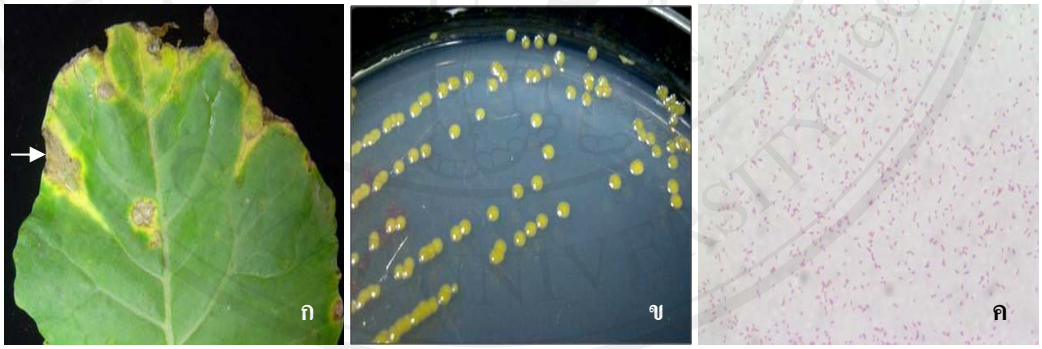
บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราสาเหตุโรคของพืชตระกูลกะหล่ำ

เชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคเน่าดำ

จากการเก็บตัวอย่างโรคเน่าดำ (black rot) ของบร็อคโคลี จากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหนองหอย พบบริเวณใบแสดงอาการแผลเป็นรูปตัววี (v-shape) สีเหลืองลุกลามจากขอบใบ ต่อมาบริเวณที่ถูกเข้าทำลายจะกลายเป็นสีน้ำตาลและแห้ง หลังจากแยกเชื้อสาเหตุของโรคได้เชื้อแบคทีเรียลักษณะ colony กลม นูน ขอบเรียบ เยิ้มเป็นมัน มีสีเหลืองขุ่น หลังจากย้อมแกรมพบว่าเชื้อแบคทีเรียติดสีแดง เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เมื่อตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งตรง (ภาพ 4)



ภาพ 4 อาการของโรคเน่าดำและลักษณะของเชื้อสาเหตุ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

ก. อาการแผลเป็นรูปตัววี (v- shape) ลุกลามจากขอบใบ (ศรชี้)

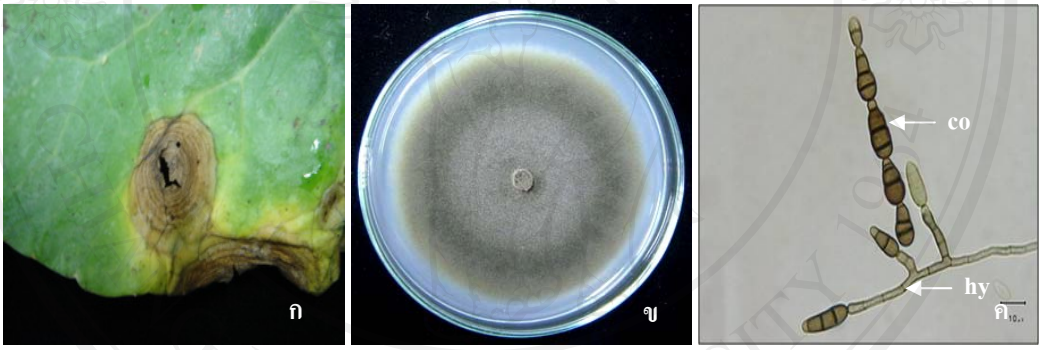
ข. โคโลนีกลมนูน ผิวเป็นมัน หลังเลี้ยงบนอาหาร NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ค. เซลล์ย้อมแกรมติดสีแดง ใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อ *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดออลเทอนาเรีย

จากการเก็บตัวอย่างโรคใบจุดออลเทอนาเรียของคะน้า จากแปลงปลูกพืชในสถานีวิจัยการเกษตร เขตชลประทาน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบบริเวณใบแก่แสดงอาการใบจุดสีน้ำตาลเข้ม เชื้อสร้างสปอร์สีดำเป็นวงซ้อนๆ กันบริเวณแผล มีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบแผล หลังจากแยกเชื้อด้วยวิธี single spore isolation พบโคโลนี (colony) ของเชื้อบนอาหาร PDA เป็นสีดำอมเขียวมะกอก ขอบโคโลนีมีสีขาว เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบเส้นใยของเชื้อ *A. brassicicola* เป็นสีน้ำตาลอ่อน มีผนังกั้น สร้างก้านชูโคนิเดีย (conidiophores) เป็นสีน้ำตาลมีผนังกั้น รูปร่างทรงกระบอกที่ปลายมีลักษณะพองออกเล็กน้อย ส่วนโคนิเดียเป็นสีน้ำตาลเข้ม รูปร่างทรงกระบองหัวกลับมีหลายเซลล์ พบเฉพาะผนังกั้นตามขวาง และเซลล์บริเวณปลายมีจงอยขนาดสั้น โคนิเดียของเชื้อสาเหตุสร้างต่อกันเป็นลูกโซ่ (ภาพ 5)



ภาพ 5 อาการของโรคใบจุดออลเทอนาเรียและลักษณะของเชื้อสาเหตุ *Alternaria brassicicola*

ก. อาการแผลเป็นวงเรียงซ้อนกัน รอบแผลมีสีเหลือง

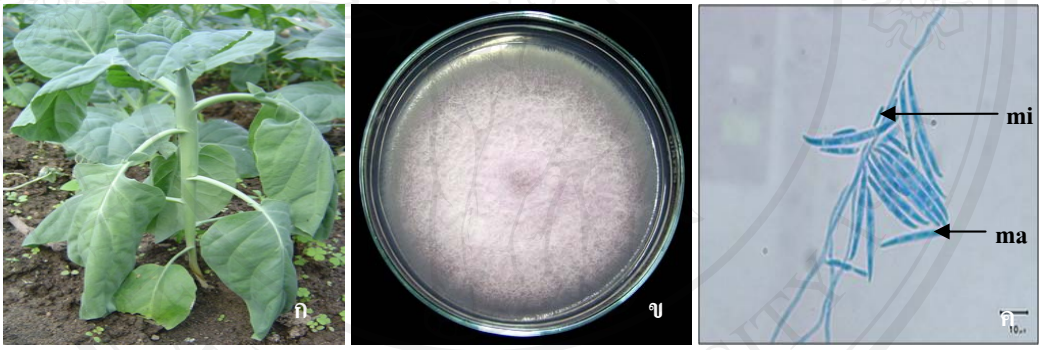
ข. โคโลนีสีดำอมเขียวมะกอก หลังเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน

ค. เส้นใย (hy) และการเรียงต่อกันของสปอร์ (co) ใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อ *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม

จากการเก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม (Fusarium wilt) ของต้นคะน้า จากแปลงปลูกพืชในสถานีวิจัยการเกษตร เขตชลประทาน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบพืชแสดงอาการเหี่ยวโดยใบลู่ลงด้านล่าง ท่อลำเลียงบริเวณก้านที่เหี่ยวเปลี่ยนเป็นสีดำ เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อ หลังจากแยกเชื้อสาเหตุ พบเส้นใยของเชื้อ *F. oxysporum* มีลักษณะหยาบ เชื้อสร้างเม็ดสี (pigment) เป็นสีม่วงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่อย้อมสีเส้นใยด้วย lactophenol cotton blue และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเชื้อสร้างสปอร์ทั้ง 2 แบบคือ macroconidia มีลักษณะเกือบตรง ผนังบางมีผนังกั้นระหว่างเซลล์ 3 เซลล์ บริเวณปลายทั้งสองด้านค่อนข้างเรียวแหลม เซลล์แรกจะมีขนาดสั้นและบริเวณปลายมีลักษณะงอคล้ายตะขอเล็กน้อย และ microconidia มีลักษณะรูปร่างรีคล้ายไข่ ขนาดเล็กและไม่มีผนังกั้นระหว่างเซลล์ (ภาพ 6)



ภาพ 6 อาการของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมและลักษณะของเชื้อสาเหตุ *Fusarium oxysporum*

ก. อาการใบล่างเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและเหี่ยว

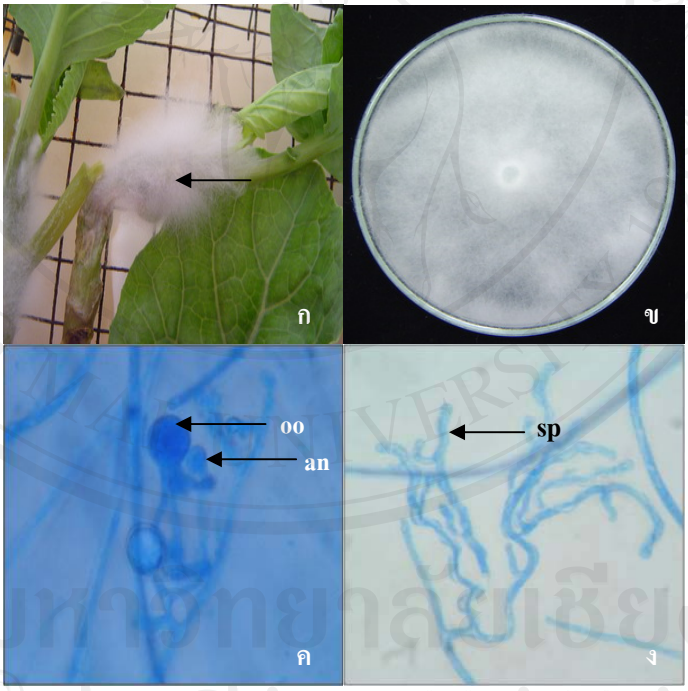
ข. โคโลนีสีม่วง หลังเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน

ค. เส้นใยและสปอร์แบบ macroconidia (ma) และ microconidia (mi) ใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อ *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดิน

จากการเก็บตัวอย่างโรคเน่าคอดิน (damping off) ของต้นคะน้า จากแปลงปลูกพืชในสถานีวิจัยการเกษตร เขตชลประทาน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบบริเวณโคนต้นมีอาการฉ่ำน้ำ เนื้อเยื่อบริเวณแผลมีสีซีด เละ เมื่อแยกเชื้อจากพืชที่เป็นโรค ด้วยการนำพืชมาวางใน moist chamber หลังจากพบเส้นใยเจริญจากชิ้นพืชจึงย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเส้นใยของเชื้อมีสีขาว ฟู เชื้อเจริญเติบโตเร็ว เมื่อย้อมสีเส้นใยด้วย lactophenol cotton blue และตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศพบสปอร์แรงเจียม (sporangium) มีลักษณะโป่งพอง ไม่สม่ำเสมอและมีขนาดใหญ่กว่าเส้นใยปกติ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศพบ oogonium ซึ่งกำเนิดจากการโป่งของเส้นใย และ antheridium มีลักษณะเป็นรูปกระบอง โป่ง เกิดบริเวณปลายเส้นใย (ภาพ 7)



ภาพ 7 อาการของโรคเน่าคอดินและลักษณะของเชื้อสาเหตุ *Pythium aphanidermatum*

ก. อาการแผลฉ่ำน้ำ สีซีด มีเส้นใยของเชื้อสาเหตุปกคลุม (ศรชี้)

ข. เส้นใยของเชื้อสาเหตุ สีขาว ฟู หลังเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 วัน

ค. เซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ oogonium (oo) antheridium (an) ใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ง. เซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ sporangium (sp)ใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity)

เชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคเน่าดำ

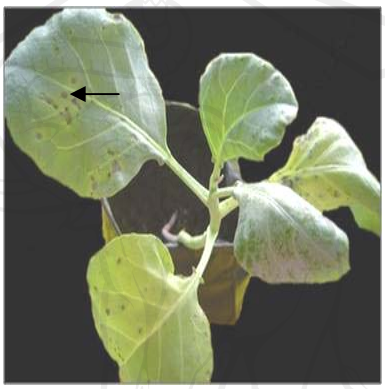
หลังจากเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* บนอาหาร NA เป็นเวลา 2 วัน เตรียมสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรีย (bacterial suspension) ปลูกเชื้อด้วยวิธีฉีดพ่นบนใบคะน้า คลุมถุงพลาสติก เพื่อบ่มเชื้อประมาณ 2 สัปดาห์ พบแผลสีเหลืองรูปตัววี (v-shape) จากขอบใบ เนื้อเยื่อที่ถูกเข้าทำลายเป็นสีเหลืองต่อมากลายเป็นสีน้ำตาลและแห้ง อาการเหลืองลุกลามจนถึงเส้นกลางใบ ซึ่งในเวลาต่อมาจึงเปลี่ยนเป็นสีดำ ใบที่ถูกเข้าทำลายจะร่วงก่อนแก่ (ภาพ 8)

ภาพ 8 อาการของโรคเน่าดำลักษณะแผลรูปตัววี (ศรชี้) บนใบคะน้า เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 14 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อ *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดออลเทอนาเรีย

หลังจากเลี้ยงเชื้อ *A. brassicicola* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน เตรียมสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ของเชื้อที่ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อด้วยวิธีพ่นลงบนใบคะน้าอายุ 1 เดือน คลุมถุงพลาสติก เพื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 2 วัน ตรวจพบอาการใบจุดสีดำขนาดเล็กในช่วงแรก ต่อมาแผลขยายตัวกลายเป็นสีน้ำตาล เชื้อสร้างกลุ่มสปอร์บริเวณแผล ทำให้เห็นเป็นจุดดำเรียงซ้อนกันออกมาคล้ายเป้ากระสุนรอบๆ แผลพบเนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยอาการของโรคบริเวณใบแก่มักมีอาการรุนแรงกว่าใบอ่อน (ภาพ 9)



ภาพ 9 อาการของโรคใบจุดออลเทอนาเรีย (ศรชี้) บนใบคะน้า เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Alternaria brassicicola* หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 5 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อ *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม

หลังจากเลี้ยงเชื้อ *F. oxysporum* บนเมล็ดข้าวฟ่างเป็นเวลา 7 วัน จึงนำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อคลุกผสมกับดินฆ่าเชื้อ แล้วจึงย้ายต้นคะน้าลงปลูก คลุมถุงพลาสติก เพื่อบ่มเชื้อไว้จนกระทั่งพืชแสดงอาการของโรคคือลำต้นและใบคะน้าแสดงอาการเหี่ยว ใบล่างเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและลู่ลงด้านล่าง ต่อมาใบร่วง อาการลุกลามจนกระทั่งต้นคะน้าตายในที่สุด (ภาพ 10)

ภาพ 10 อาการของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมบนต้นคะน้า เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Fusarium oxysporum* หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 14 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อ *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดิน

หลังจากเลี้ยงเชื้อ *P. aphanidermatum* บนเมล็ดข้าวฟ่าง เป็นเวลา 5 วัน นำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อคลุกผสมกับดินฆ่าเชื้อ แล้วย้ายต้นคะน้าลงปลูก คลุมถุงพลาสติก เพื่อบ่มเชื้อจนกระทั่งพืชแสดงอาการของโรคคือ บริเวณโคนต้นมีแผลฉ่ำน้ำ เนื้อเยื่อบริเวณที่ถูกทำลายเปลี่ยนเป็นสีซีด และอ่อนนุ่ม ต่อมาพบว่าต้นคะน้าหักพับลง มีเส้นใยสีขาวของเชื้อ *P. aphanidermatum* เจริญคลุมต้นพืช เชื้อเข้าทำลายพืชต่อ จนกระทั่งตายในที่สุด (ภาพ 11)

ภาพ 11 อาการของโรคเน่าคอดิน (ศรชี้) บนต้นคะน้า เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Pythium aphanidermatum* หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การทดสอบผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชตระกูลกะหล่ำในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบศักยภาพของสารสกัดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้น 3 เปอร์เซ็นต์ และเจือจางลงทุกๆ 2 เท่า เพื่อหาช่วงความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *X. campestris* pv. *campestris, A. brassicicola, F. oxysporum* และ *P. aphanidermatum* ด้วยวิธี soaking method พบว่าสารสกัดกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 4 ชนิดได้ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.047 ถึง 0.23 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดขมิ้น 0.023 ถึง 1.32 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดใบชาแห้งบด 0.38 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดพริก 0.38 ถึง 0.75 เปอร์เซ็นต์ โดยสารสกัดแต่ละชนิดมีค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เท่ากับหรือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันดังนี้

3.1 เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคเน่าดำ

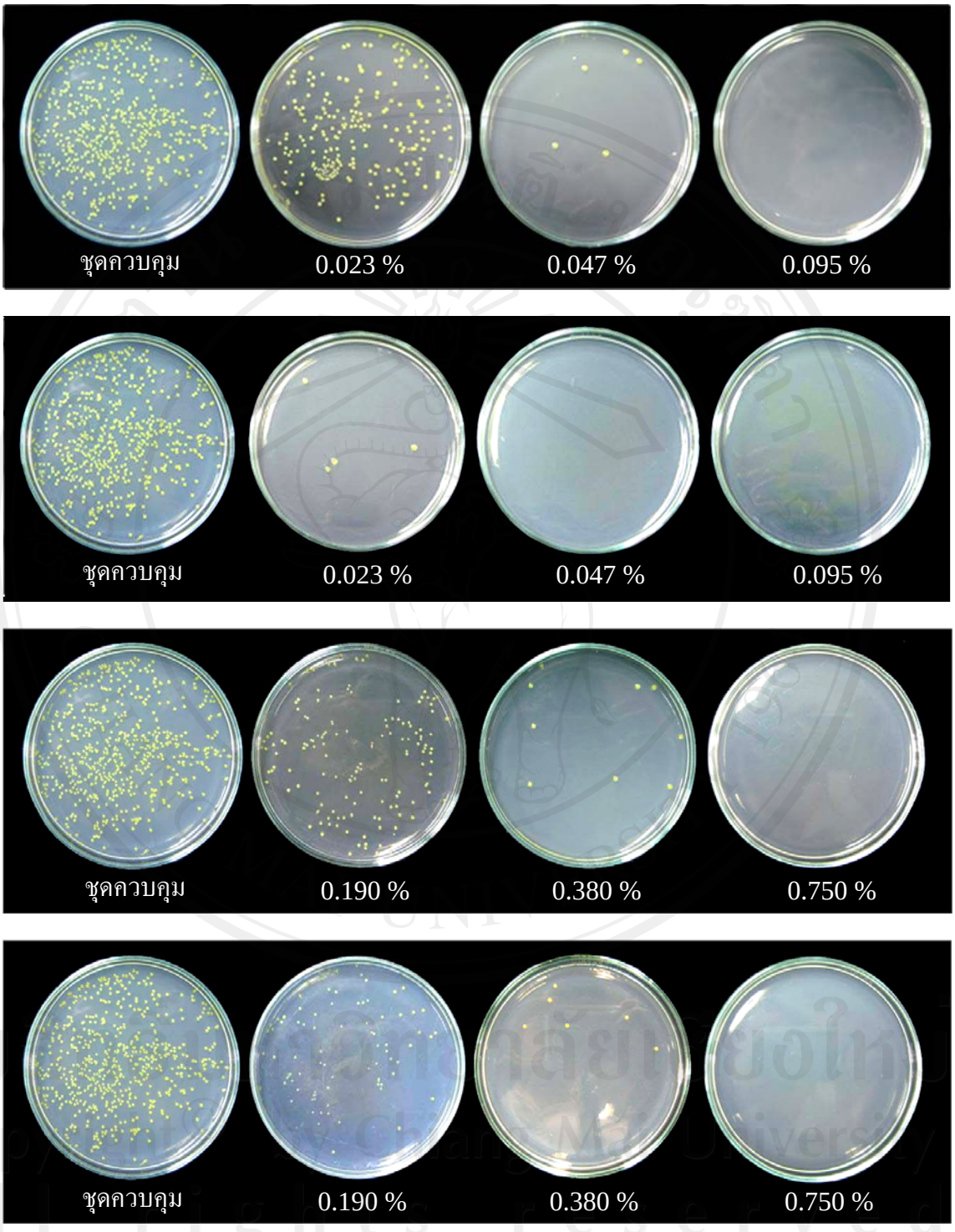
หลังจากนำเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* เข้มข้น 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แช่ในสารสกัดจากพืชสมุนไพรแต่ละความเข้มข้นเป็นเวลา 10 นาที แล้วเลี้ยงเชื้อบนอาหาร NA พบการเจริญของเชื้อ เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดกานพลูและสารสกัดขมิ้นที่ความเข้มข้น 0.023 0.047 และ 0.095 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดใบชาแห้งบดและสารสกัดพริกพบการเจริญของเชื้อที่ 0.190 0.380 และ 0.750 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นค่า MIC ของสารสกัดขมิ้นคือ 0.023 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 99.30 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารสกัดกานพลูมีค่า MIC 0.047 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 98.90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดใบชาแห้งบดและสารสกัดพริกมีค่า MIC 0.380 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 98.40 และ 98.70 ตามลำดับ (ตาราง 1, ภาพ 12)

ตาราง 1 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ที่ช่วงความเข้มข้นต่างๆ และค่า MIC ของสารสกัดแต่ละชนิด ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

สารสกัด	ช่วงความเข้มข้นของสารสกัด (%)	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ	ค่า MIC (%)
กานพลู	0.023 - 0.047 - 0.095	46.54 - 98.90 - 100	0.047
ขมิ้น	0.000 - 0.023 - 0.047	00.00 - 99.30 - 100	0.023
ใบชาแห้งบด	0.190 - 0.380 - 0.750	47.40 - 98.40 - 100	0.380
พริก	0.190 - 0.380 - 0.750	56.60 - 98.70 - 100	0.380

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 12 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* หลังจากแช่ในสารสกัดแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ บนอาหาร NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ก. สารสกัดกานพลู ข. สารสกัดขมิ้น

ค. สารสกัดใบชาแห้งบด ง. สารสกัดพริก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 เชื้อราสาเหตุโรคพืช

หลังจากแช่ชิ้นเชื้อ (culture disc) ของเชื้อสาเหตุ ได้แก่ *A. brassicicola, F. oxysporum* และ *P. aphanidermatum* ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ในสารสกัดจากพืชสมุนไพร เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นย้ายมาวางกลางจานอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนสารสกัด คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ จากนั้นคัดเลือกสารสกัดที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อมาหาค่า MIC

1. เชื้อราสาเหตุโรคใบจุดออลเทอนาเรีย *Alternaria brassicicola*

ขั้นตอนที่ 1 การคัดเลือกสารสกัดจากพืชสมุนไพรและการหาค่า MIC

หลังจากเลี้ยงเชื้อนาน 7 วัน นำ culture disc ของเชื้อแช่ในสารสกัดแต่ละชนิด 10 นาที เลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อที่ระยะเวลา 3 5 7 10 และ 15 วัน จากนั้นคัดเลือกช่วงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้และนำมาหาค่า MIC ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เท่ากับหรือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 2)

