รายงานการวิจัย

ผลกระทบของสารประกอบทองแดงในการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัว

Effects of Copper Compounds on the Control of Anthurium Leaf Blight

โดย

เสมอใจ ชื่นจิตต์

สุทธิรักษ์ แซ่หลิม

จำเป็น อ่อนทอง

ทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิทยาเขตหาดใหญ่

2552

บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดง ในการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวได้แก่ คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) คอปเปอร์คลอไรด์ ($CuCl_2$) คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (Funguran®) และคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (Cupravit®) และศึกษาอาการเป็นพิษต่อต้นหน้าวัวเมื่อใช้สารเคมีดังกล่าวติดต่อกัน จากการทดลองพบว่าคอปเปอร์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 1,968 mgL^{-1} มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (McCulloch and Pirone) Vauterin จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพสารประกอบทองแดงในการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวในเรือนทดลอง ในช่วงฤดูฝนและร้อนของแต่ละปี การทดสอบในปีที่ 1 ทำการทดสอบกับหน้าวัวสายพันธุ์ Merangue และ Tropical โดยปลูกเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* เป็นเวลา 10 วัน ก่อนพ่นสารประกอบทองแดงทุก 7 วัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าสารประกอบทองแดงลดการเกิดโรคใบไหม้ของหน้าวัวทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยคอปเปอร์คลอไรด์และคอปเปอร์ซัลเฟตทำให้หน้าวัวแสดงอาการเป็นพิษ มีลักษณะเป็นจุดไหม้เล็กๆ บนใบและก้านใบหลังจากพ่นสารครั้งแรก 7 วัน การทดสอบในปีที่ 2 ทำการทดสอบกับหน้าวัวสายพันธุ์ Sultan พบว่าคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์และคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคใบไหม้ของหน้าวัว และพบอาการเป็นพิษจากการพ่นด้วยคอปเปอร์คลอไรด์และคอปเปอร์ซัลเฟตในลักษณะเดียวกับที่พบในปีที่ 1 การวิเคราะห์ทองแดงในพืชหลังจากพ่นสาร 12 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่าทองแดงที่สะสมในใบและรากสูงกว่าชุดที่ไม่ได้พ่นสาร จากการตรวจสอบใบพืชที่แสดงอาการโรคหลังการพ่นสารประกอบทองแดงเพื่อกำจัดเชื้อเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* ไม่สร้างความต้านทานต่อสาร สำหรับการทดสอบกับหน้าวัวสายพันธุ์ Sultan** พบว่าคอปเปอร์คลอไรด์และคอปเปอร์ซัลเฟตทำให้หน้าวัวแสดงอาการเป็นพิษ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในปีที่ 1 แต่หน้าวัวสายพันธุ์ Sultan มีการเจริญเติบโตดีกว่าหน้าวัวสายพันธุ์อื่นๆ

คำสำคัญ : หน้าวัว, โรคใบไหม้ของหน้าวัว, สารประกอบทองแดง, เชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*

ABSTRACT

The efficiency of copper compounds, i.e. copper sulfate ($CuSO_4$), copper chloride ($CuCl_2$), copper hydroxide (Funguran®) and copper oxychloride (Cupravit®) for controlling the anthurium leaf blight and their phytotoxicity when continuously used was investigated. *In vitro,* copper sulfate at a concentration of 1,968 mgL^{-1} was the most effective in inhibiting the growth of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (McCulloch and Pirone) Vauterin, a causal agent of anthurium leaf blight. All copper compounds were further tested in green house for control leaf blight disease during hot and rainy season of each years. On the first year trials, Merangue and Tropical anthurium cultivars were inoculated with *X. a.* pv. *dieffenbachiae* for 10 days before spraying with each copper compounds every 7 day intervals for 12 weeks. The results showed that all of the tested-copper compounds decreased disease incidence on both anthurium cultivars. Copper chloride and copper sulfate showed phytotoxic, causing necrosis on the leaves and petioles 7 days after the first spraying. In the second year trials, Sultan cultivar were used. Copper hydroxide and copper oxychloride effectively controlled the anthurium leaf blight. Copper chloride and copper sulfate caused phytotoxic in the same manner as in the first year trials. The amount of copper in anthurium tissues were analysed 12 weeks after spraying with copper compounds. It was showed that the copper-sprayed plants accumulated copper in their leaf and root tissue higher than non-sprayed plants. The copper–resistant strain of *X. a.* pv. *dieffenbachiae* was not detected on disease plants after using copper compounds as bacteriocide for 12 weeks. In Sultan anthurium cultivars, copper chloride and copper sulfate caused phytotoxic similar to the first year trials but the growth of Sultan anthurium cultivars was higher than other anthurium cultivars.

Keywords : anthurium, anthurium leaf blight, copper compounds, *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง ความเป็นพิษและผลกระทบของสารประกอบทองแดงในการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัว ได้รับการสนับสนุนการวิจัยประเภททั่วไป จากคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผ่านคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปีงบประมาณ 2550-2551 จำนวนเงินทั้งสิ้น 522,000 บาท คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

คณะผู้วิจัย

ตุลาคม 2552

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(2)
Abstract	(3)
กิตติกรรมประกาศ	(4)
สารบาญ	(5)
รายการตาราง	(6)
รายการภาพ	(7)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	4
วัตถุประสงค์	6
2. วิธีการทดลอง	6
3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	12
4. สรุปผลการทดลอง	29
เอกสารอ้างอิง	31

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) ของสารเคมีที่ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *X. a.* pv. *dieffenbachiae*	12
2	ร้อยละพื้นที่ใบที่แสดงอาการโรคใบไหม้ของหน้าวัวในฤดูฝนและฤดูร้อน (ปี พ.ศ. 2550 – 2551) หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์	15
3	อาการเป็นพิษและปริมาณทองแดงที่ตกค้างในใบและรากหน้าวัวในฤดูฝนและฤดูร้อน (ปี พ.ศ.2550 – 2551) หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์	16
4	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของใบและรากหน้าวัวในช่วงฤดูฝนและฤดูร้อน (ปี พ.ศ. 2550-2551) หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์	21
5	ร้อยละพื้นที่ใบที่แสดงอาการโรคใบไหม้ของหน้าวัวสายพันธุ์ Sultan หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์	23
6	อาการเป็นพิษและปริมาณทองแดงที่ตกค้างในใบและรากของหน้าวัวสายพันธุ์ Sultan หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์	25
7	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของใบและรากหน้าวัวสายพันธุ์ Sultan หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์	27

บทนำ

หน้าวัวมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Anthurium andraeanum* Lind. ex Andre อยู่ในวงศ์ Araceae มีถิ่นกำเนิดในประเทศโคลัมเบีย สำหรับในประเทศไทยมีการนำเข้ามาในประมาณปี 2520 (สมเพียร เกษมทรัพย์, 2525) โรคใบไหม้ของหน้าวัวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (bacterial leaf blight) เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (McCulloch and Pirone) Vauterin มีรายงานการระบาดในฮาวาย แคลิฟอร์เนีย จาไมก้า เวเนซูเอล่า และอีกหลายประเทศในระยะเวลาต่อมา จากการระบาดของโรคใบไหม้ของหน้าวัวในฮาวายในปี ค.ศ.1989 ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก และมีรายงานการระบาดของโรคนี้อย่างรุนแรงกับต้นหน้าวัวและพืชอาศัยชนิดอื่น ๆ อีกหลายชนิด ส่งผลให้มูลค่าการส่งออกของหน้าวัวจากฮาวายลดลงถึง 2.74 ล้านดอลลาร์สหรัฐ (Shehata *et al.*, 1990 อ้างใน Norman and Alvarez, 1994) นอกจากนี้ Venette และคณะ (1992) ได้รายงานว่าโรคใบไหม้ของหน้าวัวทำให้เกิดความเสียหายกับหน้าวัวที่ปลูกในประเทศแถบร้อนชื้น โดยเชื้อสาเหตุโรคจะติดมากับต้นพันธุ์พืช ส่วนในประเทศไทยนั้น มีรายงานพบโรคนี้ครั้งแรกโดยสุเนตรา ภาวิจิตร (2537) และได้รายงานว่าเชื้อดังกล่าวได้เข้าทำลายสาวน้อยประแป้ง ต่อมาพบการระบาดของโรคใบไหม้ของหน้าวัวในปี พ.ศ. 2543 ในโรงเรือนของเกษตรกรใน อ. สะเดา จังหวัดสงขลา จากการไปสำรวจที่โรงเรือนหน้าวัวพบว่าโรคนี้มีการระบาดรุนแรง ทำให้ต้นหน้าวัวตายมากกว่า 500 ต้น สันนิษฐานว่าเชื้อสาเหตุโรคอาจติดมากับต้นพันธุ์พืชที่ส่งมาจากประเทศเนเธอร์แลนด์ (เสมอใจ ชื่นจิตต์ และคณะ, 2548)

เชื้อสาเหตุโรคใบไหม้สามารถเข้าทำลายหน้าวัวได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนกระทั่งถึงต้นที่โตแล้ว โดยเข้าทำลายพืชผ่านทางช่องเปิดทางธรรมชาติ ได้แก่ ต่อมคายน้ำ (hydrathode) ปากใบ (stomata) รวมทั้งรอยแผล (wound) ตามส่วนต่าง ๆ ของพืช (Anonymous, 2003) ในกรณีที่เชื้อทำลายทางต่อมคายน้ำจะเกิดรอยแผลบริเวณขอบใบพืชลามเข้ามาด้านใน ต่อมาแผลจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและสีน้ำตาลไหม้ตามลำดับ ขอบแผลด้านในมีลักษณะฉ่ำน้ำ ส่วนการทำลายทางปากใบ จะพบในกรณีที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงมาก อาการในระยะแรกเป็นจุดฉ่ำน้ำสีเขียวเข้ม ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จุดแผลมักลามติดกันเป็นแผลใหญ่ ในสภาพอากาศชื้นจะพบหยดน้ำสีเหลือง (bacterial ooze) ซึ่งมีเชื้อแบคทีเรียที่ถูกขับออกมาเกาะติดเนื้อเยื่อใต้บริเวณผิวใบของพืช (Pohronezny *et al.*, 1985) ต่อมาพืชอาจแสดงอาการไหม้แห้งตลอดทุกส่วนของลำต้น (Norman and Alvarez, 1994) ซึ่งเกิดจากการที่เชื้อเจริญลามเข้ามาถึงเส้นกลางใบ เคลื่อนสู่ก้านใบแล้วเข้ามาทำลายลำต้น หรือเกิดจากเชื้อเข้าทางรากพืช ส่วนแผลที่โคนต้น รอยตัดของก้านใบและก้านดอก จากนั้นเข้าทำลายทั้งต้นและทำให้พืชตายในที่สุด ความรุนแรงของโรคนั้นขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม หากมีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์สูงจะส่งผลให้มีการแพร่การระบาดของเชื้ออย่างรวดเร็ว

นอกจากหน้าวัวแล้ว Norman และคณะ (1999) รายงานว่า เชื้อยังสามารถเข้าลายพืชอื่นในวงศ์เดียวกันได้ เช่น สาวน้อยประแป้ง (*Dieffenbachia picta*) ต้นกระดาษ (*Xanthosoma* spp.) (Norman and Yuen, 1997) และ Sathyanarayana และคณะ (1998) ได้รายงานว่าเงินไหลมา (*Syngonium* spp.) เขียวหมื่นปี (*Aglaonema* spp.) สร้อยสามกษัตริย์ (*Philodendron* spp.) บอนสี (*Caladium* spp.) และ Colocasia (*Colocasia* spp.) ก็เป็นพืชอาศัยของ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* เช่นเดียวกัน

