันเกิดแผลขนาดใหญ่ ในตอนกลางวันที่มีแดดจัดจะทำให้ใบอ่อนเหี่ยว ม้วนพับกันอยู่ ( ดังแสดงในภาพที่ 7 ) อาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ *Alternaria raphani* No. 0201 อาการเริ่มด้วยการเกิดจุดแผลเล็กสีน้ำตาลอ่อน แผลจะเกิดเป็นแห่งๆ กระจายไปทั่วใบ ต่อมาจุดแผลจะเริ่มขยายใหญ่ขึ้น แผลจะถูกกลืนไปตามความยาวของใบจากโคนใบถึงปลายใบ ( ดังแสดงในภาพที่ 8 ) อาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ *A. cinerariae* No. 0202 อาการที่สังเกตเห็นเริ่มแรกคือ จะเกิดแผลไหม้สีน้ำตาลเข้มขึ้นที่บริเวณปลายใบ จากนั้นแผลจะเริ่มขยายเข้าสู่บริเวณกลางใบและโคนใบ ตามลำดับ ( ดังแสดงในภาพที่ 9 ) อาการบนใบผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อ *A. tenuissima* No.0203 ลักษณะอาการจะคล้ายกับเชื้อ *A. cinerariae* NO.0202 แต่การลุกลามของเชื้อจะรวดเร็วและรุนแรงกว่า ( ดังแสดงในภาพที่ 10 ) อาการที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* No. 0301 ลักษณะของแผลเริ่มแรกจะเกิดจุดน้ำเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไป จุดน้ำนี้จะเกิดทั้งที่ลำต้นและที่ใบของผักตบชวา แผลบนใบจะเกิดการขยายใหญ่ขึ้นทำให้เกิดแผลขนาดใหญ่ แผลที่ลำต้น เชื้อจะเข้าทำลายเนื้อเยื่อ ทำให้บริเวณดังกล่าวเกิดเป็นแผลลึกลงเข้าไป หากต้นใดมีแผลที่ลำต้นมาก ระยะต่อมาต้นก็จะเหี่ยวตาย ( ดังแสดงในภาพที่ 11 )



ภาพที่ 6 การปลูกผักตบชวาในกระถาง สำหรับการปลูกเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 แสดงอาการโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* var. *acria* No. 0102

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 แสดงอาการโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา *Asteria raphani*

No. 0201

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 แสดงอาการบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria cinerariae*

No. 0202

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 แสดงอาการโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria tenuissima*

No. 0203

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 11 แสดงอาการโรคบนใบผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia solani*  
No. 0301

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

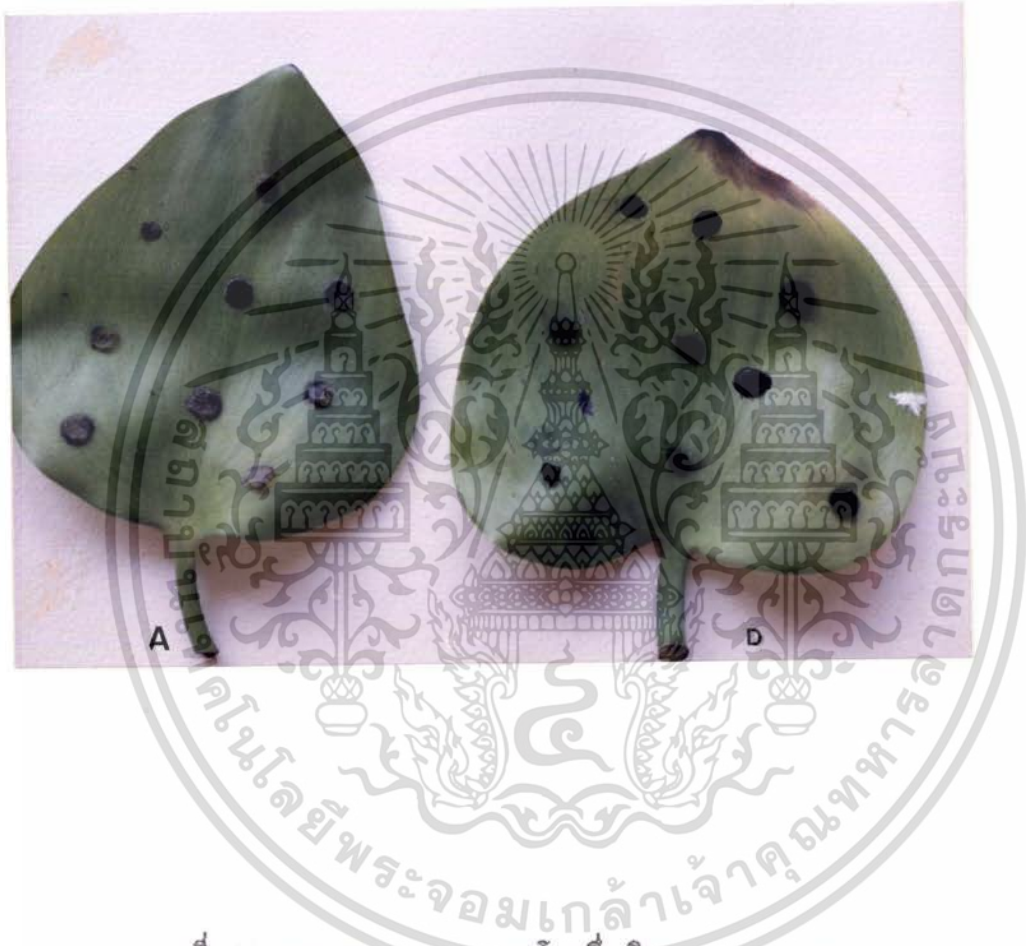
### 3. การคัดเลือกสายพันธุ์ เชื้อโรคที่มีความรุนแรงต่อการเกิดโรค