ตาราง 2 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Alternaria brassicicola* ที่ช่วงความเข้มข้นต่างๆ และค่า MIC ของสารสกัดแต่ละชนิด ที่ระยะเวลา 3 วัน

สารสกัด	ช่วงความเข้มข้นของสารสกัด (%)	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ	ค่า MIC (%)
กานพลู	0.095 - 0.190 - 0.380	29.14 - 100 - 100	0.190
ขมิ้น	0.190 - 0.380 - 0.750	12.58 - 22.52 - 100	0.750
ใบชาแห้งบด	0.750 - 1.500 - 3.000	1.92 - 2.56 - 2.56	-
พริก	0.750 - 1.500 - 3.000	8.97 - 12.82 - 22.43	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารสกัดกานพลู ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.19 ถึง 3 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. brassicicola* ได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นพบการเจริญของเชื้อ เมื่อลดความเข้มข้นลงที่ 0.095 เปอร์เซ็นต์ ขนาดโคโลนีแตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนสารสกัดในช่วง 5 วันแรก โดยลักษณะการเจริญไม่มีความผิดปกติ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญมากที่สุดคือ 29.14 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลา 3 วัน ดังนั้นช่วงความเข้มข้นของสารสกัดกานพลูที่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้คือ 0.095 ถึง 0.19 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาหาค่า MIC

การหาค่า MIC ของสารสกัดกานพลูที่ความเข้มข้น 0.10 0.13 และ 0.16 เปอร์เซ็นต์ พบการเจริญของเชื้อ *A. brassicicola* ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนสารสกัด เนื่องจากสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญได้ในช่วงแรกเท่านั้น ซึ่งเชื้อมีขนาดโคโลนีแตกต่างจากชุดควบคุมไม่ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่า MIC ของสารสกัดกานพลู คือ 0.19 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดขมิ้น ที่ความเข้มข้น 0.75 ถึง 3 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดี มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นพบการเจริญของเชื้อ *A. brassicicola* เมื่อลดความเข้มข้นลงที่ 0.38 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะการเจริญของเชื้อมีความผิดปกติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ โคโลนีมีลักษณะขรุขระ ไม่เรียบ และเชื้อเจริญแทงเข้าไปในอาหาร ส่วนที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.38 เปอร์เซ็นต์ การเจริญของเชื้อไม่ผิดปกติจากชุดควบคุม โดยสารสกัดขมิ้นสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้ดีในช่วง 5 วันแรก เหมือนสารสกัดกานพลู หลังจากนั้นเชื้อมีการเจริญไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ดังนั้นช่วงความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นที่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้คือ 0.38 ถึง 0.75 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาหาค่า MIC

การหาค่า MIC ของสารสกัดขมิ้นที่ความเข้มข้น 0.45 0.55 และ 0.66 เปอร์เซ็นต์ พบการเจริญของเชื้อ *A. brassicicola* ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนสารสกัด เนื่องจากสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ในช่วงแรก การเจริญมีความแตกต่างจากชุดควบคุมไม่ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่า MIC ของสารสกัดขมิ้นคือ 0.75 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดใบชาแห้งบด ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. brassicicola* แม้ใช้ความเข้มข้นสูงสุด 3 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำคั้นจากใบชาแห้งบดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดได้เพียงเล็กน้อย ในช่วง 3 วันแรก หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุม โดยลักษณะการเจริญของเชื้อไม่ผิดปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้นสำหรับใบชาแห้งบด จึงไม่ทดสอบหาค่า MIC

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

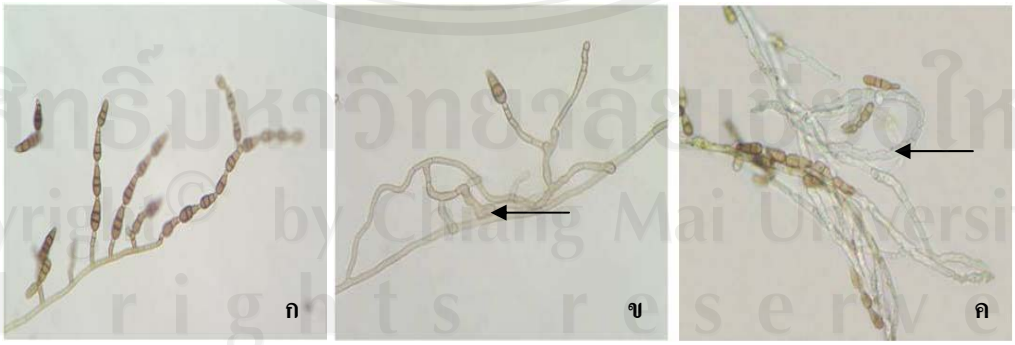
สารสกัดพริก ที่ความเข้มข้น 0.75 1.5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ พบการเจริญของเชื้อ *A. brassicicola* โดยสารสกัดพริกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้แตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นเพียงเล็กน้อย 8.97 ถึง 22.43 เปอร์เซ็นต์ ในช่วง 3 วันแรก โดยเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น ดังนั้นสำหรับสารสกัดพริก จึงไม่ทดสอบหาค่า MIC

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบเลี้ยงเชื้อสาเหตุบนอาหารผสมสารสกัดจากพืชสมุนไพร (Poisonous Agar)

เตรียมสารสกัดกานพลูและสารสกัดขมิ้นผสมกับอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อในชุด slide culture โดยใช้ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่า MIC เพื่อตรวจสอบลักษณะการเจริญของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ระยะเวลา 3 วัน (ภาพ 13)

สารสกัดกานพลู ผสมอาหาร PDA ให้ได้ความเข้มข้น 0.095 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจดูเชื้อ *A. brassicicola* ใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะการเจริญของเชื้อมีความผิดปกติ โดยเชื้อมีการสร้างสปอร์ที่น้อยลงแตกต่างจากชุดควบคุม เส้นใยของเชื้อมีลักษณะบวมพอง บิดเบี้ยว มีผนังกั้นระหว่างเส้นใยถี่มากขึ้น เส้นใยยังคงเป็นสีน้ำตาล

สารสกัดขมิ้น ผสมอาหาร PDA ให้ได้ความเข้มข้น 0.38 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจดูเชื้อได้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะการเจริญของเชื้อมีความผิดปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยเส้นใยของเชื้อใสออกสีส้มอ่อนๆ ซึ่งเป็นสีของสารสกัดขมิ้น นอกจากนี้ยังมีลักษณะบวมพองเป็นปล้องๆ บิดเบี้ยว พบจุดน้ำมันของสารสกัดเกาะอยู่ตามเส้นใยและสปอร์ของเชื้อ เชื้อสร้างสปอร์น้อยลง แต่ลักษณะของสปอร์ไม่ผิดปกติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม



ภาพ 13 เปรียบเทียบลักษณะเส้นใยปกติของเชื้อ *Alternaria brassicicola* (ก) กับบวมพองผิดปกติ (ศรชี้) เมื่อเลี้ยงบนอาหารผสมสารสกัดกานพลู 0.095 เปอร์เซ็นต์ (ข) และสารสกัดขมิ้น 0.38 เปอร์เซ็นต์ (ค) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขั้นตอนที่ 3 การทดสอบผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อความงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุ

หลังจากแช่สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* ในสารสกัดกานพลูและขมิ้นความเข้มข้นที่ค่า MIC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สุ่มนับความงอกของสปอร์กรรมวิธีละ 100 สปอร์ จำนวน 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าสารสกัดกานพลูสามารถยับยั้งความงอกของสปอร์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารสกัดขมิ้น พบความงอกของสปอร์เพียง 8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่พบความงอกของสปอร์ถึง 98 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 14)

ภาพ 14 เปรียบเทียบความงอกของสปอร์เชื้อ *Alternaria brassicicola* ชุดควบคุม (ก) กับเมื่อแช่ในสารสกัดกานพลู 0.19 เปอร์เซ็นต์ (ข) สารสกัดขมิ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ (ค) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม *Fusarium oxysporum*

ขั้นตอนที่ 1 การคัดเลือกสารสกัดจากพืชสมุนไพรและการหาค่า MIC

หลังจากเลี้ยงเชื้อนาน 5 วัน นำ culture disc ของเชื้อแช่ในสารสกัดแต่ละชนิด 10 นาที เลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA ตรวจวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อที่ระยะเวลา 3 5 และ 7 วัน จากนั้นคัดเลือกช่วงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถควบคุมการเจริญได้และนำมาหาค่า MIC ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เท่ากับหรือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 3)

ตาราง 3 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporum* ที่ช่วงความเข้มข้นต่างๆ และค่า MIC ของสารสกัดแต่ละชนิด ที่ระยะเวลา 5 วัน

สารสกัด	ช่วงความเข้มข้นของสารสกัด (%)	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ	ค่า MIC (%)
กานพลู	0.190 - 0.380 - 0.750	17.59 - 100 - 100	0.230
ขมิ้น	0.750 - 1.500 - 3.000	12.20 - 100 - 100	1.320
ใบชาแห้งบด	0.750 - 1.500 - 3.000	0.00 - 1.08 - 2.29	-
พริก	0.750 - 1.500 - 3.000	5.62 - 6.26 - 6.50	-

สารสกัดกานพลู ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.38 ถึง 3 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีสุดคือ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นพบการเจริญของเชื้อ เมื่อลดความเข้มข้นลงที่ 0.19 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 17.59 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่พบลักษณะการเจริญที่ผิดปกติไปจากชุดควบคุม ดังนั้นช่วงความเข้มข้นของสารสกัดกานพลูที่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้คือ 0.19 ถึง 0.38 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาหาค่า MIC

การหาค่า MIC ของสารสกัดกานพลูที่ความเข้มข้น 0.23 0.28 และ 0.33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัด ไม่พบการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่า MIC ของสารสกัดกานพลูคือ 0.23 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารสกัดขมิ้น ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.5 ถึง 3 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นพบการเจริญของเชื้อ เมื่อลดความเข้มข้นลงที่ 0.75 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 12.20 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่พบลักษณะการเจริญที่ผิดปกติไปจากชุดควบคุม ดังนั้นช่วงความเข้มข้นของสารสกัดกานพลูที่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้คือ 0.75 ถึง 1.5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาหาค่า MIC

การหาค่า MIC ของสารสกัดขมิ้นที่ความเข้มข้น 0.96 1.14 และ 1.32 เปอร์เซ็นต์ พบการเจริญของเชื้อที่ความเข้มข้น 0.96 และ 1.14 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญที่ 4.0 และ 4.28 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะการเจริญของเชื้อไม่ผิดปกติไปจากชุดควบคุม ในขณะที่ความเข้มข้น 1.32 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการเจริญของเชื้อ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่า MIC ของสารสกัดขมิ้นคือ 1.32 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดใบชาแห้งบด ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* แม้ใช้เข้มข้นสูงสุดถึง 3 เปอร์เซ็นต์ พบลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นปกติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนสารสกัด สารสกัดไม่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้เลยที่ 0.75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ความเข้มข้น 1.5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเพียง 1.08 และ 2.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นสำหรับใบชาแห้งบดจึงไม่ทดสอบหาค่า MIC

สารสกัดพริก ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* แม้ใช้ความเข้มข้นสูงสุดถึง 3 เปอร์เซ็นต์ พบลักษณะการเจริญของเชื้อเป็นปกติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนสารสกัด โดยที่ความเข้มข้น 0.75 1.5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญที่ 5.62 6.26 และ 6.50 ตามลำดับ ดังนั้นสำหรับสารสกัดพริกจึงไม่ทดสอบหาค่า MIC

