หลักการวินิจฉัยโรคพืชเบื้องต้น [1/]

สุดฤดี ประเทืองวงศ์[2/]

หัวข้อเรื่อง

1. หลักการโรคพืชและการวินิจฉัย
2. หลักการและขั้นตอนการวินิจฉัยโรคพืช
3. การวินิจฉัยโรคพืชด้วยเครื่องมือทั่วไป
4. การวินิจฉัยโรคพืชด้วยเครื่องมือเฉพาะ
5. การส่งตัวอย่างตรวจวินิจฉัย

1. หลักการโรคพืชและการวินิจฉัย

พืชเป็นปัจจัยพื้นฐานที่สำคัญของมนุษย์ เช่น ใช้เป็นอาหาร ยารักษาโรค เครื่องนุ่งห่ม และที่อยู่อาศัย อุปสรรคสำคัญที่ทำให้พืชเศรษฐกิจเหล่านั้นมีคุณภาพและปริมาณลดลงคือ **โรคพืช**

โรคพืช คือสภาวะที่บางส่วนหรือทุกส่วนของต้นพืชเจ็บป่วยเป็นโรค อันเนื่องมาจากความผิดปกติของกระบวนการทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของพืช เช่น การสังเคราะห์แสง การหายใจ ระบบสืบพันธุ์ ซึ่งมักเป็นอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นเนื่องจากถูกสาเหตุหนึ่งชนิดหรือมากกว่าทำลายจนเกิดความผิดปกติและส่งผลกระทบโดยตรงต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิต และมูลค่าทางเศรษฐกิจลดลง

โรคพืชเกิดขึ้นจากหลายสาเหตุ โดยแต่ละโรคอาจจะถูกทำให้เกิดขึ้นเนื่องจากสาเหตุใดสาเหตุหนึ่งเพียงอย่างเดียว หรืออาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากหลายสาเหตุรวมกันก็ได้ การศึกษาเกี่ยวกับสาเหตุของโรคพืช (causal agent) เป็นสาขาวิชาที่เกี่ยวข้องกับเรื่องสมุฏฐานของโรคพืช เป็นหลักใหญ่ และรวมไปถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับสาเหตุโรคพืชด้วย สาเหตุของโรคพืชแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. โรคพืชที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต สาเหตุจากสิ่งมีชีวิตที่เป็นโรคติดต่อหรือโรคติดเชื้อ (infectious agents or parasitic diseases) จุลินทรีย์พวกนี้ ได้แก่ แบคทีเรีย รา ไส้เดือนฝอย ไวรัส และไวรอยด์ ไฟโตพลาสมา พืชพาราไซท์ เช่น กาฝาก ฝอยทอง สาหร่ายบางชนิด

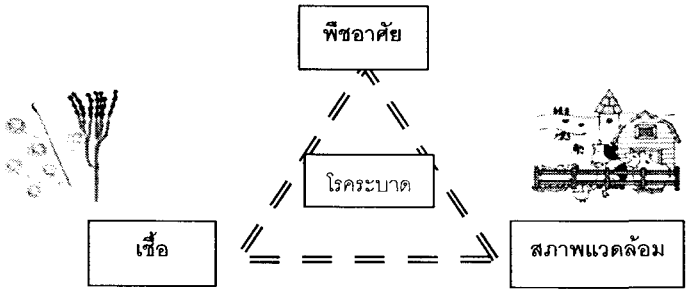
2. โรคพืชที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต อาการผิดปกติของพืชที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการปลูกพืชนั้น ๆ ได้แก่ ความผิดปกติเนื่องจากธาตุอาหาร สภาพความชื้น อุณหภูมิ โครงสร้าง

[1/] เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่องการวินิจฉัยและการจัดการโรคพืชเบื้องต้น (รุ่นที่2) 10-11 ตุลาคม 2551 ณ หน่วยวิจัยและบริการโรคพืช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

[2/] รองศาสตราจารย์ ดร. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ของดิน pH ดิน แสง มลพิษ และสารกำจัดศัตรูพืช ซึ่งความผิดปกตินี้ ไม่สามารถถ่ายทอดไปสู่ต้นพืชอื่นได้

นักโรคพืชต้องมีความรู้และความเข้าใจรายละเอียดการที่พืชเป็นโรคซึ่งเกี่ยวข้องกับปัจจัย **สามเหลี่ยมโรคพืช (disease triangle)** ซึ่งเป็นสิ่งที่สำคัญต่อการศึกษาด้านโรคพืช



เชื้อโรค (pathogens) ประกอบไปด้วย เชื้อรา แบคทีเรียfungi, bacteria, viruses, viroids, nematodes, parasitic plants, phytoplasmas, และ protozoa

พืชอาศัย (host) พิจารณาเกี่ยวกับความต้านทานโรค

สภาพแวดล้อม (environment) สภาพแวดล้อมต้องมีความเหมาะสมต่อการเกิดโรค

เชื้อโรคที่เป็นสาเหตุหรือก่อให้เกิดโรคกับพืชอาศัย เช่น แบคทีเรีย รา ไวรัส ไส้เดือนฝอย เป็นต้น ซึ่งจะได้รับอาหารจากพืช มีการดำรงชีวิตและขยายพันธุ์ได้บนพืชอาศัย เชื้อสาเหตุโรคพืชแต่ละชนิดมีรายละเอียดดังนี้

1. เชื้อรา (Fungi) เชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กลักษณะเหมือนเส้นด้าย เรียกว่า hyphae และรวมกันเป็น mycelium เชื้อราบางชนิดสามารถเจริญได้ภายนอกเนื้อเยื่อพืชอาศัย หรือบนเศษซากพืช เชื้อราส่วนใหญ่สามารถสร้างสปอร์ได้ และจะแพร่กระจายโดยลม น้ำ หรือมนุษย์ และเมื่อสปอร์ตกลงบนพืชอาศัย สปอร์จะงอกและแทงผ่านเข้าสู่เซลล์พืช กลไกที่เชื้อราใช้ในการเข้าทำลายพืช เช่น การสร้างสารพิษ, เอนไซม์, สารกระตุ้นการเจริญเติบโต

2. แบคทีเรีย (Bacteria) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โดยจะมีผนังเซลล์ (cell wall) มีการเพิ่มจำนวนโดยกระบวนการ binary fission เมื่อสภาวะเหมาะสมเชื้อแบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนได้รวดเร็วมาก เชื้อแบคทีเรียสามารถผลิตสารพิษหรือเอนไซม์ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการทำลายเนื้อเยื่อพืช ส่วนใหญ่แบคทีเรียสาเหตุโรคพืชจะมีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) เข้าทำลายทางบาดแผลหรือช่องเปิดธรรมชาติ

3. ไวรัส (Viruses) เป็นอนุภาคขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา ต้องศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยายประมาณ 2,000-3,000 เท่า ไวรัสมีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปร่างท่อน กลม เส้นสาย เกลียว โดยอนุภาคไวรัสจะประกอบด้วยกรดนิวคลีอิก ชนิด RNA หรือ DNA อย่างใดอย่างหนึ่ง ซึ่งทำหน้าที่ถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัส และมีโปรตีนห่อหุ้ม (coat protein) ไวรัสสามารถเจริญได้ในเซลล์พืชเท่านั้น

4. ไส้เดือนฝอย (Nematodes) ไส้เดือนฝอยเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะคล้ายหนอน ซึ่งส่วนใหญ่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ลำตัวยาวประมาณ 0.2-2.0 มิลลิเมตร อวัยวะภายในต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ในการตรวจสอบ ลำตัวกลมยาวเป็นทรงกระบอก ไม่มีกระดูกสันหลัง โดยมีโครงสร้างที่ใช้ในการดูดอาหารจากเซลล์พืชโดยใช้ stylet ซึ่งเป็นเข็มสั้นๆ อยู่ในช่องปาก จะมีกล้ามเนื้อโคนหลอดดูดอาหาร (basal knobs) ลักษณะเป็นก้อนกลมสีเข้มอยู่ที่โคนหลอดดูดอาหาร และมี median bulb ทำหน้าที่ในการปั๊มดูดอาหาร วงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยจะไม่เกิน 30 วัน โดยจะมีความสำคัญในการเข้าทำลายรากพืช และแสดงอาการของโรคได้หลายแบบ เช่น รากปม ราก แผล

