

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 1. อุปกรณ์

- 1.1 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ
- 1.2 หลอดทดลอง
- 1.3 ที่วางหลอดทดลอง
- 1.4 ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 250 ml.
- 1.5 กระบอกตวงขนาด 100 ml.
- 1.6 บีกเกอร์
- 1.7 แท่งแก้วคน
- 1.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 1.9 ซ้อนตักสาร
- 1.10 ปากคีบ
- 1.11 เข็มเขี่ยเชื้อ
- 1.12 หลวงถ่ายเชื้อ
- 1.13 สำลี
- 1.14 กระดาษทิชชูที่อบฆ่าเชื้อแล้ว
- 1.15 แท่งแก้วรูปตัววี (V)
- 1.16 สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์
- 1.17 ถุงพลาสติก
- 1.18 หนัวยาง
- 1.19 ไม้บรรทัด
- 1.20 มีด
- 1.21 กรรไกรตัดกิ่ง
- 1.22 เขียง
- 1.23 ผ้าขาวบาง

- 1.24 ปากกาเขียนแก้ว
- 1.25 Paraffin film
- 1.26 Stage micrometer
- 1.27 Ocular micrometer
- 1.28 Cork boror
- 1.29 Haemacytometer
- 1.30 Hand spray

## 2. เครื่องมือ

- 2.1 กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (compound microscope) ยี่ห้อ Olympus
- 2.2 กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo microscope) ยี่ห้อ Olympus
- 2.3 เต้าแก๊ส
- 2.4 ตู้ถ่ายเชื้อ ยี่ห้อ S.K. Trading
- 2.5 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ยี่ห้อ A11 America รุ่น 25X
- 2.6 เครื่องชั่งละเอียด (4 ตำแหน่ง) ยี่ห้อ A&D
- 2.7 ตู้อบ (hot air oven) ยี่ห้อ WTB binder
- 2.8 เต้าไมโครเวฟ ยี่ห้อ Sharp

## 3. วัสดุ

- 3.1 มันฝรั่ง
- 3.2 ถั่วเหลือง

## 4. ตัวอย่างพืช

- 4.1 ตัวอย่างลำไยพันธุ์อีดอ จากอำเภอสารภี จังหวัดเชียงใหม่, CMS
- 4.2 ตัวอย่างลำไยพันธุ์อีดอ จากอำเภอสันกำแพง จังหวัดเชียงใหม่, SKP
- 4.3 ตัวอย่างลำไยพันธุ์อีดอ จากกิ่งอำเภอคอยหล่อ จังหวัดเชียงใหม่, DL
- 4.4 ตัวอย่างลำไยพันธุ์อีดอ จากอำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่, CMH
- 4.5 ตัวอย่างลำไยพันธุ์อีดอ จากอำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน, LP

## 5 สารเคมี

### 5.1 สารเคมีที่ใช้แยกเชื้อรา

5.1.1 โซเดียมไฮโปคลอไรต์ 10 % (sodium hypochlorite,  $\text{NaClO}_2$ ) ชื่อทางการค้า  
Clorox 10 %

5.1.2 Ethanol 95 %

5.1.3 น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (distilled water)