สำหรับการควบคุมโรคกระทำได้หลายวิธี ได้แก่ การตัดใบที่เป็นโรคทิ้งและเผา นำต้นที่เป็นโรคออกจากโรงเรือนและกำจัดทิ้ง ไม่ปลูกพืชอาศัยอื่นร่วมกับหน้าวัว กำจัดวัชพืช และทำความสะอาดโรงเรือน จะสามารถลดปริมาณเชื้อและการระบาดของโรคลงได้ ส่วน Fukui และคณะ (1999) กล่าวว่าการควบคุมสภาพบรรยากาศในโรงเรือน เช่น อุณหภูมิและการให้น้ำกับพืชเป็นปัจจัยสำคัญในการเพิ่มปริมาณของเชื้อและการระบาดของโรคให้เหมาะสม หลีกเลี่ยงการนำเข้าต้นพันธุ์จากแหล่งหรือพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค นอกจากนี้การทำความสะอาดเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ในการเพาะปลูกและเก็บเกี่ยวก็สามารถลดการแพร่ระบาดของโรคได้ (Nishijima and Fujiyama, 1985) ส่วน Alvarez (2001) ได้รายงานการควบคุมโรคโดยชีววิธีโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกจากใบหน้าวัวที่เป็นโรคใบไหม้ ฉีดพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บริเวณใบและรากของเงินไหลมาและสาวน้อยประแป้งพบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ ในขณะที่การศึกษาของเสมอใจ ชื่นจิตต์ และคณะ (2551) พบว่าการนำเชื้อ *Bacillus subtilis* B1228, B1317 และ B1348 มาผสมกัน สามารถลดการเกิดโรคใบไหม้ของหน้าวัวสายพันธุ์ Casino และ Tropical ได้ 81-89 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม สำหรับการใช้พันธุ์ต้านทานนั้น Norman และคณะ (1999) ได้ทำการทดสอบความรุนแรงของการเกิดโรคกับหน้าวัวสายพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 15 สายพันธุ์ โดยใช้หน้าวัวกระถาง 14 สายพันธุ์และหน้าวัวตัดดอก 1 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ Julia และ Gemini มีความต้านทานต่อโรคมากที่สุดแต่เป็นพันธุ์ที่ตลาดต้องการน้อย

และที่สำคัญอีกวิธีหนึ่งคือ การใช้สารเคมี Nishijima และ Fujiyama (1985) รายงานว่า สเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต (Agri-mycin® และ Agri-Strep®) และ ออกซีเตตราไซคลิน (Mycoshield®) สามารถลดปริมาณเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* ได้โดยสเตรปโตมัยซินมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อได้ดีกว่าเตตราไซคลิน แต่เมื่อพ่นไประยะหนึ่ง ควรเปลี่ยนมาใช้เตตราไซคลิน เนื่องจากเชื้อต้านทานต่อสเตรปโตมัยซินได้ง่าย และอาจเกิดอาการเป็นพิษโดยใบมีสีเหลืองซีดในสายพันธุ์ที่อ่อนแอ เช่น พันธุ์ Marian Seefurth ส่วนการควบคุมโดยใช้สารประกอบทองแดง Balestra และคณะ (2002) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ และคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ ในการยับยั้งการเจริญของ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* จำนวน 6 สายพันธุ์

ในห้องปฏิบัติการพบว่ายับยั้งได้ดี ส่วน ศิวาพร หอกุล (2547) ได้รายงานว่าจากการทดสอบการควบคุมโรคโดยใช้สารเคมีฟังกูราน (Funguran®) คาร์ซูราน (Kasuran®) คูปราวิต(Kupravit®) และออกซีสเตรป์ (Oxy-Strep®) ในการป้องกันกำจัด *X. a.* pv. *dieffenbachiae* ในห้องปฏิบัติการที่อัตราความเข้มข้นของสาร 0.50, 0.75, 1.00, 1.25 และ 1.50 เท่าของอัตราแนะนำในฉลาก พบว่าชนิดของสารเคมีและความเข้มข้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 0.50, 1.00 และ 1.25 เท่าของอัตราแนะนำในฉลาก จากนั้นได้ทำการทดสอบการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวในเรือนทดลอง พบว่าจากการฉีดพ่นสารเคมีสัปดาห์ละครั้งจำนวน 3 ครั้งหลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค และหาค่าร้อยละของพื้นที่ที่แสดงอาการโรค พบว่าสารเคมีทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่ประสิทธิภาพของสารเคมีแต่ละชนิดแต่ละความเข้มข้นที่นำมาทดสอบไม่มีความแตกต่างทางสถิติและไม่พบอาการ phytotoxic ในขณะที่ทำการทดสอบ แต่จากเอกสารเผยแพร่ของบริษัท (นิรนาม, มปป.) ที่กล่าวว่าสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงอาจเป็นพิษต่อพืช (phytotoxic) จึงทำให้เกษตรกรผู้ปลูกหน้าวัวไม่ใช้สารนี้ในการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวเนื่องจากเกรงว่าพืชอาจเสียหาย

การใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในสมัยโบราณ ได้แก่ สารบอร์โดมิกซ์เจอร์ (Bordeaux mixture) ซึ่งเป็นสารผสมระหว่างน้ำ จุนสี และปูนขาว ใช้ควบคุมโรคราน้ำค้างขององุ่น ต่อมาใช้ควบคุมโรคพืชหลายชนิด เช่น โรคใบไหม้ของมันฝรั่ง โรคใบไหม้ของแอปเปิ้ล และโรคราแป้งขององุ่น เป็นต้น ต่อมาสารบอร์โดมิกเจอร์ถูกแทนที่ด้วยสาร fixed copper เนื่องจากพบว่าสารบอร์โดมิกเจอร์ทำให้เกิดพิษต่อพืช สาร fixed copper ซึ่งมีคุณสมบัติเสถียรในระหว่างการเก็บรักษา สามารถแขวนลอย แพร่กระจายในน้ำได้ดี และทำให้เกิดพิษต่อพืชน้อยกว่าสารบอร์โดมิกเจอร์ ซึ่งคุณสมบัติโดยทั่วไปของสารกำจัดเชื้อราที่ใช้ฉีดป้องกันโรคจะแตกตัวได้ช้า (อรัญ งามผ่องใส, 2545) ประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมโรคนั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถในการแตกตัวและแผ่เป็นฟิล์มไปบนผิวใบได้มากน้อยเพียงใด หากแตกตัวได้ดีจะควบคุมได้มาก เนื่องจากสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงมีคุณสมบัติเป็น protectant ไม่ใช่ systemic สารเคมีสามารถออกฤทธิ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคโดยการปลดปล่อย คอปเปอร์ไอออน (Cu^{2+}) ทำให้เกิดพิษต่อเชื้อราโดยไปยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา ส่วน Sani และคณะ (2001) กล่าวว่าผลกระทบของอาการเป็นพิษของโลหะหนักจะรบกวนการทำหน้าที่ของกระบวนการต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์ โพลีนิวคลีโอไทด์ และระบบการขนส่งธาตุอาหาร ส่งผลทำให้เอนไซม์เกิดการสูญเสียสภาพ ซึ่งโดยทั่วไปจุลินทรีย์ต้องการโลหะหนักเพียงเล็กน้อยเพื่อทำหน้าที่เป็น cofactor และองค์ประกอบของเอนไซม์ มีการวิจัยพบว่าปริมาณโลหะหนักที่สูงขึ้นส่งผลต่อความสัมพันธ์ของกรดนิวคลีอิกและเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เฉพาะเจาะจง จากการทดสอบใน *Saccharomyces cerevisiae*

พบว่าเมื่อได้รับโลหะหนักในปริมาณมากขึ้น ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสื่อมสภาพลง การเคลื่อนที่ของโปตัสเซียมไอออนผิดปกติและทำให้เซลล์ตาย

บทบาทของสารประกอบทองแดงที่มีต่อพืช

Moustakas และคณะ (1997) กล่าวว่าทองแดงเป็นธาตุอาหารพวกจุลธาตุซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญของพืช ซึ่งเกี่ยวของกับหน้าที่ทางสรีรวิทยาของพืชโดยเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์หลายชนิด และเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนในปฏิกิริยา catalyze redox ในไมโตรคอนเดรียและคลอโรพลาสต์ อย่างไรก็ตามการมีทองแดงมากเกินความจำเป็นจะทำให้เกิดอาการเป็นพิษกับพืชได้ จากการศึกษาการดึงดูดของทองแดงในปริมาณที่สูงของพืชที่ปลูกในหลอดทดลอง พบว่าทองแดงจะส่งผลกระทบต่อพืชทางด้านสรีรวิทยาและกระบวนการเมตาบอลิซึม ในคลอโรพลาสต์ทำให้โครงสร้างเยื่อหุ้มไทลาคอยด์เกิดการเปลี่ยนแปลง ในส่วนของโพลีเปปไทด์ซึ่งส่งผลกระทบต่อกระบวนการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอน (Baron *et al.*, 1995 อ้างใน Moustakas *et al.*, 1997) และทำให้ pigment ในกระบวนการสังเคราะห์แสงลดลง และการมีปริมาณทองแดงที่สูงขึ้น ส่งผลกระทบทางอ้อมต่อทองแดงในระบบแสง II ซึ่งเกี่ยวข้องกับการยับยั้งของกระบวนการ biosynthetic pathway ของคลอโรฟิลล์ (Ouzounidou *et al.*, 1994 อ้างใน Moustakas *et al.*, 1997)

บทบาทที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์

1.ซูเปอร์ออกไซม์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD)

เอนไซม์ SOD มี 3 ไอโซไซม์ (isozymes) คือ Mn-SOD CU-Zn-SOD และ Fe-SOD โดย CU-Zn-SOD พบอยู่ในคลอโรพลาสต์ ไซโทซอลและไมโทคอนเดรีย เอนไซม์ SOD เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ออกซิเจน ช่วยป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซม์ (free radical superoxide) และไฮโดรเจนเพอร์ออกไซม์ (H_2O_2) ซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์พืช ทำลายกรดไขมันอิ่มตัวของลิพิดในเนื้อเยื่อพืช ดังนั้นเซลล์พืชที่ใช้ออกซิเจนจึงต้องมีกลไกการป้องกันความเป็นพิษ

2.ไซโทโครมออกซิเดส (cytochrome oxidase)

เอนไซม์ชนิดนี้ทำหน้าที่ถ่ายโอนอิเลคตรอนขั้นสุดท้ายของกระบวนการหายใจที่เกิดขึ้นในไมโทคอนเดรีย ซึ่งประกอบด้วยไซโทโครมเอ (cyt. a) และไซโทโครมเอ-3 (cyt. a-3) เอนไซม์ชนิดนี้มีเหล็กและทองแดงเป็นองค์ประกอบ