กลไกการพัฒนาการเกิดโรคเริ่มตั้งแต่การปลูกเชื้อ จนกระทั่งเชื้อโรคสามารถไปถึงหรือไปสัมผัสผิวพืชอาศัยได้ ต่อจากนั้นจึงพัฒนาขั้นตอนการที่เชื้อโรคแทงผ่านผิวพืชเข้าไปภายใน (penetration) ลุกลามและครอบครองเนื้อเยื่อพืช เจริญและสร้างส่วนขยายพันธุ์ เชื้อโรคแพร่กระจาย และการดำรงชีพอยู่ข้ามฤดูของเชื้อโรค กระบวนการทั้งหมดนี้เป็นวงจรซึ่งเรียกว่าวงจรโรค (disease cycle)

บทบาทของสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการพัฒนาการเกิดโรค

การที่พืชจะเกิดโรคขึ้นมาได้นั้น ไม่ใช่จะประกอบขึ้นแต่เพียงมีพืชอาศัยที่อ่อนแอและเชื้อโรคที่แข็งแรงเพียง 2 อย่างเท่านั้น หากแต่ยังมีปัจจัยที่มีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อการเกิดและเจริญลุกลามของโรคพืช ปัจจัยนั้นก็คือ ระยะเวลาและสภาวะของสิ่งแวดล้อม หลังจากที่เชื้อโรคได้เข้าไปเจริญอยู่ในส่วนของต้นพืชแล้ว การเกิดโรคจะมีได้มากน้อยเร็วหรือช้าเพียงใดนั้นจะเป็นผลจากความสัมพันธ์ร่วมระหว่างเชื้อโรค พืชอาศัย เวลาและสภาวะแวดล้อม ซึ่งจะเปลี่ยนแปรไปตามแต่ชนิดของเชื้อว่ารุนแรงหรืออ่อนแอ ชนิดของพืชว่าเป็นโรคยากหรือง่าย สภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดโรคหรือไม่ ตลอดจนระยะเวลาการเจริญของโรคมากหรือน้อย ซึ่งผลที่เกิดจากสภาวะแวดล้อมนั้นอาจแตกต่างกันไปได้อย่างกว้างขวาง

1. อุณหภูมิ การพัฒนาการของเชื้อในทุกระยะของชีพจักร ต้องการช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อการผลิตเชื้อก่อโรคและส่งผลต่อพัฒนาการของโรค

2. ความชื้น

- ผลต่อการสร้างและการปลดปล่อยสปอร์

- ผลต่อการงอกของ inoculum และการแทงผ่าน (penetration)
- ผลต่อเกิดโรคและการแพร่กระจายของเชื้อโรค

3. แสง

- ความเข้มข้นของแสงและความยาวของวัน อาจมีผลต่อการอยู่รอดของ inoculum ในระยะก่อนเข้าทำลายพืช
- ผลต่อการเจริญเติบโตของพืช พืชที่ได้รับแสงไม่พอจะทำให้อ่อนแอเป็นโรคง่าย
- มีผลต่อการงอกของสปอร์เชื้อสาเหตุโรค
- ผลต่อเกิดโรคและการแพร่กระจายของเชื้อโรค

การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืชและอาการโรค

โดยปกติพืชจะมีกิจกรรมทางด้านสรีรวิทยา ดำเนินอย่างปกติตามลักษณะทางกรรมพันธุ์ของพืชนั้นๆ **หากกิจกรรมที่กล่าวมาถูกรบกวนเกิดการเปลี่ยนแปลงไม่ทำหน้าที่ตามปกติที่ระบบใดระบบหนึ่งหรือทั้งหมด ก็จัดว่าพืชนั้นเป็นโรค (diseased plants)** โดยเซลล์ส่วนหนึ่งส่วนใดหรือหลาย ๆ ส่วนของพืชผิดปกติหรือตาย เป็นเหตุให้มีการสังเคราะห์แสงน้อยลง พืชขาดสารอาหาร คาร์โบไฮเดรท ขาดพลังงานที่จะไปช่วยส่งเสริมกิจกรรมต่าง ๆ ให้ดำเนินไปตามปกติ ส่งผลต่อทั้งคุณภาพและปริมาณผลผลิตพืช จนเป็นเหตุให้รูปร่างและ/หรือเซลล์ต่าง ๆ ทั้งในระดับสัณฐาน ระดับเนื้อเยื่อ และระดับเซลล์ เปลี่ยนแปลงไป แต่ในภาพรวมเมื่อพืชถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายจะส่งผลให้ เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ส่วนสะสมอาหาร ต้นอ่อน ราก และลำต้น ตลอดจนส่วนที่ยังอ่อนอยู่ และมีผลต่อระบบ สรีรวิทยาต่าง ๆ ของพืช เช่น มีผลต่อการสังเคราะห์แสง การเคลื่อนย้ายแร่ธาตุอาหารและน้ำ การหายใจ การคายน้ำ ตลอดจนการควบคุมการกระจายของสารละลาย และขบวนการ metabolism ต่าง ๆ ของพืชผิดปกติไปจากเดิม และอาจแสดงออกมาลักษณะอาการโรค (symptom) หรือกลุ่มอาการ (syndrome) ของพืชที่เป็นโรคนั่นเอง ได้แก่ อาการเหี่ยว (wilting) แกรนแคระ (stunting) เหลือง (yellowing) อาการซีด (chlorosis) เซลล์ตาย (necrotic) อาการเจริญเติบโตผิดส่วน (abnormal growth) เป็นต้น

อาการโรคพืชทั่วไปหรืออาการในระดับสัณฐาน

การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาพืชที่เป็นผลกระทบมาจากการถูกเชื้อสาเหตุโรคพืชเข้าทำลายจะส่งผลต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาพืชที่แสดงออกมาในรูปของอาการ (disease symptom) หรือกลุ่มอาการโรค (disease syndrome) โดยจะมีความแตกต่างกันไปตามชนิดพืช และชนิดเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. ใบจุด (leaf spot) อาการจะเป็นจุดฉ่ำน้ำในตอนแรก แผลจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นเนื้อเยื่อตายเป็นสีน้ำตาล บางครั้งจะพบหยดเมือกบริเวณอาการ รูปร่างของแผลเป็นรูป เหลี่ยม กลม ขีด หรือไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและเชื้อสาเหตุ

2. ไหม้ (blight) อาการของโรคจะเริ่มที่ฐานของใบหรือยอดหรือกิ่งก้าน และแผลขยายลุกลามทำให้ยอด ใบ กิ่งก้านไหม้ เกิดการตายจากยอดเข้าหาโคนกิ่ง

3. เน่าเละ (soft rot) เป็นอาการที่เนื้อเยื่อพืชถูกย่อยสลาย ในเวลาต่อมาจะเกิดเป็นเมือก และมีกลิ่นเหม็นเนื่องจากการหมักจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ เข้าซ้ำเติม

4. เหี่ยว (wilt) เป็นอาการที่เกิดจากการที่เชื้อสาเหตุโรคทำลายระบบท่อลำเลียงน้ำ และอาหาร โดยไปขัดขวางการเคลื่อนย้ายของน้ำ

5. ปม (gall) อาการจะเริ่มจากการสร้างเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และเพิ่มปริมาณ เซลล์มากขึ้น และพัฒนาจนเป็นปมขึ้นมาภายใน 5- 10 วัน

6. สีผิดปกติ (color deviation) เป็นอาการที่เกิดการผิดปกติของสีบนส่วนของพืช ซึ่งมีหลายลักษณะ ได้แก่

ก. อาการด่างชัดเจน (mosaic) เป็นอาการด่างที่เกิดขึ้นบนส่วนต่าง ๆ ของพืช แต่ที่มองเห็นชัดเจน คือ ส่วนของใบและดอก เป็นอาการที่ขอบเขตของสีเหลืองซีดกับสีเขียวเห็นได้ชัดเจน

ข. อาการด่างไม่ชัดเจน (mottle) เป็นอาการด่างคล้ายกับ mosaic แต่ขอบเขตของสีซีดกับสีปกติมองเห็นไม่ชัดเจน

ค. อาการเหลือง (yellowing) มีอาการเป็นสีเหลืองเกิดขึ้นสม่ำเสมอทั่วใบหรือเฉพาะบริเวณ

ง. อาการสีซีด (bleaching or blanching) เป็นอาการขาวซีดเนื่องจากคลอโรฟิลล์ถูกทำลายอย่างสมบูรณ์หรือเกือบหมดใบ จึงมีสีขาวหรือเหลืองอ่อน

