

ข้อกำหนดโครงการ (Terms of Reference)

โครงการวิจัยสารชีวภัณฑ์และสารทดแทนสารเคมีเกษตรเพื่อการเพาะปลูกพืช

ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมบนพื้นที่สูง

โครงการย่อยที่ 7 การศึกษาชนิดจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างขององุ่นบนพื้นที่สูง

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2563

1. หลักการและเหตุผล

องุ่นเป็นไม้ผลเศรษฐกิจสกุล *Vitis* ที่มีศักยภาพทางการตลาดเนื่องจากมีราคาและความต้องการของตลาดสูง ผู้บริโภคนิยมรับประทานผลสดและทำเป็นไวน์ ด้วยเหตุนี้มูลนิธิโครงการหลวงจึงคัดเลือกพันธุ์องุ่นที่ให้ผลผลิตสูงและเจริญเติบโตดีในพื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงสำหรับใช้เป็นพืชทางเลือกเพื่อสร้างรายได้ให้กับเกษตรกร ซึ่งปัจจุบันมีเพียงพันธุ์บิวตี้ซีดเลส (Beauty seedless) ที่นำมาส่งเสริม มีเกษตรกร 154 ราย ในพื้นที่ปลูก 112.75 ไร่ ปริมาณผลผลิต 28.23 ตัน คิดเป็นมูลค่ารวม 7.15 ล้านบาท (งานพัฒนาและส่งเสริมไม้ผลขนาดเล็ก มูลนิธิโครงการหลวง, 2562) นอกจากนี้ยังมีพันธุ์องุ่น จำนวน 6 พันธุ์ ที่อยู่ระหว่างการวิจัยและพัฒนา ได้แก่ Marroo Seedless, Thompson Seedless, Flame Seedless, Perlette, Red Globe และ JG05 (จิระนิลและคณะ, 2560)

การปลูกองุ่นมักพบโรคที่สำคัญ คือ ราน้ำค้าง (Downy mildew) ที่เกิดจากเชื้อราชั้นต่ำ *Plasmopara viticola* โดยเฉพาะฤดูหนาวและฤดูฝน ราชชนิดนี้เป็นปรสิตแบบถาวร (obligate parasite) ต้องเจริญและรับอาหารจากสิ่งมีชีวิตที่เชื้อราอาศัยอยู่ ไม่สามารถเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ เมื่อเชื้อราเข้าทำลายต้นองุ่นแล้วจะทำให้ใบแสดงอาการจุดสีเหลืองเล็ก ต่อมาขยายใหญ่ขึ้น เมื่อพลิกดูใต้ใบพบราสีขาวเป็นกระจุก หากโรคระบาดรุนแรงใบองุ่นอาจเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแห้งตายในที่สุด อาการบนช่อดอกพบในระยะดอกใกล้บาน ผลสีเขียวปนเหลือง มักพบเชื้อราสีขาวฟู หรือสีน้ำตาลแก่ติดเกาะที่แห้งตาย บนกิ่งอ่อนมีแถบสีน้ำตาลอ่อนตามแนวยาวและเชื้อราสีขาว เป็นสาเหตุให้ยอดชะงักการเจริญเติบโต โรคนี้มีความรุนแรงมากที่สุดบนใบและช่อดอกขององุ่น ส่งผลให้ปริมาณและคุณภาพขององุ่นลดลงถึง 50% (คู่มือการปลูกองุ่นระบบใหม่ของโครงการหลวง, 2554) ทั้งนี้เกษตรกรสามารถหลีกเลี่ยงการเกิดโรคราน้ำค้างด้วยการเลือกปลูกต้นพันธุ์องุ่นที่ต้านทานต่อโรคหรือใช้วิธีการเกษตรกรรม และหากเกิดโรคราน้ำค้างอาจฉีดพ่นสารเคมีเพื่อควบคุมโรคเพิ่มเติมได้ เช่น เมทาแลกซิลผสมแมนโคเซบ เมทาแลกซิล หรือฟอสฟิไทลอะลูมิเนียม อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีเป็นระยะเวลานานจะส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม ผู้บริโภค รวมถึงสุขภาพของเกษตรกรเอง ด้วยเหตุนี้การควบคุมโรคโดยชีววิธีจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่กำลังได้รับนิยม ดังตัวอย่างจากการศึกษาการใช้สารทุติยภูมิจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CaSUT007 และโคโคซานของธัญมน (2557) เพื่อช้กนำความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากเชื้อราในองุ่น โดยพบว่าหลังปลูกเชื้อโรคราน้ำค้าง 10 วัน กรรมวิธีที่ใช้ CaSUT007 และโคโคซานสามารถลดการเกิดโรคได้ 40% และ 20% นอกจากนี้ยังมีรายงานของหนึ่ง (2557) ที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. และ *Streptomyces* sp. ควบคุมโรคราน้ำค้างองุ่น และมีการศึกษาสูตรอาหารเพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บรักษาพบว่า Yeast extract 0.5 กรัม, Molasses 20 กรัม, K_2HPO_4 0.05 กรัม และ KH_2PO_4 0.15 กรัม ให้ผลดีที่สุด โดยเชื้อเจริญในระดับ 10^8 - 10^9 cfu/ml ส่วนชนิดของสารพอลิเมอร์ที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาหัวเชื้อจุลินทรีย์ชีวภาพคือการใช้สาร Polyvinylpyrrolidone (PVP) หรือ Polyethylene glycol (PEG) อย่างไรก็ตามวิธีหนึ่ง หรือใช้ร่วมกับแป้งมันสำปะหลัง สามารถเก็บรักษาปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตเหลือระดับ 10^8 cfu/ml ได้นาน 3-4 เดือน ณ อุณหภูมิห้อง ในขณะที่เดียวกันยังสามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้ แม้มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนาน 6 เดือน