จากผลการทดลองพบว่า ระดับการเกิดโรคบนผักตบชวาที่เกิดจากเชื้อราทั้ง 5 isolates คือ *Curvularia lunata* var. *aeria* No.0102 , *Alternaria raphani* No. 0201 , *Alternaria cinerariae* No. 0202 , *Alternaria tenuissima* No. 0203 , *Rhizoctonia solani* No. 0301 โดยวางชิ้นวัสดุที่มีเชื้อราเจริญอยู่จำนวน 10 -12 ชิ้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 ซม. วางลงบนใบผักตบชวาและทำ Moist chamber ในภาชนะพลาสติกใสที่มีฝาปิดอยู่ซึ่งมีขนาด 15 X 25 ซม. ภายหลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 7 วัน มีลักษณะอาการเกิดโรคต่างๆของเชื้อราต่างๆดังนี้ *Curvularia lunata* var. *aeria* No. 0102 เส้นใยของเชื้อราจะขยายออกไปบนใบเล็กน้อย เนื้อเยื่อใบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง รอบชิ้นวัสดุบางแห่งเท่านั้น อาการที่ปรากฏบนใบแต่ละแห่งไม่สม่ำเสมอ (ดังแสดงในภาพที่ 12) *Alternaria raphani* No. 0201 เส้นใยของเชื้อราจะแผ่ขยายออกไปตามยาวของใบ อาการของแผลที่ใกล้ชิ้นวัสดุจะเปลี่ยนเป็นสีดำ และในบริเวณที่ขยายออกไปใบผักตบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยที่แผลสีเหลืองจะมาเชื่อมกัน (ดังแสดงในภาพที่ 13) *Alternaria cinerariae* No. 0202 เส้นใยของเชื้อราจะแผ่ขยายออกไป เนื้อเยื่อรอบชิ้นวัสดุจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีดำ บริเวณที่เป็นแผลบนใบสีเหลืองจะมาเชื่อมติดกัน และบริเวณชิ้นวัสดุบางจุดจะเกิดการเชื่อมติดกันของแผลสีดำ (ดังแสดงในภาพที่ 14) *Alternaria tenuissima* No. 0203 เส้นใยของเชื้อราจะแผ่ขยายไปตามยาวของใบผักตบชวา ทำให้เนื้อเยื่อบนใบเกิดแผลสีเหลือง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีดำ แผลสีดำจะมาเชื่อมต่อกัน ทำให้เห็นแผลสีดำได้อย่างชัดเจน (ดังแสดงในภาพที่ 15) *Rhizoctonia solani* No. 0301 เส้นใยของเชื้อราจะเจริญไปตามใบ แผลบนใบบริเวณชิ้นวัสดุจะมีสีเหลือง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีดำ ลักษณะแผลค่อนข้างเรียวยาวไปตามใบ นอกจากนี้บริเวณที่ไม่มีชิ้นวัสดุ อาการที่เกิดขึ้นบนใบผักตบคือ จะเกิดแผลดำน้ำเกิดเป็นจุดๆ ลักษณะแผลจะเป็นแผลดำน้ำ ขอบแผลไม่เรียบ ต่อมาจุดดำน้ำจะขยายออกไปจนมาเชื่อมต่อกัน ทำให้เกิดแผลดำน้ำขนาดใหญ่ ต่อมาแผลนี้จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแก่ และน้ำตาลเข้มตามลำดับ ( ดังแสดงในรูปที่ 16)

เมื่อเปรียบเทียบความรุนแรงของโรคที่เกิดบนใบผักตบชวาระหว่างเชื้อทั้ง 5 Isolate จะเห็นว่าเชื้อรา *Alternaria tenuissima* No. 0203 มีความสามารถในการเข้าทำลายผักตบชวาสูงสุด รองลงมาได้แก่ *Alternaria cinerariae* No. 0202 , *Alternaria raphani* No. 0201 , *Rhizoctonia solani* No. 0301 และ *Curvularia lunata* var. *aeria* No. 0102 ตามลำดับ ( ตารางที่ 2 )

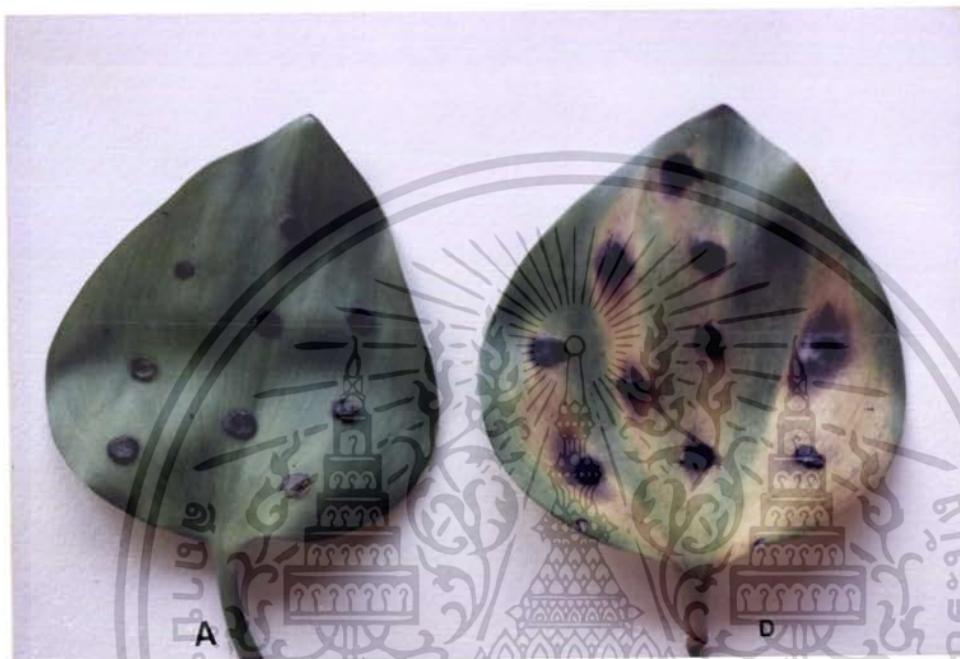
จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ ( ตารางผนวกที่ 1 ) แสดงให้เห็นว่าระดับความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราสาเหตุมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต่ออ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 แสดงความรุนแรงของโรคซึ่งเกิดจากรา *Curvularia lunata* var. *aeria* No.0102 ภายหลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน A = Control, B = ตัวทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



