

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการแยกเชื้อสาเหตุโรคพืชตระกูลกะหล่ำ ได้เชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Alternaria brassicicola*, *Fusarium oxysporum* และ *Pythium aphanidermatum* การแยกเชื้อสาเหตุโรคเน่าดำด้วยวิธี tissue transplanting method ได้เชื้อแบคทีเรียที่มีโคโลนีเป็นสีเหลือง ลักษณะกลมมน ผิวเป็นมัน ย้อมแกรมติดสีแดงจัดว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ สอดคล้องกับรายงานของ Agrios (1997) ที่กล่าวว่าโรคเน่าดำของพืชตระกูลกะหล่ำเป็นโรคที่พบได้ทั่วไป เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *campestris* และ Obradovic et al. (2001) ที่ว่าเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นสีเหลือง กลมมน ผิวเป็นมันเยิ้ม การแยกเชื้อสาเหตุโรคใบจุดออกดอกนาเรียด้วยวิธี single spore isolation ได้ลักษณะของเชื้อราเหมือนกับ Ellis (1971) ที่รายงานว่าเชื้อรา *A. brassicicola* โคโลนีมีสีเขียวมะกอกอมเทาถึงดำ เส้นใยแตกแขนงมีผนังกัน สร้างก้านชูสปอร์สีน้ำตาลอ่อน รูปร่างเป็นทรงกระบอกที่ปลายพองออกเล็กน้อย สร้าง conidia รูปร่างทรงกระบอก สีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้ม พบเพียงผนังกันตามขวาง conidia มักต่อกันเป็นลูกโซ่ยาว และมีงอยยาวประมาณ 1 ใน 6 เท่าของความยาว conidia การแยกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวฟิวซาเรียมด้วยวิธี tissue transplanting method ได้เส้นใยเชื้อราที่มีสีขาวอมม่วง ลักษณะหยาบ สร้าง pigment สีม่วงบนอาหาร PDA เมื่อตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ พบสปอร์ของเชื้อเหมือนดังที่ Burgess et al. (1988) ได้กล่าวว่าเชื้อ *F. oxysporum* สร้างทั้ง macroconidia และ microconidia เชื้อชนิดนี้มักจะผลิตเม็ดสี มีสีม่วงอ่อนถึงม่วงเข้ม หรือสีม่วงแดงเข้มในอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะ macroconidia ของเชื้อมีขนาดสั้นถึงยาวปานกลาง โคนงอกคล้ายรูปเคียวถึงเกือบตรงผนังบางและมักจะมีผนังกันระหว่างเซลล์ 3 เซลล์ บริเวณปลายทั้งสองด้านค่อนข้างเรียวแหลม ในหลายสายพันธุ์พบว่าเซลล์แรกจะมีขนาดสั้นและบริเวณปลายมีลักษณะงอกคล้ายตะขอเล็กน้อย การแยกเชื้อสาเหตุโรคเน่าคอดิน ด้วยวิธี moist chamber ได้เชื้อราเส้นใยสีขาวละเอียดฟู เจริญกลุ่มเนื้อเยื่อพืชบริเวณแผล Agrios (1997) กล่าวว่าเชื้อ *Pythium* มีเส้นใยสีขาว เจริญเติบโตเร็วไม่มีผนังกันระหว่างเส้นใยจึงจัดเป็นเชื้อราชั้นต่ำ ลักษณะของ sporangium ที่เชื้อสร้างตรงกับ รายงานของ

วิจัย (2551) ที่ว่าเชื้อ *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินของพืชตระกูลกะหล่ำนั้น มีลักษณะ sporangium แบบ lobate inflated sporangium หรือ toruloid sporangium คือมีลักษณะโป่งเป็น lobe ไม่สม่ำเสมอและมีขนาดใหญ่กว่าเส้นใยปกติ

การทดสอบผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชตระกูลกะหล่ำในสภาพห้องปฏิบัติการ ทดสอบค่า MIC ของสารสกัดดัดแปลงตามวิธีการของ Moreira *et al.* (2005) และ Bajpai *et al.* (2006) พบว่าเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* อ่อนแอต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดมากที่สุด ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดกานพลูและขมิ้นที่เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเท่ากับหรือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.05 เปอร์เซ็นต์ หรือ 500 ppm นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดใบชาแห้งบดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* ได้เพียงชนิดเดียว อาจเนื่องสารสกัดสามารถซึมผ่านผนังเซลล์เชื้อแบคทีเรียได้ง่ายกว่าผนังเซลล์ของเชื้อราซึ่งมีสาร chitin เป็นองค์ประกอบ เช่นเดียวกันกับเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่เส้นใยมีลักษณะบอบบาง (วิจัย, 2551) ประกอบกับเป็นราชั้นต่ำซึ่งไม่มีผนังกันระหว่างเส้นใย ดังนั้นเมื่อสัมผัสกับสารสกัดและมีการซึมผ่าน สารสกัดจึงสามารถแพร่กระจายไปยังส่วนอื่นๆ ของเส้นใยได้ ส่งผลให้ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำกว่าเชื้อ *A. brassicicola* และ *F. oxysporum*