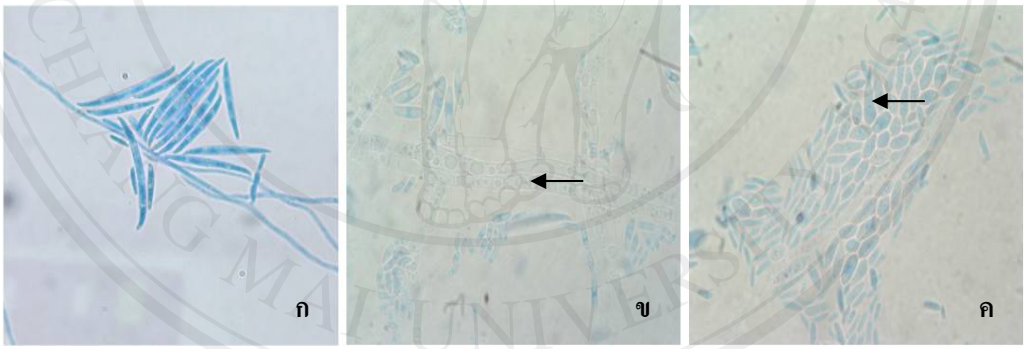
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบเลี้ยงเชื้อสาเหตุบนอาหารผสมสารสกัดจากพืชสมุนไพร (Poisonous Agar)

เตรียมสารสกัดกานพลูและสารสกัดขมิ้นผสมกับอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อในชุด slide culture โดยใช้ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่า MIC เพื่อตรวจสอบลักษณะการเจริญของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อ *F. oxysporum* ย้อมสีเส้นใยและสปอร์ของเชื้อด้วย lactophenol cotton blue ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ระยะเวลา 5 วัน (ภาพ 15)

สารสกัดกานพลู ผสมอาหาร PDA ให้ได้ความเข้มข้น 0.19 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจดูเชื้อ *F. oxysporum* ใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะการเจริญของเชื้อมีความผิดปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือ เส้นใยและสปอร์มีลักษณะบวมพอง ขยายใหญ่ รูปร่างของสปอร์เปลี่ยนเป็นค่อนข้างรี บริเวณปลายเซลล์ทั้งสองด้านไม่เรียว

สารสกัดขมิ้น ผสมอาหาร PDA ให้ได้ความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจดูเชื้อได้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะการเจริญของเชื้อมีความผิดปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดย macroconidia ของเชื้อมีลักษณะที่บวมพองและไม่พบว่ามีผนังกั้นระหว่างเซลล์

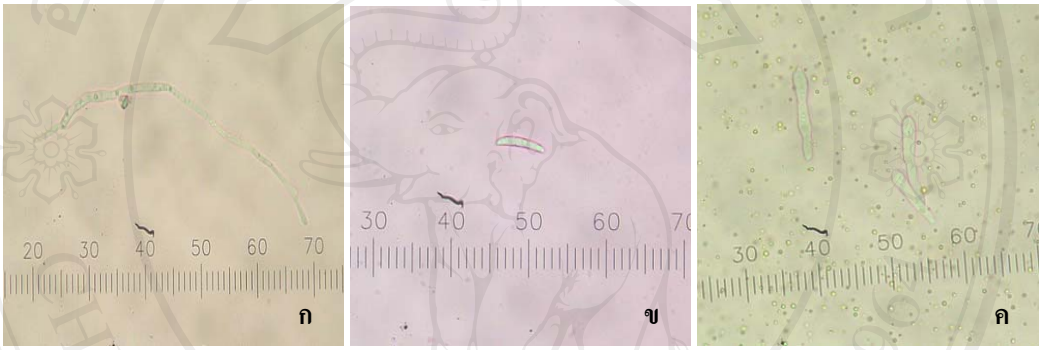


ภาพ 15 เปรียบเทียบลักษณะเส้นใยและสปอร์ที่ปกติของเชื้อ *Fusarium oxysporum* (ก) กับบวมพองผิดปกติ (ศรชี้) เมื่อเลี้ยงบนอาหารผสมสารสกัดกานพลู 0.19 เปอร์เซ็นต์ (ข) และสารสกัดขมิ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ (ค) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขั้นตอนที่ 3 การทดสอบผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อความงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุ

หลังจากแช่ spore suspension ของเชื้อ *F. oxysporum* ในสารสกัดกานพลูและขมิ้น ความเข้มข้นที่ค่า MIC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สุ่มนับความงอกของสปอร์กรรมวิธีละ 100 สปอร์ จำนวน 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าสารสกัดกานพลู 0.23 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยความงอกของสปอร์น้อยที่สุดคือ 6 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารสกัดขมิ้น 1.32 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยความงอกของสปอร์ 8 เปอร์เซ็นต์ จากภาพ 16 สปอร์ที่ทดสอบด้วยสารสกัดขมิ้นกำลังเริ่มงอก germ tube แสดงว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ในช่วงเวลาหนึ่งก่อนที่สปอร์จะงอก เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัด



ภาพ 16 เปรียบเทียบความงอกของสปอร์เชื้อ *Fusarium oxysporum* ชุดควบคุม (ก) กับเมื่อแช่ในสารสกัดกานพลู 0.23เปอร์เซ็นต์ (ข) สารสกัดขมิ้น 1.32 เปอร์เซ็นต์ (ค) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. เชื้อราสาเหตุโรคเน่าคอดิน *Pythium aphanidermatum*

ขั้นตอนที่ 1 การคัดเลือกสารสกัดจากพืชสมุนไพรและการหาค่า MIC

หลังจากเลี้ยงเชื้อนาน 3 วัน นำ culture disc ของเชื้อแช่ในสารสกัดแต่ละชนิด 10 นาที เลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA ตรวจวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญของเชื้อที่ระยะเวลา 1 2 และ 3 วัน จากนั้นคัดเลือกช่วงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถควบคุมการเจริญได้และนำมาหาค่า MIC ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เท่ากับหรือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 4, ภาพ 17)

ตาราง 4 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ที่ช่วงความเข้มข้นต่างๆ และค่า MIC ของสารสกัดแต่ละชนิด ที่ระยะเวลา 1 วัน

สารสกัด	ช่วงความเข้มข้นของสารสกัด (%)	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ	ค่า MIC (%)
กานพลู	0.023 - 0.047 - 0.095	10.90 - 20.22 - 100	0.095
ขมิ้น	0.023 - 0.047 - 0.095	40.33 - 100 - 100	0.047
ใบชาแห้งบด	0.750 - 1.500 - 3.000	0.90 - 3.37 - 10.67	-
พริก	0.190 - 0.380 - 0.750	12.69 - 34.83 - 100	0.750

สารสกัดกานพลู ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.095 ถึง 3 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้ดี มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นพบการเจริญของเชื้อเมื่อลดความเข้มข้นลงที่ 0.023 และ 0.047 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 10.90 และ 20.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยสารสกัดกานพลูที่ความเข้มข้น 0.047 เปอร์เซ็นต์ เริ่มสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ทำให้เชื้อมีการเจริญที่ช้ากว่าชุดควบคุม ดังนั้นช่วงความเข้มข้นของสารสกัดกานพลูที่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้คือ 0.047 ถึง 0.095 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปหาค่า MIC

การหาค่า MIC ของสารสกัดกานพลูที่ความเข้มข้น 0.06 0.07 และ 0.08 เปอร์เซ็นต์ พบการเจริญของเชื้อ *P. aphanidermatum* ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนสารสกัด เนื่องจากสารสกัดสามารถควบคุมการเจริญได้ในช่วงแรก แต่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญไม่ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่า MIC ของสารสกัดกานพลูคือ 0.095 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารสกัดขมิ้น ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.047 ถึง 3 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นพบการเจริญของเชื้อ เมื่อลดความเข้มข้นลงที่ 0.023 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 40.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารสกัดขมิ้นเริ่มสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ทำเชื้อมีการเจริญที่ช้ากว่าชุดควบคุม ดังนั้นช่วงความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นที่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้คือ 0.023 ถึง 0.047 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาหาค่า MIC

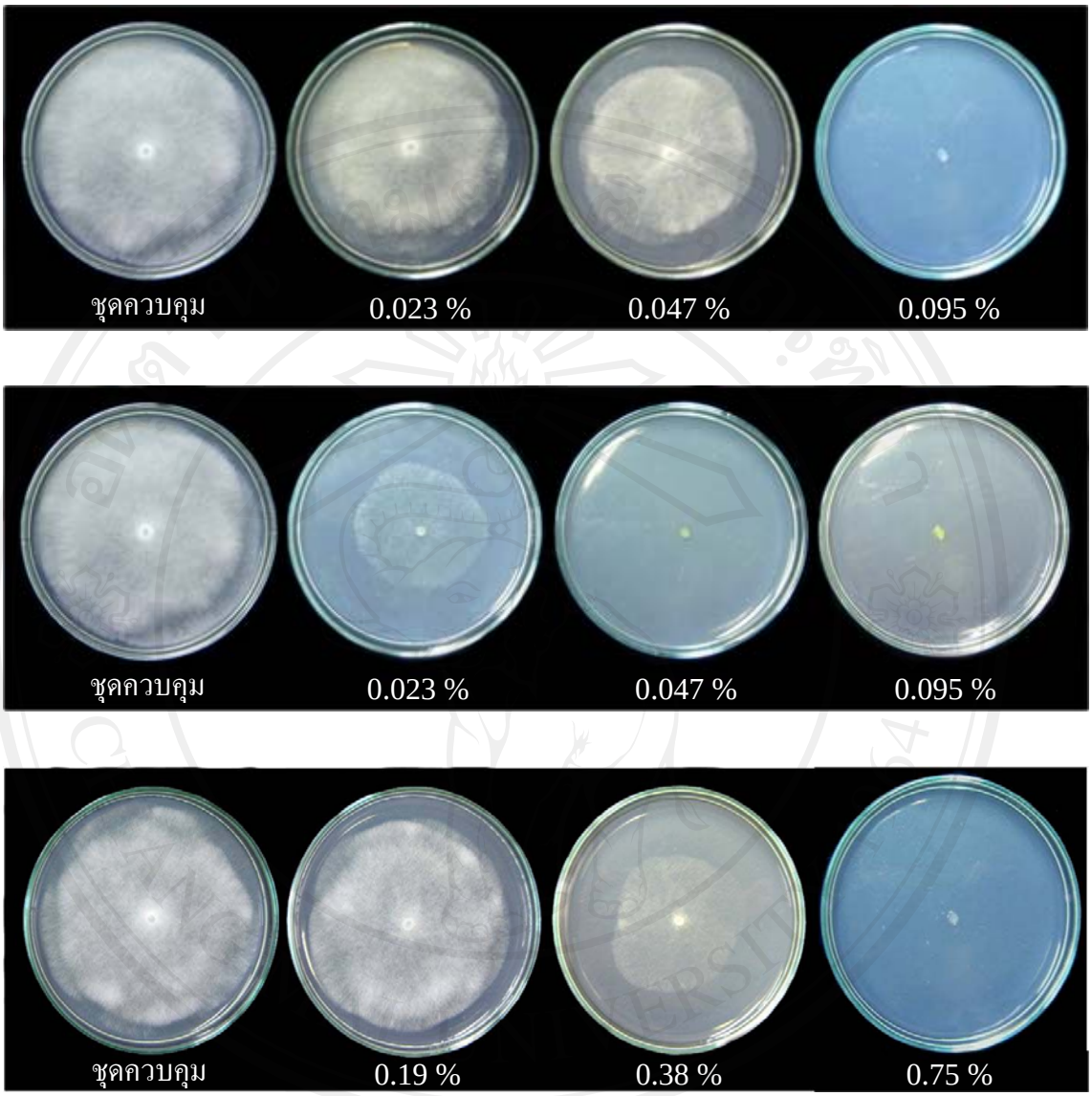
การหาค่า MIC ของสารสกัดขมิ้นที่ความเข้มข้น 0.02 0.03 และ 0.04 เปอร์เซ็นต์ พบการเจริญของเชื้อ *P. aphanidermatum* ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนสารสกัด เนื่องจากสารสกัดสามารถควบคุมการเจริญได้ในช่วงแรก แต่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญไม่ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่า MIC ของสารสกัดขมิ้นคือ 0.047 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดใบชาแห้งบด ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aphanidermatum* แม้ใช้ที่ความเข้มข้นสูงสุด 3 เปอร์เซ็นต์ ขนาดโคโลนีของเชื้อไม่มีความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเท่ากับ 10.67 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสำหรับใบชาแห้งบด จึงไม่ทดสอบหาค่า MIC