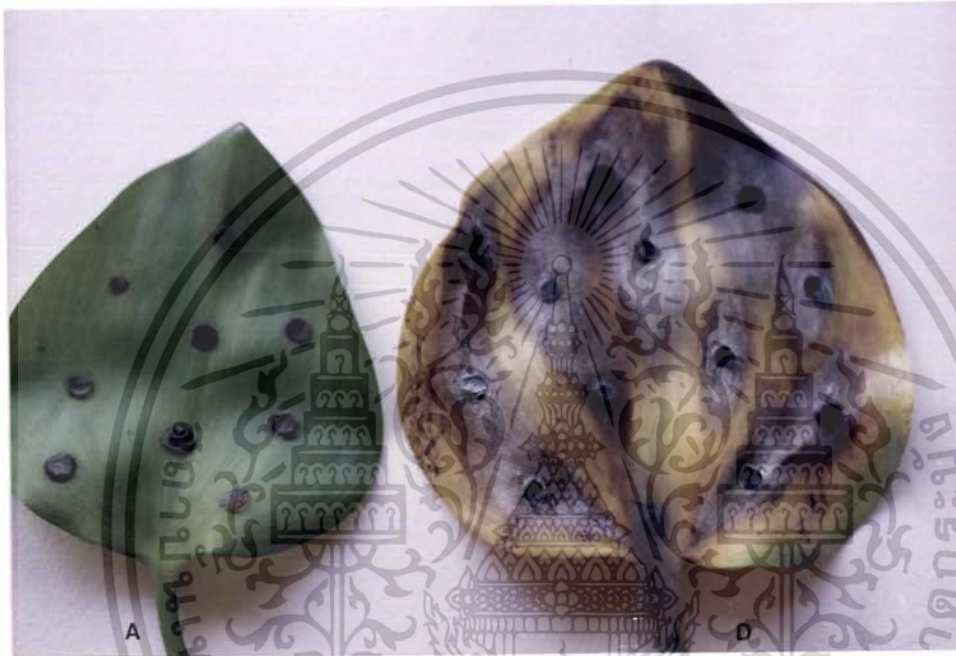
ภาพที่ 13 แสดงความรุนแรงของโรคซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Alternaria raphani*  
No. 0201 ภายหลังจากการปลูกเชื้อ 7 วัน A = Control, B = ตัวทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 14 แสดงความรุนแรงของโรคซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Alternaria cinerariae*  
No. 0202 ภายหลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน A = Control, B= ตัวทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 15 แสดงความรุนแรงของโรคซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Alternaria tenuissina*  
No. 0203 ภายหลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน A = Control , B = ตัวทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 16 แสดงความรุนแรงของโรคซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* No.0301  
 ภายหลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน A = Control , B = ตัวทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1 การศึกษาลักษณะความต้องการ อาหาร อุณหภูมิ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคที่รุนแรงที่สุด

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Alternaria tenuissima* No. 0203 ซึ่งเป็น Isolate ที่มีความสามารถในการก่อโรคกับผักตบชวาสูงสุด โดยการเลี้ยงในอาหารชนิดต่างๆคือ อาหาร PDA, OMA, CMA บ่มไว้ที่อุณหภูมิระดับต่างๆคือ 8c, 28c, 30c จากการทดลองพบว่า เชื้อรา *A. tenuissima* No.0203 ได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30c มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคไโนเท่ากับ 25.55 ซม. และเจริญได้น้อยที่สุดบนอาหาร CMA ที่อุณหภูมิ 8c ค่าแสดงในตารางที่ 3

4.2 การเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคที่มีความรุนแรงมากที่สุดบนอาหารเหลว ( PDB ) บนเครื่องเขย่า ที่ระดับ pH ต่างๆกันคือ pH4, pH5, pH6, pH7, pH8

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Alternaria tenuissima* No. 0203 ซึ่งเป็น Isolate ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคกับผักตบชวาสูงสุด ในอาหารเหลว ( PDB ) ที่มีความเป็นกรดต่างต่างกันระดับ pH4, pH5, pH6, pH7 และ pH8 ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ดีได้เท่าเทียมกันในทุกะดับของอาหาร PDB ที่มีความเป็นกรดเป็นด่างในช่วง pH 4 - 8 อย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในน้ำหนักแห้งของเส้นใย ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 3 แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA , CMA , OMA และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 8°c , 28°c , 30°c เป็นเวลา 7 วัน