7. แคระแกร็นหรือชะงักการเจริญเติบโต การทำลายระบบรากทำให้ระบบส่งน้ำและอาหารด้อยลงหรือถูกทำลาย ทำให้พืชเจริญเติบโตช้าลง ส่งผลให้ผลผลิตต่ำ บางครั้งอาการคล้ายกับการขาดธาตุอาหารของพืช

การวินิจฉัยโรคพืชเพื่อให้ทราบถึงสาเหตุอาการผิดปกติเป็นสิ่งจำเป็น ที่จะนำไปสู่การแก้ไขหรือลดความเสียหายได้อย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจากวิธีการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อแต่ละชนิดอาจมีค่าความเฉพาะเจาะจงที่แตกต่างกัน การวินิจฉัยสาเหตุของโรคพืชได้แน่นอนแม่นยำ และรวดเร็ว จะช่วยเกษตรกรให้ตัดสินใจควบคุมโรคพืชได้อย่างถูกต้องและไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีเกินความจำเป็น ซึ่งเป็นการรักษาสิ่งแวดล้อม ประหยัดเงินและเวลา

การวินิจฉัยโรคพืชโดยทั่วไปจะประสบผลสำเร็จต้องมีความรู้ และมีความคุ้นเคยกับการจัดกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคพืช ลักษณะของเชื้อสาเหตุโรคพืช ลักษณะอาการผิดปกติ

(symptom) และร่องรอยของเชื้อโรค **(sign)** ตลอดจนกลุ่มอาการหลักของโรค สิ่งสำคัญอย่างแรกที่จะต้องทราบคือ พืชนั้นเกิดโรคอะไร และมีสาเหตุมาจากอะไร จึงจะนำไปสู่การจัดการที่มีประสิทธิภาพ

2. หลักการและขั้นตอนการวินิจฉัยโรคพืช

การวินิจฉัยโรคพืช (Diagnosis of disease) เป็นการลงความเห็นถึงเชื้อสาเหตุของโรค เพื่อให้ได้ต้นตอเชื้อสาเหตุ และวิธีแก้ไขปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการเพาะปลูกพืช การวินิจฉัยมีหลักการดังนี้

1. ควรรู้ข้อมูลเกี่ยวกับพืช เช่น พันธุ์พืช ระดับความต้านทาน ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สามารถได้มาจากบริษัทผู้จำหน่ายเมล็ดพันธุ์หรือส่วนขยายพันธุ์ หรือข้อมูลที่ได้จากการศึกษา

2. ตั้งสมมติฐานชนิดของโรคหรือเชื้อสาเหตุที่มีความเป็นไปได้

- รวบรวมข้อมูลจากตำรา คู่มือ ดัชนีโรคพืช คู่มือการวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคพืช เอกสารคู่มือโรคพืชชนิดต่างๆ วารสาร สิ่งพิมพ์ เอกสารประกอบการฝึกอบรม เป็นต้น ถ้าชนิดของพืชไม่มีรายงานการศึกษาให้ดูจากพืชชนิดใกล้เคียง รายละเอียดข้อมูลต่างๆ ของโรคระบาดในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญจะสามารถศึกษาค้นคว้า ได้ดังนี้

1. Compendia ที่มีคำบรรยาย (clear description) รูปภาพและคู่มือการจำแนกชนิด (keys) ครบถ้วน (completeness)
2. เอกสารสิ่งพิมพ์ที่เกี่ยวข้องจากมหาวิทยาลัย สถาบันการศึกษา กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร สถานีวิจัย สถานีทดลอง (Texts and Extension bulletins)
3. สิ่งพิมพ์รายชื่อโรคของพืชเศรษฐกิจ (Index of Plant diseases) หรือรายชื่อโรคที่มีการระบาดในแหล่งผลิตสำคัญ (Regional publications)
4. คู่มือ (Hand book) ที่มีรายชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชและเชื้อโรค
5. คู่มืออ้างอิงที่นำไปใช้ศึกษาเปรียบเทียบในสภาพไร่ (Handy reference)

- ศึกษารายละเอียดข้อมูลในแปลงปลูก เช่น สภาพภูมิอากาศ ชนิดของดิน สภาพพื้นที่ปลูกประวัติพื้นที่ และการเพาะปลูกรวมทั้งการรวบรวมข้อมูลอื่นๆ เพิ่มเติมที่เกษตรกรจดบันทึกไว้มีความสำคัญมากสำหรับการวินิจฉัยโรค

3. ตัดสินว่าจะใช้วิธีการใดควบคุมโรคตามการวินิจฉัย

3.1 ถ้าเป็นเชื้อสาเหตุโรคต้องหา sign และเปรียบเทียบกับคู่มือ

3.2 ถ้าเป็นโรคจากภาพแวดล้อม ต้องพิจารณาที่แมลง, วัชพืช หรือ สัตว์ สิ่งมีชีวิตอื่นที่บริเวณใกล้เคียงก็ต้องวินิจฉัยไปแต่ละสาเหตุ โดยต้องพยายามสร้างปรากฏการณ์ของธาตุ

อาหารที่สงสัย จากคำบอกเล่าที่ได้จากตัวอย่าง หรือรายงานเรื่องมลพิษและสารตกค้าง รวมทั้งการบันทึกเรื่องการระบาดของแมลง

ขั้นตอนการวินิจฉัยสาเหตุโรคพืช

1. พิจารณาก่อนว่า โรคนั้นเป็นโรคติดเชื้อหรือไม่ติดเชื้อ ปกติโรคติดเชื้อจะแสดงอาการของโรคและมีส่วนของเชื้อสาเหตุ (sign) ปรากฏให้เห็น เช่น สปอร์ เส้นใย ส่วนขยายพันธุ์ ซึ่งสามารถตรวจเห็นได้ด้วยแว่นกำลังขยายต่ำ ยกเว้นโรคที่เกิดจากไวรัส ไวรอยด์ และไฟโตพลาสมา ที่จะปรากฏเฉพาะอาการของโรคเหมือนกับโรคที่ไม่ใช่โรคติดเชื้อที่เกิดจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม

2. หากไม่พบเชื้อที่เป็นสาเหตุบนหรือในส่วนของพืชที่เป็นโรค และอาการดังกล่าวไม่เหมือนกับอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ไวรอยด์ และไฟโตพลาสมา พร้อมทั้งพืชไม่มีรอยหรือแผล ลักษณะใดๆ ให้เห็นว่ามีไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย และไม่มีร่องรอยของแมลง อาจวินิจฉัยได้ว่าโรคนั้นเป็นโรคที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิตหรือเกิดจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม

3. การวินิจฉัยโรคที่เกี่ยวกับสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ให้ตรวจเกี่ยวกับลักษณะอาการของโรคในเอกสารอ้างอิงที่ทราบอยู่แล้ว หากไม่ตรงกับโรคใดโรคหนึ่งที่มีอยู่ โรคที่นำมาวินิจฉัยนั้นอาจเกิดจากสาเหตุไม่ปกตินัก เช่น อากาศเย็น น้ำท่วม การปฏิบัติทางการเกษตร ความเป็นกรดด่างของดิน ตลอดจนสารพิษจากแร่ธาตุต่างๆ ในดิน

4. ถ้าพบเชื้อที่เป็นสาเหตุบนหรือในส่วนของพืชที่เป็นโรค จะจัดหมวดหมู่เชื้อนั้นโดยตรวจเทียบกับเชื้อในหนังสือเอกสารอ้างอิงที่รวบรวมไว้แล้ว โดยเฉพาะเกี่ยวกับโรคพืชและเชื้อสาเหตุ หากพบชื่อเชื้อที่เป็นสาเหตุ มีคุณสมบัติต่างๆ ตรงกับเชื้อโรคที่นำมาตรวจแล้ว การจัดหมวดหมู่เชื้อนั้นก็เสร็จสมบูรณ์

5. อย่างไรก็ตามหากเชื้อที่พบนั้น ไม่มีรายงานมาก่อนในการที่ทำให้เกิดโรคกับพืชที่นำมาตรวจในลักษณะดังกล่าวแล้ว เชื้อนั้นจะต้องนำมาพิสูจน์ว่าเป็นเชื้อสาเหตุของโรคจริงหรือไม่ต่อไปให้ครบตามวิธีของ Koch (Koch'postulates)

การพิสูจน์โรคตามหลักของ Koch

1. ส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรคและเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ จะต้องพบจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุร่วมอยู่ในส่วนนั้นเสมอ

2. เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคสามารถแยกนำไปเลี้ยงให้บริสุทธิ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือบนพืชปกติพันธุ์ที่เป็นโรคง่าย ในกรณีที่เชื้อเป็นปรสิตแบบถาวร

3. นำเชื้อสาเหตุที่บริสุทธิ์นั้นไปปลูกบนพืชปกติที่เป็นชนิดและพันธุ์เดียวกันกับ ข้อ 2 ต้นพืชปกติจะต้องแสดงอาการของโรคให้เห็น

4. เชื้อที่เป็นสาเหตุสามารถแยกให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์จากต้นพืชที่เป็นโรค จากผลการปฏิบัติในข้อ 3 ได้อีก แล้วนำไปปลูกบนต้นปกติใหม่ ต้นพืชปกตินั้นจะแสดงอาการของโรคให้เห็นเช่นเดียวกับข้อ 3

การวินิจฉัยโรคพืชด้วยเทคนิค Koch's postulate ต้องใช้เวลาซึ่งจะปฏิบัติเมื่อเป็นเชื้อ unknown ที่ยังไม่พบรายงานมาก่อน หากต้องการตรวจสอบเร่งด่วนต้องใช้เทคนิคอื่นๆ หรือเทคนิคที่ใช้เครื่องมือเฉพาะ สำหรับเชื้อสาเหตุที่เป็น obligate parasites เช่น ไวรัส จำเป็นต้องดัดแปลงวิธีการพิสูจน์ โดยใช้เทคนิคเฉพาะที่เหมาะสม เช่น ตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน หรือเทคนิคทางเซรุ่มวิทยา

3. การวินิจฉัยโรคพืชด้วยตาเปล่าและเครื่องมือทั่วไป

การวินิจฉัยโรคพืชด้วยตัวเองสามารถทำได้โดยใช้เครื่องมือธรรมดา เช่น คู่มือภาพอาการโรคหรือแว่นขยาย การสำรวจต้นพืชหรือแปลงปลูกพืชเป็นประจำจะสามารถป้องกันและควบคุมโรคได้อย่างรวดเร็ว การสำรวจและบันทึกข้อมูลอย่างละเอียดเกี่ยวกับ ลักษณะอาการของโรคที่เกิดกับพืช เกิดขึ้นกับต้นอ่อนหรือต้นแก่ ใบอ่อนหรือใบแก่ เกิดที่ส่วนใด ใกล้กับระดับดินที่ปลูกหรือไม่ เกิดเป็นหย่อมหรือระบาดเป็นวงกว้าง โรคนี้เกิดประจำหรือเกิดเป็นครั้งคราว พืชที่ปลูกบริเวณใกล้เคียงเป็นพืชชนิดเดียวกันหรือไม่ ซึ่งจะต้องพยายามค้นหารายละเอียด และจดบันทึกไว้ให้มากที่สุดเท่าที่ทำได้ จะทำให้การแก้ไขป้องกันกำจัดมีประสิทธิภาพมากที่สุด นอกจากลักษณะอาการที่เกิดขึ้นแล้ว เกษตรกรต้องมีข้อมูลเกี่ยวกับ ชนิดของพืชอาศัย พันธุ์พืช สภาพภูมิอากาศ แมลงพาหะ ซึ่งข้อมูลส่วนนี้จะช่วยให้การวินิจฉัยได้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น

การศึกษารายละเอียดจากอาการผิดปกติเพิ่มเติมด้วยตนเองโดยใช้แว่นขยายส่องดูบริเวณผิวพืชที่เป็นโรคโดยเฉพาะเชื้อรา เพื่อตรวจส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อ (fruiting bodies) ที่ปรากฏบนผิวพืช การตรวจดูเชื้อสาเหตุของโรคพืชต้องทำจากหลายๆตัวอย่าง เพื่อค้นหาส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา แบคทีเรีย และไส้เดือนฝอย การตรวจลักษณะอาการของโรคถ้าไม่พบเห็นส่วนใดส่วนหนึ่งของเชื้อโรค ควรนำชิ้นส่วนของพืชที่ตรวจไปเก็บไว้ในภาชนะที่ชื้น เช่น จานเลี้ยงเชื้อที่บุด้วยกระดาษชื้นหรือเก็บตัวอย่างพืชในถุงพลาสติกที่มีน้ำเล็กน้อย ปิดปากถุงแล้วเก็บไว้ข้ามคืน เชื้อราที่โตเร็ว เช่นพวกที่สร้างส่วนขยายพันธุ์โผล่ทางปากใบ มักจะสร้างส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อในวันต่อมา เชื้อราบางชนิดจะสร้างส่วนขยายพันธุ์บนเนื้อเยื่อพืชที่เริ่มเปื่อยและเน่าแห้งแล้วจึงต้องเก็บไว้หลายวัน การ ตรวจเชื้อที่เกิดจากการเก็บในภาชนะชื้น ต้องรีบตรวจดูให้ตรงกับระยะการเจริญของเชื้อรา เชื้อราบางชนิดเมื่อสร้างส่วนของเชื้อแล้วจะฝ่อแฟบไป หลังจากได้ข้อมูลรายละเอียดของเชื้อสาเหตุโรคพืชแล้วจะตรวจสอบเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง ดัชนีโรคพืช คู่มือการวินิจฉัยโรคพืช หนังสือ ตำรา ถ้าลักษณะอาการต่างๆ ตรงกับเอกสารที่ระบุไว้สามารถบอกชนิดของเชื้อสาเหตุได้

สมบูรณ์ แต่ถ้าลักษณะของเชื้อและปัจจัยเกี่ยวข้องอื่นๆ ไม่สามารถระบุได้จะต้องทำการตรวจวินิจฉัยต่อไป

โรคติดเชื้อมักพบเชื้อสาเหตุของโรคเจริญอยู่บนผิวหรือภายในพืชที่เป็นโรค โดยเชื้อสาเหตุโรคส่วนใหญ่มักเจริญอยู่ในเนื้อเยื่อพืช เชื้อสาเหตุที่มักพบเจริญบนผิวพืช ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย และไส้เดือนฝอย การตรวจสอบ และการจัดหมู่เชื้อสาเหตุของโรคที่มีเชื้อเจริญอยู่บนผิวพืชสามารถทำได้โดยอาศัยความชำนาญจากการตรวจด้วยตาเปล่า หรือใช้แว่นขยายกำลังต่ำช่วยในบางกรณีอาจจะต้องตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อดูลักษณะของเชื้อ โดยการวินิจฉัยโรคด้วยตนเองนี้จะตรวจสอบอาการโรคและข้อมูลรายละเอียดที่เกี่ยวข้องข้างต้นเป็นหลัก ดังนั้นการที่จะวินิจฉัยได้ถูกต้อง แม่นยำ ขึ้นอยู่กับว่าจะมีรายละเอียด ข้อมูลมากหรือน้อยด้วยเช่นกัน

1. การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา

การตรวจสอบเบื้องต้นโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราเป็นการตรวจลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ การตรวจดูเส้นใย สปอร์และโครงสร้างขยายพันธุ์ นำลักษณะที่ได้จากการตรวจสอบไปเปรียบเทียบกับเอกสารทางด้านเชื้อราวิทยาและโรคพืชวิทยา ซึ่งโรคพืชส่วนใหญ่ได้มีการศึกษาและรายงานถึงอาการและเชื้อสาเหตุ เมื่อนำอาการและลักษณะของเชื้อสาเหตุมาเปรียบเทียบจะสามารถสรุปผลการตรวจวินิจฉัยโรคพืชได้ แต่ถ้าเชื้อที่ได้มีลักษณะแตกต่างออกไปหรือเป็นเชื้อสาเหตุโรคชนิดใหม่ ต้องทำการพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch

การตรวจเชื้อราส่วนใหญ่จะตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นวิธีที่ถือว่าง่ายไม่จำเป็นต้องใช้วัสดุอุปกรณ์มาก แต่ต้องอาศัยความชำนาญในการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ เชื้อราเป็นกลุ่มเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สามารถตรวจสอบเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ค่อนข้างง่ายกว่าเชื้อชนิดอื่นเพราะมีขนาดใหญ่กว่าและสามารถตรวจสอบบนเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคหรือจากการเลี้ยงเชื้อ

2. การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

วิธีการพื้นฐานที่ใช้ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียคือการตัดส่วนของพืชที่เป็นโรคตามขวางจุ่มลงในน้ำที่บรรจุในขวดใส กลุ่มแบคทีเรียจะไหลออกมาเป็นสาย การวินิจฉัยโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย จะต้องอาศัยลักษณะอาการของโรคเป็นพื้นฐานสำคัญ เพราะไม่สามารถแยกลักษณะความแตกต่างได้เพราะมีขนาดเล็กมาก วิธีที่ได้รับความนิยมและตรวจสอบได้แน่นอน คือ การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปปลูกเชื้อให้กับต้นพืช โดยเปรียบเทียบกับอาการของโรคบนพืชชนิดเดียวกัน และเกิดจากแบคทีเรียที่ทราบชื่อชนิดของเชื้อแล้ว หากมีอาการเหมือนกันก็แสดงว่าเกิดจากเชื้อสาเหตุเดียวกัน

3. การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอย

โดยทั่วไปโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอยจะพบอาการรากปมหรือรากเป็นแผลที่ชัดเจนเมื่อถอนต้นพืชออกมาจากดิน สำหรับส่วนของพืชที่อยู่เหนือดินจะมีลักษณะต้นเล็ก แคระแกร็น เหลือง

และเหี่ยว ไส้เดือนฝอยสามารถแยกได้โดยเครื่องมือที่มีลักษณะเป็นตะแกรง และสามารถตรวจดูได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ และถ้าทำการย้อมสีก็จะสามารถเห็นไส้เดือนฝอยได้อย่างชัดเจน

4. การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัส

เนื่องจากไวรัสมีขนาดเล็กมากซึ่งไม่สามารถตรวจสอบโดยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ดังนั้นวิธีการวินิจฉัยเบื้องต้นจะต้องสังเกตลักษณะอาการเบื้องต้น คือ อาการด่างต่างๆ กันเช่น เส้น vein เหลืองซีด อาการด่างเป็นวงแหวนซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะ อาการด่างเป็นขีด อาการด่างแบบเห็นไม่ชัดเจน เป็นต้นมักมีอาการด่าง สีสันเปลี่ยนแปลงไปคล้ายกับอาการขาดธาตุอาหาร

5. การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไฟโตพลาสมา

ไฟโตพลาสมามีขนาดเล็กกว่าแบคทีเรียและใหญ่กว่าไวรัส การศึกษารูปร่างลักษณะต้องใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เช่นเดียวกับไวรัส ดังนั้นการวินิจฉัยโรคไฟโตพลาสมา จึงต้องสังเกตอาการเป็นพื้นฐานและอาศัยเอกสารคู่มือ ตลอดจนค้นคว้าตำราต่าง ๆ ประกอบด้วย อาการโรคพืชมายโคพลาสมาจะเป็นแบบที่เรียกว่า เหลืองซีด (yellow diseases) นอกจากนี้ในประเทศไทยโรคที่พบและมีรายงานว่าเกิดจากมายโคพลาสมา ได้แก่ ลักษณะอาการแบบ witches broom หรือ phyllody คือโรคใบฝอยของลำไย , ใบฝอยของถั่วฝักยาว ,ใบฝอยของงา ,ใบฝอยของถั่วลิสง , ใบขาวของอ้อย , aster yellow ของเบญจมาศ, โรคต้นโทรม (กรีนนิ่ง) ของส้ม

6. การวินิจฉัยโรคเนื่องจากธาตุอาหาร

การวินิจฉัยอาการผิดปกติของพืชสามารถทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดพืช อาการโรค และสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้อง การวินิจฉัยอาการผิดปกติโดยการสังเกตด้วยสายตา ถือเป็นขั้นตอนเริ่มต้นในการวินิจฉัยที่จะต้องมีวิธีการอื่นรองรับ เนื่องจากลักษณะอาการผิดปกติบางอย่างมีความคล้ายคลึงกันแต่มีสาเหตุที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะการผิดปกติเนื่องจากการขาดธาตุ ซึ่งนอกจากจะมีความคล้ายคลึงกันในกลุ่มอาการขาดธาตุแล้ว ยังพบว่าบางอาการยังเหมือนกับโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสด้วย นอกจากนี้ความผิดปกติจากการขาดธาตุอาหารบางชนิดยังสามารถแสดงได้หลายลักษณะรวมกัน ดังนั้นการวินิจฉัยความผิดปกติของพืชจึงจำเป็นต้องดำเนินเป็นกระบวนการ และใช้หลายวิธีประกอบกัน ตลอดจนต้องมีความรู้ความเข้าใจในพืชปลูกและปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง คือ

1. ต้องมีความความคุ้นเคย,ทราบประวัติการปลูก และทราบลักษณะทางธรรมชาติของพืชเป้าหมาย

2. ทราบลักษณะอาการผิดปกติ โดยการวินิจฉัยจากอาการสัณฐานเบื้องต้นด้วยสายตาเปรียบเทียบกับข้อมูลอ้างอิงต่าง ๆ เช่น compendium, ตำรา, รายชื่อโรคของพืชอาศัย (host index)

- ถ้าเป็นโรคที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต จะต้องพิจารณาถึงลักษณะอาการโรค (symptom) และส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุ (sign) ที่พบ และโรคที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตจะต้องมีการระบาด

- ถ้าเป็นอาการโรคที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต จะต้องพิจารณาถึงลักษณะอาการโรค และสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้อง ซึ่งความผิดปกติที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิตจะเกิดเฉพาะต้น หรือพื้นที่ โดยไม่มีการระบาด

3. การตรวจสอบปริมาณธาตุอาหาร และความต้องการธาตุอาหารของพืชนั้น ๆ โดย

3.1 วิเคราะห์ธาตุอาหารจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค เปรียบเทียบกับพืชปกติ

3.2 วิเคราะห์ธาตุอาหารในดิน หรือทดสอบ pH ดิน เนื่องจากมีผลต่อสารละลายธาตุอาหาร และความสามรถในการดูดซับธาตุอาหารของพืช เช่น อาการขาด S จะคล้ายคลึงกับอาการขาด Fe, Zn, Mn, Cu แต่การ ขาด S พบในดินกรดและกลุ่มหลังพบในดินด่าง

3.3 ให้/ไม่ให้ธาตุที่ขาดกับพืชที่ปลูกในทรายหรือสารละลาย (nutrient solution

3.4 ทำการทดลองซ้ำในไร่แบบ foliar spray (ให้/ไม่ให้ธาตุเป้าหมาย) เมื่อสามารถวิเคราะห์ปัญหาและกำหนดปัจจัยได้จึงทำการจัดโปรแกรมการให้แร่ธาตุอาหารกับพืชเพื่อป้องกันการขาด/มากเกินไป สำหรับการปลูกพืชในระดับไร่ต่อไป

7. การวินิจฉัยโรคที่เกิดจากอุณหภูมิสูง (High temperature)

ถ้าพืชได้รับอุณหภูมิสูงเกินไป จะเกิดอาการผิดปกติเกิดการไหม้เกรียมแห้งเสียหาย (sunscald injury) เกิดบวมพอง (scorching) ถ้าส่วนผิวของพืชนั้นได้รับความร้อนสูงในขณะที่อุณหภูมิภายในพืชต่ำกว่าแล้ว บริเวณนั้นจะเกิดการเปลี่ยนสี (discoloration) ในพืชก็จะเกิดอาการ scald นี้ได้ ปลายใบจะเริ่มแห้งตาย อาการไหม้จะลามลงมาตามขอบใบ พืชจะเกิดการเหี่ยวอย่างรวดเร็ว ถ้าอุณหภูมิสูงอัตราการคายน้ำก็สูง เมื่อพืชดูดน้ำได้น้อย พืชจะเหี่ยว ใบพืชร่วงก่อนกำหนด พืชพวกเส้นใยจะเกิดสะเก็ดแผลขึ้นที่ลำต้นหรือราก ส่วนของผลเกิด scald ใบพืชพวกไม้พุ่มกลายเป็นสีน้ำตาลและไหม้แห้ง ถ้าอุณหภูมิในดินหรือระดับดินค่อนข้างสูง โดยเฉพาะพวกดินเหนียวจะแตกแยกออกทำให้รากพืชถูกทำลาย รวมทั้งต้นอ่อนก็จะแห้งตายไปด้วย