### 5.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

5.2.1 Malt extract (Difco)

5.2.2 Yeast extract (Difco)

5.2.3 Rose bengal (Fluka)

5.2.4 Beef extract

5.2.5 Chloramphenicol

5.2.6 Dextrose

### 5.3 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมสไลด์กึ่งถาวร

5.3.1 Lactophenol

5.3.2 Lactophenol-cotton blue

5.3.3 น้ำกลั่น

5.3.4 น้ำยาทาเล็บ

## 6 อาหารที่ใช้สำหรับแยกและเลี้ยงเชื้อ

6.1 Potato Dextrose Agar (PDA)

6.2 Rose Bengal Agar (RBA)

6.3 Mixed Agar (MA)

6.4 Soybean Agar (SBA)

6.5 Malt Yeast Agar (MYA)

## วิธีการทดลอง

### 1. การแยกและจำแนกชนิดเชื้อราเอนโดไฟต์

#### 1.1 การทดสอบการฆ่าเชื้อที่ผิว

ทดสอบการฆ่าเชื้อที่ผิวในส่วนกิ่ง ใบ และรากลำไย เพื่อหาระยะเวลาและความเข้มข้นที่เหมาะสมของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ในการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. นำตัวอย่างกิ่ง ใบ และรากลำไย มาล้างด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด
2. แยกใบออกจากกิ่ง จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. ตัดส่วนของเส้นกลางใบ (vein) และเนื้อใบ (intervein) กิ่งจะเลือกกิ่งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ซม. รากเลือกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-0.8 ซม. จากนั้น ใช้กรรไกรตัดกิ่งตัดให้มีขนาดยาวประมาณ 1 ซม. เพื่อนำไปทำการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อไป
3. ใช้ผ้าขาวบางห่อชิ้นส่วนของพืช จากนั้นนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 95 % นาน 15 วินาที ยกขึ้น ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูที่ปราศจากเชื้อ
4. แช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 0, 1, 3, 5 และ 7 % เป็นเวลานาน 1, 3, 5 และ 7 นาที
5. แช่ในแอลกอฮอล์ 95 % อีกครั้งเป็นเวลานาน 15 วินาทีเช่นกัน ยกขึ้น ซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูที่ปราศจากเชื้อ
6. นำชิ้นส่วนของพืชวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal Agar (RBA) โดยแต่ละจานวางชิ้นพืช 4 ตำแหน่ง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4-5 วัน
7. ตรวจสอบเชื้อที่เจริญออกมาจากแต่ละชิ้นส่วนพืช ที่เวลาและความเข้มข้นแตกต่างกัน

#### 1.2 การเก็บตัวอย่างพืชและการแยกเชื้อ

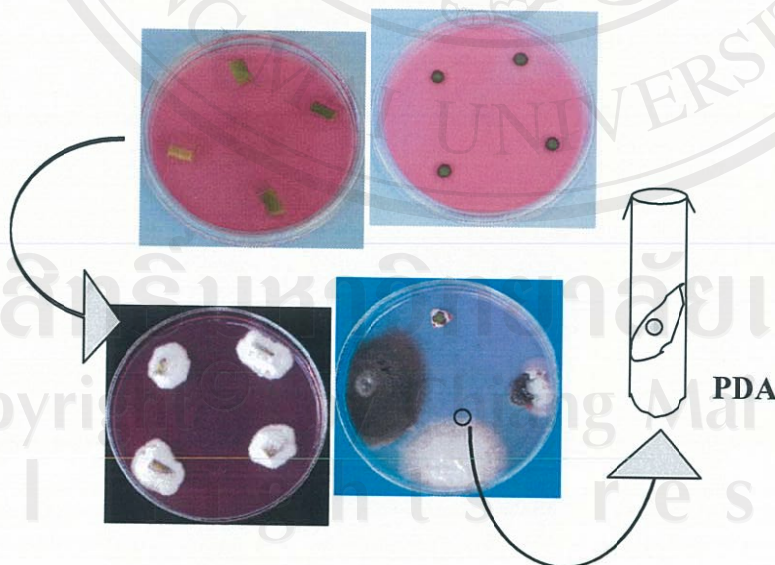
เก็บตัวอย่างลำไยพันธุ์อีดอ จากสวนลำไยในเขตอำเภอสารภี อำเภอสันกำแพง อำเภอหางดง และกิ่งอำเภอคอยหล่อ จังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างสวนละ 10 ต้น โดยเลือกเก็บจากต้นที่มีการเจริญแบบปกติ (ไม่มีการเข้าทำลายของโรคและแมลง) นำตัวอย่างที่ได้มาทำการฆ่าเชื้อที่ผิว ตามวิธีที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น โดยในการทดสอบการฆ่าเชื้อที่ผิว พบว่า ความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่เหมาะสมในส่วนของใบและกิ่ง คือ 3 % เป็นเวลานาน 1 นาที และในส่วนของราก คือ

5 % เป็นเวลานาน 3 นาที ตรวจสอบเชื้อราที่เจริญออกมา จากนั้นแยกเชื้อราที่ได้ลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เพื่อให้ได้เชื้อราที่บริสุทธิ์ จากนั้นจึงแยกเก็บไว้ใน PDA slant อีกครั้งเพื่อจัดจำแนกต่อไป นับจำนวนชิ้นตัวอย่างพืชที่มีเชื้อราเจริญออกมา เพื่อคำนวณหาค่า isolate prevalence หรือ Colonization rate ดังสูตร (Bussaban *et al.*, 2001)

$$\text{Colonization rate} = \frac{\text{จำนวนชิ้นพืชที่มีเชื้อราแอนโดไฟต์}}{\text{จำนวนชิ้นพืชที่วาง}} \times 100$$