สารสกัดพริก ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.75 ถึง 3 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 100 เปอร์เซ็นต์ และพบการเจริญของเชื้อเมื่อลดความเข้มข้นลงที่ 0.19 และ 0.38 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 12.69 และ 34.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยสารสกัดพริกที่ความเข้มข้น 0.38 เปอร์เซ็นต์ เริ่มสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ทำเชื้อมีการเจริญที่ช้ากว่าชุดควบคุม ดังนั้นช่วงความเข้มข้นของสารสกัดพริกที่สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้คือ 0.38 ถึง 0.75 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาหาค่า MIC

การหาค่า MIC ของสารสกัดพริกที่ความเข้มข้น 0.45 0.55 และ 0.66 เปอร์เซ็นต์ พบการเจริญของเชื้อ *P. aphanidermatum* ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนสารสกัด เนื่องจากสารสกัดสามารถควบคุมการเจริญได้ในช่วงแรก แต่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญไม่ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นค่า MIC ของสารสกัดพริกคือ 0.75 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 17 การเจริญของเชื้อ *Pythium aphanidermatum* หลังจากแช่ในสารสกัดกานพลู (ก) สารสกัดขมิ้น (ข) และสารสกัดพริก (ค) ที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหาร PDA เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 1 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการทดลองผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชตระกูลกะหล่ำในสภาพห้องปฏิบัติการ ได้สารสกัดที่มีศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris*, *A. brassicicola*, *F. oxysporum* และ *P. aphanidermatum* และค่า MIC ของสารสกัดแต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เท่ากับหรือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ดังตาราง 5

ตาราง **5** สรุปค่า MIC ของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชตระกูลกะหล่ำได้เท่ากับหรือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

เชื้อสาเหตุ	**สารสกัด**	**MIC (%)**	**เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ**
Xanthomonas campestris	กานพลู	0.047	98.90
	ขมิ้น	0.023	99.30
	ใบชาแห้งบด	0.380	98.40
	พริก	0.380	98.70
Alternaria brassicicola	กานพลู	0.190	100
	ขมิ้น	0.750	100
Fusarium oxysporum	กานพลู	0.230	100
	ขมิ้น	1.320	100
Pythium aphanidermatum	กานพลู	0.095	100
	ขมิ้น	0.047	100
	พริก	0.750	100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การทดสอบความเป็นพิษ (phytotoxic) ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบนต้นกล้าพืชตระกูลกะหล่ำ

เมื่อได้ค่าความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เท่ากับหรือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ให้นำค่า MIC ที่ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดแต่ละชนิดมาทดสอบความเป็นพิษต่อพืช โดยการทดลองแบ่งเป็นกรรมวิธีพ่นและราดสารสกัดติดต่อกันทุกๆ 3 วัน จำนวน 4 ครั้ง คือ พ่นสารสกัดกานพลู 0.19 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดขมิ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดใบชาแห้งบดและสารสกัดพริก 0.38 เปอร์เซ็นต์ บนใบต้นคะน้า และราดสารสกัดกานพลู 0.23 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดขมิ้น 1.32 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดพริก 0.75 เปอร์เซ็นต์ บริเวณโคนต้นคะน้า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัด ไม่พบว่าสารสกัดชนิดใดก่อให้เกิดอาการ phytotoxic กับต้นคะน้า รวมทั้งไม่ส่งผลต่อการเจริญของพืช โดยสารสกัดขมิ้นเมื่อพ่นแล้วจะทำให้เกิดคราบสีเหลืองติดบริเวณใบ แต่คราบจะค่อยๆ จางลงเมื่อรดน้ำ (ภาพ 18)

ภาพ 18 เปรียบเทียบลักษณะใบคะน้าชุดควบคุมที่พ่นด้วยน้ำกลั่น (ก) กับใบที่พ่นด้วยสารสกัดกานพลู 0.19 เปอร์เซ็นต์ (ข) สารสกัดขมิ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ (ค)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. การทดสอบผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรความเข้มข้นสูงสุดที่มีต่อความงอกของเมล็ด

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อพืชของสารสกัดกานพลู ขมิ้น ใบชาแห้งบดและพริก ความเข้มข้นสูงสุดที่ค่า MIC แล้ว พบว่าสารสกัดทุกชนิดไม่ส่งผลทำให้พืชแสดงอาการเป็นพิษ ทั้งกรรมวิธีการพ่นบนใบคะน้าและการราดลงดินบริเวณโคนต้นคะน้า จึงทดสอบผลสารสกัดต่อความงอกของเมล็ดคะน้า โดยใช้ความเข้มข้นสูงสุดที่ค่า MIC ที่สารสกัดแต่ละชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เท่ากับหรือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดกานพลูความเข้มข้นสูงสุดที่ 0.23 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดขมิ้น 1.32 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดใบชาแห้งบด 0.38 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดพริก 0.75 เปอร์เซ็นต์ ด้วยการแช่เมล็ดคะน้าในสารสกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพาะด้วยวิธี blotter method พบว่าชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดเมล็ดมีความงอก 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งกรรมวิธีที่ทดสอบด้วยสารสกัดส่งผลให้เมล็ดคะน้ามีความงอกลดลง สารสกัดขมิ้นและสารสกัดใบชาแห้งบดพบความงอกของเมล็ด 88 เปอร์เซ็นต์ รองจากชุดควบคุม สารสกัดพริกเมล็ดมีความงอก 82 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารสกัดกานพลูส่งผลต่อความงอกของเมล็ดคะน้ามากที่สุด พบความงอกเพียง 74 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังส่งผลให้ความหนาแน่นและความยาวของรากฝอยของเมล็ดลดลง รวมทั้งเมล็ดที่งอกแล้วมีการพัฒนาเป็นต้นกล้าช้า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตาราง 6)

ตาราง 6 ผลของสารสกัดความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดคะน้า

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดคะน้า
ชุดควบคุมใช้น้ำกลั่น	90
กานพลู 0.23%	74
ขมิ้น 1.32%	88
ใบชาแห้งบด 0.38%	88
พริก 0.75%	82

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. การทดสอบผลของสารสกัดสมุนไพรในการควบคุมการเกิดโรคบนต้นกล้าคะน้า

ทดสอบแช่เมล็ดคะน้าในสารแขวนลอยของเชื้อสาเหตุแต่ละชนิดที่ผสมกับสารสกัดความเข้มข้นที่ค่า MIC เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วจึงเพาะเมล็ดบนดินฆ่าเชื้อ เพื่อดูผลของสารสกัดแต่ละชนิดต่อการควบคุมการเกิดโรคบนต้นกล้าคะน้า ได้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคเน่าดำ โรคใบจุดออลเทอนาเรีย โรคเหี่ยวฟิวซาเรียมและโรคเน่าคอดิน ดังตาราง 7

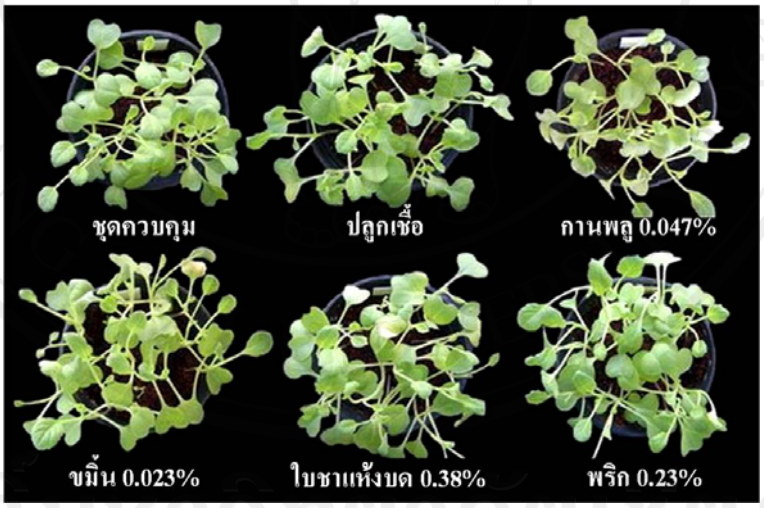
ตาราง 7 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคในระยะกล้าของคะน้า หลังจากแช่เมล็ดในสารแขวนลอยของเชื้อแต่ละชนิดผสมสารสกัดความเข้มข้นที่ค่า MIC เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

โรค	กรรมวิธี	จำนวนต้นเป็นโรค	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค
โรคเน่าดำ	กานพลู 0.047%	15	54.54
	ขมิ้น 0.023%	4	87.89
	ใบชาแห้งบด 0.38%	19	42.42
	พริก 0.38%	9	72.72
	ชุดควบคุมปลูกเชื้อ	33	-
โรคใบจุดออลเทอนาเรีย	กานพลู 0.19%	10	90.00
	ขมิ้น 0.75%	75	25.00
	ชุดควบคุมปลูกเชื้อ	100	-
โรคเหี่ยวฟิวซาเรียม	กานพลู 0.23%	6	83.33
	ขมิ้น 1.32%	13	63.89
	ชุดควบคุมปลูกเชื้อ	36	-
โรคเน่าคอดิน	กานพลู 0.095%	8	80.00
	ขมิ้น 0.047%	18	55.00
	พริก 0.75%	11	72.50
	ชุดควบคุมปลูกเชื้อ	40	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. โรคเน่าดำ ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

เมื่อต้นกล้าเจริญมีอายุ 14 วัน ตรวจนับการเกิดโรคเน่าดำบนต้นกล้าคะน้า พบว่าสารสกัดขมิ้น 0.023 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพดีที่สุดพบต้นกล้าเกิดโรคเพียง 4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค 87.89 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารสกัดพริก 0.38 เปอร์เซ็นต์ ต้นกล้าเกิดโรค 9 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค 72.72 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดกานพลู 0.047 เปอร์เซ็นต์ ต้นกล้าเกิดโรค 15 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค 54.54 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดใบชาแห้งบด ต้นกล้าเกิดโรค 19 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค 42.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อาการของโรคเน่าดำที่พบเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดคือ บริเวณใบเลี้ยงมีจุดสีดำขนาดเล็กขึ้นกระจายบนใบ พบรอยขีดสีดำบริเวณก้านใบและลำต้นแคระแกรน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อที่ใบเลี้ยงมีลักษณะเหลืองและเหี่ยว พบแผลสีน้ำตาลขนาดเล็กบริเวณขอบใบ เนื้อเยื่อรอบๆ แผลเป็นสีเหลือง ใบเลี้ยงบางใบมีลักษณะผิวขรุขระ หยิกงอ ลำต้นแคระแกรน และพบรอยขีดสีดำบริเวณก้าน (ภาพ 19)