8. การวินิจฉัยอาการผิดปกติเนื่องจากแมลง

เนื่องจากแมลงเป็นตัวการสำคัญในการแพร่ระบาดและเป็นพาหะของโรคพืชหลายชนิด ดังนั้นจึงควรศึกษาลักษณะการทำลายที่สำคัญเพื่อประกอบการวินิจฉัยโรคพืช และแยกให้ออกว่าลักษณะอาการผิดปกติเช่นนี้เนื่องมาจากแมลง หรือเนื่องมาจากสาเหตุอื่น อาการผิดปกติเกิดจากแมลงมักจะพบส่วนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับแมลงปะปนอยู่เสมอ เช่น ตัวแก่ , ตัวอ่อน, ไข่, คราบ, มูลของแมลง โดยสรุปสัญลักษณ์การทำลาย (sign) ของแมลง ก็อาจจะพบบนต้นพืช ได้แก่ หยดหรือเมือกเหนียวของน้ำหวานที่แมลงขับออกมา (เพลี้ยอ่อน) อาการปุ่มปม

9. การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากการปฏิบัติทางการเกษตรไม่เหมาะสม

การเกษตรกรรมจะก่อให้เกิดความเสียหายกับพืช ก็ต่อเมื่อมีการปฏิบัติไม่ถูกต้องตามหลักวิชาการ ทำผิดเวลาหรือใช้วัสดุอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องไม่เหมาะสม ที่พบได้บ่อยก็คือ การใช้สารเคมีพวก pesticides ต่าง ๆ (fungicides, insecticides, nematicides, herbicides) รวมทั้งปุ๋ยไม่ถูกต้อง

เหมาะสมทำให้เป็นพิษกับพืชขึ้นมาได้ ทำให้ใบไหม้เป็นแผลจุดต่าง ๆ เช่น โรค herbicide injury ที่เกิดกับใบแอปเปิ้ล จะทำให้เส้น vien มีสีซีดและมีจุดสีสนิมเหล็กประปรายทั่วใบ ในที่สุดจะแห้งตาย สารประกอบทองแดงบางชนิดที่ตกค้างในดินจะทำให้สนบางชนิด (spruce) เกิดแคระแกรนไม่โต เป็นต้น

4. การวินิจฉัยโรคพืชด้วยเครื่องมือเฉพาะ

การวินิจฉัยในระดับห้องปฏิบัติการจะเป็นการวินิจฉัยด้วยวิธีการเฉพาะ ซึ่งจะมีเครื่องมือหรืออุปกรณ์ต่าง เพื่อใช้ในการวินิจฉัย ซึ่งเกษตรกรหรือผู้สนใจอาจไม่สามารถปฏิบัติได้เอง แต่สามารถเข้าใจวิธีการและหลักการในการตรวจสอบได้ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1 การวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์

เป็นการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรคบางชนิดได้ เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย และไส้เดือนฝอย ซึ่งสามารถจำแนกหรือระบุเชื้อสาเหตุบางชนิดได้ โดยคลีนิกโรคพืชสามารถให้ความรู้ในการใช้กล้องจุลทรรศน์และการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แก่เกษตรกรและผู้สนใจได้ การตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นวิธีที่ถือว่าง่ายและไม่มีความยุ่งยากซับซ้อน ตลอดจนไม่จำเป็นต้องใช้วัสดุอุปกรณ์ไม่มาก แต่ต้องอาศัยความชำนาญในการจำแนกเชื้อชนิดของเชื้อสาเหตุ เชื้อราเป็นกลุ่มเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สามารถตรวจสอบเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ค่อนข้างง่ายกว่าเชื้อชนิดอื่น เพราะมีขนาดใหญ่กว่าและสามารถตรวจสอบบนเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคหรือจากการเลี้ยงเชื้อ

สำหรับเชื้อแบคทีเรียอาจพบเห็นกลุ่มแบคทีเรีย (Bacterial oozes) ทะลักออกมาในน้ำ เมื่อสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำหรือหรี่แสงแล้ว แต่สำหรับ ไวรอยด์ ไวรัส ไฟโตรพลาสมา และแบคทีเรียบางชนิดต้องมีการตัดเนื้อเยื่อพืชผ่านกรรมวิธีในการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

2. การวินิจฉัยโดยการแยกเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ

เชื้อสาเหตุของโรคพืชบางชนิด ไม่สามารถตรวจสอบโดยตรงจากเนื้อเยื่อบริเวณอาการของพืชที่เป็นโรคได้ จึงจำเป็นที่จะต้องแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อนำไปตรวจสอบต่อไป เช่น โรครากและโคนเน่า โรคเหี่ยว โรครากเน่าระดับดินของต้นกล้า เป็นต้น เมื่อพบเชื้อสาเหตุตรงกับที่รายงานไว้ก็สรุปได้ว่าโรคที่ทำการตรวจวินิจฉัยเกิดจากเชื้ออะไร แต่ในบางครั้งไม่สามารถตรวจพบเชื้อสาเหตุตรงตามที่ระบุไว้ในเอกสารดังกล่าว หรือตรวจพบเชื้ออย่างอื่นในส่วนโรคพืชที่มีอาการคล้ายคลึงกัน เชื้อที่ตรวจพบน่าจะเป็นกลุ่มที่ไม่ใช่เชื้อสาเหตุแต่เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่เข้ามาเจริญภายหลังจากเนื้อเยื่อพืชตาย หรืออาจเป็นเชื้อสาเหตุชนิดใหม่ที่ยังไม่ได้รายงานมาก่อน จำเป็นต้องพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch เพื่อยืนยันการเกิดโรค ในหลายกรณีการตรวจเชื้อบริเวณที่

มีอาการโดยตรงอาจทำไม่ได้ เชื้อบางชนิดจะต้องได้รับความชื้นหรือสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจึงจะสร้างเส้นใยหรือสปอร์ จึงจำเป็นต้องปรับสภาพตัวอย่างให้เหมาะสมระยะหนึ่งก่อน เชื้อราบางชนิดการนำไปแยกเชื้อให้บริสุทธิ์จะต้องใช้สูตรอาหารเฉพาะให้เชื้อเจริญเติบโตและสร้างสปอร์เพื่อนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การวินิจฉัยโดยอาศัยคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา และชีวเคมี

คุณสมบัติทางสันฐานวิทยา สรีระวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเป็นวิธีการที่ใช้ในการจำแนกในระดับ genus หรือ species และเนื่องจากการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา เป็นวิธีการมาตรฐานที่ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือราคาแพง สามารถปฏิบัติได้ในห้องทดลองทั่วไป และข้อมูลที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่มีความสำคัญและจำเป็นต่อการวินิจฉัยในระดับสูง

4. การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

อาศัยลักษณะอาการของโรคเป็นพื้นฐานอันดับแรก และจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียจากบริเวณเนื้อเยื่อของตัวอย่างพืชเป็นโรค มีปริมาณมาก และสม่ำเสมอ โดยอาศัยจากการทำสไลด์ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์หลายๆครั้ง เพราะแบคทีเรียมีขนาดเล็กมาก ไม่สามารถแยกความแตกต่างโดยอาศัยลักษณะสัณฐานของเชื้อ ในการจัดหมวดหมู่ได้ ทำให้ไม่ทราบว่าเชื้ออะไรเป็นสาเหตุของโรคหรือเป็นแบคทีเรีย saprophyte จากเนื้อเยื่อที่ตายเพราะเชื้อสาเหตุโรค หรือเพราะสาเหตุอื่นมาก่อน ซึ่งนอกจากการวินิจฉัยจากลักษณะอาการแล้ว การใช้เทคนิคเฉพาะในการวินิจฉัยก็มีประโยชน์ และมีความแม่นยำสูง โดยมีวิธีการต่างๆ ดังนี้

1. ปฏิกิริยาการย้อม/ ติดสี (dyes) รวมทั้งปฏิกิริยากับ KOH และHR
2. ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิด (Cultural characteristics)
3. ความต้องการออกซิเจน
4. ลักษณะทางสรีรวิทยา (Physiological characters): ความคงทนต่อ PH, NaCl
5. ลักษณะทางชีวเคมี (Biochemical characteristics): การสร้าง H_2S, NH_3, indole etc.
6. ความไวต่อปฏิชีวนะสาร และ bacteriocins
7. Phage regulationships
8. การศึกษา DNA และ RNA และลายพิมพ์ DNA
9. การศึกษาด้าน Immunological methods
10. Test for utilization of nutrients – Biolog system (Junal *et al,* 1991)

5. การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอย

โรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอยสามารถตรวจหาได้ในเบื้องต้นโดยดูจากลักษณะอาการที่ปรากฏเหนือดิน เมื่อตรวจดูรากจะพบลักษณะอาการที่เกิดจากกิจกรรมของไส้เดือนฝอย เช่น ราก เป็นแผลหรือปุ่มปม ในการตัดสินขั้นสุดท้ายว่าปัญหานั้นมาจากไส้เดือนฝอยหรือไม่จะต้องแยก

ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในดิน ในราก หรือในลำต้นออกมา และทำการศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคต่อไป

การแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินมี 4 วิธี คือ

1. Baermann funnel method เหมาะกับการแยกไส้เดือนฝอยที่มีชีวิต และชอบเคลื่อนที่ คือ นำกรวยแก้วที่ก้านมีสายยางสวม และมีตัวหนีบสายยางไปตั้งบนขาตั้ง นำตะแกรงที่ขนาดพอดีกับกรวยไปวางไว้ลึกจากปากกรวย 0.5 นิ้ว เติมน้ำจนเกือบถึงปากกรวย นำทิชชูวางบนโต๊ะ ใส่ดินลงไม่แล้วห่อดินให้มิด วางห่อดินบนตะแกรงแล้วค่อย ๆ กดให้จมน้ำ โดยไม่ให้กระดาษขาด ทิ้งไว้ 12 – 24 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะว่ายออกจากกระดาษ และลงไปอยู่ในสายยางใกล้ส่วนที่หนีบไว้ เมื่อเอาตัวหนีบออกไส้เดือนฝอยจะไหลออกมาพร้อมกับน้ำ นำน้ำนั้นไปเทใส่ Syracuse disc แล้วส่องดูด้วยกล้อง stereoscopic microscope

2. Sucrose technique นำดินประมาณ 50 มิลลิลิตรใส่บิกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมสารละลายซูโครสเข้มข้น 1 โมลาร์ 350 มิลลิลิตร นำไปปั่นให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ 2 – 4 นาที เพื่อให้นอนก้น จากนั้นเทของเหลวที่ไม่ตกตะกอนลงบนตะแกรงร่อนดิน ขนาดความถี่ 325 mesh ใช้สายยางฉีดน้ำเบาๆ ใส่ในถาดก้นลึก แล้วถ่ายใส่ Syracuse disc เพื่อนำไปส่องดูด้วยกล้อง stereoscopic microscope

3. Cobb's sieve method สามารถแยกไส้เดือนฝอยที่ตายแล้วและที่เคลื่อนที่ช้า โดยนำดินประมาณ 300 มิลลิลิตร ละลายในน้ำปริมาตรประมาณ 3 – 5 ลิตร กวนจนดินละลาย ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 10 mesh รองน้ำที่ไหลผ่านตะแกรงแล้วผ่านตะแกรงขนาด 24 mesh รองน้ำแล้วผ่านตะแกรงร่อนขนาด 50 , 100 , 200 และ 325 mesh โดยเก็บส่วนที่ค้างบนตะแกรง 200 และ 325 mesh แล้วใช้สายยางฉีดน้ำลงในถาดก้นลึก แล้วถ่ายใส่ Syracuse disc เพื่อนำไปส่องดูด้วยกล้อง stereoscopic microscope

4. Modified baermann funnel technique method เนื่องจากส่วนที่ค้างบนตะแกรง 200 และ 325 mesh จากวิธีที่ 3 มีดินปนอยู่กับไส้เดือนฝอย การฉีดน้ำไล่จะมีดินปนอยู่ทำให้น้ำขุ่น ตรวจดูยาก วิธีการแก้น้ำขุ่น นำกระดาษทิชชูมาปิดปากบิกเกอร์ รัดยางให้แน่นแล้ววางตะแกรงกลมที่ใช้ในวิธี Baermann Funnel Method ทับลงบนกระดาษทิชชู จากนั้นนำไปคว่ำในกรวยแก้วที่บรรจุน้ำเกือบเต็ม ประมาณ 10 ชั่วโมง แล้วจึงไขน้ำแยกไส้เดือนฝอยออกมาเหมือนกับ Baermann Funnel Method

6. การวินิจฉัยโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัส

อาการโรคไวรัสส่วนใหญ่จะแสดงอาการชัดเจนตามบริเวณส่วนที่ยังอ่อนอยู่ (young meristem or new growth) เช่น ยอด หรือใบอ่อน ในขณะที่ใบแก่ไม่แสดงอาการแต่ไวรัสพืชจะมีอาการแบบ systemic คือ cell sap ในส่วนต่าง ๆ ของพืชจะมีอนุภาคไวรัสปะปนอยู่ทั่วไป และ

อนุภาคของไวรัสจะมีขนาดเล็กไม่สามารถวินิจฉัยได้ด้วยตาเปล่าจึงมีเทคนิคเฉพาะหลายชนิด ได้แก่

1. ตรวจเนื้อเยื่อที่เป็นโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน : TEM, SEM

2. ตรวจสอบแมลงพาหะ (insect vector)

3. วิธีการทางเซรุ่มวิทยา โดยการใช้ antiserum ของเชื้อที่ทราบสาเหตุแล้วตรวจสอบ โดยผสมกับน้ำคั้นพืชที่เป็นโรค และต้องการทราบเชื้อสาเหตุ หากเกิดปฏิกิริยาเกิดขึ้นก็แสดงว่าเป็นเชื้อเดียวกับที่ใช้ผลิต antiserum นั้น วิธีการนี้สามารถตรวจสอบและจัดหมวดหมู่ได้เร็ว

4. การตรวจสอบโดย DNA technique : PCR

7. วิธีทางอิมมูนโนโลจี

Enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA)

การตรวจเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยวิธี ELISA เป็นวิธีการที่ให้ผลดี และรวดเร็วมากในการตรวจวินิจฉัยโรคพืช โดยเฉพาะโรคพืชที่เกิดจากไวรัส หลักการคือการนำเชื้อสาเหตุของโรค แอนติซีรั่ม หรือแอนติเจนมาติดฉลากด้วยเอนไซม์ โดยเอนไซม์จะไม่ทำให้คุณสมบัติของสารเหล่านี้เปลี่ยนแปลงไป การตรวจสอบปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น สามารถตรวจสอบได้โดยการใส่สารตั้งต้น (substrate) ของเอนไซม์นั้นลงไป เมื่อเอนไซม์ทำปฏิกิริยาเกิดการย่อยสารตั้งต้น จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า หรือวัดความเข้มของสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง spectrophotometer หรือ ELISA reader วิธีนี้ที่มีความไวสูงพอที่สามารถช่วยให้ตรวจพบเชื้อสาเหตุของโรคได้ ซึ่งตามปกติแล้วเชื้อสาเหตุโรคพืชบางตัวจะมีปริมาณน้อยในเซลล์พืช ทำให้การตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีดั้งเดิมไม่สามารถที่จะวินิจฉัยได้โดยเฉพาะโรคพืชที่เกิดจากเชื่อไวรัส ไวรอยด์ ขั้นตอนการตรวจเชื้อในเนื้อเยื่อพืชที่ติดเชื้อด้วยวิธี indirect ELISA ไม่ยุ่งยากนัก และทราบผลการตรวจได้ภายใน 2 – 3 วัน วิธีนี้นับเป็นวิธีที่ค่อยข้างง่ายและสามารถตรวจได้เป็นปริมาณมากในแต่ละครั้ง เหมาะสำหรับการตรวจในทางปฏิบัติ อีกทั้งยังมีราคาไม่สูงเกินไปเมื่อเทียบกับปริมาณชนิดตัวอย่างที่ตรวจ รวมทั้งประสิทธิภาพความไว และยังมีความจำเพาะเจาะจงในระดับที่เชื่อถือได้

8. เทคนิค Polymerase chain reaction (PCR)

PCR เป็นเทคนิคในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองโดยการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้นมาจากบางส่วนของสายดีเอ็นเอขนาดยาวที่ใช้เป็นต้นแบบ โดยใช้ระยะเวลาอันสั้น ซึ่งกระบวนการต่างๆ เลียนแบบการจำลองตัวเองของสายดีเอ็นเอในสภาพธรรมชาติ ในปัจจุบัน PCR ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในงานด้านการโคลนยีน (gene cloning) การทำแผนที่ยีน (gene mapping) และการทำพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) ทางด้านการเกษตร PCR มีบทบาทมากในงานด้านการปรับปรุงพันธุ์พืช การ