จากค่า MIC ของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ มีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำกว่าค่า MIC สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้เพียง 3 ถึง 5 วัน อาจเกิดจากผลของสารสกัดทำให้เชื้อมีการเจริญช้ากว่าชุดควบคุม ซึ่งเมื่อคำนวณแล้วมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญไม่ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ค่า MIC ของสารสกัดสามารถลดจำนวนโคโลนีของเชื้อได้ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญอยู่ในช่วง 90 เปอร์เซ็นต์

การเลี้ยงเชื้อ *A. brassicicola*, *F. oxysporum* และ *P. aphanidermatum* บนอาหารผสมสารสกัดพบลักษณะการเจริญของเชื้อที่ผิดปกติไปคือ เส้นใยวมพอง ผนังกันระหว่างเส้นใยชิดกันมากขึ้น ในขณะที่ macroconidia ของเชื้อ *F. oxysporum* มีลักษณะบวม ไม่พบผนังกันระหว่างเซลล์ อาจเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยที่เป็นส่วนหนึ่งของสารสกัดสามารถซึมผ่านเนื้อเยื่อของเซลล์เชื้อราได้ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด ด่าง ส่งผลให้องค์ประกอบภายในเซลล์เมมเบรนเชื้อราเกิดการรั่วไหลหรือแตงผิดปกติ (Fernando *et al.*, 2000)

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกานพลู ขมิ้น ฟ้า และพริก ด้วยวิธีการพ่นบนใบพืช และราดบริเวณโคนต้นคะน้า เมื่อทดสอบกับคะน้าพันธุ์ยอดในระดับห้องปฏิบัติการ ไม่พบว่ามีสาร สกัดชนิดใดที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษกับต้นคะน้า รวมทั้งไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของต้นคะน้า ในขณะที่การทดลองในสภาพแปลงปลูกซึ่งเป็นคะน้าพันธุ์ใบ พบอาการเนื้อเยื่อตายเป็นจุดสีขาว เมื่อพ่นหรือราดสารสกัดกานพลูที่ความเข้มข้นเท่ากับและมากกว่า 0.19 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจ เนื่องจากความแตกต่างทางสรีรวิทยาของพันธุ์คะน้า ส่งผลให้ตอบสนองต่อสารสกัดได้แตกต่างกัน รวมทั้งอาจเกิดจากปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมภายในแปลงปลูกที่ไม่สามารถควบคุมได้ เช่น แสง อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น นอกจากนี้เมื่อพ่นสารสกัดขมิ้นจะทำให้เกิดคราบสีเหลืองติด บริเวณใบ เกิดจากเนื้อสารที่เป็นสีเหลือง ซึ่งสามารถล้างออก และไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อ คะน้าพันธุ์ใบเมื่อพ่นหรือราดในสภาพแปลงปลูก

การทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์คะน้าหลังจากแช่ในสารสกัดกานพลู ขมิ้น ฟ้า และ พริก ที่ความเข้มข้นสูงสุดตามค่า MIC พบว่าสารสกัดมีผลต่อความงอกของเมล็ด ต่างจากชุดควบคุม ที่ใช้น้ำกลั่นไม่มาก แต่สารสกัดกานพลูความเข้มข้น 0.23 เปอร์เซ็นต์ พบเปอร์เซ็นต์ความงอกเพียง 74 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการเจริญของรากฝอย และการพัฒนาเป็นต้นกล้าของคะน้า ดังนั้น สารสกัดกานพลูที่ความเข้มข้นสูงจึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้กับเมล็ดพันธุ์ หรือควรใช้สาร สกัดกานพลูที่ความเข้มข้นต่ำเพื่อลดความเป็นพิษต่อเมล็ดพืช

จากการทดสอบผลของสารสกัดในการควบคุมการเกิดโรคบนต้นกล้าคะน้า พบว่าสารสกัด กานพลูมีเปอร์เซ็นต์ควบคุมการเกิดโรคใบจุดออกดอกเทาเรีย โรคเหี่ยวฟิวซาเรียม และโรคเน่าคอดิน มากที่สุดคือ 90.00 83.33 และ 80.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะเดียวกันสารสกัดกานพลูก็ส่งผลให้ เมล็ดงอกช้า เมล็ดที่งอกแล้วมีความหนาแน่นและความยาวของรากฝอยลดลง ทั้งนี้เนื่องจากตัว สารออกฤทธิ์ของกานพลูส่งผลต่อกระบวนการเมทาโบลิซึมของเมล็ดในขณะที่เข้าสู่กระบวนการ งอก ส่วนสารสกัดขมิ้นสามารถควบคุมการเกิดโรคเน่าดำได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเกิดโรค 87.89 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งสารสกัดขมิ้นมีผลต่อความงอกของเมล็ดคะน้า น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุด ควบคุม