อาหาร	อุณหภูมิ (°c)	Replications				รวม	เฉลี่ย
		1	2	3	4		
							1/
PDA	8	5.0	4.85	5.0	5.10	19.95	5.0
	28	5.35	5.85	5.75	5.40	22.35	5.60
	30	6.40	6.55	6.15	6.45	25.55	6.40
OMA	8	0.45	1.20	1.20	0.95	3.80	0.95
	28	6.15	6.65	4.75	5.40	22.95	5.80
	30	7.20	7.50	5.50	4.75	24.95	6.20
CMA	8	0.70	1.00	0.90	0.85	3.45	0.86
	28	3.00	3.45	3.25	3.45	13.15	3.28
	30	4.60	6.35	4.40	4.35	19.70	4.90
รวม		40.60	41.45	37.05	36.75	155.85	38.99

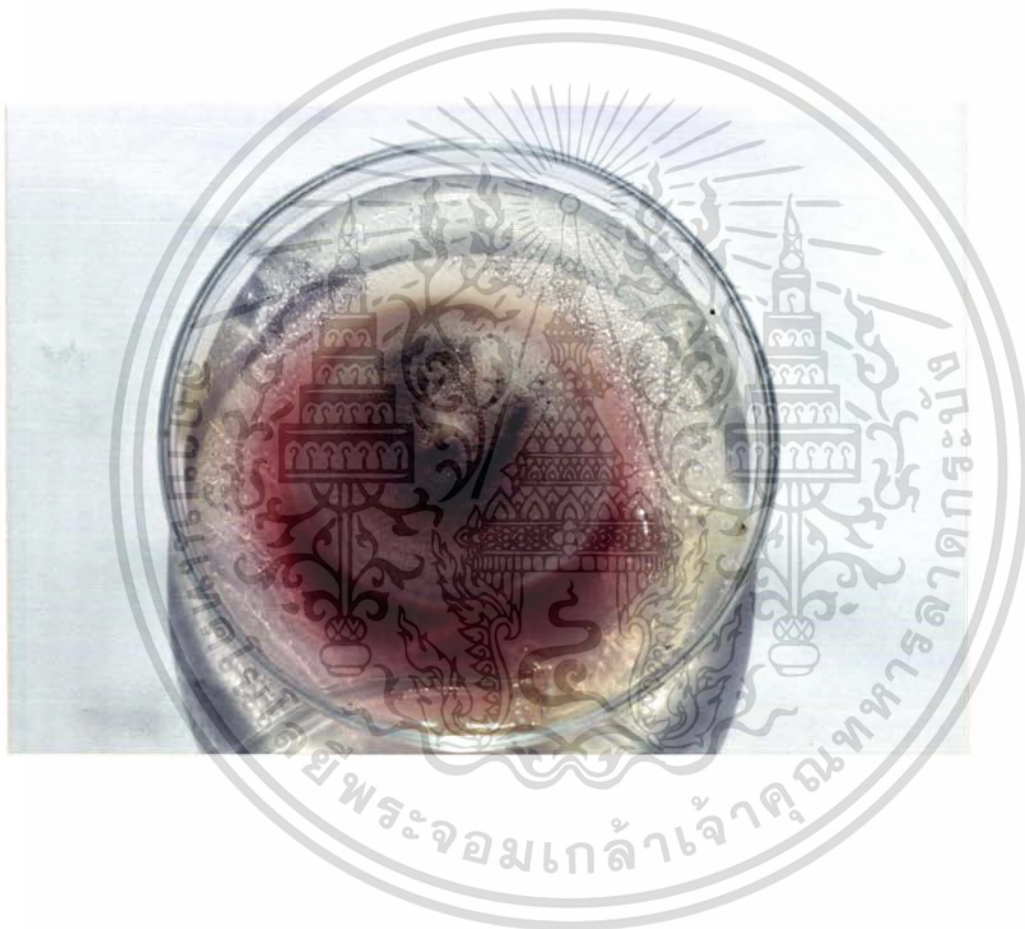
1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ , C. V. = 4.9 % , LSD 0.05 = 0.47 และ LSD 0.01 = 0.64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงน้ำหนักแห้ง ของเส้นใยเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหาร PDB ที่ระดับ pH 4, 5, 6, 7, 8

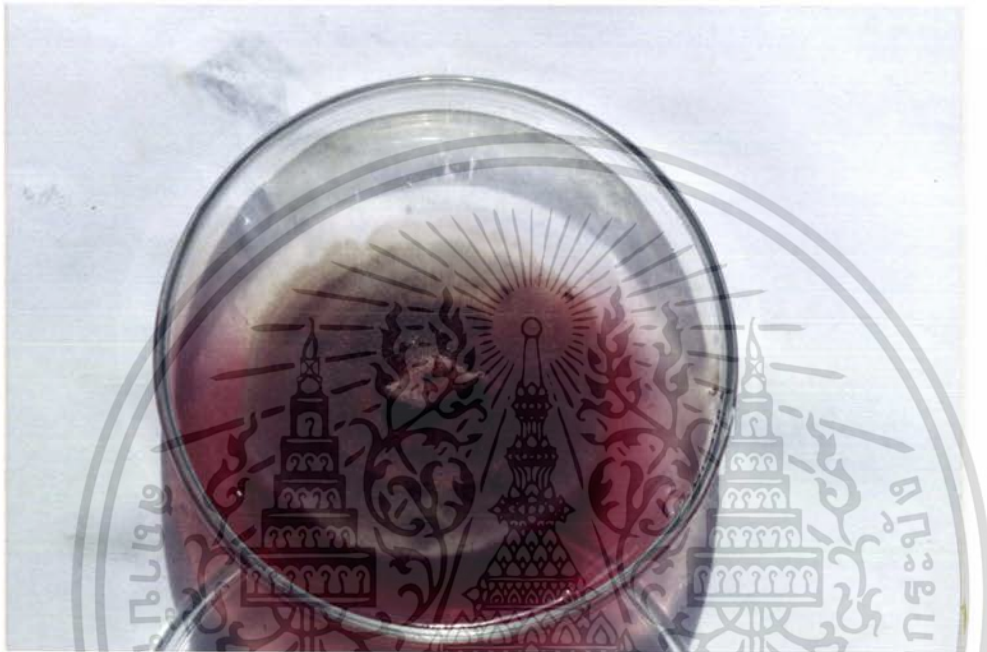
pH	Replications				Total	- X
	1	2	3	4		
pH 4	0.144	0.140	0.148	0.153	0.59	0.15
pH 5	0.146	0.149	0.147	0.154	0.60	0.15
pH 6	0.159	0.157	0.158	0.16	0.63	0.16
pH 7	0.170	0.174	0.172	0.178	0.69	0.17
pH 8	0.176	0.182	0.183	0.187	0.73	0.18
					3.24	0.81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 18 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Alternaria tenuissima* บนอาหาร PDA เลียงที่  
อุณหภูมิ 8๘