ตรวจสอบสายพันธุ์พืช การตรวจวินิจฉัยโรคสายพันธุ์พืชต้านทานโรค การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพืชกับเชื้อโรครวมทั้งศึกษายีนกับตัวอื่น ๆ ของพืชและเชื้อโรค และการแสดงออกของยีนเหล่านั้นได้ ซึ่งเทคนิค PCR นี้ช่วยให้เข้าใจถึงพันธุกรรมของเชื้อโรคพืชและ พืชอาศัย ตลอดจนการนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส หรือเชื้อสาเหตุโรคอื่น ๆ

9. RT-PCR (Reverse transcriptase polymerase chain reaction)

เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มยีนที่สนใจจากการใช้ RNA เป็นแม่แบบ หลักการที่สำคัญคือ ทำการสกัด RNA จากนั้นทำการเปลี่ยน RNA ไปเป็น cDNA โดยกระบวนการ reverse transcription โดยอาศัยเอนไซม์ reverse transcriptase (RT) เอนไซม์ชนิดนี้ทำงานโดยสามารถสร้างสาย DNA ได้จากทั้งแม่พิมพ์ที่เป็น DNA และ RNA (Hartl and Jones. 1999 : 350-351) เอนไซม์ reverse transcriptase (RT) ปัจจุบันมีหลายชนิดที่นำมาใช้ในการสร้างสาย cDNA ได้แก่ Avian myeloblastosis virus (AMV) RT, Moloney murine leckemia virus (MMLV) RT, SuperScriptTM RNaseH- RT เป็นต้น

10. Restriction fragment length polymorphisms: RFLP

สิ่งมีชีวิตต่างสายพันธุ์หรือต่างชนิดกันย่อมมีลำดับเบสของสารพันธุกรรมหรือ DNA แตกต่างกัน ทำให้เกิดความแตก-ต่างหรือความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตส่งผลให้ตำแหน่งจดจำ (recognition site) ของเอนไซม์ตัดจำเพาะนั้นเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นเมื่อนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดเดียวกัน จะได้ขนาดและจำนวนชิ้นส่วน DNA ที่แตกต่างกันเรียกว่าเกิด polymorphisms สามารถตรวจสอบได้ โดยอาศัยหลักการเข้าคู่ (hybridization) ของ DNA ที่มีเบสคู่สมกัน (complementary) ระหว่าง DNA ตรวจสอบ (probe) กับชิ้น DNA เหล่านั้นทำให้ตรวจพบความแตกต่างของสายพันธุ์ได้ เครื่องหมาย RFLP มีลักษณะเด่น คือ สามารถแยกความแตกต่างที่ DNA โดยตรง ดังนั้นจึงไม่มีอิทธิพลของสภาพแวด ล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง การตรวจสอบวินิจฉัยจะเจาะจงที่ยีนหรือตำแน่งที่แน่นอนบนโครโมโซม (locus specific marker) ผลที่ได้จึงมีความแม่นยำสูง

นอกจากวิธีการดังกล่าวที่ยกตัวอย่างแล้วแล้ว คลินิกโรคพืชสามารถวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคด้วยเทคนิคที่ทันสมัย มีความถูกต้องแม่นยำสูง และรวดเร็ว ซึ่งสามารถใช้วินิจฉัยโรคที่ไม่แสดงอาการชัดเจน หรือยากในการตรวจสอบวินิจฉัย ได้แก่ เทคนิค BIO-PCR, การวิเคราะห์โปรตีน เป็นต้น

5. การส่งตัวอย่างตรวจวินิจฉัย

เพื่อตรวจสอบโรคพืช และให้คำแนะนำป้องกันกำจัดโรคพืชอย่างถูกวิธี มีประสิทธิภาพ ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม และง่ายต่อการปฏิบัติ ทั้งนักวิชาการ ผู้เชี่ยวชาญ และเกษตรกรจำเป็นต้องมีขั้นตอนการปฏิบัติ และการจดบันทึกตลอดจนเขียนรายงาน

ขั้นตอนการส่งตัวอย่างพืช

1. จัดเก็บตัวอย่างโรคพืช

ตัวอย่างโรคพืชที่เก็บไว้นานจะมี saprophyte เจริญปนเปื้อนยากต่อการวินิจฉัยหรือตัวอย่างพืชที่ไม่แสดงอาการโรคทั้งหมดให้ปรากฏอาจไม่มีประโยชน์ต่อการวินิจฉัย เช่น เก็บตัวอย่างใบแสดงอาการเหี่ยว หรือใบเป็นแผลแห้งตายเป็นจำนวนมากแต่ปัญหาที่แท้จริงอยู่ที่รากก็ทำให้การวินิจฉัยผิดพลาด ควรเก็บตัวอย่างโรคในทุกระยะของการเกิดโรค บางครั้งอาจจำเป็นต้องเก็บทั้งต้น ในขณะที่บางโรคเก็บเฉพาะอาการใบจุด ใบไหม้ก็เพียงพอต่อการวินิจฉัย การเก็บตัวอย่างโรคพืชด้วยตนเองดีกว่ารับมาจากผู้อื่น และควรเก็บตัวอย่างพืชปกติที่ปลูกใกล้เคียงกันเพื่อการศึกษาเปรียบเทียบ รวมทั้งการนำตัวอย่างดินรอบรากมาร่วมศึกษาโดยเฉพาะโรคพืชที่คาดว่าเกิดจาก nematode นอกเหนือจากการวิเคราะห์ pH ธาตุอาหาร ความเค็มหรือการตกค้างของสารกำจัดวัชพืช

ตัวอย่างพืชเพื่อการวินิจฉัยต้องเก็บในสภาพที่ไม่ร้อน เย็น แห้ง หรือแฉะมากเกินไป เพื่อป้องกันการเปื้อนปนของเชื้อชนิดอื่นที่เจริญได้รวดเร็ว และต้องห่อหุ้มดินที่ติดมากับรากไม่ให้สัมผัสกับส่วนอื่นของพืชด้วย การเก็บตัวอย่างต้องทำอย่างระมัดระวังเพื่อรักษา signs ใส่ภาชนะปิดสนิท พร้อมทั้ง label รายละเอียดเกี่ยวกับตัวอย่าง ไม่ควรเก็บตัวอย่างหลายชนิดในภาชนะเดียวกัน ควรเก็บตัวอย่างในสภาพที่สามารถพัฒนาต่อได้ เช่น moist chambers และนอกจากตัวอย่างพืชแล้ว

2. นำส่งตัวอย่างกับเจ้าหน้าที่พร้อมกรอกประวัติพืช และอาการของโรค

3. ติดต่อรับผลด้วยตนเอง ทางไปรษณีย์ โทรสาร หรือ E-mail

จากเทคนิควิธีการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่มีวิธีการเฉพาะ มีอุปกรณ์หลายชนิด และมีวิธีการตรวจวินิจฉัยที่ค่อนข้างซับซ้อนไม่เหมาะสมต่อการใช้ของเกษตรกร หรือผู้ปลูก แต่จากความรู้ที่ได้จากวิธีการต่างๆ นั้น สามารถนำมาพัฒนาปรับปรุงเป็นอุปกรณ์ที่เกษตรกรสามารถใช้ในการวินิจฉัยโรคพืชได้ด้วยตนเอง และทำได้ในสภาพแปลงปลูกได้ทันที เช่น ชุดตรวจสอบเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชบางชนิดที่ โดยจะมีวิธีการที่ง่าย และไม่ยุ่งยาก และนอกจากนี้ยังมีการพัฒนาชุดตรวจสอบในการวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิดได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว เช่น ชุดตรวจสอบเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืช

เอกสารประกอบการเรียบเรียง

Agrios, G.N. 1988. Plant Pathology. Academic Press. New York. 803 p.

Fry, W.E. 1982. Principle of Plant Disease Management. Academic Press.New York. 378p.

สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2550. การวินิจฉัยโรคพืช. เอกสารประกอบการสอนวิชา เรื่องเฉพาะทางด้านโรคพืช: ความปลอดภัยทางชีวภาพด้านโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.29น.

สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2550. แนวโน้มความปลอดภัยทางชีวภาพด้านโรคพืชในอนาคต. เอกสารประกอบการสอนวิชา เรื่องเฉพาะทางด้านโรคพืช: ความปลอดภัยทางชีวภาพด้านโรคพืช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.19น.

เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ โครงการเพื่อบรรเทาผลกระทบทางสังคมจากวิกฤตการณ์เศรษฐกิจ เรื่อง เทคโนโลยีโรคพืช การจัดการ และการป้องกันกำจัดโรคสับปะรด