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูงให้ความสำคัญในการวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์สำหรับป้องกันและกำจัดโรคราน้ำค้างขององุ่นบนพื้นที่สูงขึ้น โดยคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติยับยั้งราสาเหตุของโรค ศึกษาและคัดเลือกสูตรอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้สำหรับนำไปพัฒนาเป็นต้นแบบชีวภัณฑ์ในปีต่อไป

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อคัดเลือกและทดสอบสายพันธุ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างขององุ่นบนพื้นที่สูง

2.2 เพื่อศึกษาวิธีการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เชื้อรา *Plasmopara viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างขององุ่นบนพื้นที่สูง

3. เป้าหมายของโครงการ

มูลนิธิโครงการหลวงและสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) มีชีวภัณฑ์ป้องกันและกำจัดโรคราน้ำค้างที่เกิดจากเชื้อรา *Plasmopara viticola* เพื่อลดการสูญเสียผลผลิตองุ่นที่ปลูกบนพื้นที่สูงและช่วยลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรได้

4. ผลที่คาดว่าจะได้รับ

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยหรือสปอร์เชื้อรา *Plasmopara viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างขององุ่นบนพื้นที่สูง และมีวิธีการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สำหรับพัฒนาเป็นต้นแบบชีวภัณฑ์ในระยะต่อไป

5. ผลสัมฤทธิ์ของโครงการ

5.1 ผลผลิต (Output) และตัวชี้วัดผลผลิต

- 1) สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างขององุ่น อย่างน้อย 2 สายพันธุ์
- 2) วิธีการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สำหรับการผลิตในโรงงาน อย่างน้อย 1 วิธี

5.2 ผลลัพธ์ (Outcome) และตัวชี้วัดผลลัพธ์

เกษตรกรบนพื้นที่สูงนำชีวภัณฑ์ป้องกันและกำจัดโรคราน้ำค้างที่เกิดจากเชื้อรา *Plasmopara viticola* ไปใช้ เพื่อลดการสูญเสียผลผลิตองุ่นที่ปลูกบนพื้นที่สูง อย่างน้อย 4 แห่ง

6. ขอบเขตของการศึกษา

6.1 ขอบเขตการศึกษา

1) ศึกษาและคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อรา *Plasmopara viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างในองุ่นบนพื้นที่สูงที่ก่อโรครุนแรงสำหรับใช้ในการทดสอบ

2) คัดเลือกและทดสอบสายพันธุ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างขององุ่นบนพื้นที่สูง

(1) เก็บตัวอย่างพืชบนพื้นที่สูงหรือวัสดุอื่นจากแหล่งที่มีรายงานการพบจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ รวมทั้งจัดหารสารที่มีคุณสมบัติในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราทั่วไปหรือโรคราน้ำค้างขององุ่นที่เกิดจากเชื้อรา *Plasmopara viticola*