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 19 ลักษณะการเจริญของเชื้อ *A. tenuissima* บนอาหาร PDA เลียงที่อุณหภูมิตั้งที่ 28°C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



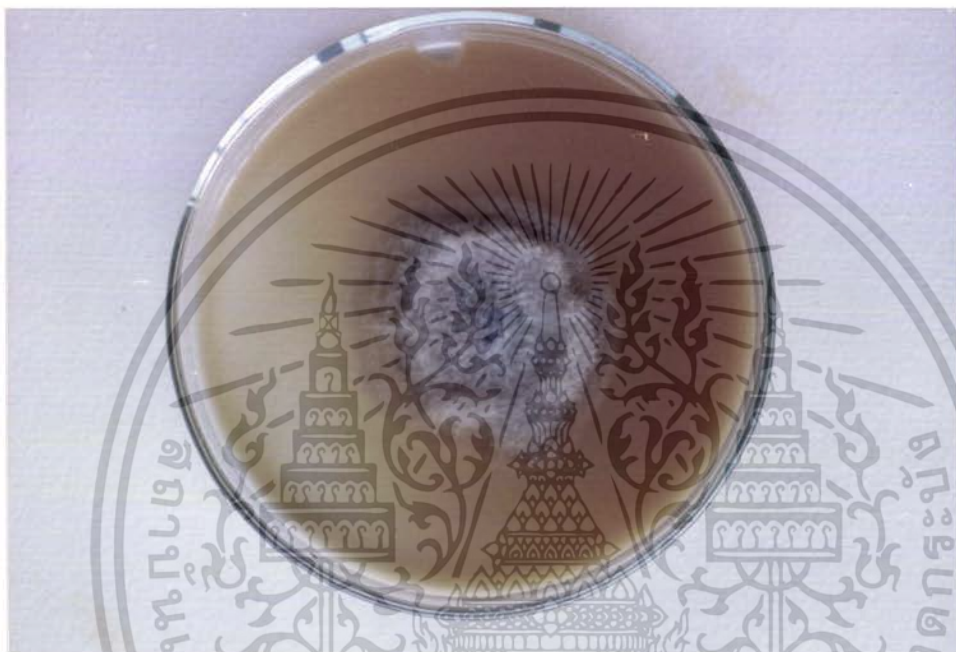
ภาพที่ 20 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *A. tenuissima* บนอาหาร PDA เลียงที่อุณหภูมิ 30°

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 21 ลักษณะ โคลินีของเชื้อ *A. tenuissina* บนอาหาร OMA เลี้ยงที่อุณหภูมิ 38°c

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 22 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *A. tenuissima* บนอาหาร OMA เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28°C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 23 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *A. tenuissima* บนอาหาร OMA เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30°C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