ปัญหาจากการใช้ประกอบทองแดงในการควบคุมโรคพืช

Chase และ Simone (2001) กล่าวว่าพืชมักแสดงอาการเป็นพิษหลังจากที่พ่นสารกำจัดศัตรูพืชแล้วหลายสัปดาห์ บางครั้ง 6 – 8 สัปดาห์ หรือบางครั้งแสดงอาการผิดปกติบนใบใหม่ที่ผลิออกมา ดังนั้นการป้องกันก็คือ ควรใช้สารตามคำแนะนำ ไม่พ่นสารระหว่าง 11.00 – 16.00 นาฬิกา หากสภาพพื้นที่ที่มีอุณหภูมิสูงหรือแดดจัด ควรพ่นสารในตอนเช้าหรือตอนเย็น และควรแน่ใจว่าใบพืชแห้งก่อนค่ำ ยงยุทธ โอสถสภา (2546) กล่าวว่า ระดับความเป็นพิษขั้นวิกฤต (critical toxicity levels) ของทองแดงในพืชทั่วไปอยู่ระหว่าง 20-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) หากพืชได้รับทองแดงในระดับเป็นพิษจะเหนี่ยวนำให้แสดงอาการขาดธาตุเหล็กและทำให้เกิดภาวะพร่องคลอโรฟิลล์ เนื่องจากพืชที่ขาดธาตุเหล็กจะหยุดสร้างไทลาคอยด์ ขณะที่ใบยังเจริญต่อไปได้จำนวนคลอโรพลาสต์เพิ่มขึ้นแต่จำนวนไทลาคอยด์ต่อหนึ่งคลอโรพลาสต์ลดลง ส่งผลให้เกิดภาวะพร่องคลอโรฟิลล์ (Terry and Abadia, 1986 อ้างในยงยุทธ โอสถสภา, 2546)

Schutte และคณะ (1997) ได้ทำการทดสอบพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภทสารประกอบทองแดง 3 ชนิด ได้แก่ คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (85%WP) คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (50%SC) คิวปริกไฮดรอกไซด์ (77%WP) แมนโคเซบ (80%WP) และ คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ผสมกับแมนโคเซบ เพื่อควบคุมโรคผลจุดดำของส้ม Valencia เมื่อส้มเริ่มติดผล โดยพ่นทุกเดือนเป็นเวลา 4 เดือน และตรวจผลการเกิดอาการเป็นพิษ อาการดังกล่าว ได้แก่ ทำให้เกิดเป็นจุดแต้มเล็ก ๆ เนื้อเยื่อยุบตัวลงจากผิวเปลือกและไม่ปรากฏชั้นของเฟลโลเจน แผลมีสีเข้มและเปลี่ยนเป็นสีดำ (stippling) และการควบคุมโรค ผลการทดลองพบว่า สูตรตำรับ (formulation) ของสารคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์มีผลต่อปริมาณการเกิดอาการเป็นพิษ โดยคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (85%WP) ทำให้เกิดอาการ stippling มากกว่าคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (50%SC) การใช้คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ผสมแมนโคเซบทำให้เกิดอาการ stippling น้อยกว่าการใช้คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (50%SC) ส่วนการพ่นด้วย แมนโคเซบไม่พบอาการ stippling ในขณะที่การพ่นด้วยคิวปริกไฮดรอกไซด์ ทำให้เกิดอาการ stippling รุนแรงที่สุด สำหรับระยะเวลาในการพ่นที่มีผลต่อการเกิด stippling พบว่าการพ่นผลส้มในเดือนมกราคม ก่อให้เกิดอาการ stippling บนผลมากที่สุด

นอกจากสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงจะมีผลกับพืชโดยตรงแล้ว Ninot และคณะ (2002) ยังรายงานว่า การฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อราประเภททองแดงแก่วอลนัท (walnut) เพื่อป้องกันโรคใบไหม้ นอกจากทำให้เกิดอาการไหม้แห้งกับใบพืชแล้ว หากฉีดพ่นเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดการสะสมในดินและเป็นพิษต่อรากของพืชอีกด้วย และมีรายงานว่าการใช้ metalic copper ควบคุมโรคเมลาโนสของส้ม ในมลรัฐฟลอริดาเป็นเวลาต่อเนื่องกันหลาย ๆ ปี ส่งผลให้เกิดการสะสมของทองแดงในดินประมาณ 370 กิโลกรัม / เฮกตาร์ ซึ่งมีผลต่อรากของพืชและการรบกวน

ดึงดูดธาตุเหล็กในดิน (Alva and Graham, 1991; Alva *et al.*, 1993 อ้างใน Timmer and Zitko,1996) สำหรับพืชที่ไม่สามารถทนพิษต่อทองแดง รากของพืชจะไม่ยืดตัวและแตกแขนงเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากกิจกรรมเอนไซม์ IAA ออกซิเดสในรากลดลงอย่างฉับพลัน (Marschner, 1995 อ้างใน ยงยุทธ โอสถสภา, 2546)

การทดลองครั้งนี้จึงเป็นการตรวจสอบหาข้อเท็จจริงถึงการเป็นพิษของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงต่อต้นหน้าวัว ซึ่งหากไม่เป็นพิษต่อพืชก็จะเป็นประโยชน์ อย่างยิ่งต่อเกษตรกรสามารถใช้สารนี้ในการควบคุมโรคใบไหม้แทนการใช้สารปฏิชีวนะ ซึ่งมีราคาแพงประกอบกับเชื้อมีการต้านทานต่อสารเคมีและมีกฎหมายห้ามใช้ในทวีปยุโรป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลกระทบของสารประกอบทองแดงที่ใช้ในการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัว
2. วิเคราะห์สารประกอบทองแดงที่อาจตกค้างและอาจทำให้เกิดอาการเป็นพิษกับหน้าวัว

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในการควบคุมเชื้อสาเหตุ โรคใบไหม้ในห้องปฏิบัติการ

1.1 การเตรียมเชื้อ

นำเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว *X. a.* pv. *dieffenbachiae* ที่เก็บไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA slant มาเพิ่มปริมาณเชื้อ 2 ครั้ง ในอาหาร PSA slant ย้ายเลี้ยงต่อในจานเลี้ยงเชื้อ NA เก็บไว้ในตู้บ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อที่ได้เตรียมแบคทีเรียแขวนลอยด้วยน้ำกลั่น ปรับให้มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^8 หน่วยโคโลนีต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร ที่ 0.5 McFarland

1.2 การเตรียมสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (Funguran® สารออกฤทธิ์ $Cu(OH)_2$) คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (Cupravit® สารออกฤทธิ์ $Cu_2Cl(OH)_3$) และสารเคมีเปรียบเทียบ ได้แก่ คอปเปอร์คลอไรด์ ($CuCl_2$) และ คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) โดย Funguran® ใช้ที่อัตราความเข้มข้นของสาร 875 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามคำแนะนำของฉลากยา ส่วนความเข้มข้นของ Cupravit® $CuCl_2$ และ $CuSO_4$ คำนวณปริมาณ Cu (free Cu) เท่ากับ Funguran® ซึ่งได้เป็น 864 และ 987 1,177 และ 1,343 1,725 และ 1,968 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อในห้องปฏิบัติการ

ทำการทดสอบด้วยวิธี zonal inhibition โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปล่อยทิ้งอาหารให้แห้งเป็นเวลา 2 วัน เมื่ออาหารแห้งดีแล้วทำการ swob เชื้อบนอาหารที่เตรียมไว้ให้เต็มพื้นผิวหน้าอาหาร จากนั้นนำ paper disc ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ววางทาบให้สนิทกับผิวอาหาร หยดสารเคมีที่เตรียมไว้ในข้อ 1.2 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบน paper disc วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design : CRD) ทำการทดสอบ 9 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 20 ซ้ำ

1.4 การบันทึกข้อมูล

วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของจุดวงกลมใส (clear zone) ในแนวราบ 2 แนวตั้งฉากกัน ที่เกิดขึ้นบนแต่ละชุดการทดลองหลังจากการทดสอบ 24 ชั่วโมง

1.5 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำข้อมูลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ได้วิเคราะห์ผลทางสถิติ

2. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงและผลกระทบของสารเคมีกำจัดประเภททองแดงต่อหน้าวัวในเรือนทดลอง

2.1 การทดสอบครั้งที่ 1

ทำการทดสอบระหว่างเดือนกันยายน 2550 - พฤศจิกายน 2550 (ฤดูฝน) และระหว่างเดือนมกราคม 2551 – มีนาคม 2551 (ฤดูร้อน)

2.1.1 การเตรียมพืช

เตรียมต้นหน้าวัวสายพันธุ์ Merangue และ Tropical อายุ 1 ปี 6 เดือน ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว วัสดุปลูกใช้ถ่านกะลาปาล์ม วางสลับฟันปลาระยะห่าง 30x30 เซนติเมตร ปุ๋ยที่ใช้คือ Osmocote® สูตร 13-26-7 จำนวน 5 กรัมต่อกระถาง บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และความเข้มแสงในโรงเรือนตลอดการทดลอง

2.1.2 การทดสอบ

ศึกษาประสิทธิภาพและผลกระทบของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงต่อหน้าวัว โดยการพ่นสารแต่ละชนิดทุกสัปดาห์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บนต้นหน้าวัวซึ่งปลูกเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* และไม่ปลูกเชื้อ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design : CRD) ทำการทดสอบ 18 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธี มี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปลูกเชื้อ *Xad.* + Funguran® ความเข้มข้นของสาร 875 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อ *Xad.*+ Funguran® ความเข้มข้นของสาร 1,000 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเชื้อ *Xad.*+ Cupravit® ความเข้มข้นของสาร 864 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อ *Xad.*+ Cupravit® ความเข้มข้นของสาร 987 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อ *Xad.* + $CuCl_2$ ความเข้มข้นของสาร 1,177 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 6 ปลูกเชื้อ *Xad.* + $CuCl_2$ ความเข้มข้นของสาร 1,343 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 7 ปลูกเชื้อ *Xad.* + $CuSO_4$ ความเข้มข้นของสาร 1,725 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 8 ปลูกเชื้อ *Xad.* + $CuSO_4$ ความเข้มข้นของสาร 1,968 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 9 Funguran® ความเข้มข้นของสาร 875 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 10 Funguran® ความเข้มข้นของสาร 1,000 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 11 Cupravit® ความเข้มข้นของสาร 864 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 12 Cupravit® ความเข้มข้นของสาร 987 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 13 $CuCl_2$ ความเข้มข้นของสาร 1,177 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 14 $CuCl_2$ ความเข้มข้นของสาร1,343 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 15 $CuSO_4$ ความเข้มข้นของสาร 1,725 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 16 $CuSO_4$ ความเข้มข้นของสาร 1,968 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 17 ปลูกเชื้อ *Xad.* + น้ำกลั่น

กรรมวิธีที่ 18 น้ำกลั่น

2.1.3 การบันทึกผล

2.1.3.1 ผลของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในการควบคุมโรค

เมื่อครบกำหนด 12 สัปดาห์ นำใบหน้าวัวที่แสดงอาการโรค จำนวน 3 ใบต่อต้น โดยเริ่มจากใบที่ 2 จากยอดลงมาด้านโคนต้น นำมาหาร้อยละของพื้นที่ที่แสดงอาการโรค โดยนำกระดาษลอกลายมาทาบบนใบ วาดรูปส่วนที่ผิดปกติของพืช หลังจากนั้นนำกระดาษลอกลายที่บันทึกไว้ลอกใส่กระดาษถ่ายเอกสาร A4 โดยใช้ดินสอที่มีความเข้มตั้งแต่ 2B ขึ้นไป นำกระดาษที่ลอกอาการและพื้นที่ใบเข้าเครื่อง scanner เพื่อเก็บบันทึกข้อมูล วัดพื้นที่ใบด้วยโปรแกรม DT-SCAN® และหาร้อยละของพื้นที่ที่เกิดอาการผิดปกติในแต่ละใบ รวมทั้งวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (Reynolds and Cunfer, 1997)

2.1.3.2 อาการเป็นพิษของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงต่อหน้าวัว