ภาพ 19 การเกิดโรคเน่าดำของต้นกล้าคะน้า หลังจากแช่เมล็ดในสารแขวนลอยเซลล์ของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ผสมสารสกัดชนิดต่างๆ ที่ระยะเวลา 14 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. โรคใบจุดออลเทอนาเรีย ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Alternaria brassicicola*

หลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วัน จึงตรวจนับการเกิดโรคใบจุดบนต้นกล้าคะน้า ในกรรมวิธีที่ทดสอบด้วยสารสกัดให้ผลดังนี้ สารสกัดกานพลู ที่ความเข้มข้น 0.19 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพควบคุมการเกิดโรคบนต้นกล้าได้ดีที่สุด พบการเกิดโรคเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคถึง 90 เปอร์เซ็นต์ อาการที่พบคือ จุดสีดำขนาดเล็กบริเวณใบเลี้ยงของต้นกล้าบางต้น จำนวนแผลใบจุดน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อ และสารสกัดขมิ้น ที่ความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ พบการเกิดโรคที่สูงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อแม้จะพบจำนวนต้นคะน้าที่เป็นโรคใบจุดมาก แต่อาการที่พบมีความรุนแรงน้อยกว่าชุดควบคุมปลูกเชื้อคือ เมล็ดมีความงอกมากกว่าชุดควบคุมปลูกเชื้อ แผลใบจุดที่พบมีขนาดเล็กกระจายตามใบเลี้ยง ต่อมาใบเลี้ยงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและร่วง ใบจริงที่เจริญใหม่จะพบอาการใบจุดเพียงบางต้นเท่านั้น ในขณะที่ชุดควบคุมปลูกเชื้อพบการเกิดโรคถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยบางเมล็ดถูกเข้าทำลายจนไม่สามารถงอกได้ ส่วนเมล็ดที่งอกแล้วบางเมล็ดถูกเชื้อเข้าทำลายและสร้างสปอร์ปกคลุมจนกระทั่งไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นกล้า และพบแผลใบจุดขนาดเล็กและใหญ่กระจายทั่วใบเลี้ยง ต่อมาอาการลุกลามไปยังลำต้นและต้นกล้าตายในที่สุด

3. โรคเหี่ยวฟิวซาเรียม ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Fusarium oxysporum*

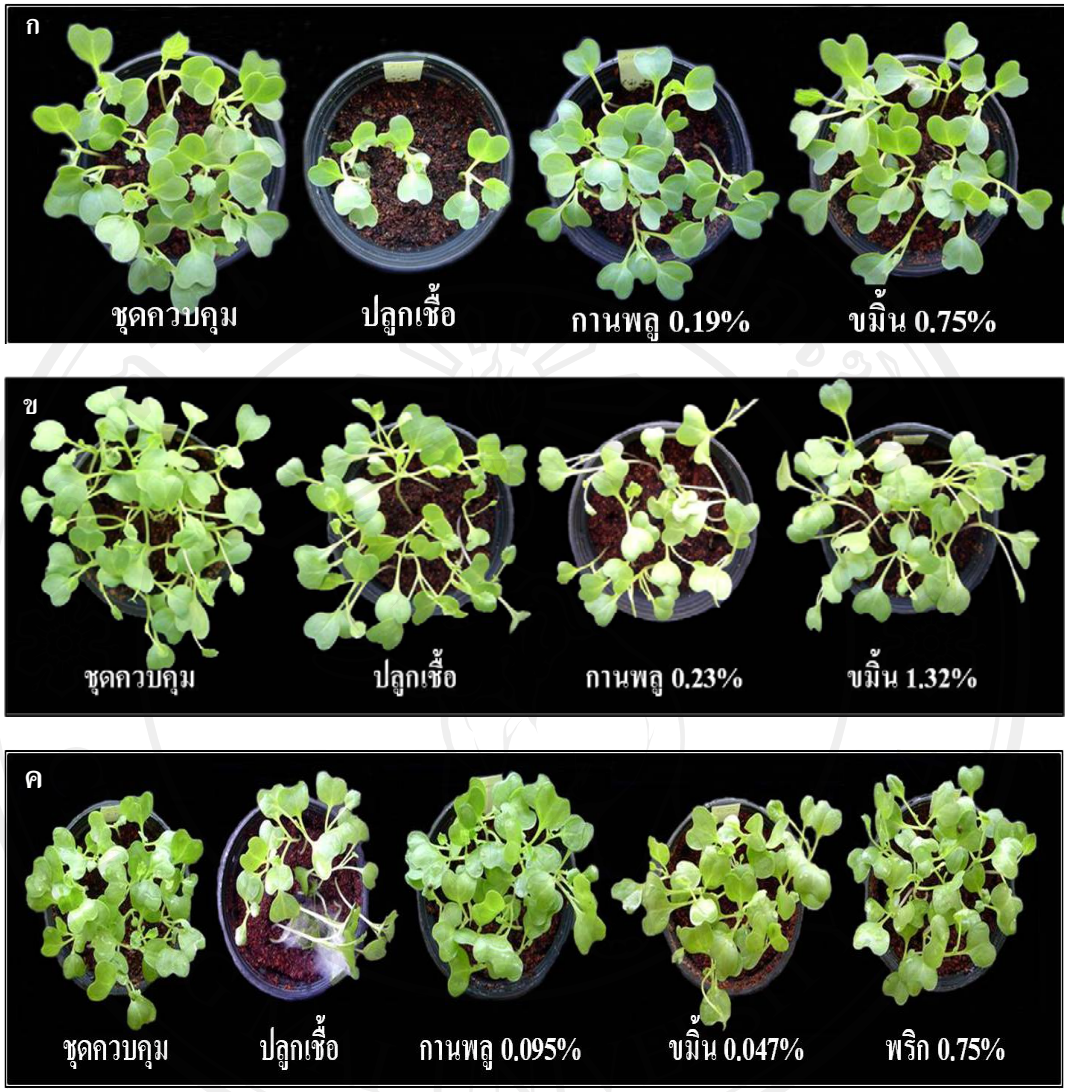
หลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วัน จึงตรวจนับการเกิดโรคเหี่ยวบนต้นกล้าคะน้า ในกรรมวิธีที่ทดสอบด้วยสารสกัดให้ผลดังนี้ สารสกัดกานพลู ที่ความเข้มข้น 0.23 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพควบคุมการเกิดโรคบนต้นกล้าได้ดีที่สุด พบการเกิดโรคเพียง 6 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคถึง 83.33 เปอร์เซ็นต์ อาการที่พบคือต้นกล้าแคระแกรน เมล็ดที่งอกเจริญไม่สมบูรณ์ และสารสกัดขมิ้น ที่ความเข้มข้น 1.32 เปอร์เซ็นต์ พบการเกิดโรคบนต้นกล้าคะน้า 13 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค 63.89 เปอร์เซ็นต์ อาการที่พบคือเมล็ดไม่งอก ต้นกล้าแคระแกรน มีรอยขีดสีดำบริเวณลำต้น ความรุนแรงของโรคน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อที่มีจำนวนต้นกล้าแคระแกรนมากกว่า พบรอยขีดสีดำบริเวณลำต้น และต้นกล้าบางต้นมีเชื้อเจริญปกคลุมอยู่ แสดงอาการเป็นโรคถึง 36 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. โรคเน่าคอดิน ที่เกิดจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum*

หลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วัน จึงตรวจดูการเกิดโรคเน่าคอดินบนต้นกล้าคะน้า ในกรรมวิธีที่ทดสอบด้วยสารสกัดให้ผลดังนี้ สารสกัดกานพลู ที่ความเข้มข้น 0.095 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพควบคุมการเกิดโรคบนต้นกล้าได้ดีที่สุด พบการเกิดโรคเพียง 8 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคถึง 80 เปอร์เซ็นต์ อาการที่พบคือ ต้นกล้าบางต้นแคระแกรน แต่ไม่แสดงอาการต้นกล้าเน่าและหักพับลงดิน สารสกัดขมิ้น ที่ความเข้มข้น 0.047 เปอร์เซ็นต์ พบการเกิดโรค 18 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 55 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดพริก ที่ความเข้มข้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ พบการเกิดโรค 11 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ 72 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าสารสกัดขมิ้น อาการที่พบคือ ต้นกล้าแคระแกรน บริเวณโคนต้นมีสีน้ำตาล ไม่พบการหักพับของต้นกล้า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อที่พบการเกิดโรคถึง 40 เปอร์เซ็นต์ โดยพบเส้นใยสีขาวของเชื้อเข้าทำลายบริเวณโคนต้นต้นกล้า จนเกิดแผลฉ่ำน้ำ เป็นสีซีด ต่อมาต้นกล้าหักพับลง และเชื้อเข้าทำลายต่อจนกระทั่งต้นกล้าตายในที่สุด (ภาพ 20)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 20 การเกิดโรคของต้นกล้าคะน้า หลังจากแช่เมล็ดในสารแขวนลอยของเชื้อผสมสารสกัดชนิดต่างๆ ที่ระยะเวลา 7 วัน

ก. โรคใบจุดดำ ข. โรคเหี่ยวฟิวซาเรียม ค. โรคเน่าคอดิน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7. การเปรียบเทียบสารเคมีควบคุมโรคพืชและสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตระกูลกะหล่ำในสภาพห้องปฏิบัติการ

การทดสอบเลี้ยงเชื้อสาเหตุบนอาหารผสมสารเคมีควบคุมโรคพืช

เลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA และ NA ผสมสารสกัดแต่ละชนิดที่ค่า MIC และ สารเคมีควบคุมโรคพืชที่อัตราแนะนำ ได้แก่ copper oxychloride, ipodione, carbendazim และ metalaxyl+mancozeb เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris, A. brassicicola*, *F. oxysporum* และ *P. aphanidermatum* ตามลำดับ พบว่าสารสกัดทุกชนิดที่ค่า MIC มีประสิทธิภาพดีเทียบเท่ากับสารเคมีควบคุมโรคพืช (ตาราง 8)

ตาราง 8 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชตระกูลกะหล่ำเมื่อเลี้ยงบนอาหารผสมสารเคมีควบคุมโรคพืชที่อัตราแนะนำและสารสกัดที่ค่า MIC

เชื้อ	สารสกัด	MIC	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ
Xanthomonas campestris pv. *campestris*	กานพลู	0.047	100
	ขมิ้น	0.023	100
	ใบชาแห้งบด	0.380	100
	พริก	0.380	100
	คอปเปอร์ ออกซิคลอไรด์	อัตราแนะนำ	100
Alternaria brassicicola	กานพลู	0.190	100
	ขมิ้น	0.750	100
	ไอโพรไดโอน	อัตราแนะนำ	100
Fusarium oxysporum	กานพลู	0.230	100
	ขมิ้น	1.320	100
	คาร์เบนดาซิม	อัตราแนะนำ	100
Pythium aphanidermatum	กานพลู	0.095	100
	ขมิ้น	0.047	100
	พริก	0.750	100
	เมทาแลกซิลผสมแมนโคเซ็บ	อัตราแนะนำ	100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

8. การทดสอบศักยภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมโรคพืชตระกูลกะหล่ำเปรียบเทียบสารเคมีควบคุมโรคพืชในสภาพโรงเรือน

จากผลการทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ นำสารสกัดจากพืชสมุนไพรในระดับความเข้มข้นที่คัดเลือกว่ามีศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชตระกูลกะหล่ำแต่ละชนิดมาทดสอบศักยภาพของสารสกัดในการควบคุมโรคในระดับแปลงปลูก เปรียบเทียบกับสารเคมีควบคุมโรคพืช แบ่งการทดลองออกเป็น 2 กรรมวิธีคือ กรรมวิธีปลูกเชื้อแล้วพ่นหรือราดสารสกัดเพื่อดูศักยภาพในการรักษาหลังจากการเกิดโรค และกรรมวิธีพ่นหรือราดสารสกัดโดยไม่ปลูกเชื้อเพื่อดูศักยภาพในการป้องกันก่อนการเกิดโรค