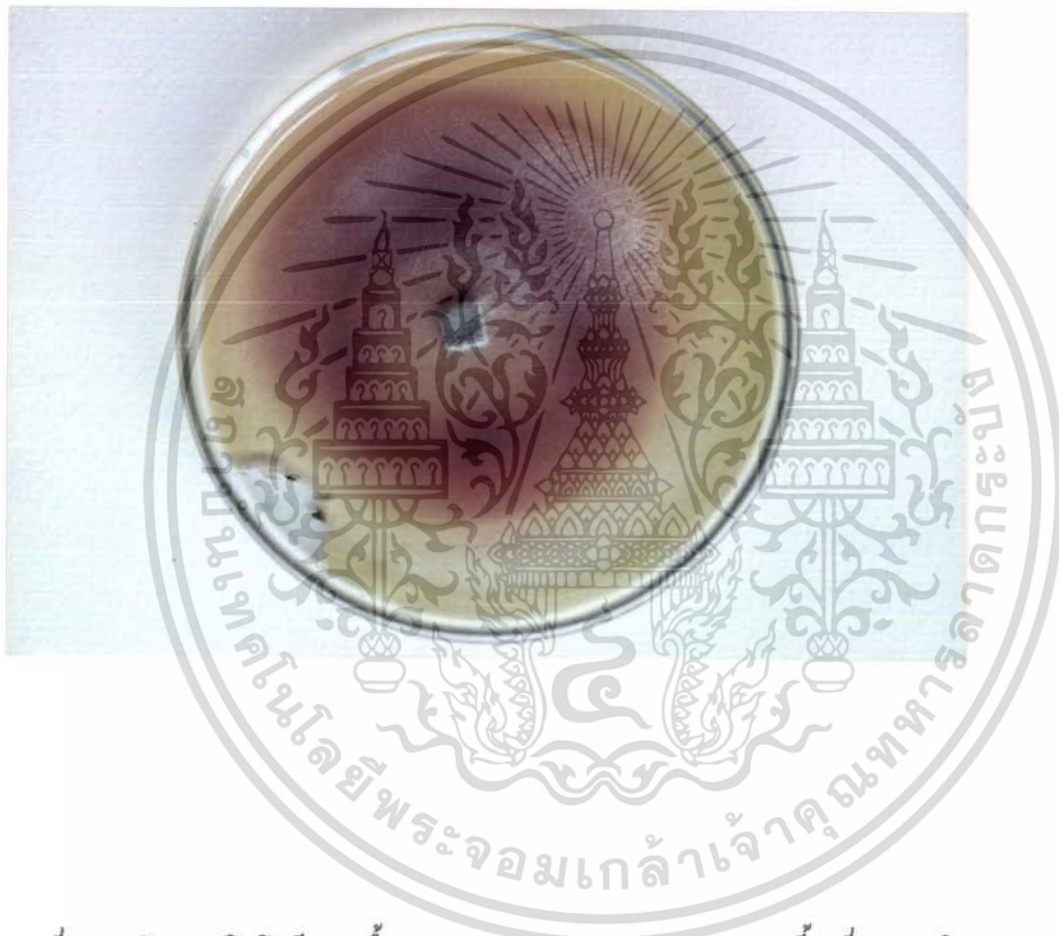
ภาพที่ 24 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *A. tenuissima* บนอาหาร CMA เลียงที่อุณหภูมิ 38°C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 25 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *A. tenuissina* บนอาหาร CMA เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28°C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 26 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *A. tenuissima* บนอาหาร CMA เลี้ยงที่อุณหภูมิ

30°C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 5. การทดสอบเชื้อรากับผักตบชวาและพืชเศรษฐกิจในสภาพเรือนทดลอง

จากการทดลองปลูกเชื้อลงบนผักตบชวา โดยใช้เชื้อรา *Alternaria tenuissima* No.0203 ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีศักยภาพในการก่อโรครกับผักตบชวาสูงสุด ผลปรากฏว่าเชื้อราดังกล่าวมีศักยภาพในการก่อโรครกับผักตบชวามากที่สุด คือมีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 5 ทำให้ผักตบชวาตายประมาณ 75-100% และเมื่อนำเชื้อราดังกล่าวมาปลูกเชื้อลงบนพืชเศรษฐกิจทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ ถั่วฝักยาว ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วลิสง แตงกวา มะเขือเทศ พริกทอง ผักบุ้งจีน พริกชี้ฟ้า ข้าวโพด โดยใช้สปอร์แขวนลอย ปริมาตร 20 สปอร์/ มล. ทำการปลูกเชื้อโดยวิธีฉีดพ่นลงบนส่วนของต้นและใบ หลังการปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ ไม่พบอาการของโรครกับพืชเศรษฐกิจทั้ง 10 ชนิด แสดงว่าเชื้อรา *Alternaria tenuissima* No. 0203 ไม่สามารถทำให้พืชเศรษฐกิจเกิดโรคได้ ดังแสดงในภาพที่ 17 - 26



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 27 แสดงต้นถั่วฝักยาวที่ไม่เกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้น Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 28 แสดงต้นมะเขือเปราะที่ไม่เกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้น Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 29 แสดงต้นถั่วเขียวที่ไม่เกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้น Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 30 แสดงต้นถั่วลิสงที่ไม่เกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้น Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 31 แสดงต้นแตงกวาที่ไม่เกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้น Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 32 แสดงต้นมะเขือเทศที่ไม่เกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้น Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 33 แสดงต้นฟักทองที่ไม่เกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้น Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 34 แสดงต้นผักบุ้งจีนที่ไม่เกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้น Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 35 แสดงต้นพริกชี้ฟ้าที่ไม่เกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้น Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 36 แสดงต้นข้าวโพดที่ไม่เกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้น Control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองปรากฏว่า เชื้อ *Alternaria tenuissima* (Kunze ex Pers) No.0203 มีศักยภาพสูงสุดต่อการเข้าทำลายผักตบชวา โดยทำให้ผักตบชวามีระดับการเกิดโรคสูงสุดถึง 5.0 ซึ่งจะเห็นว่าเคยมีรายงานเกี่ยวกับเชื้อ *Alternaria* ที่ทำให้ผักตบชวาเกิดโรคอย่างรุนแรงแต่อยู่คนละ Species คือ *Alternaria eichhorniae* ( วิจัยและนิพนธ์ , 2518 ; มยุรา , 2527 ; Zetter และ Freeman , 1979 ) และจากผลการทดลองพบว่าเชื้อ *Alternaria cinerariae* No. 0202 และ *Alternaria raphani* No. 0201 เป็นเชื้อที่ทำให้ผักตบชวาเกิดโรครุนแรงรองลงมาจากเชื้อ *A. tenuissima* No. 0203 ตามลำดับ คือ เชื้อ *A. cinerariae* No.0202 มีระดับการเกิดโรค 3.75 และ *A. raphani* มีระดับการเกิดโรค 3.0 จะเห็นได้ว่าเชื้อทั้ง 3 Species ไม่เคยมีผู้ใดรายงานมาก่อนว่าสามารถทำให้ผักตบชวาเกิดโรคได้ในระดับที่ค่อนข้างรุนแรงถึงรุนแรงที่สุด โดยเฉพาะเชื้อรา *A. tenuissima* No.0203 เชื้อรา *Curvularia lunata* var. *aeria* No. 0102 สามารถทำให้เกิดโรคกับผักตบชวาที่ระดับ 2.0 ซึ่งถือว่าเป็นระดับที่ค่อนข้างต่ำ เคยมีรายงานเกี่ยวกับเชื้อ *Curvularia* ที่ทำให้เกิดโรคกับผักตบชวาแต่ต่าง Species กัน ได้แก่ *Curvularia clavata* , *C. eragrostidis* , *C. pallencens* และ *C. prasadii* ( มยุรา , 2527; Zetter และ Freeman , 1980 ) ส่วนเชื้อ *Rhizoctonia solani* No.0301 สามารถทำให้เกิดโรคกับผักตบชวาที่ระดับ 2.5 เคยมีรายงานว่ามีการใช้เชื้อรา *R. solani* มาควบคุมการแพร่ระบาดของผักตบชวา ( Bennett, 1970 ) ซึ่งเชื้อตัวนี้ก่อให้เกิดโรคไหม้ ( Blighting ) แต่มีข้อจำกัดคือมีพืชอาศัยกว้าง

การทดสอบชนิดของอาหารและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อรา *A. tenuissima* No.0203 ผลปรากฏว่า อาหาร PDA มีความเหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนเชื้อรา และอาหาร OMA , CMA , มีความเหมาะสมรองลงมาตามลำดับ ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30<sup>o</sup>c , 28<sup>o</sup>c และ 8<sup>o</sup>c ตามลำดับ ซึ่ง Freeman , 1982 ) เคยรายงานชนิด อุณหภูมิ ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณเชื้อ ไว้ว่า PDA เป็นอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเชื้อ อุณหภูมิจะอยู่ในช่วง 25-30 องศา แต่จากการนับจำนวนสปอร์แล้วผลปรากฏว่า ในอาหาร OMA, CMA เชื้อราจะไม่มี การสร้างสปอร์ไม่ว่าจะทำการเลี้ยงเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิใดๆก็ตาม ในทางปฏิบัติแล้วอาหาร OMA, CMA จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณเชื้อ สำหรับอาหาร PDA เชื้อรา *A. tenuissima* No.0203 สามารถสร้างสปอร์ได้มากที่สุดที่อุณหภูมิ 30<sup>o</sup>c , 28<sup>o</sup>c , 8<sup>o</sup>c ตามลำดับ สำหรับการเพิ่มปริมาณเชื้อราในอาหารเหลว ( PDB ) ที่ระดับ pH ต่างๆกัน ผลปรากฏว่าอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราในแต่ละระดับ ไม่มีความแตกต่างกันเลย ซึ่งข้อมูลที่ได้ขัดแย้งจากที่เคยมีการรายงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไว้คือ *A. tenuissima* จะเจริญได้ดีที่ pH 6.3 - 7.0 (Freeman, Charudattan, 1981) จากการที่ผลการทดลองออกมาคลาดเคลื่อนจากที่เคยมีผู้เคยรายงานไว้มาก สันนิษฐานว่าอาจจะเกิดจากระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองสั้น เปรียบยังเจริญได้ไม่เต็มที่ ดังนั้นในระดับ pH แต่ละระดับ น้ำหนักของเส้นใยจึงไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางภาคผนวกที่ 3)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สรุปผลการทดลอง

เชื้อราที่แยกได้จากผักตบชวาที่แสดงอาการของโรคมมี 5 isolate จัดอยู่ใน Sub - division deuteromycotina คือ *Curvularia lunata* var. *aeria* Batista, Lima & Vasconcelas No. 0102, *Alternaria raphani* Groves & Skolko No. 0201, *Alternaria cinerariae* Hori & Enjoji No.0202, *Alternaria tenuissima* Kunze ex Perse No. 0203, *Rhizoctonia solani* No. 0301 จากการนำเชื้อทั้ง 5 Isolate มาทดสอบเปรียบเทียบระดับความรุนแรงในการเกิดโรคแล้ว ปรากฏว่าเชื้อรา *Alternaria tenuissima* No. 0203 มีระดับความรุนแรงในการก่อโรคสูงที่สุด จากนั้นได้นำ *Alternaria tenuissima* No. 0203 มาทำสปอร์แขวนลอย ปลุกเชื้อลงบนผักตบชวาซึ่งปลุกในกระถาง ปรากฏว่า *Alternaria tenuissima* No .0203 สามารถก่อให้เกิดโรคร่วมกับผักตบชวาอย่างรุนแรง และเมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการเกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจ 10 ชนิด ได้แก่ ถั่วฝักยาว ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วลิสง แดงกวา มะเขือเทศ ฟักทอง ผักบุ้งจีน พริกชี้ฟ้า และ ข้าวโพด ผลปรากฏว่า *Alternaria tenuissima* No. 0203 ไม่สามารถทำให้พืชทดสอบเป็นโรคได้ การทดสอบความรุนแรงในการเกิดโรคของเชื้อสาเหตุผักตบชวา แสดงให้เห็นว่าระดับความรุนแรงของเชื้อสาเหตุมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยรา *Alternaria tenuissima* Kunze ex Perse No. 0203 มีความสามารถในการเกิดโรคสูงสุด รองลงมาได้แก่ *Alternaria cinerariae* Hori & Enjoji No. 0202, *Alternaria raphani* Groves & Skolko No. 0201, *Rhizoctonia solani* No. 0301 และ *Curvularia lunata* var. *aeria* No. 0102 ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา *Alternaria tenuissima* No. 0203 มาเลี้ยงในอาหารแต่ละชนิด ได้แก่ PDA, OMA, CMA บ่มที่อุณหภูมิแตกต่างกันคือ 30°c , 28°c , 8°c ตามลำดับผลปรากฏว่า อุณหภูมิทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ คือ *Alternaria tenuissima* No. 0203 จะเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30°c , 28°c , 8°c ตามลำดับ สำหรับการทดสอบหาระดับ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา ผลปรากฏว่า ในแต่ละระดับ pH ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