การทดสอบในสภาพแปลงปลูก หลังจากปลูกเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วพ่นสารสกัด หลังจากนั้นเป็นเวลา 3 วัน พบว่าอาการที่ปรากฏ เป็นลักษณะของแผลจุดเนื้อเยื่อตายสีน้ำตาลอ่อน บริเวณแผลมีลักษณะบางคล้ายกระดาษและรอบๆ แผลเป็นสีเหลือง กระจายทั่วไปบนใบ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมไม่ปลูกเชื้อที่พ่นสารสกัดที่ไม่แสดงอาการดังกล่าว โดยอาการจะปรากฏเฉพาะบนใบที่สัมผัสกับเชื้อ จึงเป็นไปได้ว่าอาการจุดเนื้อเยื่อตายอาจเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ ประกอบกับสภาพอากาศที่ร้อนชื้น และพันธุ์คะน้าที่ใช้ทดสอบ ซึ่งเป็นคะน้าพันธุ์ใบต่างจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการที่ใช้คะน้าพันธุ์ยอด ซึ่งไม่พบอาการดังกล่าว และหลังจากนั้นอีกประมาณ 3 วัน จึงพบอาการแผลรูปตัววี ลูกกลมจากขอบใบ ซึ่งเป็นลักษณะของโรคเน่าดำ จากการพ่นด้วยสารสกัดขมิ้นให้ผลควบคุมการเกิดโรคเน่าดำได้ดีที่สุดคือ 49.18 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการทดสอบในห้องปฏิบัติการที่สารสกัดขมิ้นสามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดีที่สุด โดยต้นกล้าเป็นโรคเพียง 4 เปอร์เซ็นต์ จากชุดควบคุมปลูกเชื้อที่ต้นกล้าเป็นโรคถึง 33 เปอร์เซ็นต์

การควบคุมโรคใบจุดออกดอกนาเรีย ที่เกิดจากเชื้อ *A. brassicicola* ในสภาพแปลงปลูก พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสารสกัดกานพลู สามารถควบคุมความรุนแรงของโรคได้ดีที่สุด โดยขนาดของแผลในวันที่ 2 และวันที่ 14 หลังการปลูกเชื้อจากคะน้าใบเดียวกัน แทบจะไม่พบว่ามีขยายขนาดของแผล เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปลูกเชื้อที่แผลมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้น และมีการรวมตัวกันของแผล อาจเนื่องจากสารสกัดกานพลูซึมเข้าสู่เส้นใยของเชื้อสาเหตุ สอดคล้องกับการทดลองเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA ผสมสารสกัดกานพลู ที่ทำให้เชื้อมีลักษณะที่ผิดปกติไปคือ เส้นใยวมพอง ผนังกันระหว่างเส้นใยชิดกันมากขึ้น รวมทั้งเชื้อสร้างสปอร์น้อยลง ส่งผลต่อการเจริญลูกกลมในเนื้อเยื่อพืชรวมถึงความสามารถในการเข้าทำลายของเชื้อ นอกจากนี้ในสภาพแปลง กรรมวิธีปลูกเชื้อและพ่นสารสกัดจะอยู่ติดกับกรรมวิธีพ่นสารสกัดเพียงอย่างเดียวโดยไม่ปลูกเชื้อ พบว่าสารสกัดกานพลูและสารสกัดขมิ้นสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อที่แพร่กระจายมาได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมไม่ปลูกเชื้อ ที่พบการแพร่กระจายของโรค อาจเนื่องจากสารสกัดทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ตกค้างอยู่บนใบคะน้าทำให้เชื้อไม่สามารถเข้าทำลายและก่อให้เกิดโรคได้

การควบคุมโรคเหี่ยวฟ้าชาเขียวและโรคเน่าคอดินในสภาพแปลงปลูก การเลี้ยงเชื้อในเมล็ดข้าวฟ่าง เพื่อให้เชื้อสามารถใช้อาหารจากเมล็ดข้าวฟ่างในการเพิ่มปริมาณสร้างเส้นใยและสปอร์ในการเข้าทำลายพืช ปลูกเชื้อด้วยการโรยเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อในร่องระหว่างแถวต้นคะน้า เพื่อให้สะดวกในการทดลองและปล่อยให้เกิดโรคตามธรรมชาติ จากการสังเกตพบว่ามีมดดำขุดเอาเมล็ดข้าวฟ่างที่กลบดินไว้ขึ้นมากิน ทำให้ขณะที่รดน้ำให้ความชื้นแก่ดินจนชุ่มและเกิดการไหลของน้ำภายในแปลง จึงอาจพัฒนาเอาเส้นใยหรือสปอร์ของเชื้อสาเหตุไปยังจุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ เนื่องจากกรรมวิธีปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้ออยู่ภายในแปลงเดียวกัน การควบคุมโรคเหี่ยวฟ้าชาเขียว กรรมวิธีไม่ปลูกเชื้อ พบว่าสารสกัดกานพลูมีศักยภาพป้องกันการเกิดโรคจากการแพร่กระจายของเชื้อได้ดีเทียบเท่าสารป้องกันกำจัดโรคพืช คาร์เบนดาซิม ซึ่งไม่พบการเกิดโรค และการควบคุมโรคเน่าคอดิน พบว่าสารสกัดขมิ้นมีศักยภาพป้องกันการเกิดโรคได้ดีเทียบเท่าสารเมทาแลกซิลผสมแมนโคเซ็บ