สังเกตอาการผิดปกติ เช่น ใบเหลือง ใบไหม้ หรือจุดแผลไหม้ ประเมินระดับอาการเป็นพิษโดยให้ระดับความรุนแรง 6 ระดับ (Little and Hill, 1978)

0 ไม่พบอาการเป็นพิษ

1 พบอาการเป็นพิษ 1-10 เปอร์เซ็นต์

2 พบอาการเป็นพิษ 11-35 เปอร์เซ็นต์

3 พบอาการเป็นพิษ 36-65 เปอร์เซ็นต์

4 พบอาการเป็นพิษ 66-90 เปอร์เซ็นต์

5 พบอาการเป็นพิษ 91-100 เปอร์เซ็นต์

2.1.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณทองแดง

ทำการวิเคราะห์ปริมาณทองแดง จากใบ และราก กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ใบ ส่วนรากเก็บทั้งหมด โดยเก็บหลังจากพ่นสารแล้ว 12 สัปดาห์ จากนั้นวิเคราะห์ตามวิธีการของ จำเป็น (2545)

1) นำส่วนต่าง ๆ ของพืชล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง บดตัวอย่างให้ละเอียดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 20-40 mesh

2) การย่อยตัวอย่างพืช

ชั่งตัวอย่างพืช 0.15-0.2 กรัมใส่หลอดย่อยตัวอย่าง เติมกรดไนทริก-เพอร์คลอริก 1 มิลลิลิตร นำไปย่อยที่เตาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสจนควันสีน้ำตาลหมดไป เติมกรดผสมลงไปอีก 1 มิลลิลิตร และเพิ่มอุณหภูมิเป็น 200 องศาเซลเซียส ย่อยจนมีควันสีขาวประมาณ 30 นาที วางให้เย็นและปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร กรองเฉพาะส่วนใสที่ผ่านกระดาษกรองวัตแมนเบอร์ 1

3) การเตรียมสารละลายมาตรฐานของทองแดง

เตรียมสารละลายมาตรฐานของทองแดง 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 100 มิลลิลิตร โดยดูดสารละลายมาตรฐานของทองแดง 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (เจือจางมาจาก 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปริมาตร เติมกรดเพอร์คลอริกลงไป 3 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4) การหาปริมาณทองแดง

นำสารละลายมาตรฐาน แบลงค์ และตัวอย่างวัดค่าดูดกลืนแสง (ABS) ที่เกิดจากธาตุทองแดงด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอบชันสเปกโทรโฟโทมิเทอร์ที่ความยาวคลื่น 324.7 นาโนเมตร

2.1.3.4 การเจริญของพืช

หาน้ำหนักแห้งของใบ กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ใบ และรากพืช กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ จากตัวอย่างพืช ข้อ 2.1.3.3 โดยนำใบพืชอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักและบันทึกข้อมูล

2.2 การทดสอบครั้งที่ 2

เนื่องจากในการทดลองครั้งที่ 1 ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวของสารกำจัดเชื้อราประเภททองแดงค่อนข้างต่ำ ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม จึงได้ทำการทดลองซ้ำ แต่เนื่องจากไม่สามารถหาสายพันธุ์เดิม คือ Tropical และ Merangue จึงได้เลือกพันธุ์ Sultan ซึ่งเป็นอีกพันธุ์หนึ่งที่อ่อนแอต่อโรคนี้

ทำการทดสอบระหว่างเดือนกรกฎาคม 2551 - พฤษภาคม 2552

2.2.1 การเตรียมพืช

เตรียมต้นหน้าวัวสายพันธุ์ Sultan อายุ 1 ปี 6 เดือน ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว วัสดุปลูกใช้ถ่านกะลาปาล์ม วางสลับฟันปลาระยะห่าง 30x30 เซนติเมตร ปุ๋ยที่ใช้คือ Osmocote® สูตร 13-26-7 จำนวน 5 กรัมต่อกระถาง บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และความเข้มแสงในโรงเรือนตลอดการทดลอง

2.2.2 การทดสอบ

ศึกษาประสิทธิภาพและผลกระทบของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงต่อหน้าวัว โดยการพ่นสารแต่ละชนิดทุกสัปดาห์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ บนต้นหน้าวัวซึ่งปลูกเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* และไม่ปลูกเชื้อ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design : CRD) ทำการทดสอบ 18 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธี มี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปลูกเชื้อ *Xad.* + Funguran® ความเข้มข้นของสาร 1,000 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อ *Xad.* + Funguran® ความเข้มข้นของสาร 1,500 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเชื้อ *Xad.* + Cupravit® ความเข้มข้นของสาร 987 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อ *Xad.* + Cupravit® ความเข้มข้นของสาร 1,487 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อ *Xad.* + $CuCl_2$ ความเข้มข้นของสาร 847 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 6 ปลูกเชื้อ *Xad.* + $CuCl_2$ ความเข้มข้นของสาร 1,272 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 7 ปลูกเชื้อ *Xad.* + $CuSO_4$ ความเข้มข้นของสาร 1,968 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 8 ปลูกเชื้อ *Xad.* + $CuSO_4$ ความเข้มข้นของสาร 2,955 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 9 Funguran® ความเข้มข้นของสาร 1,000 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 10 Funguran® ความเข้มข้นของสาร 1,500 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 11 Cupravit® ความเข้มข้นของสาร 987 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 12 Cupravit® ความเข้มข้นของสาร 1,487 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 13 $CuCl_2$ ความเข้มข้นของสาร 847 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 14 $CuCl_2$ ความเข้มข้นของสาร 1,272 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 15 $CuSO_4$ ความเข้มข้นของสาร 1,968 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 16 $CuSO_4$ ความเข้มข้นของสาร 2,955 mgL^{-1}

กรรมวิธีที่ 17 ปลูกเชื้อ *Xad.* + น้ำกลั่น

กรรมวิธีที่ 18 น้ำกลั่น

2.2.3 การบันทึกผล

กระทำเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2.1.3

3. ศึกษาการต้านทานของเชื้อสาเหตุโรคต่อสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงหลังการพ่นสาร12 สัปดาห์

3.1 การเตรียมเชื้อ

ทำการแยกเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* จากใบหน้าวัวที่แสดงอาการโรคหลังจากพ่นสารกำจัดเชื้อราประเภทสารประกอบทองแดงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ด้วยวิธี streaking plate บนอาหาร PSA ย้ายเลี้ยงต่อในจานเลี้ยงเชื้อ เก็บไว้ในตู้บ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อที่ได้ทำเป็นแบคทีเรียแขวนลอยด้วยน้ำกลั่น ปรับให้มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^{8} หน่วยโคโลนีต่อ 1 มิลลิลิตร ที่ 0.5 McFarland

3.2 การเตรียมสารเคมี

ทำการทดลองโดยใช้สารเคมีจำนวน 4 ชนิด คือ คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (Funguran®) คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (Cupravit®) คอปเปอร์คลอไรด์ และคอปเปอร์ซัลเฟต ละลายสารในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อัตราความเข้มข้น 2 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบโดยเตรียมที่ 50 75 100 125 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพการต้านทานของเชื้อสาเหตุโรคต่อสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดง

ทำการขีดเชื้อจากข้อ 3.1 บนอาหารพิษที่ได้จากการผสมสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงและอาหาร NA (ความเข้มข้น 2 เท่าของอาหารปกติ) ปริมาตร 10 มิลลิลิตรเท่า ๆ กัน และปล่อยให้ผิวหน้าอาหารแห้ง เป็นเวลา 1 วัน บ่มไว้ในตู้บ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสและบันทึกผล

ผลและวิจารณ์

1. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ในห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดง 4 ชนิด ได้แก่ คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (Funguran®) คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (Cupravit®) คอปเปอร์คลอไรด์ ($CuCl_2$) และคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) ในการยับยั้งการเจริญของ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว จากการทดลองพบว่า $CuSO_4$ ที่ความเข้มข้น 1,968 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อได้สูงสุด โดยมีวงใสเฉลี่ย 22.30 มิลลิเมตร (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับการทดลองของ Balestra และคณะ (2002) ซึ่งทดสอบประสิทธิภาพของคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ และคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธีการ agar well, agar spot และ agar incorporation โดย Agrios (2005) กล่าวว่า Cu^{2+} เป็นพิษต่อเซลล์แบคทีเรีย โดย Cu^{2+} จะไปจับกับ sulhydryl group ของอะมิโนแอซิด ส่งผลให้เอนไซม์ โปรตีนเสียสภาพและตกตะกอน ทำให้เซลล์ตาย

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) ของสารเคมีที่ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *X. a.* pv. *dieffenbachiae*

ชนิดของสารเคมี	ขนาดเฉลี่ยความกว้างของวงใส (มิลลิเมตร)
Funguran® 875 mgL^{-1}	13.80cd[1/]
Funguran® 1,000 mgL^{-1}	15.40bc
Cupravit® 864 mgL^{-1}	11.80d
Cupravit® 987 mgL^{-1}	13.95cd
$CuCl_2$ 1,177 mgL^{-1}	13.20cd
$CuCl_2$ 1,343 mgL^{-1}	17.15b
$CuSO_4$ 1,725 mgL^{-1}	17.40b
$CuSO_4$ 1,968 mgL^{-1}	22.30a
น้ำกลั่น	0e
C.V.	22.65 %

[1/] ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อวิเคราะห์โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงและผลกระทบของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงต่อหน้าวัวในเรือนทดลอง

2.1 ผลของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในการควบคุมโรค

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวสายพันธุ์ Tropical และ Merangue โดยปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดง และหาร้อยละของพื้นที่ใบที่แสดงอาการโรค พบว่าการพ่นด้วย Funguran® และ Cupravit® มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคแตกต่างจากชุดควบคุม (ตารางที่ 2) ส่วน คอปเปอร์คลอไรด์ และคอปเปอร์ซัลเฟต มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคไม่แตกต่างจากชุดควบคุม

2.2 อาการเป็นพิษของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงต่อหน้าวัว

จากการทดสอบผลกระทบของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงต่อหน้าวัวของสารเคมีทั้ง 4 ชนิด ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าการปลูกเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* และไม่ปลูกเชื้อ *X. a.* pv. *diffenbachiae* ให้ผลการทดลองไปในแนวเดียวกัน คือ กรรมวิธีการใช้ Funguran® และ Cupravit® ในทุกความเข้มข้นของสารไม่ก่อให้เกิดอาการเป็นพิษกับหน้าวัวซึ่งโดยปกติทั่วไป พืชหลายชนิดค่อนข้างไวต่อการแสดงอาการเป็นพิษจากสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดง จึงได้มีความพยายามลดการเป็นพิษต่อพืชของสารนี้ Downer (1977) ได้พัฒนาสูตรตำรับให้อยู่ในรูปของน้ำมัน (spray oil) เพื่อให้สารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงแตกตัวและกระจายตัวได้ดีโดยผลิตสารให้อยู่ในรูป micelles ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นสารเคลือบภายนอกและภายในเป็นตัวสารออกฤทธิ์ $Cu(OH)_2$ หรือโดยเติมสารเพิ่มประสิทธิภาพ (adjuvants) ซึ่งบริษัทมักปิดบังส่วนผสมพิเศษนี้โดยไม่ระบุไว้บนฉลาก (ธวัชชัย รัตน์ชเลศ, 2540) ดังนั้นการที่ Funguran® (มีสารออกฤทธิ์ $Cu(OH)_2$) และ Cupravit® (มีสารออกฤทธิ์ $Cu_2Cl(OH)_3$) ซึ่งเป็นสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดง ไม่แสดงอาการเป็นพิษต่อหน้าวัว จึงอาจเป็นผลจากส่วนผสมพิเศษที่เป็นความลับของบริษัท และอาจเนื่องจากการทดลองใช้ระยะเวลาเพียง 12 สัปดาห์ อาการเป็นพิษของพืชไม่ปรากฏทันทีอาจต้องใช้ระยะเวลายาวนานกว่านี้ในการทดลอง ส่วนกรรมวิธีการใช้ คอปเปอร์คลอไรด์ และคอปเปอร์ซัลเฟต ก่อให้เกิดอาการเป็นพิษกับหน้าวัวในทุกอัตราความเข้มข้นของสาร โดยพบอาการผิดปกติที่ใบ ก้านใบ ดอก และก้านดอก พบจุดแผลไหม้ขนาดเล็ก (ตารางที่ 3 ภาพที่ 1 และ 2) ส่วนLombardi และ Sebastiani (2005) กล่าวว่าการที่พืชได้รับทองแดงโดยตรงหรือในปริมาณมาก จะส่งผลให้ไปรบกวนปฏิกิริยา oxidation- reduction ทำให้เกิดออกซิเจนอิสระ เช่น superoxide anion (O_2^-) hydrogen peroxide (H_2O_2) และ hydroxyl radical ($HO^{\cdot}$) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระและทำความเสียหายต่อเซลล์ โดยไปจับกับลิพิดและโปรตีนของเมมเบรนทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย ในขณะเดียวกัน superoxide anion อาจไปจับกับ DNA RNA หรือ

นิวเคลียสทำให้เซลล์ตาย ปรากฏอาการจุดไหม้ (necrosis) และเมื่อศึกษาถึงปัจจัยสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และความเข้มแสง ที่อาจส่งผลต่อการแสดงอาการเป็นพิษของใบหน้าวัวพบว่า อุณหภูมิ24.79-36.57 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 37.4-95.8 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มแสง 140-735 ลูเมนต่อตารางฟุต พบว่าใบหน้าวัวแสดงอาการเป็นพิษจาก คอปเปอร์คลอไรด์ และคอปเปอร์ซัลเฟต ในทุกฤดูการทดลอง ปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมจึงมิได้เป็นปัจจัยเสริมที่ทำให้ใบหน้าวัวแสดงอาการเป็นพิษ

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณทองแดง

เมื่อทำการวิเคราะห์การตกค้างของทองแดงในใบและรากของหน้าวัว เมื่อพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภทองแดงแต่ละชนิด เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าทุกกรรมวิธีของการพ่นด้วยสารเคมี มีการตกค้างของทองแดงในใบและรากสูงกว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Karataglis และ Babalonas (1985) ซึ่งกล่าวว่าพืชต่างชนิดสามารถทนต่อพิษของทองแดงได้ต่างกัน โดยปริมาณของทองแดงที่ตกค้างในเนื้อเยื่อพืช ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดด่างของดิน ความชื้นของดิน ฤดูกาล และชนิดของพืช

ตารางที่ 2 ร้อยละพื้นที่ใบที่แสดงอาการโรคใบไหม้ของหน้าวัวในฤดูฝนและฤดูร้อน (ปี พ.ศ. 2550 – 2551) หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์

กรรมวิธี	ร้อยละการเกิดโรคฤดูฝน (ก.ย.- พ.ย.50)		ร้อยละการเกิดฤดูร้อน (ม.ค-มี.ค. 51)	
	Tropical	Merangue	Tropical	Merangue
Xad. + Fun® 875 mgL^{-1}	26.45ab[1/]	26.88ab	30.59bc	29.93cd
Xad. + Fun® 1,000 mgL^{-1}	22.27abc	21.26abc	28.93c	26.17d
Xad. + Cu® 864 mgL^{-1}	21.91bc	18.07bc	29.65c	28.14d
Xad. + Cu® 987 mgL^{-1}	17.70c	12.86c	26.57c	27.01d
Xad. + $CuCl_2$ 1,177 mgL^{-1}	29.90ab	29.90a	34.10abc	33.19abcd
Xad. + $CuCl_2$ 1,343 mgL^{-1}	30.33ab	26.95ab	36.95abc	38.16abc
Xad. + $CuSO_4$1,725 mgL^{-1}	31.12ab	31.78a	31.77bc	30.40bcd
Xad. + $CuSO_4$ 1,968 mgL^{-1}	32.74ab	31.97a	40.83ab	39.40ab
Xad. + น้ำกลั่น	32.97a	32.74a	43.77a	43.43a
C.V.	20.63%	23.22%	16.48%	15.20%

[1/] ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อวิเคราะห์โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3 อาการเป็นพิษและปริมาณทองแดงที่ตกค้างในใบและรากหน้าวัวในฤดูฝนและฤดูร้อน (ปี พ.ศ.2550 – 2551) หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์

กรรมวิธี	ฤดูฝน (ก.ย. - พ.ย.50)								ฤดูร้อน (ม.ค. - มี.ค.51)							
	Tropical				Merangue				Tropical				Merangue			
	ใบ		ราก		ใบ		ราก		ใบ		ราก		ใบ		ราก	
	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ
Xad. + Fun® 875 mgL^{-1}	430cde[1/]	0[2/]	631ab	-[3/]	474bcdef	0	624ab	-	338def	0	617a	-	631ab	0	574bcd	-
Xad. + Fun® 1,000 mgL^{-1}	708a	0	642ab	-	439cdef	0	701ab	-	493abcd	0	686a	-	642ab	0	606abcd	-
Xad. + Cu® 864 mgL^{-1}.	393de	0	527bc	-	351defg	0	613ab	-	364cdef	0	624a	-	527bcd	0	511d	-
Xad. + Cu® 987 mgL^{-1}	524abcd	0	586ab	-	571bcde	0	528b	-	459bcde	0	636a	-	586abc	0	588abcd	-
Xad. + $CuCl_2$ 1,177 ppm.	478bcd	2	534bcd	-	513bcde	2	631ab	-	375cdef	2	531a	-	435d	2	595abcd	-
Xad. + $CuCl_2$ 1,343 ppm.	522abcd	3	684a	-	896a	3	608ab	-	456bcde	3	631a	-	684a	3	624abc	-
Xad. + $CuSO_4$1,725 ppm.	420cde	2	620ab	-	652bc	2	615ab	-	326def	2	628a	-	620ab	2	687a	-
Xad. +$CuSO_4$ 1,968 ppm.	657ab	3	654ab	-	419cdef	3	781a	-	588ab	3	774a	-	654ab	3	697a	-
Fun® 875 mgL^{-1}	187fg	0	682a	-	180gh	0	654ab	-	320ef	0	633a	-	682a	0	551cd	-
Fun® 1,000 mgL^{-1}	307def	0	606a	-	346efg	0	686ab	-	249f	0	713a	-	606ab	0	623abc	-
Cu® 864 mgL^{-1}	110fg	0	471cd	-	243fgh	0	532b	-	342def	0	603a	-	471cd	0	547cd	-

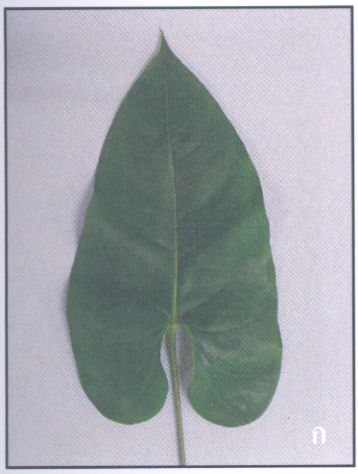
ตารางที่ 3 (ต่อ)

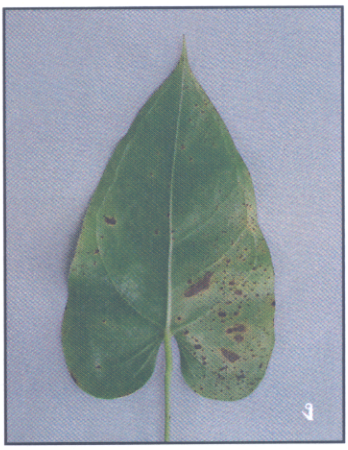
กรรมวิธี	ฤดูฝน (ก.ย. – พ.ย.50)								ฤดูร้อน (ม.ค. - มี.ค.51)							
	Tropical				Merangue				Tropical				Merangue			
	ใบ		ราก		ใบ		ราก		ใบ		ราก		ใบ		ราก	
	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ
$Cu^{®}$ 987 mgL^{-1}	253ef	0	534bcd		378defg	0	615ab	-	348def	0	610a	-	534bcd	0	654a	-
$CuCl_2$ 1,177 mgL^{-1}	526abcd	2	686a	-	502bcde	2	620ab	-	468bcde	2	608a	-	689a	2	603abcd	-
$CuCl_2$ 1,343 mgL^{-1}	620abc	2	630ab	-	5887bcd	2	634ab	-	520abc	2	689a	-	630ab	2	591abcd	-
$CuSO_4$ 1,725 mgL^{-1}	440bcde	2	615ab	-	530bcde	2	612ab	-	483bcde	2	670a	-	615ab	2	665ab	-
$CuSO_4$ 1,968 mgL^{-1}	639abc	2	618ab	-	691b	2	694ab	-	644a	2	709a	-	618ab	2	683ab	-
Xad. + น้ำกลั่น	41g	0	54e	-	58h	0	45c	-	54g	0	52b	-	54e	0	38e	-
น้ำกลั่น	43g	0	34e	-	47h	0	54c	-	55g	0	46b	-	34e	0	40e	-
C.V.	30.90%		12.06%		28.07%		15.69%		22.81%		20.92%		12.06%		10.34%	

[1/] ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อวิเคราะห์โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

[2/] ประเมินระดับความเป็นพิษที่ใบ (Little and Hill, 1978) 0 = ไม่พบ, 1 = 1-10 %, 2 = 11-35 %, 3 = 36-65 %, 66-90 %, 5 = 91-100 % ของใบทั้งต้น