## เอกสารอ้างอิง

- กองโครงการวิจัยและประสานงานวิจัย .2529. การใช้เชื้อราในการควบคุมวัชพืชน้ำ. เอกสารวิชาการ: การฝึกอบรมเกี่ยวกับวัชพืชน้ำ, สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 30 หน้า
- บรรพต ฌ.ป้อมเพชร. 2527. การควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี น. 1-18 . ใน เอกสารวิชาการเล่มที่ 4 ศูนย์วิจัยการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีแห่งชาติ. มหาเกษตรศาสตร์ บางเขน. กรุงเทพฯ.
- มยุรา ฐริพันธุ์ภิญโญ. 2527. เชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคของผักตบชวาและศักยภาพในการควบคุมโดยชีววิธี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- วิจัย รักวิทยาศาสตร์ และ นิพนธ์ วิสารทนนท์ . 2518. การแยกเชื้อราที่เป็นโรคกับผักตบชวา. วิทยาศาสตร์การเกษตร . 9: 170 - 176.
- Acharkor , S.P., and S.N. Banerjee.1932. *Fusarium* sp. causing disease of *Eichhornia crassipes* Solms. Proc.Indian Sci. Cong. 19: 298.
- Bennett, F. S. 1968. Biological control. In Aquatic Vegetation and Its Use and Control, ( ed.) , D. S. Mitchell, 99-106. Paris : UNESCO.
- Bennett, F. D. , 1970. Exploration for natural enemies of the waterhyacinth in northern South Ameica and Trinidad. Hyacinth Contr. J. 7: 44-52.
- Freeman, T. E., and R. Charudattan. 1974. Occurrence of *Cercospora piaropi* on water hyacinth in florida. Plant dis. Repr. 54: 505-515.
- Freeman, T.E., 1981. Biological control of water weeds with plant pathogens. Publ. 23, Tect. Compl. Rep. OWRR Proj, B-011-FLA water Resources Res. Center, Univ. of Florida. 55p.
- Freeman, T.E. 1982. Survival of sclerotia of *Rhizoctonia solani* in lack water. Plant disease. 57: 601 - 605.
- Holm, G.K , 1980. Guidelines for the control of aquetic weeds, pp. 15-18. In C. K. Varshney and J. R. Rozoska ( ed. ) . Aquetic weeds in S. E. Asia. The Haque, Taiwan.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Joyner, B. G., 1979. Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* to aquatic plants. *Phytopathology* 63:681-685.
- Nag Raj, T. R. , and K. M. Ponnappa. 1982. Some interesting fungi of India. *Tech. Bull Commonw. Inst. Bio. Control* 9: 31-43.
- Perkins. B. D. 1974. Biocontrol of Waterhyacinth. Aquatic Plant Control Program Tech. Rep. No. 6, Biological Control of Waterhyacinth with Insect Enemies, U. S. Army Engineers Waterways Exp. Sta., Vicksburg, Miss. pp. E3-E17.
- Sawzda, P. E. 1982. Location, Identification, and characterization of pathogens of the water hyacinth. Ph.D. Thesis, Univ. of Florida. 53 p.
- Templeton, D. A. 1976. Phenolic compounds as a possible means of disease resistance in waterhyacinths and their significance in biological control programs with phytopathology, pp. 330-340. *In* Proceeding of the American Phytopathological Society, Florida Univ. Florida.
- Tharp, B. C. 1969. Texas parasitic fungi . *Mycologia*. 9: 105-124.
- Wilson, C. L. 1969. Use of plant pathogens in weed control. *Ann. Rev. Phytopathol* . 7: 411-434.
- Zetter, F. W., and T.E. Freeman. 1980. Plant Pathogens as biocontrols of aquatic weeds . *Ann. Rev. Phytopathology* 10: 455-470.

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าระดับการเกิดโรคของผักตบชวา

SOV	df	SS	MS	F	F- table	
					5%	1%
Treatment	4	22.0	5.5	45.83**	3.06	4.89
Error	15	1.75	0.12			
Total	19	23.75				

C. V. % = 2

LSD 0.05 = 0.18 ,

LSD 0.25 = 0.25

\*\* = Highly Significant at 1% Level

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของการเจริญเติบโตในอาหาร PDA, OMA, CMA ที่อุณหภูมิ 8 °C, 28 °C, 30 °C

SOV	df	SS	MS	F	F - table	
					5%	1%
Block	3	1.94	0.65	0.17ns	3.01	4.72
Treat	8	139.67	17.46	4.67**	2.36	3.36
Media	2	41.48	20.74	5.55*	3.40	5.61
Temp	2	82.32	41.16	11.00**	3.40	5.61
Media x Temp	4	15.87	3.97	1.06ns	2.78	4.22
Error	24	89.86	3.74			
Total	35	231.47				

C. V. = 4.9%      LSD 0.05 = 0.47,      LSD 0.01 = 0.64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติในการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวที่ระดับ pH 4, 5, 6, 7, 8

SOV	df	SS	MS	F	F - table	
					5%	1%
Treatment	4	0.01	0.0025	0.0051ns	3.06	4.89
Error	15	7.42	0.49			
Total	19					

C. V. = 86%

LSD 0.05 = 0.74,

LSD 0.01 = 1.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้