(2) คัดแยกจุลินทรีย์ในกลุ่ม รา แบคทีเรีย แอคติโนมัยซีส หรือยีสต์ ไม่น้อยกว่า 150 สายพันธุ์

(3) ทดสอบและคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือชนิดสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของส่วนขยายพันธุ์เชื้อรา *Plasmopara viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างขององุ่นบนพื้นที่สูง ไม่น้อยกว่า 80% ในห้องปฏิบัติการ อย่างน้อย 2 สายพันธุ์

(4) ทดสอบความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือก

3) ศึกษาวิธีการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เชื้อรา *Plasmopara viticola* สาเหตุโรคราน้ำค้างขององุ่น เปรียบเทียบวิธีการเลี้ยงจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่คัดเลือก ได้แก่ สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาพการเลี้ยงเชื้อ เช่น อุณหภูมิ แสง เพื่อเพิ่มปริมาณให้ได้ความเข้มข้นจุลินทรีย์ ไม่น้อยกว่า 10^9 cfu/ml หรือ spore/ml สำหรับการผลิตในโรงงาน โดยพิจารณาศักยภาพการผลิตและการลงทุน เช่น การจัดหาวัตถุดิบและอุปกรณ์ (หาได้ง่าย/มีจำหน่ายทั่วไป/ราคาที่เหมาะสม) รวมถึงความสามารถในการแข่งขันทางการตลาดเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์การค้ากลุ่มเดียวกัน

6.2 วิธีการศึกษา: ผู้รับทุนเป็นผู้กำหนดวิธีการศึกษา

7. พื้นที่ดำเนินการวิจัย/เก็บข้อมูล

7.1 ห้องปฏิบัติการ แปลงปลูกพืช หรือโรงเรือนทดสอบของหน่วยงาน

7.2 พื้นที่มูลนิธิโครงการหลวง หรือสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)

8. งบประมาณ

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)

9. ระยะเวลาการดำเนินงาน จำนวน 300 วัน (นับแต่วันลงนามในสัญญา)

กิจกรรม	ระยะเวลาดำเนินกิจกรรม (วัน)									
	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
1. เสนอรายงานการศึกษาเบื้องต้น (Inception Report)	x									
2. เสนอรายงานความก้าวหน้า (Progress Report)					x					
3. เสนอร่างรายงานฉบับสมบูรณ์ (Draft Final Report)								x		
4. เสนอรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ (Final Report)										x

10. การเสนอผลงาน

10.1 การเสนอรายงานการศึกษาเบื้องต้น (Inception Report) กำหนดส่งรายงานภายในระยะเวลา 30 วัน นับแต่วันลงนามในสัญญารับทุนอุดหนุนการวิจัย ประกอบด้วย

(1) เอกสารฉบับที่ 1 รายงานการศึกษาเบื้องต้น โดยมีรายละเอียดประกอบด้วย คณะผู้วิจัย สารบัญ บทนำ วัตถุประสงค์ ขอบเขตของการศึกษา การตรวจเอกสาร วิธีการวิจัย สถานที่ดำเนินงานวิจัย แผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย ระยะเวลาดำเนินการวิจัย งบประมาณในการดำเนินการวิจัย ผลการวิจัย งานที่จะดำเนินการต่อไป และเอกสารอ้างอิง จำนวน 10 เล่ม

(2) ซิตีบันทึกข้อมูลรายงาน ที่บันทึกด้วยโปรแกรม Microsoft Word จำนวน 1 ชุด

10.2 การเสนอรายงานความก้าวหน้า (Progress Report) กำหนดส่งรายงานภายในระยะเวลา 150 วัน นับแต่วันลงนามในสัญญาเงินทุนอุดหนุนการวิจัย ประกอบด้วย

(1) เอกสารฉบับที่ 1 รายงานความก้าวหน้า โดยมีรายละเอียดประกอบด้วย คณะผู้วิจัย สารบัญ บทนำ วัตถุประสงค์ ขอบเขตของการศึกษา การตรวจเอกสาร วิธีการวิจัย สถานที่ดำเนินงานวิจัย แผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย ระยะเวลาดำเนินการวิจัย งบประมาณในการดำเนินการวิจัย ผลการวิจัย วิเคราะห์ผลการวิจัย (ถ้ามี) สรุปผลการวิจัย (ถ้ามี) งานที่จะดำเนินการต่อไป ข้อเสนอแนะ (ถ้ามี) ปัญหาและอุปสรรคในการดำเนินงาน (ถ้ามี) เอกสารอ้างอิง ภาคผนวก (ถ้ามี) และตารางสรุปเปรียบเทียบแผนงานวิจัยกับผลงานวิจัย จำนวน 10 เล่ม