[3/] ไม่พบระดับความเป็นพิษ



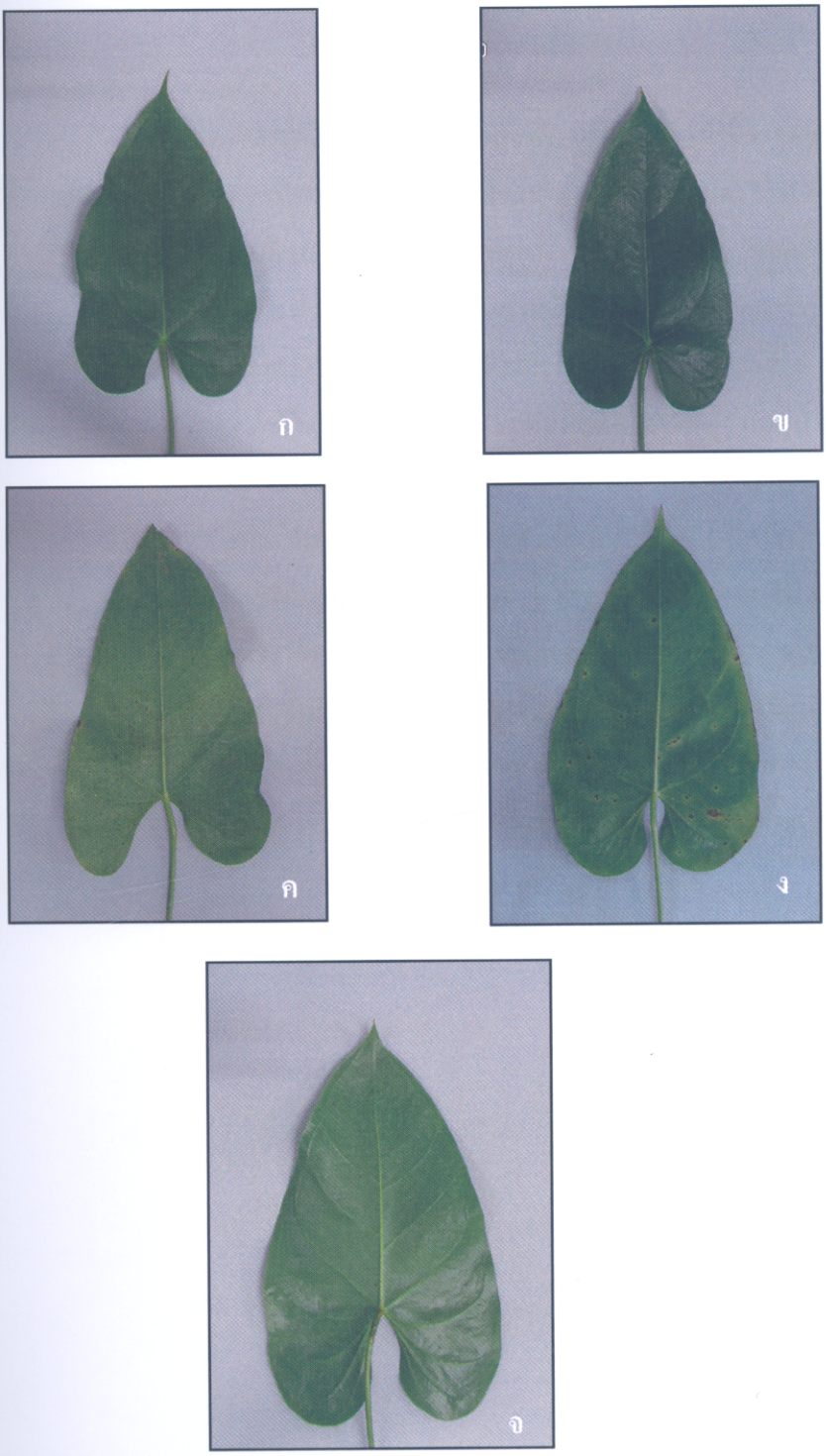


ภาพที่ 1 อาการเป็นพิษของใบหน้าวัวสายพันธุ์ Tropical หลังจากพ่นสารกำจัดเชื้อราประเภททองแดงและสารเปรียบเทียบ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. Funguran® ความเข้มข้น1,000 mgL^{-1} ข. Cupravit® ความเข้มข้น 987 mgL^{-1}

ค. $CuCl_2$ ความเข้มข้น 1,343 mgL^{-1} ง. $CuSO_4$ ความเข้มข้น 1,968 mgL^{-1}

จ. ชุดควบคุม



ภาพที่ 2 อาการเป็นพิษของใบหน้าวัวสายพันธุ์ Merangue หลังจากพ่นสารกำจัดเชื้อราประเภททองแดงและสารเปรียบเทียบ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. Funguran® ความเข้มข้น1,000 mgL^{-1} ข. Cupravit® ความเข้มข้น 987 mgL^{-1}

ค. $CuCl_2$ ความเข้มข้น 1,343 mgL^{-1} ง. $CuSO_4$ ความเข้มข้น 1,968 mgL^{-1}

จ. ชุดควบคุม

สำนักทรัพยากรการเรียนรู้คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

2.2.4 การเจริญของหน้าวัว

จากการศึกษาการเจริญของหน้าวัวหลังพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงทั้ง 4 ชนิด ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยการชั่งน้ำหนักแห้งของใบ และราก จากการทดลองพบว่าในทุกกรรมวิธีทดลองมีน้ำหนักแห้งส่วนต่าง ๆ ของหน้าวัวใกล้เคียงกัน โดยน้ำหนักแห้งของหน้าวัวสายพันธุ์ Tropical มีน้ำหนักแห้งมากกว่าหน้าวัวสายพันธุ์ Merangue (ตารางที่ 4) ซึ่งขัดแย้งกับการทดลองของ Sonmez และคณะ (2006) ที่พบว่า ต้นมะเขือเทศที่ได้รับทองแดงในปริมาณสูง (1,000-2,000 $mgKg^{-1}$) จะส่งผลให้ปริมาณผลผลิต จำนวนผลต่อต้น ความสูง และน้ำหนักแห้งของรากมะเขือเทศลดน้อยลง ในขณะที่ Karataglis และ Babalonas (1985) รายงานว่าการเพิ่มความเข้มข้นของทองแดง จะส่งผลให้ความสูง น้ำหนักแห้งของยอดและราก และปริมาณผลผลิตของมะเขือเทศลดลง ส่วน Lidon และ Henriques (1992) รายงานว่าทองแดงที่สะสมในเนื้อเยื่อรากของข้าวในปริมาณสูงจะทำให้ความยาวรากลดลง ในขณะที่ Marschner (1995 อ้างใน ยงยุทธ โอสถสภา , 2546) พบว่ารากจะชะงักการเจริญ เมื่อมีการตกค้างของทองแดงในปริมาณสูง และการใช้สารอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 2 ปี ดังนั้นการที่หน้าวัวยังคงมีการเจริญตามปกติไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอาจเนื่องจากระยะเวลาในการทดลองใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงต่อเนื่องกันเพียง 12 สัปดาห์ จึงอาจเป็นระยะเวลาที่น้อยเกินไปในการทำให้เกิดความผิดปกติต่อหน้าวัว

กรรมวิธี	ฤดูฝน (ก.ย. - พ.ย 50)				ฤดูร้อน (ม.ค. - มี.ค.51)			
	ใบพืช		รากพืช		ใบพืช		รากพืช	
	Tropical (g/leaf)	Merangue (g/leaf)	Tropical (g/pot)	Merangue (g/pot)	Tropical (g/leaf)	Merangue (g/leaf)	Tropical (g/pot)	Merangue (g/pot)
Xad. + Fun® 875 mgL^{-1}	1.28ab[1/]	0.69cdef	2.49c	2.17cd	1.59bcd	0.59e	2.32d	2.43bc
Xad. + Fun® 1,000 mgL^{-1}	1.36ab	0.88abcde	3.93bc	2.32bcd	1.52bcde	0.82abcd	3.86abcd	2.24bc
Xad. + Cu® 864 mgL^{-1}	1.70ab	0.56f	4.57ab	1.94cd	1.51bcdef	0.66cde	4.47abc	2.33bc
Xad. + Cu® 987 mgL^{-1}	1.38ab	0.71bcdef	2.52c	2.11cd	1.62ab	0.85abc	2.99cd	2.37bc
Xad. + $CuCl_2$ 1,177 mgL^{-1}	1.63ab	0.77bcdef	4.58ab	2.12cd	1.54bcde	0.82abcd	4.79ab	2.11bc
Xad. + $CuCl_2$ 1,343 mgL^{-1}	1.57ab	0.71bcdef	4.18abc	2.62bcd	1.49cdef	0.71cde	3.94abcd	2.70abc
Xad. + $CuSO_4$1,725 mgL^{-1}	1.52ab	0.57ef	4.42abc	1.87d	1.45ef	0.66cde	4.56abc	2.049c
Xad. + $CuSO_4$ 1,968 mgL^{-1}	1.33ab	0.66def	5.36ab	2.76abcd	1.43ef	0.64de	4.03abc	2.26bc
Fun® 875 mgL^{-1}	1.83a	0.89abcde	4.80ab	2.51bcd	1.54bcde	0.83abcd	4.30abc	2.28bc
Fun® 1,000 mgL^{-1}	1.76ab	0.95abcd	5.70ab	2.86abcd	1.54bcde	0.95ab	5.00ab	2.16bc
Cu® 864 mgL^{-1}	1.32ab	1.00abc	6.15a	2.87abcd	1.61abc	0.95ab	5.46a	2.35bc
Cu® 987 mgL^{-1}	1.44ab	0.92abcd	3.71bc	3.56ab	1.48def	0.99a	4.38ab	2.55bc

ตารางที่ 4 (ต่อ)

กรรมวิธี	ฤดูฝน (ก.ย. - พ.ย.50)				ฤดูร้อน (ม.ค. - มี.ค.51)			
	ใบพืช		รากพืช		ใบพืช		รากพืช	
	Tropical (g/leaf)	Merangue (g/leaf)	Tropical (g/pot)	Merangue (g/pot)	Tropical (g/leaf)	Merangue (g/leaf)	Tropical (g/pot)	Merangue (g/pot)
$CuCl_2$ 1,177 mgL^{-1}	1.30ab	0.93abcd	5.13abc	3.21abc	1.49bcdef	0.77bcde	5.09ab	2.72abc
$CuCl_2$ 1,343 mgL^{-1}	1.24b	1.02ab	4.20abc	3.95a	1.38f	0.72cde	4.78ab	2.95ab
$CuSO_4$ 1,725 mgL^{-1}	1.19b	0.84abcdef	5.15ab	3.18abcd	1.45ef	0.69cde	5.01ab	2.58abc
$CuSO_4$ 1,968 mgL^{-1}	1.28b	0.81bcdef	5.42ab	3.61ab	1.51bcdef	0.68cde	5.12ab	2.87abc
Xad. + น้ำกลั่น	1.46ab	0.65def	5.20ab	2.31bcd	1.43ef	0.84abcd	3.49bcd	2.32bc
น้ำกลั่น	1.70ab	1.153a	4.65ab	2.78abcd	1.72a	0.92ab	5.04ab	3.29a
C.V.	20.19%	19.99%	22.88%	18.86%	4.39%	13.25%	20.77%	18.19%

1/ ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อวิเคราะห์โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.2 การทดสอบครั้งที่ 2

2.2.1 ผลของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในการควบคุมโรค

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวสายพันธุ์ Sultan โดยปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดง และหาร้อยละของพื้นที่ใบที่แสดงอาการโรค พบว่าการพ่นด้วย Funguran® และ Cupravit® มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคแตกต่างจากชุดควบคุม (ตารางที่ 5) ส่วน คอปเปอร์คลอไรด์ และคอปเปอร์ซัลเฟต มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ซึ่งร้อยละการเกิดโรคแตกต่างจากการทดลองในครั้งที่ 1 อย่างชัดเจน ทั้งนี้เนื่องมาจากสายพันธุ์ของหน้าวัวที่แตกต่างกันอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพของสารเคมี ส่วนกรรมวิธีที่ไม่ปลูกเชื้อ หน้าวัวไม่แสดงอาการโรค

ตารางที่ 5 ร้อยละพื้นที่ใบที่แสดงอาการโรคใบไหม้ของหน้าวัวสายพันธุ์ Sultan หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์

กรรมวิธี	ร้อยละการเกิดโรค
Fun® 1,000 mgL^{-1}	31.82 b[1/]
Fun® 1,500 mgL^{-1}	34.48 b
Cu® 987 mgL^{-1}	36.16 b
Cu® 1,487 mgL^{-1}	32.17 b
$CuCl_2$ 847 mgL^{-1}	36.84 b
$CuCl_2$ 1,272 mgL^{-1}	53.15 ab
$CuSO_4$ 1968 mgL^{-1}	79.50 a
$CuSO_4$ 2955 mgL^{-1}	69.95 a
น้ำกลั่น	75.11 a
C.V.	38.30 %