### 1.3 การตรวจสอบและจัดจำแนกเชื้อราแอนโดไฟต์

1. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยสังเกตลักษณะการเจริญ สีของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร PDA
2. ตรวจสอบลักษณะรูปร่าง สี ขนาด และโครงสร้างที่เชื้อราสร้างขึ้น
3. เปรียบเทียบลักษณะต่าง ๆ เพื่อบ่งชนิดของเชื้อราในระดับ Genus โดยเปรียบเทียบกับหนังสืออ้างอิง Barnett and Hunter (1987), Ellis (1971, 1976), Dennis (1978), Carmichale *et al.* (1980), Sutton (1980), Hawksworth *et al.* (1995) และ Hanlin (1998)



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการแยกเชื้อราแอนโดไฟต์จากส่วนต่าง ๆ ของลำไยบนอาหาร RBA เมื่อมีเชื้อราเจริญออกมาแล้ว จึงย้ายไปเก็บไว้ใน PDA slant เพื่อศึกษาต่อไป

## 2. การแยกเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดดำลำไย

### 2.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรค

นำตัวอย่างใบลำไยที่แสดงอาการของโรคใบจุดดำมาล้างทำความสะอาด จากนั้นใช้ใบมีดโกนตัดเนื้อเยื่อบริเวณรอยต่อ ระหว่างส่วนที่ปกติดกับส่วนที่เป็นโรคให้ได้ขนาดประมาณ 3x3 มิลลิเมตร แช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1 % นานประมาณ 2 นาที ล้างชิ้นส่วนพืชในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปวางบนจานอาหาร PDA จานละ 4 ชิ้น บ่มเชื้อไว้นาน 3-4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) เมื่อเชื้อราเจริญออกมา ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และตรวจสอบว่าเป็นเชื้อราชนิดใด และเก็บไว้เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป พบว่าเชื้อราที่เป็นสาเหตุที่แท้จริงโรคใบจุดดำลำไย คือ เชื้อรา *Colletotrichum* sp.

### 2.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดดำลำไย

นำเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้มาทดสอบความสามารถในการเกิดโรคด้วยวิธี detach leaf โดยในการทดลองนี้ จะใช้เชื้อราที่เจริญบนอาหาร MYA อายุประมาณ 7 วัน แล้วใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดแล้วนำไปวางบนใบลำไยที่นำมาทดสอบ โดยในการทดลองนี้จะใช้ใบแก่ และใบอ่อน การทำแผลและการไม่ทำแผลเป็นการเปรียบเทียบ อีกการทดลองหนึ่ง เป็นการใส่ spore suspension ของเชื้อราสาเหตุหยดลงบนใบพืชแทนการใช้ชิ้นอาหาร แล้วจึงนำใบลำไยไปบ่มใน moist chamber เป็นเวลา 7 วัน เพื่อสังเกตอาการต่อไป

### 2.3 การเพิ่มปริมาณเชื้อสาเหตุโรคใบจุดดำลำไย

การเพิ่มปริมาณเชื้อสาเหตุนี้ ได้ทำการทดลองโดยใช้อาหาร 4 ชนิดด้วยกัน คือ PDA, SBA, MA และ MYA เพื่อทดสอบว่าอาหารชนิดใดจะสามารถทำให้เกิดการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. มากที่สุด เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 7-10 วัน ซึ่งพบว่า อาหารที่มีคุณสมบัติเหมาะสม และทำให้ได้สปอร์มากที่สุด คือ อาหาร MYA

### 3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟต์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดดำลำไยในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อราเอนโดไฟต์ที่สามารถแยกได้จากส่วนต่าง ๆ ของลำไยมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดดำลำไยโดยวิธี Dual culture โดยวางเชื้อราสาเหตุกับเชื้อราเอนโดไฟต์ให้ห่างจากขอบจานอาหาร 2 เซนติเมตร โดยวางเชื้อที่เจริญช้าก่อน แล้วจึงวางเชื้อที่เจริญเร็วในเวลาต่อมา บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังกะสี บันทึกการเจริญของเชื้อราสาเหตุ โดยวัดขนาดความยาวรัศมีของเชื้อราสาเหตุในชุดทดสอบ และชุดควบคุม โดยเริ่มวัดเมื่อเชื้อรามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ในการทดลองนี้ ได้มีการวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) โดยทำการทดลอง 4 ซ้ำ จากนั้นจึงนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อราเอนโดไฟต์ โดยสูตรที่ใช้ในการคำนวณคือ

สูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต (Percent Inhibition of Radial Growth : PIRG)

$$\text{PIRG} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

$R_1$  = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ในชุดควบคุม

$R_2$  = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ในชุดทดสอบ

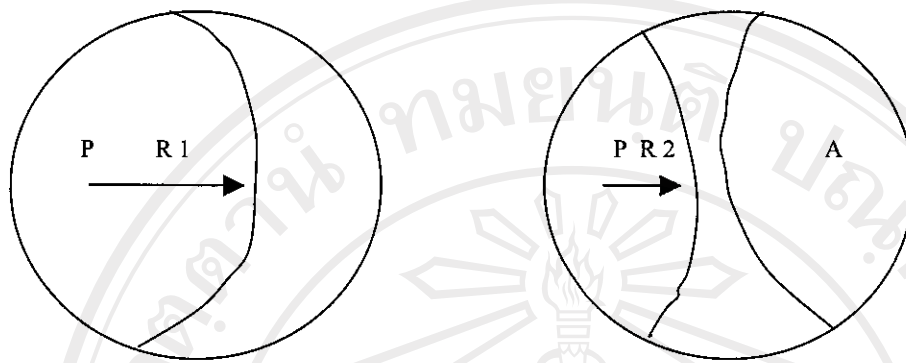
นำค่าที่ได้มาประเมินความสามารถในการยับยั้งได้ดังนี้ (เกษม, 2532)

> 75 % = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก

61-75 % = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง

51-60 % = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง

< 51 % = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ



ชุดควบคุม

ชุดทดสอบ

- P = เชื้อราสาเหตุโรค  
 A = เชื้อจุลินทรีย์ปฏิกิริยา  
 R 1 = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุในงานชุดควบคุม  
 R 2 = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุในงานชุดทดสอบ

ภาพที่ 2 ลักษณะการทดสอบแบบ Dual Culture Technique บนงานอาหาร PDA

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright© by Chiang Mai University  
 All rights reserved



#### 4. การทดสอบความสามารถของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการเจริญของต้นกล้าลำไย

##### 4.1 การเตรียม suspension ของเชื้อราเอนโดไฟต์

คัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์ 4 ชนิด ที่ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดลำไยได้ดี และมีลักษณะการยับยั้งที่แตกต่างกัน ทั้งแบบเจริญคลุม เจริญชน และสร้าง clear zone ได้แก่ *Colletotrichum* sp. No. 2, *Eurotium* sp., *Trichoderma* sp. และ *Mycelia Sterilia* 19 มาทำการทดสอบโดยเลี้ยงเชื้อราบนจานอาหาร PDA เป็นเวลา 7-10 วัน เมื่อเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารแล้ว ใช้น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อเทลงในจานอาหาร จากนั้น ใช้แผ่นสไลด์ชุบเส้นใยแล้วใช้ผ้าขาวบางกรองเส้นใยอีกครั้งหนึ่ง ปรับความเข้มข้นของ suspension ให้ได้อย่างน้อย  $10^6$  สปอร์/มิลลิลิตร

##### 4.2 การทดสอบความสามารถของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการเจริญของต้นกล้าลำไย

นำ suspension ของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่เตรียมไว้มาทำการทดลอง โดยแบ่งการทดลองเป็น 5 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1	พ่นด้วย	น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)
กรรมวิธีที่ 2	พ่นด้วย	<i>Colletotrichum</i> sp. No. 2
กรรมวิธีที่ 3	พ่นด้วย	<i>Eurotium</i> sp.
กรรมวิธีที่ 4	พ่นด้วย	<i>Trichoderma</i> sp.
กรรมวิธีที่ 5	พ่นด้วย	<i>Mycelia Sterilia</i> 19

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยทำการทดลองกรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น ทำการพ่น suspension ของเชื้อราเอนโดไฟต์ลงบนต้นกล้าลำไยให้ชุ่ม จากนั้นใช้ถุงพลาสติกขนาด 16 x 24 นิ้ว คลุมทั้งกระถางเพื่อเพิ่มความชุ่มชื้น มัดปากถุงไว้เวลานาน 2-3 วัน จึงเปิดปากถุงออก การพ่น suspension นี้จะทำการพ่นซ้ำ 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งจะพ่นห่างกัน 7 วัน จากนั้นจึงบันทึกผลการทดลองหลังจากพ่นเชื้อราเอนโดไฟต์ครบ 3 ครั้ง

## 5. การทดสอบความสามารถของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการควบคุมโรคใบจุดดำลำไย ในสภาพโรงเรือน

### 5.1 การเตรียม suspension ของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดดำลำไย

นำเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่แยกได้จากแผลใบจุดดำลำไย และผ่านการทดสอบด้วยวิธี detach leaf แล้ว มาเลี้ยงบนจานอาหาร MYA นาน 7 วัน เมื่อเชื้อราเจริญจนเต็มจานอาหารแล้ว ใช้น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วเทลงในจานอาหาร จากนั้นใช้แผ่นสโกลด์ชุดเส้นใยแล้วนำมากรองด้วยผ้าขาวบางอีกครั้งหนึ่ง จากนั้น ปรับความเข้มข้นของสปอร์ให้ได้ประมาณ  $2-3 \times 10^6$  สปอร์/มิลลิลิตร

### 5.2 การทดสอบความสามารถในการควบคุม โรคใบจุดดำลำไย

นำต้นกล้าลำไยที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อรา เอนโดไฟต์เป็นระยะเวลา 1 เดือน มาทำการทดสอบโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 10 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1	พ่นด้วย	น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) + เชื้อราสาเหตุ
กรรมวิธีที่ 2	พ่นด้วย	<i>Colletotrichum</i> sp. No. 2 + เชื้อราสาเหตุ
กรรมวิธีที่ 3	พ่นด้วย	<i>Eurotium</i> sp. + เชื้อราสาเหตุ
กรรมวิธีที่ 4	พ่นด้วย	<i>Trichoderma</i> sp. + เชื้อราสาเหตุ
กรรมวิธีที่ 5	พ่นด้วย	Mycelia Sterilia 19 + เชื้อราสาเหตุ
กรรมวิธีที่ 6	พ่นด้วย	น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) + น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ
กรรมวิธีที่ 7	พ่นด้วย	<i>Colletotrichum</i> sp. No. 2 + น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ
กรรมวิธีที่ 8	พ่นด้วย	<i>Eurotium</i> sp. + น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ
กรรมวิธีที่ 9	พ่นด้วย	<i>Trichoderma</i> sp. + น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ
กรรมวิธีที่ 10	พ่นด้วย	Mycelia Sterilia 19 + น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยทำการทดลองกับต้นกล้าลำไยที่ได้ทำการทดลองก่อนหน้านี้ซึ่งได้พ่นเชื้อราเอนโดไฟต์ไว้ก่อนเป็นเวลา 1 เดือน โดยแต่ละกรรมวิธี จะทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น จึงนำมาทำการทดลองในขั้นตอนนี้ โดยใช้ suspension ของเชื้อสาเหตุความเข้มข้น  $2-3 \times 10^6$  สปอร์/มิลลิลิตร พ่นให้ทั่วทั้งต้น แล้วใช้ถุงพลาสติกขนาด 16 x 24 นิ้ว คลุมทั้งกระถางเพื่อเพิ่มความชุ่มชื้น มัดปากถุงไว้เป็นเวลา

นาน 2-3 วัน แล้วจึงเปิดปากดูออก สังเกตอาการที่เกิดขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน แล้วทำการประเมินความเสียหาย โดยการประเมินความเสียหายของพืชจะทำโดยนำผลที่ได้จากการหารระดับความรุนแรงของโรค มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การถูกทำลายหรือดัชนีการทำลายและเปอร์เซ็นต์ใบเป็นโรค โดยใช้เกณฑ์การประเมินที่อ้างอิงจากสปีคส์ (2540) ที่แบ่งความรุนแรงของโรคเป็น 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0	ใบลำไยไม่มีอาการใบจุดเลย
ระดับ 1	ใบลำไยมีอาการใบจุด 1-25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบสุ่ม
ระดับ 2	ใบลำไยมีอาการใบจุด 26-50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบสุ่ม
ระดับ 3	ใบลำไยมีอาการใบจุด 51-75 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบสุ่ม
ระดับ 4	ใบลำไยมีอาการใบจุด 76-100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบสุ่ม

นำผลที่ได้จากการประเมินมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ใบเป็นโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย โดยมีสูตรที่ใช้ในการคำนวณ ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ใบเป็นโรค} = \frac{\text{จำนวนใบที่เป็นโรค}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{ดัชนีการทำลาย (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของการเป็นโรคแต่ละระดับ}}{\text{จำนวนต้นพืชที่สุ่ม}} \times \frac{100}{\text{ระดับสูงสุดของการเป็นโรค}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 จากนั้นจึงนำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ  
 Copyright © by Chiang Mai University  
 All rights reserved