(2) ซีดีบันทึกข้อมูลรายงานที่บันทึกด้วยโปรแกรม Microsoft Word จำนวน 1 ชุด

(3) รายงานการเงิน จำนวน 1 ชุด โดยแนบพร้อมกับหนังสือนำส่ง

10.3 การเสนอร่างรายงานฉบับสมบูรณ์ (Draft Final Report) กำหนดส่งรายงานภายในระยะเวลา 240 วัน นับแต่วันลงนามในสัญญาเงินทุนอุดหนุนการวิจัย ประกอบด้วย

(1) เอกสารฉบับที่ 1 ร่างรายงานฉบับสมบูรณ์ โดยมีรายละเอียดประกอบด้วย กิตติกรรมประกาศ คณะผู้วิจัย บทสรุปสำหรับผู้บริหาร Executive Summary สารบัญ บทคัดย่อ Abstract บทนำ วัตถุประสงค์ ขอบเขตของการศึกษา การตรวจเอกสาร วิธีการวิจัย สถานที่ดำเนินงานวิจัย ผลการวิจัย วิเคราะห์ผลการวิจัย สรุปผลการวิจัย งานที่จะดำเนินการต่อไป ข้อเสนอแนะ (ถ้ามี) ปัญหาและอุปสรรคในการดำเนินงาน (ถ้ามี) เอกสารอ้างอิง ภาคผนวก (ถ้ามี) และตารางสรุปเปรียบเทียบแผนงานวิจัยกับผลงานวิจัย จำนวน 10 เล่ม

(2) ซีดีบันทึกข้อมูลรายงานที่บันทึกด้วยโปรแกรม Microsoft Word จำนวน 1 ชุด

(3) รายงานการเงิน จำนวน 1 ชุด โดยแนบพร้อมกับหนังสือนำส่ง

10.4 การเสนอรายงานฉบับสมบูรณ์ (Final Report) กำหนดส่งรายงานภายในระยะเวลา 300 วัน ทั้งนี้ รายงานฉบับสมบูรณ์ประกอบด้วย

(1) เอกสารฉบับที่ 1 รายงานฉบับสมบูรณ์ โดยมีรายละเอียดประกอบด้วย กิตติกรรมประกาศ คณะผู้วิจัย บทสรุปสำหรับผู้บริหาร Executive Summary สารบัญ บทคัดย่อ Abstract บทนำ วัตถุประสงค์ ขอบเขตของการศึกษา การตรวจเอกสาร วิธีการวิจัย สถานที่ดำเนินงานวิจัย ผลการวิจัย วิเคราะห์ผลการวิจัย สรุปผลการวิจัย ข้อเสนอแนะ (ถ้ามี) เอกสารอ้างอิง ภาคผนวก (ถ้ามี) และ ตารางสรุปเปรียบเทียบแผนงานวิจัยกับผลงานวิจัย จำนวน 20 เล่ม

(2) เอกสารฉบับที่ 2 รายงานบทสรุปสำหรับผู้บริหาร และ Executive Summary โดยมีรายละเอียดเบื้องต้นประกอบด้วย ความเป็นมาของโครงการ วัตถุประสงค์ ประมวลผลการวิจัยแยกตามวัตถุประสงค์ตลอดโครงการ สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะเพื่อการดำเนินงานวิจัยต่อไป (ถ้ามี) จำนวน 20 เล่ม