[1/] ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อวิเคราะห์โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2.2.2 อาการเป็นพิษของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงต่อหน้าวัว

จากการทดสอบผลกระทบของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงต่อหน้าวัว ของสารเคมีทั้ง 4 ชนิด ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าการปลูกเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* และไม่ปลูกเชื้อ *X. a.* pv. *diffenbachiae* ให้ผลการทดลองไปในแนวเดียวกัน คือ กรรมวิธีการใช้ Funguran® และ Cupravit® ในทุกความเข้มข้นของสารไม่ก่อให้เกิดอาการเป็นพิษกับหน้าวัว ส่วนกรรมวิธีการใช้ คอปเปอร์คลอไรด์ และคอปเปอร์ซัลเฟต ก่อให้เกิดอาการเป็นพิษกับหน้าวัวในทุกอัตราความเข้มข้นของสาร โดยพบอาการผิดปกติเป็นจุดแผลไหม้ขนาดเล็กที่ใบ ก้านใบ ดอก และก้านดอก (ตารางที่ 6 และภาพที่ 3) ในทุกการทดลอง

2.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณทองแดง

เมื่อทำการวิเคราะห์การตกค้างของทองแดงในใบและรากของหน้าวัว เมื่อพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงแต่ละชนิด เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าทุกกรรมวิธีของการพ่นด้วยสารเคมี มีการตกค้างของทองแดงในใบและรากสูงกว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบในครั้งที่ 1

2.2.4 การเจริญของหน้าวัว

จากการศึกษาการเจริญของหน้าวัวหลังพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงทั้ง 4 ชนิด ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยการชั่งน้ำหนักแห้งของใบ และราก จากการทดลองพบว่าน้ำหนักแห้งในใบพืชมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่7) ส่วนน้ำหนักแห้งในรากพืชไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งแตกต่างจากการทดลองที่ 1

2.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณทองแดง หลังจากวิเคราะห์ทองแดง

ปริมาณทองแดงเมื่อผ่านไป 12 สัปดาห์ พบว่าปริมาณทองแดงที่ตกค้างที่ได้จากการย่อยใบพืชและรากลดลงจากเดิม (ตารางที่ 8) แสดงให้เห็นว่าการคงสภาพของสารลดลงเมื่อเวลาผ่านไป

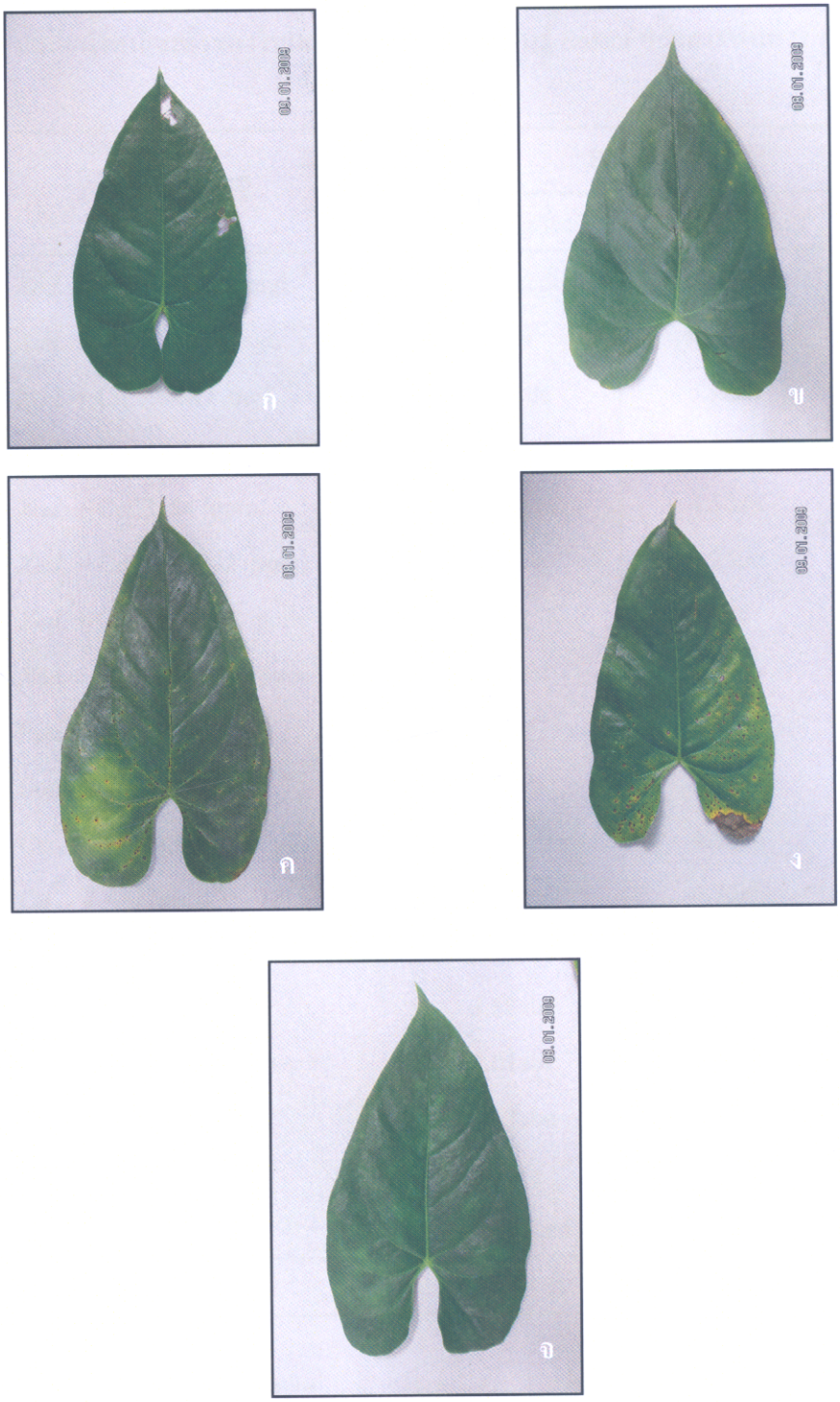
ตารางที่ 6 อาการเป็นพิษและปริมาณทองแดงที่ตกค้างในใบและรากของหน้าวัว สายพันธุ์ Sultan หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์

กรรมวิธี	Sultan			
	ใบ Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ	ราก Cu ($mgKg^{-1}$)	เป็นพิษ
Fun® 1,000 mgL^{-1}	277 e[1/]	0[2/]	256 cd	-[3/]
Fun® 1,500 mgL^{-1}	326 e	0	389 b	-
Cu® 987 mgL^{-1}	88 fg	0	269 cd	-
Cu® 1,487 mgL^{-1}	153 f	0	497 a	-
$CuCl_2$ 847 mgL^{-1}	925 b	2	215 d	-
$CuCl_2$ 1,272 mgL^{-1}	1090 a	3	295 c	-
$CuSO_4$ 1,968 mgL^{-1}	744 d	3	291 c	-
$CuSO_4$ 2,955 mgL^{-1}	840 c	3	418 b	-
น้ำกลั่น	48 g	0	35 e	-
C.V.	11.14 %		13.10 %	

[1/] ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อวิเคราะห์โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

[2/] ประเมินระดับความเป็นพิษที่ใบ (Little and Hill, 1978) 0 = ไม่พบ, 1 = 1-10 %, 2 = 11-35 %, 3 = 36-65 %, 66-90 %, 5 = 91-100 % ของใบทั้งต้น

[3/] ไม่พบระดับความเป็นพิษ



ภาพที่ 3 อาการเป็นพิษของใบหน้าวัวสายพันธุ์ Sultan หลังจากพ่นสารกำจัดเชื้อราประเภททองแดงและสารเปรียบเทียบ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

ก. Funguran® ความเข้มข้น1,000 mgL^{-1} ข. Cupravit® ความเข้มข้น 987 mgL^{-1}

ค. $CuCl_2$ ความเข้มข้น 1,272 mgL^{-1} ง. $CuSO_4$ ความเข้มข้น 1,968 mgL^{-1}

จ. ชุดควบคุม

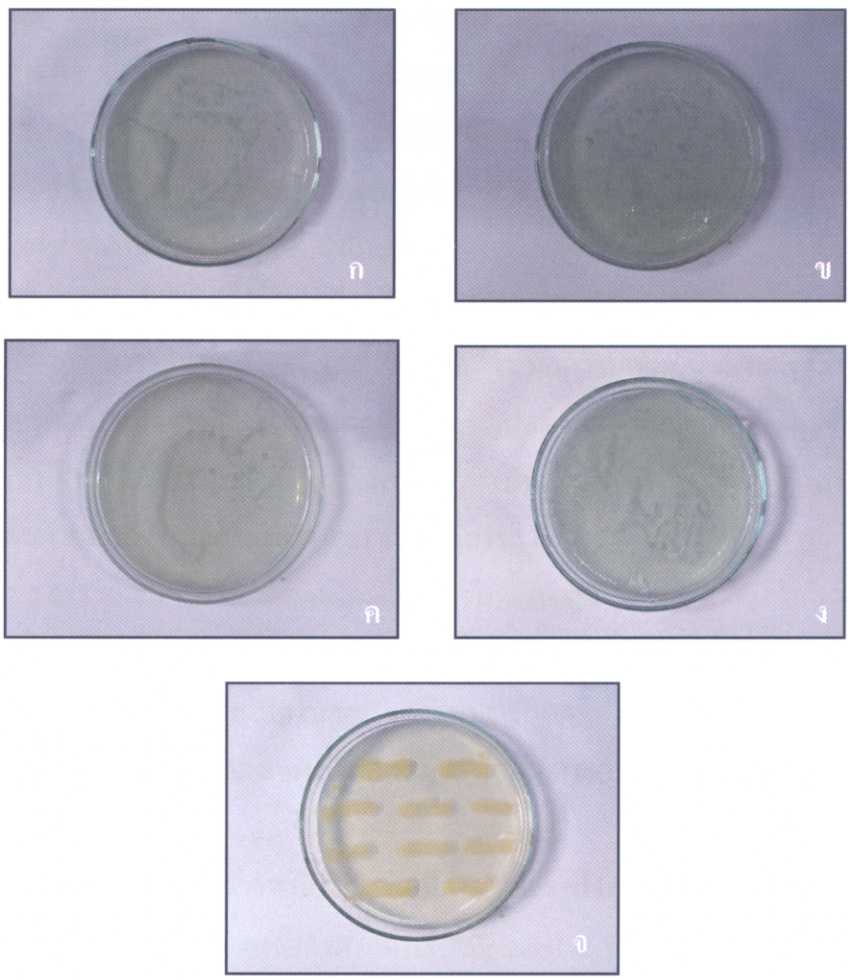
ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของใบและรากหน้าวัวสายพันธุ์ Sultan หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์