1. โรคเน่าดำ ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

กรรมวิธีปลูกเชื้อแล้วพ่นสารสกัด

เตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* ที่ความเข้มข้น 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พ่นบนใบคะน้าอายุ 3 สัปดาห์ คลุมแปลงปลูกเพื่อให้ความชื้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นพ่นสารครั้งที่ 1 ด้วยสารสกัดกานพลู 0.047 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดขมิ้น 0.023 เปอร์เซ็นต์ ใบชาแห้งบดและสารสกัดพริก 0.38 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับสารเคมีควบคุมโรคพืช คอปเปอร์ ออกซิคลอไรด์ อัตราแนะนำ 60 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร สังเกตการเกิดโรค การลุกลามของแผล และพ่นสารสกัดอีก 2 ครั้ง หลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย 3 และ 5 วัน ตามลำดับ เมื่อต้นคะน้าถึงอายุการเก็บเกี่ยว 35-40 วัน จึงตรวจบันทึกดัชนีการเกิดโรคในแต่ละต้นแล้วหาค่าเฉลี่ยการเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธี และคำนวนเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายดังตาราง 9

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 9 ค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายของโรคเน่าดำที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* เปรียบเทียบการพ่นสารสกัดกับสารคอปเปอร์ออกซิคลอไรด์

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรค	ดัชนีการเข้าทำลาย (%)
กานพลู 0.047 %	1.4[ab]	35.00
ขมิ้น 0.023 %	1.2[b]	30.00
ใบชาแห้งบด 0.38 %	1.7[ab]	42.50
พริก 0.38 %	1.6[ab]	40.00
คอปเปอร์ ออกซิคลอไรด์ อัตราแนะนำ	1.3[b]	32.50
ชุดควบคุมปลูกเชื้อ	2.0[a]	50.00
$LSD_{0.01}$	0.66	-
CV (%)	36.50	-

* ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดกานพลู ที่ 0.047 เปอร์เซ็นต์ พบอาการแผลรูปตัววี บริเวณใบแก่ของต้นคะน้า โดยแผลจะค่อยๆ ลุกลามจากขอบใบอย่างช้าๆ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อที่อาการแผลรูปตัววีลุกลามเข้าสู่เส้นกลางใบ และทำให้เส้นใบเปลี่ยนเป็นสีดำอย่างรวดเร็ว มีค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคที่ระดับ 1.4 และมีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายที่ 35 เปอร์เซ็นต์ มากกว่ากรรมวิธีพ่นสารสกัดขมิ้นและสารเคมี แต่เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าลายถึง 50 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าสารสกัดกานพลูสามารถควบคุมการเกิดโรคเน่าดำได้ดีในระดับหนึ่ง

สารสกัดขมิ้น ที่ 0.023 เปอร์เซ็นต์ พบความรุนแรงของโรคน้อยที่สุด สอดคล้องกับการทดลองในห้องปฏิบัติการที่สารสกัดขมิ้นสามารถควบคุมการเกิดโรคบนต้นกล้าคะน้าได้ดีที่สุด โดยใบที่แสดงอาการแผลรูปตัววี มีการลุกลามเข้าสู่เส้นกลางใบอย่างช้าๆ เช่นเดียวกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารสกัดกานพลู มีค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคที่ระดับ 1.2 แตกต่างจากชุดควบคุมปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายน้อยที่สุด 30 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารสกัดใบชาแห้งบดและสารสกัดพริก ที่ 0.38 เปอร์เซ็นต์ พบอาการแผลรูปตัววีพบทั้งบริเวณใบแก่และใบอ่อน แผลลุกลามเร็วทำให้ใบที่ถูกเข้าทำลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจะร่วงก่อนแก่ ในขณะที่ชุดควบคุมปลูกเชื้อถูกเชื้อเข้าทำลายอย่างรุนแรงจนกระทั่งต้นคะน้าตาย มีค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคในกรรมวิธีพ่นสารสกัดใบชาแห้งบดและสารสกัดพริกที่ระดับ 1.7 และ 1.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายที่ 42.5 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อแล้วถือว่าเกิดโรคน้อยกว่า

คอปเปอร์ ออกซิคลอไรด์ ที่อัตราแนะนำ มีค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคที่ระดับ 1.3 เมื่อคำนวณค่าทางสถิติแล้วดัชนีการเกิดโรคไม่แตกต่างจากกรรมวิธีพ่นสารสกัดขมิ้นที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลาย 32.5 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นผลการเปรียบเทียบสารสกัดจากพืชสมุนไพรกับสารเคมีควบคุมโรคพืช (ภาพ 21) ในการควบคุมโรคเน่าดำ พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสารสกัดขมิ้นมีศักยภาพในการควบคุมการเกิดโรคได้ดีเทียบเท่าสารเคมีควบคุมโรคพืช คอปเปอร์ ออกซิคลอไรด์ รองลงมาคือสารสกัดกานพลู พริกและใบชาแห้งบด ตามลำดับ

ภาพ 21 เปรียบเทียบความรุนแรงของโรคเน่าดำชุดควบคุม (ก) กับกรรมวิธีพ่นด้วยสารสกัดชนิดต่างๆ (ข) และสารคอปเปอร์ ออกซิคลอไรด์ (ค) ที่ระยะเวลา 17 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การควบคุมโรคใบจุดออลเทอนาเรีย ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Alternaria brassicicola*

กรรมวิธีปลูกเชื้อแล้วพ่นสารสกัด

เตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* ที่ความเข้มข้น 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นบนใบคะน้าอายุ 3 สัปดาห์ คลุมแปลงปลูกเพื่อให้ความชื้น เมื่อพืชเริ่มแสดงอาการของโรค จึงพ่นสารครั้งที่ 1 ด้วยสารสกัดกานพลู 0.19 เปอร์เซ็นต์ ขมิ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับสารเคมีควบคุมโรคพืช ไอโพรไดโอน อัตราแนะนำ 20 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร สังเกตการลุกลามของแผลใบจุดหลังการพ่นสารเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าในวันที่ 3 หลังจากพ่นสารครั้งแรก เริ่มมีการพัฒนาของแผลใบจุด จึงพ่นสารครั้งที่ 2 และพ่นต่ออีก 2 ครั้ง หลังจากพ่นครั้งสุดท้าย 3 และ 5 วัน ตามลำดับ เมื่อต้นคะน้าถึงอายุการเก็บเกี่ยว 35-40 วัน จึงตรวจบันทึกดัชนีการเกิดโรคในแต่ละต้น แล้วหาค่าเฉลี่ยการเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธี และคำนวนเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายดังตาราง 10

ตาราง 10 ค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของโรคใบจุดออลเทอนาเรียที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* เปรียบเทียบการพ่นสารสกัดกับสารไอโพรไดโอน

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรค	ดัชนีการเข้าทำลาย (%)
กานพลู 0.19 %	1.07[b]	26.75
ขมิ้น 0.75 %	1.50[ab]	37.50
ไอโพรไดโอน อัตราแนะนำ	1.35[ab]	33.75
ชุดควบคุมปลูกเชื้อ	1.78[a]	44.50
$LSD_{0.01}$	38.41	-
CV (%)	0.55	-

* ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

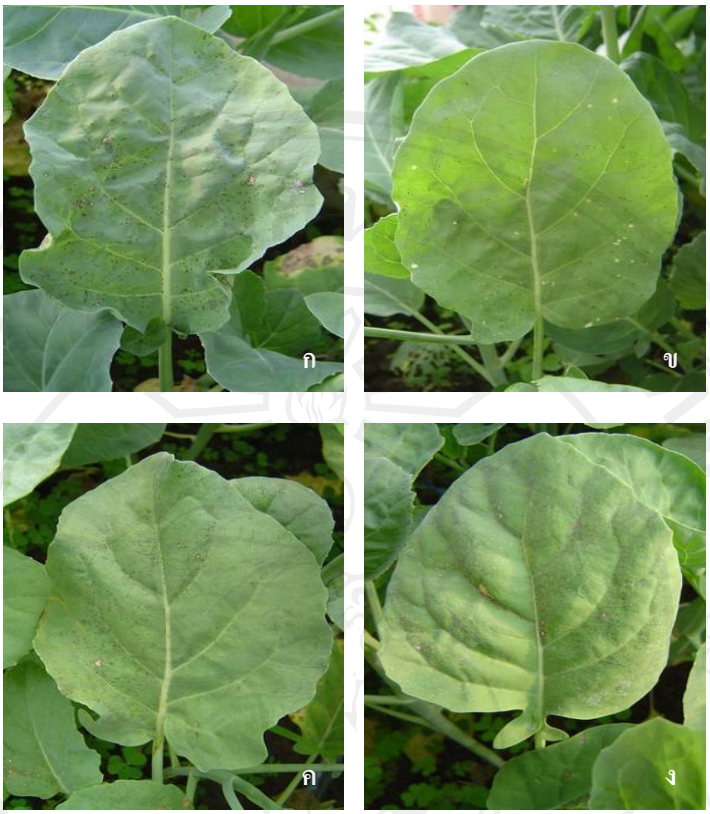
สารสกัดกานพลู ที่ 0.19 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพแปลงปลูกพบว่าคะน้าพันธุ์ใบแสดงอาการ phytotoxic คือพบลักษณะจุดเนื้อเยื่อตายมีสีขาวบนใบหลังพ่นสารเป็นเวลา 3 วัน โดยอาการที่พบแทบจะไม่มีการพัฒนาด้านขนาดแผลใบจุด เมื่อเปรียบเทียบอาการในวันที่ 2 และวันที่ 14 หลังการปลูกเชื้อ ขนาดของแผลใบจุดยังคงมีขนาด 1 มิลลิเมตร ในขณะที่ชุดควบคุมปลูกเชื้อมีลักษณะของแผลใบจุดที่ขยายใหญ่ขึ้น มีการรวมตัวของแผลและพบลักษณะเป็นวงซ้อนกันคล้ายเป้ากระสุน เนื่องจากเชื้อสร้างกลุ่มสปอร์บริเวณใบแก่อย่างชัดเจน ค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคของสารสกัดกานพลูอยู่ที่ระดับ 1.07 แตกต่างจากชุดควบคุมปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายที่ 26.75 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดควบคุมปลูกเชื้อมีการเข้าทำลายถึง 44.50 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสารสกัดกานพลูจึงสามารถควบคุมอาการใบจุดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สารสกัดขมิ้น ที่ 0.75 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพแปลงปลูกไม่พบว่าคะน้าพันธุ์ใบแสดงอาการ phytotoxic กับพืช และไม่ส่งผลต่อการเจริญด้านอื่นๆ ของพืช เมื่อพ่นสารสกัดขมิ้นจะทำให้เกิดคราบสีเหลืองบริเวณใบ ซึ่งเกิดจากเนื้อสารที่เป็นสีเหลือง อาการของแผลใบจุดมีการพัฒนาด้านขนาดจากวันที่ 2 หลังการปลูกเชื้อเพียงเล็กน้อย บริเวณใบแก่ของต้นคะน้า พบการรวมตัวของแผลทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้น มีค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคที่ระดับ 1.50 และมีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายที่ 37.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าการพ่นด้วยสารไอโพรไดโอน