(3) ซีดีบันทึกรายงาน ที่บันทึกด้วยโปรแกรม Microsoft Word จำนวน 5 ชุด

(4) รายงานการเงิน จำนวน 1 ชุด โดยแนบพร้อมกับหนังสือนำส่ง

11. ระยะเวลาการจ่ายเงินทุนอุดหนุนการวิจัย การจ่ายเงิน แบ่งออกเป็นงวดๆ ดังนี้

- งวดที่ 1** เป็นจำนวนเงินในอัตราร้อยละ 15 (สิบห้าเปอร์เซ็นต์) ของเงินทุนวิจัย โดยหักเป็นเงินประกันผลงาน ร้อยละ 5 (ห้าเปอร์เซ็นต์) เมื่อนักวิจัยได้ลงนามในสัญญาให้ทุนวิจัยเรียบร้อยแล้ว
- งวดที่ 2** เป็นจำนวนเงินในอัตราร้อยละ 35 (สามสิบห้าเปอร์เซ็นต์) ของเงินทุนวิจัย โดยหักเป็นเงินประกันผลงาน ร้อยละ 5 (ห้าเปอร์เซ็นต์) เมื่อนักวิจัยได้จัดส่งรายงานการศึกษาเบื้องต้น (Inception Report) และคณะกรรมการกำกับและติดตามผลโครงการวิจัยได้ตรวจรับผลงานไว้ถูกต้องครบถ้วนตามสัญญาแล้ว
- งวดที่ 3** เป็นจำนวนเงินในอัตราร้อยละ 20 (ยี่สิบเปอร์เซ็นต์) ของเงินทุนวิจัย โดยหักเป็นเงินประกันผลงาน ร้อยละ 5 (ห้าเปอร์เซ็นต์) เมื่อนักวิจัยได้จัดส่งรายงานความก้าวหน้า (Progress Report) และคณะกรรมการกำกับและติดตามผลโครงการวิจัยได้ตรวจรับผลงานไว้ถูกต้องครบถ้วนตามสัญญาแล้ว
- งวดที่ 4** เป็นจำนวนเงินในอัตราร้อยละ 20 (ยี่สิบเปอร์เซ็นต์) ของเงินทุนวิจัย โดยหักเป็นเงินประกันผลงาน ร้อยละ 5 (ห้าเปอร์เซ็นต์) เมื่อนักวิจัยได้จัดส่งร่างรายงานฉบับสมบูรณ์ (Draft Final Report) และคณะกรรมการกำกับและติดตามผลโครงการวิจัยได้ตรวจรับผลงานไว้ถูกต้องครบถ้วนตามสัญญา
- งวดสุดท้าย** เป็นจำนวนเงินในอัตราร้อยละ 10 (สิบเปอร์เซ็นต์) ของเงินทุนวิจัย โดยหักเป็นเงินประกันผลงาน ร้อยละ 5 (ห้าเปอร์เซ็นต์) เมื่อนักวิจัยได้จัดส่งรายงานฉบับสมบูรณ์ (Final Report) และคณะกรรมการกำกับและติดตามผลโครงการวิจัยได้ตรวจรับผลงานไว้ถูกต้องครบถ้วนตามสัญญา

การจ่ายเงินประกันผลงาน สถาบันจะคืนเงินประกันผลงานภายใน 45 วันนับแต่การจ่ายเงินงวดสุดท้าย

12. หน่วยงานรับผิดชอบ

สำนักวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)

13. ผู้ศึกษาจะต้องมีคุณสมบัติขั้นต้น ดังนี้

- 13.1 หัวหน้าโครงการต้องสำเร็จการศึกษาไม่ต่ำกว่าปริญญาเอก และมีผลงานการวิจัยและการดำเนินโครงการทางด้านเกษตรศาสตร์ สาขาโรคพืช และมีประสบการณ์ทางการศึกษาวิจัยสารทดแทนสารเคมีสำหรับการเพาะปลูกพืชบนพื้นที่สูง ไม่ต่ำกว่า 5 ปี
- 13.2 คณะทำงานจะต้องเคยปฏิบัติงานทางด้านเกษตรศาสตร์หรือวิทยาศาสตร์ สำเร็จการศึกษาไม่ต่ำกว่าปริญญาตรี ทางด้านวิทยาศาสตร์เคมี หรือด้านเกษตรศาสตร์ สาขาโรคพืช หรือสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง
- 13.3 เป็นผู้ปฏิบัติงานในสถาบันการศึกษาภาครัฐ หรือเป็นธุรกิจเอกชนที่เป็นนิติบุคคล

14. การส่งข้อเสนอโครงการวิจัย

ให้ยื่นข้อเสนอโครงการวิจัยตามแบบฟอร์มที่สถาบันกำหนด จำนวน 5 ชุด ส่งถึงผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ที่อยู่ สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) 65 หมู่ 1 ต.สุเทพ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200 โทรศัพท์ 053-328224 โทรสาร 053-328494