กรรมวิธี	Sultan	
	ใบพืช (g/leaf)	รากพืช (g/pot)
Xad. + Fun® 1,000 mgL^{-1}	2.82bcde	6.57a
Xad. + Fun® 1,500 mgL^{-1}	1.87ef	4.15bc[1/]
Xad. + Cu® 987 mgL^{-1}.	2.68cde	5.98ab
Xad. + Cu® 1,487 mgL^{-1}	2.74cde	5.16ab
Xad. + $CuCl_2$ 847ppm.	2.92bcde	4.50ab
Xad. + $CuCl_2$ 1,272 ppm.	1.74efg	4.25bc
Xad. + $CuSO_4$ 1,968 ppm.	0.63g	2.70c
Xad. +$CuSO_4$ 2,955 ppm.	2.24def	4.79ab
Fun® 1,000 mgL^{-1}	4.29a	5.78ab
Fun® 1,500 mgL^{-1}	3.55abc	6.13ab
Cu® 987 mgL^{-1}	4.49a	4.88ab
Cu® 1,487 mgL^{-1}	4.08ab	4.73ab
$CuCl_2$ 847 mgL^{-1}	3.73abc	5.25ab
$CuCl_2$ 1,272 mgL^{-1}	3.58abc	5.14ab
$CuSO_4$ 1,968 mgL^{-1}	3.81abc	5.40ab
$CuSO_4$ 2,955 mgL^{-1}	3.57abc	5.08ab
Xad. + น้ำกลั่น	1.29fg	4.11bc
น้ำกลั่น	3.42abcd	5.81ab
C.V.	26.83 %	24.11 %

[1/] ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อวิเคราะห์โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. ศึกษาการต้านทานของเชื้อสาเหตุโรคต่อสารกำจัดเชื้อราประเภทสารประกอบทองแดง หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์

จากการศึกษาการต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราประเภททองแดง ของเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัวหลังจากพ่นสาร 12 สัปดาห์ พบว่าเชื้อไม่สามารถเจริญบนอาหารพิษได้แม้ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4) แสดงว่า เชื้อยังไม่ต้านทานต่อสารกำจัดเชื้อราประเภททองแดง



ภาพที่ 4 การเจริญของเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* ต่อสารกำจัดเชื้อราประเภททองแดงและสารเปรียบเทียบ หลังจากพ่นสาร 12 สัปดาห์ บนอาหารพิษ

ก. Funguran® ความเข้มข้น 25 mgL^{-1}

ข. Cupravit® ความเข้มข้น 25 mgL^{-1}

ค. $CuCl_2$ ความเข้มข้น 25 mgL^{-1}

ง. $CuSO_4$ ความเข้มข้น 25 mgL^{-1}

จ. ชุดควบคุม

สรุปผลการทดลอง

1. ประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัวพบว่า คอปเปอร์ซัลเฟต มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้สูงสุด

2. ประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงและอาการเป็นพิษในเรือนทดลอง

2.1 ผลของสารกำจัดเชื้อราประเภททองแดงในการควบคุมโรค

สารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงทั้ง 4 ชนิด สามารถลดการเกิดโรคของหน้าวัวได้ในระดับหนึ่ง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารเคมี สายพันธุ์ของหน้าวัว และสภาพแวดล้อม เช่น ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ ความชื้น แสง เป็นต้น

2.2 อาการเป็นพิษของสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดง

การใช้ Funguran® และ Cupravit® ในทุกความเข้มข้นของสารไม่ก่อให้เกิดอาการเป็นพิษกับหน้าวัวทุกสายพันธุ์ ส่วนการพ่นด้วยคอปเปอร์คลอไรด์ และคอปเปอร์ซัลเฟต ก่อให้เกิดอาการเป็นพิษกับหน้าวัวทุกสายพันธุ์ โดยพบอาการผิดปกติเป็นจุดแผลไหม้ขนาดเล็กที่ใบ ดอก ก้านใบและก้านดอก ในทุกอัตราความเข้มข้นของสาร

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณทองแดงที่ตกค้างในส่วนต่าง ๆ ของหน้าวัว

จากการวิเคราะห์หาปริมาณทองแดงที่ตกค้างในใบ ราก พบว่ามีการตกค้างมากที่สุดในส่วนของราก รองลงมาคือใบ และตรวจพบปริมาณทองแดงที่ตกค้างสูงทั้งจากการพ่นด้วยสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงที่ผลิตเป็นการค้าและสารเปรียบเทียบ (คอปเปอร์คลอไรด์ และคอปเปอร์ซัลเฟต)

2.4 การเจริญของหน้าวัวเมื่อใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดง

การเจริญของหน้าวัวสายพันธุ์ Tropical และ Merangue หลังการพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดง 12 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักแห้งของใบและรากของหน้าวัวไม่มีความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งแตกต่างจากการทดลองครั้งที่ 2 ในสายพันธุ์ Sultan พบว่าน้ำหนักแห้งในใบพืชมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

3. การต้านทานของเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* ต่อสารกำจัดเชื้อราประเภททองแดงและสารเปรียบเทียบ หลังพ่นสาร 12 สัปดาห์

จากการทดสอบการต้านทานต่อสารเคมีกำจัดเชื้อราประเภททองแดงทั้ง 4 ชนิด ของเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* หลังการพ่นสาร 12 สัปดาห์ พบว่าเชื้อ *X. a.* pv. *dieffenbachiae* ไม่เกิดความต้านทานต่อสารทั้ง 4 ชนิด ในทุกความเข้มข้นของสาร

เอกสารอ้างอิง

จำเป็น อ่อนทอง. 2545. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ธวัชชัย รัตน์ชเลศ. 2540. เทคโนโลยีสารกำจัดวัชพืช. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ลินคอร์น.

นิรนาม. ม.ป.ป. หลักการปลูกหน้าวัวในเขตร้อน. กรุงเทพฯ : แผ่นพับบริษัท SPF.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2546. ธาตุอาหารพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ:สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิเชษฐ ค้าสุวรรณ. 2541. หน้าวัว. พิมพ์ครั้งที่ 3. นนทบุรี : ฐานเกษตรกรรม.

ศิวาพร หอกุล. 2547. สมุฏฐานวิทยาของโรคใบไหม้ของหน้าวัว (*Anthurium andraeanum* Lind. ex Andre) ที่เกิดจากแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมเพียร เกษมทรัพย์. 2525. การปลูกไม้ดอก. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุเนตรา ภาวิจิตร. 2537. โรคใบไหม้ของต้นหน้าวัวที่พบในประเทศไทย. ว. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา. 4 : 21.

เสมอใจ ชื่นจิตต์ วสันณ์ เพชรรัตน์ และพรศิลป์ จันทวีเมือง. 2551. การประเมินการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 7. พืชสวนไทย ใต้ร่มพระบารมี, 26-30 พฤษภาคม 2551. โรงแรมอัมรินทร์ลากูน จังหวัดพิษณุโลก : 152.

เสมอใจ ชื่นจิตต์ ศิวาพร หอกุล และจำเริญ ยืนยงสวัสดิ์. 2548. พืชอาศัยของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว และพืชในวงศ์ Araceae ในภาคใต้ของประเทศไทย. ว.โรคพืช 19 : 47-56.

อรัญ งามผ่องใส. 2545. สารเคมีควบคุมศัตรูพืช. ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology 5th ed. St. Paul Minnesota : APS Press.

Alvarez, A.M. 2001. Changing production technology to protect ornamental aroids from bacterial blight. [Online] Available from : http//www.endowment.org/projects/ 2002/alvarez.htm. (accessed on 15th July, 2004)

Anonymous. 2003. Anthurium diseases. [Online] Available from : http://www.Anthuriun Leaf Blight/Anthurium Disease.htm. (accessed on 7th September, 2005)

Balestra, G.M., Sabatino, D. and Varvaro, L. 2002. Anthurium's bacterial pathogens and their sensitivity to copper compounds. Summary of the First International Conference on Tropical and Subtropical Plant Disease. November 5-7, 2002 held at Chiangmai, Thailand.

Chase, A.R. and Simone, G.W. 2001. Phytotoxicity on foliage ornamentals caused by bactericides and fungicides. [Online] Available from : http:// plantpath.ifas.ufl.edu /tkextpub/FactSheets pp0030.pdf. (accessed on 10th July 2004)

Downer, J.D. 1977. Copper-alkaline earth metal fungicidal compositions. [Online] Available from http://www.freepatentsonline/com/4003994.html (accessed on 10th July 2004)

Fukui, R., Fukui, H. and Alvarez, A.M. 1999. Effect of temperature on the incubation period and leaf colonization in bacterial blight of anthurium. Phytopatho. 89 : 1007-1014.

Karataglis, S. and Babalonas, D. 1985. The toxic effects of copper on the growth of *Solanum lycopersicum* L. collected from Zn and Pb-soil. Angewandte Botanik 59: 45-52.

Lidon, F.C. and Henriques, F.S. 1992. Copper toxicity in rice: Diagnostic criteria and effect on tissue Mn and Fe. Soil Sci. 154: 130-135.

Little, T.M. and Hill, F.J. 1978. Agricultural Experimentation: Design and Analysis. New York: John Wiley and Sons, Inc.

Lombardi, L. and Sebastiani, L. 2005. Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: growth and antioxidant enzymes responses of *in vitro* growth plants. Plant. Sci. 168: 797-802.

Moustakas, M., Ouzounidou, G., Symeonidis, L. and Karataglis, S. 1997. Field study of the effects of excess copper on wheat photosynthesis and productivity. Soil Sci. Plant Nutr. 43: 531-539.

Ninot, A., Aleta, N., Moragrega, C. and Montesinos, E. 2002. Evaluation of reduced copper spraying programe to control bacterial blight of walnut. Plant Dis. 86: 583-587.

Nishijima, W.T. and Fujiyama, D.K. 1985. Guidelines for the control of anthurium bacterial blight. [Online] Available from : http://Faccultystaff. vwc.edu/presslar/.Cultivated Anthurium/ PDF.Lib/Bacterial Blight Control-NO14.pdf. (accessed on 20th October, 2003)

Norman, D.J. and Alvarez, A.M. 1994. Latent infections of *in vitro* anthurium caused by *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae*. Plant Cell Tissue Organ Cult. 39: 55-61.

Norman, D.J., Henny, R.J. and Yuen, J.M.F. 1999. Resistance level of pot anthurium cultivar to *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. Hort. Sci. 34: 721-722.

Norman, D.J. and Yuen, J.M.F. 1997. Disease resistance in twenty *Dieffenbachia* cultivar. Hort. Sci. 32: 709-710.

Pohronezny, K., Volin, R.B. and Dankers, W. 1985. Bacterial leaf spot of cocoyam (*Xanthosoma caracu*) incited by *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* in Florida. Plant Dis. 69: 170-173.

Reynolds, K.L. and Cunfer, B.M. 1997. Components of patial host resistance and epidermic progress. *In* Exercises in Plant Disease. Epidemiology (Francl, L.J. and Neher, D.A) St. Paul Minnessota: APS Press.

Sani, R.K., Peyton, B.M. and Brown, L.T. 2001. Copper-induced inhibition of growth of *Desulfovibrio desulfuricans* G20: assessment of its toxicity and correlation with those of zinc and lead. App. Envir. Microbiol. 67: 4765-4772.

Sathyanarayana, N., Reddy, O.R. and Latha, S. 1998. Interception of *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae* on anthurium plant from the Netherlands. Plant Dis. 82: 262.

Schutte, G.C., Beeton, K.V. and Kotze, J.M. 1997. Rind stippling on Valencia oranges by copper fungicides used for control of citrus black spot in South Africa. Plant Dis. 81 : 851-854.

Sonmez, S., Kaplan M., Sonmez, N.K., Kaya, H. and Uz, I. 2006. High level of copper application to soil and leaves reduce the growth and yield of tomato plants. [Online] Available from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttex&pid=S0103-90162006000300001 (accesssed on 14th June,2008)

Timmer, L.W. and Zitko, S.E. 1996. Evaluation of copper fungicides and rates of metallic copper for control melanose on grapefruit in Florida. Plant Dis. 80 : 166-169.

Venette, J., Norman, D.J. and Alvarez, A.M. 1992. Serological markers for monitoring *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* in aerosoil. Phytopathol. 82 : 1178.