สารไอโพรไดโอน ความเข้มข้นที่อัตราแนะนำ พ่นทุก 7-10 วัน สารทำให้เกิดคราบสีขาวของยาติดบริเวณใบพืชหลังการพ่น ด้านอาการของโรคมีการพัฒนาน้อย บางแผลมีการรวมตัวกัน มีค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคที่ระดับ 1.35 และเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายที่ 33.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถควบคุมการเกิดโรคใบจุดได้น้อยกว่าเมื่อพ่นด้วยสารสกัดกานพลู แต่สารไอโพรไดโอนควบคุมการเกิดโรคได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการพ่นด้วยสารสกัดขมิ้น

ดังนั้นผลการเปรียบเทียบสารสกัดจากพืชสมุนไพรกับสารเคมีควบคุมโรคพืชในการควบคุมโรคใบจุดออลเทอนาเรีย พบว่าสารสกัดกานพลูมีศักยภาพควบคุมการเกิดโรคได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดขมิ้นและสารเคมีควบคุมโรคพืช ไอโพรไดโอน (ภาพ 22) เมื่อคำนวนทางสถิติการเกิดโรคจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับชุดควบคุมปลูกเชื้อและกรรมวิธีที่พ่นสารสกัดกานพลูอย่างไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 22 เปรียบเทียบขนาดแผลของโรคใบจุดออลเทอนาเรียชุดควบคุม (ก) กับกรรมวิธีพ่นด้วยสารสกัดกานพลู 0.19 เปอร์เซ็นต์ (ข) สารสกัดขมิ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์ (ค) และสารไอโพรไดโอนอัตราแนะนำ (ง) ที่ระยะเวลา 14 วัน

กรรมวิธีไม่ปลูกเชื้อของโรคเน่าดำและโรคใบจุดออลเทอนาเรียและพ่นสารสกัด

ผลการทดลองพบว่าสารสกัดกานพลู ขมิ้น ใบชาแห้งบด และพริก มีศักยภาพในการป้องกันการแพร่กระจายของโรคเน่าดำและโรคใบจุดออลเทอนาเรียจากต้นที่ปลูกเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* และ *A. brassicicola* มายังต้นที่ไม่ปลูกเชื้อได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เกิดการแพร่กระจายของโรคมายังใบแก่ของต้นที่ไม่ปลูกเชื้อ แสดงอาการโรคเน่าดำ เกิดแผลรูปตัววีลุกลามจากขอบใบแก่ของต้นคะน้า และอาการโรคใบจุดออลเทอนาเรีย มีการพัฒนาของแผลวงซ้อนกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารสกัดมีฤทธิ์ตกค้างบนใบพืช ประกอบกับแผลที่สัมผัสกับสารสกัดทั้งสองชนิด เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโต เพื่อเพิ่มปริมาณและแพร่กระจายไปยังที่อื่นๆ ได้ จึงไม่มีการแพร่กระจายของโรคดำและโรคใบจุดออลเทอนาเรียแม้ว่าต้นพืชจะอยู่ใกล้กัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การควบคุมโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม ที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum*

กรรมวิธีปลูกเชื้อแล้วราดสารสกัด

เนื่องจากโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมเกิดจากเชื้อที่อยู่ในดิน จึงต้องเลี้ยงเชื้อ *F. oxysporum* ในเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ 200 กรัม เป็นเวลา 5 วัน ปลูกเชื้อด้วยการขุดดินเป็นร่องตื้นตรงกลางระหว่างแถวต้นคะน้าทั้งสองด้าน จากนั้นโรยเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อลงไปให้สม่ำเสมอแล้วจึงกลบดิน ในชุดควบคุมไม่ปลูกเชื้อให้โรยด้วยเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อที่ไม่เลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการข้างต้น แล้วจึงรดน้ำในแปลงให้ชุ่ม บ่มเชื้อเป็นเวลา 1 วัน จึงราดสารครั้งที่ 1 ด้วยสารสกัดกานพลู 0.23 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดขมิ้น 1.32 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับสารเคมีควบคุมโรคพืช คาร์เบนดาซิม อัตราแนะนำ 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และราดสารอีก 2 ครั้งหลังจากครั้งแรก 3 และ 5 วัน นับจำนวนต้นที่แสดงอาการเหี่ยวฟูซาเรียมจนกระทั่งต้นคะน้าถึงอายุการเก็บเกี่ยว 35 ถึง 40 วัน พบว่ากรรมวิธีราดสารคาร์เบนดาซิมที่อัตราแนะนำมีจำนวนต้นที่เป็นโรคน้อยที่สุดคือ 11 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารสกัดกานพลูที่ 0.23 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์จำนวนต้นที่เป็นโรค 20 เปอร์เซ็นต์ แต่แสดงความเป็นพิษต่อต้นคะน้าพันธุ์เห็ดหอม พบอาการเนื้อเยื่อตายเป็นสีขาวบริเวณขอบใบและก้านใบแก่ และสารสกัดขมิ้นที่ 1.32 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนต้นที่เป็นโรค 31 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อที่เป็นโรคถึง 35 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 11) อาการที่พบคือต้นกล้าแคระแกรน มีการเจริญเติบโตช้ากว่าต้นที่ไม่เป็นโรค และต้นที่แสดงอาการใบล่างเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและลู่ลงดิน จากนั้นใบอื่นๆ จึงเริ่มเหี่ยว (ภาพ 23)

กรรมวิธีไม่ปลูกเชื้อและราดสารสกัด

จากการโรยด้วยเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อที่ไม่มีเชื้อสาเหตุ พบโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมในชุดควบคุมไม่ปลูกเชื้อมากสุดคือ 11 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดขมิ้น 8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดกานพลูและสารคาร์เบนดาซิม ไม่พบการเกิดโรค แสดงว่าสารสกัดกานพลูสามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมได้ดีกว่าสารสกัดขมิ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการเกิดโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมในเมล็ดพันธุ์ที่สารสกัดกานพลูมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรคสูงกว่าสารสกัดขมิ้น (ตาราง 11)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 11 จำนวนต้นที่เป็นโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* เปรียบเทียบการราดสารสกัดกับสารคาร์เบนดาซิม

กรรมวิธี	จำนวนต้นที่เป็นโรค (%)
ปลูกเชื้อ + กานพลู 0.23 %	20
ปลูกเชื้อ + ขมิ้น 1.32 %	31
ปลูกเชื้อ + คาร์เบนดาซิม อัตราแนะนำ	11
ชุดควบคุมปลูกเชื้อ	35
ไม่ปลูกเชื้อ + กานพลู 0.23 %	0
ไม่ปลูกเชื้อ + ขมิ้น 1.32 %	8
ไม่ปลูกเชื้อ + คาร์เบนดาซิม อัตราแนะนำ	0
ชุดควบคุมไม่ปลูกเชื้อ	11

ภาพ 23 อาการใบล่างเปลี่ยนเป็นสีเหลืองก้านใบเหี่ยวลู่ลงดินและต่อมาแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้นของโรคเหี่ยวฟิวซาเรียม ในสภาพแปลงปลูกคะน้าพันธุ์เห็ดหอม อายุ 28 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การควบคุมโรคเน่าคอดิน ที่เกิดจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum*

กรรมวิธีปลูกเชื้อแล้วราดสารสกัด

เนื่องจากโรคเน่าคอดินเกิดจากเชื้อที่อยู่ในดิน จึงต้องเลี้ยงเชื้อ *P. aphanidermatum* ในเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ 200 กรัม เป็นเวลา 5 วัน ปลูกเชื้อด้วยการขุดดินเป็นร่องตื้นตรงกลางระหว่างแถวต้นคะน้าทั้งสองด้าน จากนั้นโรยเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อลงไปให้สม่ำเสมอแล้วจึงกลบดิน ในชุดควบคุมไม่ปลูกเชื้อให้โรยด้วยเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อที่ไม่เลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการข้างต้น แล้วจึงรดน้ำในแปลงให้ชุ่ม บ่มเชื้อเป็นเวลา 1 วัน จึงราดสารครั้งที่ 1 ด้วยสารสกัดกานพลู 0.095 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดขมิ้น 0.047 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดพริก 0.75 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับสารเคมีควบคุมโรคพืช เมทาแลกซิลผสมแมนโคเซ็บ อัตราแนะนำ 60 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และราดสารอีก 3 ครั้ง หลังจากราดครั้งสุดท้าย 3 ถึง 5 วัน ตรวจนับจำนวนต้นที่เป็นโรคเน่าคอดินโดยต้นคะน้าจะแสดงอาการเหี่ยว จนกระทั่งคะน้าถึงอายุการเก็บเกี่ยว 35 ถึง 40 วัน พบว่าสารสกัดขมิ้นที่ 0.047 เปอร์เซ็นต์ มีศักยภาพควบคุมการเกิดโรคได้ดีที่สุด พบจำนวนต้นที่เป็นโรคเพียง 11 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อที่เป็นโรคถึง 37 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารเคมีควบคุมโรคพืช เมทาแลกซิลผสมแมนโคเซ็บ มีจำนวนต้นที่เป็นโรค 16 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดกานพลูที่ 0.095 เปอร์เซ็นต์ เกิดโรค 28 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดพริก 0.75 เปอร์เซ็นต์ เกิดโรค 33 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 12) โดยอาการของโรคเน่าคอดินที่พบคือบริเวณโคนต้นเกิดแผลสีซีด เนื้อเยื่อบริเวณโคนคอดกิ่วและเปื่อย เมื่อขุดรากขึ้นดูพบว่าเชื้อ *P. aphanidrmatum* เข้าทำลายทำให้รากพืชเน่าเปื่อย มีจำนวนรากฝอยน้อยและรากมีลักษณะกุดสั้น (ภาพ 24)

กรรมวิธีไม่ปลูกเชื้อและราดสารสกัด

จากการโรยด้วยเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อที่ไม่มีเชื้อสาเหตุ พบการเกิดโรคเน่าคอดินในชุดควบคุมมากที่สุดคือ 16 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารสกัดพริก เกิดโรค 11 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดกานพลู เกิดโรค 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารสกัดขมิ้นและสารเมทาแลกซิลผสมแมนโคเซ็บ ไม่พบการเกิดโรค สามารถป้องกันการเกิดโรคเน่าคอดินจากการแพร่กระจายของเชื้อได้ (ตาราง 12)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 12 จำนวนต้นที่เป็นโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum* เปรียบเทียบการราดสารสกัดกับสารเมทาแลกซิลผสมแมนโคเซ็บ

กรรมวิธี	จำนวนต้นที่เป็นโรค (%)
ปลูกเชื้อ + กานพลู 0.095 %	16
ปลูกเชื้อ + ขมิ้น 0.047 %	11
ปลูกเชื้อ + พริก 0.75 %	22
ปลูกเชื้อ + เมทาแลกซิลผสมแมนโคเซ็บ อัตราแนะนำ	16
ชุดควบคุมปลูกเชื้อ	40
ไม่ปลูกเชื้อ + กานพลู 0.095 %	10
ไม่ปลูกเชื้อ + ขมิ้น 0.047 %	0
ไม่ปลูกเชื้อ + พริก 0.75 %	11
ไม่ปลูกเชื้อ + เมทาแลกซิลผสมแมนโคเซ็บ อัตราแนะนำ	0
ชุดควบคุมไม่ปลูกเชื้อ	16

ภาพ 24 อาการเหี่ยวเนื่องจากบริเวณโคนต้น (ก) และรากถูกเข้าทำลาย (ศรชี้) (ข) ของโรคเน่าคอดินในสภาพแปลงปลูกคะน้าพันธุ์เห็ดหอม อายุ 35 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved